

DISERTASI

**EFEK EKSTRAK ALGA COKLAT *Sargassum* sp TERHADAP
KADAR HEMOGLOBIN, KADAR MALONDIALDEHID DAN
EKSPRESI mRNA GEN SUPEROKSIDA DISMUTASE
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
STRAIN WISTAR HAMIL**

*THE EFFECT OF THE EXTRACT OF SARGASSUM SP
BROWN ALGAE IN RELATION TO HEMOGLOBIN LEVELS,
MALONDIALDEHYDE LEVELS, AND mRNA EXPRESSION
OF SUPEROXIDA DISMUTASE GENES IN WHITE RATS
(RATTUS NORVEGICUS) PREGNANT
WISTAR STRAINS*

**DAHNIA R
C013171003**



**PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**EFEK EKSTRAK ALGA COKLAT *Sargassum* sp TERHADAP
KADAR HEMOGLOBIN, KADAR MALONDIALDEHID DAN
EKSPRESI mRNA GEN SUPEROKSIDA DISMUTASE
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
STRAIN WISTAR HAMIL**

Disertasi
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor
Program Studi Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

**D A H N I A R
C013171003**

Kepada

**PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

TIM PEMBIMBING DAN PENGUJI

- Promotor : Prof.Dr.dr.Suryani As'ad, Msc.,Sp.GK(K)
- Co. Promotor : Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si, A.pt
- : Dr.dr.Nasrudin Andi Mappaware, Sp.OG (K) MARS
- Penguji : Prof.dr.Budu,Ph.D,Sp.M(K),M.Med.Ed
- : Prof.dr. Mochammad Hatta,Ph.D,Sp.MK(K).
- : Prof.dr. Roasdiana Natzir,Ph.D,Sp.Biok.
- : Hartati, Ph.D,S.Si.M.Si
- : Prof.dr.Peter Kabo,Ph.D,Sp.JP
- : Dr.dr. Burhanuddin Bahar, MS

DISERTASI

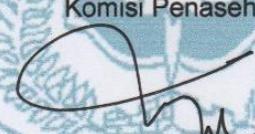
**EFEK EKSTRAK ALGA COKLAT SARGASSUM SP TERHADAP KADAR
HEMOGLOBIN, KADAR MALONDIALDEHID DAN EKSPRESI
mRNA GEN SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA TIKUS
PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*) STRAIN WISTAR HAMIL**

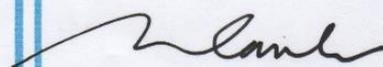
Disusun dan diajukan oleh

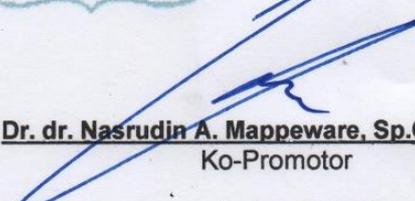
**Dahniar
C013171003**

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 1 Desember 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat,

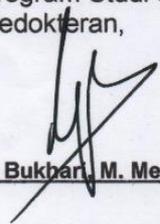

Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K)
Promotor

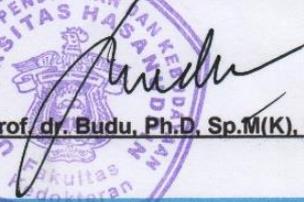

Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt
Ko-Promotor

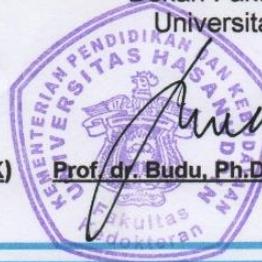

Dr. dr. Nasrudin A. Mappeware, Sp. OG(K), MARS
Ko-Promotor

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin


dr. Agussalim Bukhar, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)


Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed



PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang Bertanda Tangan di bawah ini :

Nama : Dahniar

Nomor Mahasiswa : C13171003

Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar – benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Oktober 2020



PRAKATA



Alhamdulillah, puji syukur senantiasa penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, atas berkah, rahmat, hidayah dan karunia-Nya kepada kita semua, serta salam dan salawat tercurah kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW yang telah mengalirkan keislaman dan keimanan, sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini dengan baik, yang merupakan salah satu persyaratan dalam menyelesaikan program doktor dalam bidang ilmu kedokteran Fakultas kedokteran Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa selama mengikuti pendidikan banyak yang telah memberikan bantuan dan dukungan baik moril, materil, maupun doa untuk kesuksesan penulisan disertasi ini.

Secara khusus penghargaan dan ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Prof.Dr.dr.Suryani as'ad, M.Sc, Sp.GK(K) selaku Promotor, Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si, A.pt dan Dr.dr.Nasrudin Andi Mappaware, Sp.OG (K) MARS selaku Co-promotor atas bimbingan, arahan, serta motivasi kepada penulis mulai sejak awal penelitian hingga selsainya disertasi ini.

Terima kasih sedalam-dalamnya penulis sampaikan kepada tim penguji Prof.dr.Budu,Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed, Prof.dr.Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K),Prof.dr.Roasdiana Natzir,Ph.D,Sp.Biok, Hartati, Ph.D,S.Si.M.Si, Prof.dr.Peter Kabo,Ph.D,Sp.JP, Dr.dr. Burhanuddin Bahar, MS atas ketulusan dan kesediaannya membimbing sekaligus sebagai tim penguji yang telah memberikan ide, saran dan pemikiran positif sehingga disertasi ini dapat tersusun dengan baik.

Penghargaan dan ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada ibu Prof.Dr.Dwi Aries Tina Pulubuhu NK,M.A, selaku rektor Universitas

Hasanuddin, Bapak Prof.dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk melanjutkan studi di Universitas Hasanuddin.

Rasa hormat dan terima kasih juga saya sampaikan kepada Bapak dr. Agussalm Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp.GK (K) selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Bapak Prof.dr.Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin periode sebelumnya yang telah memberikan kesempatan melanjutkan pendidikan ini dan juga sekaligus sebagai penguji yang tidak lelah memberikan masukan, saran – saran dan nasehat yang sangat berguna bagi penyempurnaan disertasi ini.

Pada kesempatan ini ucapan terima kasih penuh rasa hormat dan dengan kerendahan hati serta penuh rasa cinta yang mendalam kepada orang tua saya Ayahanda H. Makkaraka sada dan Ibunda Hj. St. Rugayyah, yang memelihara, menjaga, membesarkan dan mendidik saya dengan penuh kasih sayang serta menanamkan nilai nilai kehidupan dalam diri saya sehingga saya mampu menjadi insan seperti ini. Ucapan terima kasih yang tulus saya sampaikan kepada mertua saya bapak Abdul Latief Neukoko (alm) dan Ibu Halimah Datau Butudoka yang telah senantiasa memberikan semangat, motivasi dan doa dalam melaksanakan tugas sehari hari dan menyelesaikan studi ini.

Rasa bangga dan terima kasih yang dalam penulis sampaikan kepada Suami tercinta Abd. Halim, S.Kep.,M.Kes dan ananda tersayang, Atikah Andraini, Alif Dary Aqram dan Arief Ilham Aqram atas segala pengertian, kesabaran, dukungan doa dan cinta kasihnya yang tak ternilai. Dan kepada saudaraku Kakanda Umar Karaka, Kakanda H. Ramli Karaka dan Kakanda Darna Karaka serta saudara saudara iparku terima kasih atas dukungan moril dan materil serta doanya sehingga saya dapat menyelesaikan studi ini.

Kepada Direktur Akademi Analis Kesehatan Muhammadiyah Makassar bpk dr.H.Effendy Rasiyanto, M.Kes dan petugas Laboratorium terima kasih atas bantuannya untuk menerima penulis melakukan penelitian di instansinya., begitupula Kepala dinas peternakan dan kesehatan hewan provinsi Sulawesi selatan beserta staf terima kasih atas bantuannya telah memberikan izin untuk melakukan penelitian mulai awal sampai akhir penelitian.

Kepada pimpinan kami Rektor Universitas Muhammadiyah Makassar, Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan dan ketua beserta pengelola serta dosen tetap Prodi D.III Kebidanan Universitas Muhammadiyah Makassar, terima kasih banyak atas dukungan, motivasi dan doanya sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada seluruh dosen serta staf Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin atas bantuan dan dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan ini. Kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP), kementerian Keuangan Republik Indonesia terima kasih atas bantuan beasiswa yang telah diberikan selama dalam proses pendidikan sampai selesai.

Kepada teman teman seperjuangan S3 kedokteran angkatan 2017 penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga atas bantuannya, motivasi, kesetiaan, kekompakan baik saat suka maupun duka dalam mengikuti proses pendidikan pada program doktor Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin. Kepada sahabat – sahabatku yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu sekali lagi terima kasih banyak atas semua doa dan dukungannya, sehingga penulis termotivasi dalam menyelesaikan studi ini.

Penulis menyampaikan permohonan maaf bila dalam penulisan disertasi ini masih banyak terdapat kesalahan maupun kekeliruan. Oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis sangat mengharapkan kritikan, masukan dan saran untuk penyempurnaan dari pada isi disertasi

ini. Semoga segala bantuan dan doanya mendapatkan balasan dari Allah SWT, dan menjadi amal jariyah, Aamiin Ya Rabbal Alamin.

Akhir kata semoga Allah SWT selalu melimpahkan karunia-Nya kepada kita semua dan semoga disertasi ini bermanfaat bagi semua pihak utamanya dalam menunjang tujuan SDGs yang ketiga yaitu mejamin kehidupan yang sehat dan meningkatkan kesejahteraan seluruh penduduk semua usia. Aamiin....

Makassar, Oktober 2020
Penulis

Dahniar

ABSTRAK

DAHNIAR. *Efek Ekstrak Alga Coklat Sargassum Sp terhadap Pencegahan Anemia, Kadar Malondialdehid, dan Ekspresi mRNA Gen Superoksida Dismutase pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Strain Wistar Hamil (dibimbing oleh Suryani As'ad, Gemini Alam, dan Nasrudin Andi Mappeware).*

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek pemberian ekstrak alga coklat *sargassum* Sp terhadap kadar *malondialdehid*, ekspresi mRNA gen superoksida dismutase (SOD), dan hemoglobin pada tikus putih (*rattus norvegicus*) strain wistar hamil.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan *pre test-post test control group design*. Digunakan tiga kelompok perlakuan terhadap hewan percobaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil. Sampel sebanyak 21 ekor wistar yang terdiri atas 3 kelompok masing-masing sebanyak 7 ekor yaitu: kelompok 1 kontrol negatif, kelompok 2: ekstrak rumput laut *sargassum* Sp dosis 300 mg/kgBB, dan kelompok 3: ekstrak rumput laut *sargassum* Sp dosis 600 mg/kgBB. Data dianalisis menggunakan uji *independent T test* dengan tingkat kepercayaan 95% melalui bantuan program SPSS versi 21.0.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak alga coklat *sargassum* Sp memberikan efek yang signifikan terhadap peningkatan kadar hemoglobin (dosis 300mg p:0,003; dosis 600mg p< 0,001), penurunan kadar MDA (dosis 300mg p:0,008; dosis 600mg p:0,001), dan peningkatan ekspresi mRNA gen SOD (dosis 300mg p:0,128; dosis 600mg p:0,017). Ekstrak alga coklat *sargassum* Sp dapat mencegah terjadinya anemia dengan meningkatkan kadar hemoglobin dan menurunkan kadar MDA serta meningkatkan ekspresi mRNA gen SOD.

Kata kunci: *sargassum* Sp, anemia, *malondialdehid*, ekspresi mRNA gen SOD, *rattus norvegicus*



ABSTRACT

DAHNIAR, *The Effect of the Extract of Sargassum Sp Brown Algae in Relation to Anemia Prevention, Malondialdehyde Levels, and mRNA Expression of Superoxide Dismutase Genes in White Rats (*Rattus norvegicus*), Pregnant Wistar Strains* (supervised by **Suryani As'ad**, **Gemini Alam**, and **Nasrudin Andi Mappeware**).

This study aims to find out the effect of the extract of *Sargassum Sp* brown algae in relation to malondialdehyde levels, mRNA expression of superoxide dismutase (SOD) genes, and hemoglobin in white rats (*Rattus norvegicus*), pregnant Wistar strains.

This study is an experimental research using Pretest-Posttest Control Group Design. Three treatment groups were used in an experiment on the white rat (*Rattus Norvegicus*), pregnant Wistar strains. The samples were 21 Wistar rats classified into 3 groups with 7 rats in each group. Group 1 was the negative control, while group 2 was treated with extract of *Sargassum sp* seaweed of 300 mg/kg bw. Group 3 was treated with extract of *Sargassum sp* seaweed of 600 mg/kg bw. The data were analyzed using the independent T-Test with a 95% confidence level. SPSS 21.0 was used.

The results showed that the administration of extract of *Sargassum Sp* brown algae had a significant effect in increasing hemoglobin levels (p: 0.003 for 300 mg dose; p < 0.001 for 600 mg dose), decreasing MDA levels (p: 0.008 for 300 mg dose; p: 0.001 for 600 mg dose), and increasing mRNA expression of SOD gene (p: 0.128 for 300 mg dose; p: 0.017 for 600 mg dose). Extract of *Sargassum Sp* brown algae can prevent anemia by increasing hemoglobin levels, reducing MDA levels, and increasing mRNA expression of SOD genes.

Keywords: *Sargassum Sp*, Anemia, malondialdehyde, mRNA expression of SOD genes, *Rattus norvegicus*



DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	i
PRAKATA	ii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	10
C. Tujuan Penelitian	11
D. Manfaat Penelitian	12
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan tentang Alga coklat <i>Sargassum</i> sp	14
B. Tinjauan tentang anemia kekurangan besi dan Kehamilan.	30
C. Tinjauan Superoksida Dismutase Dan Malondialdehid	49
D. Tinjauan <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS), Radikal bebas Dan Antioksidan Dalam Kehamilan	58
E. Hubungan Defisiensi Besi, Stres Oksidatif dan Antioksidan	70
F. Kerangka Pikir	73
H. Kerangka Konsep	74
I. Definisi Operasional.....	74
I. Hipotesis	75
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Jenis dan Desain Penelitian	77
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	77
C. Populasi dan Sampel.....	78
D. Teknik Sampel	80

E. Alat Dan Bahan yang diperlukan.....	80
F. Pengolahan Dan Analisis Data	82
G. Prosedur Penelitian	82
H. Alur Penelitian	90
I. Aspek Etik Penelitian	91
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian.....	92
B. Pembahasan	111
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan.....	130
B. Saran	131
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

No Tabel	Judul Tabel	Hal
Tabel 2.1.	Daftar kandungan alga coklat (<i>Sargassum sp</i>).....	22
Tabel 2.2	Nilai Normal Kadar Hemoglobin Berdasarkan Umur.	43
Tabel 4.1.	Kadar Hemoglobin pada tikus putih (<i>rattus norvegicus</i>) strain wistar hamil pre dan post test berdasarkan kelompok.....	94
Tabel 4.2	Perbedaan Kadar Hemoglobin pada tikus putih (<i>rattus norvegicus</i>) strain wistar hamil pre dan post test berdasarkan kelompok.....	96
Tabel 4.3	Perbedaan Kadar Hemoglobin pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain wistar hamil antar kelompok.....	97
Tabel 4.4	Kadar malondealdehid (MDA) pada tikus putih (<i>rattus norvegicus</i>) strain wistar hamil pre dan post test berdasarkan kelompok	99
Tabel 4.5	Perbedaan Kadar malondealdehid (MDA) pada tikus putih (<i>rattus norvegicus</i>) strain wistar hamil pre dan post test berdasarkan kelompok.....	101
Tabel 4.6	Perbedaan Kadar malondealdehid (MDA) pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain wistar hamil antar kelompok	102
Tabel 4.7	Ekspresi mRNA gen Superoxide Dismutase (SOD) pada tikus putih (<i>rattus norvegicus</i>) strain wistar hamil pre dan post test berdasarkan kelompok.....	103
Tabel 4.8	Perbedaan Ekspresi mRNA gen Superoxide Dismutase (SOD) pada tikus putih (<i>rattus norvegicus</i>) strain wistar hamil pre dan post test berdasarkan kelompok	105

Tabel 4.9	Perbedaan Ekspresi mRNA gen Superoxide Dismutase (SOD) pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain wistar hamil antar kelompok	106
Tabel 4.10	Korelasi kadar hemoglobin, kadar MDA, dan ekspresi mRNA gen SOD pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Strain Wistar Hamil	108
Tabel 4.11	Berat badan lahir anak tikus putih (<i>rattus norvegicus</i>) strain wistar berdasarkan kelompok	109
Tabel 4.12	Perbedaan berat badan lahir anak tikus putih (<i>rattus norvegicus</i>) strain wistar berdasarkan kelompok	110

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
Gambar 1	Beberapa jenis <i>Sargassum</i> sp	16
Gambar 2	Gelembung udara Alga Coklat (<i>Sargassum</i> sp)	17
Gambar 3	Tahapan perkembangan manusia minggu 1-3	32
Gambar 4	Tahapan perkembangan embrio minggu 4-7.....	33
Gambar 5	Pembentukan radikal bebas.....	60
Gambar 6	Peran Antioksidan Melindungi Kerusakan sel.....	65
Gambar 7	Kerangka Pikir	73
Gambar 8	Kerangka Konsep	74
Gambar 9	tampilan vagina yang sedang proestrus dengan vagina plug (lendir kental)	83
Gambar 10	Skema alur penelitian	90
Gambar 11	Kadar Hemoglobin	94
Gambar 12	Perubahan Kadar Hemoglobin	97
Gambar 13	Kadar MDA	99
Gambar 14	Perubahan Kadar MDA	102
Gambar 15	Ekspresi mRNA gen Superoxide Dismutase (SOD)	104
Gambar 16	Perubahan Ekspresi mRNA gen SOD	107
Gambar 17	Berat Badan Lahir Anak Tikus	109
Gambar 18	Hubungan Ekspresi Gen SOD, Kadar MDA, Kadar Hb.....	125

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kekurangan zat gizi menjadi masalah kesehatan yang paling sering ditemukan pada kehamilan sehingga dapat meningkatkan risiko kesakitan dan kematian pada ibu dan bayi. Kejadian anemia akibat defisiensi besi di Indonesia saat ini masih menjadi masalah gizi utama dengan insiden yaitu terdapat 50,9 % pada ibu hamil, 40,5 % pada balita, 47,2 % pada usia sekolah dan 57,1 % pada remaja putri. Status gizi pada kehamilan sangat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan janin dalam kandungan. Sasaran pembangunan millenium dalam meningkatkan kesehatan ibu dengan target yang harus dicapai pada tahun 2015 dengan tujuan MDGs yang kelima adalah menurunkan angka kematian ibu sebesar 32 per 100.000 kelahiran hidup yang dihubungkan dengan peningkatan persalinan, upaya kesehatan reproduksi, peningkatan pelayanan antenatal, penurunan kehamilan remaja dan peningkatan cakupan peserta aktif, Indonesia belum mencapai targetnya. Selanjutnya diganti dengan program *Sustainable Development Goal's* (SDGs) adalah program pembangunan global yang dilaksanakan tahun 2015 – 2030 sebagai perluasan dari MDGs, sehingga diupayakan untuk mencapai perbaikan keberhasilan target utama (Dirjen Bina Gizi KIA, 2015).

Anemia defisiensi zat besi merupakan masalah nutrisi global, data *World Health Organization* (WHO) menunjukkan bahwa kejadian anemia merupakan masalah serius di seluruh dunia dengan prevalensi rata – rata 35 – 75 % di negara berkembang. Berdasarkan data yang ditemukan oleh WHO kejadian anemia ibu hamil berkisar antara 20 % sampai 89 % dengan menetapkan Hb 11 gr % sebagai dasarnya. Simanjuntak mengemukakan bahwa didapatkan sekitar 70% ibu hamil di Indonesia mengalami anemia kekurangan gizi. Kekurangan zat gizi mikro pada masa awal kehamilan sangat menentukan proses plasentasi dan embriogenesis. Masalah kekurangan gizi mikro yang dialami oleh ibu hamil yaitu kekurangan zat besi. Oleh karena itu salah satu upaya untuk menanggulangi adalah dengan memberikan zat besi secara teratur dan peningkatan gizi. Data yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan, dari 23.839 ibu hamil yang diperiksa kadar hemoglobinnya, ditemukan 23.478 ibu hamil (98,49%) dengan kadar Hb 8 – 11 mg/dl dan 361 ibu hamil(1,15%) dengan kadar Hb < 8 mg/dl. (Data Binkesmas, Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan, 2016).

Anemia ditunjukkan dengan adanya penurunan kadar hemoglobin, hematokrit atau hitung eritrosit (*red cell count*). Zat besi selain dibutuhkan untuk pembentukan hemoglobin yang berperan dalam penyimpanan dan pengangkutan oksigen, juga terdapat dalam beberapa enzim yang berperan untuk metabolisme oksidatif, sintesis DNA, neurotransmitter dan proses katabolisme. Kekurangan zat besi sejak sebelum hamil bila tidak

ditangani akan dapat mengakibatkan ibu hamil mengalami anemia. Keadaan ini dapat meningkatkan risiko kematian pada saat melahirkan dan peningkatan kematian perinatal, melahirkan bayi dengan berat badan lahir rendah, janin dan ibu mudah terkena infeksi, keguguran, dan meningkatkan risiko bayi lahir prematur (Ratih, 2017). Kekurangan gizi yang dialami oleh ibu hamil akan mempengaruhi proses pembentukan plasenta, sehingga akan mengurangi transportasi zat gizi dan oksigen dari ibu ke janin. Salah satu faktor risiko yang berperan terhadap masih tingginya angka kematian ibu adalah akibat kekurangan zat – zat gizi mikro, salah satu kekurangan gizi mikro yang banyak dialami oleh ibu hamil adalah kekurangan zat besi.

Besi berperan dalam tubuh pada proses respirasi seluler dan merupakan komponen daripada hemoglobin, *myoglobin* dan *cytochrome*, terdapat juga pada enzim katalase dan peroksidase. Senyawa yang mengandung besi bagi tubuh berperan dalam pengangkutan (*carrier*) O₂ dan CO₂, pembentukan sel darah merah, dan juga sebagai katalisator betakaroten menjadi vitamin A, sintesis kolagen, sintesis DNA, detoksifikasi zat racun pada hepar, serta transport elektron pada mitokondria. Penyebab terjadinya anemia paling sering karena kekurangan zat besi dengan makanan yang dimakan bioavailabilitas besinya rendah. Oleh karena itu, ibu hamil yang berisiko menderita anemia harus mendapatkan makanan yang cukup bergizi dengan bioavailabilitas yang cukup (Citrakesumasari, 2012).

Kehamilan merupakan suatu kondisi inflamasi yang memperlihatkan sifat rentan yang tinggi terhadap stres oksidatif. Siklus inflamasi biasanya menghasilkan stress oksidatif yang tidak stabil dan dapat merusak makro molekul jaringan termasuk DNA dan protein akan tetapi dapat dicegah oleh antioksidan makanan (Kontic-Vucinic dkk, 2008). Stres oksidatif adalah tidak seimbangannya antara prooksidan (*free radical*) dan antioksidan. Stres oksidatif sendiri akan menyebabkan gangguan proses plasentasi. Kelainan plasentasi berhubungan dengan penyakit tertentu misalnya: preeklamsia, molahidatidosa dan abortus.. Peningkatan insiden kegagalan plasentasi berhubungan dengan peningkatan radikal bebas yang berpengaruh pada perkembangan fungsi plasenta dan berefek pada fetus.

Peningkatan stress oksidasi tersebut memicu terjadi peningkatan serangan radikal bebas terhadap molekul – molekul penting seperti lemak, protein termasuk enzim dan DNA (Jauniaux, 2006). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Patil, dkk (2007), menemukan bahwa kadar malondialdehid (MDA) pada ibu Hamil lebih tinggi dibandingkan dengan tidak hamil. Untuk peningkatan kadar MDA sejalan dengan bertambahnya usia kehamilan yaitu dari trimester pertama, kedua dan ketiga, dalam hal ini telah terjadi peningkatan peroksidasi yang merupakan penanda (*marker*) untuk menilai radikal bebas dalam darah. Malondialdehid telah banyak membantu menjelaskan peranan stres oksidatif pada sejumlah penyakit dan telah digunakan secara luas pada berbagai bidang yang menjadi

penanda klinis peroksidasi lipid, dan dapat ditemukan hampir diseluruh cairan biologis, namun darah (plasma atau serum) dan urin yang paling umum digunakan untuk pengambilan sampel, karena paling mudah didapatkan, paling tidak invasif dan memberikan hasil yang sama akurat dan presisi dari indeks stres oksidatif (Fauziah dkk, 2013)

Sumber radikal bebas, baik endogen maupun eksogen terjadi melalui sederetan mekanisme reaksi yaitu pembentukan awal radikal bebas, lalu perambatan atau perubahan menjadi senyawa dan tidak reaktif. Sumber endogen dapat melewati autooksidasi, oksidasi enzimatik, fagositosis, inflamasi, iskemia, yang berasal dari mitokondria (proses fosforilasi oksidatif rantai pernapasan). *Reactive oxygen species* (ROS) terutama di hasilkan di mitokondria akan merusak membran sel yang banyak mengandung asam lemak tidak jenuh menjadi peroksidasi lipid. Peningkatan stres oksidatif sesuai dengan peningkatan pembentukan peroksidasi lipid. Stres oksidatif akan menyebabkan kerusakan sel trofoblast yang akan berlanjut menjadi abortus (keguguran). Peroksidasi lipid merupakan biomarker stres oksidatif yang menginduksi kerusakan membran dan hal ini menunjukkan bahwa terjadi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang dapat menyebabkan terjadinya keguguran.

Reactive oxygen species bisa didapatkan secara *endogenous* ataupun *eksogenous* tetapi keduanya dapat mempengaruhi oosit serta embrio dan juga dapat menyebabkan kerusakan DNA oksidatif yang

meningkatkan kecepatan mutagenesis dan ketidakstabilan kromosom. Disfungsi mitokondria oleh stres atau kontrol integritas mitokondria yang tidak tepat menyebabkan peningkatan kebocoran elektron dari rantai pernafasan. Superoksida yang sangat reaktif mengakibatkan dirinya menjadi sangat tidak stabil. Hal ini dapat merusak makromolekul yang berbeda dalam mitokondria termasuk lemak, protein dan DNA yang dapat mempengaruhi fungsi mitokondria dan akan menstimulasi kebocoran elektron yang luas dan produksi ROS.

Pada kehamilan, metabolisme akan mengalami peningkatan sehingga memerlukan oksigen lebih banyak, maka semakin meningkat pula radikal bebas yang ditimbulkan. Stress oksidatif yang terjadi dapat mengganggu kehamilan jika antioksidan tidak mengimbangnya. Oleh karena itu pada kondisi tertentu yang dipicu oleh stres oksidatif, antioksidan endogen menjadi insufisiensi dan memerlukan antioksidan eksogen untuk mempertahankan fungsi seluler yang optimal. Antioksidan enzimatik antara lain superoksida dismutase, glutathion peroksidase, katalase dan. Antioksidan non enzimatik antara lain vitamin E, vitamin C, melatonin, karotenoid, dan flavonoid alami. Enzim antioksidan mitokondria yang berperan dalam meredam radikal bebas yang terbentuk dari proses-proses yang terjadi dalam mitokondria adalah superoksida dismutase (SOD).

Superoksida Dismutase (SOD) merupakan salah satu enzim antioksidan endogen yang berperan untuk melindungi sel dari proses

oksidasi (kerusakan oksidatif), dan menjadi sistem pertahanan pertama dalam menekan pembentukan radikal bebas. Enzim ini terdapat pada semua organisme aerob dan umumnya berada dalam tingkat intraseluler, serta bekerja di dalam sel dan berperan pada tahap awal terjadinya stres oksidatif yaitu mengubah anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen. Secara normal tubuh akan menyeimbangkan pembentukan radikal bebas dengan antioksidan endogen. Namun pembentukan radikal bebas terjadi terus menerus yang dapat menyebabkan kerusakan sel, oleh karena itu perlu penambahan antioksidan eksogen yang dapat meningkatkan kadar antioksidan endogen beserta ekspresi gen penyandinya salah satunya adalah ekspresi mRNA gen superoksida dismutase. Hasil penelitian yang dilakukan Agnes dkk (2017) menunjukkan bahwa ekstrak alga coklat *Sargassum* sp dapat menurunkan radikal bebas yang ditandai dengan peningkatan aktivitas enzim katalase pada tikus wistar yang diiradiasi dengan LET rendah.

Pemanfaatan bahan pangan lokal untuk kandungan zat besi dapat digunakan seperti rumput laut. Rumput laut merupakan tumbuhan yang bertalus, banyak dijumpai hampir diseluruh perairan Indonesia, terutama di pantai yang banyak terdapat terumbu karang (Ratih.R.H, 2017). Rumput laut umumnya hidup di dasar laut dan sumber substratnya dapat berupa pasir, pecahan karang (gravel), karang mati, serta benda-benda keras yang terendam di dasar laut. Banyak jenis rumput laut yang mempunyai

nilai ekonomis cukup tinggi diantaranya adalah alga coklat. *Sargassum Sp* sangat melimpah serta tersebar di perairan Indonesia.

Alga laut diketahui banyak mengandung senyawa bahan alam yang bersifat bioaktif. Salah satu alga coklat yang kaya bahan bioaktif diantaranya : alginat, fukoidan, fucoxantin dan phlorotannin (senyawa fenolik yang khas pada alga coklat) dan senyawa ini banyak diaplikasikan sebagai antioksidan. Selain itu rumput laut kaya akan vitamin A, B1, B2, B3, B9 dan vitamin E. Vitamin C dan vitamin E merupakan antioksidan potensial, sedangkan vitamin A berperan penting dalam perkembangan dan diferensiasi sel (Septiana dkk, 2012). Rumput laut kaya akan yodium, zat besi, potasium, magnesium, kalsium, selenium dan fosfor. Kandungan kimia penting lain adalah karbohidrat yang berupa polisakarida seperti agar-agar, karagenan dan alginat.

Jenis rumput laut yang memiliki kandungan zat besi dengan bioavailabilitas yang tinggi adalah *Sargassum Sp*. Kadar zat besi alga coklat *Sargassum Sp* sebesar 68,2 mg/100 gram berat kering dengan bioavailabilitas sebesar 22 %, dan *S.Crasifolium* mengandung Fe 132,65 mg/100 gr (Sutarno dkk, 2011). Persentase dalam *Sargassum Sp* lebih besar karena tidak terdapat fitat di dalamnya sebagai sumber zat besi non heme lainnya sehingga sedikit mengganggu absorpsi zat besi. Penelitian yang dilakukan Sakinah (2012) memberikan tepung rumput laut terhadap kandungan gizi makanan pendamping ASI yaitu biskuit

ditemukan bahwa eksperimen ini dapat meningkatkan kadar besi dan serat kasar.

Salah satu sumberdaya alam hayati laut yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami dengan tidak memberikan efek samping adalah rumput laut. Hasil penelitian Cahyaningrum dkk (2016) bahwa alga coklat *Sargassum* sp memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi di bandingkan rumput laut merah dan hijau serta komponen antioksidan utama yang terdapat pada *Sargassum* sp merupakan senyawa flavonoid. Karotenoid merupakan senyawa terbanyak sebagai penyumbang aktivitas antioksidan pada alga coklat. Fukosantin merupakan karotenoid dominan dan memiliki aktivitas biologi yang berperan dalam mengatasi berbagai masalah kesehatan yaitu antikanker, antiinflamasi dan penangkal radikal bebas.

Kandungan secara umum rumput laut adalah serat, protein, lemak, vitamin dan mineral serta polisakarida seperti karaginan dan alginat, yang merupakan komponen rumput laut yang sering dieksploitasi. Analisis mineral dan vitamin dari rumput laut terdiri dari fosfat, kalium magnesium, kalsium, zink, mangan, besi dan tembaga. Hampir semua rumput laut mengandung vitamin C beberapa jenis pigmen seperti Fukosantin, β -karoten, astasantin dan kantasantin. Ekstrak rumput laut memiliki kemampuan aktivitas antioksidan dari ekstrak air dan etanol. Semua data ini mengindikasikan bahwa rumput laut merupakan salah satu sumber antioksidan alami, Fenol, pigmen Fukosantin, sulfat polisakarida, fikobilin

dan vitamin merupakan bioaktif yang memiliki kontribusi terhadap aktivitas antioksidan rumput laut. Secara umum alga coklat *Sargassum* sp belum banyak dimanfaatkan dan dikenal oleh masyarakat, padahal berdasarkan dari beberapa hasil penelitian dilaporkan bahwa ini mengandung nutrisi/zat gizi yang tinggi, seperti protein dan beberapa mineral esensial.

Hal inilah yang mendasari peneliti untuk melakukan penelitian tentang efek ekstrak alga coklat *Sargassum* sp terhadap kadar hemoglobin, kadar malondialdehid dan ekspresi mRNA gen superoksida dismutase pada kehamilan. Subyek dalam penelitian ini menggunakan hewan uji yaitu pada tikus putih (*rattus norveticus*) strain wistar yang dikondisikan hamil, karena secara metabolisme manusia dan tikus hampir sama, selain itu tikus merupakan binatang menyusui (mamalia) yang mempunyai kemampuan berkembang biak yang sangat tinggi, panjang waktu siklus birahi yang pendek yaitu 4 - 5 hari dan lama kebuntingan hanya 20 - 22 hari, relatif cocok untuk digunakan dalam eksperimen dalam jumlah besar, mempunyai respon cepat, serta memberikan gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas maka rumusan masalah penelitian yang perlu dijawab melalui penelitian ini sebagai berikut :

1. Bagaimanakah efek ekstrak alga coklat *Sargassum* Sp dosis 300 mg/KgBB/hari dan dosis 600 mg/KgBB/hari terhadap perubahan kadar hemoglobin pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil?
2. Bagaimanakah efek ekstrak alga coklat *Sargassum* Sp dosis 300 mg/KgBB/hari dan dosis 600 mg/KgBB/hari terhadap perubahan kadar malondialdehid (MDA) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil?
3. Bagaimanakah efek ekstrak alga coklat *Sargassum* Sp dosis 300 mg/KgBB/hari dan dosis 600 mg/KgBB/hari terhadap perubahan ekspresi mRNA gen superoksida dismutase (SOD) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil?
4. Apakah ada korelasi perubahan kadar hemoglobin, kadar MDA, dan ekspresi mRNA gen SOD pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Hamil?
5. Bagaimanakah efek ekstrak alga coklat *Sargassum* Sp dosis 300 mg/KgBB/hari dan dosis 600 mg/KgBB/hari terhadap berat badan lahir anak tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil?

C. Tujuan penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui efek ekstrak alga coklat *Sargassum* Sp terhadap kadar hemoglobin, kadar malondialdehid dan ekspresi mRNA gen

superoksida dismutase (SOD) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil.

2. Tujuan Khusus

- a. Diketuainya efek ekstrak alga coklat *Sargassum* Sp dosis 300 mg/KgBB/hari dan dosis 600 mg/KgBB/hari terhadap perubahan kadar hemoglobin pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil
- b. Diketuainya efek ekstrak alga coklat *Sargassum* Sp dosis 300 mg/KgBB/hari dan dosis 600 mg/KgBB/hari terhadap perubahan kadar malondialdehid (MDA) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil
- c. Diketuainya efek ekstrak alga coklat *Sargassum* Sp dosis 300 mg/KgBB/hari dan dosis 600 mg/KgBB/hari terhadap perubahan ekspresi mRNA gen superoksida dismutase (SOD) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil
- d. Diketuainya korelasi perubahan kadar hemoglobin, kadar MDA, dan ekspresi mRNA gen SOD pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Hamil
- e. Diketuainya efek ekstrak alga coklat *Sargassum* Sp dosis 300 mg/KgBB/hari dan dosis 600 mg/KgBB/hari terhadap berat badan lahir anak tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil.

D. Manfaat penelitian

1. Aspek pengembangan ilmu

- a. Memberikan informasi baru mengenai efek ekstrak Alga Coklat *Sargassum* sp dapat mencegah terjadinya anemia dengan meningkatkan kadar hemoglobin.
- b. Memberikan informasi baru mengenai perubahan kadar malondialdehid dan ekspresi mRNA gen superoksida dismutase pasca intervensi ekstrak alga coklat *Sargassum* sp.
- c. Sebagai dasar ilmiah pada penelitian selanjutnya yang berhubungan dengan ekstrak alga coklat *Sargassum* sp sebagai bahan makan pangan yang dapat digunakan sebagai preventif terjadinya anemia dan komplikasi pada kehamilan akibat radikal bebas.

2. Manfaat aplikasi

- a. Penggunaan ekstrak alga coklat *Sargassum* sp dapat dijadikan sebagai sumber zat besi dan antioksidan non enzimatik pada kehamilan.
- b. Sebagai alternatif dalam proram perbaikan gizi dan kesehatan ibu dalam pencegahan anemia pada ibu hamil dan BBLR.
- c. Mengoptimalkan penggunaan sumber bahan pangan lokal dalam pencegahan masalah gangguan gizi untuk peningkatan kesehatan ibu dan anak.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan tentang Alga coklat *Sargassum* sp

1. Deskripsi Tumbuhan Rumput Laut .

Rumput laut tergolong tanaman berderajat rendah, umumnya tumbuh melekat pada substrat tertentu, tidak mempunyai akar, batang maupun daun sejati, tetapi hanya merupai batang yang disebut thallus. (Anggadiredja, dkk., 2010). Rumput laut tumbuh di alam dengan melekatkan dirinya pada karang, lumpur, pasir, batu, dan benda keras lainnya. Selain benda mati, rumput pun dapat melekat pada tumbuhan lain secara epifitik.

Pertumbuhan dan penyebaran rumput laut sangat tergantung dari faktor-faktor oseanografi (fisika, kimia, dan pergerakan atau dinamika air laut) serta jenis substrat dasarnya. Untuk pertumbuhannya, rumput laut mengambil nutrisi dari sekitarnya secara difusi melalui dinding thallusnya. Perkembangbiakan dilakukan dengan dua cara, yaitu secara kawin antara gamet jantan dan gamet betina (generatif) serta secara tidak kawin dengan melalui vegetatif dan konjugatif (Askan Laode, 2015) .

Secara taksonomi, rumput laut dikelompokkan ke dalam Divisio *Thallophyta*. Berdasarkan kandungan pigmennya, rumput laut dikelompokkan menjadi 4 kelas yaitu sebagai berikut :

1. *Rhodophyceae* (ganggang merah)

2. *Phaeophyceae* (ganggang coklat)
3. *Chlorophyceae* (ganggang hijau)
4. *Cyanophyceae* (ganggang biru – hijau)

Beberapa jenis rumput laut Indonesia yang bernilai ekonomis dan sejak dulu sudah diperdagangkan yaitu *Euchemma* sp, *hypnea* sp, *Gracilaria* sp, dan *Gelidium* sp. dari kelas *Rhodophyceae* serta *Sargassum* sp. dari kelas *Phaeophyceae*. *Euchemma* sp, dan *hypnea* sp, menghasilkan metabolit primer senyawa hidrokoloid yang disebut karaginan (*carrageenan*). *Gracilaria* sp, dan *Gelidium* sp, menghasilkan metabolit primer senyawa hidrokoloid yang disebut agar. Sementara, *Sargassum* sp, menghasilkan metabolit primer senyawa hidrokoloid yang disebut *carrageenophyte* (karaginofit), penghasil agar disebut *agarophyte* (agarofit), dan penghasil alginat disebut *alginophyte* (alginofit) (Ayuningrum dkk, 2011) .

Di Indonesia ditemukan beberapa jenis rumput laut, diantaranya yang bernilai ekonomis cukup tinggi adalah alga coklat *Sargassum* sp. *Sargassum* sp sangat melimpah dan tersebar secara meluas di perairan Indonesia. Rumput laut coklat terdiri dari beberapa Genus. Salah satu genus rumput laut coklat yang banyak terdapat di Sulawesi Selatan yaitu genus *Sargassum*. Ciri – ciri daripada *Sargassum* sp adalah bentuk thallus umumnya silindris, percabangan rimbun menyerupai pepohonan di darat, bagian daun melebar, lonjong atau menyerupai pedang, mempunyai gelembung udara (bladder) yang umumnya soliter, panjangnya thallus

dapat mencapai tujuh meter dan berwarna coklat. *Sargassum* sp terdapat tiga ciri sifat yaitu adanya pigmen coklat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesis di simpan dalam bentuk laminaran dan algin serta adanya flagel (Hartono dkk, 2016). Adapun *Sargassum* yang terdapat di Indonesia dan telah diidentifikasi adalah *sargassum duplicatum*, *S.polycystum*, *S.binder*, *Scarssifolium*, *S.echinocarpum*, *S.mollerii*, *S.garcillium*, *S.sinereum*, *S.hystri*, *S.siliquosum*, *S.fenitan*, *S.filipendula*, *S.polyceratium* dan *S. Vulgare* yang membedakan dari bentuk morfologinya dengan kadar kandungan bahan utama seperti protein, vitamin C, tannin, Iodine dan phaeno. Pada umumnya sargassum tumbuh di daerah terumbu karang (*coral reef*), terutama di daerah rataan pasir (*sand flat*) .



Gambar .1. Beberapa jenis *Sargassum* sp (Kadi.A.2005)

2. Taksonomi Alga Coklat (*Sargassum* sp)

Alga coklat (*sargassum* sp) dalam taksonomi tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut.

Domain : *Eukaryota*
Kerajaan : *Chromista*
Divisi : *Ochrophyta*
Kelas : *Phaeophyceae*
Ordo : *Fucales*
Famili : *Sargassaceae*
Genus : *Sargassum*
Spesies : *Sargassum sp.*



Gambar .2. Gelembung udara Alga Coklat (*Sargassum sp*)
(Gerasimenko *et al*,2016).

3. Kandungan rumput laut *Sargassum sp.*

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sutarno dkk (2015) dan Ayustaningwarno (2015), komposisi nutrisi rumput laut alga coklat *Sargassum sp* sebagai berikut :

a. Protein.

Kadar protein dalam bahan makanan sangat menentukan kualitas daripada bahan makanan yang bersangkutan. Rumput

laut coklat mengandung protein sebesar 3 – 9 % dari berat basah.

b. Asama amino

Protein tersusun dari asam-asam amino, sehingga hidrolisis protein secara sempurna akan diperoleh asam-asam amino. Untuk asam amino yang berhasil diidentifikasi dari *sargassum* sp adalah asam glutamat, asam aspartat, glisin, leusin, alanin, valin, serin, isoleusin, treonin, fenilalanin, prolin, lisin, arginin, tirosin, sistein, histidin dan hidroksi lisin.

c. Kadar Abu

Salah satu komponen dalam bahan makanan yang penting untuk menentukan kadar mineral adalah abu. Rata-rata kadar abu rumput laut sejenis ini adalah sekitar 36 % dari berat keringnya. Rumput laut sejenis *sargassum* sp adalah *sargassum Crassifolium* mengandung kadar abu yang tinggi. Hal ini di duga berhubungan dengan cara penyerapan hara mineralnya, disamping sebagai bentuk adaptasi terhadap kondisi lingkungan perairan laut yang mengandung berbagai mineral dengan konsentrasi tinggi. Penyerapan hara mineral pada rumput laut dilakukan melalui seluruh permukaan talus, tidak melalui akar, sehingga penyerapan hara mineral lebih efektif. Banyak hara mineral yang diserap mempengaruhi kadar abu pada jaringan rumput laut, sehingga kadar abu rumput laut ini tinggi.

d. Elemen mineral (Ca, Fe dan P)

Elemen mineral terdapat di dalam bahan makanan, baik yang dibutuhkan dalam jumlah besar (makro-elemen) maupun yang dibutuhkan dalam jumlah kecil (mikro-elemen). Kadar kalsium rumput laut coklat *sargassum sp* sebesar 200-300 mg/100g berdasarkan berat keringnya, sedangkan menurut Atmaja dkk pada umumnya kadar kalsium *Sargassum sp* 0,42 % atau sekitar 420 mg/100 g berat keringnya. Adapun jenis rumput laut yang memiliki kandungan zat besi dengan bioavailabilitas yang tinggi adalah *Sargassum sp*. Kadar zat besi rumput laut *Sargassum sp* sebesar 68,2 mg/100 g berat kering, dengan bioavailabilitas sebesar 22 %. Persentase dalam *Sargassum sp* lebih besar karena tidak ditemukan kandungan asam fitat di dalamnya jika di bandingkan dengan sumber zat besi non heme lain seperti pada sayur yaitu maksimum sekitar 10 % persentasenya pun lebih besar.

e. Vitamin C

Sebagai pendonor elektron, vitamin C merupakan antioksidan yang larut dalam air, dalam hal ini sebagai agen pereduksi yang dapat mendonorkan dua elektron dari ikatan ganda antara karbon kedua dan ketiga dari molekul 6 karbon. Kadar vitamin C rumput laut coklat sebesar 50 – 300 mg/100 g berat basah. Secara in vitro, asam askorbat ini dapat

meningkatkan aktivitas beberapa enzim lain dan juga beberapa efek non-enzim sehingga aktivitasnya sebagai agen pereduksi dan pemadam radikal oksigen (Murray *et al.*2009)

f. Lemak dan asam lemak.

Salah satu pangan berenergi tinggi adalah lemak, yang setiap gramnya memberi lebih banyak energi dari pada karbohidrat atau protein. Lemak merupakan makanan cadangan dalam tubuh. Rumput laut dilihat dari kadar lemaknya termasuk berlemak rendah. Pada umumnya rumput laut mempunyai kadar lemak 0,24 % dalam keadaan basah dan keadaan kering sebanyak 0,42 %. Kandungan lemak rumput laut yang sangat rendah sehingga aman untuk dikonsumsi dalam jumlah banyak. Akibat kandungan lemaknya yang rendah akhirnya rumput laut digunakan sebagai salah satu bahan penyusun utama pada makanan diet rendah lemak.

Pada jumlah tertentu lemak sangat dibutuhkan bagi tubuh manusia. Lemak adalah senyawa organik yang tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik, dan berfungsi sebagai sumber energi yang paling besar diantara protein dan karbohidrat. Satu gram lemak dapat menghasilkan 9 kkal, sedangkan karbohidrat dan protein hanya menghasilkan 4 kkal. Lemak juga sebagai sumber asam lemak, fosfolipid, kolesterol, dan sebagai pelarut pada proses penyerapan vitamin A,D,E,

dan K. Selain itu, lemak juga berfungsi membantu proses metabolisme, osmoregulasi dan memelihara bentuk dan fungsi membran atau jaringan (*fosfolipida*).

Bahan makanan sumber lemak (trigliserida) dapat berasal dari hewan yang disebut lemak hewani dan dapat berasal dari tumbuh-tumbuhan yang disebut lemak nabati. Rumput laut dan tumbuhan pada umumnya menyimpan cadangan makanannya dalam bentuk karbohidrat terutama polisakarida, sedangkan hewan, menyimpan cadangan makanannya dalam bentuk lemak dalam jaringan lemak. Perbedaan bentuk penyimpanan cadangan makanan ini menyebabkan lemak nabati umumnya mempunyai persentase yang rendah sedangkan lemak hewani tinggi.

Lemak apabila dipecah secara sempurna akan menghasilkan gliserol dan asam-asam lemak. Ada tujuh asam lemak yang telah diidentifikasi yaitu asam linoleat, asam palmitat, asam oleat, asam palmitoleat, asam miristat dan asam laurat. Asam-asam lemak dapat digolongkan menjadi dua berdasarkan kejenuhan pada rantai alkalinnya yaitu asam lemak R jenuh tidak memiliki ikatan rangkap dan asam lemak tidak R tidak jenuh memiliki ikatan rangkap. Persentase kandungan asam lemak talus *sargassum crassifoliumini* yang merupakan salah satu spesies *Sargassum*, menunjukkan bahwa kandungan asam

lemak jenuh sebesar 37,52 %, sedangkan asam lemak tidak jenuh sebesar 62,48 % dengan rincian 43, 02 % asam lemak tidak jenuh jamak dan 19,46 % asam lemak tidak jenuh tunggal.

g. Polisakarida dan serat

Rumput laut terdapat polisakarida dalam jumlah banyak, antara lain alginat dari rumput laut coklat. Kandungan serat rumput laut dapat mencapai 30 – 40 % berat kering dengan persentase lebih besar pada serat larut air. Kandungan serat rumput laut jauh lebih tinggi di banding dengan tumbuhan daratan yang hanya mencapai sekitar 15 % berat kering.

Tabel 2.1 Daftar kandungan alga coklat (*Sargassum* sp).

Nama Zat Kimia	Total Kadar (mg dalam 100gr)
Sargachromenol*	133,33
Phlorotannin	148,97
Senyawa fenol lain	74,62 – 83,28
Zat besi (Fe II)	63,96 – 132,65
Vitamin C	33,80 – 43,80%
Monounsaturated fatty acid	22,50 – 36,10%
Polyunsaturated fatty acid	20,10 – 31,80%
Protein	7,00 – 11,00%
Total lemak	1,60 – 3,20%
Zinc (Zn)	1,27 – 4,08
Tembaga (Cu)	0,80 – 2,30
Mangan (Mn)	0,48 – 1,21
Total Asam Lemak Tidak Jenuh	42,60 – 67,90

Sumber : (Balboa *et al.*,2016, Montero *et al.*,2016).

4. **Senyawa bioaktif *Sargassum* sp.**

a. Alkaloid

Menurut Bambang Rudianto (2011) menemukan senyawa alkaloid pada ekstrak *Sargassum polycystum*, senyawa tersebut

menunjukkan aktivitas fisiologi yang luas, hampir tanpa terkecuali bersifat basa. Alkaloid merupakan metabolit basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan sebagai bagian dari sistem siklik.

b. Fenol

Ciri-ciri fenol adalah mempunyai cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil yang merupakan senyawa berasal dari tumbuhan. Senyawa fenol merupakan senyawa yang dapat larut dalam senyawa polar dan sedikit polar. Alga coklat di daerah tropis memproduksi metabolit sekunder lebih baik sebagai suatu sistem proteksi terhadap radiasi sinar UV. Senyawa fenol dan turunannya diduga menjadi komponen utama senyawa antioksidan dan lebih efektif dibanding α – tokoferol dan hampir sebanding dengan antioksidan sintetik seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA) (Kelman et.al. 2012).

Penelitian yang dilakukan Firdaus (2013), menemukan bahwa alga coklat memiliki komponen aktif berupa senyawa fenol yang berpotensi sebagai antioksidan karena mampu memberikan pasangan elektron pada elektron bebas sehingga radikal bebas dapat diredam.

c. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mempunyai efek sebagai antioksidan untuk membantu mencegah kerusakan

jaringan oleh radikal superoksida yang dilepaskan oleh sel neutrofil. Selain itu juga terdapat efek antiinflamasi dari flavonoid dan glikosida iridoid yang juga mampu menghambat pengeluaran enzim degradatif dari neutrofil yang dapat menghambat pengikatan silang kolagen, diduga peningkatan sintesis kolagen juga disebabkan efek flavonoid terhadap reseptor IGF-I di fibroblas.

Senyawa flavonoid secara langsung bereaksi dengan radikal bebas dengan cara menangkap elektron yang tidak berpasangan pada radikal bebas tanpa menghasilkan radikal bebas yang lain sebagai hasil reaksi. Flavonoid dapat menghambat inisiasi dengan menangkap radikal utama seperti superoksida (Ayyad *et.al.*2011). Efek flavonoid terhadap ROS yaitu melalui dua mekanisme dengan cara meningkatkan antioksidan endogen dan menangkap radikal bebas atau menetralkan radikal bebas.

Metabolit sekunder merupakan golongan flavonoid yang hanya berupa *trace* komponen dalam alga coklat (Grosso *et al.*,2015). Akan tetapi golongan flavonoid yang teridentifikasi dalam ekstrak metanol *sargassum* sp adalah katekin dan kuersetin. Dua golongan flavonoid ini diketahui dapat berfungsi sebagai antikanker melalui induksi efek apoptosis, antioksidatif, dan antiangiogenesis. Senyawa golongan flavonoid juga mampu mereduksi ion ferri (antioksidan) (Namvar *et al.*,2013). Kuersetin

yang merupakan senyawa flavonoid yang memiliki sifat antiradikal paling kuat terhadap radikal hidroksil, peroksil dan anion superoksida (Heni winarsi, 2007). Flavonoid mengamankan sel dari serangan senyawa oksigen reaktif seperti oksigen singlet, superoksida, radikal peroksil, radikal hidroksil, dan peroksinitrit (Huguet *et al.*,1990).

d. Saponin

Salah satu mekanisme aksi dari saponin terhadap jamur melibatkan pembentukan kompleks dengan sterol pada membrane plasma sehingga menghancurkan semipermeabilitas sel lalu mengarah kepada kematian sel (Bambang Rudianto, 2011).

e. Polifenol

Polifenol rumput laut merupakan florotanin yang memiliki sifat khas dibandingkan dengan polifenol yang ada pada tumbuhan darat. Kandungan tertinggi florotanin ditemukan dalam rumput laut coklat, yaitu mencapai 5 – 15 % dari berat keringnya. Polifenol dalam rumput laut memiliki aktivitas antioksidan, sehingga mempunyai kemampuan untuk mencegah berbagai penyakit degeneratif maupun penyakit karena tekanan oksidatif. Aktivitas antioksidan polifenol dari ekstrak rumput laut tersebut telah banyak dibuktikan melalui uji *in vitro* sehingga tentunya

kemampuan antioksidannya sudah tidak diragukan lagi (Baihakki, 2011).

f. Fukosantin

Fukosantin telah digunakan oleh bidang farmakologi dengan berbagai macam manfaatnya yaitu sebagai obat dan suplemen, antioksidan, antiobesitas, antidiabetes, menyetatkan jantung, menghambat pertumbuhan sel kanker usus, kanker prostat dan menyebabkan kematian sel serta sebagai anti-inflamatori. Fukosantin merupakan senyawa karotenoid berwarna orange, dan ikatan rangkap yang terkonyugasi yang dimiliki dianggap sangat rentan terhadap asam, alkali dan oksigen. Karotenoid merupakan senyawa yang banyak berperan sebagai aktivitas antioksidan pada alga coklat *Sargassum* sp. Struktur karateniod terbagi dua yang pertama adalah karoten yang merupakan hidrokarbon tanpa adanya molekul oksigen. Sedangkan kelompok kedua adalah xantophil (fukosantin) yang mengandung gugus hidrosil, metosi, karboksil dan keto. Aktifitas prooksidan inilah yang diduga berperan menginduksi apoptosis pada sel kanker. Fukosantin yang terdapat pada alga coklat berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan nutrasetikal terutama sebagai antioksidan dan agen kemopreventif karena kemampuannya dalam meredam radikal bebas (Dan E.2017). .

g. Fukosianin

Fukosianin digunakan dalam bidang kesehatan dengan salah satu pemanfaatannya adalah sebagai prekursor hemoglobin, meningkatkan kekebalan tubuh, antikanker, antioksidan, anti radang, antiinflamatori, antiobesitas, neuroprotekti (Sutarno, 2011).

h. *Sargacromenol* (derivat *tocotrienol* vitamin E).

Salah satu senyawa dari pada *chromene* yaitu *sargacromenol* yang merupakan derivat *tocotrienol* vitamin E. Alga coklat *Sargassum* sp mengandung *sargacromenol* 13,33 mg/100gr berat kering. Vitamin E merupakan antioksidan yang larut lipid di membran sel, dengan tujuan untuk mempertahankan fluiditas membran sel. Fungsi utama daripada vitamin E adalah sebagai antioksidan pemutus rantai yang menangkap radikal bebas di membran sel dan lipoprotein plasma dengan cara bereaksi dengan radikal peroksida lipid yang dibentuk oleh peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda (Murray *et al.*,2009). Prinsip kerja daripada vitamin E adalah sebagai pendonor ion hidrogen atau memberikan ion hidrogen sehingga radikal bebas menjadi molekul yang stabil (Alioes dan Elmatris,2009).

5. Studi Ekstrak Rumput Laut sebagai Antioksidan

Radikal bebas seperti anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil (OH^{\bullet}) dapat terbentuk dalam sel. Jenis radikal bebas yang mengandung oksigen secara umum dikenal dengan ROS (*reactive oxygen species*). ROS dapat menyebabkan peroksidasi fosfolipid pada membran sel, kerusakan DNA dan protein. Kerusakan ini dapat menginduksi terjadinya kerusakan sel dan jaringan pada tubuh. Akumulasi kerusakan sel dapat memicu terjadinya kanker, penuaan, dan inflamasi. Oleh karena itu, kebutuhan akan antioksidan, yakni molekul yang dapat menetralkan radikal bebas sangat penting (Firmansyah,2017) .

Kebutuhan antioksidan ini menyebabkan adanya penambahan antioksidan sintetis seperti BHA (*Butylated hydroxyanosol*), BHT (*butylated hydroxytoluene*) dan TBHQ (*tertiarybutyl hydroqui- none*) pada makanan manusia dan hewan serta kosmetik. Tetapi, antioksidan sintesis dapat menginduksi proses karsinogenesis. Oleh karena itu, sumber antioksidan alami mulai diteliti untuk dimanfaatkan, termasuk rumput laut (Garcia et.al.2009).

Ekstrak rumput laut memiliki aktivitas antioksidan. Potensi antioksidan dari ekstrak air dan etanol dari 16 jenis rumput laut dievaluasi dengan empat jenis metode yakni *2,2-diphenyl-1-*

picrylhydrazyl (DPPH), *ferric reducing antioxidant power* (FRAP), *ferrous ion-chelating* (FIC) dan *liposome model system*. Hasilnya menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang paling tinggi diperoleh dari ekstrak etanol. *Polysiphonia fucoides* dan semua jenis *Fucus* memiliki aktivitas antioksidan dari semua jenis metode yang digunakan dan sebanding dengan jumlah fenol yang terkandung (Chakraborty et.al, 2013).

Penelitian yang dilakukan Kusumastuti dkk (2017), uji aktivitas antioksidan menggunakan metode *1,1-diphenyl 2-picrylhidrazil* (DPPH) diperoleh hasil IC_{50} *Sargassum* sp yaitu 98,236 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa hasil ekstrak *Sargassum* sp tergolong kuat. Menurut Nursid dkk (2014) bahwa suatu senyawa dinyatakan sebagai antiradikal bebas sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat apabila nilai IC_{50} anatar 50 – 100 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 101 -250 ppm, lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 251 – 500 ppm dan tidak aktif apabila IC_{50} diatas 500 ppm.

Aktivitas antioksidan rumput laut dapat juga berasal dari pigmen fukosantin. Pigmen fukosantin *Undaria pinnatifida* memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal hidroksil 13,5 kali lebih tinggi dari α -tokoferol yang diukur dengan teknik *chemiluminescence*. Selain itu, sulfat polisakarida dari *Fucus vesiculosus* memiliki kemampuan aktivitas antioksidan yang dievaluasi dengan metode FRAP. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Diachanty

dkk (2017), bahwa senyawa aktif yang terdapat pada *Sargassum* sp (*Sargassum polycystum*) terdiri dari flavonoid, steroid dan triterpenoid dengan total fenol 828,18 mg GAE/g yang merupakan sumber antioksidan yang kuat dengan IC_{50} 3,4 mg/L yang diperkuat dengan uji FRAP sebesar 105,357 μ mol troloks/g ekstrak serta uji *cupric ion reducing antioxidant capacity* (CUPRAC) memperoleh hasil 201 μ mol troloks/g ekstrak.

Nursid (2013), meneliti tentang aktivitas antioksidan, sitotoksisitas dan kandungan fukosantin ekstrak rumput laut coklat menunjukkan hasil terdapat korelasi yang nyata antara kandungan fukosantin dengan aktivitas antioksidan tetapi kandungan fukosantin tidak berkorelasi dengan aktifitas sitotoksik, dengan demikian kandungan fukosantin yang tinggi dan bioaktivitas yang baik maka alga coklat memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai bahan baku untuk herbal terstandar ataupun fitofarmaka.

B. Tinjauan tentang anemia kekurangan besi dan Kehamilan

1. Kehamilan

kehamilan merupakan rangkaian peristiwa yang baru terjadi apabila ovum telah dibuahi dan akhirnya berkembang sampai menjadi fetus yang aterm. Peristiwa ini dimulai adanya pembuahan kemudian terjadi pembelahan sel yang akan mengalami nidasi atau implantasi pada dinding saluran reproduksi kemudian tumbuh dan

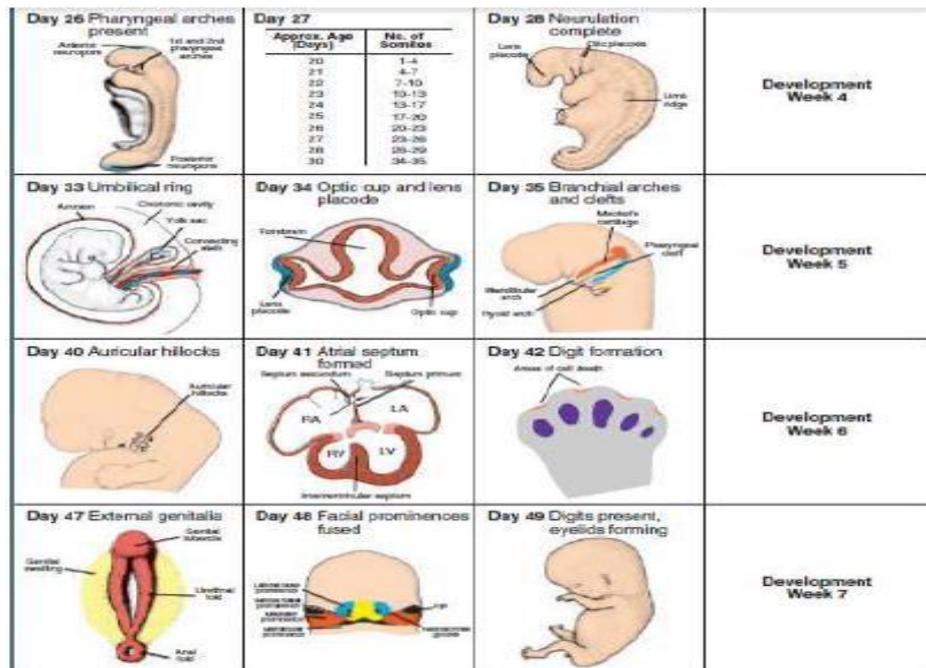
berkembang dari zigot-embrio-janin menjadi bakal individu baru (Candra dkk, 2007).

1.1 Embriologi manusia :

Menurut Prawiroharjo.S (2008), Proses kehidupan ini dalam rahim ibu berlangsung kurang lebih selama 9 bulan (38 – 40 minggu), yang terbagi menjadi tiga tahap masa kehamilan yaitu :

a. Trimester pertama (0-12 minggu) berlangsung 12 minggu.

Pada tahap ini merupakan proses penyesuaian terhadap beberapa ketidaknyamanan yang timbul diantaranya kelemahan, perubahan nafsu makan dan kepekaan emosional. Dan keadaan mencerminkan konflik dan depresi yang dialami sebagai tanda tentang adanya kehamilan. Pembentukan ini dimulai pada saat sel telur dan ovum menyatu untuk pembentukan zygot. Pada perkembangan kehamilan di trimester pertama terbagi dalam tiga periode yaitu : periode germinal (minggu 0 - 3) yaitu terjadi pembuahan telur dan sperma sampai menempel ke dinding uterus (endometrium). Berikut dapat dilihat perkembangan masa embrio pada minggu 1 – 3 kehamilan.



Gambar .4 Tahapan perkembangan embrio minggu 4-7 (Sadler, 2012).

Perkembangan pada periode kedua yaitu pada minggu 3 – 8 umur kehamilan yaitu berlangsung proses perkembangan janin, seperti system saraf pusat, organ-organ utama dan struktur anatomi mulai terbentuk, demikian juga mata, mulut dan lidah serta hati mulai memproduksi sel darah. Perlu diingat bahwa adanya perkembangan yang cepat pada permulaan kehamilan ini, dapat mempengaruhi secara internal maupun eksternal terhadap perkembangan kehamilan muda yang masih berbentuk embrio, dan akan sangat mengganggu pertumbuhan selanjutnya sehingga bisa terjadi komplikasi pada kehamilan dengan membahayakan kehidupan ibu dan janin yang ada dalam kandungan.

Perkembangan pada periode ketiga adalah fetus pada umur kehamilan minggu 9-12. Pada perkembangan ini sel-sel otak mengalami pertumbuhan yang begitu pesat sampai berjuta juta dan akan berlangsung pada umur kehamilan 16 minggu. Alat-alat yang terbentuk sejak umur kehamilan dua bulan adalah ekstremitas atas dan ekstremitas bawah. Pada trimester pertama umur kehamilan merupakan masa yang menentukan untuk perkembangan selanjutnya bagi ibu dan janin yang ada dalam kandungannya. Karena adanya gangguan penetrasi atau implantasi konsepsi pada endometrium akan menyebabkan timbulnya kelainan-kelainan pada ibu maupun janin yang dikandungnya seperti persalinan preterm, preeklamsia dan perkembangan janin yang terhambat dalam rahim (Subanrate, dkk, 2017).

Proses implantasi hasil konsepsi pada endometrium harus berlangsung baik. Secara normal ketika hasil konsepsi atau *zygote* mengalami implantasi ke dalam endometrium, sel sitotrofoblas berhubungan dengan arteri spiralis dalam endometrium. Adanya proses ini menyebabkan terjadinya hubungan antara *zygote* dengan kehidupan maternal, dalam hal ini secara normal arteri spiralis akan terbuka ke dalam *zygote*. Jika hubungan ini tidak sempurna maka akan menginisiasi gangguan perkembangan kehamilan selanjutnya. Pada ibu hamil mengalami berbagai perubahan fisiologis selama kehamilan, salah satunya terjadi

perubahan sistem peredaran darah untuk mendukung pertumbuhan janin normal. Secara fisiologi, pada wanita hamil yang normal, konsentrasi hemoglobin akan menurun karena terjadi hemodilusi atau pengenceran darah. Hal ini terjadi karena adanya peningkatan volume darah yang beredar dan bahkan peningkatannya dapat mencapai dua kali lipat. Pada trimester pertama volume darah ibu akan meningkat, dan peningkatannya akan semakin cepat bertambah selama trimester kedua dan akan mulai melambat pada trimester ketiga (Uluwiyatun, 2015).

Pada kehidupan manusia dapat terjadi *reactive oxygen species* (ROS) yang secara normal dapat dieliminasi oleh tubuh, begitupun dengan radikal bebas akibat dari metabolisme aerobik dan hasil reaksi metabolisme lainnya akan dinetralkan. Adanya udara dari atmosfer yang banyak mengandung oksigen sangat dibutuhkan untuk memproduksi energi yang akan digunakan oleh manusia termasuk ibu hamil. Peningkatan radikal bebas yang terjadi dalam kehamilan pada trimester pertama, begitupun juga adanya *oksidative stress* akan mengakibatkan terjadinya gangguan aliran darah pada daerah intervillous akan beresiko untuk terjadi masalah pada kehamilan yaitu abortus. Salah satu sumber terjadinya *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan terbentuknya *superoxide*, *hydroxyl*, dan *hydroperoxy anions* karena adanya kurang lebih 3%-4% oksigen (O₂) yang tidak termetabolisir menjadi air dan energi.

Untuk mencegah supaya tidak terjadi keguguran pada awal kehamilan maka kebutuhan oxygen harus rendah pada kehamilan muda supaya tidak terbentuk *oxidative stress* yang dapat merusak proses organogenesis sehingga menyebabkan kelainan pada janin (Friedman et al, 2014).

b. Trimester kedua (13 – 27 minggu) berlangsung 15 minggu

Pada kehamilan trimester kedua perkembangan janin semakin bebas bergerak diakibatkan karena kantong kehamilan semakin membesar sedangkan tidak diikuti dengan perkembangan janin. Berat janin pada trimester ini mencapai kurang lebih 39 gram. Pada minggu ke 20 – 21 jaringan kuku, kulit dan rambut telah terbentuk, denyut jantungnya mulai terdengar, kelopak mata sudah dapat membuka dan menutup, indera penglihatan dan pendengaran mulai berfungsi, serta janin sudah mulai kelihatan seperti bayi dengan panjang 30 cm (Suparman, 2012).

Untuk kehamilan trimester kedua perlu perhatian khusus karena plasenta sudah terbentuk maka jumlah mitokondria akan bertambah banyak, hal ini berhubungan dengan plasenta yang kaya akan mitokondria (Duhig et al, 2016). Peningkatan terbentuknya radikal bebas sejalan dengan adanya peningkatan metabolisme aerobik karena bersamaan dengan itu pemakaian oksigen meningkat juga. Oleh karena itu tubuh berusaha untuk menetralkan kondisi ini, akan tetapi jika tidak mampu peningkatan

radikal bebas ini pada awal trimester kedua akan mempengaruhi proses kehamilan selanjutnya. Adapun komplikasi yang dapat terjadi adalah hipertensi pada kehamilan atau preeklampsia akibat kelainan yang terjadi pada proses plasentasi.

Terjadinya *poor placentation* karena pada proses implantasi yang kurang baik oleh hasil konsepsi pada endometrium yang akan memberikan pengaruh terhadap pembentukan plasenta. Pembentukan radikal bebas pada awal trimester kedua ini yang berlebihan dapat merusak sel yang dapat mengganggu perkembangan hasil konsepsi dan juga menyebabkan produksi hormon prostaglandin meningkat sehingga dapat mempercepat terjadinya keguguran (Adnyana, 2013). Adapun komplikasi lain yang dapat terjadi dengan adanya kondisi ini yaitu ROS yang dapat menyebabkan terganggunya pertumbuhan janin dalam kandungan atau disebut *Intra Uterine Growth Retardation* (IUGR). Pada beberapa penelitian telah menemukan adanya kadar antioksidan rendah pada kasus abortus spontan sedangkan radikal bebas meningkat menyebabkan lipid peroksidasi juga meningkat yang menjadi salah satu tanda adanya peningkatan kadar malondialdehid (MDA) (Hayati, 2006).

c. Trimester ketiga (28 – 40 minggu) berlangsung 13 minggu.

Periode ini merupakan masa perkembangan kehamilan semua organ tumbuh sempurna. Pada awal trimester ketiga

pertumbuhan janin kurang lebih mencapai berat 1 kg. adapun perubahan yang dialami ibu pada masa ini yaitu rahim semakin membesar seiring dengan membesarnya janin dalam rahim, payudara semakin terisi dan semakin berat dan bahkan sudah ada pengeluaran colostrum, hal ini merupakan masa persiapan ibu hamil untuk menyusui bayinya setelah melahirkan.

Trimester ketiga ini merupakan masa kritis pada pertumbuhan dan perkembangan janin. Komplikasi dapat dihubungkan dengan adanya stress oksidatif, yang dimulai sejak kehamilan trimester pertama. Akan tetapi karena tubuh dapat mempertahankan dan mengeliminir radikal bebas yang ada, sehingga kehamilan dapat di jalani dengan baik sampai melahirkan. Adanya metabolisme semakin meningkat pada kondisi trimester ketiga sehingga produksi radikal bebas juga akan mengalami peningkatan sehingga manifestasi klinik akan nampak pada ibu hamil trimester ketiga. Pertumbuhan janin pada trimester ini menjadi dua kali lipat dan beratnya bertambah kurang lebih lima kali. Adapun pada akhir kehamilan berat bayi mencapai 2500 – 4000 gram dengan panjang 45 – 50 cm.

1.2. Kehamilan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih adalah salah satu hewan eksperimental yang populer digunakan untuk studi fungsi reproduksi.

Beberapa keuntungannya hewan uji ini yaitu mempunyai waktu siklus reproduksi yang lebih singkat, perkembangbiakannya cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi dan cukup tahan terhadap perlakuan. Masa kehamilan berkisar antara 20 – 22 hari, dengan berat badan lahir anak tikus putih 5 – 7 gram dan jumlah rata – rata anak dilahirkan 6 -12 ekor. (Baker *et al.*1980). Data fisiologis tikus putih (*Rattus novergicus*) kebutuhan makan 15 – 20 g perhari, kebutuhan minum 10 - 20 ml perhari, Kadar hemoglobin 12 – 17,5 g/dl. Masa kritis pertumbuhan dan perkembangan janin yaitu pada kehamilan hari ke-7 sampai hari ke – 17. (Sihombing,2011).

Kehamilan tikus putih dibuat dengan mengawinkan tikus betina dan tikus jantan dengan dimasukkan dalam satu kandang dan ditinggal semalam. Apusan vagina dilakukan keesokan harinya, dan mengandung sejumlah sperma jika kopulasi telah terjadi, atau ditemukan sumbat vagina pada tikus betina berupa air mani yang menjendal berwarna kekuningan berasal dari sekresi kelenjar khusus tikus jantan sebagai penetapan awal kehamilan yaitu kehamilan hari pertama (Krinke.,2000).

Siklus reproduksi secara kasar dapat dibagi menjadi empat stadium sebagai berikut :

- a. Fase proestrus adalah periode ovarium tumbuh menjadi folikel de graaf dibawah pengaruh FSH, fase ini berlangsung 12 jam. Setiap folikel mengalami pertumbuhan yang cepat selama 2 – 3 hari sebelum estrus sistem reproduksi memulai persiapan – persiapan untuk pelepasan ovum dari ovarium.
- b. Fase estrus adalah ditandai oleh penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk berkopulasi, fase ini berlangsung selama 12 jam awal dan 6 jam akhir. Folikel de graaf membesar dan menjadi matang serta ovum mengalami perubahan – perubahan kearah pematangan. Pada fase ini pengaruh kadar estrogen meningkat sehingga aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak – gerak dan punggung lordosis. Ovulasi hanya terjadi pada fase ini menjelang akhir siklus estrus.
- c. Fase metetrus adalah periode segera sesudah estrus saat corpus luteum bertumbuh cepat dari sel granulose folikel yang telah pecah di bawah pengaruh *luteinizing hormone* (LH) dan *adenohipopise*. Fase ini berlangsung selama 21 jam. Pada preparat apus vagina ciri yang tampak yaitu

berinti dan leukosit terlihat lagi dan jumlah epitel menanduk makin lama makin sedikit.

- d. Fase diestrus adalah periode terakhir dan terlama siklus birahi pada ternak dan mamalia. Fase ini berlangsung selama 48 jam. Endometrium dan kelenjar – kelenjarnya beratrofi atau beregresi ke ukuran semula. Pada preparat apus vagina dijumpai banyak sel darah putih dan epitel berinti yang letaknya tersebar dan homogen.

Rahayu dkk (2005), tahapan embriologi tikus putih sebagai berikut:

- a. Pembelahan dan Blastula : hari 1 – 3 (dalam saluran telur), hari 4 – 5 (blastokista dalam rahim)
- b. Gastrula : hari 6 – 8 (implantasi blastokista, massa sel dalam di tutupi dengan endoderm, mudigah berdiferensiasi ke dalam dan keluar embrio, implantasi komplit terbentuk kista amnion primer.
- c. Garis primitif : hari 8,5 (adanya hubungan antara rongga amnion dan ektokorionik : hilangnya lipatan amnion, muncul garis primitif, awal pembentukan 3 lapisan mudigah, lempeng jantung dan pericardium.
- d. Neurula : hari 9 – 11 (presomite neurula, oksipital, cervical, terbentuk cakram dan kantong plasenta kuning, garis

primitive menghilang, kuncup ekor terlihat, kuncup lengan dan kaki tampak.

- e. Kuncup ekor embrio : hari 11,5 – 12,5 (terbentuk lengkung visceral, sinus cervical dalam, lubang hidung dan awal berniasi umbilical.
- f. Embrio lengkap : hari 12,5 – 16 (penyebaran oksipital somite, wajah kiri berada pada kantung kuning, sedangkan sisi kanan berbalik kearah palsenta, ekor dan tangkai alantois terangkat kearah plasenta.
- g. Janin : hari 16 – 18 (tahap janin ke-1, pertumbuhan cepat kelopak mata, langit – langit tertutup sempurna, pinna melapisi saluran telinga, hernia umbilical menghilang.
Hari 19 – 22 (tahap janin ke-2, kelopak mata tertutup, membrane janin dan plasenta mencapai puncak pertumbuhan, ekor tumbuh hingga 10 mm. kelahiran terjadi pada hari 20 - 22).

2. Anemia kekurangan besi pada kehamilan

Pada proses kehamilan normal, hampir setiap sistem organ dalam tubuh akan mengalami suatu perubahan secara anatomis dan fungsional yang dapat mengubah kriteria dalam hal ini diagnosa penyakit dan pengobatan. Oleh karena itu pengetahuan dan proses adaptasi pada kehamilan sangat penting menjadi tujuan

utama kebidanan, untuk dapat menjalani proses kehamilan dengan baik dan dapat mencegah terjadinya komplikasi yang dapat mengancam keselamatan ibu hamil selama kehamilan.

Definisi anemia adalah suatu keadaan yang ditandai dengan rendahnya konsentrasi hemoglobin (Hb) atau hematokrit berdasarkan nilai ambang batas (referensi) yang disebabkan oleh rendahnya produksi sel darah merah (eritrosit) dan Hb, meningkatnya kerusakan eritrosit (hemolisis), atau kehilangan darah yang berlebihan. Secara fisiologi, anemia terjadi apabila terdapat kekurangan jumlah hemoglobin untuk mengangkut oksigen ke jaringan sehingga tubuh akan mengalami hipoksia.

Table 2.2 Nilai Normal Kadar Hemoglobin Berdasarkan Umur

<i>Kelompok umur / jenis kelamin</i>	<i>Konsentrasi Hb (g/dl)</i>
<i>6 bulan – 5 tahun</i>	<i>11</i>
<i>5 – 11 tahun</i>	<i>11,5</i>
<i>12 – 13 tahun</i>	<i>12,0</i>
<i>Wanita</i>	<i>12,0</i>
<i>Wanita hamil</i>	<i>11,0</i>
<i>Laki – laki</i>	<i>13,0</i>

Besi berperan penting dalam proses metabolisme tubuh pada proses respirasi seluler. Besi yang tersisa di dalam tubuh akan berikatan dengan protein, sebagai protein penyimpan (dalam bentuk feritin dan hemosiderin) dan bentuk transport (dalam bentuk transferin). Di dalam tubuh jumlah besi dalam bentuk transferin 3 - 4 mg, hemoglobin dalam sel darah merah 2500 mg, dalam bentuk mioglobin dan berbagai enzim 300 mg, di simpan dalam bentuk

feritin dan dalam bentuk hemosiderin 1000 mg. kondisi normal tubuh akan mengeluarkan atau kehilangan besi sebanyak 1 mg besi per hari dan akan digantikan melalui absorpsi.

Adapun mekanisme absorpsi besi dalam tubuh adalah :

- a. Intake besi dari diet dalam bentuk besi hem atau non heme yang penyerapannya diatur secara ketat pada duodenum proximal.
- b. Besi dalam bentuk ferri (Fe^{3+}) direduksi menjadi ferro (Fe^{2+}) oleh ferireduktase yang terdapat pada permukaan enterosit. Adanya vitamin C dalam diet mempermudah reduksi ferri menjadi ferro. Kemudian besi ferro diangkut ke dalam eritrosit menggunakan divalent metal transporter (DMT1).
- c. Besi dalam bentuk heme (ferro) dibawa oleh pengangkut heme yang disebut Heme Transport (HT) ke dalam eritrosit dan oleh Heme oksidase (HO), Fe^{2+} dibebaskan dari heme.
- d. Besi dalam eritrosit, kemudian sebagian di simpan dalam bentuk feritin dan sisanya berikatan dengan ferroportin (FP) untuk dibawa menembus membrane basolateral
- e. Ferroportin (FP) dapat berikatan dengan hephaestin (serupa dengan *ceruloplasmin* yang memiliki aktifitas *feroksidase* untuk dibawa ke aliran darah.

- f. Dalam plasma hephaestin akan mengubah besi dalam bentuk ferro menjadi ferri yang kemudian berikatan dengan transferin yang merupakan protein pengangkut besi dalam plasma darah.

Zat besi merupakan mineral mikro yang sangat penting dalam pembentukan hemoglobin. Fungsi hemoglobin yaitu merupakan komponen sel darah merah yang bertujuan untuk menyalurkan oksigen keseluruh tubuh. Penyebab terjadinya anemia secara fisiologis pada kehamilan adalah adanya peningkatan dari volume plasma yang menyebabkan hematokrit, konsentrasi hemoglobin darah dan jumlah erosit dalam sirkulasi mengalami penurunan. Pada minggu ke-6 kehamilan volume plasma mulai meningkat akan tetapi tidak sesuai dengan jumlah sel darah merah, hal ini menyebabkan terjadinya pengenceran darah (hemodilusi) yaitu bertambah 25-30% sedangkan sel darah merah hanya sekitar 20%. Pada akhir kehamilan volume plasma pada wanita hamil meningkat 40% lebih tinggi di bandingkan pada wanita tidak hamil. Terjadinya hemodilusi darah mulai pada umur kehamilan 16 minggu dengan tujuan untuk meringankan kerja jantung akibat curah jantung yang meningkat selama kehamilan.

Hemoglobin merupakan suatu protein berpigmen merah yang terdapat pada eritrosit. Penyebab terjadinya warna merah pada darah adalah kandungan Hb yang merupakan susunan protein yang kompleks terdiri dari protein, globulin dan satu senyawa

yang bukan protein yang disebut heme. Kata hemoglobin terdiri dari *hem* yang merupakan cincin porfirin sebagai pengikat oksigen dan kata globin adalah terdiri dari dua pasang rantai asam amino yang disebut sebagai alfa dan non alfa. Hemoglobin membawa karbondioksida kemudian membentuk karbonmonoksida hemoglobin (HbCO) yang berperan dalam keseimbangan pH darah.

Penelitian yang dilakukan oleh Maria Tahun 2010, menyebutkan bahwa persentase absorpsi zat besi yang berasal dari rumput laut *sargassum* lebih tinggi dibandingkan dengan rumput laut lainnya yaitu sebesar 22% meskipun bentuk zat besi yang ada dalam rumput laut merupakan zat besi non hem. Hal tersebut dikarenakan kandungan vitamin C pada *Sargassum* sp yang cukup tinggi yaitu 362,44 µg/g dan tidak ditemukan adanya fitat. Maria juga menyatakan bahwa *Sargassum* sp merupakan salah satu sumber zat besi yang baik.

Metabolisme pada zat besi terjadi melalui dua siklus yaitu pertama, siklus internal dengan pemanfaatan kembali zat besi secara terus menerus dari katabolisme sel dalam tubuh, dan kedua siklus yang digambarkan oleh hilangnya zat besi dari tubuh dan penyerapan makanan (Riyadi.,2012). Sel – sel darah merah mempunyai umur 120 hari, dan setelah itu akan mati dan digantikan oleh sel darah merah yang baru. Untuk pergantian sel – sel darah merah dari yang lama ke yang baru disebut *turn over* . Besi ionik

dapat berpartisipasi dalam berbagai reaksi yang menghasilkan radikal bebas yang selanjutnya dapat merusak sel. Terbentuknya senyawa radikal bebas dalam tubuh dapat memicu terjadinya stress oksidatif pada sel termasuk sel eritrosit. Rusaknya eritrosit dapat menyebabkan pelepasan ion Fe dari ferritin sehingga dapat mempengaruhi kadar hemoglobin dalam darah.

Anemia pada masa kehamilan akan menyebabkan ketidakmampuan ibu hamil untuk menghadapi kehilangan darah dan membuatnya rentan terhadap infeksi, jika anemia berat kegagalan jantung cenderung terjadi dan dapat menimbulkan hipoksia fetal dan persalinan prematur. Kehamilan merupakan keadaan yang meningkatkan kebutuhan ibu terhadap besi dalam memenuhi kebutuhan fetal, plasenta dan penambahan massa eritrosit selama kehamilan. Simpanan besi yang tidak cukup sebelum kehamilan dan asupan besi yang tidak adekuat selama kehamilan dapat mengakibatkan anemia defisiensi besi dalam kehamilan. Diagnosa anemia defisiensi besi ditegakkan berdasarkan beberapa pemeriksaan laboratorium yaitu hemoglobin < 10,2 g/dl, hematokrit < 13 %, feritin serum < 12 ng/ml, soluble transferin reseptor > 6 mg/dl dan saturasi transferin < 15 % (Uluwiyatun dkk, 2015). Kadar feritin serum merupakan parameter yang paling akurat untuk menilai cadangan besi tubuh (Yuniarti dkk, 2016).

Anemia pada kehamilan dapat meningkatkan frekuensi komplikasi pada kehamilan dan persalinan. Resiko kematian maternal, angka prematuritas, bayi berat lahir rendah, dan angka kematian perinatal meningkat. Disamping itu, perdarahan antepartum dan postpartum lebih sering dijumpai pada wanita yang anemia (Praworoharjo, 2008). Anemia pada ibu hamil dapat juga menyebabkan terjadinya gangguan plasenta seperti hipertropi, kalsifikasi, dan infark, sehingga terjadi gangguan fungsinya. Adapun yang dapat terjadi jika anemia terjadi pada trimester II dan III adalah partus premature, perdarahan intrapartum, gangguan pertumbuhan janin dalam rahim, asfiksia intrapartum sampai kematian, gestosis dan mudah terkena infeksi serta terjadi dekompensasi kordis hingga kematian ibu.

Kategori anemia dalam kehamilan adalah kondisi ibu hamil dengan kadar hemoglobin di bawah 11 gr% pada trimester I dan III atau kadar hemoglobin kurang dari 10,5 gr% pada trimester II (Depkes RI, 2009). Kehamilan menyebabkan terjadinya peningkatan volume plasma sekitar 30%, eritrosit meningkat 18% dan hemoglobin bertambah 19% (Rosleyn, dkk, 2016).

Hemoglobin merupakan protein dalam eritrosit yang mempunyai fungsi untuk mengangkut oksigen dari paru – paru ke seluruh tubuh. Peningkatan volume plasma darah terjadi lebih dahulu dan relatif lebih besar di bandingkan dengan peningkatan

volume eritrosit atau produksi sel darah merah. Hal ini disebut hemodilusi yaitu keadaan seolah-olah volume eritrosit berkurang sehingga menyebabkan penurunan kadar Hb pada kehamilan trimester I, II dan III. Volume darah ibu akan meningkat selama trimester pertama, lalu peningkatan bertambah cepat trimester kedua dan melambat selama trimester ketiga. Kebutuhan total zat besi pada kehamilan berkisar 540 – 1340 mg dan 440 – 1050 mg diantaranya akan hilang dalam tubuh ibu pada saat melahirkan. Untuk mengatasi kehilangan ini ibu hamil memerlukan rata – rata 3,5 – 4 mg zat besi per hari. Pada awal kehamilan rata – rata 2,5 mg / hari kemudian meningkat 6,6 mg /hari. Pada trimester kedua kebutuhan zat besi adalah 5 mg/hari yaitu untuk kebutuhan basal, 0,8 mg/hari ditambah dengan kebutuhan red cell mass 300 mg dari conceptus 115 mg (Rosleyn, dkk ,2016).

Dampak anemia pada kehamilan menyebabkan terjadinya gangguan pada janin dalam bentuk : abortus, persalinan premature, cacat bawaan, intelegensia rendah, berat badan lahir rendah.

C. Tinjauan Superoksida Dismutase Dan Malondialdehid

1. Superoksida Dismutase (SOD)

Enzim antioksidan intrasel atau antioksidan enzimatik terdiri dari tiga macam yaitu superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx) dan katalase (Cat). Salah satu antioksidan

enzimatik / endogen yang berfungsi untuk mengkatalisis reaksi dismutase, radikal bebas anion superoksida (O_2^-) menjadi hydrogen peroksida (H_2O_2) dan molekul oksigen adalah superoksida dismutase. SOD biasa juga disebut *scavenger* atau pembersih superoksida. Terdapat tiga bentuk isozim SOD pada mamalia yaitu CuZnSOD (SOD1), MnSOD (SOD2) dan ekstraseluler CuZnSOD (SOD3 dan ecSOD) (Zainuri *et al*, 2013).

Pada SOD1 memiliki kofaktor logam Cu dan Zn dan terdapat pada sitoplasma, eukarota, peroksisom, kloroplas dan periplasma prokariota. SOD2 mempunyai kofaktor logam Mn dan terdapat pada mitokondria dan sitoplasma. SOD3 mirip dengan CuZnSOD karena mengandung kofaktor logam Cu dan Zn dan terdapat di dalam cairan ekstraseluler dan matriks seluler hepar, plasenta dan paru. ecSOD berperan dalam mengendalikan bioavailabilitas *Nitrit Oxide* pada keadaan stress oksidatif (Acher *et al.*2010).

Tembaga (Cu) merupakan kofaktor penting bagi sejumlah enzim terutama untuk komponen enzim SOD yang merupakan *scavengers* superoksida radikal dan mencegah peroksidasi lipid dan kerusakan membran, serta terlibat dalam reaksi metabolisme, angiogenesis, transportasi oksigen dan perlindungan antioksidan dan sitokrom oksidase (Hiten D *et al.*,2011). SOD merupakan enzim antioksidan penting yang berasal dari tubuh sendiri, yang memiliki efek sangat kuat dan merupakan pertahanan tubuh garis

pertama dalam mengatasi stress oksidatif. SOD merupakan antioksidan pencegah yang dapat menghambat sebelum anion superoksida menyebabkan kerusakan pada sel. Cara kerja SOD dengan mengkonversi anion superoksida (O_2^-) menjadi komponen yang kurang berbahaya, yaitu hidrogen peroksida (H_2O_2). Aktifitas SOD dapat bekerja dengan bantuan zat – zat gizi mineral seperti mangan (Mn), seng (Zn) dan tembaga (Cu). Mineral Cu penting untuk berfungsinya sebagai katalitik enzim (Carl L *et al.*,2003).

Enzim superoksida dismutase (SOD) merupakan salah satu dari jenis enzim antioksidan endogen yang berperan melindungi sel dari proses oksidasi (kerusakan oksidatif), dan berperan sebagai sistem pertahanan pertama untuk menekan pembentukan radikal bebas. Enzim ini dapat ditemukan pada semua organisme aerob dan umumnya berada dalam tingkat subseluler (intraseluler), karena keberadaannya di lingkungan aerob maka dibutuhkan oksigen untuk kehidupannya sehingga peka terhadap terjadinya kerusakan akibat oksidasi atau disebut stress oksidatif. Enzim SOD bekerja di dalam sel dan berperan pada tahap awal terjadinya stress oksidatif dengan cara mengubah radikal anion superoksida menjadi nitrogen peroksida dan molekul oksigen (Burton *et al.* 2011) .

Pada enzim – enzim ini superoksida dismutase mempunyai peran pada tahap awal transformasi dengan cara melakukan dismutase bentuk oksigen yang paling reaktif (*radikal superoxide*) menjadi ion – ion oksigen yang kurang reaktif yang akan dihancurkan oleh kedua enzim yang lain yaitu katalase dan glutathion peroksidase. Oleh karena itu transformasi ini disebut dismutase, sehingga enzimnya disebut dismutase. SOD mempunyai peran yang penting dalam mekanisme pertahanan dari sel biologis yang terkena oksigen, dengan mengkatalisis dismutase dari radikal anion superoksida (O_2^*) menjadi molekul oksigen dan hydrogen peroksida. Reaksi ini diakui sebagai sistem antioksidan yang melindungi sel – sel dari toksisitas superoksida (Friedman *et al*, 2011).

Salah satu enzim yang mempunyai peran untuk meredam radikal bebas yang terbentuk dari proses – proses yang terjadi dalam mitokondria adalah superoksida dismutase. Saat ini telah banyak dilakukan penelitian yang berhubungan dengan senyawa fitokimia untuk menurunkan laju stres oksidatif dengan meningkatkan kadar antioksidan endogen SOD serta meningkatkan ekspresi gen penyandinya. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa pemberian antioksidan eksogen yang mengandung senyawa flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid, baik secara langsung maupun tidak langsung dengan

melalui peningkatan enzim aktifitas SOD dan ekspresi gen nya. Senyawa beta karoten juga berperan sebagai antioksidan karena dapat meningkatkan ekspresi gen dari enzim superoksida dismutase (SOD) dengan cara meningkatkan jumlah mRNA (Ghneim, 2016).

Superoksida Dismutase (SOD) kehamilan Normal.

Secara fisiologi kehamilan normal dapat memberikan respon inflamasi sistemik, yang meliputi endothelium. Salah satu penanda terjadinya stress oksidatif secara progresif mengalami peningkatan sepanjang trimester pertama dan kedua, akan tetapi konsentrasi plasma dari beberapa antioksidan endogen dalam hal ini misalnya superoksida dismutase, juga akan naik secara paralel. Terbentuknya radikal bebas superoksida dapat dihasilkan melalui berbagai jalur, termasuk plasenta, akan tetapi jika dikonversi ke peroksida radikal akan lebih merusak dan berbahaya. Pada perkembangan embrio dan aktivitas korpus luteum, superoksida dismutase mempunyai peran untuk pemeliharaan kehamilan muda. Adapun fungsi daripada superoksida dismutase adalah merupakan penghambat dari kerja peroksida yang mempunyai fungsi dalam menghambat aktivitas hormon gonadotropin, steroidogenesis dan hilangnya fungsi folikel. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Leal dkk (2011)

menunjukkan bahwa SOD dibutuhkan untuk mempertahankan korpus luteum dan gestasi awal pada hewan uji tikus.

Konsentrasi progesteron dengan aktivitas SOD dalam serum sebanding pada awal kehamilan yang mana kondisi ini progesteron menginduksi desidualisasi endometrium dan juga menginduksi ekspresi superoksida dismutase (SOD). Pada kasus abortus spontan ditemukan aktivitas SOD rendah dalam plasma atau plasenta, sehingga di duga terminasi kehamilan merupakan akibat penurunan aktivitas SOD yang menstimulasi sintesis prostaglandin (Smf,B dkk, 2012).

Superoksida dismutase (SOD) merupakan antioksidan enzimatik pertama dalam perlindungan sel dari oksigen reaktif, pada endometrium manusia memiliki Cu,Zn-SOD pada sitosol dan Mn-Sod pada mitokondria. Peningkatan reaksi oksidatif ditemukan pada fase seksresi lanjut sesaat sebelum menstruasi dan akan menurun pada awal kehamilan terutama di desidua, dan ini akan mengakibatkan aktivitas SOD menurun pada fase tersebut dan mulai meningkat pada desidua diawal kehamilan. Hal ini menunjukkan bahwa SOD mempunyai peran sangat penting dalam stabilitas jaringan endomterium. Pada kehamilan hingga umur 10 minggu dilakukan evaluasi terhadap sirkulasi plasenta dengan menggunakan Doppler dan tidak ditemukan

adanya sinyal *nonpulsatile* yang menunjukkan adanya aliran darah maternal intraplasenta dalam rongga intervilli.

Oleh karena itu berdasarkan teori baru bahwa kadar oksigen dalam plasenta janin pada stadium awal sangat rendah dan mulai mengalami peningkatan ketika sudah ada aliran darah dari ibu. Kehamilan muda dengan adanya komplikasi ditemukan adanya hipervaskularisasi pada plasenta sebelum akhir semester pertama dan adanya invasi endometrium oleh trofoblas ekstravilli sangat terbatas. Faktor predisposisi pada onset awal sirkulasi maternal yaitu adanya pembatasan arteri spiralis yang tidak sempurna. Kehamilan pada trimester pertama jaringan plasenta memiliki antioksidan dalam konsentrasi dan aktivitas yang rendah oleh karena itu sangat rentan untuk terjadinya kerusakan yang dimediasi oleh oksidatif. Pada kehamilan 8 hingga 9 minggu ditemukan adanya peningkatan tajam dari ekspresi marker oksidatif pada trofoblas yang mempunyai hubungan dengan onset sirkulasi kehamilan normal, sehingga dapat disimpulkan bahwa stress oksidatif yang berlebih pada plasenta dalam umur kehamilan muda mungkin merupakan faktor yang berperan terjadinya pathogenesis kegagalan pada kehamilan awal dan preeklampsia.

Aktivitas dan ekspresi SOD dapat berubah pada kehamilan normal. Tingkat peroksidasi lipid pada jaringan plasenta atau

plasma pada trimester pertama lebih tinggi di bandingkan pada akhir kehamilan atau saat persalinan. Kadar oksigen rendah pada awal kehamilan hingga umur 10 minggu dibutuhkan oleh embrio untuk implantasi, dengan tidak adanya aliran darah maternal akan melindungi embrio dari serangan imunologi dan radikal bebas. Akan tetapi pada saat sudah ada sirkulasi maternal pada umur kehamilan 10 -12 minggu maka mulailah terbentuk konsentrasi oksigen intraplasenta meningkat tajam. Oleh karena itu radikal bebas yang merupakan molekul reaktif dengan elektron tanpa pasangan akan diproduksi secara terus menerus dalam sel yang merupakan produk sampingan dari metabolisme. Adanya reaksi oksidasi - reduksi dalam transformasi metabolisme protein, karbohidrat dan lemak terjadi dalam mitokondria disebut sebagai fosforilasi oksidatif, dan hasil produknya berupa oksigen seperti radikal superoksida dan hidroksil .

Beberapa studi menemukan bahwa aktivitas SOD dalam desidua bermanfaat untuk mempertahankan kehamilan dengan cara mencegah adanya akumulasi lipid peroksidasi sampai terjadinya sintesa prostaglandin F₂ yang akan mencegah uterus berkontraksi. Faktor apapun yang terlibat dalam perlindungan SOD terhadap interaksi materno-plasenta, tujuannya yang paling utama adalah untuk mengoptimalkan implantasi, plasentasi dan diikuti dengan transformasi progresif dari arteri spiralis maternal

yang vasoreaktif menjadi arteri utero-plasenta yang flasid dan distensi.

2. Malondialdehid (MDA).

Salah satu produk sekunder peroksidasi lipid oleh radikal bebas adalah malondialdehid (MDA), oleh karena itu MDA dapat dijadikan indikator untuk keberadaan radikal bebas di dalam tubuh. Pengukuran dengan adanya peningkatan nilai malondialdehid plasma memberikan petunjuk besarnya kerusakan oksidatif dalam tubuh. MDA merupakan hasil produk akhir daripada peroksidasi lipid. Kadar MDA mempunyai korelasi atau hubungan dengan berbanding terbalik daripada aktifitas antioksidan yaitu semakin tinggi kadar malondialdehid maka semakin rendah aktifitas antioksidan endogen atau enzimatik (Nielsen, 2007).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Patil, dkk (2007), menemukan bahwa kadar *malondialdehyda* (MDA) pada wanita Hamil lebih tinggi dibandingkan dengan wanita tidak hamil. Untuk peningkatan kadar MDA sejalan dengan bertambahnya usia kehamilan yaitu dari trimester pertama, kedua dan ketiga, dalam hal ini telah terjadi peningkatan peroksidasi yang merupakan penanda (*marker*) untuk menilai radikal bebas dalam darah. Malondialdehid telah banyak membantu menjelaskan peranan

stres oksidatif pada sejumlah penyakit dan telah digunakan secara luas pada berbagai bidang yang menjadi penanda klinis peroksidasi lipid, dan dapat ditemukan hampir diseluruh cairan biologis, namun darah (plasma atau serum) dan urin yang paling umum digunakan untuk pengambilan sampel, karena paling mudah didapatkan, paling tidak invasif dan memberikan hasil yang sama akurat dan presis dari indeks stres oksidatif.

Penelitian yang dilakukan oleh Firdaus (2010), menemukan bahwa *Sargassum echinocarpum* pada dosis 300 mg/kgBB dan 450 mg/KgBB dapat memperbaiki stres oksidatif dan mencegah disfungsi sel endotell aorta tikus yang di induksi *streptozotocin*, sedangkan penelitian Motshakeri *et al.*(2014) membuktikan *Sargassum polycystum* pada dosis 150 mg/kgBB dapat mengurangi kerusakan ginjal dan hati tikus hiperglikemia.

D. Tinjauan *Reactive Oxygen Species* (ROS), Radikal bebas Dan Antioksidan Dalam Kehamilan.

1. *Reactive Oxygen Species* (ROS) Dan Radikal Bebas

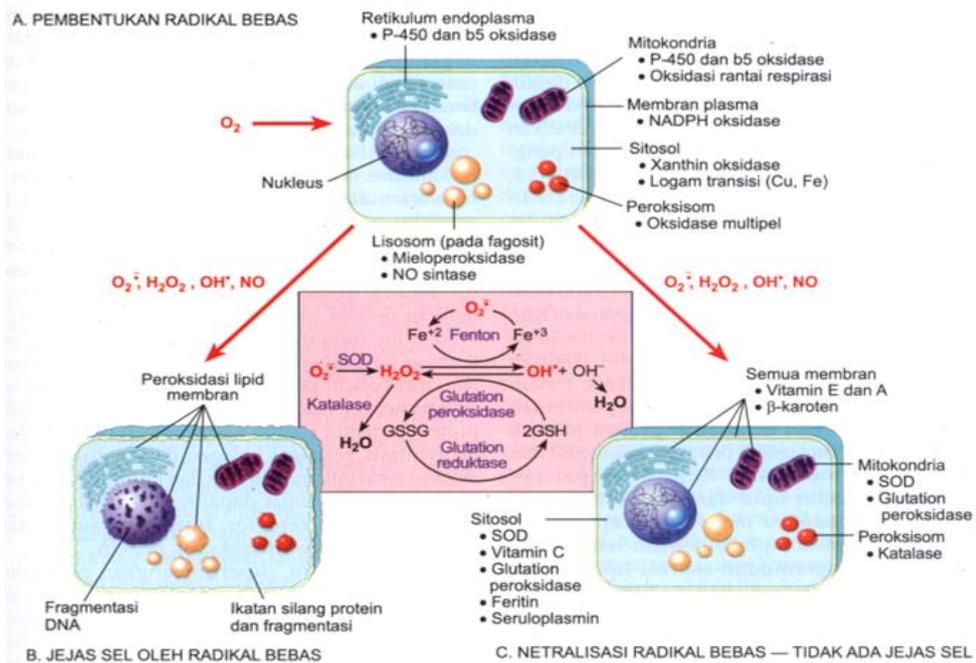
Reaktif oksigen spesies (ROS) adalah radikal bebas yang berupa oksigen dan turunannya sangat reaktif atau merupakan suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit luarnya. Reaktif oksigen spesies merupakan produk sampingan dari jalur transport elektron di dalam

mitokondria melalui reaksi apoptosis dan inflamasi. ROS adalah produk normal dari metabolisme seluler yang mempunyai efek menguntungkan dan efek merugikan. Pada konsentrasi rendah hingga sedang ROS memberikan efek menguntungkan dalam hal ini merupakan respon fisiologis dalam respon seluler terhadap bahan – bahan yang merugikan, misalnya pertahanan diri terhadap infeksi, dalam sejumlah fungsi sistem sinyal seluler dan induksi respon mitogenik. Radikal bebas mempunyai target utama yaitu protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein, serta unsur DNA/RNA termasuk karbohidrat.

Adapun efek merugikan dari pada ROS adalah yang menyebabkan adanya kerusakan biologis dikenal dengan nama stress oksidatif. Begitu pun juga yang terjadi pada sistem biologis akibat produksi ROS yang berlebihan maupun akibat defisiensi antioksidan. Dalam hal ini stress oksidatif merupakan produk dari reaksi metabolik yang menggunakan oksigen dan menunjukkan terjadinya gangguan keseimbangan status reaksi oksidan dan antioksidan pada makhluk hidup. Adanya reaktif oksigen spesies (ROS) yang berlebihan akan memberikan dampak terjadinya kerusakan lipid seluler, protein maupun DNA/RNA dan menghambat fungsi normal sel. Pada dasarnya ROS terdapat tiga tipe utama yaitu superoksidasi ($O_2^{\bullet-}$), hydrogen peroksida (H_2O_2), dan hidrosil (OH^{\bullet}).

Jika terjadi kehilangan elektron pada saat proses rantai transport elektron maka terbentuklah radikal superoksida.

Secara endogen dan eksogen radikal bebas dapat dihasilkan baik dalam keadaan normal maupun patofisiologis. Protein, lemak, dan DNA/RNA dapat dioksidasi oleh radikal bebas sehingga mengakibatkan terjadinya kematian sel. Radikal bebas yang lain dan ROS berguna untuk memerangi mikroba pathogen, tetapi jika jumlahnya berlebihan akan membahayakan tubuh, oleh karena dapat merusak sel – sel jaringan yang berada disekitarnya. Radikal bebas lainnya dan ROS akan terus mencari elektron dari molekul – molekul yang ada disekitarnya, dan apabila tidak dapat dikendalikan oleh antioksidan maka reaksinya akan berlangsung secara terus menerus.



Gambar .5. pembentukan radikal bebas

Reaktif oksigen spesies mempunyai efek timbulnya lebih dari 100 macam penyakit dan berpengaruh terhadap patofisiologi reproduksi wanita, mencakup ovarium, tuba fallopi dan embrio. Pada proses kehamilan akan berlangsung normal sejak mulai terjadinya pembuahan atau konsepsi sampai hasil konsepsi ini siap untuk dilahirkan. Namun pada proses perjalanan kehamilan mulai awal sampai menjelang akhir kehamilan terkadang sering disertai komplikasi – komplikasi dan jika tidak segera di tangani maka dapat membahayakan kehidupan baik terhadap ibu hamil maupun pada janin yang ada dalam kandungan. Adanya komplikasi – komplikasi ini lebih banyak dihubungkan dengan adanya peningkatan stress oksidatif pada wanita hamil (Patil dkk, 2007)

Ada beberapa turunan daripada radikal bebas dan ROS yang secara terus menerus berkembang dalam tubuh manusia yang merupakan suatu dampak dari paparan bahan kimia eksogen di lingkungan dan / atau sejumlah proses metabolik endogen. Normalnya, ROS yang dihasilkan terdetoksifikasi oleh antioksidan yang ada di dalam tubuh dan terdapat keseimbangan antara ROS yang dikembangkan dan antioksidan yang ada di dalam tubuh tersebut. Namun, karena produksi ROS berlebihan dan / atau lemahnya pertahanan antioksidan, maka keseimbangan ini terhambat sehingga membantu meningkatkan ROS dan merespon akan terbentuknya stress oksidatif (SO).

ROS akan merangsang terjadinya kerusakan oksidatif pada berbagai macam biomolekul termasuk protein, lipida, lipoprotein, dan DNA. Adanya ketidakseimbangan antara radikal bebas dan ROS dengan antioksidan, menyebabkan timbulnya stress oksidatif (*oxidative stres*). Stres oksidatif dapat disebabkan karena kurangnya mengkonsumsi bahan makanan sumber antioksidan atau meningkatkan produksi radikal bebas dan ROS yang disebabkan oleh toksin dari lingkungan seperti merokok, atau tidak cukupnya aktivasi fagosit misalnya pada kondisi inflamasi kronis. ROS berhubungan dengan berbagai penyakit penuaan seperti aterosklerosis, kanker, stroke, serangan jantung dan sebagainya. ROS juga dapat menginduksi apoptosis (kematian) sel – sel dalam tubuh.

Reaktif oksigen spesies mempunyai dua peran yaitu sebagai molekul pemberi sinyal pada proses fisiologi dan juga terhadap proses patologis pada reproduksi wanita, pada proses fisiologis mulai dari maturasi oosit sampai fertilisasi, pertumbuhan embrio, dan selama kehamilan. Proses metabolisme pada saat hamil tidak sama pada saat dalam keadaan normal dalam hal ini tidak hamil. Terjadinya peroksidasi lipid yang berasal dari plasenta karena adanya peningkatan asam – asam lemak tidak jenuh jamak dan juga peningkatan sintesis prostaglandin. Malondialdehid merupakan marker peroksidasi lipid ditemukan meningkat pada wanita hamil

dibandingkan dengan yang tidak hamil. Adanya peningkatan yang berlebihan daripada stress oksidatif yang terjadi pada plasenta yang normal pada saat pembentukan sirkulasi maternal, akan mempunyai peranan fisiologi yang berfungsi untuk menstimulasi differensiasi plasenta akan tetapi dapat pula berperan sebagai pathogenesis dalam kegagalan pada kehamilan muda jika pertahanan antioksidan berkurang. (Jauniaux, dkk.2006).

Radikal bebas merupakan molekul yang kehilangan elektron, sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan akan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul atau sel lain. Sumber radikal bebas berasal dari dalam tubuh (endogen) dan juga luar tubuh (eksogen). Radikal bebas endogen adalah merupakan hasil sisa metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat, dan lemak pada mitokondria (proses fosforilasi oksidatif rantai pernapasan), proses inflamasi, dan kondisi iskemia. Adapun radikal bebas eksogen adalah polusi, radiasi, obat, olah raga yang berlebihan, makanan berlemak, stress yang berlebihan, alkohol dan asap rokok. Pembentukan radikal bebas dan reaksi oksidasi pada biomolekul akan berlangsung sepanjang kehidupan. Secara umum pembentukan radikal bebas mempunyai tiga tahapan yaitu :

- a. Tahap inisiasi yaitu merupakan tahap awal terbentuknya radikal bebas

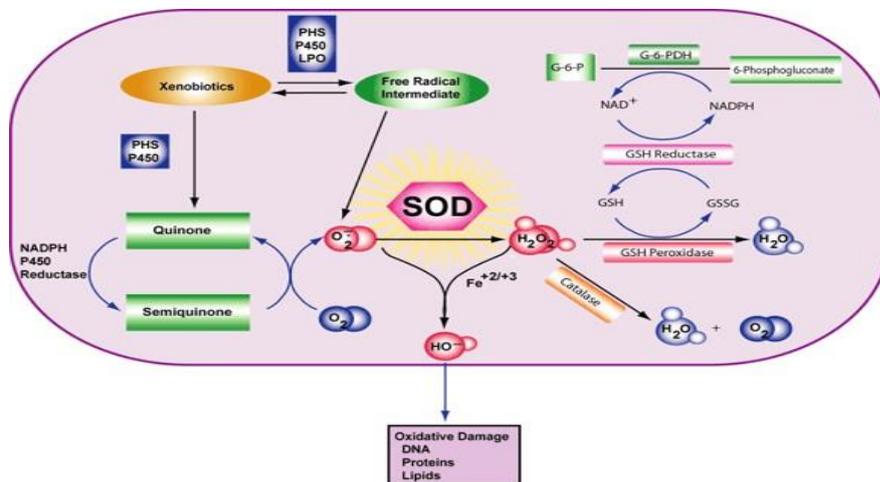
- b. Tahap propagasi adalah tahap perpanjangan radikal berantai, dengan terjadinya reaksi antara suatu radikal dengan senyawa lain dan menghasilkan radikal baru.
- c. Tahap terminasi yaitu merupakan tahap akhir, dengan terjadinya pengikatan suatu radikal bebas dengan radikal bebas yang lain sehingga menjadi tidak reaktif lagi.

Radikal bebas mempunyai dua sifat adalah memiliki reaktivitas yang tinggi karena cenderung menarik elektron kemudian mengubahnya menjadi suatu molekul menjadi suatu radikal. Sifat kecenderungannya untuk menarik elektron merupakan sifat radikal bebas yang mirip dengan oksidan sehingga disebut juga penerima elektron. Waktu paruh radikal radikal bebas sangat singkat karena setelah terbentuk maka komponen tersebut akan segera bereaksi dengan molekul lain. Sedangkan reaktif oksigen spesies waktu paruhnya dipengaruhi oleh lingkungan fisiologisnya, seperti pH dan adanya spesies lain. Waktu paruh yang panjang dapat mengakibatkan toksisitas yang lebih besar karena mempunyai waktu yang cukup lama untuk berdifusi dan mencapai lokasi yang sensitif. Akan tetapi ROS yang sangat reaktif yang mempunyai waktu paruh yang pendek misalnya OH^\bullet akan menyebabkan kerusakan yang langsung pada tempat produksinya. Untuk mencegah interaksi antara radikal bebas dan target

biologisnya maka antioksidan harus dapat di lokasi produksi untuk mencegah radikal bebas akan berikatan dengan bahan biologis.

2. Antioksidan

Antioksidan berasal dari kata *anti* yang berarti melawan, dan *oksidan* berarti oksidasi dan berhubungan dengan oksigen. Secara kimia antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*elektron donor*). Oksigen diperlukan oleh sel – sel jaringan untuk menghasilkan energi dari glukosa (karbohidrat), asam lemak (lemak) atau asam amino (protein). Dalam tubuh energi sangat diperlukan untuk melangsungkan berbagai macam proses metabolisme, antara lain pertumbuhan, pemeliharaan jaringan tubuh, perlawanan terhadap mikroba patogen. Selain dihasilkan energi, dalam proses oksidasi tersebut diproduksi juga hasil sampingan berupa radikal oksigen (*reactive oxygen species = ROS*) dan radikal bebas lain (Sedjati dkk, 2017).



Gambar 6. Peran antioksidan melindungi kerusakan sel (Biri dkk,2006)

Antioksidan dibutuhkan tubuh dalam melindungi dari radikal bebas karena dengan kadar tertentu komponen kimianya dapat menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Aktivitas antioksidan yang digolongkan sebagai antioksidan sekunder sering diklasifikasikan sebagai preventif antioksidan, dimana bekerja melalui beberapa mekanisme untuk menghambat kecepatan reaksi oksidasi. Antioksidan primer mampu mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas seperti radikal lipid, serta menghasilkan turunan lipid dan radikal antioksidan yang lebih stabil dibandingkan dengan radikal lipid.

Pada dasarnya antioksidan mempunyai fungsi untuk menghentikan proses oksidasi dengan cara menetralkan radikal bebas yang terbentuk selama oksidasi. Radikal bebas yang terbentuk selama oksidasi berada dalam keadaan yang sangat tidak stabil sehingga memiliki kecenderungan melepaskan elektron atau menyerap elektron dari sel.

Di dalam tubuh tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah yang berlebih, sehingga jika terbentuk radikal yang banyak maka tubuh akan membutuhkan antioksidan eksogen. Karena adanya kekhawatiran dengan penggunaan antioksidan sintetik yang efek karsinogenik maka antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan.

a. Klasifikasi antioksidan

Secara umum antioksidan dibagi menjadi dua adalah :

- 1). Antioksidan enzimatis / primer / endogenus / *chain-breaking-antioxidant* yaitu enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase.
- 2). Antioksidan non – enzimatis terbagi menjadi dua yaitu :
 - a). Antioksidan yang larut dalam lemak misalnya tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, Vitamin E.
 - b). Antioksidan yang larut dalam air yaitu vitamin C, asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, protein pengikat heme

Antioksidan enzimatis adalah enzim yang memiliki aktivitas kerja untuk menangkal radikal bebas, akan tetapi agar dapat bekerja secara sempurna maka membutuhkan *mikronutrien kofaktor* seperti selenium, besi, tembaga, seng dan mangan. Ekstrak alga coklat *Sargassum* sp terdapat kandungan *mikronutrien kofaktor* yang dibutuhkan tersebut.

b. Mekanisme kerja antioksidan

Untuk pencegahan dampak negatif oksidan, mekanisme kerja antioksidan terbagi dalam dua kelompok yaitu :

- 1). Antioksidan pencegah (*preventive antioksidan*) : tujuan utama daripada antioksidan ini adalah mencegah terjadinya radikal hidroksi yang merupakan radikal paling berbahaya.

Pada pembentukan radikal hidroksil dibutuhkan tiga komponen yaitu logam transisi Fe atau Cu, H_2O_2 dan O_2^\bullet , untuk dapat bekerja lebih baik maka diperlukan beberapa protein penting yaitu untuk Fe adalah transferin atau ferritin, dan Cu adalah sruplasmin atau albumin.

- 2). Antioksidan pemutus rantai (*chain breaking antioksidan*) : pada golongan ini cara kerjanya dapat memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas asam lemak pada membran sel dengan mencegah peroksidasi lemak sehingga sel tidak mengalami kerusakan, yang termasuk pada kelompok ini adalah vitamin E, karoten, flavonoid, quinon yang bersifat lipofilik dan yang bersifat hidrofilik adalah vitamin C, glutathion dan sistein yang mempunyai peran dalam sitosol.

Peranan Reaktif Oksigen Spesies dan Antioksidan Pada Kehamilan Normal.

Pada proses ovulasi reaktif oksigen spesies merupakan promotor penting. Perkembangan proses meiosis I di induksi oleh adanya peningkatan ROS dan akan dihambat oleh antioksidan. Pembentukan ROS akan menghambat perkembangan meiosis II karena sel granulosa dan luteal berespon negatif sehingga dapat menyebabkan berkurangnya aktivitas gonadotropin dan steroidogenik, kerusakan DNA dan hambatan produksi ATP.

Oleh karena itu antioksidan seluler sangat berperan dalam maturasi oosit misalnya superoksida dismutase, terutama dalam maturasi sitoplasma yang diperlukan untuk perkembangan pra-implantasi.

Pada kehamilan ditemukan dua fenomena stress oksidatif fisiologis yaitu terjadi pada trimester pertama pada bagian perifer placenta. Usia kehamilan 8 hingga 9 minggu sirkulasi utero – plasenta diarea ini tidak pernah tertutup oleh tudung trofoblastik sehingga dengan terbatas aliran darah maternal memasuki plasenta. Oleh karena itu terjadi peningkatan konsentrasi oksigen lokal pada suatu tahap kehamilan sehingga trofoblast memiliki konsentrasi dan aktivitas antioksidan utama atau endogen seperti superoksida dismutase (SOD) yang rendah. Adanya kerusakan oksidatif trofoblastik utama dan degenerasi villi secara progresif akan memicu terbentuknya membran fetus yang menjadi langkah perkembangan penting untuk terjadi kelahiran per vaginam. Terjadinya peningkatan HCG dengan konsentrasi yang tinggi pada kasus trisomi 21, hal ini terbukti terjadinya stress oksidatif trofoblastik akibat ketidakseimbangan ekspresi dari enzim antioksidan endogen atau enzimatis. Superoksida dismutase (SOD) desidua memiliki peran penting dalam fungsi desidua dan mempertahankan kehamilan awal. Beberapa studi menunjukkan antioksidan

endogen (Cu,Zn-SOD) dalam desidua bermanfaat dalam mempertahankan kehamilan dan mencegah akumulasi lipid peroksidasi sampai sintesis prostaglandin F₂ yang mencegah uterus berkontraksi.

E. Hubungan Defisiensi Besi, Stres Oksidatif dan Antioksidan

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan adanya peningkatan stress oksidatif akan menurunkan pertahanan antioksidan pada subyek yang mengalami kekurangan zat besi. Adanya sel darah merah yang mengalami kekurangan zat besi akan meningkatkan sifat kerentanan terhadap peroksidase lipid dan aktivitas SOD, telah dilakukan penelitian oleh Kurtaglu E (2003) menemukan kadar MDA secara signifikan lebih tinggi pada penderita anemia dan mengalami penurunan yang signifikan setelah diberikan suplementasi besi selama 6 minggu. Begitupun juga dengan kadar SOD ditemukan lebih rendah pada penderita anemia dan meningkat dengan adanya suplementasi zat besi.

Enzim antioksidan yaitu superoksida dismutase memiliki aktifitas kerja untuk menangkal radikal bebas, namun agar dapat bekerja sempurna maka membutuhkan mikronutrien sebagai kofaktor yaitu seng, mangan, dan besi. Dan alga coklat *Sargassum sp* mengandung mikronutrien kofaktor yang dibutuhkan tersebut. Menurut Aslan M (2011), penderita yang kekurangan Fe memiliki stress

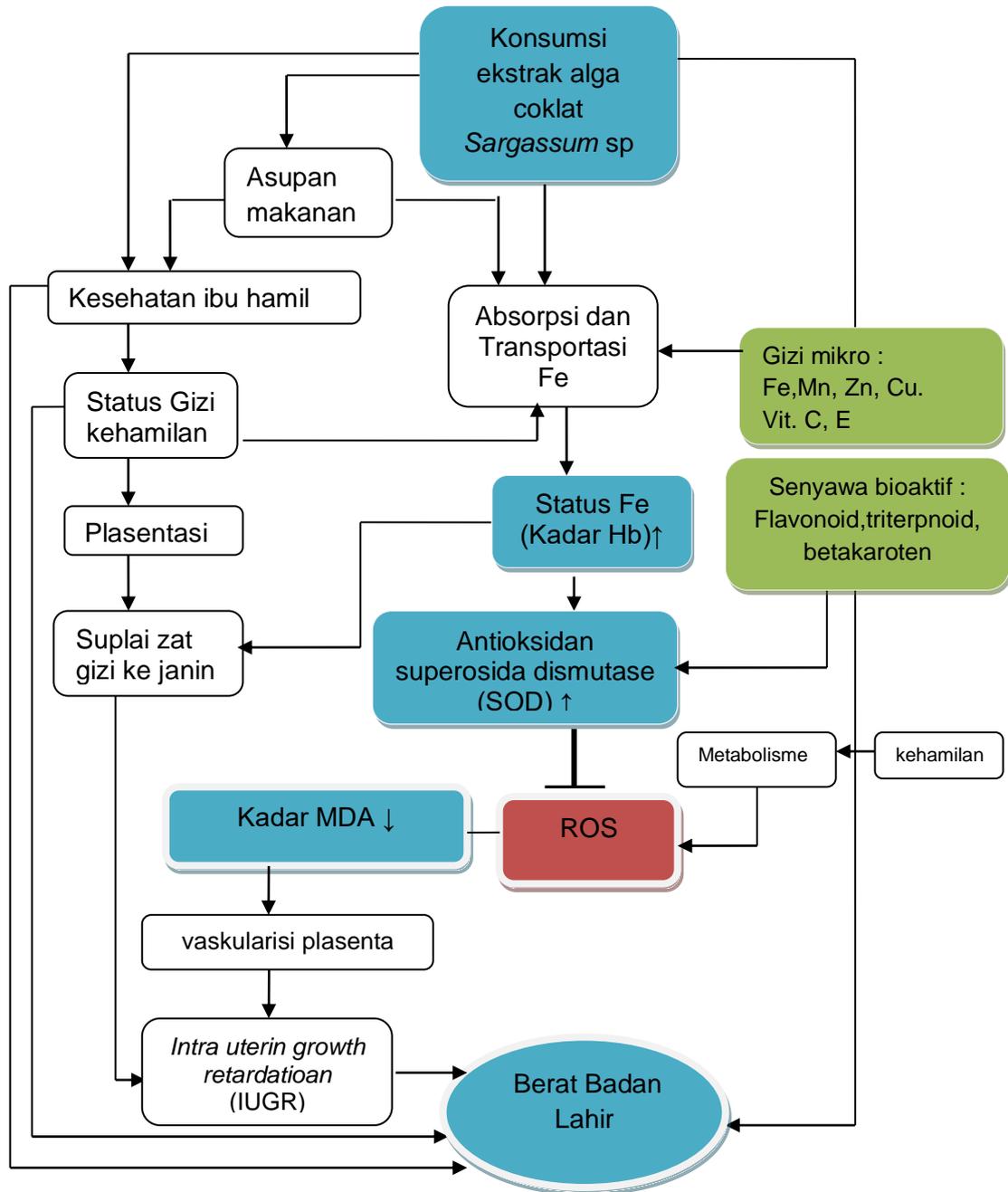
oksidatif yang meningkat sesuai dengan tingkat keparahan anemia, hal ini terjadi karena adanya penurunan antioksidan endogen dalam tubuh. Besi mempunyai peranan yang penting dalam berbagai proses seluler. Kekurangan zat besi akan merusak beberapa enzim yang terlibat langsung sebagai antioksidan misalnya superoksida dismutase (SOD).

Pada kehamilan dengan anemia terjadi peningkatan produk peroksidasi lipid pada plasma. Oleh karena itu produksi ROS meningkat dan pertahanan antioksidan akan menurun atau berkurang. Terjadi penurunan aktifitas SOD pada penderita anemia dihubungkan dengan peningkatan stress oksidatif, karena ROS terutama hydrogen peroksida (H_2O_2) akan menghambat aktivitas SOD. Kondisi kehamilan dengan adanya pertumbuhan pada janin sangat rentan terhadap stress oksidatif karena sering mengalami hiperoksida, peradangan / infeksi yang berkontribusi untuk terjadinya peningkatan radikal bebas..

Penelitian He.J *et al* (2016) terbukti bahwa ekstrak rumput laut mampu meningkatkan jumlah eritrosit dan meningkatkan ketahanan tubuh karena senyawa fucoidan yang terkandung didalamnya dapat merangsang produksi sel imun. Adanya stres oksidatif, radikal bebas akan menimbulkan terbentuknya peroksidasi lipid membran sel. Sedangkan membran sel sangat penting sebagai fungsi reseptor dan fungsi enzim, sehingga dengan adanya pembentukan peroksidasi lipid membran sel oleh radikal bebas dapat mengakibatkan hilangnya fungsi seluler secara total. Pembentukan peroksidasi lipid membran sel

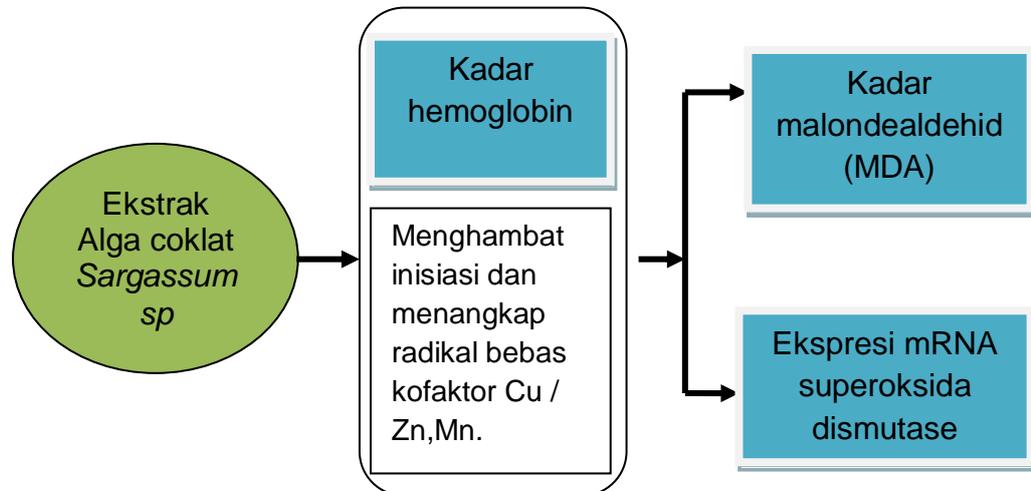
memudahkan sel eritrosit mengalami hemolisis, yaitu terjadinya lisis pada membran eritrosit yang mengakibatkan hemoglobin terbebas dan pada akhirnya menyebabkan kadar hemoglobin mengalami penurunan.

F. Kerangka Pikir



Gambar 7. Kerangka Pikir

G. Kerangka Konsep



Gambar. 8. Kerangka Konsep

Keterangan :

-  : Variabel independen
-  : Variabel dependent
-  : Variabel antara
-  : Variabel yang diteliti

H. Defenisi operasional

1. ekstrak alga coklat *Sargassum sp* : hasil dari ekstraksi alga coklat dengan menggunakan metode maserasi yang dilarutkan ethanol 96%, Dosis ekstrak alga coklat *Sargassum sp* yang digunakan yaitu 300 mg/kgBB/hari dan 600 mg/kgBB/hari yang diberikan sekali setiap hari.

2. Kadar hemoglobin : merupakan kandungan hemoglobin pada plasma darah yang diukur dengan menggunakan alat Hematologi Analyser yang dinyatakan dalam satuan gram / desiliter (gr/dl). Skala yang digunakan adalah skala rasio dengan kriteria objektif anemia : jika kadar Hb tikus putih strain wistar hamil < 12 gr%, dan normal jika ≥ 12 gr %
3. Malondealdehid (MDA) : konsentrasi hasil oksidasi lemak dalam serum yang diukur dengan menggunakan metode Eliza, kadar MDA diukur dengan metode sanwidch eliza pada panjang gelombang 450 nm
4. ekspresi mRNA gen superoksida dismutase (SOD) : diambil pada serum tikus strain wistar hamil dan diukur dengan metode RT-PCR dengan prosedur yang telah baku.

I. Hipotesis

1. Ekstrak alga coklat *Sargassum* sp dapat meningkatkan kadara hemoglobin pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil.
2. Ekstrak alga coklat *Sargassum* sp dapat menurunkan kadar malondealdehid (MDA) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil.
3. Ekstrak alga coklat *Sargassum* sp dapat meningkatkan ekspresi mRNA gen superoksida dismutase (SOD) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil.

4. Ada korelasi kadar hemoglobin dengan kadar malondealdehid (MDA) dan ekspresi mRNA gen superoksida dismutase (SOD) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hamil.
5. Ekstrak alga coklat *Sargassum* sp dapat mencegah terjadinya berat badan lahir kurang dari normal pada anak tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar.