

**STUDI EKSPRESI MMP-13 PADA KULIT PASCA
LAPAROTOMI DAN HISTOPATOLOGI PANKREAS
TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL DIABETES
MELLITUS YANG DITERAPI SALEP EKSTRAK
TANAMAN KROKOT (*Portulaca oleracea*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
OMAN SETIYANTO
115130100111015



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

HALAMAN PENGESAHAN

**STUDI EKSPRESI MMP-13 PADA KULIT PASCA LAPAROTOMI DAN
HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL
DIABETES MELLITUS YANG DITERAPI SALEP EKSTRAK
TANAMAN KROKOT (*Portulaca oleracea*)**

**Oleh:
OMAN SETIYANTO
115130100111015**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Dyah Kinasih W., S.Si., MP., M.Sc.
NIP. 19820914 200912 2 004

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Oman Setiyanto
NIM : 115130100111015
Program Studi : Kedokteran Hewan
Penulisan Skripsi Berjudul : Studi Ekspresi MMP-13 Pada Kulit Pasca Laparotomi dan Histopatologi Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Mellitus yang Diterapi Salep Ekstrak Tanaman Krokot (*Portulaca oleracea*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaksud di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Juli 2017

Yang menyatakan

Oman Setiyanto
NIM. 115130100111015

Studi Ekspresi MMP-13 Pada Kulit Pasca Laparotomi dan Histopatologi Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Mellitus yang Diterapi Salep Ekstrak Tanaman Krokot (*Portulaca oleracea*)

ABSTRAK

Diabetes mellitus adalah penyakit metabolik karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua – duanya. Luka diabetik merupakan luka kronik yang memiliki waktu penyembuhan lama. Krokot (*Portulaca oleracea*) memiliki kandungan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan yang berfungsi sebagai imunomodulator yang dapat mengaktivasi makrofag yang melakukan fagositosis, produksi TNF, perbaikan jaringan (*fibronectin, collagenase, fibroblast stimulating factor*), sitokin dan hormon pertumbuhan yang penting dalam proses penyembuhan luka. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh salep ekstrak daun krokot terhadap ekspresi MMP-13 pada kulit pasca laparotomi dan gambaran histopatologi pankreas pada tikus (*Rattus norvegicus*) model diabetes mellitus hasil induksi *multi low dose* streptozotocin. Streptozotocin diinjeksikan secara intraperitoneal dengan dosis 20 mg/kg BB selama 5 hari. Tikus yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar dibagi dalam 3 kelompok yakni kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok terapi salep ekstrak daun krokot. Ekspresi MMP-13 diamati menggunakan metode immunohistokimia yang dianalisa dengan *ImmunoRatio* dan gambaran histopatologi pankreas dianalisa deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi salep ekstrak daun krokot (*Portulaca oleracea*) menurunkan ekspresi MMP-13 pada kulit secara signifikan dan terapi salep ekstrak daun krokot (*Portulaca oleracea*) belum dapat memperbaiki kerusakan pada pulau Langerhans pankreas tikus (*Rattus norvegicus*).

Kata Kunci : Diabetes mellitus, MMP-13, histopatologi pankreas, krokot.

Study the Expression of MMP-13 on Post-Laparotomy Skin and Pancreas
Histopathology of Diabetic Rat (*Rattus norvegicus*) Treated with Purslane
(*Portulaca oleracea*) Extract Ointment

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a metabolic disease due to abnormalities in insulin secretion, insulin action or both. Diabetic wounds are characterized as chronic wounds with long healing time. Purslane (*Portulaca oleracea*) contains flavonoids which act as immunomodulatory antioxidants through macrophages activation which perform phagocytosis, production of TNF, tissue repair (fibronectin, collagenase, fibroblast stimulating factor), cytokines and growth hormones that are important in wound healing. The purpose of this study was to determine the effect of purslane leaf extract ointment on the expression of MMP-13 on post-laparotomy skin and pancreas histopathology of diabetic rat (*Rattus norvegicus*). Streptozotocin was injected intraperitoneally with dose of 20 mg/kg BW for 5 days. Male Wistar strain were used and divided into 3 groups: negative control, positive control, and group with therapy of purslane leaf extract ointment. MMP-13 expression was observed using immunohistochemical methods and analyzed with ImmunoRattio. Histopathological of pancreas was analyzed descriptively. The results showed that therapy leaf extract ointment purslane (*Portulaca oleracea*) decreased the expression of MMP-13 in the skin significantly, but it was unable to repair the damage of islets Langerhans in pancreas rat (*Rattus norvegicus*).

Keywords: Diabetes mellitus, MMP-13, histopathology of the pancreas, purslane.

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat Rahmat dan Karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Judul skripsi yang penulis ajukan adalah “Studi Ekspresi MMP-13 Pada Kulit Pasca Laparotomi Dan Histopatologi Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Mellitus yang Diterapi Salep Ekstrak Tanaman Krokot (*Portulaca oleracea*)”.

Penulis mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada :

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES sebagai dosen pembimbing pertama dan Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Diantara kesibukannya, beliau bersedia membimbing dengan penuh perhatian, kesabaran memberikan arahan, motivasi dan tambahan pengetahuan.
2. Ibu Dyah Kinasih W., S.Si., MP., M.Sc. sebagai dosen pembimbing kedua, atas dorongan semangat, bimbingan, nasihat, kesabaran dan segala tambahan ilmu pengetahuan yang diberikan pada penulis.
3. drh. Nurina Titisari, M.Sc. sebagai dosen penguji pertama dan drh. Ajeng Erika PH., M.Si. sebagai penguji kedua yang telah memberikan saran dan masukan yang sangat berguna untuk memperbaiki penelitian dan penulisan skripsi.

4. Pimpinan FKH UB dan seluruh staf, karyawan yang membantu selama melaksanakan studi di FKH UB.
5. Laboratorium Biokimia FMIPA, Laboratorium Farmakologi FK, Laboratorium Patologi FK dan Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya yang telah membantu penulis dalam proses penelitian.
6. Keluarga penulis, Bapak Hendro Murjoko, Ibu Purwantini, adik Sena A. Irsyad, dan adik Gantari L. Janitra yang selalu memberi dukungan, semangat dan do'a.
7. Rekan – rekan satu tim penelitian Putik C. Larasati, Shintany Rochmatil, mas Vicki Agita Setiawan, dan mbak Adik Putri Fatma yang telah bekerja dan berjuang bersama dalam penelitian ini.
8. Kolega – kolegaku angkatan FKH UB 2011 segala perhatian, dorongan, penghargaan, ajaran, dukungan dan doa yang telah diberikan.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan Skripsi ini. Oleh karena itu, penulis sangat menerima kritik atau saran yang membangun. Semoga Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat bagi orang yang membacanya. Amin.

Malang, Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Diabetes Mellitus.....	6
2.1.1 Diabetes Mellitus Tipe 1.....	6
2.1.2 Diabetes Mellitus Tipe 2.....	7
2.2 Pankreas.....	9
2.2.1 Anatomi dan Fisiologi.....	9
2.2.2 Peran Pankreas dalam Metabolisme Gula.....	11
2.3 Kulit.....	12
2.3.1 Lapisan Epidermis.....	13
2.3.2 Lapisan Dermis.....	14
2.3.3 Lapisan Subkutis.....	15
2.4 Luka.....	15
2.4.1 Definisi.....	15
2.4.2 Fase Penyembuhan Luka.....	16
2.4.2.1 Fase Hemostatis.....	16
2.4.2.2 Fase Inflamasi.....	17
2.4.2.3 Fase Proliferasi/Granulasi.....	18
2.4.2.4 Fase Maturasi.....	18
2.4.3 Luka pada Penderita DM.....	19
2.4.3.1 Definisi Luka Diabetes.....	19
2.4.3.2 Patofisiologi Luka Diabetes.....	20
2.4.3.3 Proses Kesembuhan Luka Diabetes.....	21
2.5 Matrix Metalloproteinase-13.....	22
2.6 Persiapan Hewan Coba Diabetes Mellitus.....	24
2.6.1 Tikus.....	24
2.6.2 Streptozotocin.....	25

2.7 Krokot (<i>Portulaca oleracea</i>).....	27
2.7.1 Taksonomi dan Karakteristik.....	27
2.7.2 Kandungan Kimiawi dan Khasiatnya.....	28
2.7.3 Krokot Sebagai Antioksidan.....	29
2.8 Salep.....	31
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL & HIPOTESIS.....	33
3.1 Kerangka Konseptual.....	33
3.2 Hipotesis Penelitian.....	37
BAB IV. METODE PENELITIAN.....	38
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	38
4.2 Sampel Penelitian.....	38
4.3 Rancangan dan Variabel Penelitian.....	39
4.4 Alat dan Bahan.....	40
4.5 Prosedur Kerja.....	41
4.5.1 Persiapan Hewan Coba.....	41
4.5.2 Induksi <i>Multi Low Dose</i> (MLD) Streptozotocin.....	41
4.5.3 Pengukuran Kadar Glukosa Darah.....	42
4.5.4 Pembuatan Salep Ekstrak Krokot.....	42
4.5.4.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Krokot.....	42
4.5.4.2 Pembuatan Salep.....	42
4.5.5 Laparotomi pada Hewan Coba.....	43
4.5.6 Pemberian Terapi Salep Ekstrak Krokot.....	44
4.5.7 Pengambilan Preparat.....	44
4.5.8 Pembuatan Preparat Histopatologi Pankreas.....	44
4.5.9 Ekspresi MMP-13 dengan Imunohistokimia.....	45
4.5.10 Analisis Data.....	45
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	46
5.1 Ekspresi MMP-13 pada Jaringan Kulit Tikus Model Diabetes Mellitus Pasca Laparotomi yang Diterapi Salep Ekstrak Tanaman Krokot.....	48
5.2 Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus (<i>Rattus novergicus</i>) DM Tipe 1 Hasil Induksi Streptozotocin.....	56
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	62
6.1 Kesimpulan.....	62
6.2 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....	63
LAMPIRAN.....	68

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Enzim Matrix Metalloprotinase pada Manusia.....	23
4.1 Rancangan Penelitian.....	39
5.1 Kadar Glukosa Darah pada Tikus Kelompok Negatif, Positif, dan Terapi sebelum dan setelah Injeksi MLD-STZ.....	46
5.2 Ekspresi MMP-13.pada Tikus.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.2 <i>Portulaca oleracea</i> L.....	28
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	36
5.1 Ekspresi MMP-13 (Pewarnaan IHK, perbesaran 400x).....	49
5.2 Histologi pankreas tikus (Pewarnaan HE, perbesaran 400x).....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Persetujuan Laik Etik.....	69
2. Surat Keterangan Determinasi.....	70
3. Kerangka Operasional Penelitian.....	71
4. Pembuatan Preparat Histopatologi.....	72
5. Prosedur Pewarnaan HE (<i>Hematoxyline-Eosin</i>)	73
6. Prosedur Imunohistokimia MMP-13.....	74
7. Prosedur Pembuatan Salep Ekstrak Tanaman Krokot.....	75
8. Hasil Uji LCMS (<i>Liquid Chromatography-Mass Spectrofotometry</i>).....	76
9. Uji Statistika Tabel ANOVA <i>One-Way</i> dan Uji BNJ.....	78
10. Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah Tikus Kelompok Negatif, Positif, dan Kelompok Terapi.....	81
11. Gambaran Makroskopis Penutupan Luka Pasca Laparotomi pada Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	83

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

BNJ	: Beda Nyata Jujur
DAB	: <i>Diamano Benzidine</i>
DHA	: <i>Docosahexaenoic acid</i>
DM	: Diabetes Mellitus
EPA	: <i>Eicosapentanoic acid</i>
g	: gram
HE	: <i>Hematoxyline-Eosin</i>
mg	: miligram
mg/kg BB	: miligram per kilogram berat badan
mg/dL	: miligram per desiliter
MLD	: <i>Multi Low Dose</i>
MMP-13	: <i>Matrix Metalloproteinase-13</i>
NaCl	: Natrium klorida
PBS	: <i>Phospat Buffer Saline</i>
PFA	: Paraformaldehida
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
ROS	: <i>Reactive Oxygen Spesies</i>
SA-HRP	: <i>Strep Avidin Horse Radish Peroxidase</i>
STZ	: Streptozotocin
μL	: mikroliter