

**EKSPRESI INSULIN DAN INSULITIS  
AKIBAT PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL  
DAUN *Moringa oleifera***

**Studi pemeriksaan pada pankreas tikus Sprague-dawley yang diinduksi  
Streptozotocin**

***INSULIN EXPRESSION AND INSULITIS  
BY GRANTING LEAVES ETHANOL EXTRACT OF  
Moringaoleifera***

***Study on the examination of pancreas Sprague-dawley rat induced by  
Streptozotocin***



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

**Magister Ilmu Biomedik**

**Ratna Sulistyorini  
22010111400054**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2014**

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah 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 atau 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 atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 23 Januari 2014

Ratna Sulistyorini  
22010111400054

## KATA PENGANTAR

Segala puji penulis panjatkan kehadirat Allah Yang Maha Pengasih, yang hanya atas karuniaNya lah penulis akhirnya sampai di ujung penulisan tesis “ Ekspresi Insulin dan Insulitis Akibat Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Moringa oleifera*. Studi pemeriksaan pada pankreas tikus Sprague-dawley yang diinduksi Streptozotocin” untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai gelar Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Penulis merasa sangat bersyukur diberi kesempatan dan kekuatan untuk menyelesaikan tesis ini.

Penulis menyadari tesis ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Penghargaan yang setinggi-tingginya penulis haturkan atas kesabaran dan kebesaran hati para pembimbing , **Prof. Dr. dr. Sarjadi, Sp.PA(K)** selaku pembimbing I dan **Dr. dr. Andrew Johan, M.Si** selaku pembimbing II atas segala bimbingan, dukungan dan semangat yang telah diberikan untuk melaksanakan dan menyelesaikan tesis ini.

Penulis bermaksud untuk menyampaikan rasa terimakasih kepada semua pihak yang telah berperan, membantu dan mendorong terselesaikannya pendidikan ini. Perkenankan pula dalam kesempatan ini penulis menghaturkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan dalam rangka menyelesaikan pendidikan di Universitas Diponegoro Semarang.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan dalam rangka menyelesaikan pendidikan di Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang.
3. **Prof. Dr. dr. Winarto, DMM, Sp.MK, Sp.M(K)**, Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik periode 2010-2012 dan **Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes**, Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan dalam rangka menyelesaikan pendidikan Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro.
4. Tim penguji, **Dr. dr. RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc** dan **dr. Siti Amarwati, Sp.PA(K)** yang telah memberi masukan sehingga tesis ini menjadi lebih baik.
5. Seluruh staf pengajar Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro yang telah dengan sabar dan bijaksana mendidik kami selama studi sehingga kami dapat menyelesaikan program pendidikan ini.
6. Rektor Universitas Muhammadiyah Semarang, para Wakil Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi yang telah memberikan izin dan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan di Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro.

7. Rekan-rekan **MIB 2011**, Bu Ambar, Bu Evi, Bu Afi, Bu Nanik, Bu Dewi, Bu Yuli, Bu Rus, Bu Fitri, Mas Fikri, Pak Prahardi, Abdel, Bu Ika, Bu Nyoman, Pak Wiwin, Bu Widya, Mas Dudy dan Muti, kebersamaan kita selalu memberikan semangat setiap hari.
8. **Mbak Nata, mbak Fika dan mas Dul**, yang telah membantu dan melayani dengan sepenuh hati.
9. Staf Laboratorium PAU UGM, LPPT Unit III UGM, Laboratorium Histologi dan Biologi Sel FK UGM, Laboratorium PA FK Undip, Laboratorium Waspada Semarang yang telah membantu selama proses penelitian dan tesis.
10. dr. Noor Yazid, Sp.PA(K), dr. Dik Puspasari, Sp.PA, dr. Meira, M.Si Med, Sp.PA, dr. Ika Pawitra Miranti, M.Kes, Sp.PA, Sri Sinto Dewi, M.Si.Med dan Arya Iswara, M.Si.Med, yang telah membantu merekam dan menginterpretasikan gambar *slides*.
11. Teman-teman sejawat, **Dr. drg. Praptiwi, M.Sc, drg. Bawa Adiwinarso, drg. Budiono, drg. Lisa Oktaviana, drg. Dwi Windu dan mbak Septi**, atas semangat dan doanya.
12. **Ibunda Sri Mulyani dan Rumiya**, atas dorongan moral dan doanya yang tak pernah putus, **mas Isman Riyanto** atas doa, semangat, pengertian dan dorongannya, serta untuk bintang penyemangatku **Sarah Quroti A'yun dan Muhammad Nur Alif**.

13. Semua pihak, yang karena keterbatasan, tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan dalam penyusunan tesis ini.

Penulis menyadari, tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan penelitian ini. Harapan penulis semoga tesis ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya ilmu Biomedik.

Semarang, 23 Januari 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iv
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>SINGKATAN</b> .....	xiv
<b>ABSTRAK</b> .....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.5 Orisinalitas Penelitian .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	8
2.1 Anatomi dan histologi pankreas.....	8
2.2 Patogenesis kematian sel $\beta$ pankreas .....	9
2.3 Sintesis dan sekresi insulin.....	11
2.4 Induksi streptozotocin.....	13
2.5 Tanaman kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ).....	16

### **BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP**

<b>DAN HIPOTESIS .....</b>	<b>24</b>
3.1 Kerangka Teori .....	24
3.2 Kerangka Konsep .....	25
3.3 Hipotesis .....	25

### **BAB IV METODE PENELITIAN .....**

4.1 Ruang Lingkup Penelitian .....	26
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	26
4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian .....	26
4.4. Populasi dan Sampel Penelitian .....	27
4.4.1 Populasi Penelitian .....	27
4.4.2 Sampel Penelitian .....	27
4.4.2.1 Besar Sampel .....	27
4.4.2.2 Cara Pengambilan Sampel .....	27
4.5 Variabel Penelitian .....	28
4.5.1 Variabel Bebas .....	28
4.5.2 Variabel Tergantung .....	28
4.6 Definisi Operasional .....	29
4.7 Analisis data.....	31
4.8 Bahan dan Alat .....	31
4.8.1 Bahan .....	31
4.8.2 Alat .....	32
4.9 Cara Kerja .....	33
4.9.1. Ekstraksi Moringa oleifera .....	33
4.9.2. Induksi Streptozotocin.....	34



4.9.3. Pemberian Ekstrak daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> )	34
4.9.4 Pemeriksaan kadar glukosa darah .....	34
4.10 Alur kerja.....	35
4.11 Etika penelitian.....	37
<b>BAB V HASIL</b> .....	38
<b>BAB VI PEMBAHASAN</b> .....	45
<b>BAB VII SIMPULAN DAN SARAN</b> .....	52
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	53
<b>LAMPIRAN</b> .....	60

## GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Moringa oleifera</i> .....	17
2. Skema Rancangan Penelitian.....	26
3. Alur kerja penelitian .....	35
5. Box plot Rerata Allred Score ekspresi insulin.....	39
6. Allred score pankreas.....	43
A. INS positif pada kelompok P1, <i>Allred score</i> 8 (5+3).....	43
B. INS positif pada kelompok P2, <i>Allred score</i> 8 (5+3).....	43
C. INS positif pada kelompok KH3, <i>Allred score</i> 3 (2+1).....	43
D. INS positif pada kelompok KH24, <i>Allred score</i> 4 (2+2).....	43
7. Derajat insulitis pankreas.....	44
A. Insulitis sedang.....	44
B. Insulitis berat.....	44
C. Insulitis ringan.....	44
D. Pulau Langerhans.....	44

## TABEL

Tabel	Halaman
1. Orisinalitas penelitian .....	6
2. Rerata <i>Allred Score</i> ekspresi insulin .....	38
3. Hasil pemeriksaan insulitis.....	40
4. Hasil pemeriksaan insulitis berdasarkan kelompok.....	41

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Ethical Clearance	60
2. Surat Keterangan Penelitian	61
3. Surat Keterangan Identifikasi/determinasi	62
4. Pembuatan sediaan histopatologik	63
5. Pengecatan rutin jaringan Hematoxylin-Eosin (HE)	65
6. Pembuatan sediaan immunohistokimia insulin	69
7. <i>Allred score</i>	74
8. Penilaian insulitis	76
9. Data Hasil Penelitian	77
10. Hasil uji statistik	79
11. Hasil uji kappa ekspresi insulin	92
12. Hasil uji kappa derajat insulitis	93

## SINGKATAN

ADP	:	<i>adenosine di-phosphate</i>
ATP	:	<i>adenosine tri-phosphate</i>
DNA	:	<i>deoxyribonucleic acid</i>
DM	:	<i>diabetes mellitus</i>
IL-1 $\beta$	:	<i>interleukin-1 <math>\beta</math></i>
GLUT 2	:	<i>glucose transporters 2</i>
GLUT 4	:	<i>glucose transporters 4</i>
I $\kappa$ B	:	<i>Inhibitor <math>\kappa</math>B</i>
iNOS	:	<i>inducible nitricoxide synthase</i>
TNF- $\alpha$	:	<i>tumor necrotizing factors- <math>\alpha</math></i>
IFN- $\gamma$	:	<i>interferon- <math>\gamma</math></i>
MAPK	:	<i>mitogen activated protein kinase</i>
mRNA	:	<i>messenger ribonucleic acid</i>
NF- $\kappa$ B	:	<i>nuclear factor- <math>\kappa</math>B</i>
NAD <sup>+</sup>	:	<i>nicotinamide adenine dinucleotide</i>
NO	:	<i>nitric oxide</i>
ROS	:	<i>reactive oxygen species</i>
STAT-1	:	<i>signal transducers and activators of trancription</i>
STZ	:	<i>streptozotocin</i>



## ABSTRACT

**Background:** *Quercetin content in Moringa oleifera has potential effect as antioxidant and anti-inflammation by inhibiting the activity of NF- $\kappa$ B, and triterpenoids stimulate pancreatic  $\beta$  cell regeneration and increases insulin secretion. This research was aimed to find out the effect of Moringa oleifera extract towards insulinitis and insulin expression in pancreas of Sprague-Dawley male rats.*

**Method:** *These research design was randomized post test only controlled group. Twenty four rats were included Blood glucose test was performed on the third day after the streptozotocin induction to ensure that all rats were in hyperglycemic condition. The rats then, were divided into three groups: one hyperglycemic group and two treatment groups whom received Moringa oleifera ethanolic leaves extract doses of 250 and 500 mg / kg / day for 21 days, respectively. Histopathological analysis of pancreas were performed evaluating insulinitis based on infiltration of mononuclear inflammatory cells to the Langerans islets. Insulin expression was evaluated using Allred score. Statistical analysis was Kruskal-Wallis test which followed Mann-Whitney , with significancy level of  $p < 0.05$ .*

**Result:** *The insulinitis degree and insulin expression of two treatment groups were significantly different compared with the hyperglycemic group.*

**Conclusion:** *Moringa oleifera ethanolic leaves extract doses of 250 and 500 mg/kg/day cause higher insulin expression and lower insulinitis degree than hyperglycemic group.*

**Key words:** *Moringa oleifera, streptozotocin, insulin expression, level of insulinitis*

## ABSTRAK

**Latar belakang** : Kandungan quercetin pada *Moringa oleifera* secara ilmiah memiliki potensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi dengan menghambat aktivitas NF- $\kappa$ B, dan triterpenoid menstimulasi regenerasi sel  $\beta$  pankreas dan meningkatkan sekresi insulin. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun *Moringa oleifera* terhadap insulinitis dan ekspresi insulin pankreas tikus Sprague-dawley jantan.

**Metode** : Penelitian ini menggunakan desain *randomized post test only controlled group*. Hewan coba sebanyak 24 ekor tikus, diperiksa kadar gula darahnya pada hari ketiga setelah induksi streptozotocin, untuk melihat tikus sudah dalam keadaan hiperglikemik. Tikus kemudian dibagi dalam tiga kelompok: satu kelompok hiperglikemik dan dua kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol daun *Moringa oleifera* dosis 250 dan 500 mg/kg/hari selama 21 hari. Gambaran histopatologi dinilai derajat insulinitis pada pulau Langerhans dan dinilai ekspresi insulin dengan skor *Allred*. Uji statistik yang digunakan adalah *Kruskal Wallis* dilanjutkan *Mann-Whitney* dengan taraf kemaknaan  $p < 0,05$  karena data tidak berdistribusi normal.

**Hasil**: Derajat insulinitis dan ekspresi insulin pankreas tikus pada kedua kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan bermakna dibandingkan dengan kelompok hiperglikemik.

**Simpulan**: Ekstrak etanol daun *Moringa oleifera* dosis 250 dan 500 mg/kg menyebabkan ekspresi insulin lebih tinggi dan derajat insulinitis lebih rendah dibanding dengan kelompok hiperglikemik.

**Kata kunci**: *Moringa oleifera*, streptozotocin, insulinitis, ekspresi insulin