



**PENGARUH PEMBERIAN SUPLEMENTASI BESI (Fe) DOSIS TINGGI
TERHADAP KONDISI SEL BETA PANKREAS PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus Norvegicus*) STRAIN WISTAR BUNTING**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh:

Alfin Septia Putri Aldi

NIM 155070601111015

PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh Pemberian Suplementasi Besi (Fe) Dosis Tinggi terhadap Kondisi Sel Beta Pankreas Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Bunting”.

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh adanya peraturan pemerintah mengenai standar tablet tambah darah untuk ibu hamil yang diberikan sebanyak setiap hari selama masa kehamilannya atau minimal 90 tablet. Melalui penelitian ini, penulis ingin mengetahui bagaimana pengaruh pemberian suplementasi besi (Fe) Dosis Tinggi terhadap Kondisi Sel Beta Pankreas.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Wisnu Barlianto, Msi.Med,Sp.A(K) selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Ibu Linda Ratna Wati, SST, M.Kes selaku Ketua Program Studi S1 Kebidanan yang telah membimbing penulis dalam menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. dr. Aina Angelina S.Ked, Sp.PA selaku penguji, yang telah bersedia untuk memberikan kritik dan saran.
4. Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes, selaku dosen pembimbing pertama, yang mengarahkan dan memberi bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan serta dukungan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan Tugas Akhir ini.
5. Ibu Fatmawati, SST, M.Keb, selaku dosen pembimbing kedua, yang mengarahkan dan memberi bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang





telah diberikan serta dukungan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan Tugas Akhir ini.

6. Ibu Rismaina Putri, SST, M.Keb, selaku Koordinator Tugas Akhir Program Studi S1 Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
7. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir.
8. Keluarga penulis yang berharga yang senantiasa memberikan semangat, do'a, kesabaran, dan dukungan secara materi maupun moril yang tiada henti demi keberhasilan penulis.
9. Teman-teman kelompok penelitian Suplementasi Besi Indah Nur, Zalfaa, Safna, Rachma dan Dyah atas semangat perjuangan kita bersama dalam menyelesaikan penelitian ini.
10. Orang-Orang yang selalu ada dan mendukung peneliti dalam menyelesaikan tugas akhir Dimas, Sasmita, Ega dan Intan.
11. Sahabat PSKB UB 2015 khususnya 2015 A yang selalu semangat dalam berjuang bersama-sama dari awal masuk kuliah.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan hasil Tugas Akhir ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis membuka diri untuk saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 25 Mei 2019

Penulis



ABSTRAK

Aldi, Alfin Septia Putri.2019. **Pengaruh Suplementasi Besi (Fe) Dosis Tinggi terhadap Kondisi Sel Beta Pankreas pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Strain Wistar Bunting**. Tugas Akhir, Program Studi S1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr.dr. Umi Kalsum, M.Kes, (2) Fatmawati, SST., M.Keb

Selama masa kehamilan, ibu hamil membutuhkan berbagai zat gizi. Salah satu zat gizi yang diperlukan yaitu zat besi. Zat besi berfungsi untuk pembentukan hemoglobin. Kelebihan zat besi dapat meningkatkan radikal bebas dan memicu stress oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian suplementasi besi dosis tinggi terhadap kondisi sel beta pankreas tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting. Kondisi sel beta pankreas yang dilihat adalah jumlah sel beta dihitung menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Suplementasi besi diberikan 18 hari dengan 3 dosis berbeda (0,54mg, 1,08mg, dan 2,16mg). Jumlah sel beta pankreas berbeda signifikan antar kelompok kontrol dan perlakuan ($p=0,000$), rerata jumlah sel beta pankreas terkecil pada kelompok (P3) 12,17. Suplementasi besi dapat menurunkan jumlah sel beta pankreas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting.

Kata Kunci: Zat Besi(Fe), Sel beta pankreas, Stress Oksidatif

ABSTRACT

Aldi, Alfin Septia Putri. 2019. ***The Effect Of High Dose Iron Supplementation (Fe) To The Condition Of Pancreatic Beta Cells In Pregnant Wistar White Rat (Rattus Norvegicus)***. Final Assignment, Bachelor of Midwifery Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr.dr. Umi Kalsum, M.Kes, (2) Fatmawati, SST., M.Keb

During pregnancy, pregnant women need various nutrients. One of the nutrients need is iron. Iron functions for the formation of hemoglobin. Excess iron can increase free radicals and trigger oxidative stress. The aim of this study was to determine the effect of high doses of iron supplementation on the condition of the beta cells pancreas of the pregnant wistar white rat (*Rattus norvegicus*). The condition of pancreatic beta cells seen is the number of beta cells calculated using a microscope with 400x magnification. Iron supplementation was given 18 days with 3 different doses (0.54mg, 1.08mg, and 2.16mg). The number of pancreatic beta cells differed significantly between the control and treatment groups ($p = 0,000$), the mean number of the smallest pancreatic beta cells in the group (P3) 12,17. Iron supplementation can reduce the number of pancreatic beta cells in pregnant wistar white rat (*Rattus norvegicus*).

Keywords: Iron supplementation, number of pancreatic beta cells, oxidative stress





DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 2.1 Dosis toksik zat besi | 8 |
| Tabel 2.2 Jumlah sel beta pulau Langerhans pankreas tikus percobaan | 16 |
| Tabel 4.1 Konversi dosis | 34 |
| Tabel 5.1 Jumlah Sel Beta Pankreas Kelompok Kontrol dan Perlakuan 1 (0,54mg), 2 (1,08mg), dan 3 (2,16mg) | 41 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 Foto mikograf sel beta pulau langerhans | 16 |
| Gambar 2.2 Ultrastruktur sel beta pulau Langerhans pankreas tikus | 17 |
| Gambar 2.3 Kepadatan Sel Beta Pankreas dengan pewarnaan HE | 18 |
| Gambar 2.4 Histologi pankreas tikus | 22 |
| Gambar 5.2 Pankreas setiap kelompok perlakuan dengan pewarnaan HE perbesaran 400x (A= sel beta pankreas, B= sel asiner) | 42 |
| Gambar 5.1 Diagram rerata jumlah sel beta pankreas kelompok kontrol dan perlakuan 1 (0,54mg), 2 (1,08mg), dan 3 (2,16mg) | 42 |



DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------------------------------|
| HALAMAN PERSETUJUAN | Error! Bookmark not defined. |
| KATA PENGANTAR | iii |
| ABSTRAK | v |
| ABSTRACT | vi |
| DAFTAR TABEL | vii |
| DAFTAR GAMBAR | viii |
| DAFTAR ISI | ix |
| BAB 1 PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 4 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 4 |
| 1.3.1 Tujuan Umum | 4 |
| 1.3.2 Tujuan Khusus | 4 |
| 1.4 Manfaat Penelitian..... | 4 |
| 1.4.1 Manfaat Akademik | 4 |
| 1.4.2 Manfaat Praktis | 5 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA..... | 6 |
| 2.1 Zat Besi | 6 |
| 2.1.1 Definisi Zat Besi | 6 |
| 2.1.2 Fungsi Zat Besi..... | 6 |
| 2.1.3 Absorpsi dan Transpor Zat Besi..... | 7 |
| 2.1.4 Dosis Zat Besi..... | 8 |
| 2.1.5 Metabolisme Zat Besi | 9 |
| 2.1.6 Zat Besi mengakibatkan Stres Oksidatif..... | 11 |
| 2.2 Radikal bebas dan Stress Oksidatif | 11 |
| 2.3 Antioksidan..... | 12 |
| 2.4 Pankreas | 12 |
| 2.4.1 Eksokrin Pankreas | 12 |
| 2.4.2 Endokrin Pankreas..... | 13 |
| 2.4.3 Sekresi Insulin oleh Sel Beta | 13 |
| 2.5 Sel Beta Pankreas dan Stres Oksidatif | 14 |
| 2.6 Kerusakan Sel Beta Pankreas | 15 |
| 2.7 Tikus Putih | 19 |
| 2.7.1. Biologi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)..... | 19 |
| 2.7.2 Kehamilan Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)..... | 19 |



| | |
|--|-----------|
| 2.7.3 Pankreas Tikus | 21 |
| BAB 3 KERANGKA KONSEP dan HIPOTESIS PENELITIAN | 24 |
| 3.1 Kerangka Konsep | 24 |
| 3.2 Penjelasan kerangka konsep | 25 |
| 3.3 Hipotesis | 26 |
| BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN | 27 |
| 4.1 Rancangan Penelitian | 27 |
| 4.2 Populasi dan Sampel Penelitian | 27 |
| 4.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi Penelitian | 28 |
| 4.3.1 Kriteria Inklusi | 28 |
| 4.3.2 Kriteria Eksklusi | 28 |
| 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian | 29 |
| 4.5 Variabel Penelitian | 29 |
| 4.5.1 Variabel bebas | 29 |
| 4.5.2 Variabel terikat | 29 |
| 4.6 Instrumen Penelitian | 29 |
| 4.6.1 Alat | 29 |
| 4.6.1.1 Alat pemeliharaan hewan coba | 29 |
| 4.6.1.2 Alat pemberian Fe pada hewan coba | 29 |
| 4.6.1.3 Alat pembedahan tikus | 29 |
| 4.6.1.4 Alat pembuatan preparat dan pengamatan preparat | 29 |
| 4.6.2 Bahan | 30 |
| 4.7 Definisi Operasional | 31 |
| 4.8 Prosedur Penelitian | 32 |
| 4.8.1 Aklimatisasi Hewan Coba | 32 |
| 4.8.2 Prosedur Perawatan Tikus | 32 |
| 4.8.3 Prosedur Pembuntingan Hewan Coba | 32 |
| 4.8.4 Pembagian kelompok hewan coba | 32 |
| 4.8.5 Penentuan Dosis | 33 |
| 4.8.6 Prosedur Pembuatan Sediaan | 35 |
| 4.8.7 Prosedur pemberian suplementasi besi (Fe) | 35 |
| 4.8.8 Prosedur pengambilan pankreas tikus | 35 |
| 4.8.9 Prosedur pembuatan preparat, pewarnaan dan pengamatan histologi pankreas tikus | 35 |
| 4.8.10 Prosedur penguburan hewan coba | 37 |
| 4.9 Alur Penelitian | 38 |
| 4.10 Analisis Data | 39 |
| BAB 5 HASIL dan ANALISIS DATA | 41 |



| | |
|--|----|
| 5.1 Hasil Penelitian..... | 41 |
| 5.2 Analisis Data | 43 |
| 5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Varian..... | 43 |
| 5.2.3 Uji Analisis <i>One Way</i> ANOVA..... | 43 |
| 5.2.4 Uji <i>Post Hoc</i> Tuckey..... | 44 |
| BAB VII PEMBAHASAN | 45 |
| BAB 7 PENUTUP | 49 |
| 7.1 Kesimpulan | 49 |
| 7.2 Saran | 49 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 50 |
| Lampiran..... | 54 |
| Lampiran Dokumentasi..... | 58 |



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selama masa kehamilan terjadi perubahan pada sistem kardiovaskular ibu. Pada masa awal kehamilan terjadi peningkatan curah jantung sekitar 30-50%. Pada pertengahan kehamilan terjadi vasodilatasi pada pembuluh darah perifer. Selain curah jantung, volume darah juga mengalami peningkatan sebanyak 50% dan massa sel darah merah bertambah 20-30%. Peningkatan volume darah ini terjadi sekitar minggu ke-10 sampai ke-12 masa kehamilan. Volume darah yang meningkat ini terdiri dari peningkatan plasma darah dan sel darah merah. Peningkatan plasma darah yang lebih besar dari sel darah merah dapat mengakibatkan penurunan kadar hemoglobin (Fikawati,2016).

Salah satu zat gizi yang berpengaruh dalam kehamilan untuk pembentukan hemoglobin adalah zat besi. Pada masa kehamilan kebutuhan akan zat besi meningkat dua kali lipat dibandingkan kebutuhan sebelum hamil. Zat besi juga diperlukan untuk pertumbuhan janin dan plasenta. Pada keadaan sebelum hamil, seorang wanita dapat memenuhi kebutuhan akan zat besi dari makanan yang sehat dan seimbang. Namun, jika dalam masa kehamilan, kebutuhan akan zat besi dari makanan belum dapat mencukupi, diperlukan pemberian suplemen tablet besi (Depkes RI, 2009).

Pemberian suplemen tablet besi selama masa kehamilan dapat meningkatkan status besi ibu. Bila selama kehamilan seorang ibu mengalami kekurangan zat besi bisa mengakibatkan anemia dan hipoksia, namun jika mengalami kelebihan zat besi bisa bersifat toksik karena zat besi bersifat



reaktif dan dapat terakumulasi di organ tubuh seperti liver, jantung, kulit, dan pankreas (Pietrangelo 2004, Beutler 2006).

Menurut hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) tahun 2018, prevalensi anemia pada ibu hamil di Indonesia adalah 48,9%. Pemberian suplementasi tablet Fe yang dilaksanakan di Indonesia yaitu 73,2%. Program pemberian suplementasi tablet Fe ini dengan memberikan 90 tablet Fe kepada ibu hamil selama masa kehamilan yang diharapkan dapat menurunkan angka anemia pada ibu hamil (Kementerian Kesehatan RI,2018). Menurut (WHO,2006) kebutuhan suplementasi zat besi yang harus diberikan kepada ibu hamil adalah 60 mg selama 6 bulan.

Zat besi berperan dalam pembentukan hemoglobin. Di dalam tubuh, hemoglobin akan difagosit di dalam hati, limpa, dan sumsum tulang serta diubah menjadi bentuk globin dan heme. Sisa besi disimpan dalam hati dan jaringan tubuh lain, seperti pankreas dalam bentuk ferritin dan hemosiderin (Murray,2009).

Kelebihan zat besi dapat menyebabkan reaksi reaktif, sifat reaktif tersebut dapat dengan mudah berikatan dengan radikal bebas dan menyebabkan stress oksidatif yang mempunyai potensi untuk merusak sel, organ, dan jaringan yang ada di dalam tubuh (Halliwell, 1999). Kelebihan zat besi pada pankreas juga dapat mengakibatkan stress oksidatif di sel beta yang diikuti dengan kematian sel, defisiensi insulin, dan intoleransi glukosa (Cario,2003).

Kelebihan zat besi dapat dikaitkan dengan meningkatnya deposisi besi di berbagai jaringan, termasuk organ endokrin dan jantung. Efek toksik dari kelebihan zat besi seperti apoptosis atau nekrosis di jantung, pankreas, dan organ lainnya yang dapat dikorelasikan sebagai akibat dari pembentukan radikal bebas. Selain itu, jika terjadi kelebihan zat besi, organ



pankreas akan mengalami gangguan terlebih dahulu daripada jantung (Flavia,2014).

Pankreas adalah salah satu organ yang penting dalam masa kehamilan untuk memproduksi insulin yang berperan dalam mengatur kadar gula darah. Selama masa kehamilan, *placental growth hormone* memicu terjadi peningkatan resistensi insulin dan hormon kehamilan yang lain seperti *human placental lactogen* dan *prolactin hormone* merangsang peningkatan jumlah sel beta pankreas untuk produksi insulin. Jika peningkatan jumlah insulin cukup, maka keadaan ibu hamil akan tetap normal. Namun, jika produksi insulin oleh sel beta pankreas tidak dapat mengimbangi kebutuhannya dan ditambah dengan kondisi obesitas, pola makan yang buruk serta aktivitas kurang maka kadar gula darah akan meningkat dan menyebabkan diabetes mellitus gestasional (Sugianto,2016).

Pankreas merupakan organ tubuh yang terdiri dari 2 bagian, yaitu kelenjar eksokrin dan kelenjar endokrin. Kelenjar eksokrin pada pankreas berperan untuk menghasilkan enzim pencernaan (amilase, tripsin, dan lipase) yang kemudian diekskresikan ke dalam duodenum (Arief,2004).

Kelenjar endokrin pankreas tersusun atas pulau langerhans yang memiliki 4 macam sel, yaitu sel alfa, sel beta, sel delta, dan sel polipeptida pankreas. Sel beta pankreas berfungsi menghasilkan insulin dan berperan dalam menurunkan glukosa darah (Seungbum dkk, 2007).

Kerusakan sel beta pankreas menyebabkan tubuh tidak dapat menghasilkan insulin sehingga dapat mengakibatkan tingginya kadar glukosa darah atau hiperglikemia. Kondisi hiperglikemia dapat menghasilkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS). Produksi ROS yang berlebih dapat menyebabkan stres oksidatif dan memperparah kerusakan sel beta pankreas (Robertson dkk,2003).



Berdasarkan latar belakang di atas, mendorong untuk dilakukan penelitian mengenai pengaruh suplementasi besi dosis tinggi terhadap kondisi sel beta pankreas tikus putih bunting.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi dapat mempengaruhi kondisi sel beta pankreas pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) strain wistar bunting ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

- 1) Mengetahui pengaruh pemberian suplementasi besi dosis tinggi terhadap kondisi sel beta pankreas pada tikus putih strain wistar bunting.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Membuktikan bahwa pada tikus putih bunting dapat terjadi kelebihan zat besi yang berdampak pada pankreas.
- 2) Mengetahui dosis tinggi suplementasi besi (Fe) untuk tikus putih strain wistar bunting.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi data awal untuk penelitian lanjutan tentang suplementasi zat besi terhadap kondisi pankreas.



1.4.2 Manfaat Praktis

1) Bagi peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengalaman dan wawasan peneliti tentang pengaruh pemberian suplementasi besi dosis tinggi terhadap kondisi sel beta pankreas tikus putih bunting untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar sarjana kebidanan.

2) Bagi institusi terkait

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah kepustakaan ilmu untuk asuhan kebidanan khususnya tentang pilihan dalam masa kehamilan.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Zat Besi

2.1.1 Definisi Zat Besi

Zat besi merupakan salah satu mineral mikro yang diperlukan oleh tubuh. Zat besi disimpan di dalam tubuh dalam bentuk ferritin di hati. Jika asupan zat besi kurang, maka zat besi dalam bentuk ferritin digunakan untuk membentuk hemoglobin (Irianto, 2014).

Zat besi bebas dalam tubuh terdapat dalam 2 bentuk yaitu ferro (Fe^{2+}) dan ferri (Fe^{3+}). Dalam keadaan konsentrasi oksigen tinggi, zat besi dalam bentuk ferri karena terikat hemoglobin dan pada proses transpor transmembran, zat besi dalam bentuk ferro (Sukrat, 2006).

Menurut (Miyata, 2010) zat besi dalam tubuh terbagi menjadi 4 bentuk, yaitu :

- Zat besi dalam bentuk hemoglobin
- Zat besi dalam bentuk cadangan yaitu ferritin dan hemosiderin
- Zat besi yang ditranspor dalam bentuk transferin
- Zat besi parenkim (dalam jaringan) seperti mioglobin dan beberapa enzim seperti sitokrom, katalase, dan peroksidase.

2.1.2 Fungsi Zat Besi

Zat besi merupakan mineral yang berperan dalam pembentukan hemoglobin. Hemoglobin berguna untuk mengikat O_2 dan CO_2 dalam tubuh.

Dalam sehari, tubuh hanya memerlukan 1 mg zat besi atau sama dengan 10-20 mg zat besi yang terdapat dalam makanan. Zat besi yang terdapat



dalam makanan nabati berbentuk ikatan ferri yang di dalam tubuh harus dipecah menjadi bentuk ferro, sedangkan dalam makanan hewani berbentuk ferro yang lebih mudah diserap (Irianto, 2014).

2.1.3 Absorbsi dan Transpor Zat Besi

Zat besi dalam diabsorbsi dalam bentuk ferro di dalam duodenum dan jejunum, ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi absorpsi zat besi, yaitu :

- Jika cadangan zat besi dalam tubuh kurang, maka absorpsi akan meningkat dan sebaliknya.
- Jika kadar hemoglobin berkurang, maka absorpsi akan bertambah dan sebaliknya.
- Kandungan zat besi dalam bentuk ferro dan ferri yang terdapat dalam makanan.
- sifat kimiawi zat yang mempermudah ataupun menghambat penyerapan zat besi.

Transpor zat besi terbagi menjadi 2, yaitu dengan transferin yang terdapat dalam plasma dan dengan proses pinositosis oleh sel RES. Transferin mengangkut zat besi dengan bantuan ATP dan asam askorbik sebagai katalisator. Zat besi yang terdapat dalam membran akan menuju ke mitokondria dan bereaksi dengan protoforfirin untuk membentuk heme. Jika presentase kejenuhan Fe dalam transferin kurang dari 20%, maka Fe sulit untuk dilepaskan. Tingkat kejenuhan Fe yang fisiologis adalah antara 30-35%. Jika tingkat kejenuhan Fe melebihi 35%, maka Fe akan dilepaskan dalam organ penyimpanan besi (hati, limpa, dan sumsum tulang) serta di jaringan-jaringan tubuh yang lain (Miyata dan Proverawati,2010).

2.1.4 Dosis Zat Besi

Suplementasi zat besi dapat dikatakan dosis tinggi jika konsumsi melebihi dosis normal dari pemerintah, yaitu lebih dari 60mg/kgBB.

| Dosis | Tingkat Keracunan |
|--------------|-------------------|
| >20 mg/kgBB | Ringan-Sedang |
| >60mg/kgBB | Toksik Berat |
| >150 mg/kgBB | Toksik Letal |

Tabel 2.1 Dosis toksik zat besi (Mc Crea, dkk, 2013)

Kehamilan membutuhkan tambahan zat besi sekitar 800-1000 mg dikarenakan terjadi peningkatan sel darah merah membutuhkan 300-400 mg zat besi dan mencapai puncak pada 32 minggu kehamilan, janin memerlukan Fe 100-200 mg, dan pertumbuhan plasenta memerlukan zat besi 100-200 mg (Miyata,2010).

Kebutuhan akan tambahan zat besi juga harus diperhatikan, ibu hamil harus menghindari dosis tinggi pada trimester pertama dikarenakan dapat mengakibatkan cacat lahir, sedangkan pada trimester dua dan tiga dibutuhkan dosis zat besi yang lebih besar (Keogh,2006).

Kebutuhan zat besi selama hamil yaitu rata-rata 800 mg – 1040 mg. Kebutuhan ini diperlukan untuk :

- \pm 300 mg diperlukan untuk pertumbuhan janin.
- \pm 50-75 mg untuk pembentukan plasenta.
- \pm 500 mg digunakan untuk meningkatkan massa haemoglobin maternal/ sel darah merah.
- \pm 200 mg lebih akan dieksresikan lewat usus, urin dan kulit.

- ± 200 mg lenyap ketika melahirkan

Perhitungan makan 3 x sehari atau 1000-2500 kalori akan menghasilkan sekitar 10–15 mg zat besi perhari, namun hanya 1-2 mg yang di absorpsi. jika ibu mengkonsumsi 60 mg zat besi, maka diharapkan 6-8 mg zat besi dapat diabsorpsi, jika dikonsumsi selama 90 hari maka total zat besi yang diabsorpsi adalah sebesar 720 mg dan 180 mg dari konsumsi harian ibu (Depkes,2001).

2.1.5 Metabolisme Zat Besi

Tubuh manusia mengandung 2-4 gram zat besi. Zat besi terdapat pada hemoglobin dalam darah sebanyak >65%, 10% pada mioglobin, 1-5% di enzim, dan sisa zat besi ditemukan dalam darah atau di tempat penyimpanan. Di dalam tubuh, sebagian besar zat besi akan berikatan dengan protein menjadi bentuk ferro atau ferri. Ferro merupakan bentuk zat besi yang aktif, sedangkan ferri merupakan bentuk inaktif (bisa dalam bentuk simpanan) (Murray,2009).

Zat besi yang diperoleh dari makanan akan diserap duodenum dan dapat diekskresikan melalui kulit, urin, dan feses. Sebanyak 65% besi berikatan dengan transferin dan 30% akan disimpan dalam bentuk ferritin dan hemodiderin di organ dalam tubuh (Muhammad dan Sianipar,2005).

Metabolisme besi terutama ditujukan untuk pembentukan hemoglobin. Di dalam tubuh, hemoglobin akan difagosit di dalam hati, limpa, dan sumsum tulang serta diubah menjadi bentuk globin dan heme.

Globin akan masuk kembali ke dalam kumpulan asam amino. Besi dibebaskan dari heme, dan bagian yang lebih besar diangkut oleh protein plasma transferin ke sumsum tulang untuk kembali memproduksi eritrosit.





Sisa besi disimpan dalam hati dan jaringan tubuh lain, seperti pankreas dalam bentuk ferritin dan hemosiderin untuk digunakan dikemudian hari (Murray,2009).

Sisa bagian heme yang lain akan direduksi menjadi CO dan biliverdin. Karbon akan diangkut dalam bentuk karboksihemoglobin dan akan dikeluarkan melalui paru-paru. Selanjutnya biliverdin akan diubah menjadi bilirubin bebas yang dilepas dalam plasma untuk diangkut ke hati dan diekskresi dalam kanalikuli empedu (Murray,2009).

Regulasi zat besi secara seluler terbagi menjadi 4 jalur. Jalur yang pertama yaitu berpusat pada transferin. Sebanyak 0,1 % dari total besi di dalam tubuh diikat oleh transferin dan setiap hari 20-30mg besi akan ditraspor ke sumsum tulang untuk pembentukan eritrosit. Jalur yang kedua yaitu melalui sel yang memperoleh besi melalui penyerapan dari *non-transferrin-bound iron* (NTBI) yang bisa disebut besi bebas. Terdapat 3 transporter membran seluler yang berperan dalam penyerapan NTBI, yaitu *divalent metal-ion transporter 1* (DMT1), *Zrt- and Irt-like protein 14* (ZIP14) dan ZIP8 (Crielaard,2017).

ZIP14 memegang peranan penting dalam akumulasi besi di jaringan dalam bentuk NTBI. Di dalam model tikus dengan kelebihan zat besi, didapatkan defisiensi ZIP14 dapat mengurangi jumlah simpanan besi di liver dan pankreas. Jalur yang ketiga yaitu penyerapan zat besi dalam bentuk hemoglobin dan heme. Jalur keempat yaitu penyerapan zat besi sebagai protein ferritin (Crielaard,2017).



2.1.6 Zat Besi mengakibatkan Stres Oksidatif

Besi merupakan salah satu logam transisi dan memiliki 5 bilangan oksidasi yaitu Fe^{2+} sampai Fe^{6+} . Keadaan yang paling umum adalah Fe^{2+} dan Fe^{3+} . Elektron yang tidak berpasangan pada besi membuat adanya kemungkinan reaksi redoks satu elektron. Pada reaksi fenton, radikal bebas hidroksil dihasilkan dari ferro dan hidrogen peroksida dalam reaksi berantai. Hidrogen peroksida dapat ditemukan di mitokondria, mikrosom, dan kloroplas serta udara ekshalasi manusia. Radikal hidroksil bersifat sangat reaktif dan kereaktifannya dapat dipengaruhi oleh kecepatan difusi (Zhuang,2014).

Radikal hidroksil bukan merupakan molekul lipid oksidasi yang spesifik di membran sel dan lipoprotein untuk membentuk LOOH, namun dengan adanya Fe^{2+} dapat mengkatalisasi elektron tunggal LOOH menjadi LO yang merupakan salah satu bentuk radikal bebas. Pada tahap ini dapat menginisiasi terjadinya peroksidasi lipid. Fe^{2+} dan Fe^{3+} dapat meningkatkan oksidasi lipid diukur dengan *malondialdehyde* (MDA) dan *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) (Zhuang,2014).

2.2 Radikal bebas dan Stress Oksidatif

Radikal bebas adalah spesies yang mempunyai lebih dari 1 elektron yang tidak berpasangan yang mengakibatkan molekul tidak stabil dan sangat reaktif. Radikal bebas dapat menghancurkan keseimbangan sistem biologi dengan menyebabkan kerusakan pada makromolekul (lipid, protein, karbohidrat, dan DNA) dan akhirnya menyebabkan kematian sel (Syamsudin, 2013).

Oksigen yang terhirup sekitar 5% diubah menjadi *reactive oxygen species* (ROS) seperti O_2^- , H_2O_2 , dan OH melalui reaksi reduksi. Adanya



elektron tidak berpasangan membuat oksigen menjadi reaktif terhadap makromolekul di sekitarnya. Hal ini dapat menyebabkan kerusakan pada asam nukleat, protein, lipid, dan karbohidrat. Pada saat produksi radikal bebas melebihi sistem pertahanan antioksidan dalam tubuh, maka akan mengakibatkan tekanan oksidasi atau stress oksidatif. Stress oksidatif terjadi pada sel-sel dikarenakan adanya peningkatan jumlah oksidan, penurunan antioksidan, dan kegagalan dalam memperbaiki kerusakan oksidatif (Syamsudin,2013).

2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang bisa menetralkan radikal bebas. Pada tingkatan sel dan molekul, antioksidan menonaktifkan ROS dan bisa menghambat proses oksidasi dengan memutus rekasi rantai radikal pada peroksidasi lipid (Syamsudin,2013).

2.4 Pankreas

Pankreas adalah kelenjar majemuk yang terdiri atas jaringan eksokrin dan endokrin. Pankreas terdiri dari (Setiadi,2007) :

- a. Kepala pankreas, adalah bagian yang lebar dan terletak di sebelah kanan rongga abdomen.
- b. Badan pankreas, adalah bagian utama pada organ pankreas dan terletak di belakang lambung, di depan vertebrata lumbalis pertama.
- c. Ekor pankreas, adalah bagian runcing di sebelah kiri.

2.4.1 Eksokrin Pankreas

Eksokrin pankreas berperan dalam sistem pencernaan tubuh dengan menghasilkan beberapa enzim seperti amilase, peptidase, lipase, tripsin yang selanjutnya akan disekresikan ke duodenum. getah pankreas terdapat



tripsinogen di mana akan diubah menjadi enzim aktif yaitu tripsin. Getah pankreas bersifat basa yang bisa menetralkan asam lambung dan menaikkan pH duodenum (Riyadi dan Sukarmin 2008).

2.4.2 Endokrin Pankreas

Fungsi dari pankreas sebagai kelenjar endokrin terdapat pada sekelompok sel di pankreas pada bagian pulau Langerhans. Pulau Langerhans berbentuk ovoid yang tersusun atas bentuk pita-pita yang teratur dan terpisahkan oleh sisten pembuluh kapiler. Dalam pulau Langerhans terdapat saraf simpatik dan parasimpatik yang mengontrol proses sintesis dan pelepasan hormon-hormon (Sherwood,2001).

Ada 4 jenis sel yang terdapat pada pulau Langerhans, yaitu :

- a. Sel alfa, berfungsi untuk mensekresi glukagon. Bentuk inti dari sel alfa tidak teratur dan memiliki granula sekretori yang mengandung glukagon.
- b. Sel beta, bentuk inti dari sel beta besar dan bulat. Sel beta berfungsi menghasilkan insulin di mana hormon ini berperan dalam menurunkan kadar glukosa dalam darah.
- c. Sel delta, berfungsi untuk mensekresi somatostatin. Hormon ini berperan untuk menghambat sekresi glukagon, insulin, dan produksi polipeptida.
- d. Sel F, berfungsi untuk mensekresi polipeptida pankreas untuk pencernaan (Kurt,1994 dalam Nadhifa 2010).

2.4.3 Sekresi Insulin oleh Sel Beta

Sel beta pankreas berperan dalam sekresi hormon insulin. Sekresi hormon insulin dipengaruhi oleh tiga faktor utama, yaitu kadar glukosa darah, ATP- *sensitive K channels* dan *voltage sensitive Ca channels* sel



beta pankreas. Mekanisme kerjanya adalah saat keadaan puasa, di mana gula darah akan turun, ATP- *sensitive K channels* di membran sel beta terbuka sehingga ion kalium meninggalkan sel beta. Hal tersebut menyebabkan *Ca channels* tertutup, ion Kalsium tidak dapat masuk ke dalam sel beta dan rangsangan sel beta untuk produksi insulin menurun.

Sebaliknya, dalam keadaan setelah makan, glukosa darah akan meningkat dan ditangkap oleh sel beta melalui GLUT-2. Di dalam sel, glukosa diubah oleh enzim glukokinase menjadi glukosa-6 fosfat (G6P). Selanjutnya mengalami glikolisis dan menjadi asam piruvat. Dalam proses glikolisis akan dihasilkan 6-8 ATP yang menyebabkan menutupnya jalur kalium dan terbukanya jalur kalsium. Sehingga ion kalsium intrasel meningkat dan memicu sekresi insulin ke dalam darah (Fu dkk, 2013).

2.5 Sel Beta Pankreas dan Stres Oksidatif

Sel beta pankreas adalah salah satu jaringan yang paling aktif secara metabolik dan sangat bergantung pada fosforilasi oksidatif untuk generasi adenosin trifosfat (ATP). Selain itu, konsumsi oksigen yang tinggi merupakan faktor kunci untuk sekresi insulin, yang berfungsi untuk mengatur kadar glukosa darah, hal ini memicu produksi ROS dan stres oksidatif yang lebih tinggi pada sel beta. Di samping itu, sel beta sangat rentan terhadap stres oksidatif karena kurangnya enzim antioksidan yang dapat melemahkan kemampuan sel beta dalam pertahanan terhadap stres oksidatif (Wang,2017).

Sel aerob menghasilkan ROS seperti anion superoksida (O_2^-) dan H_2O_2 selama fosforilasi oksidatif di mitokondria. Pada sel beta

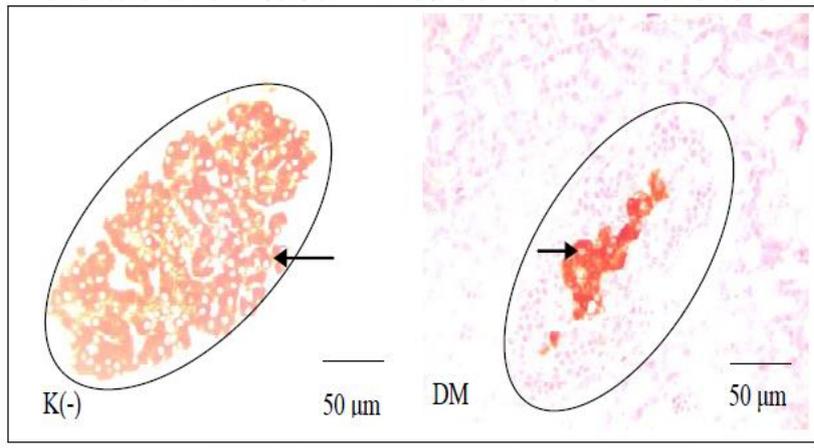


pankreas, transpor elektron mitokondria merupakan sumber utama dari anion superoksida. Anion superoksida dapat diubah menjadi H_2O_2 oleh isoenzim superoksida dismutase (SOD) dan menjadi O_2 dan H_2O oleh enzim katalase (CAT), glutathione peroksidase (GPx), dan peroksiredoksin (Prx). Sel beta pankreas memiliki jumlah enzim antioksidan yang sedikit yaitu sekitar 50% SOD dan 5% GPx dan CAT dibandingkan dengan enzim antioksidan di liver. Hal ini membuat sel beta pankreas sangat sensitif terhadap ROS yang menandakan stres oksidatif (Wang,2017).

2.6 Kerusakan Sel Beta Pankreas

Kerusakan sel beta pankreas dapat diakibatkan oleh beberapa faktor, seperti faktor genetik, infeksi, nutrisi, zat diabetogenik, dan radikal bebas (stress oksidatif). Jika terjadi kerusakan pada sel beta pankreas mengakibatkan tubuh tidak dapat memproduksi insulin sehingga kadar glukosa dalam darah akan meningkat (terjadi keadaan hiperglikemia). Kondisi hiperglikemi dapat menghasilkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS). ROS yang berlebihan dapat mengakibatkan stres oksidatif dan memperparah kerusakan sel beta pankreas (Suarsana,2010).

Penelitian yang dilakukan oleh (Suarsana,2010) menunjukkan jumlah sel-sel beta pankreas pada pulau Langerhans yang diamati dengan pewarnaan imunohistokimia di mana tikus dibagi menjadi 2 kelompok. Pada tikus dewasa, sebaran sel-sel beta pankreas pada pulau Langerhans berada di tengah, sedangkan sel-sel lainnya seperti sel alfa, delta, dan sel PP di bagian perifer. Hasil pengamatan jumlah sel-sel beta dan pewarnaan imunohistokimia pada Gambar 1 dan Tabel 1.



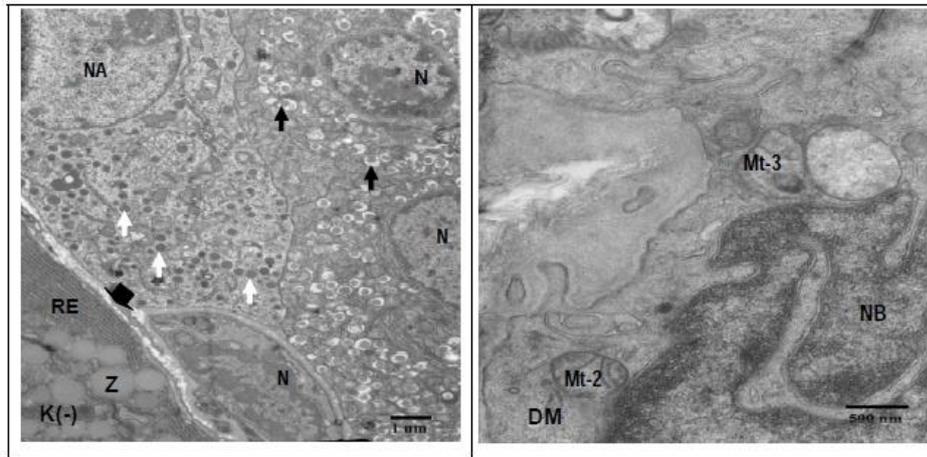
K(-) = kontrol negatif. DM = kelompok positif diabetes mellitus
Tanda panah (→): sel beta

Gambar 2.1 Foto mikograf sel beta pulau langerhans dengan pewarnaan imunohistokimia (Suarsana,2010).

Tabel 2.2 Jumlah sel beta pulau Langerhans pankreas tikus percobaan (Suarsana,2010)

| Perlakuan | Rata-rata jumlah sel beta |
|-------------------------|---------------------------|
| Kelompok tikus sehat | 84,56 ± 9,40 |
| Kelompok tikus diabetes | 9,33 ± 1,77 |

Tabel 2.2 menunjukkan bahwa kelompok tikus sehat dengan keadaan pankreas yang normal mempunyai jumlah sel beta yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tikus diabeter (DM). Pada perlakuan kelompok tikus sehat pada Gambar 2.3, terlihat sel beta memenuhi pulau Langerhans di bagian tengah dan jumlahnya sangat banyak (84,56 ± 9,4 buah), sedangkan perlakuan diabetes (DM) terlihat sel beta jumlahnya sangat sedikit (9,33 ± 1,77 buah) dan hal ini menunjukkan telah terjadi kerusakan sel beta akibat diinduksi dengan aloksan.



RE : retikulum endoplasma bocor

NA : nukleus sel alpha *crisetae centralized*

NB : nukleus sel beta

ND : nukelus sel delta

Z : zimogen diabetes mellitus

Kepala panah: batas sel asinar degan pulau Langerhans sekretori insulin

Mt-1: mitokondria kehilangan krista sekretori glukagon

Mt-2 : membran mitokondria

Mt-3 : mitokondria dengan

NB-1 : inti sel beta piknotis

(K-) : kontrol negatif

DM : kelompok positif

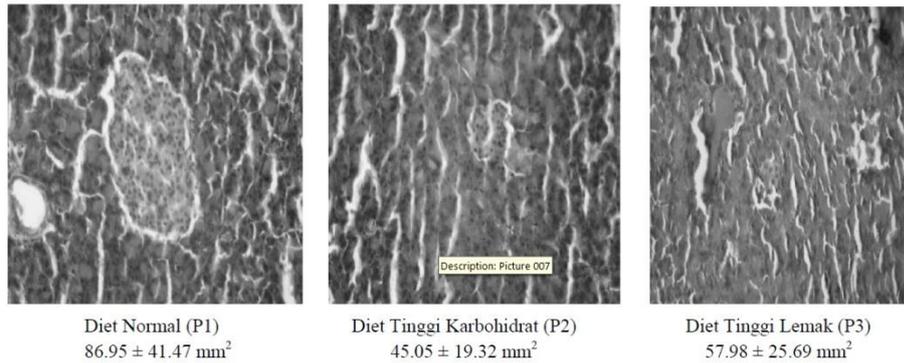
Panah hitam : granula

Panah putih : granula

Gambar 2.2 Ultrastruktur sel beta pulau Langerhans pankreas tikus percobaan (Suarsana,2010)

Terdapat perbedaan gambaran pada sel pulau Langerhans antara tikus yang sehat dengan tikus diabetes (DM) (Gambar 2.2). Pada tikus yang sehat, sel alpha, sel beta, dan sel delta terlihat jelas. Selain itu, pada tikus sehat terdapat zimogen yang jelas di bagian sel asinar, sekretori granula insulin, dan glukagon (Suarsana,2010).

Tikus yang mengalami diabetes mengalami perubahan pada pulau Langerhans, seperti sekretori granula insulin berkurang, membran sel mitokondria ruptur, dan beberapa kristae pada mitokondria hilang, serta terjadi kematian pada inti sel beta (Suarsana,2010)



Gambar 2.3 Kepadatan Sel Beta Pankreas dengan pewarnaan HE

Kepadatan sel beta pankreas tikus dari penelitian yang dilakukan oleh (Mutiyani, dkk,2013) berdasarkan (gambar 2.3) untuk pankreas tikus normal menunjukkan hasil yaitu 86,96 buah , sedangkan sel beta pankreas tikus dengan diet tinggi karbohidrat yaitu 45,05 buah dan pada sel beta pankreas tikus dengan diet tinggi lemak yaitu 57,98 buah. Dari hasil tersebut didapatkan bahwa, sel beta pankreas tikus diet tinggi karbohidrat jumlahnya paling sedikit, hal ini dikarenakan adanya kondisi hiperglikemia. kondisi hiperglikemia dapat memicu terjadinya stres oksidatif yang dapat menginduksi terjadinya apoptosis sel beta pankreas.

Kondisi sel beta pankreas yang normal akan terlihat banyaknya jumlah sel beta di pulau Langerhans yang tersusun padat dan memadati pulau Langerhans. Namun, jika ada kerusakan pada sel beta pankreas akan terlihat adanya atrofi, kematian sel yang diawali dengan terjadinya peroksidasi lipid yang dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel dan terjadi edema sebelum sel mengalami nekrosis (Sa'diyah,2016).



2.7 Tikus Putih

2.7.1. Biologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau disebut juga disebut juga tikus norwegia adalah salah satu hewan yang umum digunakan dalam eksperimen laboratorium. Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut (Sharp & Villano, 2013).

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Subordo : Myomorpha

Famili : Muridae

Genus : *Rattus*

Spesies : *Rattus norvegicus*

Tikus putih memiliki keuntungan sebagai model yang mencerminkan karakter fungsional dari sistem tubuh mamalia. Tikus juga merupakan salah satu hewan eksperimen yang populer dalam studi fungsi reproduksi. Salah satu keuntungannya adalah memiliki waktu siklus reproduksi yang lebih singkat (Krinke, 2000).

2.7.2 Kehamilan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Kehamilan tikus putih terjadi selama 21-22 hari, 37% tikus lahir di siang hari ke-21, 20% tikus lahir selama malam hari pada hari ke-21 menuju hari ke-22 dan 42% tikus lahir di siang hari pada hari ke-22.



Puncak kelahiran terjadi pada pukul 13.00-15.00 pada hari ke-21 dan 9.00-11.00 pada hari ke 22 (Krinke, 2000).

Kehamilan tikus putih dapat dibuat dengan mengawinkan tikus betina dan tikus jantan. Untuk mengawinkan, tikus jantan dimasukkan ke kandung tikus betina yang sudah cukup umur dan ditinggal semalaman.

Apusan vagina dapat dilakukan pada keesokan paginya. Apusan akan mengandung sejumlah sperma jika kopulasi telah terjadi. Selain itu, dapat juga ditemukan sumbat vagina pada tikus betina yang telah kawin. Sumbat ini berupa air mani yang menjendal berwarna kekuningan berasal dari sekresi kelenjar khusus tikus jantan dan sebagai penetapan awal kehamilan (Krinke, 2000).

Pada beberapa mamalia siklus reproduksi disebut juga sebagai siklus estrus. Estrus adalah suatu periode secara psikologis maupun fisiologis yang bersedia menerima pejantan untuk berkopulasi. Siklus estrus merupakan cerminan dari berbagai aktivitas yang saling berkaitan antara hipotalamus, hipofisis, dan ovarium. Selama siklus estrus terjadi berbagai perubahan baik pada organ reproduksi maupun pada perubahan tingkah laku seksual.

Tikus dan mencit termasuk hewan poliestrus yang artinya, dalam periode satu tahun terjadi siklus reproduksi yang berulang-ulang. Siklus estrus tikus bisa selesai dalam 6 hari. Meskipun pemilihan waktu siklus dapat dipengaruhi oleh faktor- faktor eksteroseptif seperti cahaya, suhu, status nutrisi dan hubungan sosial. Setiap fase dari daur estrus dapat dikenali melalui pemeriksaan apus vagina. Apus vagina merupakan cara yang sampai kini dianggap relatif paling mudah dan murah untuk



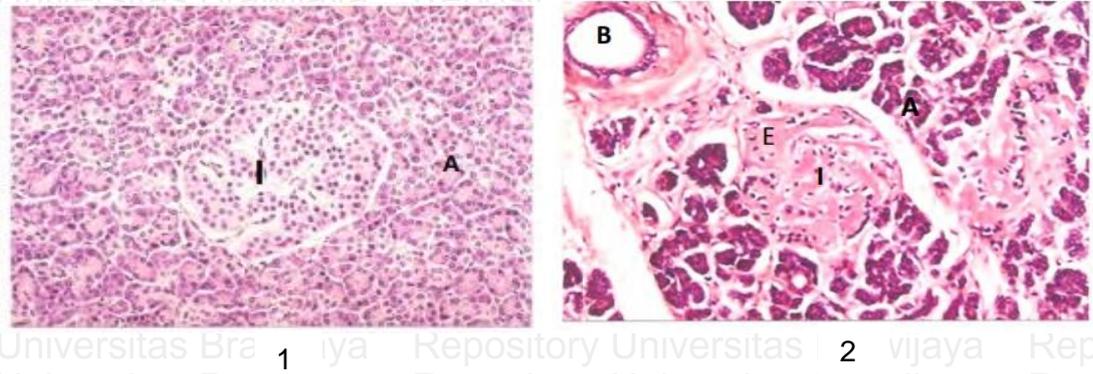
mempelajari kegiatan fungsional ovarium. Melalui apus vagina dapat dipelajari berbagai tingkat diferensiasi sel epitel vagina yang secara tidak langsung mencerminkan perubahan fungsional ovarium. Siklus secara kasar dapat dibagi menjadi empat stadium sebagai berikut (Akbar, 2010).

2.7.3 Pankreas Tikus

Pankreas adalah organ yang terdiri dari kelenjar eksokrin dan endokrin. Kelenjar eksokrin yang terdiri dari sel-sel asiner berfungsi untuk sekresi enzim pencernaan ke duodenum, sedangkan kelenjar endokrin yang terdiri dari pulau Langerhans berfungsi untuk sekresi insulin dan glukagon langsung ke dalam darah (Guyton, 2006).

Pankreas tikus berbentuk mesentrik. Organ pankreas berwarna putih ke merah muda yang mewakili 0,1% atau kurang dari berat badan (Liggitt, 2018).

Tikus dewasa memiliki pankreas yang terdiri dari 1-2% pulau Langerhans dengan diameter 100-200 μm (Suttie, dkk, 2015). Gambaran histologi pankreas pada tikus sehat dengan pewarnaan HE akan tersusun sel-sel berukuran normal dan teratur. Sel-sel islet pada pulau Langerhans akan terlihat lebih terang jika dibandingkan dengan sel-sel asiner. Sel asiner memiliki inti di tengah dan membentuk lobulus, sedangkan sel islet terletak di antara sel asiner. Sel islet memiliki inti sel di tengah dan dibungkus oleh kapsul sehingga membentuk bentukan pulau yang disebut pulau Langerhans (Gambar 2.4) Gambaran histopatologi pankreas tikus yang menderita Diabetes Mellitus akan terlihat berbeda, seperti adanya nekrosis dan penyusutan sel islet pada pulau Langerhans. Inti sel yang mengalami nekrosis akan mengalami piknosis ataupun hiperkromasi dan sitoplasma dapat mengalami eosinofilik. (Ikechukwu dan Obri, 2009).



Gambar 2.4 Histologi pankreas tikus sehat (1) dan DM (2) dengan perbesaran 100x (Ikechukwu dan Obri,2009).

Keterangan :

- I: islet
- A: asiner
- B: pembuluh darah
- E: eosinofilik

Pankreas tikus digambarkan sebagai beragam kapsul jaringan ikat tipis dan terdiri dari lobulus-lobulus yang terbentuk dari akumulasi padat kelenjar eksokrin yang mengelilingi pulau Langerhans. Setiap lobulus terdiri dari kapsul jaringan ikat tipis dan membentuk septa yang berhubungan dengan jaringan ikat interlobular dan terdapat pembuluh darah, kelenjar limfe, saraf, ganglia, serta saluran pankreatis (Linggit,2018).

Kelenjar eksokrin pankreas tikus terdiri dari lobulus yang tersusun atas kelompok padat yang bercabang. Sel asiner ini merupakan kelompok sel sekretorik yang mengelilingi islet. Sel asiner mempunyai retikulum endoplasma yang menonjol dan aparatus golgi, dan sitoplasma yang kemungkinan mengandung kelenjar-kelenjar sekretorik. Kelenjar



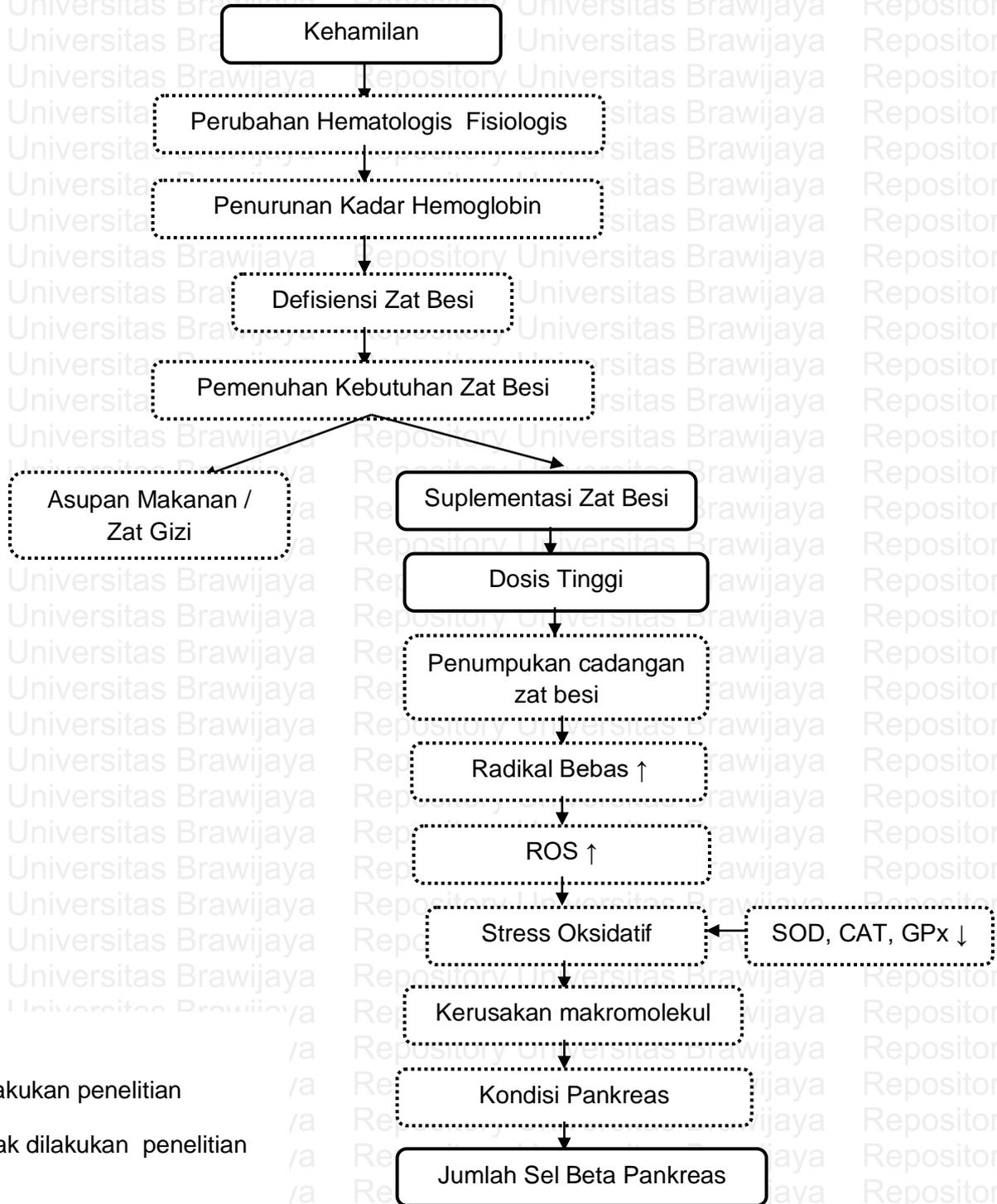
sekretorik ini berisi enzim-enzim yang berguna untuk sistem pencernaan dan sebagian besar akan aktif saat memasuki duodenum (Linggit,2018).

Kelenjar endokrin pankreas tikus terdiri pulau Langerhans yang berkisar antara 1-2% dari pankreas. Kelenjar endokrin pankreas tikus terdiri dari tiga sel utama, yaitu sel alfa yang mensekresi glukagon, sel beta yang mensekresi insulin, dan sel gamma yang mensekresi somastostatin (Linggit,2018).

BAB 3

KERANGKA KONSEP dan HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :



: dilakukan penelitian



: tidak dilakukan penelitian



3.2 Penjelasan kerangka konsep

Selama masa kehamilan terjadi berbagai perubahan dalam tubuh, pada masa awal kehamilan terjadi peningkatan curah jantung sekitar 30-50%. Pada pertengahan kehamilan terjadi vasodilatasi pada pembuluh darah perifer. Selain curah jantung, volume darah juga mengalami peningkatan sebanyak 50% dan massa sel darah merah bertambah 20-30%. Salah satu perubahan yang terjadi adalah perubahan kadar hemoglobin yang sangat berperan dalam suplai oksigen. Dalam masa kehamilan, kebutuhan akan zat besi meningkat sehingga jika tidak mendapat asupan yang cukup akan mengakibatkan defisiensi zat besi.

Kehamilan membutuhkan tambahan zat besi sekitar 800-1000 mg. Pemenuhan asupan zat besi selama masa kehamilan dapat dipenuhi dengan mengonsumsi makanan yang mengandung zat besi dan pemberian suplementasi zat besi.

Zat besi di dalam tubuh mengalami proses regulasi di mana sebagian dimanfaatkan untuk pembentukan eritrosit dan yang lain akan disimpan di organ tubuh. Cadangan zat besi akan disimpan di dalam hati, limpa, sumsum tulang dan organ tubuh lainnya, seperti pankreas. Salah satu transporter membran seluler yang berperan dalam penyimpanan zat besi di dalam tubuh adalah ZIP14 yang terdapat di dalam pankreas.

ZIP14 mengikat zat besi dalam bentuk besi bebas. Banyaknya besi bebas dalam tubuh dapat memicu peningkatan radikal bebas. Radikal bebas yang berlebihan dapat meningkatkan produksi ROS. Di dalam pankreas, ROS akan disintesis oleh enzim antioksidan seperti SOD, CAT, dan GPx. Namun jika jumlah enzim antioksidan tidak sesuai dengan jumlah ROS, radikal bebas dapat menghancurkan keseimbangan sistem biologi dengan menyebabkan kerusakan





pada makromolekul (lipid, protein, karbohidrat, dan DNA) dan akhirnya menyebabkan kematian sel pada pankreas.

3.3 Hipotesis

Ada pengaruh pemberian suplementasi besi dosis tinggi terhadap kondisi sel beta pankreas tikus putih strain wistar bunting.



BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan metode *experimental laboratories (true experiment)* dengan rancangan penelitian *Post Test Only with Control Group Design* yang membandingkan hasil yang diperoleh setelah perlakuan dengan kontrol. Penelitian ini membagi sampel dalam 4 kelompok perlakuan.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus betina strain wistar dalam keadaan bunting hari pertama yang diberikan suplementasi besi (Fe) dosis tinggi.

Sampel penelitian yang digunakan adalah tikus strain wistar yang diperoleh dari laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang didapat dari peternakan Singosari yang sehat secara fisik dengan berat 150-250 gram usia 8-10 minggu dan bergerak aktif.

Besar sampel ditentukan dengan menghitung banyak pengulangan menggunakan rumus Federer (Supranto,2000).

Banyaknya pengulangan adalah sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

n : jumlah pengulangan, t : jumlah perlakuan

Pada penelitian ini t = 4, sehingga jumlah pengulangan adalah :

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 15 : 3$$

$$n-1 \geq 5$$

$$n \geq 6$$



Dari hasil perhitungan didapatkan jumlah tikus pada tiap kelompok perlakuan sesuai dengan rumus diatas adalah 6 ekor tikus tiap kelompok perlakuan, sehingga jumlah sampel adalah $6 \times 4 = 24$ ekor tikus.

Untuk menghindari kriteria eksklusi selama penelitian berlangsung atau tikus tidak bunting dalam jangka waktu panjang selama penelitian berlangsung maka tiap kelompok perlakuan dan kelompok kontrol akan ditambahkan masing-masing 6 ekor tikus sehingga tiap kelompok terdiri dari 12 ekor tikus dan jumlah seluruh sampel adalah $12 \times 4 = 48$ ekor tikus.

4.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi Penelitian

4.3.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus betina spesies (*Rattus norvegicus*) strain wistar
- b. Usia minimal 8-10 minggu
- c. Berat tikus 150-250 gram
- d. Bunting
- e. Kondisi tikus dalam keadaan sehat dengan bulu berwarna putih, tidak ada abnormalitas yang tampak, serta bergerak aktif

4.3.2 Kriteria Eksklusi

- a. Tikus yang mati selama penelitian berlangsung
- b. Tikus yang tidak bunting dalam jangka waktu panjang selama penelitian berlangsung
- c. Tikus terlihat sakit selama penelitian berlangsung



4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Histologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Waktu yang diperlukan kurang lebih 2-3 bulan.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel bebas

Suplementasi besi (Fe)

4.5.2 Variabel terikat

Kondisi sel beta pankreas

4.6 Instrumen Penelitian

4.6.1 Alat

4.6.1.1 Alat pemeliharaan hewan coba

- Kandang plastik berukuran 29,5 cm x 21,5 cm sebanyak 24 buah diisi dengan sekam dan ditutup dengan kawat kasa.
- Tempat minum tikus

4.6.1.2 Alat pemberian Fe pada hewan coba

sprit, sonde

4.6.1.3 Alat pembedahan tikus

- Kapas
- Scalpel
- Gunting
- Pinset
- Jarum pentul
- Alas bedah / alas kayu
- Handsocon

4.6.1.4 Alat pembuatan preparat dan pengamatan preparat

- Mikrotom



b. Mikroskop cahaya

4.6.2 Bahan

4.6.2.1 Hewan Coba

Hewan coba adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) strain wistar bunting sejumlah 48 ekor tikus.

4.6.2.2 Perawatan Tikus

Pakan standar untuk tikus, sekam, air minum

4.6.2.3 Bahan perlakuan hewan coba

Suplementasi besi (Fe) yang dilarutkan dengan aquades dan CMC.

4.6.2.4 Bahan pembuatan preparat

- a. Alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, etanol absolut
- b. Formalin 10%
- c. Xylol
- d. Paraffin
- e. Aquades
- f. Eosin
- g. Hematoksilin

4.7 Definisi Operasional

| No | Definisi | Indikator |
|----|---|--|
| 1 | Hewan coba : tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain wistar betina bunting. Tikus bunting didapatkan dari hasil perkawinan antara tikus betina dan tikus jantan di mana akan memperlihatkan tanda kebuntingan yaitu adanya sumbat vagina (<i>vaginal plaque</i>) yang merupakan penggumpalan air mani dan berasal dari sekresi kelenjar khusus tikus betina. Tikus diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang | <p>a. Tikus betina spesies (<i>Rattus norvegicus</i>) strain wistar</p> <p>b. Usia minimal 8-10 minggu</p> <p>c. Bunting</p> <p>d. Kondisi tikus dalam keadaan sehat, tidak ada abnormalitas yang tampak, bulu berwarna putih serta bergerak aktif</p> |
| 2. | Suplementasi zat besi : dilarutkan dengan aquades dan CMC. | Dosis (mg) |
| 3 | Preparat histologi pankreas didapatkan dari langkah-langkah pembuatan slide histologi. | Jumlah sel beta pankreas |

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Aklimatisasi Hewan Coba

Aklimatisasi hewan coba dilakukan selama 7 hari terhadap kondisi air, makanan, dan suhu di dalam Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya.

4.8.2 Prosedur Perawatan Tikus

Persiapan kandang : sekam, tutup kandang dan pemberian pakan standar + minum. Sekam diganti setiap 3 hari sekali. Kandang pemeliharaan hewan coba yang digunakan adalah bak plastik dengan tutup kandang terbuat dari kawat. Setiap kandang berisi 6 ekor tikus. Pemberian makan tikus yaitu sebanyak 40 g/hari/ekor dan diberikan minum sesuai kebutuhan dengan cara meletakkan tempat minum hewan coba di atas tutup kandang.

4.8.3 Prosedur Pembuntingan Hewan Coba

Pengawinan dilakukan dengan mencampurkan tikus jantan dan tikus betina dengan perbandingan 1:2 dalam satu kandang. Tikus jantan dimasukkan ke dalam kandang tikus betina dan keesokan harinya dipisahkan lagi. Jika pada keesokan harinya didapatkan *vaginal plaque*, maka hari tersebut dihitung sebagai hari pertama kebuntingan. Tikus yang telah bunting telah ditentukan dan selanjutnya akan mendapatkan perlakuan, sedangkan yang belum bunting dicampur kembali dengan tikus jantan (Putra,2009).

4.8.4 Pembagian kelompok hewan coba

Dari 48 ekor sampel hewan coba yang digunakan, dibagi menjadi 4 kelompok secara random. Masing-masing kelompok terdiri dari 12 ekor tikus dengan rincian sebagai berikut:





1. Kelompok kontrol:

Tikus bunting yang tidak diberikan suplementasi besi (Fe)

2. Kelompok perlakuan 1 (P1): tikus bunting yang diberikan suplementasi besi (Fe) dengan dosis 0,54mg/200g BB

3. Kelompok perlakuan 2 (P2): tikus bunting yang diberikan suplementasi besi (Fe) dengan dosis 1,08mg/200g BB

4. Kelompok perlakuan 3 (P3): tikus bunting yang diberikan suplementasi besi (Fe) dengan dosis 2,16mg/200g BB

4.8.5 Penentuan Dosis

Dosis suplemen besi (Fe) yang digunakan terdiri dari 3 macam dosis untuk manusia yaitu :

1. Dosis suplementasi besi (Fe) sejumlah 30mg/kgBB

2. Dosis suplementasi besi (Fe) sejumlah 60mg/kgBB

3. Dosis suplementasi besi (Fe) sejumlah 120mg/kgBB

Masing-masing dosis dikonversikan menjadi dosis untuk tikus dengan satuan faktor konversi 0,018 untuk tikus dewasa dengan berat 200gr (Laurence dan Bacharach,1964).

Tabel 4.1 Konversi dosis

| Dicari Diketahui | Mencit 20 g | Tikus 200 g | Marmut 400 g | Kelinci 1,5 kg | Kucing 1,5 kg | Kera 4 kg | Anjing 12 kg | Manusia 70 kg |
|------------------|-------------|-------------|--------------|----------------|---------------|-----------|--------------|---------------|
| Mencit 20 g | 1,0 | 7,0 | 12,23 | 27,80 | 29,7 | 64,10 | 124,20 | 387,9 |
| Tikus 200 g | 0,14 | 1,0 | 1,74 | 3,9 | 4,20 | 9,20 | 17,80 | 56,0 |
| Marmut 400 g | 0,08 | 0,57 | 1,0 | 2,25 | 2,40 | 5,20 | 10,20 | 31,50 |
| Kelinci 1,5 kg | 0,04 | 0,25 | 0,44 | 1,0 | 1,08 | 2,40 | 4,50 | 14,20 |
| Kucing 1,5 kg | 0,03 | 0,23 | 0,41 | 0,92 | 1,0 | 2,20 | 4,10 | 13,0 |
| Kera 4 kg | 0,016 | 0,11 | 0,19 | 0,42 | 0,43 | 0,1 | 1,9 | 6,1 |
| Anjing 12 kg | 0,008 | 0,06 | 0,10 | 0,22 | 1,24 | 0,52 | 1,0 | 3,10 |
| Manusia 70 kg | 0,0026 | 0,018 | 0,031 | 0,07 | 0,076 | 0,16 | 0,32 | 1,0 |

Keterangan: Konversi dosis dari hewan percobaan dengan manusia (Laurence dan Bacharach, 1964).

Maka dapat diketahui dosis untuk tikus yaitu:

1. Dosis suplementasi besi (Fe) sejumlah 30mg dikonversikan menjadi dosis untuk tikus 200 g menjadi = 0,018

$$\text{Fe (200g)} = 0,018 \times 30\text{mg} = 0,54\text{mg}/200\text{gBB}$$

2. Dosis suplementasi besi (Fe) sejumlah 60mg dikonversikan menjadi dosis untuk tikus 200 g menjadi = 0,018

$$\text{Fe (200g)} = 0,018 \times 60\text{mg} = 1,08\text{mg} / 200\text{gBB}$$

3. Dosis suplementasi besi (Fe) sejumlah 180mg dikonversikan menjadi dosis untuk tikus 200 g menjadi = 0,018

$$\text{Fe (200g)} = 0,018 \times 120\text{mg} = 2,16\text{mg}/200\text{gBB}$$

4.8.6 Prosedur Pembuatan Sediaan

1. Gerus suplemen besi (Fe) hingga halus.
2. Larutkan serbuk suplemen besi (Fe) 60mg dengan menggunakan akuades 100 ml.
3. Tambahkan Karboksimetil selulosa atau *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) sebanyak 2 gram sebagai penstabil emulsi

Dengan begitu dalam 1ml larutan terdapat 1,66mg Fe. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan labu ukur berukuran 100 ml dan 10 ml.

4.8.7 Prosedur pemberian suplementasi besi (Fe)

Suplementasi besi (Fe) dilarutkan dalam aquades dan diberikan peroral dengan sonde pada kelompok tikus bunting dengan perlakuan selama 18 hari yang dimulai dari hari pertama kebuntingan sampai hari ke-18 kebuntingan.

4.8.8 Prosedur pengambilan pankreas tikus

Pada hari ke-19 kebuntingan, tikus dibius terlebih dahulu dengan cara diinjeksikan ketamin per IM di paha dengan dosis 0,1-0,2 c. Setelah tikus tidak sadar tikus diambil dan diposisikan pada papan bedah. Kemudian tikus difiksasi dengan jarum pentul kemudian dilakukan pembedahan.

4.8.9 Prosedur pembuatan preparat, pewarnaan dan pengamatan histologi pankreas tikus

Setelah pankreas diambil dari proses pembedahan, kemudian dibuat preparat untuk dilihat dalam mikroskop melalui beberapa tahap pembuatan preparat

1. Tahap pertama yaitu *coating*, diawali dengan menandai object glass yang akan digunakan lalu direndam dengan alkohol 70%





minimal selama semalam yang kemudian dikeringkan dengan *tissue* dan dilakukan perendaman dalam larutan gelatin 0,5% selama 30-40 detik per slide, lalu dikeringkan dengan posisi disandarkan agar gelatin merata.

2. Tahap kedua, dilakukan pencucian organ pankreas yang sebelumnya direndam di larutan formalin 10%. Pankreas dicuci dengan alkohol bertingkat, yaitu alkohol 90%, 95%, etanol absolut (3kali), xylol (3kali) masing-masing selama 20 menit.
3. Tahap ketiga yaitu proses infiltrasi dengan menambahkan paraffin 3 kali 30 menit.
4. Tahap keempat, *embedding*, bahan dan paraffin diletakkan di wadah dan dijaga agar udara tidak terperangkap di dekat bahan. Blok paraffin dibiarkan semalam dalam suhu ruangan.
5. Tahap pemotongan dengan mikrotom, yaitu dengan memanaskan cutter kemudian ditempelkan di blok paraffin agar sedikit meleleh. Mengatur mikrotom putar dan ditata untuk mengatur ketebalan irisan. Pankreas dipotong dengan ukuran 5 μm , kemudian dimasukkan ke air dingin untuk membuka lipatan. Setelah itu dimasukkan ke air hangat untuk memperoleh hasil irisan yang bagus. Irisan yang bagus diambil dengan object glass.
6. Tahap deparafinasi, yaitu preparat dimasukkan ke dalam xylol sebanyak 2 kali 5 menit.
7. Tahap rehidrasi, preparat dimasukkan ke dalam larutan alkohol bertingkat mulai dari etanol absolut (2 kali), etanol 95%, 80%, dan 70% masing-masing selama 5 menit, kemudian dilakukan perendaman di dalam aquades selama 10 menit.

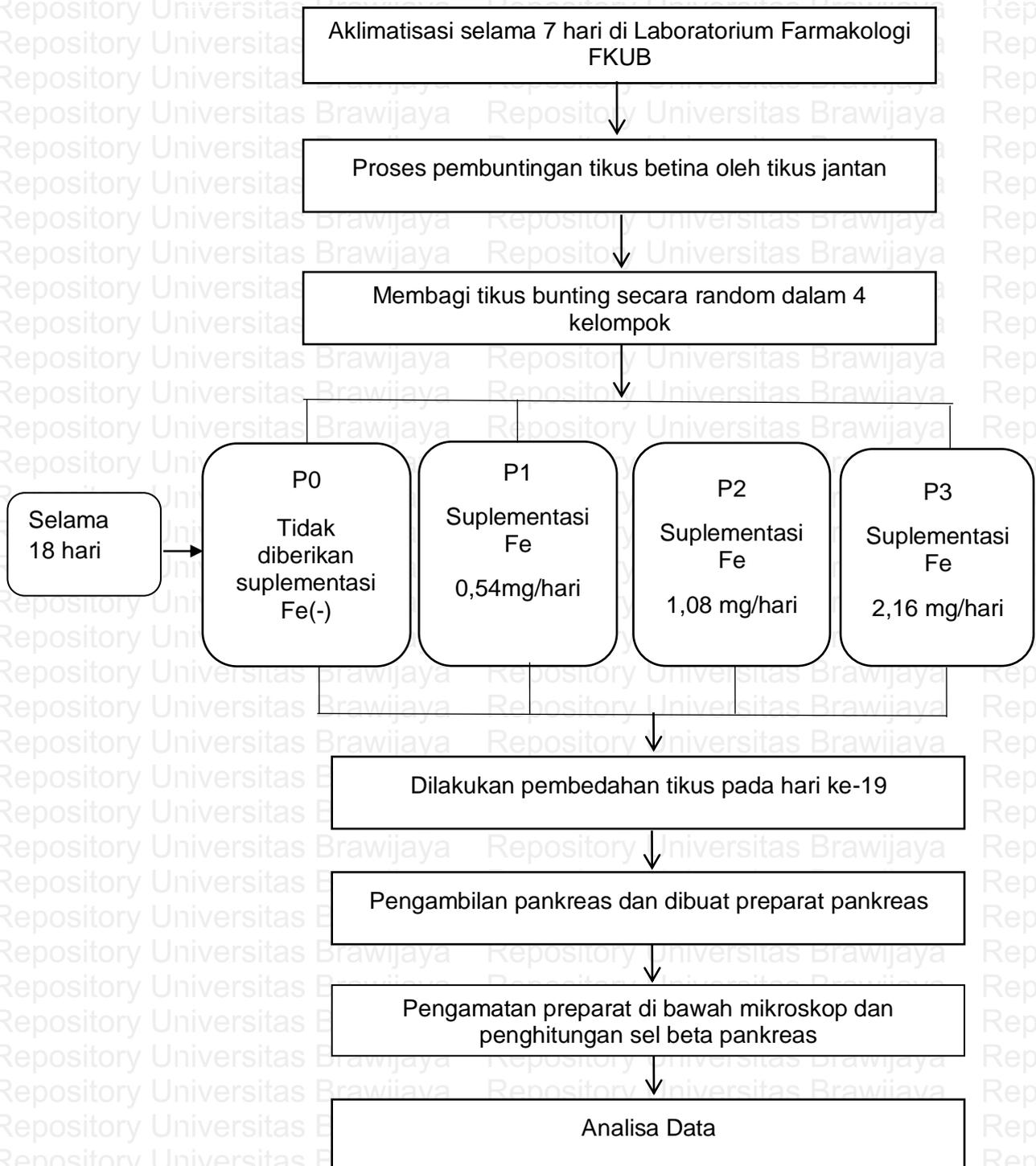
8. Tahap pewarnaan, dengan menggunakan hematoxilin eosin selama 3 menit atau jika sudah mendapatkan hasil pewarnaan yang baik. Kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit, lalu dilakukan pembilasan dengan aquades selama 5 menit. Setelah itu, preparat dimasukkan ke dalam pewarna eosin alkohol selama 30 menit dan dibilas dengan aquades selama 30 menit.
9. Tahap dehidrasi dengan memasukkan preparat ke dalam larutan alkohol bertingkat dari 80%, 90%, 95%, dan etanol absolut (2 kali)
10. Tahap *clearing*, yaitu memasukkan preparat ke dalam larutan xylol 2 kali selama 5 menit dan dikeringkan.
11. Tahap terakhir yaitu pengeleman dengan entelan. Hasil diamati di bawah mikroskop dan difoto yang selanjutnya dilakukan pencatatan hasil setiap kelompok perlakuan.

4.8.10 Prosedur penguburan hewan coba

Setelah dilakukan pembedahan, tikus dikubur di dalam tanah dengan kedalaman 40 cm di samping Laboratorium Farmakologi yang dibantu oleh petugas laboran.



4.9 Alur Penelitian





4.10 Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis statistik menggunakan uji *one-way* ANOVA. Penelitian ini dinilai bermakna bila $p < 0,05$. Uji statistik yang dilakukan pada data penelitian ini akan dicek menggunakan program statistik SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) 16 (Singgih, 2008). Uji *one-way* ANOVA ini merupakan ANOVA (*Analysis of Variance*) yang didasarkan pada 1 faktor atau kriteria yang menimbulkan variasi. *One-way* ANOVA digunakan apabila yang akan dianalisis terdiri dari satu variable tergantung dan satu variabel bebas (Santoso, 2010).

Berikut ini langkah-langkah analisis data dalam prosedur uji *one-way* ANOVA:

1. Uji normalitas data

Uji normalitas data bertujuan untuk mengetahui apakah data memiliki distribusi normal atau tidak. Jika angka signifikansi p value $> 0,05$, maka data berdistribusi normal.

2. Uji homogenitas varian

Uji homogenitas varian bertujuan untuk menguji berlaku tidaknya asumsi untuk ANOVA yaitu bahwa seluruh kelompok yang terbentuk harus memiliki varian yang sama. Jika varian dalam kelompok homogen maka asumsi untuk menggunakan ANOVA terpenuhi.

3. Pengujian *One-Way* ANOVA

Uji *One-Way* ANOVA bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui minimal ada 2 kelompok yang hasilnya berbeda signifikan.



4. *Post Hoc Test*

Dari hasil pengujian *One-Way ANOVA* didapatkan bahwa secara umum semua kelompok memiliki perbedaan. *Post Hoc Test* bertujuan untuk mengetahui kelompok yang berbeda secara signifikan dari uji *ANOVA*.

Post Hoc Test yang digunakan adalah uji *Turkey-HSD* dengan tingkat signifikansi 95% ($p < 0,05$) (Santoso, 2010; Singgih, 2008).

BAB 5

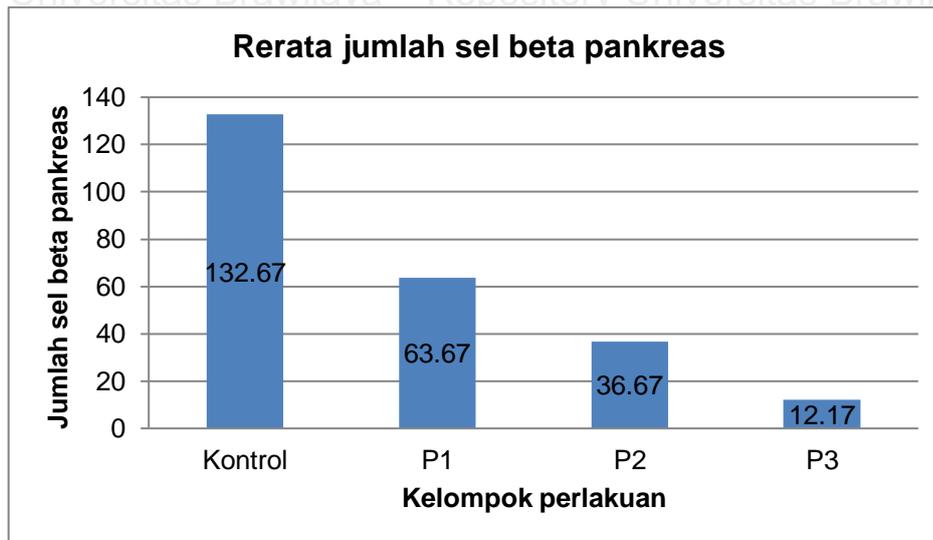
HASIL dan ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi terhadap kondisi sel beta pankreas tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Setelah itu, dihitung jumlah sel beta pankreas tikus bunting, hasil jumlah sel beta dapat dilihat pada tabel 5.1 berikut :

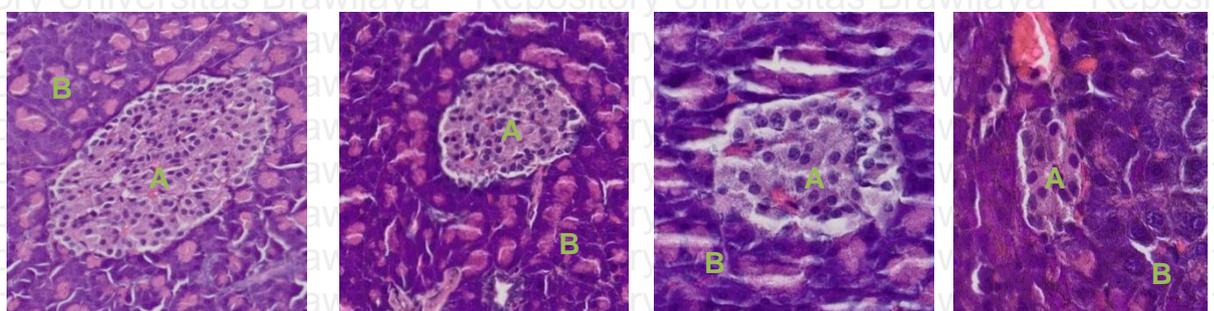
Tabel 5.1 Jumlah Sel Beta Pankreas Kelompok Kontrol dan Perlakuan 1 (0,54mg), 2 (1,08mg), dan 3 (2,16mg)

| Tikus | Kontrol | P1 | P2 | P3 |
|-------------------------|--------------------|---------------|---------------|---------------|
| 1 | 135 | 73 | 36 | 15 |
| 2 | 117 | 57 | 29 | 18 |
| 3 | 146 | 78 | 34 | 9 |
| 4 | 94 | 60 | 39 | 9 |
| 5 | 191 | 55 | 43 | 10 |
| 6 | 113 | 59 | 39 | 12 |
| Rerata ± Std.Deviasi | 132,67 ± 33,803 | 63,67 ± 9,459 | 36,67 ± 4,844 | 12,17 ± 3,656 |



Gambar 5.1 Diagram rerata jumlah sel beta pankreas kelompok kontrol dan perlakuan 1 (0,54mg), 2 (1,08mg), dan 3 (2,16mg)

Dari grafik tersebut, terlihat bahwa jumlah sel beta pankreas pada kelompok kontrol yang paling banyak yaitu 132,67. Pada kelompok yang diberi perlakuan, jumlah sel beta pankreas terus menurun dari P1 sampai P3 yaitu 63,67, 36,67, dan 12,17.



Kontrol

Perlakuan 1

Perlakuan 2

Perlakuan 3

Gambar 5.2 Pankreas setiap kelompok perlakuan dengan pewarnaan HE perbesaran 400x (A= sel beta pankreas, B= sel asiner)

Berdasar gambar 5.2 terlihat bahwa pada kelompok kontrol terlihat sel yang tersusun padat dan rapi. Pada kelompok perlakuan 1,2, dan 3 tampak jumlah sel beta pankreas yang lebih rendah daripada kelompok kontrol. Perlakuan 3 memiliki jumlah sel beta yang paling sedikit. Hal ini menunjukkan pemberian suplementasi zat besi dapat menurunkan jumlah



sel beta pankreas. Pada kelompok perlakuan 1 sampai 3 terdapat ruang kosong pada pulau Langerhans, hal ini menunjukkan adanya nekrosis pada sel beta pankreas, selain itu juga terdapat edema yang merupakan salah satu tanda sebelum terjadinya nekrosis.

5.2 Analisis Data

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Varian

Setelah memperoleh data akan dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas varian sebelum diuji dengan One Way ANOVA.

Uji normalitas digunakan untuk menguji normalitas data sampel. Sampel pada penelitian ini kurang dari 50, sehingga digunakan uji *Saphiro Wilk*. Sebaran data normal jika $p > 0,05$. Dari hasil pengujian didapatkan nilai signifikansi yaitu 0,384 (Lampiran 1). Hal ini menunjukkan sebaran data pada penelitian ini normal.

Uji homogenitas digunakan untuk menguji variansi data dengan uji *levene* (*Levene Statistic Test of Homogeneity of Variances*). Dikatakan homogen jika $p > 0,05$. Dari hasil pengujian didapatkan hasil yaitu 0,384 (Lampiran 2). Hal ini menunjukkan data pada penelitian ini mempunyai varian yang homogen.

5.2.3 Uji Analisis One Way ANOVA

Uji analisis *One Way ANOVA* digunakan untuk menilai pengaruh dari variabel dependen terhadap variabel independen. Dari hasil uji ANOVA (Lampiran 3) didapatkan hasil signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi terhadap jumlah sel beta pankreas, sehingga dilakukan uji lanjutan yaitu Uji *Post Hoc* Tuckey untuk menentukan perlakuan yang memiliki perbedaan yang bermakna.



5.2.4 Uji *Post Hoc* Tuckey

Uji *Post Hoc* Tuckey digunakan untuk membandingkan 2 kelompok perlakuan. Perbedaan yang bermakna ditandai dengan nilai signifikansi $<0,05$. Dari hasil uji *post hoc* tuckey pada penelitian ini diketahui terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok kontrol dan setiap kelompok perlakuan (Lampiran 4).



BAB VII

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan adanya efek pemberian suplementasi besi dosis tinggi terhadap jumlah sel beta pankreas tikus putih strain wistar bunting. Selama masa kehamilan, ibu hamil membutuhkan berbagai zat gizi. Salah satu zat gizi yang diperlukan yaitu zat besi. Zat besi berfungsi untuk pembentukan hemoglobin. Pada keadaan sebelum hamil, seorang wanita dapat memenuhi kebutuhan akan zat besi dari makanan yang sehat dan seimbang. Namun, jika dalam masa kehamilan, kebutuhan akan zat besi dari makanan belum dapat mencukupi, diperlukan pemberian suplemen tablet besi.

Metabolisme zat besi di dalam tubuh terbagi menjadi 4 jalur. Jalur pertama yaitu berpusat pada transferin. Jalur yang kedua yaitu melalui sel yang memperoleh besi melalui penyerapan dari *non-transferrin-bound iron* (NTBI) yang bisa disebut besi bebas. Terdapat 3 transporter membran seluler yang berperan dalam penyerapan NTBI, yaitu *divalent metal-ion transporter 1* (DMT1), *Zrt- and Irt-like protein 14* (ZIP14) dan ZIP8 (Crielaard,2017).

ZIP14 memegang peranan penting dalam akumulasi besi di jaringan dalam bentuk NTBI. Di dalam model tikus dengan kelebihan zat besi, didapatkan defisiensi ZIP14 dapat mengurangi jumlah simpanan besi di liver dan pankreas. Jalur yang ketiga yaitu penyerapan zat besi dalam bentuk hemoglobin dan heme. Jalur keempat yaitu penyerapan zat besi sebagai protein ferritin (Crielaard,2017).

Besi dalam bentuk bebas membuat adanya kemungkinan reaksi redoks satu elektron. Hal ini dapat mengkatalisasi elektron tunggal LOOH menjadi LO yang merupakan salah satu bentuk radikal bebas.

Radikal bebas adalah spesies yang mempunyai lebih dari 1 elektron yang tidak berpasangan yang mengakibatkan molekul tidak stabil dan sangat reaktif. Radikal bebas dapat menghancurkan keseimbangan sistem biologi dengan menyebabkan kerusakan pada makromolekul (lipid, protein, karbohidrat, dan DNA) dan akhirnya menyebabkan kematian sel (Syamsudin, 2013).

Sel beta pankreas adalah salah satu jaringan yang paling aktif secara metabolik dan sangat bergantung pada fosforilasi oksidatif untuk generasi adenosin trifosfat (ATP). Selain itu, konsumsi oksigen yang tinggi merupakan faktor kunci untuk sekresi insulin, yang berfungsi untuk mengatur kadar glukosa darah, hal ini memicu produksi ROS dan stres oksidatif yang lebih tinggi pada sel beta. Selain itu, sel beta sangat rentan terhadap stres oksidatif karena kurangnya enzim antioksidan. Sel beta pankreas memiliki jumlah enzim antioksidan yang sedikit yaitu sekitar 50% SOD dan 5% GPx dan CAT dibandingkan dengan enzim antioksidan di liver. Hal ini membuat sel beta pankreas sangat sensitif terhadap ROS yang menandakan stres oksidatif (Wang,2017).

Kondisi sel beta pankreas yang normal akan terlihat banyaknya jumlah sel beta di pulau Langerhans yang tersusun padat dan memadati pulau Langerhans. Namun, jika ada kerusakan pada sel beta pankreas akan terlihat adanya atrofi, kerusakan pada membran sel dan terjadi edema sebelum sel mengalami nekrosis (Sa'diyah,2016).

Jika terjadi kerusakan pada sel beta pankreas mengakibatkan tubuh tidak dapat memproduksi insulin sehingga kadar glukosa dalam darah akan meningkat (terjadi keadaan hiperglikemia). Kondisi hiperglikemi dapat menghasilkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS). ROS yang berlebihan dapat



mengakibatkan stres oksidatif dan memperparah kerusakan sel beta pankreas (Suarsana,2010).

Berdasar hasil statistik pada penelitian ini, terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yaitu terdapat pengaruh suplementasi zat besi terhadap menurunnya jumlah sel beta pankreas. Hal ini dapat didukung oleh penelitian lain yang dilakukan oleh Mutiyani pada tahun 2013 yang menggunakan diet tinggi karbohidrat dapat mempengaruhi jumlah sel beta pankreas dari 86,96 menjadi 45,05, hal ini dikarenakan adanya kondisi hiperglikemia. Kondisi hiperglikemia dapat memicu stress oksidatif yang dapat memicu apoptosis sel beta pankreas.

Dengan adanya kerusakan sel beta pankreas yang diakibatkan oleh stress oksidatif dapat menyebabkan tubuh tidak dapat menghasilkan insulin, sehingga hal ini dapat menyebabkan tingginya kadar gula darah. Pada ibu hamil terjadi perubahan hormon yang meningkatkan resistensi insulin. Jika produksi insulin oleh sel beta pankreas tidak seimbang dapat terjadinya hiperglikemia yang memicu terjadinya diabetes melitus gestasional.

Pada wanita hamil dengan diabetes melitus gestasional memiliki resistensi insulin yang lebih tinggi dibanding wanita hamil ayng normal dan tidak diimbangi dengan sekresi insulin yang adekuat. Efek pada bayi yang bisa terjadi karena diabetes melitus gestasional adalah makrosomia dan hipoglikemia yang mendadak pada neonatus (Cunningham,2010).

Oleh karena itu, untuk mengimbangi efek dari suplemen zat besi terhadap sel beta pankreas, dibutuhkan antioksidan yang berperan dalam mengatasi radikal bebas. Salah satu antioksidan yang bisa digunakan adalah vitamin C. Vitamin C berperan dalam melindungi sel dari radikal bebas. Hal ini didukung



oleh penelitian oleh Rahmawati pada tahun 2015 yang menunjukkan bahwa pemberian vitamin C yang terdapat pada belimbing wuluh dapat menurunkan kadar glukosa pada tikus yang mengalami hiperglikemia. Vitamin C berperan dalam perlindungan terhadap kerusakan yang diakibatkan dari adanya radikal bebas. Vitamin C mengurangi toksisitas glukosa yang berkontribusi mencegah terjadinya penurunan sel beta dan kadar insulin sehingga terjadi penurunan kadar glukosa darah.

Keterbatasan dalam penelitian ini dalam prosedur pembuatan preparat dapat terjadi kesalahan yang menyebabkan hasil dari preparat tidak maksimal. Hal ini bisa dikarenakan oleh teknik pemotongan yang kurang pas dan suhu pada saat blok parafin yang tidak sesuai.





BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat pengaruh pemberian suplementasi besi dosis tinggi terhadap kondisi sel beta pankreas pada tikus bunting.
2. Pemberian suplementasi besi dosis tinggi dapat menurunkan jumlah sel beta pankreas tikus bunting.
3. Dosis efektif suplementasi besi dalam menurunkan jumlah sel beta pankreas tikus putih (*Rattus Norvegicus*) adalah dosis 1 yaitu 0,54 mg/hari.

7.2 Saran

Beberapa hal yang dapat dilakukan sebagai tindak lanjut penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan dosis yang lebih rendah dikarenakan dengan dosis 1 sudah menunjukkan perbedaan yang bermakna.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk melihat pengaruh suplementasi besi terhadap gambaran pankreas secara umum.

DAFTAR PUSTAKA

Arief, M.T.Q.2004. Pengantar Metodologi Penelitian untuk Ilmu Kesehatan. Team CSGF. Klaten

Beutler E. 2006. Hemochromatosis: genetics and pathophysiology. Annual Review of Medicine57331–347.

Cario H, Holl RW, Debatin KM, Kohne E. 2003. Insulin sensitivity and beta-cell secretion in thalassaemia major with secondary haemochromatosis: assessment by oral glucose tolerance test. Eur J Pediatr.

Crielaard, Bart J dkk., 2017. Reviews Targeting Iron Metabolism in Drug Discovery and Delivery. Netherlands : Macmillan Publishers Limited

Cunningham F, Leveno K, Bloom S, Hauth J, Rouse D, Spong C. Maternal Physiology. Williams Obstetrics. 23rd ed. McGraw-Hill; 2010. p. 111

Depkes RI. (2009). Mengapa ibu hamil harus mengkonsumsi tablet zat besi. Terdapat pada [http://www.wartamedika.com/2009/01/mengapa-ibu-hamil-harus mengkonsumsi.html](http://www.wartamedika.com/2009/01/mengapa-ibu-hamil-harus-mengkonsumsi.html). Diakses 13 Maret 2011.

Fikawati, Sandra dkk., 2016. Gizi Ibu dan Bayi. Depok: Raja Grafindo Persada

Flavia dkk.,2014. Iron toxicity mediated by oxidative stress enhances tissue damage in an animal model of diabetes. Springer Science+Business Media New York : New York

Fu, Zhuo., Gilbert, ER., Liu, Dongmin. 2013. *Regulation of Insulin Synthesis and Secretion and Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes*. Department





of Human Nutrition, Foods and Exercise, College of Agriculture and Life Sciences, Virginia Tech, Blacksburg, Virginia

Halliwell B, Gutteridge JM. 1999. Free radicals in medicine and biology. 2nd ed. Oxford: Clarendon Press

Ikechukwu, C.F.E dan A.I. Obri. 2009. Histological Change in the Pancreas Following Administration of Ethanolic Extract of Alchornea Cordifolia Leaf in Alloxan-Induced Diabetic Wistar Rats. Nigerian Journal of Physiological Sciences 24 (2)

Irianto, Koes. 2014. Gizi Seimbang dalam Kesehatan Reproduksi (Balanced Nutrition in Reproductive Health). Bandung: Alfabeta

Laurence, D.R., and A.L., Bacharach. 1964. Evaluation of drug activities: pharmacometrics. Academic Press. London

Liggitt, Denny, Suzanne. 2018. Pancreas. University of Washington School of Medicine, Seattle, WA, United States

Miyata, S.M.I dan Proverawati, Atikah. 2010. Nutrisi Janin & Ibu Hamil Cara membuat Otak Janin Cerdas. Yogyakarta: Nuha Medika

Muhammad, Adang, Sianipar, Osman. 2005. Penentuan Defisiensi Besi Anemia Penyakit Kronis Menggunakan Peran Indeks sTfR-F (Determination of iron deficiency in chronic disease anemia by the role of sTfR-F index). Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada : Yogyakarta

Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. Biokimia harper (27 ed.). Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2009



Mutiyani, Mira dkk., 2013. Efek Diet Tinggi Karbohidrat dan Diet Tinggi Lemak terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kepadatan Sel Beta Pankreas pada Tikus Wistar. Indonesian Journal of Human Nutrition

Pietrangelo A. 2004. Hereditary hemochromatosis – a new look at an old disease. New England Journal of Medicine

Rahmawati, Rikhana Dwi.2015. Pengaruh Pemberian Sari Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Sprague Dawley. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang

Robertson dkk., 2003. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. Diabetes

Setiadi. 2007. Anatomi dan Fisiologi Manusia. Graha Ilmu: Yogyakarta

Seungbum,K dkk., 2007. Streptozotocin-induced diabetes can be reversed by hepatic oval cell activation through hepatic transdifferentiation and pancreatic islet regeneration. Lab. Investigation

Suarsana, Nyoman dkk., 2010. Profil Glukosa Darah dan Ultrastruktur Sel Beta Pankreas Tikus yang Diinduksi Senyawa Aloksan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Bali

Sugianto. 2016. Diabetes Mellitus dalam Kehamilan. Jakarta : Penerbit Erlangga

Syamsudin. 2013. Nutrasetikal. Yogyakarta: Graha Ilmu

Wang, Jingjing, Wang Hongjung. 2017. Review Article Oxidative Stress in Pancreatic Beta Cell Regeneration. USA : Department of Surgery, Medical University of South Carolina



Zhuang, Taifeng dkk., 2014. Review Iron, Oxidative Stress and Gestational
Diabetes. Nutrients

Lampiran 1**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Alfin Septia Putri Aldi

NIM : 155070601111015

Program Studi : Program Studi S1 Kebidanan

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alhan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 10 Juni 2019

Yang membuat pernyataan,

(Alfin Septia Putri Aldi)

NIM. 155070601111015





CURRICULUM VITAE

Nama : Alfin Septia Putri Aldi
 NIM : 155070601111015
 Jurusan/Angkatan : Kebidanan/2015
 Tempat/Tanggal Lahir : Malang, 14 September 1997
 Jenis Kelamin : Perempuan
 Alamat Asal : Jl. Pisang 2C/Gg III, Dresel, Oro-Oro Ombo, Batu
 Alamat di Malang : -
 Status : Mahasiswa
 Motto hidup : Berusaha yang terbaik
 No Hp : 081357578877
 Email : alfinseptia7@gmail.com



Orang Tua

Nama Ayah : Aldi Bakri
 Nama ibu : Wiwik Suharti
 Saudara : Shafa Ramadhani

Riwayat Pendidikan

1. TK Muslimat Hajjah Mariyam Batu (Tahun 2002-2003)
2. SDN Ngaglik 02 Batu (Tahun 2003-2009)
3. SMP Negeri 1 Batu (Tahun 2009-2012)
4. SMA Negeri 1 Batu (Tahun 2012-2015)
5. Program Studi S1 Kebidanan (Tahun 2015-sekarang)

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya



Lampiran 2

Uji Normalitas

Tests of Normality

| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Jumlah Sel | ,141 | 24 | ,200* | ,957 | 24 | ,384 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 3

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

| Jumlah Sel | | | |
|------------------|-----|-----|------|
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| 1,071 | 3 | 20 | ,384 |

Lampiran 4

Uji Analisis One Way ANOVA

ANOVA

| Jumlah Sel | | | | | |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Between Groups | 48718,125 | 3 | 16239,375 | 51,189 | ,000 |
| Within Groups | 6344,833 | 20 | 317,242 | | |
| Total | 55062,958 | 23 | | | |

Lampiran 5

Uji Post Hoc Tuckey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Sel

Tukey HSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------|--------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| Kontrol | P1 | 69,00* | 10,283 | ,000 | 40,22 | 97,78 |
| | P2 | 96,00* | 10,283 | ,000 | 67,22 | 124,78 |
| | P3 | 120,50* | 10,283 | ,000 | 91,72 | 149,28 |
| P1 | Kontrol | -69,00* | 10,283 | ,000 | -97,78 | -40,22 |
| | P2 | 27,00 | 10,283 | ,071 | -1,78 | 55,78 |
| | P3 | 51,50* | 10,283 | ,000 | 22,72 | 80,28 |
| P2 | Kontrol | -96,00* | 10,283 | ,000 | -124,78 | -67,22 |
| | P1 | -27,00 | 10,283 | ,071 | -55,78 | 1,78 |
| | P3 | 24,50 | 10,283 | ,113 | -4,28 | 53,28 |
| P3 | Kontrol | -120,50* | 10,283 | ,000 | -149,28 | -91,72 |
| | P1 | -51,50* | 10,283 | ,000 | -80,28 | -22,72 |
| | P2 | -24,50 | 10,283 | ,113 | -53,28 | 4,28 |

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Jumlah Sel

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = .05 | | |
|----------|---|------------------------|-------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| P3 | 6 | 12,17 | | |
| P2 | 6 | 36,67 | 36,67 | |
| P1 | 6 | | 63,67 | |
| Kontrol | 6 | | | 132,67 |
| Sig. | | ,113 | ,071 | 1,000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.



Lampiran Dokumentasi



Prosedur Pembuatan Sediaan Fe



Keadaan Kandang selama Penelitian



Penimbangan tikus



Pakan Tikus



Pembedahan tikus



Parafin blok organ



Pemotongan organ



Pewarnaan HE

Lampiran 6

SURAT LAIK ETIK



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65143, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (021) 5516111 Ext. 388, 569117, 567192 - Fax. (021) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 285 / EC / KEPK – S1 – KB / 11 / 2018

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,
SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,
DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

- JUDUL** : Pengaruh Pemberian Suplementasi Besi (Fe) Dosis Tinggi terhadap Peningkatan Kadar Glukosa Darah, Kondisi Makroskopis Lambung, Keadaan Plasenta, Kondisi Sel Beta Pankreas, Gambaran Sel Epitel Lambung, dan Gangguan Pertumbuhan pada Bayi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Bunting.
- PENELITI** : Indah Nur Afifah
Zalfaa Velia Aqilah
Safna Wahyuni
Dyah Aulia Perwitasari
Rachma Ayu Difa Pratiwi
Alfin Septia Putri Aldi
- UNIT / LEMBAGA** : S1 Kebidanan – Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.
- TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- DINYATAKAN LAIK ETIK.**

Malang,
Ketua.

Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjud ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum. Dr(Hk)
NIK. 160746683

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy.
Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).