

TESIS

**PENGARUH PAPARAN STRES SELAMA MASA
KEBUNTINGAN TERHADAP PERBEDAAN EKSPRESI
CASPASE-3, JUMLAH SEL GLIA *CEREBRUM* DAN
CEREBELLUM MENCIT (*MUS MUSCULUS*)
BARU LAHIR**



**BINTA DWI NOVITASARI
NIM. 011824653009**

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

TESIS

**PENGARUH PAPARAN STRES SELAMA MASA
KEBUNTINGAN TERHADAP PERBEDAAN EKSPRESI
CASPASE-3, JUMLAH SEL GLIA CEREBRUM DAN
CEREBELLUM MENCIT (MUS MUSCULUS)
BARU LAHIR**

**BINTA DWI NOVITASARI
NIM. 011824653009**

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

**PENGARUH PAPARAN STRES SELAMA MASA
KEBUNTINGAN TERHADAP PERBEDAAN EKSPRESI
CASPASE-3, JUMLAH SEL GLIA CEREBRUM DAN
CEREBELLUM MENCIT (MUS MUSCULUS)
BARU LAHIR**

TESIS

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

Oleh :

**BINTA DWI NOVITASARI
NIM. 011824653009**

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

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS YANG TELAH DISAHKAN
PADA TANGGAL, 31 MEI 2021

Oleh
Pembimbing I



Dr. Hermanto Tri Joewono, dr., SpOG (K)

NIP. 19560128 198603 1 009

Pembimbing II



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

NIP. 19620915 199002 2 001

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



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

NIP. 19671224 199703 1 003

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 31 Mei 2021

Panitia penguji :

Ketua Penguji :

1. Muhammad Miftahussurur, dr., M.Kes., Sp.PD., Ph.D. FINASIM

Anggota :

2. Dr. Ernawati, dr., Sp.OG (K)

3. Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes

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

5. Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si

PERNYATAN KEASLIAN PENELITIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul :

**PENGARUH PAPARAN STRES SELAMA MASA KEBUNTINGAN
TERHADAP PERBEDAAN EKSPRESI CASPASE-3, JUMLAH SEL
GLIA CEREBRUM DAN CEREHELLUM MENCIT
(*MUS MUSCULUS*) 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 orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka

Surabaya, 31 Mei 2021



Binta Dwi Novitasari
NIM. 011824653009

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis dengan judul “Pengaruh Paparan Stres Selama Masa Kebuntingan Terhadap Perbedaan Ekspresi Caspase-3, Jumlah Sel Glia *Cerebrum* Dan *Cerebellum* Mencit (*Mus Musculus*) Baru Lahir.” dapat terselesaikan.

Saya telah banyak mendapatkan dukungan, bimbingan, petunjuk, dan bantuan dari berbagai pihak dalam penyusunan usulan penelitian ini, untuk itu pada kesempatan ini saya 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. Soetojo, dr., Sp.U (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya terdahulu yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menenpuh pendidikan Program Magister.
3. Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan pendidikan Program Magister.
4. Dr. Ashon Sa’adi, dr., Sp.OG (K) selaku Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya
5. Dr. Hermanto Tri Joewono, dr., Sp.OG (K) selaku Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga terdahulu, serta sebagai pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam penyusunan usulan penelitian ini.
6. Prof. Dr. Widjiati, drh.,M.Si, selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam penyusunan usulan penelitian ini
7. Dr. Ernawati, dr., Sp.OG (K) selaku penguji dalam usulan penelitian yang telah memberikan saran untuk perbaikan usulan penelitian ini.
8. Muhammad Miftahussurur, dr., Sp.PD., M.Kes., Ph.D, FINASM selaku penguji dalam usulan penelitian yang telah memberikan saran untuk perbaikan usulan penelitian ini.

9. Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes, selaku penguji dalam usulan penelitian yang telah memberikan saran untuk perbaikan usulan penelitian ini.
10. Semua Dosen dan Staf di Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu, bimbingan serta arahan selama mengikuti pendidikan.
11. Semua Staf Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah membantu selama penelitian berlangsung sampai selesainya penyusunan tesis ini.
12. Orangtua, Kakak dan Calon Suami tercinta yang telah memberikan dukungan baik moral maupun material sehingga terselesaikannya tesis ini.
13. Sahabatku tercinta, Diana Estu Rumahastuti dan Herlina Puji Angesti yang saling memberikan semangat, bantuan dan doa-doanya sehingga kita bisa menyelesaikan tesis ini.
14. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang turut adil dalam penyelesaian usulan penelitian ini.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa memberikan balasan pahala atas segala amal baik yang telah diberikan dan semoga makalah ini berguna bagi semua pihak yang memanfaatkan. Saya menyadari bahwa usulan penelitian ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kritik dan saran sangat saya harapkan

Surabaya, 31 Mei 2021

Penulis

RINGKASAN

**PENGARUH PAPARAN STRES SELAMA MASA KEBUNTINGAN
TERHADAP PERBEDAAN EKSPRESI CASPASE-3, JUMLAH SEL
GLIA CEREBRUM DAN CEREbellum MENCIT
(*MUS MUSCULUS*) BARU LAHIR**

Binta Dwi Novitasari

Stres pada masa kehamilan tidak hanya memiliki dampak negatif pada kelangsungan kehamilan, namun juga dapat mempengaruhi janin mengakibatkan berat badan lahir rendah, prematuritas dan gangguan perkembangan otak. Ketika stresor dirasakan, hipotalamus melepaskan (*corticotrophin-releasing hormone* CRH) yang bekerja pada hipofisis anterior untuk mendorong sekresi hormon adrenokortikotropik (ACTH). Hormon ini kemudian merangsang korteks adrenal untuk melepaskan glukokortikoid (GC) ke dalam aliran darah.

GC memiliki beragam efek pada otak. Bagian otak kecil (*cerebellum*) memiliki banyak reseptor glukokortikoid terutama pada lamina granular eksterna. *Cerebrum* dan *cerebellum* saling berhubungan melalui polisinaptik, membentuk suatu sistem yang terkait dengan fungsi kognitif dan gangguan neuropsikiatri. Glukokortikoid yang tinggi akan menurunkan ekspresi BDNF dan merangsang pengeluaran protein pro apoptosis yang akan mengaktifasi caspase-3. Peningkatan aktifitas apoptosis sel otak akan menurunkan jumlah sel penyusun sistem saraf pusat yaitu sel neuron dan sel glia. Jumlah sel glia dan rasio glia-neuron lebih banyak dikaitkan dengan perkembangan fungsi otak yang lebih tinggi.

Pada studi hewan coba, perbedaan jenis paparan stres akan menghasilkan respon yang berbeda. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa terjadi peningkatan kortikosteron pada tikus bunting yang di renangkan secara paksa. Peningkatan kadar kortikosteron juga terjadi pada tikus bunting yang dipapar dengan suara bising 90 dB dengan frekuensi 3000 Hz. Paparan stres dapat bersifat fisik, psikis atau kombinasi keduanya.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perbedaan ekspresi caspase-3 dan jumlah sel glia di *cerebrum* dan *cerebellum* anak mencit (*Mus musculus*) baru lahir antara yang dipapar stresor fisik (renang paksa), stresor psikis (suara gaduh) maupun yang dipapar perpaduan stresor fisik dan psikis selama kebuntingan.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan *randomized post test only control group design*. Subyek penelitian dibagi menjadi empat kelompok yang dipilih secara acak yaitu kelompok paparan stres fisik (renang paksa selama 5 menit per hari), kelompok paparan stres psikis (suara gaduh dengan intensitas 90 dB sehari sekali selama 1 jam), kelompok paparan stres perpaduan (suara gaduh 90 dB selama 1 jam kemudian diberi jeda 5 menit lalu direnangkan selama 5 menit per hari), dan kelompok terakhir merupakan

kelompok kontrol yang tidak mendapat paparan stres, pemberian paparan dilakukan pada kebuntingan hari ke 6-15. Digunakan hewan coba *Mus musculus* sebagai model mencit bunting yang diberikan paparan stres menggantikan wanita hamil untuk penelitian. Pada kebuntingan hari ke-16, anak mencit dilahirkan secara *sectio caesarea* (SC). Dipilih dari masing-masing induk sebanyak 3 ekor dengan bobot paling berat, sedang dan paling rendah, kemudian otak anak *Mus musculus* di dekapitasi dan diseksi otaknya untuk pemeriksaan ekspresi caspase-3 dengan *immunohistokimia* dan untuk pemeriksaan jumlah sel glia dengan *hyematoxylin-eosin* kemudian jaringan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

Hasil pemeriksaan ekspresi caspase-3 dan jumlah sel glia di *cerebrum* dan *cerebellum* *Mus musculus* baru lahir yang induknya dipapar stresor fisik, psikis dan perpaduan psikis dan fisik selama kebuntingan menunjukkan hasil rerata ekspresi caspase-3 di *cerebrum*, tertinggi pada kelompok paparan stres perpaduan fisik dan psikis 8.67 ± 1.09 dan terendah pada kelompok kontrol 4.17 ± 1.18 . Sedangkan di *cerebellum* tertinggi pada kelompok paparan stres perpaduan fisik dan psikis 9.30 ± 1.12 dan terendah pada kelompok kontrol 3.90 ± 1.06 . Rerata jumlah sel glia per 5x lapang pandang dengan pembesaran 400x di *cerebrum*, terendah pada kelompok paparan stres perpaduan fisik dan psikis (Astrosit 15.17 ± 1.00 , Oligodendrosit 14.50 ± 1.33 , Mikroglia 13.80 ± 0.73). Sedangkan di *cerebellum* tertinggi pada kelompok paparan stres perpaduan psikis dan fisik (Astrosit 15.03 ± 0.92 , Oligodendrosit 15.43 ± 1.60 , Mikroglia 11.63 ± 0.87). Hasil uji Anova menunjukkan ada perbedaan bermakna ekspresi caspase-3 dan jumlah sel glia (Astrosit, Oligodendrosit dan Mikroglia) antara kelompok perlakuan dengan kontrol di *cerebrum* dan *cerebellum* dengan $p < 0.05$.

Kesimpulan penelitian ini adalah paparan stres fisik dan psikis selama masa kebuntingan dapat meningkatkan ekspresi caspase-3 dan menurunkan jumlah sel glia di *cerebrum* dan *cerebellum* mencit baru lahir.

Saran penelitian ini adalah dibutuhkan penelitian lanjutan dampak jangka panjang paparan stres selama masa kebuntingan terhadap kecerdasan anak mencit, karena penurunan jumlah sel glia dikaitkan dengan penurunan tingkat kecerdasan.

SUMMARY

**THE EFFECT OF STRESS EXPOSURE DURING PREGNANCY TO
DIFFERENCES IN CASPASE-3 EXPRESSION, NUMBER OF GLIAL
CELLS IN CEREBRUM AND CEREBELLUM OF MICE (*MUS
MUSCULUS*) NEWBORN**

Binta Dwi Novitasari

Stress during pregnancy not only has a negative impact on the survival of pregnancy, but can also affect the fetus resulting in low birth weight, prematurity and impaired brain development. When the hypothalamus detects a stressor, it releases (corticotrophin-releasing hormone CRH), which stimulates the anterior pituitary to secrete adrenocorticotrophic hormone (ACTH). The adrenal cortex then releases glucocorticoids (GC) into the bloodstream as a result of this hormone's stimulation.

GC has a variety of effects on the brain. The cerebellum has many glucocorticoid receptors, especially on the external granular lamina. Polysynaptic connections bind the cerebrum and cerebellum, forming a mechanism linked to cognitive performance and neuropsychiatric disorders. High glucocorticoids will reduce BDNF expression and stimulate pro-apoptotic protein release which will activate caspase-3. Increased apoptotic activity in brain cells will diminish the amount of neurons and glial cells that make up the central nervous system. More glial cell counts and the glia-neuron ratio were associated with higher development of brain function.

Corticosterone levels in pregnant rats who are forced to swim have been found to increase in previous studies. Increased corticosterone levels also occurred in pregnant rats exposed to a 90 dB noise with a frequency of 3000 Hz. Exposure to stress can be physical, psychological or a combination of the two.

This study was a laboratory experimental study with a randomized post test only control group design. The research subjects were divided into four randomly selected groups, namely the physical stress exposure group (forced swimming for 5 minutes per day), the psychological stress exposure group (90 dB noise once a day for 1 hour), the combined stress exposure group (noise 90 dB for 1 hour then given a pause of 5 minutes then soaked for 5 minutes per day), and the last group was a control group that did not get stress exposure, giving exposure was carried out on pregnancy days 6-15. Animal used *Mus musculus* as a model of pregnant mice given stress exposure replace pregnant women for the study. On the 16th day of pregnancy, the mice were born by sectio caesarea (SC). Selected from each parent as many as three with the heaviest, medium and lowest weights, then the brain of the child was *Mus musculus* decapitated and the brain dissected. for

checking the caspase-3 expression by immunohistochemistry and for examination of the glial cell count with hyematoxylin-eosin, then the tissue was observed under a microscope with a magnification of 400 times.

The results of the examination of caspase-3 expression and the number of glial cells in the cerebrum and cerebellum *Mus musculus* newborn whose mothers were exposed to physical, psychological stressors and a combination of psychological and physical during pregnancy showed that the mean caspase-3 expression in the cerebrum, the highest in the group of exposure to combined psychological and physical stress was 8.67 ± 1.09 and the lowest in the control group was 4.17 ± 1.18 . Whereas in the cerebellum, the highest in the group of exposure to physical and psychological stress mixture was 9.30 ± 1.12 and the lowest was in the control group 3.90 ± 1.06 . The mean number of glial cells per 5x visual field with 400x magnification in the cerebrum was the lowest in the combined psychological and physical stress exposure group (Astrocyte 15.17 ± 1.00 , Oligodendrocyte 14.50 ± 1.33 , Microglia 13.80 ± 0.73). Meanwhile, the cerebellum highest was in the group of exposure to psychological and physical stress (Astrosit 15.03 ± 0.92 , Oligodendrocyte 15.43 ± 1.60 , Microglia 11.63 ± 0.87). ANOVA test results showed no significant differences in the expression of caspase-3 and the number of glial cells (Astrocytes, oligodendrocyte and microglia) between the treatment groups with control in the cerebrum and cerebellum with $p < 0.05$.

The conclusion of this study is that exposure to psychological and physical stress during pregnancy can increase caspase-3 expression and decrease the number of glial cells in the cerebrum and cerebellum of *Mus musculus* newborn.

The suggestion of this research is that further research is needed on the long-term impact of stress exposure during pregnancy on the intelligence of mice, because a decrease in the number of glial cells is associated with a decrease in the level of intelligence.