

**Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam
untuk Menurunkan Ekspresi TGF- β Podosit Glomerulus
Tikus *Sprague dawley* Diabetes Melitus**

**Aethanol Extracts *Syzygium polyanthum* Folium
Decrease Glomerular Podocyte TGF- β Expression
of *Sprague dawley* Rats with DM**



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

**Wiwi Rumaolat
22010112410042**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2014**

TESIS**Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam
untuk Menurunkan Ekspresi TGF- β Podosit Glomerulus
Tikus *Sprague dawley* Diabetes Melitus**

disusun oleh

**Wiwi Rumaolat
22010112410042**

Menyetujui

Pembimbing I**Pembimbing II****Prof. Dr. dr. Winarto, DMM,Sp.MK,Sp.M(K)
19490617 197802 1 001****Prof. Dr.dr.Tri Nur Kristina,DMM,M.Kes
19590527 198603 2 001**

Mengetahui

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro**Prof. Dr.dr.Tri Nur Kristina,DMM,M.Kes
19590527 198603 2 001**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong dalam plagiarism sebagaimana dimaksud dalam Permendiknas No 17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan didalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 29 Agustus 2014

Wiwi Rumaolat

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Wiwi Rumaolat
Jenis Kelamin : Perempuan
Tempat/Tanggal Lahir : Ambon, 30 Nopember 1982
Agama : Islam
Status Perkawinan : Menikah dengan Saifur R. Payapo
Anak : Alfian Badrul Rahman. Payapo
Alamat

- Kantor : Jl. Lintas Seram-Waeselan Kairatu
Prov. Maluku.
- Email : wiwhieenov_qweenle@yahoo.com
- HP : 081343131353

B. Riwayat Pendidikan

1. SD Inpres Kasieh : Lulus tahun 1994
2. SMP Negeri 1 Taniwel : Lulus tahun 1997
3. SMA Negeri 5 Ambon : Lulus tahun 2000
4. S1 Biologi FMIPA UNIDAR : Lulus tahun 2005
5. Magister Ilmu Biomedik UNDIP : 2012 – sekarang

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua
Ayah : Syamsul Bahar Rumaolat
Ibu : Siti Nurbaya Latulumamina

D. Riwayat Pekerjaan

Staf pengajar di STIKes Maluku Husada-Kairatu. Prov. Maluku

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbi'l'amin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat, karunia, hidayah dan nikmat yang tak pernah putus sehingga tesis dengan judul **“Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam untuk Menurunkan Ekspresi TGF- β Podosit Glomerulus Tikus *Sprague dawley* Diabetes Melitus”** ini dapat terselesaikan.

Seperti yang termaktub dalam hadits Rasulullah SAW bahwa ada tiga perkara yang tidak terputus setelah orang itu meninggal dunia, antara lain adalah ilmu yang bermanfaat. Semoga penulis termasuk didalamnya. Amin.

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar (M.Si. Med) dalam bidang Patobiologi pada Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas kedokteran Universitas Diponegoro. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Diponegoro Semarang yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk belajar, meningkatkan ilmu pengetahuan dan keahlian.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang memacu penulis untuk segera menyelesaikan tesis.
4. **Prof. DR. Dr. Winarto DMM,Sp.MK,Sp.M(K)** selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, tenaga, pemikiran untuk membimbing dan

memberikan dorongan selama proses persiapan proposal, seminar, penelitian, hingga akhir penulisan tesis ini.

5. **Prof. Dr.dr.Tri Nur Kristina,DMM,M.Kes** selaku pembimbing kedua, yang meluangkan waktu, tenaga, pemikiran, dukungan dan semangat yang telah diberikan dalam penyelesaian tesis ini.
6. Para narasumber dan penguji **DR. Dr. Kismijatun RMD, M.Sc** dan **DR. Dr. Indranila Kustarini, Sp.Pk (K)** atas masukan, pertanyaan dan saran perbaikan untuk kesempurnaan tesis ini.
7. Para Guru Besar dan Staf Pengajar Magister Ilmu Biomedik yang turut memberikn dorongan dan saran dalam proses penyelesaian tesis ini.
8. Ketua Yayasan Maluku Husada dan Ketua STIKes Maluku Husada beserta jajarannya atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk melanjutkan studi S2.
9. Pak Samidi, Pak Sutari, pak bayu, Bu agustin, Dr. Didik yang telah memberikan bimbingan dan bantuan teknis selama penelitian dan pemeriksaan IHC dan preparat.
10. Mba Nata, Mba Fika, Mas Dul yang telah memberikan bantuan demi kelancaran studi.
11. Ibunda tercinta Siti Nurbaya Latulumamina, Ayahanda Syamsul Bahar Rumaolat atas ridho dan do'anya selama ini. Adik-adikku: Win, Tati, Abang, Onco Nyong, Am serta ponaanku tersayang Iffa Astila Rahma. Soamole matur nuwun sangat tuk semuanya.

12. Special kepada suami tercinta Saifur Rahman Payapo dan putraku tersayang Alfan Badrul Rahman. Payapo atas bantuan do'a, motivasi, semangat, dorongan serta kesabaran selama penulis mulai kuliah sehingga penulis dapat menyelesaikan studi tepat waktu.
13. Papa, Mama 'n my big bos (Tenga Sir), Abg Ong, Ade Feri, Ade Ul, Ade Is, Onco Anda, Bibi Erha, atas bantuan moril, dukungan serta semangat selama studi.
14. Team godong salam : Bu Tunik, dan trio pekalongan (mbak Zulfa, Mbak Nunung Umine Ayus dan Mbak Nurul). Rekan-rekan mahasiswa Magister Ilmu Biomedik angkatan 2012.
15. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, Penulis menyadari tesis ini masih banyak kekurangan dan perlu pengembangan lebih lanjut agar bermanfaat. Oleh sebab itu, saran dan kritik yang bersifat konstruktif demi kesempurnaan tesis ini sangat penulis harapkan untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

Semarang, Agustus 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL -----	i
LEMBAR PENGESAHAN -----	ii
LEMBAR MONITORING -----	iii
PERNYATAN -----	iv
RIWAYAT HIDUP -----	v
KATA PENGANTAR-----	vi
DAFTAR ISI-----	ix
DAFTAR SINGKATAN -----	xii
DAFTAR GAMBAR -----	xiv
DAFTAR TABEL-----	xv
ABSTRAK-----	xvi

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang -----	1
1.2. Perumusan Masalah-----	6
1.3. Tujuan Penelitian-----	6
1.4. Manfaat Penelitian-----	7
1.5. Orisinalitas-----	7

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ekspresi TGF- β Podosit pada DM-----	10
2.2. Faktor yang mempengaruhi Ekspresi TGF- β -----	14
2.2.1. Hiperglikemia Kronis-----	14
2.2.2. Jalur Polyol, AGEs, PKC, Hexsosome-----	15
2.3. Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight.) Walp.)-----	25
2.3.1. Morfologi -----	25
2.3.2. Taxonomy-----	26
2.3.3. Manfaat-----	26
2.3.4. Kandungan Kimiawi-----	28
2.4. Tikus DM yang diinduksi STZ-----	31

BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori-----	30
3.2. Kerangka Konsep-----	31
3.3. Hipotesis-----	31

BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian-----	32
4.2. Pengolahan dan Analisa Data-----	32
4.3. Populasi dan Sampel Penelitian-----	33
4.3.1. Populasi-----	33
4.3.2. Sampel dan Besar Sampel-----	33
4.3.3. Kriteria Sampel-----	35
4.3.4. Variabel Penelitian-----	35
4.3.5. Definisi Operasional Variabel-----	36
4.3.6. Alat dan Bahan-----	37
4.3.7. Tempat dan Waktu Penelitian-----	37
4.3.8. Alur Penelitian-----	38
4.3.9. Teknik Pengumpulan Data-----	39
4.3.9.1. Aklimatisasi-----	39
4.3.9.2. Randomisasi-----	39
4.3.10. <i>Ethical Clearance</i> -----	40

BAB V HASIL PENELITIAN

5.1. Hasil Uji Pendahuluan-----	41
5.1.1. Penentuan DM setelah Induksi <i>Streptozotosin</i> -----	41
5.1.2. Pemberian Ekstrak Etanol daun Salam (EEDS)-----	41
5.2. Karakteristik Gula Darah Sewaktu, Pre EEDS dan Post EEDS Penelitian Awal-----	42
5.3. Hasil Penelitian-----	42
5.4. Karakteristik Berat Badan, Gula Darah Sewaktu, dan HbA1c Post Pemberian EEDS-----	43

5.5. Perbandingan GDS Pre EEDS dan Post EEDS Pada Penelitian Akhir-----	50
5.6. Uji Statistik Reliabilitas Terhadap Allred Score Ekspresi TGF- β podosit glomerulus Pembaca 1 dan Pembaca 2-----	53
5.7. Distribusi Allred Score Ekspresi TGF- β Hewan Uji Berdasarkan Dosis Pemberian EEDS-----	54
5.8. Uji Statistik <i>Kappa</i> Terhadap Score TGF- β Pembaca1 dan Pembaca 2-----	55

BAB VI PEMBAHASAN

6.1. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun salam terhadap kadar GDS57	
6.2. Pengaruh pemberian ekstrak etanol salam terhadap ekspresi TGF- β podosit glomerulus ginjal-----	58
6.3. Keterbatasan Penelitian-----	59

BAB VII SIMPULAN DAN SARAN

7.1. Simpulan-----	67
7.2. Saran-----	67

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR SINGKATAN

ACE	: <i>Angiotensin Converting Enzyme</i>
AR	: <i>Aldhose Reductase</i>
ATP	: <i>Adhenosin Triphosphat</i>
AGEs	: <i>Advanced Glycation and Products</i>
ANG-II	: <i>Angiotensin-II</i>
BMPs	: <i>Bone Morphogenic Protein</i>
CTGF	: <i>Connective Tissue Growth Factor</i>
DAG	: <i>Dyasil Glycerol</i>
EMT	: <i>Epithelial Mesenchymal Transition</i>
ECM	: <i>Extracelluler Matriks</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ERK	: <i>Extracellular Signal Regulate Kinase</i>
eNOS	: <i>Endothelial Nitrit Oxide Syntase</i>
ET-1	: <i>Endotelin-1</i>
GLUT-1	: <i>Glucose Transporter-1</i>
GLUT-2	: <i>Glucose Transporter-2</i>
GBM	: <i>Glomerular Basement Membrane</i>
GFAT	: <i>Glutamin Fructose-6 Phosphat Amidotanferase</i>
HbA1c	: <i>Hemoglobin A1c</i>
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chrommatography</i>
ICAM-1	: <i>Intercellular Cell Adhesion Molecule-1</i>
IGF	: <i>Insulin-like Growth Factor</i>
IHC	: <i>Immunohistokimia</i>
IHG-1	: <i>Induced High Glucose-1</i>
iNOS	: <i>Inducible Nitrit Oxide Synthase</i>
IL-6	: <i>Inteleukin-6</i>
LAP	: <i>Latency Associaton Protein</i>
JNK	: <i>e-Jun N-Terminal Kinase</i>
MCP-1	: <i>Monocyte Chemotraccant Protein-1</i>

MAPK	: <i>Mitogen Activeted Protein Kinase</i>
P38 MAPK	: <i>P38 Mitogen Activeted Protein Kinase</i>
MLDS	: <i>Multiple Low Dosis STZ</i>
MIT	: <i>Mitochondria</i>
mRNA	: <i>Mesenger RNA</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa-β</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenin Dinucleotide Phospatase</i>
NO	: <i>Nitrit Oxide</i>
NOS	: <i>Nitrit Oxide Synthase</i>
PAI-1	: <i>Plasminogen activatror inhibitor-1</i>
PDGF	: <i>Platelet Devired Growth Factor</i>
PKC	: <i>Protein Kinase-C</i>
P13K	: <i>P13 Kinase</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RAS	: <i>Renin Angiotensin System</i>
SGH	: <i>Sorbitol Dehidrogenase</i>
STZ	: <i>Streptozotocin</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis-α</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor- β</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VCAM-1	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
XOD	: <i>xantthine oksidase</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Morfologi Glomerulus-----	13
Gambar 3 Aktivasi Sintesis TGF- β dan Peranannya Dalam Proinflamasi-----	16
Gambar 4 Overproduksi Superoksida mengaktifkan Empat Jalur-----	18
Gambar 5 Mekanisme Terjadinya Hiperglikemia-----	19
Gambar 6 Struktur Flavonoid-----	29
Gambar 7 Struktur Kimia STZ-----	31
Gambar 8 Mekanisme Induksi Kerusakan Sel- β Oleh STZ-----	33
Gambar 9 Bagan Kerangka Teori Penelitian-----	36
Gambar 10 Bagan Kerangka Konsep Penelitian-----	37
Gambar 11 Desain Penelitian-----	40
Gambar 12 Alur Penelitian-----	45
Gambar 13 Foto Hasil Mikroskop Ekspresi TGF- β Podosit Glomerulus-----	61

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Orisinalitas Penelitian-----	7
Tabel 2 Defenisi Operasional-----	40
Tabel 3 Karakteristik Berat Badan, Rata-rata GDS Uji Pendahuluan Setelah Induksi STZ-----	40
Tabel 4 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun salam-----	50
Tabel 5 Karakteristik GDS Mean, Median, SD dan Nilai Nominal-Maksimal Pre EEDS dan Post EEDS Penelitian Awal-----	51
Tabel 6 Perbandingan Karateristik GDS Mean, Median dan SD Pre EEDS dan Post EEDS-----	52
Tabel 7 Karateristik Berat Badan, GDS Pre EEDS-----	53
Tabel 8 Karakteristik BB, GDS dan HbA1c Post Pemberian EEDS-----	53
Tabel 9 Perbandingan GDS Pre EEDS dan Post EEDS Pada Penelitian Akhir	56
Tabel 10 Distribusi Allred Score Ekspresi TGF- β Hewan Uji berdasarkan Dosis	57

Wiwi Rumaolat
22010112410042

Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam untuk menurunkan Ekspresi TGF- β Podosit Glomerulus Tikus *Sprague dawley* Diabetes Melitus.

ABSTRAK

Latar Belakang : Diabetes melitus merupakan kelompok sindrom metabolik yang dapat mengakibatkan peningkatan *growth factor* pada glomerulus, salah satunya yaitu ekspresi TGF- β di podosit. Podosit lebih sensitif terhadap peningkatan kadar TGF- β yang diproduksi dan di rangsang oleh mesangial hingga mencapai podosit melalui ultrafiltrasi glomerulus. Peningkatan aktivitas TGF- β dapat menyebabkan overekspresi dan apoptosis pada podosit. Maka, untuk mencegah terjadinya peningkatan ekspresi TGF- β podosit glomerulus, mungkin dapat dilakukan dengan pemberian antioksidan yang terkandung dalam ekstrak daun salam (EEDS). Tujuan penelitian ini untuk membuktikan pemberian EEDS dapat menurunkan ekspresi TGF- β podosit glomerulus Tikus *Sprague dawley* DM.

Metode : penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan desain “*Randomized Post test only control group design*” pada 20 ekor tikus *Sprague dawley* jantan. Kelompok penelitian dibagi menjadi 4 kelompok secara acak, masing-masing 5 ekor. Kelompok EEDS (-), kelompok EEDS (+) dengan dosis 150 mg/200 gr BB ; 300 mg/ 200 gr BB dan 450 mg/ 200 gr BB selama 15 hari pasca induksi *streptozotocin*. Ekspresi TGF- β podosit glomerulus dinilai secara imunohistokimia dengan *allred score*.

Hasil : Rerata *allred score* ekspresi TGF- β podosit glomerulus pada kelompok kontrol ($2,6 \pm 0,89$), dosis satu ($2,33 \pm 0,57$), dosis dua (2 ± 2) dan dosis tiga ($0,1$). Hasil analisa *Kruskall Wallis* tidak ada perbedaan ekspresi TGF- β podosit glomerulus diantara masing-masing kelompok penelitian ($p=0,21$). Dosis 450 mg/ 200 gr BB dapat menurunkan ekspresi TGF- β podosit glomerulus walaupun tidak bermakna ($p=0,1$).

Simpulan : Tidak ada perbedaan ekspresi TGF- β podosit glomerulus pada kelompok tanpa EEDS dan kelompok EEDS.

Kata kunci : Ekspresi TGF- β podosit glomerulus, EEDS, diabetes melitus

Wiwi Rumaolat
22010112410042

Aethanol Extracts of *Syzygium polyanthum* Folium to Decrease Glomerular Podocyte TGF- β Expression *Sprague dawley* Rats with DM.

ABSTRACT

Background : Diabetes mellitus is a group of metabolic syndrome which can result in increased *growth factor* at the glomerular, one of which is the expression of TGF- β in podocyte. Podocyte more sensitive to increase levels of TGF- β which is in production and in its sense of mesangial cells until reach to podocyte through the glomerular ultrafiltration. An increase in the activity of TGF- β can cause overexpression and apoptosis in podocyte. Then, to prevent the occurrence of increased expression of TGF- β in glomerular Podocyte, it might be done by administering antioxidants contained in the extract bay leaf. The purpose of this research was to prove the EEDS can reduce the expression of TGF- β Podocyte *Sprague dawley* rat glomerular DM.

Methods: This study is an experimental laboratory with the design "Randomized Post-test only control group design" of 20 *Sprague dawley* male rats. The study group was divided into 4 groups at random, 5 each tail. EEDS group (-) group, EEDS (+) at a dose of 150 mg / 200 g BB; 300 mg / 200 g BB and 450 mg / 200 g BB for 15 days after the induction of streptozotocin. Podocyte glomerular TGF- β expression immunohistochemically assessed by Allred score.

Result : Average Allred score TGF- β expression Podocyte glomerular in the control group (2.6 ± 0.89), a single dose (2.33 ± 0.57), two doses of 2 (2 ± 2 and three doses (0,1). *Kruskal Wallis* analysis result there was no difference in the expression of TGF- β in glomerular Podocyte among each study group ($p = 0.21$). At a dose of 450 mg / 200 g BB can decrease the expression of TGF- β in glomerular Podocyte although not significant ($p = \text{Mann Whitney test} : 0.1$).

Conclusion: There is no difference in the expression of TGF- β glomerular Podocyte in the group without EEDS and group EEDS.

Keywords: Expression of TGF- β in glomerular Podocyte, EEDS, Diabetes mellitus.