

PUASA PADA KEBUNTINGAN TRIMESTER 1, 2 DAN 3 RELATIF AMAN DILIHAT PADA INDEKS APOPTOSIS SEL NEURON OTAK RATTUS NORVEGICUS BARU LAHIR

Yunita Kholilaili Saras Wati^{1*}, Hermanto Tri Joewono², Muhammad Miftahussurur³

¹ Magister Ilmu Kesehatan Reproduksi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Kampus
 A Jl. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo 47, Surabaya 60131, Indonesia

²Departemen Obstetri dan Ginekologi, Rumah Sakit Dr. Seotomo, Jl. Mayjen Prof. Dr.
 Moestopo No.6-8, Surabaya 60286, Indonesia

³Departemen Penyakit Dalam, Rumah Sakit Dr. Seotomo, Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo
 No.6-8, Surabaya 60286, Indonesia

*Corresponding Author : yunita.kholilaili.saraswati-2016@fk.unair.ac.id

ABSTRACT

Fasting in pregnancy that can increase neural network activity in the brain region and produce BDNF secretions that seek survival pathways will produce pro survival / anti apoptosis in cerebral neuron cells and the cerebellum. The aim of this study to analyze the effect of fasting during pregnancy on the index of apoptosis of cerebral neuron cells and the cerebellum of the newly born Rattus norvegicus. This research was using Experimental laboratory studies that were correct with the post test study design were only the control group design using experimental animals Rattus norvegicus at the Pathology Laboratory of the Faculty of Medicine, Airlangga University Surabaya which were collected into 3 research groups (1st, 2nd, and 3rd trimesters) and 1 control group . Each group consisted of 6 Rattus norvegicus mothers. The brain dissection of the newborn Rattus norvegicus child was taken and the apoptotic index was calculated using the Immunohistochemical Tunnel method. and discuss with the Immunoreactive Score (IRS). The results of the Kruskal wallis analysis were expressed as the Cerebrum apoptosis index in all four groups (p <0.05). Most apoptosis in the cerebrum was in the first trimester (3.9) and lowest in the second trimester (1.5). The results of the cerebellar apoptosis index analysis by the Kruskal wallis test proved that the most cerebellar apoptosis in the first trimester (4.87) and the lowest in the second trimester (1.33). Conclusion there is no difference between the 1,2 th trimester and 3 in the control of the cerebrum and cerebellum.

Keywords: Apoptosis index, Fasting, Pregnancy

ABSTRAK

Puasa dalam kehamilan diduga dapat meningkatkan aktivitas jaringan saraf di daerah otak dan menghasilkan sekresi BDNF yang merangsang jalur survival sehingga akan menghasilkan pro survival/ anti apoptosis pada sel neuron *cerebrum* dan *cerebellum*. Tujuan penelitian ini untuk menganalisa pengaruh puasa selama kebuntingan terhadap indeks apoptosis sel neuron *cerebrum* dan *cerebellum* *Rattus norvegicus* baru lahir. Metode penelitian *true laboratory experimental* dengan desain studi *post test only control group design* menggunakan hewan

coba *Rattus norvegicus* di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya yang dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan (trimester 1, 2, dan 3) dan 1 kelompok kontrol. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor induk *Rattus norvegicus*. Diseksi otak anak *Rattus norvegicus* baru lahir diambil dan dihitung indeks apoptosisnya menggunakan metode Tunnel Immunohistokimia. dan dinilai dengan *Immunoreactive Score (IRS)*. Hasil analisis *Kruskal wallis* menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan indeks apoptosis *Cerebrum* pada ke-empat kelompok ($p < 0,05$). Apoptosis pada *cerebrum* paling banyak pada kelompok trimester 1 (3,9) dan paling rendah pada trimester 2 (1,5). Hasil analisis indeks apoptosis *cerebellum* dengan uji *Kruskal wallis* diketahui bahwa apoptosis *cerebellum* terbanyak pada trimester 1 (4,87) dan terendah pada trimester 2 (1,33). Kesimpulan tidak ada perbedaan antara trimester 1,2, dan 3 terhadap kontrol pada *cerebrum* dan *cerebellum*.

Kata kunci : Indeks apoptosis, Kehamilan, Puasa

PENDAHULUAN

Puasa merupakan aktifitas tidak mengonsumsi makanan ataupun minuman yang berkalori dari 13 hingga 18 jam per hari tergantung pada tempat, waktu terbit dan terbenamnya matahari (Kavehmanesh & Abolghasemi, 2004). Puasa tidak hanya dilakukan oleh Muslim saja, melainkan juga dilakukan oleh beberapa agama lainnya (Longo & Mattson, 2014). Beberapa penelitian menyatakan beberapa kontroversi pada ibu yang menjalankan puasa yaitu puasa pada ibu hamil tidak memiliki efek pada pertumbuhan intrauterin, kelahiran berat badan, indeks cairan ketuban dan juga tidak berpengaruh pada perkembangan intelektual anak-anak. Namun, ada juga hasil penelitian menyatakan bahwa ibu yang berpuasa saat kehamilan memiliki efek lebih rendah pada skor matematika dan kognitif anak-anak, muntah, diare, pusing, serta mengurangi gerakan

pernapasan janin, dan terdapat penurunan kadar glukosa, insulin, laktat, dan karnitin yang signifikan serta peningkatan konsentrasi trigliserida (Lou & Hammoud, 2015; Bilsen., *et al.* 2017; Khalaf *et al.*, 2015).

Puasa dapat meningkatkan aktivitas jaringan saraf di daerah otak yang terlibat dalam kognisi, menghasilkan produksi BDNF, peningkatan plastisitas sinaptik, dan peningkatan stres toleransi (Rothman *et al.*, 2012).

Puasa juga menyebabkan peningkatan fungsi mitokondria dan up-regulasi jalur cAMP *Response Element-Binding* (CREB) melalui Ca^{2+} *calmodulin dependent protein kinase* (CaMK) sehingga meningkatkan BDNF (Mattson *et al.*, 2017). BDNF mengikat reseptor tirosin kinase B (TrkB) dan mengaktifkan *Src* menghasilkan aktivasi kinase PI3 dan Akt kinase.

BDNF juga merangsang aktivasi mitogen-activated protein kinase (MAPK) dan *Mitogen ERK kinase* (MEK) serta ERK $\frac{1}{2}$ sehingga akan menghasilkan pro survival/ anti apoptosis (Longo & Mattson, 2014).

Jika apoptosis melebihi normal maka tingginya indeks apoptosis pada sel neuron akan menyebabkan kerusakan pada sistem saraf pusat yang akan menyebabkan berbagai macam penyakit yaitu penyakit *Alzheimer*, *Parkinson*, *Huntington*, dan *Sindrom Down*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh puasa selama kebuntingan trimester 1, 2 dan 3 terhadap indeks apoptosis sel neuron cerebrum dan cerebellum *Rattus norvegicus* baru lahir.

METODE PENELITIAN

Desain penelitian ini yaitu *true experimental laboratory post test only with control group design*.

Subyek penelitian ini yaitu anak *Rattus norvegicus* dengan induk *Rattus norvegicus* betina dewasa usia 3,5-4 bulan dengan berat 130-170 gram dengan kriteria bunting, sehat, bulu tebal, dan halus dari *Animal center* UGM Yogyakarta Indonesia.

Subyek dalam penelitian ini berjumlah 24, yang terbagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok berjumlah 6 ekor yaitu : Kelompok kontrol X0 diberikan pakan standart dan air minum. Kelompok X1 diberikan puasa pada trimester I dipuasakan 2 hari (Hari ke 5 dan 6, minggu ke 1 kebuntingan). Kelompok X2 diberikan puasa pada trimester II dipuasakan 2 hari (Hari ke 11 dan 12, minggu ke 2 kebuntingan). Kelompok X3 diberikan puasa pada trimester III dipuasakan 2 hari (Hari ke 17 dan 18, minggu ke 3 kebuntingan). Pembacaan dengan metode TUNEL assay yang menggunakan pemeriksaan pewarnaan imunohistokimia akan terwarnai coklat tua hingga kehitaman.

Pengambilan sampel dilakukan pada kebuntingan hari ke 19 segera setelah lahir, jaringan otak anak *Rattus norvegicus* diambil untuk dilakukan pemeriksaan imunohistokimia.

Analisis data dengan menggunakan uji normalitas *Shapiro-wilk* dilanjutkan menggunakan Uji *Kruskall wallis* karena tidak berdistribusi normal Semua perhitungan analisis data tersebut menggunakan software *SPSS for Windows* 23.

HASIL

Tabel 1 Hasil Uji *Kruskal wallis* apoptosis *cerebrum*

Kelompok	n	Median (min – maks)	Nilai p
X0	6	1,9 (1,0 – 6,0) ^{ab}	0,035
X1	6	3,9 (1,8 – 6,2) ^b	
X2	6	1,5 (1,0 – 3,6) ^a	
X3	6	3,2 (1,8 – 4,8) ^b	

Tabel 2 Hasil uji *Kruskal wallis* apoptosis sel neuron *cerebellum*

Kelompok	N	Rerata ± Simpangan Baku	Nilai p
X0	6	2,87 ± 2,229 ^{ab}	0,035
X1	6	4,87 ± 3,472 ^{ab}	
X2	6	1,33 ± 0,372 ^a	
X3	6	3,63 ± 1,274 ^b	

Berdasarkan tabel 1 diketahui bahwa apoptosis pada *cerebrum* paling banyak terjadi pada kelompok trimester 1 (3,9) dan paling rendah terdapat pada trimester 2 (1,5). Hasil *Kruskal wallis* didapatkan bahwa tidak ada perbedaan antara kelompok trimester 1,2, dan 3 terhadap kontrol. Sedangkan tabel 2 diketahui bahwa apoptosis *cerebellum* terbanyak pada trimester 1 (4,87) dan terendah pada trimester 2 (1,33). Hasil analisis *Kruskal wallis* didapatkan bahwa tidak ada perbedaan antara kelompok 1, 2 dan 3 dibandingkan kontrol.

PEMBAHASAN

Puasa Pada Kebuntingan Trimester 1 terhadap Indeks Apoptosis Sel Neuron *Cerebrum Cerebellum Rattus norvegicus* Baru Lahir.

Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna indeks apoptosis *cerebrum* dan *cerebellum Rattus norvegicus* baru lahir yang berpuasa selama 2 hari pada kebuntingan trimester 1. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Kuhla *et al.*, 2013; Parrott & Greenwood, 2007; Witte, Fobker, Gellner, Knecht, & Floel, 2009, Puasa telah terbukti meningkatkan pembelajaran dan memori dalam berbagai model hewan dan manusia. Pada keadaan puasa, terjadi proses pemecahan asam lemak di jaringan adiposa yang akan menghasilkan asetil coA. Acetyl coA akan menghasilkan badan keton yang merupakan sumber energi penting bagi otak dan diproses saat adanya fase kelaparan misalnya selama puasa. Badan keton dapat melintasi BBB (*Brain Blood Barrier*) melalui transporter

asam monokarboksilat 1 (MCT1) (Robinson dan Williamson, 1980; Gnoni *et al.*, 2010). Badan keton juga menjadi neuroprotektif dari berkurangnya ketersediaan oksigen melalui berbagai mekanisme yang mengurangi pembentukan spesies oksigen reaktif (Murray & Montgomery, 2014 dalam Romano *et al.*, 2017). Terjadinya badan keton menurunkan stres oksidatif dan menurunkan ROS. ROS yang menurun akan menyebabkan transkripsi dari BDNF pada post sinap melalui neurotransmitter di sel neuron. BDNF dapat mencegah apoptosis neuron yang berlebihan dengan menginduksi ekspresi anggota keluarga Bcl-2 anti-apoptosis dan inhibitor caspase, dan dengan menghambat protein pro-apoptosis seperti Bax dan Bad. Meskipun indeks apoptosis (program kematian sel) naik, hal tersebut masih tergolong fisiologis yang terjadi pada pertumbuhan dan perkembangan individu untuk menjaga homeostasis sel individu tersebut. Saat proses organogenesis sel-sel berkembang banyak untuk proses tersebut, proses apoptosis pada akhirnya akan membuang sel-sel yang tidak dibutuhkan atau rusak untuk homeostasis jaringan fetus. Faktor adaptasi kadar hormon kehamilan pun menjadi salah satu penyebabnya dimana pada saat awal kehamilan/ kebuntingan

pada tikus, hormon masih fluktuatif. Pada manusia biasanya ditandai dengan terjadi anorexia, hyperemesis dan emesis. Jadi pada kehamilan trimester pertama, berpuasa merupakan kegiatan yang aman untuk dilakukan karena pada dasarnya kejadian apoptosis sel neuron *Rattus* tidak meningkat secara signifikan, dan masih dalam tahap yang aman pada tikus. Pada ibu hamil yang sehat dengan pengalihan jam makan (puasa) sama saja seperti ibu hamil yang mengalami gejala awal dalam kehamilan misalnya mual, emesis ataupun anoreksia karena pengaruh hormon kehamilan di trimester pertama.

Puasa Pada Kebuntingan Trimester 2 terhadap Indeks Apoptosis Sel Neuron *Cerebrum Cerebellum Rattus norvegicus* Baru Lahir

Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna indeks apoptosis *cerebrum* dan *cerebellum Rattus norvegicus* baru lahir yang berpuasa selama 2 hari pada kebuntingan trimester 2.

Puasa dikatakan akan menurunkan stres oksidatif dan akan meningkatkan BDNF yang merupakan salah satu faktor neurotropik. Sehingga merangsang pelepasan glutamat dan mengaktifkan AMPA dan-methyl-D-aspartat N

(NMDA) reseptor mengakibatkan Ca^{2+} masuknya dan aktivasi Ca^{2+} / kalmodulin-sensitif (CaM) kinase yang, pada gilirannya, mengaktifkan faktor transkripsi siklik AMP respon elemen-binding protein (CREB) dan faktor nuclear κ B (NF κ B). BDNF mengikat reseptor tirosin kinase B (TrkB) dan menghasilkan aktivasi ERK $1/2$ dan Akt kinase melalui jalur mitogen-activated protein kinase (MAPK/ MEK) dan P13K (Longo & Mattson, 2014). Hal tersebut akan menyebabkan terjadinya pro survival/ anti apoptosis, sehingga jumlah sel neuron bertambah dan proses apoptosis berkurang. Kejadian apoptosis pada trimester 2 tidak ada beda dengan kontrol dan cenderung menurun dikarenakan hormon dan adaptasi metabolisme ibu sudah baik sehingga stres oksidatif turun, faktor neurotropik meningkat yang pada akhirnya kejadian apoptosis akan menurun.

Puasa Pada Kebuntingan Trimester 3 terhadap Indeks Apoptosis Sel Neuron *Cerebrum Cerebellum Rattus norvegicus* Baru Lahir.

Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna indeks apoptosis *cerebrum* dan *cerebellum Rattus norvegicus* baru lahir yang berpuasa selama 2 hari pada kebuntingan trimester

3. Puasa juga dapat mengubah struktur sirkuit neuronal merangsang neurogenesis, pertumbuhan neurit, dan pembentukan sinaps (Voss *et al.*, 2013). Puasa selama 12-18 jam selama trimester ketiga menyebabkan wanita hamil mengalami penurunan kadar glukosa dan insulin dalam darah, dan peningkatan kadar alanin, asam lemak bebas dan β -hidroksibutirat, kemudian akan menurunkan stres oksidatif dan meningkatkan produksi BDNF yang dapat merangsang biogenesis mitokondria untuk meningkatkan bioenergi neuron dan memungkinkan pembentukan sinaps dan pemeliharaan di otak (Cheng *et al.*, 2012).

Meskipun indeks apoptosis naik, hal ini berdasarkan pada penelitian Hermanto (2013) apoptosis memang mengalami puncaknya pada usia kehamilan sekitar 36-40 minggu yang merupakan masa akhir kehamilan pada manusia, sedangkan pada tikus diasumsikan pada hari-hari terakhir yaitu pada hari 17 dan 18. Jadi pada keadaan puasa trimester 3 pada tikus tergolong masih aman karena dibandingkan dengan kontrol tidak ada peningkatan yang signifikan dan masih tergolong fisiologis mengingat kejadian alami apoptosis berada pada puncaknya yaitu pada kehamilan 36-40 minggu (akhir

kehamilan pada manusia) dan pertumbuhan organ yang cepat dan banyak pada masa trimester akhir kehamilan sehingga sel-sel dihomeostasis oleh tubuh dengan adanya kejadian apoptosis ini.

KESIMPULAN

- Tidak ada perbedaan bermakna indeks apoptosis sel neuron *dcerebrum* dan *cerebellum Rattus norvegicus* baru lahir pada induk yang berpuasa selama 2 hari pada kebuntingan trimester 1 dibandingkan kontrol.
 - Tidak ada perbedaan bermakna indeks apoptosis sel neuron *dcerebrum* dan *cerebellum Rattus norvegicus* baru lahir pada induk yang berpuasa selama 2 hari pada kebuntingan trimester 2 dibandingkan kontrol.
 - Tidak ada perbedaan bermakna indeks apoptosis sel neuron *dcerebrum* dan *cerebellum Rattus norvegicus* baru lahir pada induk yang berpuasa selama 2 hari pada kebuntingan trimester 3 dibandingkan kontrol.
- Jadi kegiatan puasa selama kebuntingan pada *Rattus norvegicus* aman dilakukan dan

tidak berakibat buruk pada otak janin.

- Dibutuhkan penelitian lebih lanjut tentang puasa dalam kehamilan untuk membuktikan perubahan sel-sel otak dan indeks apoptosis hingga periode postnatal.
- Dibutuhkan penelitian lanjutan untuk membuktikan puasa dapat memberikan dampak jangka panjang terhadap tumbuh kembang otak secara struktural, biomolekular dan fungsional

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada dr. Hermanto Tri Joewono dan dr. Muhammad Miftahussurur atas bimbingan yang telah diberikan.

REFERENSI

- Bastani, A., & Rajabi, S. (2017). The Effects of Fasting During Ramadan on the Concentration of Serotonin , Dopamine , Brain- Derived Neurotrophic Factor and Nerve Growth Factor, *Neurology International*, 9, 29–33.
- Bilsen, L. A. Van, Savitri, A. I., Amelia, D., Baharuddin, M., & Grobbee, D. E. (2017). Predictors of Ramadan Fasting During Pregnancy. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 64, 267–275.
- Chen, S., Wu, C., Hwang, W., & Yang, D. (2017). More Insight into BDNF Against Neurodegeneration : of

- Autophagy, *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 545.
- Cotran, R.S. (2004). Cellular Pathology: Cell Injury and Cell and Cell Death. In *Robbins Pathologic Basic of Disease*. 7th ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 26-32
- Cunningham, F., Gant, N. & Leveno, K. (2012). *Maternal Physiology William Obstetrics*. 23rd ed. New York: Mc Graw Hill.
- Derakhshan, M., & Derakhshan, R. (2015). Fasting and Apoptosis : A Mini Review. *Journal of Fasting and Health*, 34, 166–168.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis : A Review of Programmed Cell Death. *Toxicologic Pathology*, 4,495-516.
- Guyton, A. C., & Hall. (2006). *Textbook of Medical Physiology*, 11th ed. Philadelphia.: Elsevier Saunders.
- Hermanto, Estoepangesti, A. & Widjiati, (2002). *The Influence of Various Musical Exposure to Pregnant Rattus norvegicus to the Amount of Rat Offspring Brain Cells*, Abstract of the 3rd Scientific Meeting on Fetomaternal Medicine and AOFOG Accredited Ultrasound Workshop.
- Hermanto, T., (2004). *Smart Babies Through Prenatal University: Mission: Impossible?*. Majalah Obstetri dan Ginekologi Indonesia.
- Jeong, J., Yu, K., Bak, D., Lee, J., Lee, N., Jeong, Y., Han, S. (2016). Intermittent Fasting is Neuroprotective in Focal Cerebral Ischemia by Minimizing Autophagic Flux Disturbance and Inhibiting Apoptosis, *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12, 3021–3028.
- Kavehmanesh, Zohreh; Abolghasemi, H. (2004). Maternal Ramadan Fasting and Neonatal Health. *Journal of Perinatology*, 24, 748–750.
- Khalaf, M., Tammam, A. E., Ibrahim, I., Habib, D. M., Sayed, M., Bahlol, M., El, A. M. (2015). Effect Of Ramadan Fasting On Amniotic Fluid Index In Last Month Of Pregnancy. *Middle East Fertility Society Journal*, 201, 54–56.
- Longo, V. D., & Mattson, M. P. (2014). Review Fasting : Molecular Mechanisms and Clinical Applications. *Cell Metabolism*, 192, 181–192.
- Lou, A., & Hammoud, M. (2015). International Journal of Gynecology and Obstetrics Muslim Patients ' Expectations and Attitudes about Ramadan Fasting During Pregnancy. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 132, 28–31.
- Marosi, K. (2015). BDNF Mediates Adaptive Brain and Body Responses to Energetic Energetic Challenges. *Trends Endocrinology of Metabolism*, 252, 89–98.
- Mattson, M. P., Longo, V. D., & Harvie, M. (2017). Impact of Intermittent Fasting on Health and Disease Processes. *Ageing Research Reviews*, 39, 46–58.
- Murray, P. S., & Holmes, P. V. (2011). An Overview of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Implications for Excitotoxic Vulnerability in the Hippocampus. *International Journal of Peptides*, 32, 156-159
- Romano, A., Romano, A., Barbara, J., Anna, C., Vergara, D., Vittoria, M., Maria, A. (2017). Fats for thoughts : An update on Brain Fatty Acid Metabolism The International Journal of Biochemistry & Cell Biology Fats for Thoughts: An update on brain fatty acid metabolism. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 84, 40–45.
- Roth, K. A., & Sa, C. D. (2001). Apoptosis and Brain Development, *Mental Retardation And Developmental Disabilities Research Reviews*, 266, 261–

266.
Rothman, S. M., Griffioen, K. J., Wan,
R., & Mattson, M. P. (2012). Brain-
derived neurotrophic factor as a
New York Academy Of Sciences, 1264, 49–63
- regulator of systemic and brain
energy metabolism and
cardiovascular health. *Annals Of The*