

TESIS

**PEMBERIAN ANTIOKSIDAN BUAH MERAH (*Pandanus
conoideus* Lam) TERHADAP EKSPRESI CASPASE-8 DAN
JUMLAH SEL *HOFBAUER* PADA MENCIT (*Mus
musculus*) BUNTING SEBELUM DIPAPAR
PLUMBUM (Pb)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



Oleh

IKA WAHYUNI
NIM. 061414153007

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU BIOLOGI REPRODUKSI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2016**

TESIS

**PEMBERIAN ANTIOKSIDAN BUAH MERAH (*Pandanus
conoideus* Lam) TERHADAP EKSPRESI CASPASE-8 DAN
JUMLAH SEL *HOFBAUER* PADA MENCIT (*Mus
musculus*) BUNTING SEBELUM DIPAPAR
PLUMBUM (Pb)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



Oleh:

IKA WAHYUNI
NIM. 061414153007

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU BIOLOGI REPRODUKSI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2016**

**PEMBERIAN ANTIOKSIDAN BUAH MERAH (*Pandanus
conoideus* Lam) TERHADAP EKSPRESI CASPASE-8 DAN
JUMLAH SEL *HOFBAUER* PADA MENCIT (*Mus
musculus*) BUNTING SEBELUM DIPAPAR
PLUMBUM (Pb)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

**untuk memperoleh gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi
pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Surabaya**

**IKA WAHYUNI
NIM 061414153007**

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU BIOLOGI REPRODUKSI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2016**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul:

**PEMBERIAN ANTIOKSIDAN BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lam)
TERHADAP EKSPRESI CASPASE-8 DAN JUMLAH SEL HOFBAUER
PADA MENCIT (*Mus musculus*) BUNTING SEBELUM DIPAPAR
PLUMBUM (Pb)**

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, 18 Februari 2016



Ika Wahyuni

NIM 061414153007

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
Tanggal 18 Februari 2016

Oleh :

Pembimbing Ketua

Prof. Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si.

NIP. 196310021989032003

Pembimbing Serta

Prof. Dr. Fedik Abdul Kalam, drh

NIP. 195910031987011001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Dr. Rimayanti, drh., M.Kes.

NIP. 196303121988032003

v

Usulan Penelitian Tesis ini Telah diuji dan dinilai pada

Tanggal : 18 Februari 2016

PANITIA PENGUJI USULAN PENELITIAN TESIS

Ketua : Dr. Widjiati, drh., M.Si.

Anggota : 1. Dr. Suherni Susilowati, drh., M.Kes.
2. Dr. Rimayanti, drh., M.Kes
3. Prof. Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si.
4. Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh

Surabaya, 18 Februari 2016

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan



Prof. Dr. Pujji Srianto, drh., M.Kes.
NIP. 195601051986011001

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan tesis dengan judul **PEMBERIAN ANTIOKSIDAN BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lam) TERHADAP EKSPRESI CASPASE-8 DAN JUMLAH SEL HOFBAUER PADA MENCIT (*Mus musculus*) BUNTING SEBELUM DIPAPAR PLUMBUM (Pb).**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si. selaku pembimbing pertama dan Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh selaku pembimbing kedua atas saran dan bimbingannya sampai selesainya tesis ini.

Dr. Widjiati, drh., M.Si selaku ketua penguji dan ketua proyek penelitian, Dr. Suherni susilowati, drh., M. Kes selaku sekretaris penguji dan Dr. Rimayanti, drh., M.Kes selaku anggota penguji dan Ketua Program Studi Magister Ilmu Biologi Reproduksi yang telah memberikan saran dan bimbingan. Suryo Kuncorojakti, drh., M.Si yang telah membantu dalam pembacaan preparat histopatologi. Serta penulis juga mengucapkan terima kasih juga kepada seluruh staf pengajar Program Studi Magister Ilmu Biologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan yang diberikan selama mengikuti pendidikan di Program Magister Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Kedua orangtuaku Bapak Slamet Wahyudi dan Ibu Sumijah yang selalu memberikan do'a, nasehat, motivasi dan bimbingan dalam penyusunan makalah ini. Serta adik-adikku tercinta Yudha Jarod Krisnawan dan Rischi Nur Meilia yang telah memberikan semangat.

Kepada sahabatku sekaligus rekan penelitian Portia Sumarsono, drh. yang saling memberikan semangat dalam menjalani penelitian dan penyusunan tesis dalam suka maupun duka. Terimakasih penulis ucapkan kepada Dewita, Ronal Toga Sibarani dan teman-teman lainnya yang telah banyak membantu di laboratorium Embriologi. Teman-teman IBR angkatan 2014 serta semua pihak terkait yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu atas semangat dan dukungan kepada saya dalam penulisan tesis ini.

Penulis menyadari masih terdapat kekurangan dalam penyusunan tesis ini untuk itu saran dan kritik yang sifatnya membangun sangat penulis harapkan. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Surabaya, Februari 2016

Penulis

RINGKASAN

PEMBERIAN ANTIOKSIDAN BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lam) TERHADAP EKSPRESI CASPASE-8 DAN JUMLAH SEL *HOFBAUER* PADA MENCIT (*Mus musculus*) BUNTING SEBELUM DIPAPAR PLUMBUM (Pb).

Plumbum merupakan salah satu logam berat yang dapat menyebabkan efek toksik bagi tubuh. Plumbum dikategorikan dalam senyawa nanopartikel yang sangat berbahaya karena dapat menginduksi terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS). Produksi ROS yang meningkat dalam tubuh dapat menyebabkan stress oksidatif dan memicu terjadinya apoptosis. Efek toksik plumbum terhadap fetus terjadi melalui barier plasenta. Pemberian antioksidan buah merah yang berfungsi sebagai preventif diharapkan dapat mencegah terjadinya apoptosis melalui penghambatan ROS.

Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan pengaruh pemberian antioksidan buah merah pada plasenta mencit bunting yang diintoksikasi plumbum berdasarkan ekspresi caspase-8 dan jumlah sel *hofbauer*.

Penelitian ini merupakan suatu studi eksperimental laboratorik dengan lima kelompok perlakuan dan 4 kali ulangan yang menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) bunting. Mencit berumur tiga bulan, berat badan 20-25 gram. Penelitian dimulai dengan mengawinkan mencit betina dengan mencit jantan secara monomating. Kelompok kontrol positif diberi plumbum dengan dosis 0,011 mg/20 g BB dalam 1 ml aquades yang diberikan secara peroral pada kebuntingan ke 6-15 hari. Kelompok perlakuan, mencit diberi antioksidan buah merah dengan dosis 0.3 ml/20 g BB, 0.8 ml/20 g BB and 0.9 ml/20 g BB secara peroral dan satu jam kemudian diberi plumbum. Setelah semua diberikan perlakuan, tahap selanjutnya yaitu pembuatan sediaan preparat untuk pemeriksaan sel *hofbauer* dengan metode pewarnaan hematoksilin eosin (HE) dan ekspresi caspase-8 dengan metode pewarnaan imunohistokimia.

Rancangan penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Jumlah sel *hofbauer* dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) yang menunjukkan hasil signifikan dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Perhitungan ekspresi caspase-8 menggunakan Indeks Skala Remmele yang telah dimodifikasi. Data hasil perhitungan dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis menunjukkan hasil yang signifikan, selanjutnya diuji Mann-Whitney untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

Hasil penelitian pada kelompok perlakuan yang diberi antioksidan buah merah dengan dosis 0.8 ml/20 g BB dan 0.8 ml/20 g BB menunjukkan penurunan jumlah sel *hofbauer* dan ekspresi caspase-8. Dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa pemberian antioksidan buah merah.

Kesimpulan penelitian ini adalah Pemberian antioksidan buah merah pada plasenta mencit bunting sebelum dipapar plumbum dapat menurunkan jumlah sel *hofbauer*. Pemberian antioksidan buah merah pada plasenta mencit bunting sebelum dipapar plumbum dapat menurunkan ekspresi caspase-8.

SUMMARY

THE PROVISION OF ANTIOXIDANT RED FRUIT (*Pandanus conoideus* Lam) TO EXPRESSION OF CASPASE-8 AND THE NUMBER OF HOFBAUER CELLS IN PREGNANT MICE BEFORE EXPOSED BY PLUMBUM

Plumbum is one of heavy metal that caused toxicity for health. Plumbum is very dangerous nanoparticles compound as it can induce *Reactive Oxygen Species* (ROS). Increase of ROS in the body can cause oxidative stress and trigger apoptosis. Toxic effect of plumbum against fetus occurred through barrier the placenta. The provision of antioxidant red fruit that serves as preventive expected to prevent apoptosis through inhibition of ROS.

This study aimed to explain the influence of provision of antioxidant red fruit in the mice pregnant placenta that exposed by plumbum based on expression caspase-8 and the number of hofbauer cells.

This study was a laboratory experimental case with five treatment groups and four replication were using female mice (*Mus musculus*) by the age of three months, body weight 20-25 grams animal research. The study began by mating female mice with male mice. The positive control group of plumbum exposed to a dose of 0,011 mg/20 g BW in 1 ml destiled water orally start gestation day 6th until 15th. However the treatment group, pregnant mice provided red fruit antioxidant to a dose 0.3 ml/20 g BW, 0.8 ml/20 g BW and 0.9 ml/20 g BW orally and one hour later given plumbum. The next step was preparation of *hofbauer* cells and imunohistochemistry staining for examining caspase-8 and HE staining to calculate the number of *hofbauer* cells

The experimental design of this study used was complete randomized design. The expression of caspase-8 was calculated by modified Remmele Scala Index. The data was analyzed byKruskal-Wallis test and it was continued by MannWhitney test to to know the differences between groups.The number of hofbauer cells was analized by analysis of varian (ANOVA) and the result was significant. Then continued by Duncan test to know the differences between groups.

The result indicated that treatment groups which provided the red fruit antioxidant of 0.8 ml/20 g BW and 0.9 ml/20 g BW showed decrease expression of caspase-8 and number of *hofbauer* cells compare control group without given red fruit antioxidant and P1.

The conclusion of his study is antioxidant red fruit can decrease expression of caspase-8 and the number of *hofbauer* cells.

THE PROVISION OF RED FRUIT ANTIOXIDANT (*Pandanus conoideus* Lam) TO EXPRESSION OF CASPASE-8 AND THE NUMBER OF HOFBAUER CELLS IN PREGNANT MICE BEFORE EXPOSED BY PLUMBUM

IKA WAHYUNI

The research aims to observed the provision of red fruit antioxidant in placenta pregnant mice before exposed by plumbum. The observed case are expression of caspase-8 and number of hofbauer cells. Red fruit was expected to decrease expression of caspase-8 and number of hofbauer cells. The study design used was complete randomized design and samples in this study were 35 pregnant female mice and 35 male mice (*Mus musculus*). Each treatment utilized 4 pregnant mice as negative control group (K-), for this group given distilled water orally during gestation 6th-15th. Positive control group (K+) given plumbum to a dose of 0,011 mg/20 g BW in 1 ml distilled water orally during gestation 6th-15th. The treatment group (P1, P2 dan P3) provided by red fruit with different doses were 0.3 ml/20 g BW, 0.8 ml/20 g BW and 0.9 ml/20 g BW orally during gestation 6th-15th, then one hour later exposed with plumbum. The obtained data were analyzed by Kruskal-Wallis and Mann Whitney test for calculate caspase-8 expression, ANOVA and Duncan for calculate the number of hofbauer cells. The both analysis were signifikan. The result indicated that treatment groups which provided by red fruit antioxidant of 0.8 ml/20 g BW and 0.9 ml/20 g BW showed decline expression of caspase-8 and number of hofbauer cells compare control group without provision red fruit antioxidant and P1. The conclusion of this study is antioxidant red fruit can decrease expression of caspase-8 and number of hofbauer cell.

Keyword: Plumbum, Red fruit antioxidant, Caspase-8, Hofbauer cell.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DALAM	ii
PRASYARAT GELAR.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
PERSETUJUAN	v
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
RINGKASAN	ix
SUMMARY	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Teoritis	5
1.4.2 Manfaat Praktis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Apoptosis	7
2.2 Caspase.....	10
2.3 Sel <i>Hofbauer</i>	12
2.4 Buah Merah.....	15
2.4.1 Buah Merah sebagai Antioksidan	16
2.4.2 Karotenoid dan Tokoferol	18
2.5 Radikal Bebas Dan ROS.....	20
2.6 Plumbum.....	22
2.6.1 Sifat Fisika Dan Kimia Plumbum.....	22
2.6.2 Metabolisme Plumbum Dalam Tubuh.....	23
2.6.3 Efek Plumbum Terhadap Plasenta.....	26
2.7 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	26
2.7.1 Klasifikasi Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	26
2.7.2 Sistem Reproduksi Mencit.....	29

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	31
3.1 Kerangka Konseptual	31
3.2 Hipotesis Penelitian.....	35
 BAB 4 MATERI DAN METODE	 36
4.1. Jenis Rancangan Penelitian	36
4.2. Populasi, Sampel dan Besar Sampel	36
4.2.1. Populasi	36
4.2.2. Sampel	37
4.2.3. Besar Sampel	38
4.2.4. Teknik Pengambilan Sampel	38
4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel	38
4.3.1. Variabel Bebas	38
4.3.2. Variabel Tergantung.....	39
4.3.3. Variabel Kendali	39
4.3.4. Definisi Operasional Variabel.....	39
4.4 Bahan Penelitian.....	40
4.5 Peralatan Penelitian	41
4.6 Tempat dan Waktu Penelitian	41
4.7 Prosedur Penelitian	41
4.7.1 Prosedur Sinkronisasi Birahi Mencit.....	41
4.7.2 Prosedur Pengawinan Mencit	41
4.7.3 Prosedur Pemberian Paparan Plumbum	42
4.7.4 Prosedur Pemberian Buah Merah	42
4.7.5 Prosedur Pembedahan Mencit dan Pengambilan Sampel.....	43
4.7.6. Pengamatan Ekspresi Caspase-8 dengan IHK	43
4.7.7. Pengamatan Gambaran Histopatologis Plasenta Mencit dengan Pewarnaan Hematoxilin-Eosin.....	44
4.8 Analisis Data	44
4.9 Kerangka Alur Penelitian.....	45
 BAB 5 HASIL PENELITIAN	 46
5.1 Ekspresi Caspase-8.....	46
5.2 Jumlah Sel <i>Hofbauer</i>	49
 BAB 6 PEMBAHASAN.....	 55
6.1. Ekspresi Caspase-8.....	60
6.2. Sel <i>Hofbauer</i>	63
 BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	 66
7.1. Kesimpulan	66

7.2. Saran.....	66
DAFTAR PUSTAKA	67
DAFTAR LAMPIRAN.....	75



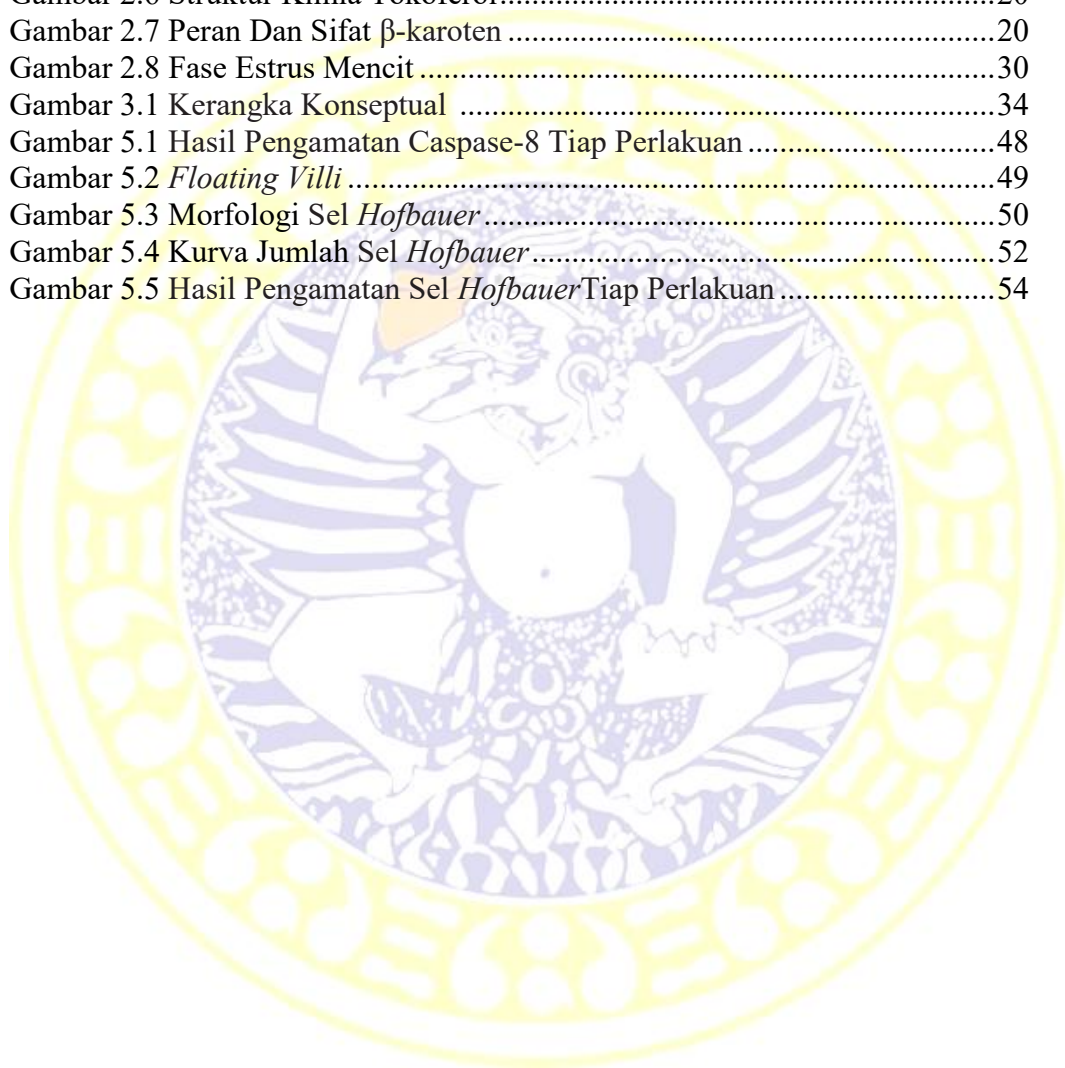
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan Senyawa Aktif Buah Merah.....	17
Tabel 2.2 Komposisi Zat Gizi per 100 gram Buah Merah.....	18
Tabel 2.3 Klasifikasi Mencit.....	27
Tabel 2.4 Sifat Biologis Mencit.....	28
Tabel 5.1 Hasil Uji Mann-Whitney Ekspresi Caspase-8.....	47
Tabel 5.2 Rerata Dan simpangan Baku Jumlah Sel <i>Hofbauer</i>	51



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Mekanisme Apoptosis Secara Molekuler.....	10
Gambar 2.2 Skematik Proses Caspase-8.....	12
Gambar 2.3 Sel <i>Hofbauer</i>	13
Gambar 2.4 Tanaman Buah Merah	16
Gambar 2.5 Struktur Kimia β -karoten	19
Gambar 2.6 Struktur Kimia Tokoferol.....	20
Gambar 2.7 Peran Dan Sifat β -karoten	20
Gambar 2.8 Fase Estrus Mencit	30
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	34
Gambar 5.1 Hasil Pengamatan Caspase-8 Tiap Perlakuan	48
Gambar 5.2 <i>Floating Villi</i>	49
Gambar 5.3 Morfologi Sel <i>Hofbauer</i>	50
Gambar 5.4 Kurva Jumlah Sel <i>Hofbauer</i>	52
Gambar 5.5 Hasil Pengamatan Sel <i>Hofbauer</i> Tiap Perlakuan	54



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Tabel Konversi Perhitungan Dosis	75
Lampiran 2. Skala Semikuantitatif <i>Indeks Skala Remmele</i>	77
Lampiran 3. Tabel Hasil Perhitungan Caspase-8	78
Lampiran 4. Tabel Hasil Perhitungan Sel <i>Hofbauer</i>	79
Lampiran 5. Analisis SPSS Caspase-8.....	80
Lampiran 6. Analisis SPSS Sel <i>Hofbauer</i>	86
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.....	89



SINGKATAN ARTI DAN LAMBANG

Caspase	= Cystein Aspartyl-Specific Protease
CAT	= <i>Catalase</i>
DAB	= <i>Diaminobenzidine</i>
DNA	= <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
DR	= <i>death receptor</i>
FADD	= <i>Fas-associated death domain</i>
FasL	= <i>Fas Ligand</i>
GPOD	= <i>Glutation Peroxidase</i>
hCG	= <i>Human Chorionic Gonadotropin</i>
HO ₂ ⁻	= <i>hydroperoxides</i>
IU	= <i>International Unit</i>
LPO ⁻	= <i>lipid peroxidase</i>
O ₂	= Oksigen
OH	= <i>hydroxyl radicals</i>
Pb	= Plumbum
PbCO	= Karbonat
PbS	= Sulfid
PbSO ₄	= Sulfat
PMSG	= <i>Pregnant Mare Serum Gonadotropin</i>
RAL	= Rancangan Acak Lengkap
RO ₂	= <i>peroxyl radicals</i>
ROOH	= <i>organic peroxides</i>
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	= <i>superoxidedismutase</i>
TNF	= <i>Tumor Nekrosis Factor</i>
WHO	= <i>World Health Organization</i>