

**PENGARUH PEMBERIAN  
MADU MULTIFLORA (*Mel depuratum*)  
TERHADAP SKOR GAMBARAN HISTOPATOLOGI  
DAN EKSPRESI *CYCLOOXYGENASE(Cox)-2* PADA  
LAMBUNG TIKUS YANG DIINDUKSI ASPIRIN**

*Effects of Multiflora Honey (mel depuratum) on Histopathology  
Feature score and Cyclooxygenase(Cox)-2 Expression  
on Aspirin-Induced Rat's Gaster*



**Tesis  
Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat Sarjana S-2**

**Magister Ilmu Biomedik**

**DYAH ARI NURAIDA  
22010110400020**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
2014**

Tesis

PENGARUH PEMBERIAN MADU MULTIFLORA (*Mel depuratum*)  
TERHADAP SKOR GAMBARAN HISTOPATOLOGI  
DAN EKSPRESI *CYCLOOXYGENASE (Cox) – 2*  
PADA LAMBUNG TIKUS YANG DIINDUKSI ASPIRIN

Disusun oleh:

Dyah Ari Nuraida

NIM. 22010110400020

Menyetujui,

Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. dr. Indra Wijaya, SpPA (K)  
NIP. 19460105 197301 1 001

dr. Siti Amarwati, SpPA (K)  
NIP. 19510806 197903 2 001

Mengetahui  
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes  
NIP. 19590527 198603 2 001

**LEMBAR MONITORING PERBAIKAN  
UJIAN TESIS**

Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan dengan sebenarnya bahwa saya telah menyetujui **Seminar Hasil Penelitian Tesis** yang diajukan pada tanggal 30 Desember 2013 atas:

Nama Mahasiswa : dr. Dyah Ari Nuraida  
NIM : 22010110400020  
Judul : Pengaruh Pemberian Madu Multiflora (Mel depuratum) terhadap Skor Gambaran Histopatologi dan Ekspresi Cyclooxygenase (Cox)-2 Lambung Tikus yang Diinduksi Aspirin.

NO	NAMA	PENGUJI	TANDA TANGAN	TANGGAL
1.	Prof. Dr. dr. Winarto, DMM,Sp.MK, Sp.M(K)	Ketua Penguji		
2.	Dr. dr. Indra Wijaya, Sp.PA(K)	Penguji Anggota/ Pembimbing I		
3.	dr. Siti Amarwati, Sp.PA(K)	Penguji Anggota/ Pembimbing II		
4.	Dr.dr. Selamat Budijitno, M.Si.Med, Sp.B, Sp.B(K)Onk.	Penguji Anggota		

## **PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong Plagiarsm sebagaimana yang dimaksud dalam Permendiknas no 17 tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Januari 2014

Dyah Ari Nuraida

## **RIWAYAT HIDUP**

### **A. Identitas**

Nama : dr. Dyah Ari Nuraida  
Tempat tanggal / lahir : Surabaya, 20 Januari 1979  
Jenis kelamin : Perempuan

### **B. Riwayat Pendidikan**

1. SD TPP Khadijah, Surabaya : Lulus tahun 1991
2. SMP Negeri 3, Surabaya : Lulus tahun 1994
3. SMU Negeri 9, Surabaya : Lulus tahun 1987
4. FK Universitas Diponegoro, Semarang : Lulus tahun 2005
5. PPDS I Ilmu Patologi Anatomi : Juli 2010 sampai sekarang
6. Magister Ilmu Biomedik FK Undip : Juli 2010 sampai sekarang

### **C. Riwayat Pekerjaan**

1. Dokter PTT di Puskesmas Slahung Ponorogo : Tahun 2005 – 2009
2. Dokter PNS di Puskesmas Wonokarto, Kec  
Ngadirojo, Pacitan : Tahun 2009 – 2010.
3. Dokter PNS di RSUD Pacitan : Tahun 2010 – sekarang

### **D. Riwayat Keluarga**

1. Nama orang tua  
Ayah : Syukron Soleh  
Ibu : Sumirah
2. Nama suami : Fajar Syamsu, S.Sos
3. Nama Anak : Dionne Zora Raissa

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT, atas ijin dan ridhaNya, penelitian tesis yang berjudul “Pengaruh madu multiflora terhadap gambaran histopatologi dan ekspresi *cyclooxygenase(Cox)-2* pada Lambung Tikus yang Diinduksi Apirin” ini dapat diselesaikan.

Kerusakan mukosa lambung baik berupa erosi,perdarahan, hingga ulkus lambung merupakan penyakit yang umum terjadi di masyarakat, terutama akibat pemakaian OAINS. Pengobatan alternatif sebagai gastroprotektor telah banyak dikembangkan, dimana madu salah satunya. Madu merupakan obat tradisional yang mudah didapatkan, terutama di Indonesia, namun penelitian madu Indonesia kurang banyak dilakukan. Penelitian ini menghadirkan madu asli Indonesia dalam perannya memperbaiki kerusakan mukosa lambung akibat OAINS, dimana dihubungkan dengan Cox-2 sebagai salah satu faktor terpenting pada pertahanan mukosa lambung. Hasil penelitian ini diharapkan dapat sebagai dasar penelitian selanjutnya untuk mengembangkan madu asli Indonesia sebagai obat alternatif maupun adjuvant pada penderita ulkus lambung.

Dengan selesainya proses penelitian dan penyusunan tesis ini, peneliti ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Allah SWT yang karena ijin dan ridhaNya tesis ini dapat terselesaikan.
2. Orang tua saya: H. Syukron Soleh (ayah), Hj Sumirah (ibu), Drs. Syampar (ayah mertua), dan Nanik Muryani (ibu mertua) atas kasih sayang dan dukungannya.
3. Suami tercinta : Fajar Syamsu, S.Sos beserta anakku tersayang Dionne Zora Raissa, atas dukungan, cinta dan pengorbanannya yang sangat luar biasa.
4. Rektor Universitas Diponegoro dan Dekan Fak. Kedokteran Univ. Diponegoro.
5. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes.

6. Direktur RSUD Kab. Pacitan, dr. Iman Darmawan, MKes, beserta jajaran direksi dan dokter, yang telah memberikan kesempatan untuk melanjutkan pendidikan paska sarjana dan PPDS I Patologi Anatomi.
7. Dr.dr. Indra Wijaya, SpPA(K) sebagai penguji dan pembimbing pertama, atas bimbingannya.
8. dr. Awal Prasetyo, MKes,SpTHT-KL sebagai pembimbing kedua pertama.
9. dr. Siti Amarwati SpPA(K) sebagai ketua program studi PPDS I Ilmu Patologi Anatomi, pembimbing kedua lanjutan,dan penguji anggota atas bimbingan, kasih sayang dan dukungannya.
10. Prof. Dr. dr. Winarto, DMM,SpM, SpMK dan Dr. dr. Selamat Budijitno, M.Si.Med, SpB, K(Onk), sebagai Ketua Penguji dan Penguji Anggota, atas masukan dan bimbingannya.
11. Para guru besar Patologi Anatomi Prof.dr.Tirtosugondo, SpPA(K); Prof.dr. Soebowo, SpPA(K); Prof.Dr.dr.Sarjadi, SpPA(K); dan Prof.Dr.dr. Tjahjono, SpPA(K), FIAC (alm).
12. Para guru di bagian Patologi Anatomi FK Undip Dr.dr. Rofiq Anwar, SpPA(K); dr.Kasno, SpPA(K); dr.Noor Yazid AD, SpPA(K); dr. Bambang Endro Putranto, SpPA(K); dr. Ika Pawitra Miranti, M.Kes, SpPA, dr. Udadi Sadhana, M.Kes, SpPA dr. Dik Puspasari, SpPA, dr. Hermawan Istiadi, Msi.Med, dr. Andika Eka Herlina Msi.Med, SpPA, dr. Devia Eka Listiana, MSi.Med, SpPA;
13. dr. Vega Karlowee, Msi.Med, SpPA dan dr. Meira Dewi KA, Msi.Med, SpPA sebagai guru dan pembaca penelitian.
14. Bu Agustin selaku analis pengecatan IHK dan HE Laboratorium Patologi Anatomi RSUP dr. Sardjito Yogyakarta.
15. Dr.drh. Pudji Astuti, M.P. beserta staf dan karyawan di LPPT Unit IV Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
16. Staf dan karyawan LPPT Unit II Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
17. Pak Subardi, Bu Yuliati, Bu Henny, Bu Didit, Bu Titik, Bu Naning, Mbak Dea, Mbak Nina, Pak Sis, Pak Benny, Pak Dwi, Mbak Diah dan Mas

Muryanto selaku analis dan karyawan laboratorium PA FK Undip – RS Dr Kariadi

18. Bu Hartini, Pak Dul, Bu Nata, Bu Vika di bagian Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik Undip.
19. Alumni PPDS I Patologi Anatomi FK Undip dr.Dody Novrial, MSi.Med, SpPA; dr. Hidayat Sulisty, MSi.Med, SpPA; dr. Mudjahid, MSi.Med, SpPA; dr. Sumarno, MSi.Med, SpPA, dr. Nani Widjaja, MSi.Med, SpPA, dr. Susilorini, MSi.Med, SpPA
20. Sahabat dan teman terbaikku: dr. Eny Dyah K, dr. Kenty Wantri A, Mkes, SpPA, dan dr. Nadia Nur Lestari, atas dukungan yang sangat luar biasa selama menempuh studi.
21. Teman – temanku tersayang dr. Kaspul Anwar SpPA, dr.Junedi Sitorus Si.Med,SpPA, dr. dr.LSI Liza Suryani D, dr. Syeben Hezer EH, dr. Lina Damayanti M.Si.Med, dr.Yovi Nitawardani, dr.Patricia Diana, M.Si.Med, dr. Sigit Wijanarko, dr.Marliana , dr.Yuni Prasetyo MM(Kes), dr. Edy P, dr. Raudatul Janah dan dr. Faiza Risky.
22. Bu Nanik Sulistyorini, S.Kom, kesekretariatan bagian PA FK Undip.

Penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu saran dan kritik untuk kesempurnaan penyusunan penelitian ini sangat peneliti harapkan. Peneliti mohon maaf bila terdapat kekurangan dalam pelaksanaan dan penyusunan tesis ini berlangsung.

Semarang, Januari 2014

Dyah Ari Nuraida



## DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman judul	i
Lembaran persetujuan	ii
Lembar monitoring perbaikan seminar hasil.	iii
Pernyataan Plagiarsm	iv
Daftar Riwayat Hidup	v
Kata Pengantar	vi
Daftar isi	vii
Daftar tabel	xiii
Daftar gambar	xiv
Daftar lampiran	xv
Daftar singkatan	xvi
Abstrak	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan masalah	4
1.3 Tujuan penelitian	4
1.4 Manfaat penelitian	5
1.5 Keaslian penelitian	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	<b>8</b>
2.1 Enzim Cyzlooxygenase (Cox)	8
2.1.1.Peranan Cyzlooxygenase (Cox) pada pertahanan mukosa	9

lambung	
2.2 Kerusakan mukosa lambung	11
2.3 Regenerasi Kerusakan mukosa Lambung	12
2.3.1 Angiogenesis	14
2.3.2 Peran Cyclooxygenase (Cox) pada penyembuhan ulkus	15
lambung	
2.4 Madu	16
2.4.1 Quercetin	19
2.5 Induksi Aspirin	20
<b>BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN</b>	<b>22</b>
<b>HIPOTESIS.</b>	
3.1 Kerangka teori	22
3.2 Kerangka konsep	22
3.3 Hipotesis	23
<b>BAB IV METODE PENELITIAN</b>	<b>24</b>
4.1 Ruang lingkup penelitian	24
4.2 Rancangan penelitian	24
4.3. Waktu dan tempat penelitian	25
4.4 Populasi dan sampel	25
4.4.1 Populasi penelitian	25
4.4.2 Sampel penelitian	26
4.4.2.1 Cara pengambilan sampel	26
4.4.2.2 Besar sampel	26

4.5 Variabel penelitian	27
4.5.1 Variabel bebas	27
4.5.2 Variabel tergantung	27
4.6 Definisi operasional	27
4.6.1 Madu multiflora	27
4.6.2 Skor gambaran histopatologi	27
4.6.3 Ekspresi Cox-2	28
4.7 Bahan, alat, dan cara kerja	28
4.7.1 Bahan-bahan penelitian	28
4.7.2 Alat penelitian	28
4.7.3 Cara kerja	29
4.7.3.1 Masa adaptasi hewan coba	29
4.7.3.2 Induksi Aspirin	29
4.7.3.3 Perlakuan	29
4.7.3.4 Terminasi dan pemrosesan jaringan	30
4.7.3.5 Pembacaan skor gambaran histopatologi	30
4.7.3.6 Pembacaan ekspresi Cox-2	31
4.8 Jenis, waktu dan tempat pengumpulan data	32
4.8.1 Jenis data	32
4.8.2 Waktu dan tempat pengumpulan data	32
4.9 Alur penelitian	33
4.10 Pengolahan dan analisis data	34
4.11 Ethical clearence	34

4.12. Conflict of interest	35
<b>BAB V. HASIL PENELITIAN</b>	<b>36</b>
5.1 Hasil analisis skor gambaran histopatologi	36
5.2 Hasil analisa ekspresi Cox-2	39
5.3 Hubungan antara skor gambaran histopatologi dan ekspresi Cox-2	42
<b>BAB VI. PEMBAHASAN</b>	<b>43</b>
6.1 Pengaruh pemberian madu multiflora terhadap skor gambaran histopatologi lambung	43
6.2 Pengaruh pemberian madu multiflora terhadap ekspresi Cox-2	45
6.3 Hubungan skor gambaran histopatologi dengan ekspresi Cox-2	47
<b>BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN</b>	<b>48</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>49</b>
<b>LAMPIRAN</b>	<b>54</b>

## **DAFTAR TABEL**

	Halaman	
Tabel 1	Penelitian-penelitian madu dan Cox-2 sebelumnya	6
Tabel 2	Skor gambaran histopatologi	31
Tabel 3	Hasil analisis skor gambaran histopatologi lambung	37
Tabel 4	Hasil analisis ekspresi Cox-2	39
Tabel 5	Uji korelasi Spearman	42

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Skema sintesis prostaglandin dari Asam Arakidonat	8
Gambar 2 Rumus kimia Quercetin	18
Gambar 3 Skema penelitian	24
Gambar 4 Alur penelitian	33
Gambar 5 Grafik Box-plot skor gambaran histopatologi.	37
Gambar 6 Skor Gambaran histopatologi lambung	38
Gambar 7 Grafik box-plot ekspresi Cox-2 lambung	40
Gambar 8 Ekspresi Cox-2 lambung	41

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Ethical clearence	54
Lampiran 2	Komposisi madu	55
Lampiran 3	Foto sediaan madu	56
Lampiran 4	Penatalaksanaan jaringan untuk sediaan histopatologi	57
Lampiran 5	Metode pengecatan rutin jaringan dengan Hematoxilyn-Eosin (HE)	59
Lampiran 6	Protokol pengecatan imunohistokimia antibodi Cox-2	60
Lampiran 7	Tabel konversi perhitungan dosis untuk bebrbagai jenis hewan dan manusia (laurence dan Bacharah 1964)	62
Lampiran 8	Tabel volume maksimum larutan obat yang dapat diberikan pada berbagai hewan (Ritschel, 1974)	63
Lampiran 9	Perhitungan dosis Aspirin dan madu .	64
Lampiran 10	Hasil Uji Kappa Skor Gambaran Histopatologi	65
Lampiran 11	Hasil Uji Kappa Ekspresi Cox-2	66
Lampiran 12	Data deskriptif skor gambaran hitopatologi lambung	67
Lampiran 13	Data deskriptif ekspresi cox-2	69
Lampiran 14	Uji Beda	71
Lampiran 15	Uji Korelasi Spearman	73
Lampiran 16	Data hasil penelitian	74

## DAFTAR SINGKATAN

AA	: Asam Arakidonat
ATP	: <i>Adenosin TriPhosphat</i>
ATL	: aspirin-triggered lipoxin
bFGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
CGRP	: <i>Calcitonin gen-related peptide</i>
Cox	: <i>Cyclooxygenase</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
ECM	: <i>extra cellular matrix</i>
HIF-1	: <i>Hipoxia Induced Factor-1</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: <i>Hydrogen peroxide</i>
H <sub>2</sub> S	: <i>Hydrogen Sulphyd</i>
HE	: <i>Haematoxylin-Eosin</i>
15R-HETE	: <i>15(R)-hydroxy-5Z,8Z,11Z,13E-eicosatetraenoic acid</i>
NPSH	: <i>Non Protein Sulph Hidryl</i>
NO	: <i>Nitric oxide</i>
IL	: <i>Interleuikin</i>
MMP	: <i>Matrix MetalloProtein</i>
OAINS	: <i>Obat Anti Inflamasi Non Steroid</i>
PGE	: <i>prostaglandin Endogen</i>
PGI	: <i>Prostacyclin</i>
PDGF	: <i>Platelet Derivat Growth Factor</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Spesies</i>
ser 516	: <i>Serine 516</i>
ser 530	: <i>Serine 530</i>
TXA	: <i>Tromboxans</i>
TGF - $\alpha$	: <i>Transformed Growth Factor alpha</i>
TNF $\alpha$	: <i>Tumor Necrotize Factor alpha</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>



## ABSTRAK

**Latar belakang:** Insidensi ulkus lambung masih tinggi di dunia akibat pemakaian OAINS dan infeksi helicobacter pylori. Madu multiflora mempunyai kandungan *quercetin* yang dapat memperbaiki kerusakan mukosa lambung. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa adanya efek madu multiflora dosis 1 gr/kgBB/hari terhadap skor gambaran histopatologi dan ekspresi Cox-2 lambung tikus wistar yang diinduksi Aspirin .

**Metode:** Penelitian eksperimental dengan desain *post test parallel control group*. Empat kelompok tikus wistar diinduksi Aspirin selama 7 hari. Kelompok X1: diberi madu 3 hari, kelompok X2 : tanpa diberi madu (3 hari), di hari ke-4 kelompok X1 dan X2 diterminasi, kelompok X3: diberi madu (7 hari), kelompok X4: tanpa diberi madu (7hari), di hari ke 8 kelompok X3 dan X4diterminasi. Penilaian skor gambaran histopatologi dan ekspresi Cox-2 secara mikroskopik dalam 5 lapangan pandang pada pembesaran 400x. Dilakukan uji beda *Kruskal Willis, Mann Whitney U* dan uji hubungan dengan menggunakan uji Spearman, dengan tingkat kemaknaan  $p \leq 0,05$ .

**Hasil:** Skor gambaran histopatologi kelompok X1 dan X3 lebih rendah dari kelompok X2 dan X4 ( $p=0,000$ ). Ekspresi Cox-2 kelompok X1 dan X3 lebih tinggi dari kelompok X2 dan X4 ( $p=0,000$ ). Terdapat hubungan bermakna ( $p=0,000$ ), dengan koefien korelasi negatif ( $r = -0.469$ ) antara skor gambaran histopatologi lambung dengan ekspresi Cox-2.

**Simpulan:** Madu multiflora dosis 1gr/kgBB/hari dapat menurunkan skor gambaran histopatologi dan meningkatkan ekspresi Cox-2 pada lambung tikus yang diinduksi Aspirin.

**Kata kunci:** madu multiflora, skor gambaran histopatologi, ekspresi Cox-2.

## ABSTRACT

**Background:** Incidence of gastric ulcer stills higher in the world , that caused by NSAIDS and Helicobacter pylori infection. Multiflora honey consist Quercetins, can induce gastric ulcer healing. The aim of research to analyze effect of 1 gr/kgBW/day of multiflora honey on the histopathology feature score and Cox-2 expression on Aspirin-induced rats' gaster.

**Methods:** It was an experimental research with post test parallel control group. Four groups of male wistar rats were induced by Aspirin for 7 days. Group X1: received honey for 3 days, group X2: did not received honey for 3 days, at day 4, group X1 and X2 were terminated, group X3: received honey for 7 hari, group X4: did not received honey for 7 days, on day 8, groups X3 and X4 were terminated. The histopathology feature score and Cox-2 expression were examined in 5 high power fields. All data were analysed by Kruskal Willis, Mann-Whitney U, and Spearman test, with level of significant  $\leq 0.05$ .

**Results:** The histopathology feature score of X1 and X3 lower than the score of X2 and X4 ( $p=0,000$ ). While the Cox-2 expression of X1 and X3 higher than X2 and X4 ( $p=0,000$ ). There were significantly correlate between histopatological feature score and the Cox-2 expression ( $p=0,000$ ), which negative coefisient of correlation ( $r=-0,469$ ).

**Conclusion:** Multiflora honey with dose 1gr/kgBW/day can reduced the histopatological feature score and increased Cox-2 expression on Aspirin-induced rats' gaster.

**Key words:** multiflora honey, histopathology feature score, Cox-2 expression.