

**Perbedaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis sebagai Antioksidan
terhadap Stres Oksidatif (Kadar Malondialdehide (MDA)) dan
Apoptosis (Ekspresi *Caspase-3*) pada Tikus Putih Model *Skin Graft*
(*Rattus Norvegicus*)**

TESIS

Disusun untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai Derajat
Program Pendidikan Dokter Spesialis
Program Studi Ilmu Bedah



Disusun Oleh
RICKY DWI NUR TYASTONO
S561608006

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
LAB/SMF BEDAH RSUD Dr. MOEWARDI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2021

LEMBAR PENGESAHAN TESIS**PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS
SEBAGAI ANTIOKSIDAN TERHADAP STRES OKSIDATIF
(KADAR *MALONDIALDEHIDE (MDA)*) DAN *APOPTOSIS*
(EKSPRESI *CASPASE-3*) PADA TIKUS PUTIH MODEL SKIN
GRAFT (*RATTUS NORVEGICUS*)**


Disusun oleh

RICKY DWI NUR TYASTONO
S561608001


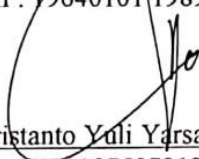

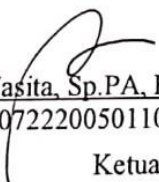

Telah dinyatakan memenuhi syarat untuk diseminarkan pada tanggal 21 Januari 2021

di KSM Bedah FK UNS/ RSUD Dr. Moewardi Surakarta

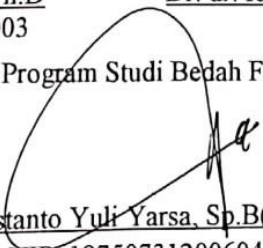
Pembimbing :


dr. Amru Sungkar Sp.B, Sp. BP-RE (K)
NIP. 19640101 198910 003

Penguji :


dr. Dewi Haryanti K, Sp. BP-RE (K)
NIP. 19750209 201001 1004
Dr. dr. Kristanto Yuli Yarsa, Sp.B(K)Onk, M.Kes
NIP. 197507312006041001
dr. Nunik Agustriani, Sp.B, Sp.BA(K)
NIP. 19580811 198410 2001
dr. Brian Wasita, Sp.PA, Ph.D
NIP. 197907222005011003
Dr. dr. Ida Bagus Budhi S A, Sp.B(K)BD, MKes
NIP. 19750731 200604 1001

Ketua Program Studi Bedah FK UNS


Dr. dr. Kristanto Yuli Yarsa, Sp.B(K)Onk, M.Kes
NIP. 197507312006041001

PERNYATAAN KEASLIAN DAN PERSYARATAN PUBLIKASI

Saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa: Tesis yang berjudul "**Perbedaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis sebagai Antioksidan terhadap Stres Oksidatif (Kadar Malondialdehyde (MDA)) dan Apoptosis (Ekspresi Caspase-3) pada Tikus Putih Model Skin Graft (Rattus Norvegicus)**" ini adalah karya penelitian saya sendiri dan bebas plagiat, serta tidak terdapat proposal 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 secara tertulis digunakan sebagai acuan dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber acuan serta daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam tesis ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang diperoleh, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di Perguruan Tinggi ini (Permendiknas Nomor 17 tahun 2010).

Publikasi sebagian atau keseluruhan isi tesis pada jurnal atau forum ilmiah harus menyertakan tim promotor sebagai *author* dan PPs UNS sebagai institusinya. Apabila saya melakukan pelanggaran dari ketentuan publikasi ini, maka saya bersedia mendapatkan sanksi akademik yang berlaku.

Surakarta, 21 Januari 2021

Mahasiswa,

RICKY DWI NUR TYASTONO

S561608006

ABSTRAK**PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS SEBAGAI ANTIOKSIDAN TERHADAP STRES OKSIDATIF (KADAR MALONDIALDEHIDE (MDA)) DAN APOPTOSIS (EKSPRESI CASPASE-3) PADA TIKUS PUTIH MODEL SKIN GRAFT (*RATTUS NORVEGICUS*)**

Ricky Dwi Nur Tyastono

Latar Belakang:

Proses penyembuhan luka dipengaruhi oleh berbagai macam substansi dengan *Reactive Oxygen Species* yang memiliki peran fundamental dalam menghancurkan mikroorganisme serta mendegradasi struktur jaringan yang rusak. Tetapi, produksi ROS yang berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif yang menjadi dasar patogenesis luka kronis yang tidak dapat sembuh. Maka dari itu dibutuhkan suatu antioksidan yang dapat melawan stres oksidatif tersebut seperti pemberian ekstrak propolis sebagai antioksidan pada jaringan granulasi tikus putih jantan model *skin graft*.

Metode:

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *post-test only control group design* menggunakan 24 tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) sebagai hewan percobaan yang dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri dari 6 tikus pada masing-masing kelompok. Luka jaringan granulasi dibuat pada sampel dengan melakukan eksisi kulit pada punggung dengan ukuran 1x1 cm yang dirawat luka selama 7 hari kemudian diberikan *Skin Graft* sebesar 2x2 cm dari punggung tikus lapisan lemak. Pemberian ekstrak propolis diberikan dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, dan 800 mg/kgBB selama 7 hari setelah pemberian *skin graft*. Pemeriksaan serum MDA dan ekspresi caspase-3 dilakukan setelah selesai pemberian ekstrak propolis. Nilai kadar malondialdehid (MDA) dan ekspresi Caspase-3 dianalisis dengan uji komparatif menggunakan *confidence interval: 95%* dan $p < 0.05$ dianggap signifikan.

Hasil:

Uji komparatif rerata kadar MDA didapatkan $p < 0.05$ dengan uji *post hoc* didapatkan $p < 0.05$ pada antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian 3 dosis ekstrak propolis. Sementara uji komparatif rerata *histoscore* Caspase-3 mendapatkan $p > 0.05$ menandakan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian 3 dosis ekstrak propolis.

Kesimpulan:

Terdapat perbedaan kadar Malondialdehid (MDA) yang signifikan walaupun tidak didapat perbedaan ekspresi Caspase-3 yang signifikan dengan pemberian pemberian tiga macam dosis ekstrak propolis pada jaringan granulasi tikus jantan (*Rattus Norvegicus*) model *skin graft*.

Kata Kunci: *Skingraft*, Tikus Putih, MDA, *Caspase-3*

ABSTRACT**DIFFERENCES EFFECT OF PROPOLIC EXTRACT AS ANTIOXIDANT TO OXIDATIVE STRESS (MALONDIALDEHIDE (MDA)) AND APOPTOSIS (CASPASE-3 EXPRESSION) ON WHITE RAT SKIN GRAFT MODEL (RATTUS NORVEGICUS)**

Ricky Dwi Nur Tyastono

Background :

The wound healing process is influenced by various substances with Reactive Oxygen Species which have a fundamental role in destroying microorganisms and degrading damaged tissue structures. However, excessive production of ROS can lead to oxidative stress which is the basis of the pathogenesis of chronic, non-healing wounds. Therefore, an antioxidant that can fight oxidative stress is needed, such as the provision of propolis extract as an antioxidant in the granulation tissue of male white rats, skin graft model.

Methods :

This study was an experimental post-test only control group design using 24 male white rats (*Rattus Norvegicus*) as experimental animals which were divided into 4 groups consisting of 6 rats in each group. Wounds of granulation tissue were made on the sample by excision of the skin on the back with a size of 1x1 cm which was treated with wounds for 7 days then given Skin Graft of 2x2 cm from the back of the rat's fat layer. Propolis extract was given at a dose of 200 mg / kg, 400 mg / kg, and 800 mg / kg for 7 days after giving the skin graft. MDA serum examination and caspase-3 expression were carried out after giving the propolis extract. The values of malondialdehyde (MDA) and Caspase-3 expression were analyzed by comparative test using 95% confidence interval and $p < 0.05$ were considered significant.

Result :

The comparative test of the mean MDA level was $p < 0.05$, the post hoc test showed $p < 0.05$ between the control group and the treatment group. Meanwhile, the comparative test of Caspase-3 histoscore got $p > 0.05$, indicating that there was no significant difference between the control group and the treatment group.

Conclusion:

There was a significant difference in levels of Malondialdehyde (MDA) although there was no significant difference in the expression of Caspase-3 by administering three different doses of propolis extract in the granulation tissue of male rats (*Rattus Norvegicus*) skin graft model.

Keywords: Skingraft, White Mouse, MDA, Caspase-3

PRAKATA

Puji syukur Alhamdulillah rabbil'alamin penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan kasih sayang, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan tesis yang berjudul **"Perbedaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis sebagai Antioksidan terhadap Stres Oksidatif (Kadar Malondialdehide (MDA)) dan Apoptosis (Ekspresi Caspase-3) pada Tikus Putih Model Skin Graft (Rattus Norvegicus)"** ini dapat penulis selesaikan. Penelitian ini untuk memenuhi sebagian persyaratan dalam menyelesaikan Gelar Spesialis Bedah Program Pendidikan Dokter Spesialis Bedah Fakultas Kedokteran (FK) Universitas Sebelas Maret (UNS).

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus dan penghargaan yang setinggi tingginya kepada:

1. Prof. Dr. Reviono, dr., Sp.P(K)., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, yang telah memberikan kemudahan dan dukungan kepada penulis selama menjalani pendidikan di Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
2. Dr. dr. Cahyono Hadi, Sp. OG (K) sebagai direktur Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr. Moewardi, Surakarta beserta seluruh jajaran staf direksi yang telah memberi kemudahan dan dukungan kepada kami selama pendidikan di Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
3. Dr. dr. Kristanto Yuli Yarsa, Sp.B(K)Onk. selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret yang telah memberikan bimbingan, semangat dan pengarahan dalam penyusunan tesis ini.
4. dr. Amru Sungkar, Sp.B, Sp.BP-RE(KKF) selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan dukungan, bimbingan, dan pengarahan dalam penyusunan tesis ini.
5. Dr. dr. Kristanto Yuli Yarsa, Sp.B(K)Onk selaku Pembimbing II yang telah memberikan dukungan, bimbingan, dan pengarahan dalam penyusunan tesis ini.
6. dr. Brian Wasita, P.hD, Sp. PA selaku Pembimbing III yang telah memberikan dukungan, bimbingan, dan pengarahan dalam penyusunan tesis ini.

7. dr. Dewi Haryanti, Sp.BP-RE(KKF), dr. Nunik Agustrina, Sp.B, Sp.BA, D. dr. Ida Bagus Budi, Sp.B(K)BD selaku dokter penguji yang telah memberikan dukungan, bimbingan, dan pengarahan dalam penyusunan tesis ini.
8. Segenap dosen Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Bedah Universitas Sebelas Maret yang telah membekali ilmu pengetahuan yang sangat berarti bagi peneliti.
9. Orang tua tercinta, mama dan papa, serta seluruh saudara yang telah memberikan dorongan baik moril maupun materil selama menjalani Pendidikan di Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
10. Istri tercinta yang telah dengan sabar memberikan dukungannya sehingga bisa menyelesaikan pendidikan di Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
11. Anak – anakku tercinta, atas kesabaran dan doanya dalam mendukung pendidikan di Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
12. Seluruh teman sejawat seperjuangan peserta didik pendidikan Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret yang telah memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis selama menjalani pendidikan ini.
13. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, yang telah membantu penulis baik dalam menjalani pendidikan maupun dalam menjalani pendidikan maupun dalam persiapan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan tesis ini masih terdapat banyak kekurangan, untuk itu penyusun mohon maaf dan sangat mengharapkan saran serta kritik dalam rangka perbaikan penulisan tesis ini.

Surakarta, 21 Januari 2021

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
PERNYATAAN KEASLIAN DAN PERSYARATAN PUBLIKASI.....	iii
ABSTRAK.....	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Landasan Teori	4
1. Penyembuhan Luka.....	4
2. Pengaruh ROS terhadap Proses Penyembuhan Luka.....	16
3. Protein <i>Caspase-3</i>	18
4. Aktivasi Protein <i>Caspase-3</i>	20
5. Malondialdehid	20
6. <i>Skin Graft</i>	24
7. Allevyn ®.....	25
8. Propolis sebagai antioksidan dalam proses penyembuhan luka.....	26
B. KERANGKA TEORI	30
C. HIPOTESIS	31
BAB III METODE PENELITIAN	32
A. Desain Penelitian	32
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	32

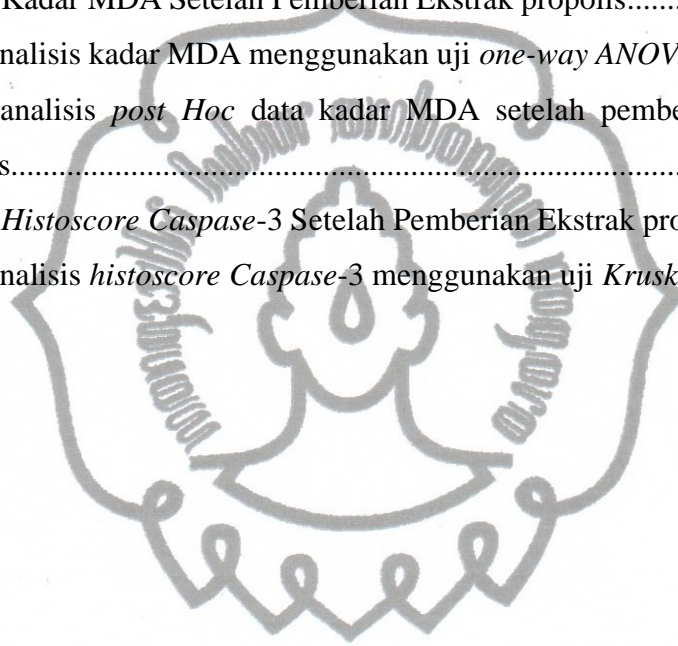
C. Populasi, Sampel dan Teknik Sampling Penelitian	32
1. Populasi Penelitian.....	32
2. Besar Sampel.....	33
D. Kriteria Restriksi.....	34
E. Alokasi Subjek.....	34
F. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian.....	35
1. Variabel Penelitian.....	35
2. Definisi Operasional variabel.....	36
G. Analisis Data.....	41
H. Pertimbangan Etik	41
I. Alur Penelitian	42
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	43
A. Hasil Penelitian.....	43
1. Data Kadar MDA Masing-Masing Kelompok.....	43
2. Analisis Data Kadar MDA Tikus	44
3. Data Hasil Imunohistokimia <i>Caspase-3</i> Masing-Masing Kelompok.....	46
4. Analisis Data <i>Histoscore Caspase-3</i> Tikus.....	47
B. Pembahasan	48
1. Perbedaan Kadar MDA Tikus Pada Tiap Dosis Ekstrak propolis	48
2. Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis pada Angka <i>Histoscore</i> <i>Caspase-3</i>	51
C. Keunggulan Penelitian.....	53
D. Keterbatasan Penelitian	54
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	55
A. Kesimpulan.....	55
B. Saran	56
DAFTAR PUSTAKA.....	57
LAMPIRAN	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tiga fase penyembuhan luka, waktu dan sel karakteristik yang tampak pada waktu tertentu.....	6
Gambar 2.2 Empat fase penyembuhan luka.....	6
Gambar 2.3 Ilustrasi proses penyembuhan luka.....	8
Gambar 2.4 Gambaran luka pada hari ke-5 pasca cedera menunjukkan angiogenesis, fibroplasia, dan epitelisasi.....	9
Gambar 2.5 Fotomikrografi dari otot skeletal 5 hari pasca cedera pada potongan longitudinal.....	11
Gambar 2.6 Mekanisme apoptosis.....	12
Gambar 2.7 Hubungan antara proses penyembuhan luka dan ROS.....	17
Gambar 2.8 Mekanisme ROS menyebabkan apoptosis sel melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik.....	18
Gambar 2.9 Jalur Aktivasi <i>Caspase-3</i>	19
Gambar 2.10 Formasi MDA dan metabolisemenya.....	23
Gambar 2.11. Mekanisme molekuler penyembuhan luka dari aktivitas propolis.....	28
Gambar 3.1 Model tikus <i>skin graft</i> dengan luka 2 x 2 cm di daerah punggung....	35
Gambar 3.2 Model tikus perlakuan <i>Skin graft</i>	40
Gambar 4.1. Tabel histogram kadar MDA setelah diberi perlakuan <i>skin graft</i> dan diberikan ekstrak propolis.....	43
Gambar 4.2. Tabel histogram rerata <i>histoscore Caspase-3</i> setelah diberi perlakuan <i>skin graft</i> dan diberikan ekstrak propolis.....	46

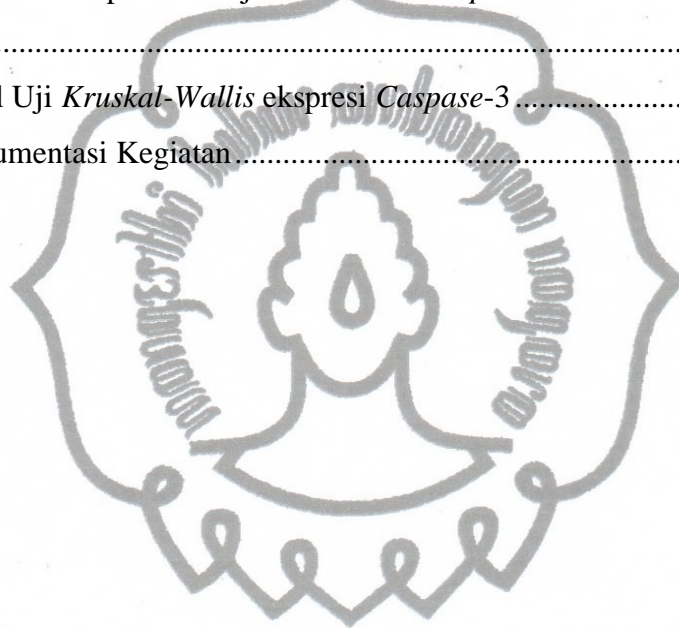
DAFTAR TABEL

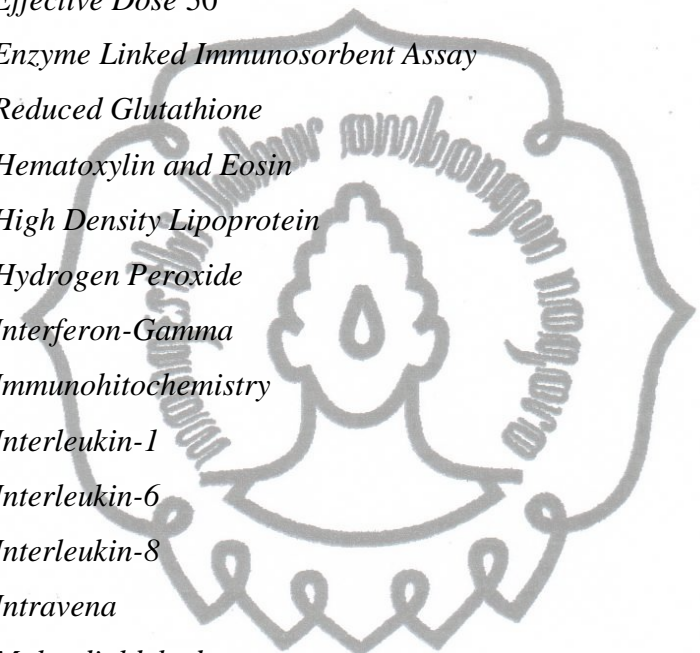
Tabel 2.1 Proses Penyembuhan Luka.....	6
Tabel 2.2 Klasifikasi <i>skin graft</i> berdasarkan ketebalannya	24
Tabel 2.3 Konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis (spesies) hewan uji ..	29
Tabel 3.1 Gambar tabel besaran jumlah sampel hewan yang dibutuhkan untuk mencapai hasil yang signifikan secara statistik.....	33
Tabel 4.1. Rerata Kadar MDA Setelah Pemberian Ekstrak propolis.....	43
Tabel 4.2. Hasil analisis kadar MDA menggunakan uji <i>one-way ANOVA</i>	44
Tabel 4.3 Hasil analisis <i>post Hoc</i> data kadar MDA setelah pemberian ekstrak propolis.....	45
Tabel 4.4. Rerata <i>Histoscore Caspase-3</i> Setelah Pemberian Ekstrak propolis	46
Tabel 4.5. Hasil analisis <i>histoscore Caspase-3</i> menggunakan uji <i>Kruskal-Wallis</i>	47



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Lembar Kelaikan Etik (<i>Ethical Clearance</i>)	64
Lampiran 2. Data Hasil Kadar MDA Semua Kelompok.....	65
Lampiran 3. Hasil Deskriptif dan Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk</i> Kadar MDA	66
Lampiran 4. Hasil Uji <i>Oneway Anova</i> dan <i>Post Hoc Test</i> kadar MDA.....	68
Lampiran 5. Data Hasil Kadar <i>Caspase-3</i> Semua Kelompok	69
Lampiran 6. Hasil Deskriptif dan Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk</i> Kadar <i>Caspase-3</i>	70
Lampiran 7. Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> ekspresi <i>Caspase-3</i>	72
Lampiran 8. Dokumentasi Kegiatan.....	73



DAFTAR SINGKATAN

ADP	: <i>Adenosine Diphosphate</i>
AGEs	: <i>Advanced Glycated End Products</i>
ATP	: <i>Adenosine triphosphate</i>
AUC	: <i>Area Under Curve</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ED50	: <i>Effective Dose 50</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
GSH	: <i>Reduced Glutathione</i>
HE	: <i>Hematoxylin and Eosin</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
H ₂ O ₂	: <i>Hydrogen Peroxide</i>
IFN- γ	: <i>Interferon-Gamma</i>
IHC	: <i>Immunohistochemistry</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IL -8	: <i>Interleukin-8</i>
i.v.	: <i>Intravena</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
MMPs	: <i>Matrix Metalloproteinases</i>
NAD	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>
NAD(P)H	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor kappa B</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
PKC	: <i>Protein Kinase-C</i>
p.o.	: <i>Per-oral</i>
PUFAs	: <i>Polyunsaturated Fatty Acids</i>
RAGE	: <i>Receptor of AGEs</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROC	: <i>Receiver Operating Characteristics</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>

s.c.	: <i>Subcutan</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
TBA	: <i>Thiobarbituric Acid</i>
TBARS	: <i>Thiobarbituric Acid Reacting Substances</i>
TGF- β 1	: <i>Transforming Growth Factor -β1</i>
TLR-4	: <i>Toll-Like Receptor-4</i>
TNF-	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>

