

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PERBEDAAN WAKTU PAPARAN GENISTEIN TERHADAP
HSP-70 PADA TAHAP AWAL PERKEMBANGAN
EMBRIO ZEBRAFISH (*Danio rerio*)**

Oleh :
Meilinda Susilorini
125070107111060

Telah diuji pada
Hari : Senin
Tanggal : 18 Januari 2016
Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Aswaty Nur, S.Si., M.Kes
NIK. 201306 820919 2 001

Penguji II/Pembimbing I

Kana Mardhiyyah, S.Si., M.Biomed
NIP. 19860320 201212 2 003

Penguji III/Pembimbing II

dr. Indriati Dwi Rahayu, M.Kes
NIP. 19760519 200501 2 001

Mengetahui
Ketua Jurusan Pendidikan Dokter

Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H., M.Sc, Sp.Par.K.
NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum wr.wb.

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat Rahmat dan Karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan Tugas Akhir ini. Shalawat serta salam semoga senantiasa terlimpah curahkan kepada Nabi Muhammad SAW, kepada keluarganya, para sahabatnya, hingga kepada umatnya hingga akhir zaman, aamiin.

Penulisan tugas akhir ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana pada Program Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Judul yang penulis ajukan adalah “Pengaruh Perbedaan Waktu Paparan Genistein terhadap HSP-70 pada Tahap Awal Perkembangan Embrio Zebrafish (*Danio rerio*)”.

Dalam penyusunan dan penulisan Tugas Akhir ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si. dan dr. Soemardini, M.Pd sebagai ketua Tim Tugas Akhir dan Koordinator Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Ibu Kana Mardhiyyah, S.Si., M.Biomed selaku dosen pembimbing I yang telah dengan sabar membimbing dan mengarahkan penulis sejak penyusunan

proposal serta senantiasa memberikan semangat dan nasehat sehingga tugas akhir ini dapat diselesaikan dengan baik.

4. dr. Indriati Dwi Rahayu, M.Kes selaku dosen pembimbing II, atas segala saran, arahan, dan nasehat yang telah diberikan selama penyusunan tugas akhir ini.
5. Ibu Aswaty Nur, S.Si., M,Kes selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan koreksi demi kesempurnaan tugas akhir ini
6. dr. Habiba Aurora, M.Biomed selaku ketua penelitian, atas segala saran dan dukungannya.
7. Ibunda Sugiarti dan Ayahanda Munilo sebagai orangtua penulis yang sangat banyak memberikan bantuan moril, material, arahan, dan selalu mendoakan keberhasilan dan keselamatan selama menempuh pendidikan. Kakak, kakak ipar dan keponakan yang selalu mendukung dan mendoakan.
8. Teman-teman perjuangan satu kelompok tugas akhir yang telah berbagi ilmu, tenaga, dukungan, dan cerita seru selama pengerjaan penelitian ini.
9. Salsa, Sefrina, Maulidya, Sirin, Firyal, dan Laras yang telah membantu dan menemani selama pengerjaan tugas akhir ini.
10. Evita, Amanda Dinar, Firyal, Galuh, Ina, Rima, Nita, Bunga, dan Erina yang mendukung dan mendoakan.
11. Syntia, Nancy dan Febrian yang selama kuliah selalu menemani baik dalam keadaan suka maupun duka.
12. Teman-teman Pendidikan Dokter 2012 atas kebersamaan yang indah selama ini.

13. Kepada segenap pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu dalam kesempatan terbatas ini. Mudah-mudahan segala amalan mereka diterima di sisi Allah SWT sebagai manifestasi ibadah kepada-Nya. Aamiin.

Akhirnya, dengan segala kerendahan hati penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan, sehingga penulis mengharapkan adanya saran dan kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan tugas akhir ini.

Wassalamualaikum wr.wb

Malang, Januari 2016

Penulis



ABSTRAK

Susilorini, Meilinda. 2016. **Pengaruh Perbedaan Waktu Paparan Genistein Terhadap HSP-70 Pada Tahap Awal Perkembangan Embrio Zebrafish (*Danio rerio*)**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Kana Mardhiyyah, S.Si., M.Biomed (2) dr. Indriati Dwi Rahayu, M.Kes.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan waktu paparan genistein terhadap ekspresi HSP-70 pada embrio *zebrafish*. Genistein merupakan *isoflavone* pada kacang kedelai yang memiliki struktur kimia menyerupai struktur dari estrogen. Pemberian genistein dapat memacu terjadinya apoptosis dengan cara menghambat faktor transkripsi HSP-70. Penelitian ini menggunakan *zebrafish* karena perkembangan embrionya analog dengan embriogenesis pada manusia, cepat, dan telur yang transparan. Studi eksperimental ini menggunakan *post test only control group design* terhadap embrio *zebrafish*. Sampel dipisahkan menjadi 4 kelompok, yaitu kontrol, waktu paparan genistein 2 *hpf*, 24 *hpf* dan 48 *hpf*. Variabel yang diukur adalah ekspresi HSP-70. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan *Real-time PCR* pada 72 *hpf* setiap kelompoknya. Data dianalisa dari hasil rata-rata tiga kali pengulangan. Pada pengulangan pertama dan kedua rata-rata rasio ekspresi HSP-70 mengalami penurunan dibanding kontrol. Sedangkan pada pengulangan ketiga rata-rata rasio ekspresi HSP-70 mengalami kenaikan dibanding kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan waktu pemaparan genistein 2 *hpf*, 24 *hpf*, dan 48 *hpf* tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap ekspresi HSP-70 *zebrafish* (*Danio rerio*) apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kata kunci: genistein, *zebrafish*, HSP-70, waktu paparan, apoptosis

ABSTRACT

Susilorini, Meilinda. 2016. **Effect of Genistein Exposure Time Difference Against HSP-70 in Early Development of Zebrafish (*Danio rerio*) Embryo**. Final Assignment, Medical Education Program Medical Faculty of Brawijaya University. Advisors: (1) Kana Mardhiyyah, S.Si., M.Biomed (2) dr. Indriati Dwi Rahayu, M. Kes.

The aim of this study was determine the relationship between genistein exposure time and the HSP-70 concentration in zebrafish embryos. Genistein is an isoflavone contained in soybeans that has a chemical structure resembling the structure of estrogen. Genistein can stimulate apoptosis by inhibiting the transcription factor of HSP-70. This study used zebrafish because the embryonic development is analogous to humans embryogenesis, rapid, and also the zebrafish eggs that are transparent. This experimental study used post-test only control group design towards the zebrafish embryo. Samples were separated into 4 groups: control, time of exposure to genistein 2 hpf, 24 hpf and 48 hpf. The measured variable is the HSP-70 concentration. Observations done using Real-time PCR at 72 hpf each group. Datas were analyzed from the average of three repetitions. In the first repetition and second ratio average of the expression of HSP-70 has decreased compared to the control. While in the third repetition, the average ratio of the concentration of HSP-70 has increased compared to controls. The result showed that genistein exposure time difference of 2 hpf, 24 hpf and 48 hpf do not have a significant influence towards the concentration of HSP-70 of zebrafish (*Danio rerio*) when compared to the control group.

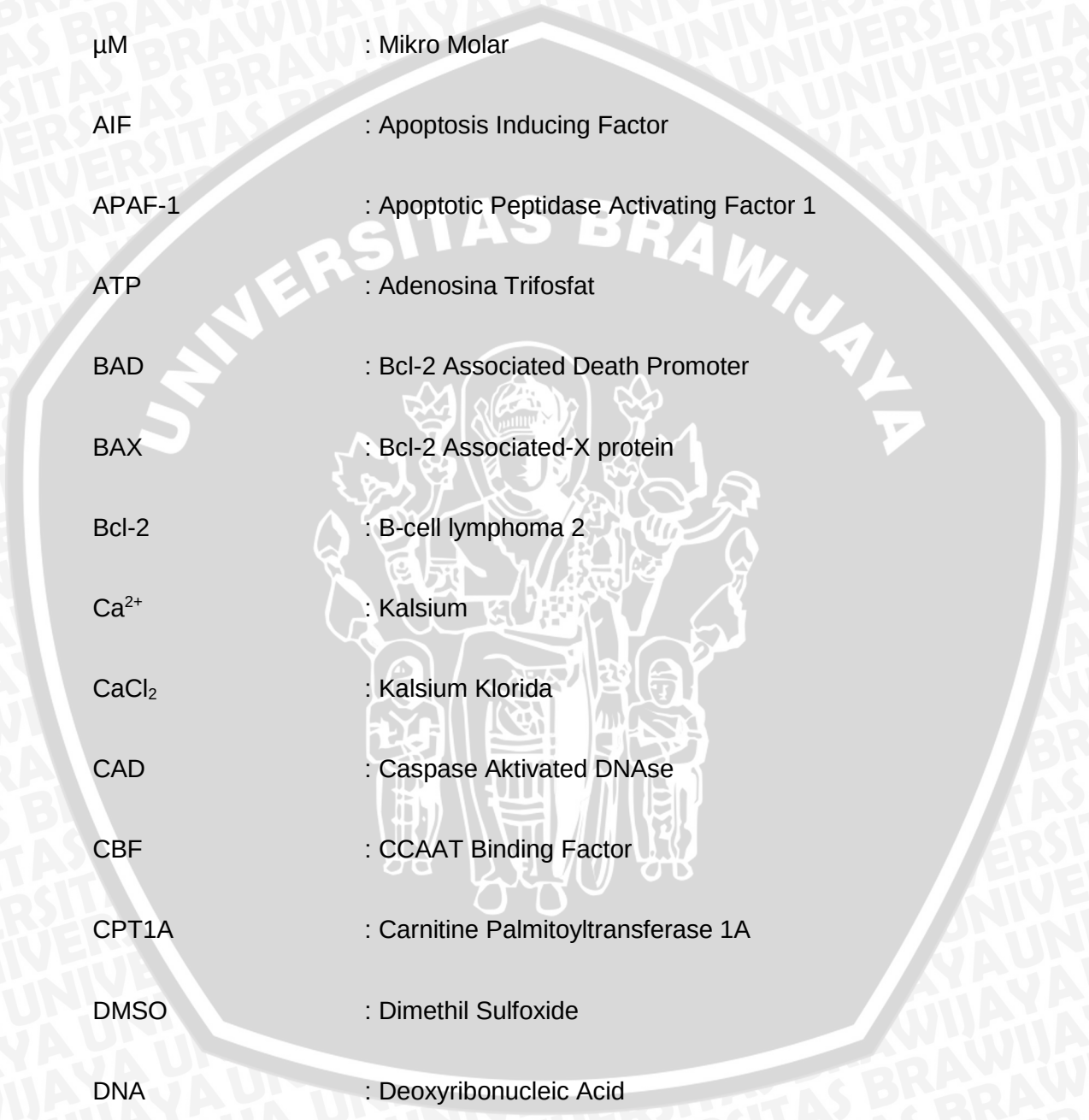
Key word: genistein, *zebrafish*, HSP-70, exposure time, apoptosis

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Singkatan.....	xi
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Grafik	xv
Daftar Lampiran.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.4.1 Manfaat Akademik	3
1.4.2 Manfaat Praktis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Genistein	4

2.2 Zebrafish.....	5
2.3 Apoptosis.....	9
2.4 HSP-70.....	12
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN.....	17
3.1 Kerangka Konsep	17
3.2 Hipotesa Penelitian.....	19
BAB IV METODE PENELITIAN	20
4.1 Rancangan Penelitian.....	20
4.2 Populasi dan Sampel.....	20
4.2.1 Populasi Penelitian.....	20
4.2.1 Sampel Penelitian	20
4.2.3 Teknik Pengambilan Sampel.....	20
4.3 Variabel Penelitian.....	20
4.3.1 Variabel Bebas.....	20
4.3.2 Variabel Tergantung.....	20
4.3.3 Variabel Terkendali	20
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	21
4.5 Alat dan Bahan	21
4.5.1 Bahan	21
4.5.2 Alat.....	21
4.6 Definisi Operasional.....	21
4.7 Cara Kerja Penelitian	22

4.7.1 Pemeliharaan Ikan	22
4.7.2 Pengambilan Telur	22
4.7.3 Kultur Embrio	23
4.7.4 Pemaparan Genistein	23
4.7.5 Ekstraksi RNA	23
4.7.6 Nanodrop	25
4.7.7 Optimasi	25
4.7.8 Pengamatan Ekspresi HSP-70 dengan <i>Real-time PCR</i>	26
4.7.9 Metode Livak	27
4.8 Prosedur Penelitian	28
4.9 Metode Analisis Data	29
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA	30
5.1 Hasil Penelitian	30
5.2 Analisa Data	32
5.2.1 Normalitas Distribusi Data	33
5.2.2 Homogenitas Ragam Data	33
5.2.3 <i>One-Way ANOVA</i>	34
BAB VI PEMBAHASAN	35
BAB VII PENUTUP	40
7.1 Kesimpulan	40
7.2 Saran	40
Daftar Pustaka	41
Lampiran	46

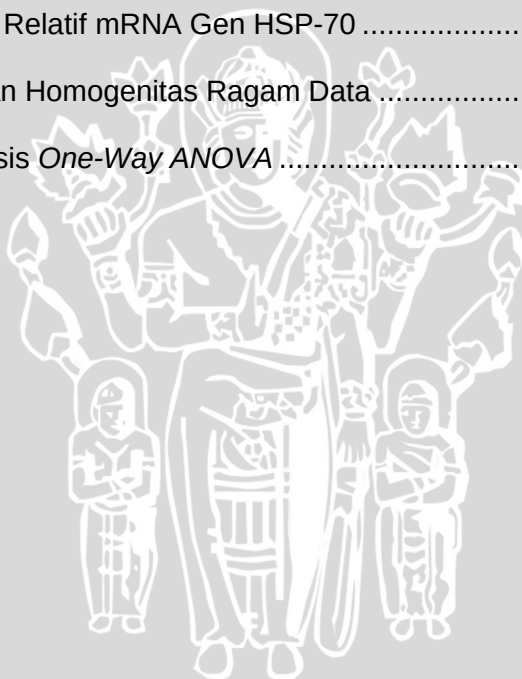
DAFTAR SINGKATAN

μM	: Mikro Molar
AIF	: Apoptosis Inducing Factor
APAF-1	: Apoptotic Peptidase Activating Factor 1
ATP	: Adenosina Trifosfat
BAD	: Bcl-2 Associated Death Promoter
BAX	: Bcl-2 Associated-X protein
Bcl-2	: B-cell lymphoma 2
Ca^{2+}	: Kalsium
CaCl_2	: Kalsium Klorida
CAD	: Caspase Aktivated DNase
CBF	: CCAAT Binding Factor
CPT1A	: Carnitine Palmitoyltransferase 1A
DMSO	: Dimethyl Sulfoxide
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
dNTP	: Deoxynucleoside Trifosfat
GRP-78	: Glucose Regulated Protein 78

Hpf	: Hours post Fertilization
HSEs	: Heat Shock Elements
HSF	: Heat Shock Factor
HSP-70	: Heat Shock Protein 70
CAD	: Inhibitor Caspase Aktivated Deoxyribonuklease
IUPAC	: International Union of Pure Applied Chemistry
Cl	: Kalium Klorida
Mg ²⁺	: Magnesium
MgSo ₄	: Magnesium Sulfat
mRNA	: Messenger Ribonucleid Acid
NaCl	: Natrium Klorida
NF-Y	: Nuclear Factor Y
P-53	: Protein 53
PCR	: Polymerase Chain Reaction
RNA	: Ribonucleid Acid
TNFR	: Tumor Necrosis Factor Receptor
TNF-α	: Tumor Necrosis Factor-α

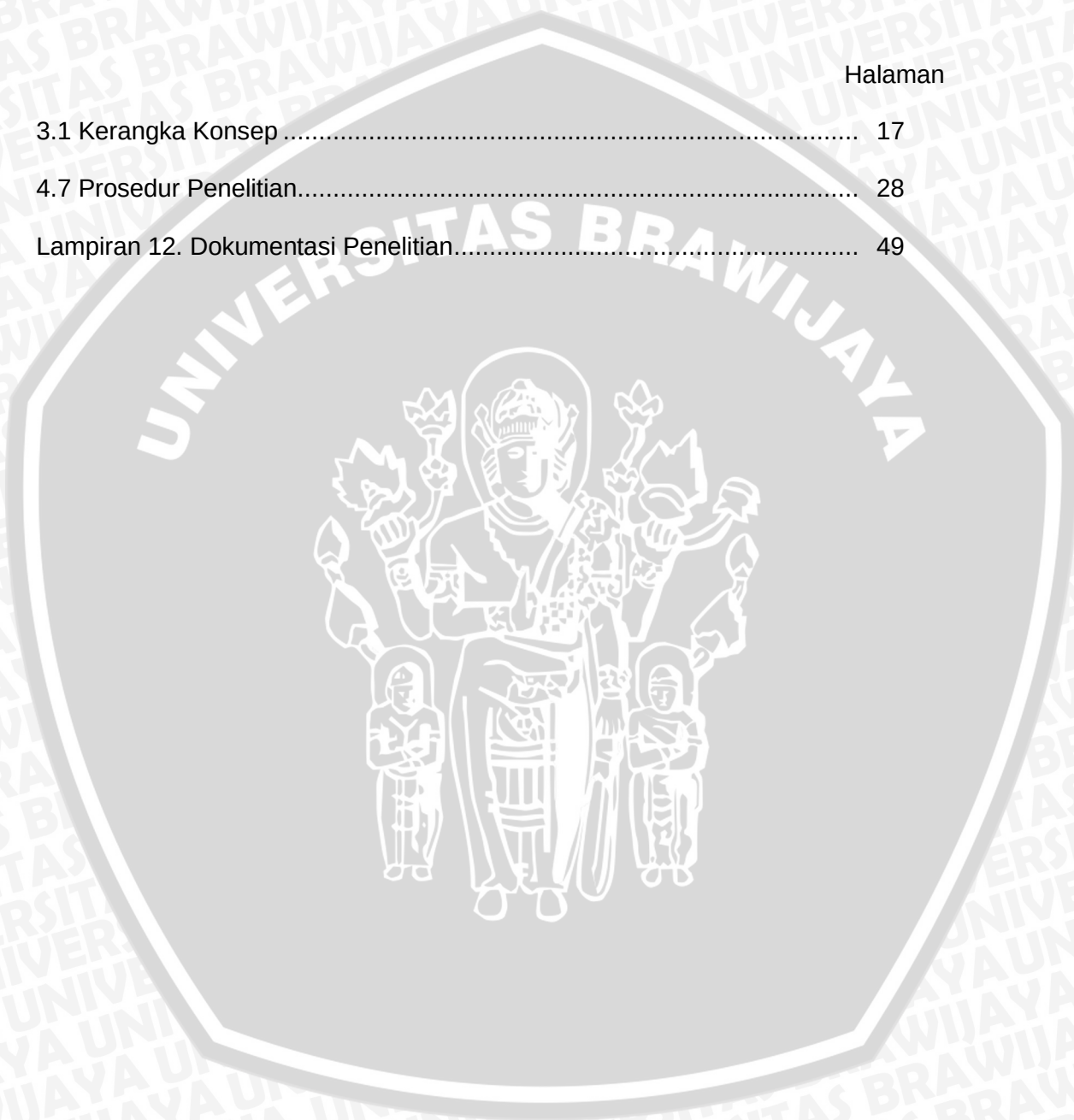
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Stadium Perkembangan <i>Zebrafish</i>	5
Tabel 2.2 Perbedaan Tingkat Seluler Antara Apoptosis dan Nekrosis	12
Tabel 4.1 Metode Livak.....	27
Tabel 5.1 Rata-rata Ekspresi HSP-70	30
Tabel 5.2 Data Ekspresi Relatif mRNA Gen HSP-70	31
Tabel 5.3 Hasil Pengujian Homogenitas Ragam Data	33
Tabel 5.4 Hasil Uji Analisis <i>One-Way ANOVA</i>	34



DAFTAR GAMBAR

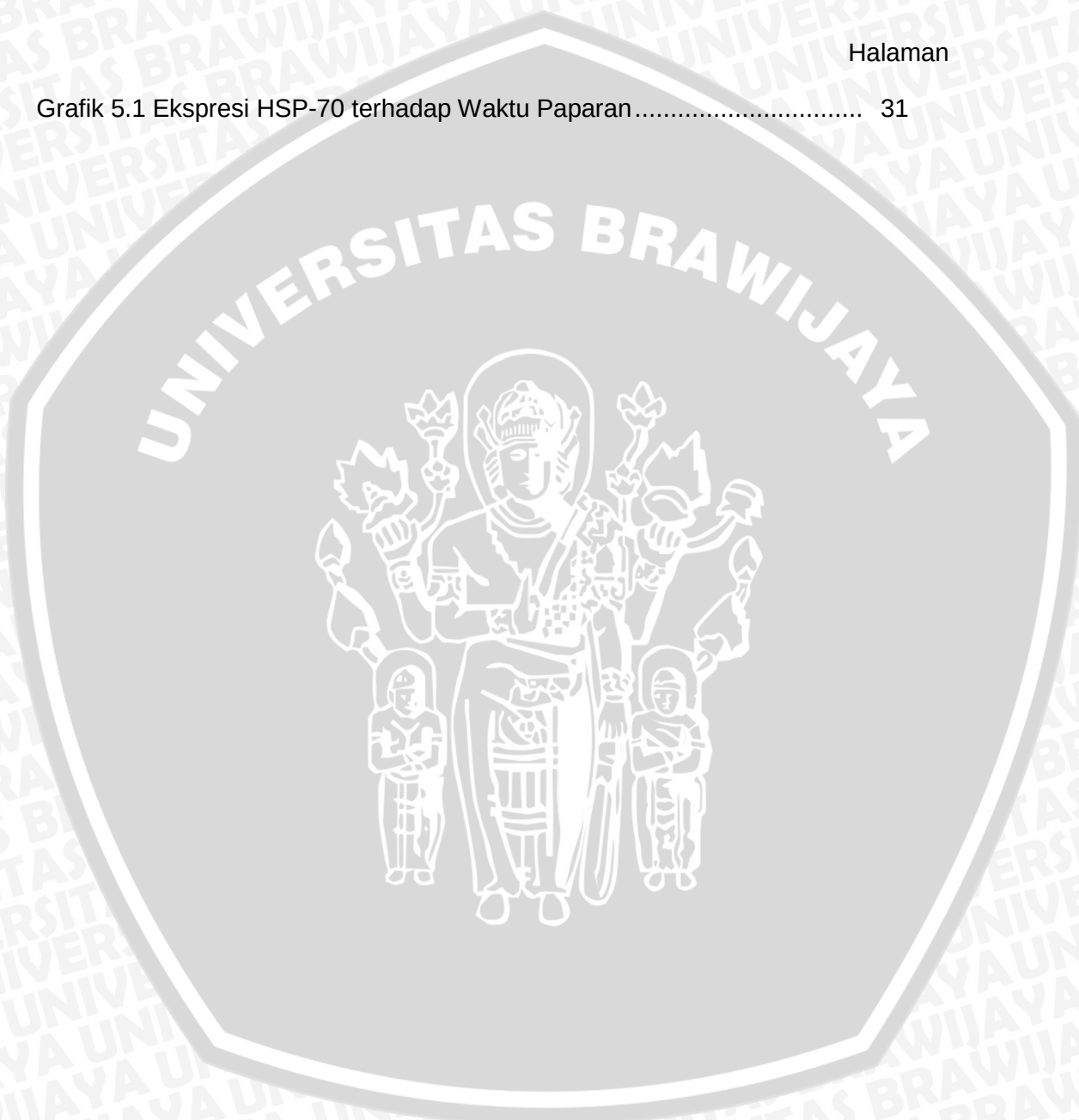
	Halaman
3.1 Kerangka Konsep	17
4.7 Prosedur Penelitian.....	28
Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian.....	49



DAFTAR GRAFIK

Halaman

Grafik 5.1 Ekspresi HSP-70 terhadap Waktu Paparan.....	31
--	----



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil Analisa Data.....	46
Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian.....	49
Lampiran 3 Lembar Kelayakan Etik	51
Lampiran 4 Pernyataan Keaslian Tulisan.....	53

