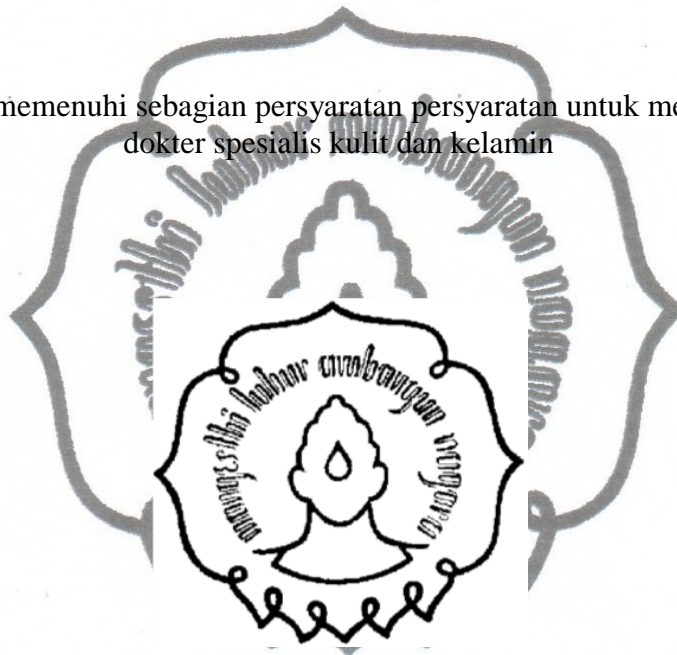


**PENGARUH EKSTRAK DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* Less.)
TERHADAP PENGHAMBATAN DEPOSISI KOLAGEN TIPE I
OLEH FIBROBLAS YANG DITUAKAN**

TESIS

Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan persyaratan untuk memperoleh gelar
dokter spesialis kulit dan kelamin



Oleh:

**Sakti Charlia Maharani
S201308003**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN KULIT DAN KELAMIN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2017**

LEMBAR PENGESAHAN
PENGARUH EKSTRAK DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* Less.)
TERHADAP PENGHAMBATAN DEPOSISI KOLAGEN TIPE I
OLEH FIBROBLAS YANG DITUAKAN

Oleh

Sakti Charlia Maharani

S201308003

Telah berhasil dipertahankan di hadapan dewan penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan untuk memperoleh gelar dokter spesialis kulit dan kelamin pada Program Pendidikan Dokter Spesialis Kulit Dan Kelamin di Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

Dewan Penguji	Nama	Tandatangan	Tanggal
Pembimbing I	Suci Widhiati, dr., M.Sc., Sp.KK NIP 19781106 201101 005		
Pembimbing II	Dr. Indah Julianto, dr., Sp.KK(K) NIP 19480801 197610 2 001		
Penguji I	Prof. Dr. Harijono Kariosentono, dr., Sp.KK(K) NIP. 19461207 197412 1 001		
Penguji II	Dr. Moerbono Mochtar, dr., Sp.KK(K) NIP. 19490219 197903 1 002		

Surakarta, 2017

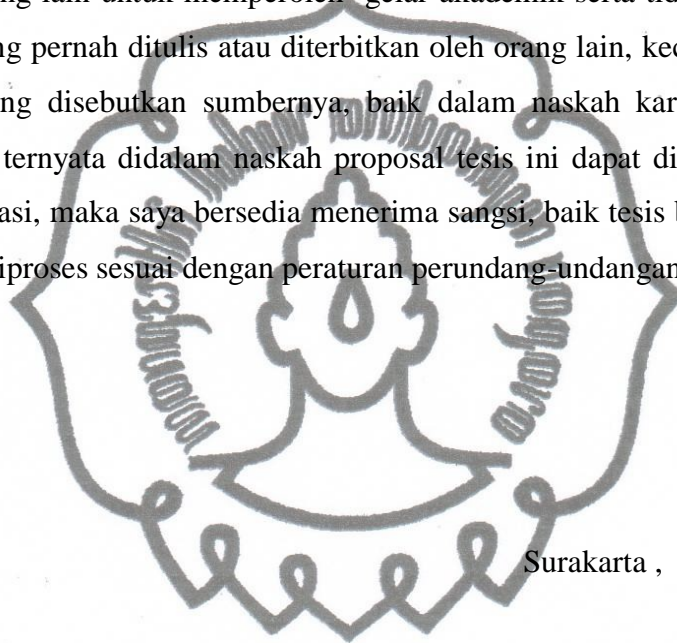
Ketua Program Studi
Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin

Prof. Dr. Harijono Kariosentono, dr., Sp.KK(K)
NIP. 194612071974121001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa :

Tesis yang berjudul : “Pengaruh Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less.) Terhadap Penghambatan Deposisi Kolagen Tipe I Oleh Fibroblas yang Dituakan” ini adalah karya penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang tertulis dengan acuan yang disebutkan sumbernya, baik dalam naskah karangan dan daftar pustaka. Apabila ternyata didalam naskah proposal tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi, baik tesis beserta gelar saya dibatalkan serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.



Surakarta , April 2017

Sakti Charlia Maharani
S201308003

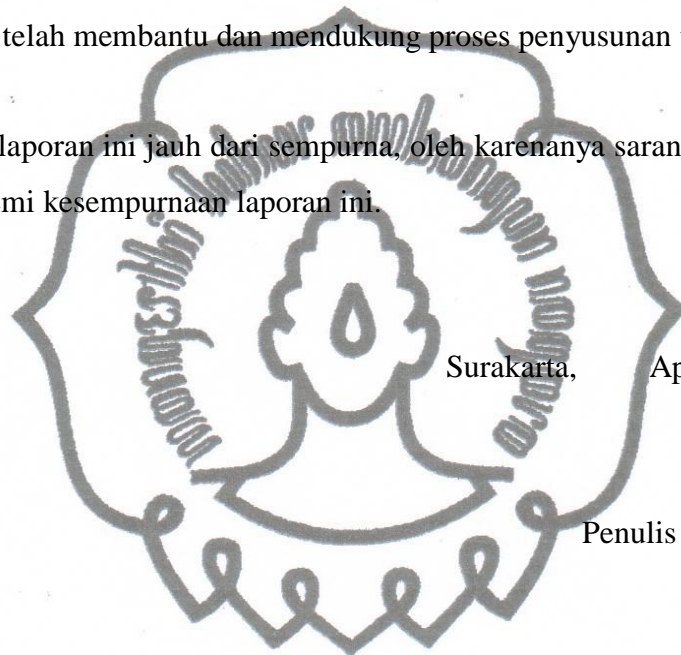
KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah kami ucapkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Pengaruh Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less.) Terhadap Penghambatan Deposisi Kolagen Tipe I Oleh Fibroblas yang Dituakan.” Laporan hasil penelitian ini dibuat sebagai salah satu tugas selama menempuh Pendidikan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Penulis berharap laporan ini juga bisa memberikan kontribusi yang bermanfaat bagi program studi Ilmu Kesehatan Kulit dan kelamin. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. dr. Ravik Karsidi, MS selaku Rektor Universitas Sebelas Maret yang telah berkenan memberikan kesempatan kepada penulis mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Kulit dan kelamin FK Universitas Sebelas Maret.
2. Prof. Dr. dr. Hartono, M.Si selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret yang telah memberikan kesempatan kepada penulis sebagai PPDS I Ilmu Kesehatan Kulit dan kelamin Fakultas Kedokteran/RSUD Dr. Moewardi.
3. Prof. Dr. Harijono Kario Sentono, dr., Sp.KK(K) selaku Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Kulit dan kelamin FK UNS/RSDM
4. Nugrohoaji Dharmawan, dr., Sp.KK M.Kes selaku Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan kelamin FK UNS/RSDM.
5. Endra Yustin, dr., MSc., Sp.KK selaku Sekretaris Program Studi Ilmu Kesehatan Kulit dan kelamin FK UNS/RSDM.
6. Dr. Indah Julianto, dr., Sp.KK(K) selaku pembimbing II yang bersedia meluangkan waktu untuk membimbing penulis dengan penuh kesabaran.
7. Suci Widhiati, dr., Sp.KK., MSc selaku pembimbing I yang membimbing penulis dengan sabar dan memberikan koreksi yang sangat berharga sejak awal pra-proposal hingga penulis dapat menyelesaikan hasil penelitian tesis ini.
8. Arief TQ, dr., MS yang telah memberikan arahan tentang tata cara penulisan, metodologi penelitian sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

9. Segenap staf pengajar Program Studi Ilmu Kesehatan Kulit dan kelamin FK UNS/RSDM
10. Segenap karyawan Laboratorium Klinik Dermama Solo yang telah banyak membantu selama penelitian ini.
11. Segenap staf Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Kementrian Pertanian Bogor yang membantu peneliti dalam pembuatan dan uji fitokimia ekstrak daun beluntas.
12. Kepada semua rekan-rekan peserta program pendidikan dokter spesialis kulit dan kelamin yang telah membantu dan mendukung proses penyusunan tesis ini.

Kami menyadari laporan ini jauh dari sempurna, oleh karenanya saran dan kritik sangat kami harapkan demi kesempurnaan laporan ini.



Surakarta, April 2017

Penulis

ABSTRAK

Latar Belakang

Beluntas (*Pluchea indica* Less.) merupakan tanaman herbal yang mengandung berbagai manfaat. Pada daun beluntas terkandung flavonoid. Flavonoid terdiri dari berbagai senyawa, salah satunya adalah quercetin, yang merupakan senyawa bioaktif terbanyak yang terkandung dalam daun beluntas. Inhibisi kolagen oleh flavonoid terutama quercetin, dapat memodulasi deposisi ekstraseluler matriks dan menghambat terbentuknya skar hipertrofik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun beluntas terhadap deposisi kolagen tipe I oleh fibroblas yang dituakan.

Bahan dan cara penelitian

Penelitian *in vitro* mengevaluasi efek pemberian ekstrak daun beluntas terhadap deposisi kolagen tipe I. Kelompok penelitian yang terdiri dari 4 kultur fibroblas yang dituakan, yakni kelompok kontrol (tanpa perlakuan), dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun beluntas dengan konsentrasi 20 $\mu\text{mol/L}$, 40 $\mu\text{mol/L}$, dan 80 $\mu\text{mol/L}$. Seluruh kelompok penelitian setelah perlakuan diberi pewarnaan dengan antibodi primer antibodi anti-kolagen I [5D8-G9] ab23446 (Abcam[®]) dan antibodi sekunder *Goat Anti-Mouse IgG H&L* (Alexa Fluor 488) (Abcam[®]). Analisis sel untuk menentukan deposisi kolagen tipe I dilakukan dengan menggunakan *flowcytometri*.

Hasil

Uji ANOVA pada keempat kelompok penelitian ini menunjukkan nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$). Analisis *post hoc* dengan menggunakan uji LSD menunjukkan perbedaan bermakna rata-rata penurunan jumlah fibroblas yang menyerap pewarnaan antibodi anti-kolagen I kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kesimpulan

Terdapat pengaruh ekstrak daun beluntas terhadap deposisi kolagen tipe I oleh fibroblas yang dituakan. Pemberian ekstrak daun beluntas dengan konsentrasi 80 $\mu\text{mol/L}$ memiliki pengaruh yang paling signifikan terhadap deposisi kolagen tipe I oleh fibroblas yang dituakan.

Kata kunci : *beluntas, fibroblas, kolagen tipe-I*

ABSTRACT

Background

Beluntas (*Pluchea indica* Less.) is an herbal plant that contains a variety of benefits. Quercetin, one of flavonoid, is the most bioactive agent in beluntas leaf. Collagen inhibition by flavonoids may modulate ECM deposition and inhibit the formation of hypertrophic scar. The aim of this study is to determine the role of beluntas (*Pluchea indica* Less.) leaf extract to the deposition of collagen type I in senesced fibroblasts.

Materials and methods

This was an in vitro research, to evaluate the effect of beluntas (*Pluchea indica* Less.) leaf extract to the deposition of type I collagen in senesced fibroblasts. There were 4 groups consisted of control group and beluntas leaf extract added group with various concentration from 20 $\mu\text{mol/L}$, 40 $\mu\text{mol/L}$ and 80 $\mu\text{mol/L}$. All groups were stained by anti-collagen I antibodies [5D8-G9] ab23446 (Abcam®) and secondary antibody Goat Anti-Mouse IgG H & L (Alexa Fluor 488) (Abcam®). Flowcytometri analysis was done to measure collagen deposition.

Result

Anove test was performed among the 4 gorups with avalue of $p = 0.000$ ($p < 0.05$). A post hoc analysis using LSD test showed significant differences in the average decrease of fibroblasts that absorbs staining anti-collagen I antibody treatment group compared with the control group.

Conclusion

There were significant effect of beluntas (*Pluchea indica* Less.) leaf extract to deposition of collagen type I in senescence fibroblasts. Beluntas (*Pluchea indica* Less.) leaf extract with a concentration of 80 mol / L had the most significant effect on the deposition of type I collagen in senescence fibroblasts.

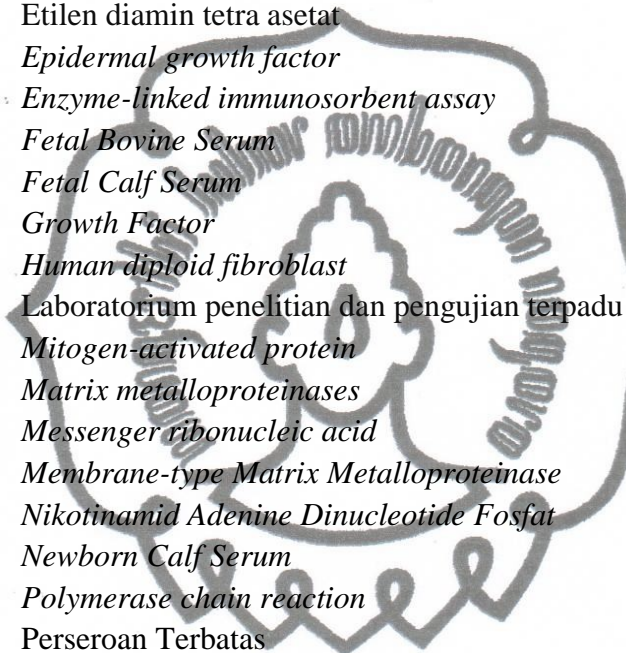
Keywords : *Beluntas, fibroblast, type I collagen*

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR SINGKATAN.....	x
DAFTAR GAMBAR DAN TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
 BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah Penelitian	2
C. Tujuan penelitian	3
D. Manfaat penelitian	3
 BAB II. LANDASAN TEORI	
A. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
1. Kulit	4
2. Fibroblas	5
3. Fibroblas yang dituakan.....	9
4. Kolagen	11
5. Sintesis kolagen oleh fibroblas	14
6. <i>Pluchea indica</i> (L.) Less	18
7. Pengaruh <i>Pluchea indica</i> terhadap deposisi kolagen tipe I pada fibroblast yang dituakan.....	23

B. KERANGKA BERPIKIR	26
C. HIPOTESIS	28
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	
A. Disain	29
B. Tempat dan waktu.....	29
B.1. Tempat penelitian	29
B.2. Waktu penelitian.....	29
C. Sampel penelitian	29
D. Kriteria inklusi dan eksklusi.....	29
E. Variabel penelitian	30
E.1. Variabel bebas	30
E.2. Variabel terikat	30
F. Bahan dan instrumen penelitian	30
G. Prosedur penelitian	31
G.1. Pembuatan ekstrak beluntas	31
G.2. Kultur fibroblas	33
G.3. Pemeriksaan <i>flowcytometry</i>	35
H. Definisi operasional	37
I. Analisis data.....	37
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	39
A. Hasil Penelitian	39
B. Pembahasan.....	43
BAB V. PENUTUP.....	48
A. Kesimpulan	48
B. Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	58

DAFTAR SINGKATAN



β-gal	: β-galaktosidase
AP	: <i>Activated protein</i>
BMZ	: <i>Basementmembrane zone</i>
DMEM	: <i>Dulbecco's Minimal Essential Medium</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
ECM	: <i>Extracellular matrix</i>
EDTA	: Etilen diamin tetra asetat
EGF	: <i>Epidermal growth factor</i>
ELISA	: <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
FCS	: <i>Fetal Calf Serum</i>
GF	: <i>Growth Factor</i>
HDF	: <i>Human diploid fibroblast</i>
LPPT	: Laboratorium penelitian dan pengujian terpadu
MAP	: <i>Mitogen-activated protein</i>
MMP	: <i>Matrix metalloproteinases</i>
mRNA	: <i>Messenger ribonucleic acid</i>
MT-MMP	: <i>Membrane-type Matrix Metalloproteinase</i>
NADPH	: <i>Nikotinamid Adenine Dinucleotide Fosfat</i>
NbCF	: <i>Newborn Calf Serum</i>
PCR	: <i>Polymerase chain reaction</i>
PT	: Perseroan Terbatas
RER	: <i>Rough endoplasmic reticulum</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
RSUD	: <i>Rumah Sakit Umum Daerah</i>
t-BHP	: Tert-butylhidroksiperoksida
TGF-β	: <i>Transforming Growth Factor β</i>
TIMP	: <i>Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases</i>
TNF	: <i>T nuclear factor</i>
UV	: Ultraviolet
WHO	: <i>World Health Organization</i>

DAFTAR GAMBAR DAN TABEL

Gambar 1.	Struktur fibroblas.....	6
Gambar 2.	Sintesis kolagen dan proses pembentukan kolagen matur	15
Gambar 3.	Diagram skematis sintesis dan degradasi kolagen tipe I	16
Gambar 4.	Gambar skematik regulasi MMP	17
Gambar 5.	Beluntas (<i>Pluchea indica</i> Less.)	19
Gambar 6.	Segmentasi daun beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.).....	21
Gambar 7.	Total kandungan flavonoid pada daun beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.)... 21	21
Gambar 8.	Skema media kultur fibroblas pada piring pertumbuhan	35
Gambar 9.	<i>Flowcytometry</i> BD Accuri.....	36
Gambar 10.	Konfluensi fibroblas 50%.....	40
Gambar 11.	Distribusi fibroblas pada kultur yang telah dipuasakan (starvation)... 41	41
Gambar 12.	Hasil analisis <i>flowcytometry</i>	42
Gambar 13.	Grafik boxplot kelompok penelitian.....	43
Tabel 1.	Kesimpulan hasil uji ANOVA.....	42

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Hasil analisis SPSS 22.0
- Lampiran 2. Rangkaian proses pemeriksaan *flowcytometry*
- Lampiran 3. Kelaikan etik penelitian
- Lampiran 4. Formulir Identifikasi Kelayakan Sampel
- Lampiran 5. Kesepakatan Pengolahan Sel Punca Antara Dokter penyedia Jaringan dan Pendor
- Lampiran 6. Hasil pemeriksaan HbsAg dan anti HIV
- Lampiran 7. Sertifikat Pengujian Ekstrak Daun Beluntas
- Lampiran 8. *Product datasheet* Anti-Collagen I antibody [5D8-G9] ab23446
- Lampiran 9. *Product datasheet* Goat Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Fluor® 488) ab150113