

**Pengaruh Jus Buah *Carica pubescens* Terhadap Ekspresi
Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) pada
Ginjal Tikus Wistar Diabetes Melitus Tipe 2**

*Effect of Carica pubescens Fruit Juice on VEGF Expression in
Type 2 Diabetes Mellitus Wistar Rats Kidney*



Tesis

**“Untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Sarjana S-2 dan
memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Biomedik”**

**Oktadio Erikardo
22010119410011**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2021**

TESIS

Pengaruh Jus Buah *Carica pubescens* Terhadap Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) pada Ginjal Tikus Wistar Diabetes Melitus Tipe 2

Diajukan oleh

Oktadio Erikardo, S.Si
22010119410011

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada 14 September 2021
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

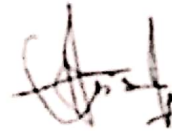
Menyetujui,

Pembimbing I



dr. Muflihatul Muniroh, M.Si. Med. PhD
NIP. 198302182009122004

Pembimbing II



Dr. dr. Nyoman Suci W., M. Kes. Sp. PK(K)
NIP. 197010231997022001

Penguji Ketua



dr. Nani Maharani, M.Si. Med. PhD
NIP. 198111122008122003

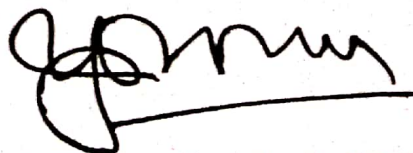
Penguji Anggota



dr. Vega Karlowee, Sp. PA, M.Si. Med. PhD
NIP. 198001302008122002

Mengetahui

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro



Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko Sp.B(K).Onk.M.Kes
NIP. 197501242008011006

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

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

Semarang, 13 Oktober 2021

Oktadio Erikardo
22010119410011

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Identitas

Nama : Oktadio Erikardo, A.Md.A.K., S.Si.
NIM : 22010119410011
Tempat/ Tanggal lahir : Mataram, 30 Juni 1995
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-Laki
Status : Belum menikah
Alamat : Jl. Bangil I/9 BTN Taman Baru, Mataram,
Provinsi Nusa Tenggara Barat

Riwayat Pendidikan

1. SD Negeri 02 Cakranegara : 2001-2008
2. SMP Negeri 02 Mataram : 2008-2011
3. SMA Negeri 02 Mataram : 2011-2014
4. D3 Analisis Kesehatan-Poltekkes Kemenkes Mataram : 2014-2017
5. S1 Biologi-Universitas Nasional : 2017-2019

KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang. Segala puji bagi Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga Tesis yang berjudul “Pengaruh Jus Buah *Carica pubescens* Terhadap Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) pada Ginjal Tikus Wistar Diabetes Melitus Tipe 2” ini dapat terselesaikan. Dalam penyusunan Tesis ini peneliti mendapat dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terima kasih kepada:

1. dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes., Sp.S(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
2. Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko Sp.B(K).Onk, M.Kes selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
3. dr. Muflihatul Muniroh, M.Si.Med, PhD selaku Pembimbing I yang berkontribusi sangat besar dalam memberi rekomendasi judul, masukan dan saran selama penulisan Tesis ini
4. Dr. dr. Nyoman Suci W., M.Kes, Sp.PK (K) selaku Pembimbing II yang juga turut berkontribusi dalam memberi masukan dan saran selama penulisan Tesis ini
5. dr. Nani Maharani, M.Si. Med., PhD selaku Penguji Ketua
6. dr. Vega Karlowee, Sp.PA, PhD selaku Penguji Anggota
7. Staf administrasi dan karyawan Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro yang selalu membantu dalam hal perizinan, persuratan dan lainnya
8. Kedua orang tua saya, Ibu Marnisah dan (Alm) Bapak Erikardo, Kakak saya Monthana Erikardo yang telah memberikan dukungan dan do'a serta motivasi selama masa pendidikan hingga dapat menyelesaikan tesis ini
9. Euis Purbasari selaku partner selama penelitian dan penyusunan tesis yang telah memberikan masukan, saran dan motivasi
10. Teman-teman mahasiswa Magister Ilmu Biomedik angkatan 2019 yang selalu memberikan dukungan dan motivasi belajar, serta pihak lainnya yang

turut membantu dalam melaksanakan penelitian dan penulisan tesis yang tidak dapat disebutkan satu-persatu

Peneliti menyadari bahwa dalam penyusunan tesis masih jauh dari kata sempurna. Kritik dan saran dari berbagai pihak diharapkan dapat membantu perbaikan penelitian selanjutnya. Peneliti berharap hasil penelitian ini bermanfaat bagi semua pihak. Aamiin

Semarang, 12 Juli 2021

Oktadio Erikardo
22010119410011

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN KEASLIAN PENELITIAN	iii
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan Umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.5 Orisinalitas Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1 Diabetes Melitus (DM)	12
2.1.1 Glukosa Darah dan Diagnosis DM tipe 2.....	13
2.1.2 Mekanisme Komplikasi DM	14
2.1.3 Komplikasi Ginjal Akibat DM.....	19
2.2 <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF)	20
2.2.1 Dampak peningkatan ekspresi VEGF pada ginjal DM	20
2.2.2 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi VEGF	23
2.2.3 Mediator Penghambat Ekspresi VEGF	26

2.2.4 Metode Pemeriksaan Ekspresi VEGF	27
2.3 <i>Carica pubescens</i> (CP).....	28
2.3.1 Taksonomi dan Karakteristik Morfologi Buah CP.....	29
2.3.2 Potensi CP Menurunkan VEGF Pada DM	30
2.3.3 Faktor yang Mempengaruhi Kandungan CP	31
2.4 Kerangka Teori.....	33
2.5 Kerangka Konsep	34
2.6 Hipotesis.....	35
BAB III METODE PENELITIAN.....	36
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	36
3.2 Rancangan Penelitian	36
3.2.1 Bahan dan Alat Penelitian	37
3.2.2 Perlakuan Hewan Coba	37
3.2.3 Pembuatan Jus Buah CP	39
3.2.4 Penentuan Kandungan Rutin di Dalam Jus Buah CP.....	39
3.2.5 Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah Metode GOD-PAP	40
3.2.5 Terminasi dan Pengambilan Organ Ginjal Hewan Coba	41
3.2.6 Pewarnaan Imunohistokimia VEGF-a Ginjal.....	41
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	45
3.3.1 Populasi	45
3.3.2 Sampel dan Besar Sampel	45
3.3.3 Kriteria Sampel.....	46
3.4 Variabel Penelitian	46
3.5 Definisi Operasional.....	47
3.6 Pengolahan dan Analisis Data.....	48
3.7 Alur Penelitian	49
3.8 Etika Penelitian	50
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	51
4.1 Gambaran Umum Penelitian	51
4.2 Ekspresi VEGF	52
4.3 Hubungan Ekspresi VEGF dengan Kadar GDP dan TNF- α	60

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	66
5.1 Kesimpulan	66
5.2 Saran.....	67
BAB VI RINGKASAN.....	68
DAFTAR PUSTAKA	76
LAMPIRAN.....	87

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Orisinalitas penelitian	8
Tabel 2. Hasil Uji Statistik <i>Kruskal-Wallis</i> dan <i>Mann-Whitney</i>	57
Tabel 3. Hasil Uji Korelasi <i>Kendall-Tau</i>	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme AGEs Merusak Sel	16
Gambar 2. Dampak dari Aktivitas PKC	17
Gambar 3. Aktivasi NF- κ B.....	25
Gambar 4. Buah <i>Carica pubescens</i>	29
Gambar 5. Kerangka Teori.....	33
Gambar 6. Kerangka Konsep	34
Gambar 7. Skema Rancangan Penelitian	44
Gambar 8. Alur Penelitian.....	49
Gambar 9. Hasil Pewarnaan Ekspresi VEGF pada Tiap Kelompok.....	53
Gambar 10. Rerata Skor Ekspresi VEGF.....	55
Gambar 11. Grafik Rerata Ekspresi VEGF Ginjal, Kadar GDP, dan TNF- α	62

DAFTAR SINGKATAN

DM	: Diabetes Melitus
ACE	: <i>Angiotensin Converting Enzyme</i>
AGEs	: <i>Advanced Glycation End Products</i>
Ang II	: Angiotensin II
AP-1	: Aktivator Protein-1
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
CP	: <i>Carica pubescens</i>
CTGF	: <i>Connective Tissue Growth Factor</i>
DAG	: <i>Diacyl Glycerol</i>
DN	: Diabetes Nefropati
eNOS	: <i>Endothelial Nitric Oxide Synthase</i>
ERK	: <i>Extracellular signal-regulated kinase</i>
GDP	: Glukosa Darah Puasa
GF	: <i>Growth Factor</i>
GFAT	: <i>Glutaminefructose-6-Phosphateamidotransferase</i>
GFR	: <i>Glomerular Filtration Rate</i>
GOD-PAP	: <i>Glucose Oxidase-Peroxidase Aminoantypirin</i>
H ₂ O ₂	: Hidrogen Peroksida
HIF	: <i>Hypoxia-Inducible Factor</i>
IHK	: Imunohistokimia
IL	: Interleukin
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MRI	: <i>Magnetic Resonance Imaging</i>
mRNA	: <i>Messenger Ribonucleic Acid</i>
NA	: <i>Nicotinamide</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NF-κB	: <i>Nuclear Factor-κB</i>

NO	: Nitrit Oksida
PAI-1	: <i>Plasminogen Activator Inhibitor-1</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PEGF	: <i>Permeability Enhancing Growth Factor</i>
PKC	: Protein Kinase C
pO ₂	: <i>Partial Pressure of Oxygen</i>
RAGE	: <i>Receptor Advanced Glycation End Products</i>
RAS	: <i>Renin Angiotensin System</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SDF-1	: <i>Stromal-Derived Factor-1</i>
STZ	: <i>Streptozotosin</i>
TGF-B	: <i>Transforming Growth Factor-Beta</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
UDP	: <i>Uridine Diphosphate</i>
VEGF	: <i>Vascular Endhotelial Growth Factor</i>
VEGFR	: <i>Vascular Endhotelial Growth Factor Receptor</i>

ABSTRAK

Latar belakang: Kerusakan sel endotel akibat proses inflamasi atau stres oksidatif pada diabetes melitus tipe 2 (DM tipe 2) dapat memicu peningkatan ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF). Ekspresi VEGF berlebih dapat memicu angiogenesis yang abnormal. Buah *Carica pubescens* (CP) mengandung senyawa flavonoid seperti rutin dan kuersetin yang diketahui dapat menurunkan ekspresi VEGF serta dapat bertindak sebagai anti-hiperglikemia, anti-inflamasi, dan antioksidan sehingga berpotensi dalam menurunkan ekspresi VEGF pada kondisi DM tipe 2.

Tujuan: Menganalisis pengaruh jus buah CP terhadap ekspresi VEGF di ginjal serta hubungannya dengan kadar glukosa darah puasa (GDP) dan *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α) pada tikus yang diinduksi HFD-STZ, dengan rutin murni sebagai pembanding.

Metode: Desain penelitian ini adalah *randomized post-test only control group design*. Pemeriksaan ekspresi VEGF dengan metode imunohistokimia dilakukan pada 25 blok parafin organ ginjal tikus wistar jantan yang terbagi dalam 5 kelompok, yaitu: K- = tikus sehat; K+ = tikus DM tipe 2; X1 dan X2 = tikus DM tipe 2 yang diberikan jus buah CP dengan dosis 4 mL/200 g BB/hari dan 8 mL/200 g BB/hari; X3 = tikus DM tipe 2 yang diberikan rutin murni 10 mg/200 g BB/hari. Perlakuan diberikan melalui sonde lambung selama 30 hari.

Hasil: Ekspresi VEGF menurun secara signifikan pada kelompok perlakuan X1 dan X2 dibandingkan dengan kelompok K+ ($p < 0,05$) sedangkan, pada kelompok X3 tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok K+. Antara kelompok X1 dan X2 tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap ekspresi VEGF. Hubungan antara ekspresi VEGF dan kadar GDP menunjukkan hasil yang tidak signifikan, sedangkan antara ekspresi VEGF dan TNF- α menunjukkan hasil yang signifikan dengan arah hubungan yang positif.

Kesimpulan: Jus buah CP dapat menurunkan ekspresi VEGF di ginjal tikus wistar DM tipe 2. Penurunan ekspresi VEGF di ginjal tidak berhubungan dengan penurunan kadar GDP, tetapi berhubungan terhadap penurunan kadar TNF- α pada pemberian jus buah CP.

Kata kunci: *Carica pubescens*, DM tipe 2, GDP, TNF- α , VEGF

ABSTRACT

Background: Endothelial cell damage due to inflammation or oxidative stress in type 2 diabetes mellitus (type 2 DM) can lead to increased expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). VEGF overexpression can lead to abnormal angiogenesis. *Carica pubescens* (CP) fruit contains flavonoid compounds such as rutin and quercetin which are known to reduce VEGF expression and can act as anti-hyperglycemic, anti-inflammatory, and antioxidant so that it is possible to reduce VEGF expression in type 2 DM conditions.

Objective: Analyzing the effect of CP fruit juice on VEGF expression in the kidney and its relationship with fasting blood glucose (FBG) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) levels in HFD-STZ-induced rat, with pure rutin as a control.

Methods: The design of this study was a randomized post-test only control group design. VEGF expression was examined using immunohistochemical on 25 paraffin blocks of kidney organs from male wistar rats which were divided into 5 groups: (K-) healthy rats; (K+) type 2 DM rats; (X1) type 2 DM rats given CP fruit juice at a dose of 4 mL/200 g BW/day and (X2) 8 mL/200 g BW/day; (X3) type 2 DM rats given pure rutin 10 mg/200 g BW/day. The treatment was given through a gastric probe for 30 days.

Results: VEGF expression decreased significantly in the X1 and X2 treatment groups compared to the K+ group ($p < 0.05$). There was no significant difference in VEGF expression between groups X1 and X2. VEGF expression and FBG levels showed insignificant results, while VEGF and TNF- α expression showed significant results with a positive relationship.

Conclusions: CP fruit juice can reduce VEGF expression in the kidneys of type 2 DM Wistar rats. The decrease in VEGF expression in the kidneys correlated with a decrease in TNF- α levels in type 2 DM Wistar rats. This indicates that CP fruit juice can be useful in preventing kidney damage due to complications of DM.

Kata kunci: *Carica pubescens*, FBG, TNF- α , Type 2 DM, VEGF