

**Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam
Untuk Menurunkan Ekspresi Laminin Mesangial
Tikus *Sprague Dawley* DM**

*Extracts eathanol of Syzygium Polyanthum to decrease mesangial
laminin exspression Sprague Dawley with DM*



Tesis

Disusun untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat S-2

Nurul Aktifah
22010112410004

**Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro
2014**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa tesis ini hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesajaraan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penelitian ini yang belum atau tidak dipublikasikan, sumbernya dijelaskan dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Agustus 2014

Penulis

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Nurul Aktifah
Tempat/Tanggal Lahir : Batang, 31 Desember 1980
Agama : Islam

B. Riwayat Pendidikan

1. SD Negeri 01 Krengseng Gringsing : Lulus tahun 1993
2. SMP Negeri 01 Gringsing Batang : Lulus tahun 1995
3. SMA Negeri 01 Kaliwungu Kendal : Lulus tahun 1998
4. Akper Ngudi Waluyo Ungaran : Lulus tahun 2001
5. Prog. Studi Ilmu Keperawatan FK UNDIP : Lulus tahun 2005
6. Prog. Profesi Keperawatan UNDIP : Lulus tahun 2006
7. Magister Ilmu Biomedik UNDIP : 2012 – Sekarang

C. Riwayat Pekerjaan

1. RS Roemani Semarang : 2002 – 2003
2. Stikes Widya Husada : 2006 – 2007
3. Stikes Muhammadiyah Pekalongan : 2007 - Sekarang

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua
Ayah : Moch. Khaeri
Ibu : Umi Hanifah
2. Nama Suami : Farkhan
3. Nama Anak : Fathir Muhammad Al Fikri Hoirunnawa

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat, karunia dan nikmat yang tidak pernah putus selalu kita rasakan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul “Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam untuk Menurunkan Ekspresi Laminin Mesangial Tikus *Sprague Dawley* DM” dalam rangka memenuhi persyaratan mencapai gelar Magister Ilmu Biomedik di Program Pasca Sarjana Universitas Dionegoro Semarang.

Penulis menyadari tesis ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Kepada **Prof. Dr. Dr. Winarto, DMMM, Sp. MK.M(K)** selaku pembimbing pertama dan **Prof. Dr.dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes** selaku pembimbing kedua atas segala bimbingan, dukungan dan semangat yang telah diberikan untuk melaksanakan dan menyelesaikan tesis ini. Perkenankan dalam kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan pendidikan di Universitas Diponegoro Semarang.
2. Direktur Program Studi Pasca Sarjana Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan pendidikan Pasca Sarjana Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang.

3. **Prof. Dr.dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes**, Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan pendidikan Pasca Sarjana Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang.
4. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan pendidikan Pasca Sarjana Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang.
5. Seluruh tim penguji **Prof. Dr. Dr. Winarto, DMMM, Sp. MK.M(K); Prof. Dr.dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes; Dr. Dr. Indranila Kustarini, Sp. PK (K); Dr. Dr. RA. Kisdjamiatun, RMD** yang telah memberi masukan kepada kami sehingga tesis ini lebih baik.
6. Seluruh staf pengajar dan staf Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro yang telah dengan sabar dan bijaksana mendidik kami sehingga kami dapat menyelesaikan program pendidikan ini.
7. Ketua dan segenap civitas akademika STIKES Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan yang telah memberikan kesempatan, bantuan dan semangat kepada kami sehingga kami dapat menyelesaikan program pendidikan ini.
8. Keluargaku yang senantiasa memberi do'a, kesempatan, bantuan dan semangat kepada kami sehingga kami dapat menyelesaikan program pendidikan ini.
9. Rekan- rekan Magister Ilmu Biomedik 2012

10. Semua pihak yang tidak dapat peneliti sebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan dalam penyusunan tesis ini.

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

Semarang, Agustus 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR MONITORING	iii
PERNYATAAN	iv
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
ABSTRAK	xvii
BAB I	PENDAHULUAN	
	1.1. Latar Belakang.....	1
	1.2. Perumusan Masalah.....	6
	1.3. Orisinalitas Penelitian.....	7
	1.4. Manfaat Penelitian.....	9
	1.5. Tujuan Penelitian.....	10
BAB II	TINJAUAN PUSTAKA	
	2.1. Ekspresi Laminin Mesangial pada DM.....	11
	2.2. Faktor yang mempengaruhi Ekspresi Laminin.....	
	2.2.1. <i>Reactive Oxygen Species</i>	13

	2.2.2. Jalur Poliol.....	14
	2.2.3. <i>Advanced Glycation End Product</i>	15
	2.2.4. NF- κ B/NADPH.....	17
	2.2.5. <i>Transforming Growth Factor-β</i>	18
	2.2.6. <i>Hexamine Biosintesis Pathway</i>	19
	2.2.7. Aktivasi Protein Kinase C.....	19
	2.2.8. Angiotensin II.....	21
	2.3. Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum (Wight.) Walp.</i>)	
	2.3.1. Morfologi.....	22
	2.3.2. Taxonomy.....	22
	2.3.3. Manfaat.....	23
	2.3.4. Kandungan Kimiawi.....	23
	2.3.5. Aktivitas Flavonoid terhadap DM.....	23
	2.4. Tikus DM yang diinduksi <i>Streptozotocin</i>	25
BAB III	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
	1.1. Kerangka Teori.....	28
	1.2. Kerangka Konsep.....	29
	1.3. Hipotesis.....	29
BAB IV	METODE PENELITIAN	
	4.1. Desain Penelitian.....	30
	4.2. Pengolahan dan Analisa Data.....	33
	4.3. Populasi dan Sampel	

4.3.1. Populasi.....	33
4.3.2. Sampel dan Besar Sampel.....	33
4.3.3. Kriteria Sampel.....	34
4.4. Variabel Penelitian.....	34
4.5. Definisi Operasional Penelitian.....	35
4.6. Alat dan Bahan.....	36
4.7. Tempat dan Waktu Penelitian.....	36
4.8. Alur Penelitian.....	37
4.9. Teknik Pengumpulan Data	
4.9.1. Aklimatisasi.....	38
4.9.2. Randomisasi.....	39
4.10. <i>Ethical Clearance</i>	39
BAB V HASIL PENELITIAN	
5.1. Hasil Uji Pendahuluan.....	40
5.1.1. Penentuan DM post induksi STZ.....	40
5.1.2. Pemberian EEDS.....	41
5.1.3. Karakteristik GDS, Pre Post EEDS Penelitian	43
Awal	
5.2. Hasil Penelitian.....	44
5.2.1. Karakter BB, GDS, HbA1c Post EEDS.....	45
5.2.2. Perbandingan GDS Pre dan Post EEDS Penelitian	46
Akhir.....	
5.2.3. Uji Statistik Realibilitas terhadap Allred Score	48
Laminin Mesangail.....	
5.2.4. Uji Statistik Kappa terhadap Allred Score	48

	Laminin Mesangial.....	
	5.2.5. Distribusi Ekspresi Laminin Mesangial Hewan Uji berdasarkan Dosis EEDS.....	49
BAB VII	PEMBAHASAN	
	6.1. Pengaruh Pemberian EEDS terhadap GDS.....	53
	6.2. Pengaruh Pemberian EEDS terhadap Ekspresi Laminin Mesangial.....	55
	6.3. Keterbatasan Penelitian.....	59
BAB VIII	SIMPULAN DAN SARAN	
	7.1. Simpulan.....	60
	7.2. Saran.....	60

DAFTAR SINGKATAN

DM	: <i>diabetes melitus</i>
CHF	: <i>cronic heart failure</i>
CRF	: <i>cronic renal failure</i>
ECM	: <i>extracellular matrix</i>
GBM	: <i>glomerular basement membrane</i>
PKC	: <i>protein kinase c</i>
PKA	: <i>protein kinase a</i>
AGEs	: <i>advanced glycosylation end products</i>
GH	: <i>growth factor</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>
HBP	: <i>hexosamine biosynthesis pathway</i>
EEDS	: <i>ekstrak etanol daun salam</i>
GFA	: <i>fructose-6-phosphate amidotransferase</i>
STZ	: <i>streptozotocin</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Perubahan Karakter Glomerulus pada DM.....	12
Gambar 2.	Mekanisme AGEs Menyebabkan Komplikasi DM.....	17
Gambar 3.	Konsekuensi Hiperglikemi dari Aktivasi PKC.....	20
Gambar 4.	Peran Hiperglikemi terhadap PKC, CTGF dan TGF- β	21
Gambar 5.	Mekanisme Induksi Kerusakan Sel β Pankreas oleh STZ.....	26
Gambar 6.	Bagan Kerangka Teori Penelitian.....	28
Gambar 7.	Kerangka Konsep.....	29
Gambar 8.	Desain Penelitian <i>Post Test Only Control Group</i>	32
Gambar 9.	Bagan Alur Penelitian.....	37
Gambar 10.	Ekspresi laminin mesangial glomerulus ginjal tikus SD (P3-3) dengan proporsi score (PS) : 1 dan intensitas score (IS) : 1.....	49
Gambar 11.	Ekspresi laminin mesangial glomerulus ginjal tikus SD (P3-3) dengan proporsi score (PS) : 5 dan intensitas score (IS) : 2.....	50
Gambar 12.	Ekspresi laminin mesangial glomerulus ginjal tikus SD (P2-4) dengan proporsi score (PS) : 4 dan intensitas score (IS) : 2.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1.	Orisinalitas Penelitian.....	7
Tabel 3.1.	Definisi Operasional.....	35
Tabel 5.1.	Karakter BB, rata-rata GDS Uji Pendahuluan.....	40
Tabel 5.2.	Hasil Uji Fitokimia EEDS.....	41
Tabel 5.3.	Karakteristik GDS Mean, Median, Standar Deviasi dan Nilai Minimum-Maksimum Pre Post Penelitian Awal.....	43
Tabel 5.4.	Perbandingan Karakteristik GDS Mean, Median, Standar Deviasi dan Nilai Minimum-Maksimum Pre Post Penelitian Awal.....	43
Tabel 5.5.	Karakteristik BB, GDS Pre EEDS.....	45
Tabel 5.6.	Karakteristik BB, GDS dan HbA1c Post EEDS.....	45
Tabel 5.7.	GDS Pre Post EEDS pada Penelitian Akhir.....	47
Tabel 5.8.	Skor Laminin Hewan Coba berdasarkan Dosis EEDS.....	51

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Lampiran

- 1 *Ethical clearance*
- 2 Ijin Penelitian
- 3 Prosedur Pemeliharaan Hewan
- 4 Prosedur Pemberian Pakan
- 5 Prosedur Pembuatan EEDS
- 6 Hasil Uji Zat Bioaktif yang Terkandung dalam EEDS
- 7 Proses Pembuatan STZ
- 8 Proses Pemeriksaan GDS dan HbA1c
- 9 Rekapitulasi Hasil Pemeriksaan GDS dan HbA1c
- 10 Print Out Data Statistik
- 11 Surat Keterangan Selesai Penelitian

Nurul Aktifah, Winarto, Tri Nur Kristina, Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam untuk Menurunkan Ekspresi Laminin Mesangial Glomerulus Tikus *Sprague dawley* DM

ABSTRAK

Latar belakang : Diabetes melitus merupakan gangguan metabolik dengan hiperglikemia sebagai tanda utama yang menimbulkan stres oksidatif menyebabkan peningkatan ekspresi laminin mesangial glomerulus sehingga terjadi penurunan fungsi glomerulus. Salah satu pencegahan yang dapat dilakukan untuk mencegah terjadinya peningkatan ekspresi laminin mesangial adalah dengan pemberian antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etanol daun salam. Tujuan penelitian ini adalah membandingkan ekspresi laminin mesangial kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Metode : Penelitian ini menggunakan *Randomized post test only control group design* pada 20 ekor tikus *Sprague dawley* jantan dengan masing – masing kelompok berjumlah 5 ekor yang terbagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol tanpa diberi EEDS, kelompok 2 dengan EEDS dosis 150 mg/200 gr BB, kelompok 3 dengan dosis 300 mg/ 200 gr BB dan kelompok 4 dengan dosis 450 mg/ 200 gr BB yang diberikan selama 15 hari *post* induksi *streptozotocin* pada hari keempat. Ekspresi laminin mesangial glomerulus dinilai dengan allred score secara imunohistokimia. Beda ekspresi laminin mesangial pada masing-masing kelompok diuji dengan uji *Kruskall-Wallis* dilanjutkan *Mann-Whitney*

Hasil : Hasil rerata allred score ekspresi laminin mesangial glomerulus pada kelompok dosis 450 mg/200grBB lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan 150 mg/200grBB dan 300 mg/200grBB dengan nilai (3,5±0,5). Hasil analisa uji *Kruskall-Wallis* pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan terdapat perbedaan secara bermakna ($p=0,02$; $p<0.05$). Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan kelompok kontrol-perlakuan 1 $p=0,1$, kelompok kontrol-perlakuan 2 $p=0,01$ dan kelompok kontrol-perlakuan 3 $p=0,43$.

Simpulan : Ekspresi laminin mesangial glomerulus pada kelompok perlakuan 2 lebih rendah secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol.

Kata Kunci: Ekspresi laminin mesangial glomerulus, EEDS, diabetes melitus.

Nurul Aktifah, Winarto, Tri Nur Kristina, **Extracts Eathanol of Syzygium Polyanthum to Decrease Mesangial Laminin Exspression Sprague Dawley With DM**

ABSTRACT

Background: Diabetes mellitus is a metabolic disorder with hyperglycemia as a major sign that cause oxidative stress leads to increased expression of glomerular mesangial laminin resulting in decreased glomerular function. One of the precautions that can be taken to prevent an increase in mesangial laminin expression is by administering antioxidants contained in the ethanol extract of bay leaves. The study aimed to compare the expression of laminin mesangial between control group and experiment group with receive EEDS.

Methods: This study used a randomized control group post-test only design in 20 Sprague-Dawley male rats which were divided into 4 groups, each group contains 5 rats. The groups are: control group without any EEDS, group 2 with EEDS dose of 150 mg / 200 g BB, group 3 with a dose of 300 mg / 200 g BB and group 4 with a dose of 450 mg / 200 g BB which were given for 15 days post-induction of streptozotocin on fourth day. Glomerular mesangial laminin expression was assessed by the Allred score of immunohistochemistry. The differentiation of mesangial laminin expression in each group were tested with Kruskal-Wallis test followed Mann-Whitney test.

Results: The mean Allred score glomerular mesangial laminin expression in the 450 mg dose group / 200grBB treatment group was lower than 150 mg / 200grBB and 300 mg / 200grBB with the value (3.5 + 0.5). The results of the Kruskal-Wallis analysis in the control group to the treatment group were significant differences ($p = 0.02$, $p < 0.05$). The results of Mann-Whitney test showed p value of the control-treatment group 1 $p = 0.1$, the control-treatment group 2 $p = 0.01$ and 3 treatment-control group $p = 0.43$.

Conclusion: Glomerular mesangial laminin expression in treatment group 2 significantly lower than the control group.

Keywords: Expression of glomerular mesangial laminin, EEDS, diabetes mellitus.