

**Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam  
untuk Menurunkan Ekspresi Kolagen Mesangial  
Tikus *Sprague Dawley* Diabetes Melitus**

**Aethanol Extracts of *Syzygium polyanthum* ( Wight )  
Walp Folium to Decrease Mesangial Collagen Expression  
of Diabetic Mellitus *Sprague dawley* Rats**



**Tesis  
Disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan  
mencapai derajat Sarjana 2**

**Tunik Saptawati  
22010112410043**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
2014**

## TESIS

**Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam Untuk Menurunkan Ekspresi  
Kolagen Mesangial Tikus *Sprague dawley* Diabetes Melitus**

Disusun oleh :  
Tunik Saptawati  
2201011241043

Menyetujui

Pembimbing I



Prof. Dr. dr. Winarto, DMM, Sp.MK, Sp.M(K)  
NIP. 194906171978021001

Pembimbing II



Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes  
NIP. 195905271986032001

Mengetahui

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro






Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes  
NIP. 195905271986032001

**LEMBAR MONITORING PERBAIKAN TESIS**

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan dengan sebenarnya bahwa saya telah menyetujui **Perbaikan Tesis** yang diajukan pada tanggal 29 Agustus 2014 atas :

Nama Mahasiswa : Dra. Tunik Saptawati, Apt  
 NIM : 22010112410043  
 Judul : Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam untuk Menurunkan Ekspresi Kolagen Mesangial Tikus *Sprague dawley* Diabetes Melitus

NO	NAMA	PENGUJI	TANDA TANGAN	TANGGAL
1.	Dr.dr. RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc	Penguji Ketua		10 Okt 2014
2.	Prof.Dr.dr. Winarto, DMM, Sp.MK,Sp.M (K)	Penguji Anggota/ Pembimbing I		
3.	Prof.Dr.dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes	Penguji Anggota/ Pembimbing II		10 Okt . 2014
4.	Dr.dr. Indranila Kustarini, Sp.PK (K)	Penguji Anggota		10 Okt 2014

### **PERNYATAAN**

Saya 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. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penelitian yang belum atau tidak dipublikasikan, sumbernya dijelaskan dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Agustus 2014

Penulis

## **RIWAYAT HIDUP**

### **A. Identitas**

Nama : Tunik Saptawati  
Tempat/tanggal lahir : Yogyakarta, 7 September 1969  
Agama : Islam  
Jenis kelamin : Perempuan

### **B. Riwayat Pendidikan**

1. SD Negeri Jatisarone Kulon Progo : Lulus 1981
2. SMP Negeri Jatisarone Kulon progo : Lulus 1984
3. SMA Negeri 3 Yogyakarta : Lulus 1987
4. S1 Farmasi UGM : Lulus 1992
5. Profesi Apoteker UGM : Lulus 1994
6. Magister Ilmu Biomedik Undip  
Konsentrasi Patobiologi : 2012-2014

### **C. Riwayat Pekerjaan**

1. Apoteker Pengelola Apotek “Cepiring” Kendal : 1995 – sekarang
2. Guru SMF Nusaputera Semarang : 1996 – 2009
3. Staf Pengajar Akademi Farmasi Nusaputera  
Semarang : 2009 – 2012

4. Staf pengajar Stikes Widyahusada  
Prodi D3 Kebidanan : 2010 - sekarang
5. Kaprodi Farmasi SMK Tamansiswa Kendal : 2012 – sekarang

#### **D. Riwayat Keluarga**

1. Orang tua:

Ayah : Teguh Tondoreso (Alm)

Ibu : Fatimah (Alm)

2. Suami : R. Nonot Hariyanto

3. Anak : Hanandrio Wicaksono

Priyangga Wasis Bagaskara

Kirana Maharani

## KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah swt, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah Nya sehingga peneliti dapat melaksanakan dan menyelesaikan Tesis dengan judul “Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam untuk Menurunkan Ekspresi Kolagen Mesangial Tikus *Sprague dawley* Diabetes Melitus”, sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Penulis sangat menyadari tesis ini dapat terselesaikan atas bimbingan, dan kerjasama dari berbagai pihak. Berkaitan dengan hal tersebut ,pada kesempatan ini kami menghaturkan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Rektor Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan dalam rangka menempuh pendidikan di Universitas Diponegoro.
2. Dekan Fakultas kedokteran Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan dalam rangka menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
3. Ketua Program Studi Ilmu Biomedik atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan dalam rangka menyelesaikan pendidikan Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
4. Prof. Dr.dr. Winarto, DMM, Sp.MK.Sp.M (K) selaku pembimbing I yang telah membimbing dan memberi banyak masukan untuk penelitian tesis ini.

5. Prof. Dr.dr. Tri Nur Kristina, DMM, MKes selaku pembimbing II yang telah membimbing dan memberi banyak masukan untuk penelitian tesis ini.
6. Dr. Dr.. RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc dan dr. Indranila Kustarini, Sp.PK (K) selaku penguji yang telah memberi banyak saran untuk perbaikan penulisan tesis ini.
7. Seluruh staf pengajar Program Magister Ilmu Biomedik yang telah dengan sabar dan bijaksana membagikan ilmunya selama kami menempuh pendidikan.
8. Kepala LPPT Unit IV UGM yang telah memberikan izin untuk pelaksanaan penelitian tesis ini.
9. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM dan Rumah sakit Dr. Sardjito Yogyakarta yang telah membantu pembuatan dan pembacaan preparat Imunohistokimia penelitian tesis ini.
10. Suamiku tercinta R. Nonot Hariyanto dan ketiga putra putriku tersayang Hanandrio Wicaksono, Priyangga Wasis Bagaskara dan Kirana Maharani yang telah memberikan motivasi material dan spiritual, mencurahkan kasih sayang sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan Magister Ilmu Biomedik tepat waktu.
11. Teman teman mahasiswa Magister Ilmu Biomedik angkatan 2012 khususnya konsentrasi Patobiologi Mbak Wiwi, Mbak Nunung, Mbak Nurul dan Mbak Zulfa yang selama ini berjuang bersama saling



menyemangati hingga kita dapat menyelesaikan pendidikan Magister Ilmu Biomedik tepat waktu.

12. Mbak Nata, mas Dul dan Mbak Fika yang selama ini dengan sabar memberikan pelayanan administrasi yang baik sehingga proses pembelajaran di Magister Ilmu Biomedik dapat terlaksana dengan baik.
13. Semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu per satu sehingga kami dapat menyelesaikan tesis ini.

Kami menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna, sehingga kami mengharapkan kritik dan saran untuk penyempurnaan penelitian ini. Harapan kami tesis ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan menambah kajian ilmu pengetahuan khususnya dibidang patobiologi.

Semarang, Agustus 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

Halaman Judul .....	i
Lembar pengesahan .....	ii
Lembar Monitoring .....	iii
Pernyataan .....	iv
Daftar Riwayat Hidup .....	v
Kata Pengantar .....	vii
Daftar Isi .....	x
Daftar Tabel .....	xiv
Daftar Gambar .....	xv
Daftar Singkatan .....	xvi
Abstrak .....	xvii
<b>BAB I</b>	<b>PENDAHULUAN</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Orisinalitas Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	7
1.5. Tujuan Penelitian.....	8
<b>BAB II</b>	<b>TINJAUAN PUSTAKA</b>

		11
2.1.	Ekspresi Kolagen Mesangial pada Diabetes Melitus .....	9
2.2.	Faktor yang mempengaruhi Ekspresi Kolagen.....	11
2.2.1.	Glukosa Darah.....	12
2.2.1.1.	Jalur Polirol.....	13
2.2.1.2.	Jalur AGEs.....	14
2.2.1.3.	Jalur PKC .....	16
2.2.1.4.	Jalur Heksosamin .....	18
2.2.2.	<i>Transforming Growth Factor</i> ( TGF ) .....	19
2.2.3.	Insulin .....	20
2.2.4.	Angiotensin II .....	21
2.3.	Flavonoid sebagai Anti Oksidan .....	22
2.4.	Daun salam ( <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp .....	23
2.4.1.	Klasifikasi tanaman .....	23
2.4.2.	Deskripsi tanaman .....	24
2.4.3.	Kandungan kimia daun Salam .....	25
2.5.	Induksi DM pada Tikus <i>Sprague Dawley</i> dengan <i>Streptosotozin</i> .....	27
<b>BAB III</b>	<b>KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS</b>	
1.1.	Kerangka Teori.....	32
1.2.	Kerangka Konsep.....	33
1.3.	Hipotesis.....	33
<b>BAB IV</b>	<b>METODE PENELITIAN</b>	

4.1. Disain Penelitian.....	34
4.2. Populasi dan Sampel Penelitian	
4.3.1. Populasi.....	34
4.3.2. Sampel Penelitian.....	35
4.3.3. Kriteria Sampel.....	35
4.3. Variabel Penelitian.....	37
4.4. Definisi Operasional Variabel.....	37
4.5. Pengolahan dan Analisis Data .....	38
4.6. Alat dan Bahan	
4.6.1. Alat .....	39
4.6.2. Bahan .....	39
4.7. Tempat dan Waktu Penelitian.....	39
4.8. Alur Penelitian.....	40
4.9. Teknik Pengumpulan Data	
4.9.1. Aklimatisasi.....	41
4.9.2. Randomisasi.....	42
4.10. <i>Ethical Clearance</i> .....	42
<b>BAB V</b>	
<b>HASIL PENELITIAN</b>	
5.1. Hasil uji pendahuluan .....	43
5.1.1. Penentuan waktu hewan uji mencapai DM Setelah induksi STZ .....	43
5.1.2. Penentuan dosis EEDS .....	44
5.2. Hasil penelitian .....	45

5.2.1.	Identifikasi zat bioaktif yang terkandung dalam EEDS .....	45
5.2.2.	Karakteristik kadar GDS, berat badan, HbA1c dan Hb sampel penelitian.....	46
5.2.3.	Ekspresi kolagen mesangial glomerulus .....	49
<b>BAB VI</b>	<b>PEMBAHASAN</b>	
6.1.	Uji Pendahuluan .....	54
6.2.	Pemberian EEDS untuk menurunkan ekspresi kolagen mesangial .....	56
6.3.	Keterbatasan penelitian .....	62
<b>BAB VII</b>	<b>SIMPULAN DAN SARAN</b>	
7.1.	Simpulan .....	63
7.2.	Saran .....	63
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>64</b>
	<b>LAMPIRAN</b>	

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 1	Hiperglikemia menginduksi aktivasi PKC	16
Gambar 2	Struktur kimia flavonoid Quersetin	22
Gambar 3	Struktur kimia Streptosotozin	28
Gambar 4	Mekanisme induksi kerusakan sel $\beta$ -pankreas pada tikus oleh <i>Streptozotocin</i>	30
Gambar 5	Bagan kerangka teori penelitian	32
Gambar 6	Bagan kerangka konsep penelitian	33
Gambar 7	Bagan disain penelitian	36
Gambar 8	Bagan alur penelitian	40
Gambar 9	Grafik <i>boxplot</i> kadar GDS setelah pemberian EEDS	48
Gambar 10	Grafik <i>boxplot</i> kadar HbA1c setelah pemberian EEDS	49
Gambar 11	Foto ekspresi kolagen mesangial tikus DM kelompok kontrol	50
Gambar 12	Grafik <i>boxplot</i> kadar <i>Allred score</i> ekspresi kolagen setelah pemberian EEDS	52

**DAFTAR TABEL**

Tabel 1	Penelitian terkait dengan pemanfaatan daun salam dalam pengobatan	4
Tabel 2	Definisi operasional variabel	37
Tabel 3	Kadar gula darah sewaktu (GDS) pada uji pendahuluan	43
Tabel 4	Kadar GDS pada penentuan dosis EEDS	45
Tabel 5	Hasil identifikasi zat bioaktif dalam EEDS	46
Tabel 6	Kadar GDS dan berat badan sebelum dan sesudah pemberian EEDS	47
Tabel 7	Kadar HbA1c	49
Tabel 8	Data <i>proportion score</i> , <i>intensity score</i> dan <i>Allred score</i> ekspresi kolagen mesangial	50
Tabel 9	Hasil uji beda <i>proportion score</i> ekspresi kolagen mesangial	
Tabel 10	Hasil uji beda Allred score ekspresi kolagen mesangial	

## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 *Ethical Clearence*
- Lampiran 2 Ijin Penelitian
- Lampiran 3 Prosedur pemeliharaan hewan coba
- Lampiran 4 Prosedur pemberian pakan
- Lampiran 5 Surat keterangan determinasi tanaman
- Lampiran 6 Prosedur pembuatan ekstrak etanol daun salam (EEDS)
- Lampiran 7 Hasil uji zat bioaktif yang terkandung dalam EEDS
- Lampiran 8 Perlakuan pemberian STZ
- Lampiran 9 Hasil pemeriksaan GDS dan HbA1c
- Lampiran 10 Prosedur pemeriksaan IHC
- Lampiran 11 Analisis statistik
- Lampiran 12 Surat keterangan selesai penelitian



**DAFTAR SINGKATAN**

AGEs	: <i>Advance Glycosylation End products</i>
DAG	: <i>Diacylglycerol</i>
DM	: <i>Diabetes melitus</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
EEDS	: <i>Ekstrak etanol daun salam</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GBM	: <i>Glomerular basalis membran</i>
GLUT	: <i>Glucose transportase</i>
PKC	: <i>Protein Kinase C</i>
RAGE	: <i>Receptor of Advance Glycosylation End products</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SD	: <i>Sprague Dawley</i>
STZ	: <i>Streptozotocin</i>
TGF- $\beta$	: <i>Transforming growth factor-<math>\beta</math></i>

Tunik Saptawati, Winarto, Tri Nur Kristina, Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) untuk Menurunkan Ekspresi Kolagen Mesangial Tikus Sprague dawley Diabetes Melitus

### ABSTRAK

**Latar belakang:** Komplikasi gagal ginjal pada Diabetes mellitus (DM) salah satunya disebabkan oleh ekspansi kolagen mesangial sehingga glomerulus mengalami penurunan fungsi. Ekstrak etanol daun salam (EEDS) dibuat dari maserasi daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) mengandung flavonoid yang dapat menurunkan glukosa darah dan bersifat anti oksidan. Diperkirakan bahwa EEDS dapat menekan Akumulasi kolagen mesangial sebagai komponen matriks ekstra seluler pada DM sehingga dapat menghambat terjadinya komplikasi DM.

**Tujuan penelitian:** Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa EEDS dapat menurunkan ekspresi kolagen mesangial tikus *Sprague dawley* DM.

**Metode:** Penelitian menggunakan *post test only control group design* dengan 20 ekor tikus *Sprague dawley* yang diinduksi DM dengan *Streptozotocin* dosis 40 mg/kgBB, dibagi menjadi 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan yang diberi EEDS dengan dosis 150:300;450 mg/200grBB selama 15 hari. Pada hari ke 16 diperiksa kadar gula darah sewaktu (GDS), HBA1c , Hb dan ekspresi kolagen mesangial (*Allred Score*). Perbedaan ekspresi kolagen antar kelompok dianalisis statistik dengan SPSS ver 16 menggunakan uji *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan *Mann Whitney* dengan derajat kemaknaan  $p < 0,05$ .

**Hasil:** *Allred score* ekspresi kolagen kelompok kontrol  $6,2 \pm 0,84$ , kelompok P1  $4,7 \pm 0,56$ , kelompok P2  $4,0 \pm 1,16$  dan kelompok P3  $5,3 \pm 0,50$ . Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi kolagen yang bermakna pada 4 kelompok penelitian dengan nilai  $p = 0,027$  ( $p < 0,05$ ). Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan ekspresi kolagen pada kelompok P2 (EEDS dosis 300mg/200grBB) lebih rendah dibanding kelompok kontrol dengan nilai  $p = 0,032$  ( $p < 0,05$ ).

**Kesimpulan :** Pemberian EEDS dosis 300 mg/200grBB dapat menurunkan ekspresi kolagen mesangial tikus DM.

**Kata kunci :** EEDS, ekspresi kolagen mesangial, DM

Tunik Saptawati, Winarto, Tri Nur Kristina, Aethanol Extracts of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp to Decrease Collagen Mesangial Expression of Diabetic Mellitus *Sprague dawley* Rats

#### ABSTRACT

**Background:** Complication of renal failure in diabetes mellitus (DM) is caused by the expansion of mesangial collagen thus decreased glomerular function. Aethanol extracts of Bay leaves are made from macerated leaves of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp contains flavonoids that can lower blood glucose level and anti-oxidants. It is estimated that EEDS can suppress the accumulation of mesangial collagen as a component of extra cellular matrix that can inhibit DM complication.

**Objective:** This study aimed to prove that EEDS can decrease collagen mesangial expression of *Sprague dawley* rats DM.

**Methods:** The post test only control group design experiment in twenty *Sprague dawley* rats that *Streptozotocin*-induced 40 mg/kgBW dose intra peritoneal. The rats divided into 1 control group and 3 treatment groups were treated by EEDS in three dose (150;300 and 450 mg/200grBW) during 15 days. On 16<sup>th</sup> day were determined the blood glucose level non fast, HbA1c level, Hb and collagen mesangial expression in *Allred score*. The differences of collagen mesangial expression between groups were analyzed statistically with SPSS ver 16.0 usng *Kruskal wallis* test followed by *Mann Whitney* with confidence interval 95% ( $p < 0,05$ ).

**Results:** *Allred score* of control group  $6,2 \pm 0,84$ , P1 group  $4,7 \pm 0,56$ , P2 group  $4,0 \pm 1,16$  and P3 group  $5,3 \pm 0,50$ . The statistically analysis showed that there were significant difference of collagen mesangial expression in the four study groups with  $p = 0,027$  ( $p < 0,05$ ). *Mann Whitney* test results showed that collagen mesangial expression in P2 group (EEDS 300mg/200grBW) lower than the control group with  $p = 0,032$  ( $p < 0,05$ ).

**Conclusion:** Aethanol extracts of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp treatment dose of 300 mg/200grBW can decrease the collagen mesangial expression of *Sprague dawley* rats DM

**Keywords:** EEDS, mesangial collagen expression, DM