

**Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam untuk menurunkan
Ekspresi VEGF Podosit Glomerulus Tikus *Sprague dawley*
Diabetes Melitus**

*Aethanol Extracts of Syzygium polyanthum Folium
to Decrease Glomerular Podocyte VEGF Expression
Sprague dawley Rats with DM*



Tesis
Disusun untuk memenuhi persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-2
Magister Ilmu Biomedik

Zulfa Atabaki
22010112410003

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2014

TESIS

Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam untuk menurunkan
Ekspresi VEGF Podosit Glomerulus Tikus *Sprague dawley*
Diabetes Melitus

disusun oleh

Zulfa Atabaki
22010112410003

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 28 Agustus 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui
Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. dr. Winarto, DMM, Sp.MK, Sp.M(K)
NIP.19490617 197802 1 001

Prof. Dr.dr.Tri Nur Kristina,DMM,M.Kes
NIP.19590527 198603 2 001

Mengetahui

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Prof. Dr.dr.Tri Nur Kristina,DMM,M.Kes
NIP.19590527 198603 2001

LEMBAR MONITORING PERBAIKAN : UJIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan dengan sebenarnya bahwa saya telah menyetujui **Perbaikan Ujian Tesis** yang diajukan pada tanggal 25 September 2014 atas :

Nama Mahasiswa : Zulfa Atabaki

NIM : 22010112410003

Judul : Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam untuk menurunkan Ekspresi VEGF Podosit Glomerulus Tikus *Sprague dawley* Diabetes Melitus

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

***Diletakkan di halaman setelah lembar Pengesahan “Proposal Tesis yang telah direvisi dan Hasil Penelitian Tesis”**

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. Pengetahuan yang diperoleh dari penerbitan maupun yang belum/ tidak diterbitkan dijelaskan didalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 29 Agustus 2014

Zulfa Atabaki
NIM: 22010112410003

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

1. Nama : Ns. Zulfa Atabaki S.Kep., Msi.Med.
2. Tempat/ Tanggal Lahir : Brebes, 30 Juli 1980
3. Agama : Islam
4. Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Medono VIII Pekalongan, lulus tahun 1992
2. MTs Salafiyah Pekalongan, lulus tahun 1995
3. MAN Babakan Tegal, lulus tahun 1998
4. SI Keperawatan Universitas Indonesia, lulus tahun 2007
5. Program Magister Ilmu Biomedik Pasca Sarjana Universitas Diponegoro 2012, lulus 28 Agustus 2014.

C. Riwayat Pekerjaan

Staff pengajar Program Studi Keperawatan Stikes Muhammadiyah
Pekajangan Pekalongan (2003 – sekarang)

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua : Drs. Achfas / Nasikha
2. Nama Suami : Dayus Adi Pamungkas, MKM
3. Nama Anak : Mazaya Zafarina
Vania Anindita

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Alloh Subhanahu Wata'ala atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis diberikan kemudahan dalam menyelesaikan tesis dengan judul **"Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam untuk menurunkan Ekspresi VEGF Podosit Glomerulus Tikus *Sprague dawley* Diabetes Melitus"**. Tesis ini untuk memenuhi syarat mencapai gelar Magister pada Program Pascasarjana Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Penyusunan tesis ini dapat terselesaikan atas ketulusan Prof. Dr. dr. Winarto, DMM,Sp.MK,Sp.M(K) dalam memberikan bimbingan sebagai pembimbing utama dan Prof. Dr.dr.Tri Nur Kristina,DMM,M.Kes sebagai pembimbing kedua. Penulis berusaha memberikan karya terbaik , sebagai ucapan terimakasih atas kesabaran beliau selama proses penyusunan tesis. Pada kesempatan ini, penulis juga menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Sudharto P. Hadi, MES,Ph.D Rektor Universitas Diponegoro atas kesempatan, sarana dan prasarana yang telah disediakan sebagai penunjang keberhasilan selama proses pendididkan di Program Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr Endang Ambarwati SpRM. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Diponegoro atas kesempatan, sarana dan prasarana yang telah

disediakan sebagai penunjang keberhasilan selama proses pendidikan di Program Magister Ilmu Biomedik

3. Prof. Dr. dr. Anies, PKK, Mkes. Direktur Program Pascasarjana Universitas Diponegoro atas kesempatan, sarana dan prasarana yang telah disediakan sebagai penunjang keberhasilan selama proses pendidikan di Program Magister Ilmu Biomedik.
4. Prof. Dr.dr.Tri Nur Kristina,DMM,M.Kes. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro atas motivasi dan bimbingan selama proses pendidikan di Program Magister Ilmu Biomedik.
5. Prof.Dr.dr.Winarto,DMM,Sp.MK, serta Prof.Dr.dr.Tri Nur Kristina, DMM,M.Kes yang telah berkenan membimbing, memberikan saran dan masukan selama penyusunan tesis.
6. Dr.dr.RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc Dr. dr. Indranila Kustarini Sp.PK (K) dan Dr. dr. Indranila Kustarini Sp.PK (K) yang telah berkenan memberikan saran selama ujian proposal dan tesis.
7. Semua Dosen yang telah memberikan ilmu selama proses pendidikan di Program Magister Ilmu Biomedik, yang telah memperkaya khazanah keilmuan kami.
8. dr Didik S,Sp.PA.,PhD. dan dr Nur Hidayah, Sp.PA yang telah berkenan memberikan masukan dan saran dalam pembacaan ekspresi VEGF podosit glomerulus .

9. Kedua orangtua yang selalu memberikan motivasi dan semangat serta dukungan doa.
10. Suami dan kedua putriku tersayang Mazaya Zafarina dan Vania Anindita atas kasih sayang, kesabaran dan dukungan semangatnya
11. Mba Nata, mba Fika dan Bang Dunl atas bantuan selama pendidikan pada Program Magister Biomedik Universitas Diponegoro
12. Teman-teman kuliah di Program Magister Ilmu Biomedik atas dukungan dan semangatnya
13. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, yang turut membantu dan mendukung pendidikan kami selama ini.

Sungguh penulis menyadari sepenuhnya bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, maka penulis mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan tesis ini. Dengan segala kerendahan hati, penulis berharap karya ini dapat bermanfaat dalam bidang kesehatan dan semoga Alloh Subhanahu Wata'ala senantiasa memberkahi dan merahmati kita semua, amiiin.

Semarang , 29 Agustus 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	HALAMAN JUDUL	i
	LEMBAR PENGESAHAN	ii
	DAFTAR ISI	iii
	DAFTAR SINGKATAN	vi
	DAFTAR GAMBAR	vii
	DAFTAR TABEL	viii
	ABSTRAK	ix
BAB I	PENDAHULUAN	
	1.1. Latar Belakang.....	1
	1.2. Perumusan Masalah.....	4
	1.3. Tujuan Penelitian.....	4
	1.4. Manfaat Penelitian.....	5
	1.5. Orisinalitas.....	6
BAB II	TINJAUAN PUSTAKA	
	2.1. VEGF pada Diabetes Melitus.....	8
	2.2. Faktor yang mempengaruhi Ekspresi VEGF.....	11
	2.2.1 Hipoksia.....	12
	2.2.2 Sistem Renin Angiotensin.....	13
	2.2.3 Reactive oxygen spesies and Nitric oxide.....	14

	2.2.4 Advanced glycation end product.....	15
	2.3. Mediator yang menghambat ekspresi VEGF.....	15
	2.4. Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum (Wight.) Walp.</i>)	
	2.4.1. Morfologi.....	16
	2.4.2. Taxonomy.....	16
	2.4.3. Peran Daun Salam dalam menurunkan VEGF.....	17
	2.5. Streptozotocin.....	19
BAB III	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
	3.1. Kerangka Teori.....	24
	3.1.1. Kerangka Konsep.....	24
	3.1.2. Hipotesis.....	24
BAB IV	METODE PENELITIAN	
	4.1. Desain Penelitian.....	27
	4.2. Populasi dan Sampel	
	4.2.1. Populasi.....	25
	4.2.2. Sampel dan Besar Sampel.....	27
	4.2.3. Kriteria Sampel.....	27
	4.3. Variabel Penelitian.....	28
	4.3.1. Definisi Operasional Penelitian.....	29
	4.3.2. Pengolahan dan analisa Data.....	30
	5.1. Alat dan Bahan.....	31
	6.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	32

	7.1. Alur Penelitian.....	33
	8.1. Teknik Pengumpulan Data	
	8.1.1. Aklimatisasi.....	34
	8.1.2. Randomisasi.....	34
	8.1.3. Ethical Clearance.....	34
BAB V	HASIL PENELITIAN	
	5.1. Hasil uji pendahuluan.....	35
	5.1.1. Penentuan DM setelah induksi STZ.....	35
	5.1.2. Pemberian EEDS.....	36
	5.2. Karakteristik GDS, Pre-EEDS dan Post-EEDS.....	38
	5.3. Hasil Penelitian.....	39
	5.4. Karakteristik BB, GDS dan HbA1c Post-EEDS.....	41
	5.5. Perbandingan GDS Pre-EEDS dan Post-EEDS pada penelitian akhir.....	42
	5.6. Uji statistik reliabilitas terhadap Allred score ekspresi VEGF podosit glomerulus pembaca satu dan dua.....	42
	5.7. Distribusi Allred score ekspresi VEGF hewan uji berdasarkan dosis pemberian EEDS.....	43
BAB VI	PEMBAHASAN	
	6.1. Pengaruh pemberian EEDS terhadap GDS.....	44
	6.2. Pengaruh pemberian EEDS terhadap ekspresi VEGF podosit glomerulus ginjal.....	46
	6.3. Keterbatasan penelitian.....	51
BAB VIII	SIMPULAN DAN SARAN	
	7.1 Simpulan.....	52
	7.2 Saran.....	52

DAFTAR SINGKATAN

DM	: <i>diabetes melitus</i>
VEGF	: vascular endothelial growth factor
STZ	: <i>streptozotosin</i>
HIF	: <i>hipoxia induceble factor</i>
PKC	: <i>protein kinase c</i>
ERK	: <i>ektracellular signaling regulated kinase</i>
AGEs	: <i>advanced glycosylation end products</i>
TGF- β	: <i>transforming growth factor-β</i>
NF- κ B	: <i>nuclear factor -κb</i>
NADPH	: <i>nicotinamide adenin dinucleotide phospatase</i>
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
Ang II	: <i>angiotensin II</i>
EEDS	: <i>ekstrak etanol daun salam</i>
ACE	: <i>angiotensin converting enzim</i>
ECM	: <i>ektrasellular matrik</i>
RAGE	: <i>Reseptor advanced glycosylation end products</i>
CTGH	: <i>connective tissu growth factor</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	:	Dinding Kapiler Glomerulus.....	10
Gambar 2	:	Pathway Peningkatan VEGF pada Diabetes Melitus.....	11
Gambar 3	:	Daun Salam.....	16
Gambar 4	:	Struktur Kimia Streptozotosin.....	20
Gambar 5	:	Mekanisme induksi kerusakan sel beta pankreas.....	22
Gambar 6	:	Bagan Kerangka Teori.....	24
Gambar 7	:	Bagan Kerangka Konsep Penelitian.....	24
Gambar 8	:	Bagan Disain Penelitian.....	26
Gambar 9	:	Bagan Alur Penelitian.....	33
Gambar 10	:	Allred score : 1 pada ekspresi VEGF podosit glomerulus.....	47
Gambar 11	:	Allred score : 0 pada ekspresi VEGF podosit glomerulus.....	47

DAFTAR TABEL

Tabel 1	:	Orisinalitas Penelitian.....	6
Tabel 2	:	Definisi Operasional.....	30
Tabel 5.1	:	Karakteristik BB, rata-rata GDS uji pendahuluan setelah induksi STZ.....	36
Tabel 5.2	:	Hasil uji fitokimia EEDS.....	37
Tabel 5.3	:	Karakteristik GDS, mean,median, SD dan nilai minimal-maksimal Pre EEDS dan Post- EEDS penelitian awal.....	38
Tabel 5.4	:	Perbandingan karakteristik GDS, mean,dan SD pre-EEDS dan post-EEDS penelitian awal.....	39
Tabel 5.5	:	Karakteristik BB, GDS Pre-EEDS.....	40
Tabel 5.6	:	Karakteristik BB, GDS dan HbA1c Post-EEDS.....	41
Tabel 5.7	:	Perbandingan GDS Pre-EEDs dan Post-EEDS pada penelitian akhir.....	42
Tabel 5.7	:	Allred score ekspresi VEGF hewan uji berdasarkan dosis pemberian EEDS.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 : *Ethical Clearance*
- Lampiran 2 : Ijin Penelitian
- Lampiran 3 : S.K. Standar Pemeliharaan hewan
- Lampiran 4 : Prosedur pemberian pakan hewan
- Lampiran 5 : Surat ket. determinasi *Syzygium polyanthum*
- Lampiran 6 : Prosedur pembuatan EEDS
- Lampiran 7 : Hasil pemeriksaan uji fitokimia
- Lampiran 8 : Prosedur pemberian *streptozotosin*
- Lampiran 9 : Prosedur pembuatan buffer sitrat
- Lampiran 10 : Rekapitulasi hasil pemeriksaan GDS dan HbA1c
- Lampiran 11 : Prosedur pemeriksaan IHC
- Lampiran 12 : Allred score VEGF podosit glomerulus
- Lampiran 13 : Uji reliabilitas
- Lampiran 14 : Uji statistik
- Lampiran 15 : Surat keterangan selesai penelitian

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

Zulfa Atabaki, Winarto, Tri Nur Kristina.

ABSTRAK

Latar belakang : Diabetes melitus dapat mengakibatkan stres oksidatif yang menyebabkan peningkatan ekspresi VEGF podosit glomerulus. Peningkatan VEGF merupakan salah satu penyebab disfungsi endotel yang mengarah pada komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler. Salah satu pencegahan peningkatan ekspresi VEGF podosit ginjal adalah pemberian antioksidan yang terkandung dalam ekstrak daun salam. Tujuan penelitian ini untuk membuktikan bahwa pemberian EEDS dapat menurunkan ekspresi VEGF podosit glomerulus Tikus *Sprague dawley* diabetes melitus..

Metode : Penelitian eksperimental laboratorik dengan disain *randomized post test only control group design*, pada 20 ekor tikus *Sprague dawley* jantan. Kelompok penelitian dibagi menjadi empat kelompok secara acak masing - masing lima ekor, Kelompok EEDS (-), dan 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 VEGF podosit glomerulus dinilai secara imunohistokimia dengan *allred score*.

Hasil : Rerata *allred score* ekspresi VEGF podosit glomerulus pada kelompok kontrol ($1,2 \pm 1,09$), dosis satu ($1,3 \pm 1,15$), dosis dua ($0,50 \pm 1,00$) dan dosis tiga ($0,00$). Hasil analisa *Kruskall Wallis* tidak ada perbedaan ekspresi VEGF podosit glomerulus diantara masing-masing kelompok penelitian ($p=0.20$). Dosis 450 mg/ 200 gr BB dapat menurunkan ekspresi VEGF podosit glomerulus walaupun tidak bermakna ($p = 0.07$)

Simpulan : Pemberian EEDS tidak dapat menurunkan ekspresi VEGF podosit glomerulus Tikus *Sprague dawley* DM. Disarankan penelitian lebih lanjut untuk mengobservasi ekspresi VEGF pada tubulus distal dan proksimal ginjal.

Kata kunci: Ekspresi VEGF podosit glomerulus, EEDS, Diabetes Melitus.

Aethanol Extracts of *Syzygium polyanthum* Folium to Decrease Glomerular Podocyte VEGF Expression Sprague dawley Rats with DM

Zulfa Atabaki, Winarto, Tri Nur Kristina.

ABSTRACT

Background: Diabetes mellitus affects an oxidative stress, which increased the VEGF podosit glomerulus expression. The VEGF enhancement is one of the causes of endothelial dysfunction that leads to microvascular and macrovascular complications. It might be prevent by antioxidants in bay leaves extraction. The study aimed to investigate whether the EEDS administration can decrease the expression of VEGF podosit glomerular among diabetic *Sprague dawley* rats.

Methods: This is applied laboratory experimental studies laboratory with randomly post-test only control group design. Twenty *Sprague dawley* rats were divided into four groups randomly, that contains five rats in each groups. The EEDS Group (-), and the EEDS group (+) with doses of 150 mg / 200 g BB; 300 mg / 200 g BB and 450 mg / 200 g BB for 15 days after the streptozotocin induction. Immunohistochemical allred score was used to assess VEGF podosit glomerular expression.

Results: The was allred score of VEGF podosit glomerular expression in the control group (1.2 ± 1.09), first dose (1.3 ± 1.15), second dose (0.50 ± 1.00) and third dose (0 , 00). Krusskall Wallis analysis showed no differences of the VEGF podosit glomerular expression in each group ($p = 0.20$). At a dose of 450 mg / 200 g BB VEGF podosit glomerular expression slightly decrease ($p = 0.07$)

Conclusion: EEDS administration could not decrease the VEGF podosit glomerular expression in diabetic *Sprague dawley* rats. It is suggested to conduct further research to examine the VEGF expression distal and proximal renal tubules.

Keywords: VEGF podosit in glomerular expression, EEDS, Diabetes Mellitus.