

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK IKAN KEMBUNG
(*Rastrelliger kanagurta*) SELAMA KEBUNTINGAN
TERHADAP EKSPRESI CASPASE-3
DAN JUMLAH SEL GLIA
RATTUS NORVEGICUS
BARU LAHIR**



**NUR CHOLILA
NIM. 011824653006**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK IKAN KEMBUNG
(*Rastrelliger kanagurta*) SELAMA KEBUNTINGAN
TERHADAP EKSPRESI CASPASE-3
DAN JUMLAH SEL GLIA
RATTUS NORVEGICUS
BARU LAHIR**

**NUR CHOLILA
NIM. 011824653006**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK IKAN KEMBUNG
(*Rastrelliger kanagurta*) SELAMA KEBUNTINGAN
TERHADAP EKSPRESI CASPASE-3
DAN JUMLAH SEL GLIA
RATTUS NORVEGICUS
BARU LAHIR**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister Kesehatan
Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh:

**NUR CHOLILA
NIM. 011824653006**

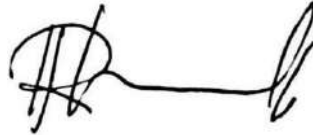
**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

iii

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISAHKAN
PADA TANGGAL 18 Januari 2021

Pembimbing Ketua



Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si
NIP. 1962091519900022001

Pembimbing II



Dr. Hermanto Tri Joewono, dr., Sp. OG (K)
NIP. 195601281986031009

Mengetahui,
Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Dr. Ashon Sa'adi, dr., Sp. OG (K)
NIP. 196712241997031003

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis ini diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada
Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
pada tanggal 18 Januari 2021

Panitia Penguji :

Ketua : Dr. Agus Sulistiyono, dr., Sp.OG (K)

Anggota : 1. Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si
2. Dr. Hermanto Tri Joewono, dr., Sp.OG (K)
3. Dr. Ernawati, dr., Sp.OG (K)
4. Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis yang berjudul :

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK IKAN KEMBUNG
(*Rastrelliger kanagurta*) SELAMA KEBUNTINGAN
TERHADAP EKSPRESI CASPASE-3
DAN JUMLAH SEL GLIA
RATTUS NORVEGICUS
BARU LAHIR**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, Desember 2020



Nur Cholila

NIM. 011824653006

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penelitian dengan judul “Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Kembung (*Rastrelliger kanagurta*) selama Kebuntingan terhadap Ekspresi Caspase-3 dan Jumlah Sel Glia *Rattus norvegicus* Baru Lahir“ dapat terselesaikan.

Dengan terselesainya penelitian ini, perkenankan penulis untuk mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Moh. Nasih, SE., MT., Ak., CMA., selaku Rektor Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan.
2. Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh pendidikan Program Magister.
3. Dr. Ashon Sa’adi, dr., Sp.OG (K)., selaku Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh pendidikan Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
4. Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si., selaku Pembimbing I yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran yang berharga dalam penyusunan penelitian ini.
5. Dr. Hermanto Tri Joewono, dr., Sp.OG (K)., selaku pembimbing II yang telah memberikan perhatian, dorongan, bimbingan dan saran yang berharga dalam penyusunan penelitian ini
6. Dr. Agus Sulistiyono, dr., Sp.OG (K)., selaku penguji tesis yang telah memberikan masukan dan saran untuk perbaikan tesis ini.
7. Dr. Ernawati, dr., Sp.OG (K)., selaku penguji tesis yang telah memberikan masukan dan saran untuk perbaikan tesis ini.
8. Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes., selaku penguji tesis yang telah memberikan masukan dan saran untuk perbaikan tesis ini.

9. Kedua orang tua, suami, anak dan saudara-saudaraku yang telah memberikan do'a dan dukungan untuk kesuksesan penulis hingga mampu menempuh pendidikan yang lebih tinggi.
10. Dr. H. Miftahul Munir, SKM., M.Kes., DIE., selaku ketua STIKES Nahdlatul Ulama Tuban yang telah memberikan ijin dan dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan tugas belajar ini dengan baik.
11. Seluruh keluarga besar STIKES Nahdlatul Ulama Tuban
12. Seluruh civitas akademika Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang telah membantu dalam menempuh pendidikan di program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi.
13. Asisten Dosen Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, atas bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini.
14. Teman-teman seperjuangan Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister tahun 2019.
15. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang turut adil dalam penyelesaian penelitian ini.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa memberikan balasan pahala atas segala amal baik yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna. Penulis berharap semoga penelitian ini memberikan manfaat bagi pembaca, masyarakat dan Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi.

Surabaya, Desember 2020

Penulis

RINGKASAN

**Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Kembung (*Rastrelliger kanagurta*)
Selama Kebuntingan terhadap Ekspresi Caspase 3 dan
Jumlah Sel Glia *Rattus norvegicus* Baru Lahir**

Nur Cholila

Setiap anak berhak atas perkembangan perilaku kognitif, sosial dan emosional yang optimal. Bagian kognitif, sosial dan emosional otak terus berkembang sepanjang daur kehidupan. Sebagian besar struktur dan kapasitas otak dibentuk sejak awal kehidupan sampai usia 3 tahun. Guna mewujudkan hal tersebut maka perlu diperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan otak sejak dini, salah satunya adalah penyediaan nutrisi yang optimal selama kehamilan. Kehamilan merupakan masa yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan janin. Semua nutrisi penting untuk pertumbuhan dan fungsi otak, salah satu nutrisi yang diidentifikasi memiliki peran penting dalam perkembangan saraf prenatal adalah asam lemak tak jenuh ganda atau *Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFA).

Asam lemak omega 3 seperti DHA (*Docosahexaenoic Acid*) dan EPA (*Eicosapentaenoic Acid*) harus diperhatikan kecukupannya selama proses pertumbuhan dan perkembangan. Asam lemak omega 3 dibutuhkan untuk sintesis molekul lemak kompleks yang digunakan untuk menyusun membran sel neuron dan glia, serta molekul pemberi sinyal seluler. *Asam Docosahexaenoic* yang terkandung dalam omega 3 membantu beberapa proses perkembangan otak, termasuk neurogenesis, sinaptogenesis, plastisitas otak, pensinyalan inflamasi, pelindung saraf, mencegah apoptosis.

Sumber pangan, ikan memiliki kandungan gizi yang sangat baik seperti protein, asam lemak omega 3 dan, vitamin, serta berbagai mineral yang sangat bermanfaat bagi ibu dan janin. Salah satu hasil laut yang cukup melimpah adalah ikan kembung (*Rastrelliger kanagurta*). Kandungan ikan kembung adalah sebagai berikut DHA 10,62%, EPA 4,85% dan AA 3,17%. Ikan kembung tersedia di pasar tradisional maupun di supermarket dengan harga yang murah sehingga terjangkau oleh masyarakat.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan ekspresi caspase 3 dan jumlah sel glia (astrosit, oligodendrosit dan microglia) di *cerebrum* dan *cerebellum* *Rattus norvegicus* baru lahir pada kelompok minyak ikan kembung, suplemen omega 3 dan kelompok kontrol. Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *post test only control group* menggunakan hewan coba *Rattus norvegicus* bunting sebanyak 30 ekor yang dilakukan randomisasi dan dibagi menjadi 3 kelompok. Masing-masing kelompok diberi perlakuan yang berbeda, kelompok kontrol diberi pakan standar, kelompok perlakuan diberi minyak ikan kembung dan kelompok perlakuan diberi suplemen omega 3. Minyak ikan dan suplemen omega 3 diberikan sebanyak 3,24 mg/ 120 gr BB/ hari. Perlakuan diberikan pada 1-17 hari kebuntingan kemudian pada hari ke 18 dilakukan pembedahan. Setiap induk diambil 3 anak dengan bobot terberat, sedang dan ringan kemudian dikorbankan dan diambil jaringan otaknya untuk dibuat sediaan. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan imunohistokimia untuk

menghitung ekspresi caspase 3 dengan *Immuno Reactive Score* (IRS) dan pewarnaan *Hematoksin-Eosin* untuk menilai jumlah sel glia.

Hasil rerata dan standar deviasi ekspresi caspase 3 di *cerebrum* dan *cerebellum* $4,48 \pm 1,04$ dan $4,95 \pm 1,54$ untuk kelompok kontrol, $2,50 \pm 0,63$ dan $2,50 \pm 1,00$ untuk kelompok minyak ikan kembang serta $3,43 \pm 1,23$ dan $3,66 \pm 1,05$ untuk kelompok suplemen omega 3. Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk masing-masing kelompok didapatkan semua data berdistribusi normal dan kemudian dilakukan uji statistik dengan *Anova* di dapatkan nilai $< 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan signifikan pada ekspresi caspase 3 di *cerebrum* dan *cerebellum* *Rattus norvegicus* baru lahir antar kelompok kontrol, minyak ikan kembang dan suplemen omega 3.

Hasil rerata dan standar deviasi jumlah sel astrosit di *cerebrum* dan *cerebellum* $90,58 \pm 23,99$ dan $95,48 \pm 19,09$ untuk kelompok kontrol, $174,46 \pm 33,78$ dan $156,28 \pm 34,98$ untuk kelompok minyak ikan kembang serta $120,16 \pm 34,36$ dan $124,86 \pm 33,23$ untuk kelompok suplemen omega 3. Rerata dan standar deviasi jumlah sel oligodendrosit di *cerebrum* dan *cerebellum* $9,10 \pm 3,19$ dan $7,88 \pm 2,92$ untuk kelompok kontrol, $21,08 \pm 6,94$ dan $22,26 \pm 4,30$ untuk kelompok minyak ikan kembang serta $15,78 \pm 5,69$ dan $13,24 \pm 1,73$ untuk kelompok suplemen omega 3. Rerata dan standar deviasi jumlah sel mikroglia di *cerebrum* dan *cerebellum* $6,52 \pm 2,13$ dan $6,46 \pm 1,69$ untuk kelompok kontrol, $11,30 \pm 2,09$ dan $11,06 \pm 2,38$ untuk kelompok minyak ikan kembang serta $8,36 \pm 1,07$ dan $8,54 \pm 2,27$ untuk kelompok suplemen omega 3. Data tersebut kemudian dilakukan uji normalitas dan uji statistik. Hasil uji statistik menunjukkan terdapat perbedaan signifikan jumlah sel glia (astrosit, oligodendrosit dan mikroglia) di *cerebrum* dan *cerebellum* *Rattus norvegicus* baru lahir antar kelompok kontrol, minyak ikan kembang dan suplemen omega 3 dengan nilai $p < 0,05$.

Kesimpulan hasil penelitian ini adalah ekspresi caspase 3 di *cerebrum* dan *cerebellum* *Rattus norvegicus* baru lahir secara berturut-turut paling rendah pada kelompok yang diberi minyak ikan kembang, kelompok suplemen omega 3, kelompok kontrol. Sedangkan jumlah sel glia (astrosit, oligodendrosit dan mikroglia) di *cerebrum* dan *cerebellum* *Rattus norvegicus* baru lahir secara berturut-turut paling tinggi pada kelompok yang diberi minyak ikan kembang, kelompok suplemen omega 3, kelompok kontrol

SUMMARY

The Effect of Giving Mackerel Oil (*Rastrelliger kanagurta*) During Pregnancy Towards the Expression of Caspase 3 and the Number of Glia Cells Cerebrum and Cerebellum of the Newly born *Rattus Norvegicus*

Nur Cholila

Every child has the right to get the optimum development of cognitive, social and emotional behaviors. The cognitive, social and emotional parts of the brain keep developing through the whole life cycles. Most of the brain structures and capacity are formed from the beginning of someone's life until his or her three years old of age. To make those things happen, there are several factors which need to be taken care of, especially the factors which really influence the development of the brain since very early. One of those factors is the optimal nutrition supply during pregnancy. The pregnancy period constitutes an important epoch for the growth and development for the fetus. All of the nutrition is indispensable for the development and functions of the brain. One of the nutrients identified to have important roles in prenatal nerve development is multiple unsaturated fatty acids or Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA).

Omega 3 fatty acids such as DHA (Docosahexaenoic Acid) dan EPA (Eicosapentaenoic Acid) should be sufficiently provided during the growth and development. Omega 3 fatty acids are required for complex synthetic fatty molecules, which are used for constructing neuron cell membrane and glia, as well as cellular signal creator. DHA (Docosahexaenoic Acid) contained in the Omega 3 helps the brain developing process in some ways, including neurogenesis, synaptogenesis, brain plasticity, inflammation signaling, nerve protection, apoptosis prevention.

As the food sources, fish have very good nutritious contents such as protein, Omega 3 fatty acids, and vitamins as well as many kinds of minerals, which are very advantageous for the pregnant mother and her fetus. One of the abundant sea products is mackerel fish (*Rastrelliger kanagurta*). Mackerel fish contents are as follows: DHA 10,62%, EPA 4,85% and AA 3,17%. Mackerel fish are available in either traditional markets or supermarkets with the relatively competitive price so that they will be affordable for common people.

This research is aimed to compare and contrast the caspase 3 expression dan the number of glia cells (astrocyte, oligodendrocyts dan microglia) in cerebrum and cerebellum of the newly born *Rattus norvegicus* within the group of mackerel oil, omega 3 supplementary and the controlling group. This research constitutes the type of laboratory experimental research by using the design of post test only control group by means of animal experimentation of 30 pregnant *Rattus norvegicus*. As many as 30 pregnant *Rattus norvegicus* are randomized and then divided into three groups. Each of the groups is given different treatment. The controlling group is given the standard food, the treatment group is given mackerel fish oil whereas the treatment group is give omega 3 supplementary. The mackerel fish oil and the omega 3 supplementary which are given are 3,24 mg/120 gram per day. The treatment was carried out on the first until the seventeenth

day of the pregnancy. In turn, on the eighteenth day of the pregnancy, an operation was performed. From each mother, three babies which were the heaviest, the medium and the lightest or smallest were taken, and then slaughtered. From these three babies, the brain tissues were taken as the preparation. After that, an immunohistochemical examination was performed in order to calculate the caspase 3 expression by means of Immuno Reactive Score (IRS) and Hematoxilin-Eosin for evaluating the number of glia cells.

The average findings and deviation standard of the expressions of caspase 3 in cerebrum and cerebellum are as follows: $4,48 \pm 1,04$ and $4,95 \pm 1,54$ for the controlling group, $2,50 \pm 0,63$ and $2,50 \pm 1,00$ for the mackerel fish oil group, and also $3,43 \pm 1,23$ and $3,66 \pm 1,05$ for the omega 3 supplementary group. Normality test was applying Shapiro-Wilk for each of the groups. It was revealed that all of the data are normally distributed and then statistical test by using Anova was carried out. From this test, it was obtained the value of $<0,05$, which means that there is a significantly different expression of caspase 3 in cerebrum and cerebellum of the newly born mackerel fish or *Rattus norvegicus*, among the three groups, that is to say, the controlling, and the mackerel fish oil, and the omega 3 supplementary groups.

The average results and deviation standard concerning the number of astrocyte cells in cerebrum and cerebellum are as follows: $90,58 \pm 23,99$ and $95,48 \pm 19,09$ for the controlling group, $174,46 \pm 33,78$ and $156,28 \pm 34,98$ for the mackerel fish oil group, and also $120,16 \pm 34,36$ and $124,86 \pm 33,23$ for the omega 3 supplementary group. The average results and deviation standard concerning the number of oligodendrocyte cells in cerebrum and cerebellum are as follows: $9,10 \pm 3,19$ and $7,88 \pm 2,92$ for the controlling group; $21,08 \pm 6,94$ and $22,26 \pm 4,30$ for the mackerel fish oil group, and also $15,78 \pm 5,69$ and $13,24 \pm 1,73$ for the omega 3 supplementary group. The average results and deviation standard concerning the number of microglia cells in cerebrum and cerebellum are as follows: $6,52 \pm 2,13$ and $6,46 \pm 1,69$ for the controlling group; $11,30 \pm 2,09$ and $11,06 \pm 2,38$ for the mackerel fish oil group, and also $8,36 \pm 1,07$ and $8,54 \pm 2,27$ for the omega 3 supplementary group. Towards the data mentioned above, the normality and statistical tests are then performed. The results of the statistical test revealed that there is significant difference in terms of the number of glia cells (astrocyte, oligodendrocyte and microglia cells) in cerebrum and cerebellum of the newly born mackerel fish or *Rattus norvegicus* among the groups of controlling, mackerel fish oil and omega 3 supplementary with the value of $p < 0,05$.

The conclusion of this research is that the caspase 3 expression in cerebrum and cerebellum of the newly born *Rattus norvegicus* consecutively the lowest in the group given mackerel fish oil, omega 3 supplementary group, controlling group. Whereas the number of glia cells (astrocyte, oligodendrocyte and microglia cells) in cerebrum and cerebellum of the newly *Rattus norvegicus* consecutively the highest in the mackerel fish oil group, omega 3 supplementary group, controlling group.