

**PENGARUH PEMBERIAN GENISTEIN TERHADAP
VASKULOGENESIS DAN ANGIOGENESIS
EMBRIO AYAM UMUR 48 JAM**

TUGAS AKHIR



Oleh:

ELIANA SUSILOWATI

NIM: 115070100111024

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2015

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN GENISTEIN TERHADAP
VASKULOGENESIS DAN ANGIOGENESIS
EMBRIO AYAM UMUR 48 JAM**

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh:

Eliana Susilowati

NIM: 115070100111024

Menyetujui untuk diuji:

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr.Indriati Dwi Rahayu, M.Kes.

NIP. 19260519200592001

Dr.dr. Setyawati S.K.,M.Kes

NIP. 19521027198103

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanya bagi Tuhan yang Maha Esa, oleh karena kasih dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh Pemberian Genistein terhadap Vaskulogenesis dan Angiogenesis Embrio Ayam Umur 48 Jam”.

Penulis mengucapkan terimakasih banyak kepada:

1. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes, dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan untuk menjalani perkuliahan di Fakultas kedokteran Universtas Brawijaya.
2. dr. Indriati Dwi Rahayu, M.Kes, selaku dosen pembimbing pertama yang banyak sekali memberikan bantuan, baik dalam metode penelitian, dan suka duka dalam menjalani penelitian ini.
3. Dr. dr. Setyawati S. K., M.Kes, selaku dosen pembimbing kedua yang dengan sabar menjawab pertanyaan dan memberikan ide-ide mengenai penelitian ini.
4. Penguji, dan segenap anggota tim Pengelola Tugas Akhir FKUB yang memberikan kemudahan dan telah menyelenggarakan dan membantu jalannya Tugas Akhir ini, Segenap dosen, analis dan laboran dari laboratorium Biomedik (Pak Yudha, Mbak Nia, Mbak Dian, Mbak Suci, Mbak Bunga), Anatomi-Histologi (dr.Rita, dr.Obed, Pak Antok), Biokimia (Pak Wibi, Mbak Ami, Mbak Fitri), Farmasi (Mbak Septi, Kepala MIPA, Kepala Farmasi), dr. Soemardini, Bu Win.
5. Orangtua, kakak, dan teman-teman yang selalu mendoakan dan mendukung selesainya tugas Akhir ini.

Semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat.

Malang, 20 Januari 2015

ABSTRAK

Susilowati, Eliana . 2015. Pengaruh Pemberian Genistein terhadap Vaskulogenesis dan Angiogenesis Embrio Ayam Umur 48 Jam. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Indriati Dwi Rahayu, M.Kes. (2) Dr. Dr. Setyawati S. K., M. Kes.

Genistein merupakan senyawa yang banyak dalam kedelai, efek Genistein yang telah lama dikenal adalah inhibitor tirosin kinase, sehingga dapat menghambat ekspresi VEGFR. VEGF berfungsi dari awal vaskulogenesis, *blood islands*, kapiler dan morfologi jantung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian Genistein terhadap vaskulogenesis dan angiogenesis embrio, dengan model coba embrio ayam umur 48 jam. Penelitian ini merupakan penelitian analitik eksperimental, yang memiliki jumlah sampel 7 embrio masing-masing kelompok perlakuan, sesuai dengan rumus Steel dan Torrie. Variabel yang diukur adalah *survival rate*, jumlah somit, tahapan pembentukan pembuluh darah, dan persentase luas area VEGFR-2. Prosedur penelitian adalah dengan menginjeksi telur dengan larutan Genistein, menginkubasi selama 48 jam, lalu mengamati hasilnya dengan pengecatan imunohistokimia dan sterologi. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa Genistein tidak secara signifikan berpengaruh terhadap *survival rate* embrio ayam ($p \geq 0.05$) dan jumlah somit ($p \geq 0.05$). Namun menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap tahapan pembentukan pembuluh darah dan ekspresi VEGFR-2 ($p \leq 0.05$). Hasil penelitian menunjukkan hasil dengan kecenderungan yang sama yaitu menurun dan meningkat lagi pada dosis tinggi, walaupun *survival rate* dan jumlah somit tidak menunjukkan hasil yang signifikan. Peningkatan dosis tertinggi (40 μ M) pada hitung Persentase area VEGFR-2 tidak menunjukkan peningkatan yang bermakna terhadap dosis sebelumnya (20 μ). Kesamaan pola ini belum diketahui mekanismenya. Kesimpulan dari penelitian ini adalah Genistein menghambat vaskulogenesis dan angiogenesis embrio ayam umur 48 jam, namun tidak sampai menimbulkan kematian embrio dan gangguan morfologi embrio (melalui perhitungan somit) secara signifikan.

Kata kunci: vaskulogenesis dan angiogenesis, Genistein, embrio ayam, VEGFR-2

ABSTRACT

Susilowati, Eliana . 2015. Genistein's Effect toward Vasculogenesis and Angiogenesis on 48 hours age Chicken Embryo. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Indriati Dwi Rahayu, M.Kes. (2) Dr. Dr. Setyawati S. K., M. Kes.

Genistein is a substance rich in soy. It has effect that has been long known as tyrosine kinase inhibitor, so it can inhibit VEGFR expression. VEGF work from early vasculogenesis, blood islands, capillary, and heart formation. This research is to know the effect of Genistein toward vasculogenesis and angiogenesis on embryo, with chicken embryo as the research model. This is an analytic experimental research which has 7 samples on each group, following the formula from Steel and Torrie. Variable measured at this research are: survival rate, vascular formation, somite count, and Area Presentation of VEGFR-2 expression. This research procedure include the injection of Genistein to the yolk, incubation within 48 hours, then observation with immunohistochemistry and sterology procedure. Results of this research is that Genistein not significantly effect the survival rate and somite count of the 48 hours aged chicken embryo ($p \geq 0.05$). Genistein have significant differences within control and experiment group of vascular formation and area presentation of VEGFR-2 expression ($p \leq 0.05$). The results of this research has the same trend, that it decreases then increases again at high dose, although results of somite count and survival rate did not give significant results. Increased VEGFR-2 expression on highest dose ($40 \mu\text{M}$) did not give significant increase toward the dose before it (20μ). The mechanism of this same pattern has not yet been known. This research conclude that Genistein has effect toward vasculogenesis and angiogenesis of 48 hours aged chicken embryo, but does not cause embrionic death and morphology interruption significantly.

Key Words: vasculogenesis and angiogenesis, Genistein, chicken embryo, VEGFR-2

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul.....	i
Lembar Pengesahan	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak	iv
Abstract	v
Daftar Isi	vi
Daftar Gambar.....	viii
Daftar Tabel.....	ix
Daftar Lampiran.....	x
Daftar Singkatan.....	xi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Perkembangan Darah dan Pembuluh Darah Selama Kehamilan.....	5
2.2 Vaskulogenesis	6
2.3 Angiogenesis.....	7
2.3.1 Definisi dan proses Angiogenesis Embrional.....	7
2.3.2 Faktor Pertumbuhan dalam Angiogenesis.....	7
2.4 VEGF.....	8
2.5 Masa Embriogenik.....	9
2.6 Klasifikasi Perkembangan Embrio	11
2.7 Genistein	12
2.7.1 Definisi Genistein	12
2.7.2 Kegunaan Genistein.....	13
2.7.3 Senyawa Genistein pada Kedelai.....	13
BAB III KERANGKA KONSEP	
3.1 Kerangka Konsep	15
3.2 Hipotesa	16
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian.....	17
4.2 Populasi dan Sampel.....	17
4.2.1 Populasi	18
4.2.2 Sampel.....	18
4.3 Variabel Penelitian.....	18
4.3.1 Variabel Bebas	18
4.3.2 Variabel terikat	18
4.4 Lokasi dan waktu Penelitian	19
4.5 Instrumen Penelitian	18
4.6 Definisi Operasional.....	20
4.7 Prosedur Penelitian	22



4.7.1	Alur.....	22
4.7.2	Pembagian Kelompok	23
4.7.3	Pra-Perlakuan	23
4.7.4	Perlakuan.....	23
4.7.5	Perlakuan dengan Genistein	23
4.7.6	Inkubasi.....	24
4.7.7	Pengambilan Bahan Coba.....	23
4.7.8	Pengambilan Gambar.....	23
4.7.9	Penyimpanan Bahan Coba.....	24
4.7.10	Pengecatan Imunohistokimia.....	24
4.7.11	Pengamatan Mikroskop.....	25
4.7.12	Pengamatan Morfologi Embrio	25
4.7.13	Penghitungan Luas Area Embrio Total dan Luas Area VEGFR-2.....	26
4.8	Analisa Data	26
BAB V ANALISA DATA		
5.1	Pengaruh Pemberian Genistein terhadap <i>Survival Rate</i> Embrio Ayam Umur 48 Jam	27
5.2	Pengaruh Pemberian Genistein terhadap Jumlah Somit Embrio Ayam Umur 48 Jam	28
5.3	Pengaruh Pemberian Genistein terhadap Tahapan Pembentukan Pembuluh Darah Embrio Ayam Umur 48 Jam..	30
5.4	Pengaruh Pemberian Genistein terhadap Ekspresi VEGFR-2 Embrio Ayam Umur 48 Jam	33
BAB VI PEMBAHASAN		
6.1	Pengaruh Pemberian Genistein terhadap <i>Survival Rate</i> Embrio Ayam Umur 48 Jam	39
6.2	Pengaruh Pemberian Genistein terhadap Jumlah Somit Embrio Ayam Umur 48 Jam	40
6.3	Pengaruh Pemberian Genistein terhadap Tahapan Pembentukan Pembuluh darah Embrio Ayam Umur 48 Jam ..	42
6.4	Pengaruh Pemberian Genistein terhadap Ekspresi VEGFR-2 Embrio Ayam Umur 48 Jam	48
6.5	Implikasi terhadap Bidang Kedokteran.....	49
6.6	Keterbatasan Penelitian.....	51
BAB VII KESIMPULAN		
7.1	Kesimpulan	52
7.2	Saran	52
DAFTAR PUSTAKA.....		53
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN		74

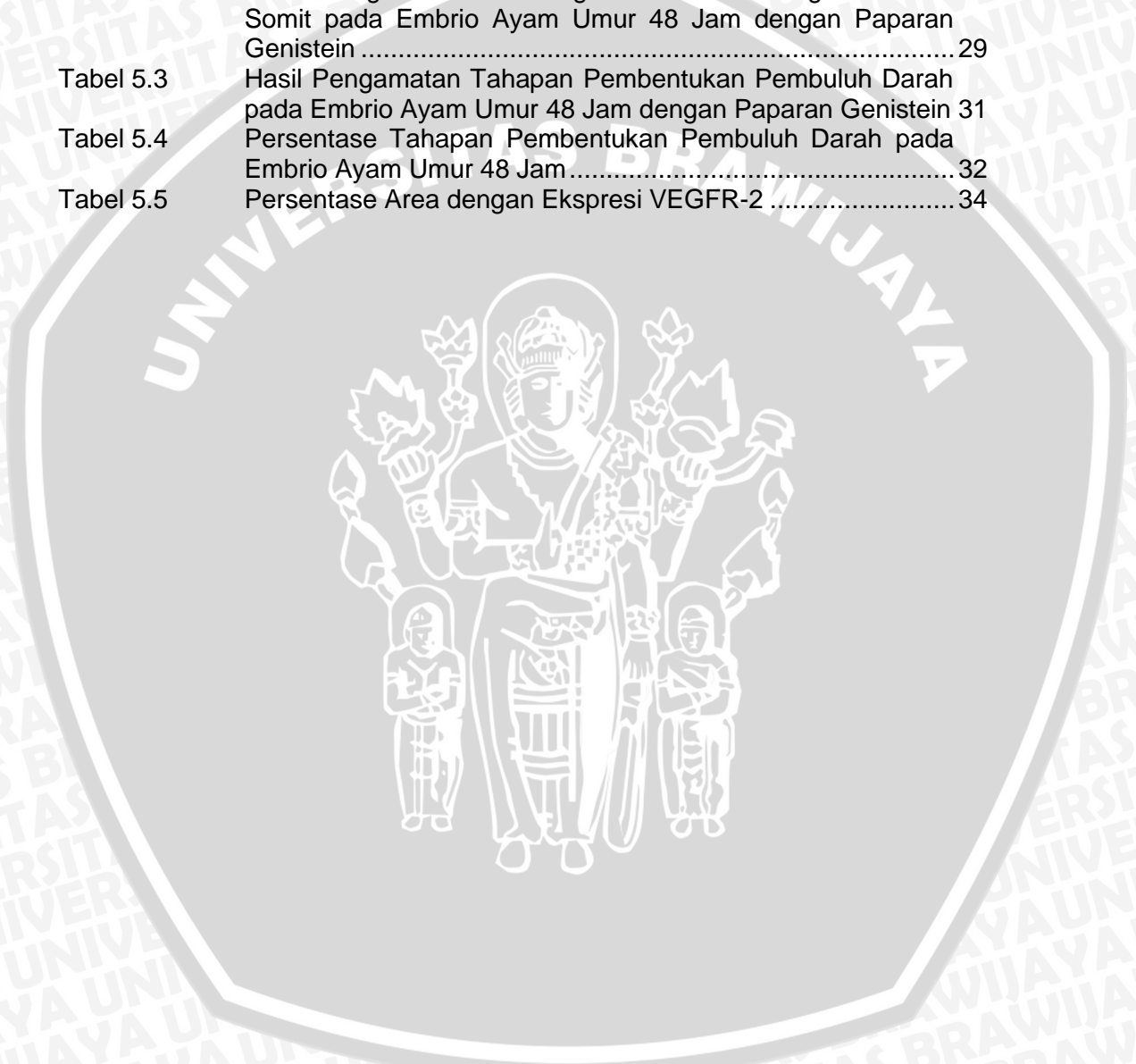
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Pembuluh Darah intraemrional dan Ekstraembrional... 6
Gambar 2.2	Peran Faktor-Faktor Pertumbuhan pada Vaskulo-angiogenesis 9
Gambar 3.1	Skema Kerangka Konsep 15
Gambar 4.1	Kertas Mika untuk Stereologi 21
Gambar 4.2	Alur Penelitian 22
Gambar 5.1	Hasil Pengamatan Embrio Ayam Umur 48 Jam 27
Gambar 5.2	Hasil Pengamatan Survival rate Embrio Ayam Umur 48 Jam dengan Paparan Genistein 28
Gambar 5.3	Hasil Penghitungan Jumlah Somit pada Embrio Ayam Umur 48 Jam dengan Paparan Genistein..... 30
Gambar 5.4	Hasil Pengamatan Persentase Terbentuknya Jantung pada Embrio Ayam Umur 48 Jam dengan Paparan Genistein 32
Gambar 5.5	Hasil Pengamatan Persentase pada Tahapan Perkembangan Pembuluh Darah..... 33
Gambar 5.6	Hasil Pengamatan Persentase Area Ekspresi VEGFR-2 Embrio Umur 48 jam dengan Paparan Genistein 34
Gambar 5.7	Embrio Ayam Umur 48 Jam..... 36
Gambar 5.8	Hasil Pengamatan Pengamatan Ekspresi VEGFR-2 pada Embrio Ayam Umur 48 Jam Menggunakan Metode Stereologi 38



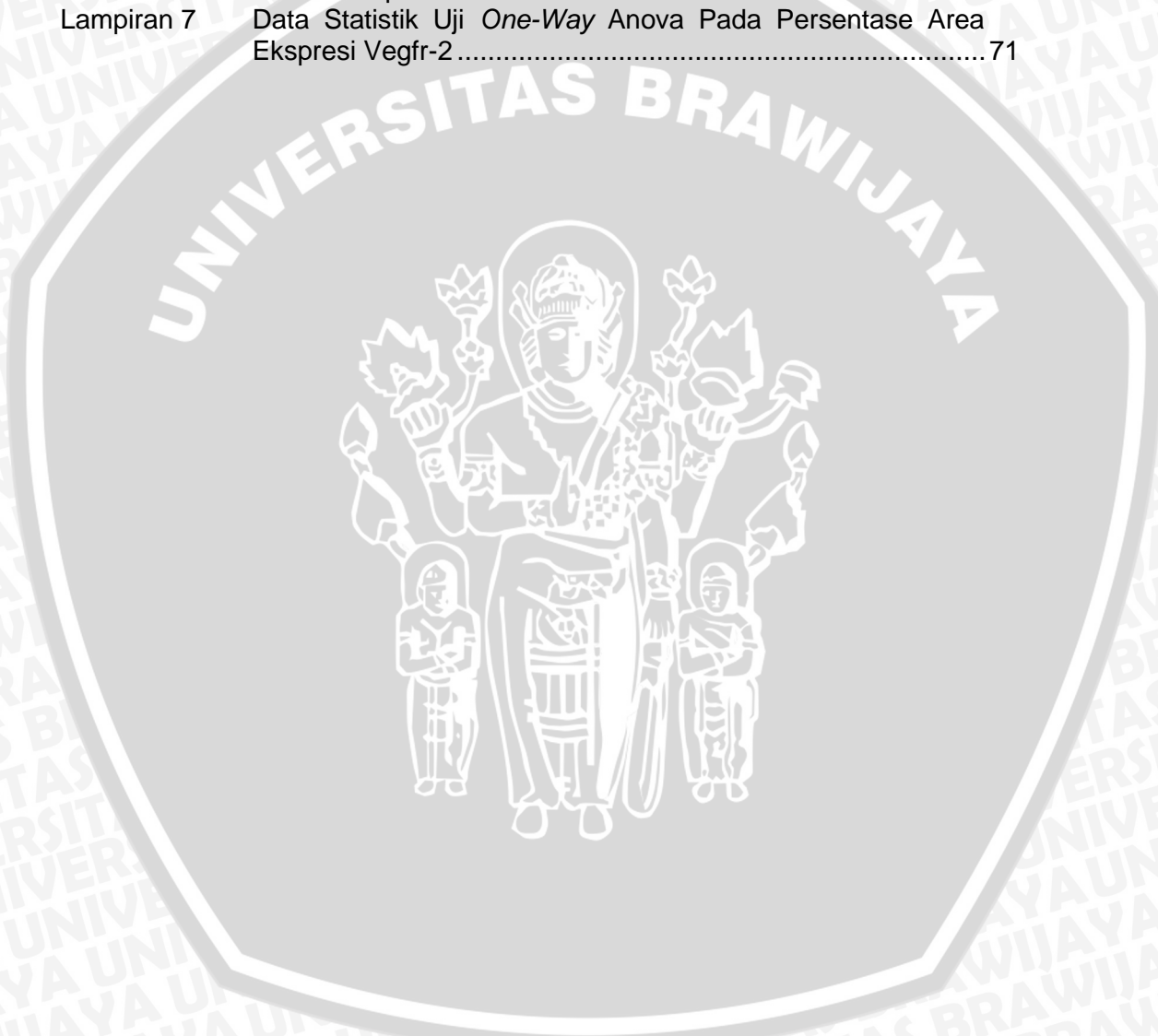
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Perkembangan Hari ke-14 Sampai ke-56	10
Tabel 2.2	Data Perbandingan Umur Embrio	11
Tabel 5.1	Hasil Pengamatan Survival rate pada Embrio Ayam Umur 48 Jam dengan Paparan Genistein.....	28
Tabel 5.2	Hasil Pengamatan Morfologi Melalui Perhitungan Jumlah Somit pada Embrio Ayam Umur 48 Jam dengan Paparan Genistein	29
Tabel 5.3	Hasil Pengamatan Tahapan Pembentukan Pembuluh Darah pada Embrio Ayam Umur 48 Jam dengan Paparan Genistein	31
Tabel 5.4	Persentase Tahapan Pembentukan Pembuluh Darah pada Embrio Ayam Umur 48 Jam.....	32
Tabel 5.5	Persentase Area dengan Ekspresi VEGFR-2	34



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Alat dan Bahan Penelitian.....	56
Lampiran 2	Dokumentasi Kegiatan.....	57
Lampiran 3	Hasil Pengamatan Embrio Ayam	58
Lampiran 4	Data Statistik Uji <i>Crosstabs</i> dengan Analisis <i>Chi Square</i> pada <i>Survival Rate</i> Embrio Ayam Umur 48 Jam	59
Lampiran 5	Data Statistik Uji <i>One-Way Anova</i> Pada Jumlah Somit.....	60
Lampiran 6	Data Statistik Uji <i>Crosstabs</i> Dengan Analisis <i>Chi Square</i> Pada Tahapan Pembentukan Pembuluh Darah	62
Lampiran 7	Data Statistik Uji <i>One-Way Anova</i> Pada Persentase Area Ekspresi Vegfr-2	71



DAFTAR SINGKATAN

VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VEGFR-2	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2</i>
FGF-2	: <i>Fibroblas Growth Factor 2</i>
PDGF	: <i>Platelet Derrived Growth Factors</i>
TGF β	: <i>Transforming Growth Factor β</i>
PLGF	: <i>Placenta Growth Factor</i>
RTKs	: <i>Reseptor Tirosin Kinase</i>
DNA	: <i>Deoxyribo nucleic Acid</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
EGF	: <i>Epidermal growth factor</i>
Ang	: <i>Angiopoietin</i>
ANOVA	: <i>Analysis of variance</i>
HH	: <i>Hamburger Hamilton</i>
ER	: <i>Estrogen Receptor</i>
NaCl	: <i>Natrium Chlorida</i>
DMSO	: <i>Dimethyl Sulfoxide</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
DAB	: <i>Diaminobenzidine</i>
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
SAHRP	: <i>Streptavidin Horseradish Peroxidase</i>
mRNA	: <i>Ribo Nucleic Acid messenger</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor- α</i>
PGE ₂	: <i>Prostaglandin</i>

NF-κB : Nuclear Factor Kappa B

