

**PENGARUH MADU MULTIFLORA TERHADAP
EKSPRESI *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH
FACTOR* DAN KEPADATAN KAPILER PADA
LAMBUNG TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI
ASPIRIN**

*The Effect of Multiflora Honey on The Expression of Vascular
Endothelial Growth Factor and Capillary Densities on Aspirin
Induced Gaster of Wistar Rat*



Tesis
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-2

Magister Ilmu Biomedik

Eny Dyah Kurniawati
22010110400053

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2014

TESIS

PENGARUH MADU MULTIFLORA TERHADAP EKSPRESI *VASCULAR
ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR* DAN KEPADATAN
KAPILER PADA LAMBUNG TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI ASPIRIN

Disusun oleh :

ENY DYAH KURNIAWATI
22010110400053

telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 5 Februari 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

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

dr. Siti Amarwati, SpPA (K)
NIP: 19510806197903 2 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Prof. Dr.dr. Tri Nur Kristina, DMM, MKes
NIP: 19590527 198603 2 001

LEMBAR MONITORING PERBAIKAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan dengan sebenarnya bahwa saya telah menyetujui **Perbaikan Tesis** yang diajukan pada tanggal 5 Februari 2014 atas:

Nama Mahasiswa : dr. Eny Dyah Kurniawati
NIM : 22010110400053
Judul : Pengaruh Madu Multiflora terhadap Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* dan Kepadatan Kapiler pada Lambung Tikus Wistar yang Diinduksi Aspirin

| N0 | 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 bertandatangan di bawah ini menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya 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 Plagiarism sebagaimana yang dimaksud dalam Permendiknas No 17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan didalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 14 Februari 2014

Eny Dyah Kurniawati

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Eny Dyah Kurniawati
Tempat tanggal / lahir : Bojonegoro, 24 Pebruari 1976
Jenis kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Karangpacar, Bojonegoro : Lulus tahun 1988
2. SMPN 1 Bojonegoro : Lulus tahun 1991
3. SMAN 1 Bojonegoro : Lulus tahun 1994
4. FK Universitas Brawijaya, Malang : Lulus tahun 2001
5. Magister Ilmu Biomedik FK Undip : 2011 sampai sekarang

C. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter PTT di Puskesmas Mlonggo I Jepara tahun 2002 - 2005
2. Dokter PNS di Puskesmas Bangsri I Jepara tahun 2005 – 2010

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua

Ayah : Drs. H. Paidjan Hadi Sutjipto (Alm)

Ibu : Hj. Siti Hadijah

2. Nama Suami : H. Abdus Syakur, ST, MM

3. Nama Anak I : Muhammad Hadi Kurnia

II: Atikah Syahida Kurnia

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT, atas ijin dan ridhaNya, penelitian tesis yang berjudul “Pengaruh Madu Multiflora Terhadap Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* dan Kepadatan Kapiler pada Lambung Tikus Wistar yang Diinduksi Apirin” ini dapat diselesaikan.

Madu telah lama digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat di berbagai belahan dunia, baik sebagai obat tukak lambung, diare, nutrisi dan obat luar. Dari beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa madu mampu melindungi mukosa lambung dari berbagai penyebab tukak lambung ditinjau dari gambaran histopatologi dan derajat tukak lambung, yang kemudian ditinjau lebih lanjut pengaruhnya terhadap ekspresi VEGF dan kepadatan kapiler lambung. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu penelitian selanjutnya untuk mengembangkan madu baik sebagai obat alternatif maupun pelengkap dalam terapi standard, khususnya tukak 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 diselesaikan.
2. Orang tua saya: Drs. H. Paidjan Hadi Sutjipto (Alm) (ayah) , Hj Siti Hadijah (ibu), Hj. Faizah (ibu mertua).
3. Suami tercinta : H. Abdus Syakur, ST, MM beserta anak-anakku tersayang Muhammad Hadi Kurnia dan Atikah Syahida Kurnia.
4. Seluruh keluarga besar H. Zabidi di Jepara.
5. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang, Prof. Dr. Dr. Tri Nur SpMK.
6. Rektor Universitas Diponegoro dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
7. Dr.dr. Indra Wijaya, SpPA(K) sebagai pembimbing utama.

8. dr. Awal Prasetyo, Mkes, SpTHT-KL sebagai pembimbing kedua pertama.
9. dr. Siti Amarwati SpPA(K) sebagai pembimbing kedua lanjutan.
10. Prof.Dr.dr.Winarso, DMM, Sp.MK, Sp.M(K) dan Dr.dr.Selamat Budijitno, M.Si.Med, Sp.B,Sp.B(K)Onk sebagai penguji.
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, Mkes, SpPA dr. Dik Puspasari, SpPA, dr. Hermawan Istiadi, Msi.Med.
13. dr. Vega Karlowee, Msi.Med, SpPA dan dr. Meira Dewi KA, Msi.Med, SpPA sebagai 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, 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. Teman seperjuangan, dr.Kenty Wantri Anita Mkes,SpPA dan dr.Syeben Hezer Epatih H.
20. Alumni PPDS I Patologi Anatomi FK Undip dr.Dody Novrial, Msi.Med, SpPA; dr. Hidayat Sulistyono, Msi.Med, SpPA; dr. Mudjahid, Msi.Med, SpPA; dr. Sumarno, Msi.Med, SpPA, dr. Nani Widjaja, Msi.Med, SpPA, dr. Andika

Eka Herlina, Msi.Med, SpPA, dr. Devia Eka Listiana, Msi.Med, SpPA; dr. Susilorini, Msi.Med, SpPA, dr. Kaspul Anwar SpPA, dr.Junedi Sitorus, Msi.Med, SpPA.

21. Teman – temanku tersayang, dr. Dyah Ari Nuraida, dr.LSI Liza Suryani D, dr.Lina Damayanti,Msi.Med, dr.Yovi Nitawardani, dr.Patricia Diana,Msi.Med Msi.Med; dr.Sigit Wijanarko,dr.Nadia Nurlestari,dr.Marliana ,dr.Yuni Prasetyo MM(Kes), dr. Edy, dr. Raudatul Janah dan dr. Faiza Risky
22. Bu Nanik Sulistyorini, S.Kom, kesekretariatan bagian PA FK Undip.
23. Kepala Puskesmas Bangsri I Jepara beserta seluruh staf, khususnya dr.Dhesi Arimbi, pak Eko TU dan bu Wiwik yang masih selalu saya repotkan setiap bulannya.

Peneliti menyadari adanya kekurangan dalam penelitian dan penyusunan tesis ini, oleh karena itu segala saran yang diberikan untuk penyempurnaan penelitian ini akan sangat diharapkan dan disampaikan terimakasih. Peneliti juga menyampaikan permohonan maaf kepada semua pihak yang kurang berkenan terhadap peneliti selama kegiatan penelitian dan penyusunan tesis ini berlangsung

Semarang, Februari 2014

Eny Dyah Kurniawati

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|-----------|
| Kata Pengantar | vi |
| Daftar tabel | xii |
| Daftar gambar | xiii |
| Daftar lampiran | xiv |
| Daftar singkatan | xv |
| Abstrak | xvii |
| BAB I Pendahuluan | 1 |
| I.1 Latar Belakang | 1 |
| I.2 Rumusan Masalah | 4 |
| I.3 Tujuan Penelitian | 5 |
| I.4 Manfaat Penelitian | 5 |
| I.5 Keaslian Penelitian | 6 |
| BAB II Tinjauan Pustaka | 8 |
| 2.1 Gangguan Lambung Akibat Aspirin | 8 |
| 2.2 <i>Cyclooxygenase 2 (COX 2)</i> | 9 |
| 2.3 Prostaglandin (PG) | 10 |
| 2.4 <i>Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)</i> | 10 |
| 2.5 Angiogenesis dan kepadatan kapiler | 11 |
| 2.6 Induksi aspirin | 13 |

| | | |
|---------|--|----|
| 2.7 | Madu | 14 |
| 2.8 | Mekanisme Madu dalam Memproteksi Lambung dari OAINS | 16 |
| 2.9 | Quercetin | 17 |
| BAB III | Kerangka Teori, Kerangka Konsep dan Hipotesis | 18 |
| 3.1 | Kerangka Teori | 18 |
| 3.2 | Kerangka Konsep | 19 |
| 3.3 | Hipotesis | 19 |
| BAB IV | Metode Penelitian | 20 |
| 4.1 | Rancangan Penelitian | 20 |
| 4.2 | Waktu dan Tempat Penelitian | 21 |
| 4.3 | Populasi dan Sampel Penelitian..... | 21 |
| 4.4 | Variabel Penelitian | 22 |
| 4.5 | Bahan, Alat dan Cara Kerja | 22 |
| 4.6 | Definisi Operasional | 26 |
| 4.7 | Jenis Data, Pengumpulan Data dan Analisa Data | 28 |
| 4.8 | <i>Ethical Clearance</i> | 29 |
| 4.9 | <i>Conflict of Interest</i> | 29 |
| BAB V | Hasil Penelitian | 30 |
| 5.1 | Analisa Hasil Pengukuran Ekspresi VEGF | 30 |
| 5.2 | Analisa Kepadatan Kapiler | 32 |
| 5.3 | Korelasi antara ekspresi VEGF dan kepadatan kapiler lambung tikus Wistar yang diinduksi aspirin 90 mg | 34 |

| | | |
|----------------|--|----|
| BAB VI | Pembahasan | 35 |
| 6.1 | Pengaruh Pemberian Aspirin terhadap Ekspresi VEGF dan Kepadatan Kapiler Lambung..... | 35 |
| 6.2 | Pengaruh Pemberian Madu Multiflora terhadap Ekspresi VEGF Lambung | 36 |
| 6.3 | Pengaruh Pemberian Madu Multiflora terhadap Kepadatan Kapiler Lambung | 37 |
| 6.4 | Korelasi ekspresi VEGF dengan kepadatan kapiler..... | 38 |
| BAB VII | Kesimpulan dan Saran | 40 |
| Daftar Pustaka | | 41 |
| Lampiran | | |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---------|---|
| Tabel 1 | Penelitian sebelumnya tentang madu dan gangguan lambung 6 |
| Tabel 2 | Penelitian sebelumnya tentang VEGF dan kepadatan kapiler..... 7 |
| Tabel 3 | Skor intensitas warna..... 27 |
| Tabel 4 | Skor luas sel yang terwarna 27 |
| Tabel 5 | Nilai Rerata, minimum, maksimum, median dan modus ekspresi VEGF 30 |
| Tabel 6 | Nilai rerata, minimum dan maksimum jumlah kepadatan kapiler 32 |
| Tabel 7 | Uji korelasi Spearman 34 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| Gambar 1 Rumus Kimia <i>Quercetin</i> | 17 |
| Gambar 2 Skema Kerangka Teori..... | 18 |
| Gambar 3 Skema Kerangka Konsep..... | 19 |
| Gambar 4 Rancangan Penelitian..... | 20 |
| Gambar 5 Alur Kerja | 25 |
| Gambar 6 Blospot ekspresi VEGF..... | 30 |
| Gambar 7 Perbandingan foto ekspresi VEGF | 31 |
| Gambar 8 Blokspot kepadatan kapiler..... | 32 |
| Gambar 9 Perbandingan foto kepadatan kapiler antar kelompok | 33 |

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Foto madu Multiflora Pramuka
- Lampiran 2 Komposisi madu Multiflora Pramuka
- Lampiran 3 Penatalaksanaan Jaringan untuk Sediaan Histopatologi
- Lampiran 4 Metode Pengecatan Rutin Hematoksilin Eosin
- Lampiran 5 Protokol Pengecatan Imunohistokimia VEGF
- Lampiran 6 Tabel Konversi dosis antar spesies dan volume maksimum sediaan uji
- Lampiran 7 Ethical Clearance
- Lampiran 8 Hasil Uji Kappa Pemeriksaan Mikroskopis Ekspresi VEGF
- Lampiran 9 Hasil Uji Kappa Pemeriksaan Mikroskopis Kepadatan Kapiler
- Lampiran 10 Analisa deskriptiv ekspresi VEGF
- Lampiran 11 Analisa deskriptiv kepadatan kapiler
- Lampiran 12 Uji beda ekspresi VEGF antar kelompok penelitian
- Lampiran 13 Uji beda kepadatan kapiler antar kelompok
- Lampiran 15 Uji Korelasi Spearman
- Lampiran 16 Data pengukuran ekspresi VEGF
- Lampiran 17 Data Pengukuran Kepadatan Kapiler

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|-------------------------------|--|
| Ang-1 | : <i>Angiopoietin-1</i> |
| Ang-2 | : <i>Angiopoietin-2</i> |
| ANOVA | : <i>Analysis of variance</i> |
| ATL | : <i>aspirin-triggered lipoxin</i> |
| ATP | : <i>Adenosine-5'-triphosphate</i> |
| bFGF | : <i>basic Fibroblast Growth Factor</i> |
| cAMP | : <i>cyclic Adenosine Monophosphate</i> |
| COX | : <i>Cyclooxygenase</i> |
| Dll4 | : <i>Delta-like ligand 4</i> |
| EGF | : <i>Epithelial Growth Factor</i> |
| FGF | : <i>Fibroblast Growth Factor</i> |
| H ₂ O ₂ | : <i>Hydrogen peroxide</i> |
| HE | : <i>Haematoxylin-Eosin</i> |
| HIF | : <i>Hypoxia Induced Factor</i> |
| IL-8 | : <i>Interleukin-8</i> |
| MMP | : <i>Matrix Metallo Proteinase</i> |
| NO | : <i>Nitric oxide</i> |
| NP-SH | : <i>Non-Protein Sulfhydryl</i> |
| OAINS | : <i>Obat Anti Inflamasi Non Steroid</i> |
| <i>p</i> | : <i>Probability</i> |

| | |
|--------------|--|
| PDGF | : <i>Platelete Derived Growth Factor</i> |
| PG | : Prostaglandin |
| PGE2 | : Prostaglandin E2 |
| PIGF | : <i>Phosphatidylinositol-glycan F</i> |
| Q-Q Plot | : <i>Quantile-quantile plots</i> (istilah dalam statistik) |
| QE | : <i>Quercetin Equivalent</i> |
| 15R-HETE | : <i>15(R)-hydroxy-5Z,8Z,11Z,13E-eicosatetraenoic acid</i> |
| ROS | : <i>Reactive Oxygen Species</i> |
| RSU | : Rumah Sakit Umum |
| ser 530 | : <i>Serine 530</i> |
| ser 516 | : <i>Serine 516</i> |
| TNF α | : <i>Tumor Necrosis Factor α</i> |
| TGF α | : <i>Transforming growth factor alpha</i> |
| TGF β | : <i>Transforming growth factor beta</i> |
| UPHP | : Unit Pengembangan Hewan Percobaan |
| USDA | : <i>United States Department of Agriculture</i> |
| VEGF | : <i>Vascular endothelial growth factor</i> |

ABSTRAK

Latar belakang. Madu telah lama digunakan sebagai obat tradisional disebabkan aktivitas antioksidan yang berasal dari berbagai flavonoid yang dikandungnya, misalnya *quercetin*, yang menghambat *HIF prolyl hydroxylase*, meningkatkan ekspresi VEGF dan kepadatan kapiler pada jaringan yang meradang, sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh madu terhadap ekspresi VEGF dan kepadatan kapiler pada lambung tikus Wistar yang diinduksi aspirin.

Metode penelitian. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *Post-test parallel control group*. Sampel penelitian 24 ekor tikus Wistar yang diinduksi aspirin 90 mg selama 7 hari terdiri dari 2 kelompok nonperlakuan dan 2 kelompok diberi madu selama 3 dan 7 hari. Data ekspresi VEGF dan kepadatan kapiler dianalisa dengan uji *Kruskal Wallis*, dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U*.

Hasil. Madu dapat meningkatkan ekspresi VEGF dan kepadatan kapiler pada lambung tikus Wistar yang diinduksi aspirin 90 mg selama 7 hari dibandingkan kelompok nonperlakuan secara bermakna ($p=0,000$).

Kesimpulan. Madu meningkatkan ekspresi VEGF dan kepadatan kapiler lambung tikus Wistar yang diinduksi aspirin.

Kata Kunci. ekspresi VEGF, kepadatan kapiler, madu

ABSTRACT

Background. Honey has long been used as traditional medicine due to the antioxidant activity derived from various flavonoids it contain , such as quercetin , which inhibits HIF prolyl hydroxylase , increased expression of VEGF and the capillary density in the inflammed tissue , thereby accelerating wound healing . This study aimed to analyze the effect of honey on the expression of VEGF and the capillary density on aspirin induced gaster of Wistar rats.

Method. It was a laboratory experimental study with post-test parallel control group design. Twenty four Wistar rats were induced aspirin 90 mg for 7 days divided into 2 groups were non-treatment, while 2 other groups given honey for 3 and 7 days. The data of VEGF expression and the capillary density was analyzed with the Kruskal-Wallis test followed by Mann – Whitney U test.

Result. Honey increased VEGF expression and thr capillary density on gaster of Wistar rats induced by aspirin 90 mg for 7 days compared to the groups significantly ($p = 0.000$) .

Conclusion. Honey increased VEGF expression and the capillary density on aspirin induced gaster of Wistar rats.

Keyword. VEGF expression , capillary density , honey