



# UNIVERSITAS AIRLANGGA

## FAKULTAS KEDOKTERAN

Kampus A Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60131 Telp. (031) 5020251, 5030252, 5030253 Fax. (031) 5022472  
website : <http://www.fk.unair.ac.id> email : [dekan@fk.unair.ac.id](mailto:dekan@fk.unair.ac.id)

**SALINAN**

**KEPUTUSAN**

**DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN  
NOMOR 401/UN3.1.1/KD/2015**

**TENTANG**

**PENGANGKATAN PENYANGGAH UJIAN DOKTOR TERBUKA  
PROGRAM DOKTOR  
PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN FAKULTAS KEDOKTERAN  
ATAS NAMA PHILIA SETIAWAN, dr.,Sp.An.KIC.,KAKV**

**DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN,**

- Menimbang : a. bahwa ujian disertasi tahap I Program Doktor (S3) telah dilaksanakan, selanjutnya mahasiswa yang dinyatakan lulus dari ujian tahap I tersebut berhak mengikuti ujian tahap II yang disebut Ujian Doktor Terbuka;
- b. bahwa nama - nama Penyanggah Ujian Doktor Terbuka yang tercantum dalam lampiran Keputusan ini dinyatakan memenuhi syarat dan bersedia untuk diangkat sebagai penyanggah Ujian Doktor Terbuka;
- c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a dan b, perlu menetapkan Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran tentang Pengangkatan Penyanggah Ujian Doktor Terbuka Program Doktor Program Studi Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran.
- Mengingat : 1. Undang - Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara RI Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 4301);
2. Undang - Undang Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2005 tentang Guru dan Dosen (Lembaran Negara RI Nomor 157, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 4568);
3. Undang-undang 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5336);
4. Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954 tentang Pendirian Universitas Airlangga (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1954 Nomor 99, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 695 juncto lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1955 Nomor 4 Tambahan Lembaran Negara Nomor 748);
5. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 30 Tahun 2014 tentang Statuta Universitas Airlangga;
6. Peraturan Majelis Wali Amanat Universitas Airlangga Nomor 12/P/MWA-UA/2008 tentang Anggaran Dasar Rumah Tangga Universitas Airlangga;
7. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 32 Tahun 2014 tentang Peraturan Pendidikan;

8. ...

**DISERTASI**

**MEKANISME APOPTOSIS NEURON HIPOKAMPUS TIKUS TUA  
AKIBAT PAPAN OKSIGEN KONSENTRASI TINGGI :  
PERAN HIDROGEN PEROKSIDA, RASIO *PROBDNF-BDNF*, *PLASMIN*,  
*P75NTR* DAN *TRKB***



**PHILIA SETIAWAN**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2015**

**DISERTASI**

**MEKANISME APOPTOSIS NEURON HIPOKAMPUS TIKUS TUA  
AKIBAT PAPAN OKSIGEN KONSENTRASI TINGGI :  
PERAN HIDROGEN PEROKSIDA, RASIO *PROBDNF-BDNF*, *PLASMIN*,  
*P75NTR* DAN *TRKB***

**PHILIA SETIAWAN**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2015**

**MEKANISME APOPTOSIS NEURON HIPOKAMPUS TIKUS TUA  
AKIBAT PAPAN OKSIGEN KONSENTRASI TINGGI :  
PERAN HIDROGEN PEROKSIDA, RASIO *PROBDNF-BDNF*, *PLASMIN*,  
*P75NTR* DAN *TRKB***

**DISERTASI**

**Untuk memperoleh Gelar Doktor  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang Doktor  
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga  
dan dipertahankan dihadapan Panitia Ujian Akhir Tahap II (Terbuka)**

oleh

**PHILIA SETIAWAN**

**NIM : 091070133**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2015**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**DISERTASI**

**MEKANISME APOPTOSIS NEURON HIPOKAMPUS TIKUS TUA AKIBAT  
PAPARAN OKSIGEN KONSENTRASI TINGGI :  
PERAN HIDROGEN PEROKSIDA, RASIO *PROBDNF-BDNF*, *PLASMIN*,  
*P75NTR* DAN *TRKB***

**TELAH DISETUJUI PADA  
PADA TANGGAL 8 OKTOBER 2015**

Oleh

Promotor



Prof Dr. H R Eddy Rahardjo, dr. SpAn KIC  
NIP. 19480531197412 1 001

Ko-Promotor



Prof Dr. Harjanto JM, dr AIFM  
NIP. 19441225197301 1 001

Menyetujui

KPS Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor



Prof Dr. Teddy Ontoseno, dr. SpA(K) SpJP. FIHA  
NIP. 19501216197703 1 002

**Disertasi ini telah diuji dan dinilai  
Oleh Panitia Ujian Akhir Tahap I (Tertutup)  
pada Tanggal 28 September 2015**

**Panitia Penguji :**

**Ketua** : 1. Prof. Dr. Subijanto Marto Soedarmo, dr. SpA (K)

**Anggota** : 2. Prof. Dr. R Eddy Rahardjo, dr. SpAn KIC

3. Prof. Dr. Harjanto JM, dr. AIFM

4. Prof. Prajitno Prabowo, dr. SpOG (K)

5. Prof. Dr. Aulanni'am, drh. DES

6. Prof. Dr. Ketut Sudiana, Drs. MSc

7. Dr. Hari Basuki Notobroto, dr. MKes

Ditetapkan dengan Surat Keputusan

Dekan Fakultas Kedokteran

Universitas Airlangga

Nomor : 370/UN3.1.1/KD/2015

Tanggal : 25 September 2015

## RINGKASAN

### **Mekanisme Apoptosis Neuron Hipokampus Tikus Tua akibat Paparan Oksigen Konsentrasi Tinggi : Peran Hidrogen Peroksida, Rasio *ProBDNF*-*BDNF*, *Plasmin*, *P75NTR* dan *TrkB***

Gangguan memori yang terjadi setelah episode yang memberikan stres yang cukup kuat, seperti trauma, infeksi dan pengalaman operasi, terutama pada kelompok geriatri, menjadi suatu masalah serius dalam aktifitas sehari-hari bagi penderita dan keluarganya. Kemajuan teknologi dan ilmu kedokteran meningkatkan usia harapan hidup manusia, tetapi sebagai salah satu konsekwensinya adalah semakin banyak pula pasien geriatri yang akan mengalami pembedahan atau perawatan di ICU.

Studi mengenai gangguan kognitif pasca operasi (POCD) menunjukkan angka kejadian yang lebih tinggi pada kelompok usia di atas 60 tahun dibandingkan usia yang lebih muda. Berbagai faktor yang mungkin berkontribusi telah diteliti, namun belum dapat memberikan jawaban yang jelas atas fenomena ini. Sementara itu semakin banyak bukti yang menunjukkan peran gangguan enzim scavenger dalam reaksi REDOX yang berhubungan dengan proses penuaan. Oksigen adalah sumber utama untuk terjadinya reaksi REDOX yang menghasilkan produk sampingan berupa ROS. Oleh karena itu suplemen oksigen dapat menjadi salah satu faktor yang mungkin berkontribusi terhadap kejadian POCD ini, karena oksigen, dalam pelbagai level konsentrasi, adalah bahan yang hampir selalu diberikan dalam fase-fase selama prosedur pembiusan dan perawatan pasien sakit kritis. Studi pendahuluan menunjukkan paparan oksigen konsentrasi tinggi selama 3 jam menimbulkan peningkatan apoptosis neuron hippocampus pada tikus tua. Akhir-akhir ini, banyak penelitian yang menunjukkan bukti-bukti semakin kuat tentang peran keseimbangan *ProBDNF* dan *BDNF* dalam meregulasi survival sel neuron di otak. *BDNF* banyak disintesa di berbagai area di otak, terutama di hipokampus yang dipercaya sebagai pusat kendali pelbagai proses memori. Apakah paparan oksigen konsentrasi tinggi dalam meningkatkan apoptosis sel neuron hipokampus melalui pengaruh terhadap keseimbangan *ProBDNF*-*BDNF* ini belum diketahui dengan jelas. Penelitian yang dilakukan saat ini bertujuan untuk menganalisis peran  $H_2O_2$ , *ProBDNF*-*BDNF* dan reseptornya masing-masing (*P75NTR* dan *TrkB*) serta plasmin dalam mekanisme paparan oksigen konsentrasi tinggi meningkatkan apoptosis sel neuron hippocampus pada individu tua.

Studi ini adalah studi eksperimental menggunakan tikus Sprague Dawley tua dan yang muda sebagai model *in vivo*.

Hasil studi ini diharapkan dapat memberikan perspektif tambahan untuk penelitian lanjutan mengenai efek hiperoxia.

Setelah memenuhi kriteria inklusi, dipilih secara random 20 ekor tikus tua (20 bulan) dan 20 ekor tikus muda (3 bulan) sebagai grup pembanding, masing-masing dibagi lagi menjadi 2 grup, yaitu grup kontrol yang menghirup udara biasa (oksigen 21%) dan grup perlakuan yang menghirup oksigen 96%. Paparan

dilakukan selama 3 jam, kedua kelompok berada di dalam kotak yang mengalir konsentrasi oksigen sesuai studi.

Pada akhir studi, dilakukan euthanasia terhadap hewan coba dengan cara yang sesuai dengan persetujuan etik untuk percobaan binatang. Kemudian jaringan hipokampus diambil dan difiksasi untuk selanjutnya dilakukan pemeriksaan. Identifikasi sel apoptosis menggunakan metode TUNEL, identifikasi ProBDNF, BDNF, P75NTR dan TrkB menggunakan imunohistokimia,  $H_2O_2$  dengan Colorimetri non fluorescent dan Plasmin dengan metode ELISA. Hasil penelitian dianalisis menggunakan statistik Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney untuk uji komparasi dan regresi bertahap untuk uji korelasi dan analisa jalur.

Hasil analisis penelitian menunjukkan data dasar kelompok tikus tua mempunyai  $H_2O_2$ , ProBDNF dan p75NTR yang lebih tinggi dan BDNF, TrkB dan plasmin yang lebih rendah dibandingkan kelompok tikus muda. ( $p=0.000$ ). Paparan oksigen konsentrasi tinggi menyebabkan konsentrasi  $H_2O_2$ , ekspresi ProBDNF, dan apoptosis lebih tinggi secara bermakna pada kedua kelompok dibandingkan kontrolnya masing-masing, terutama pada tikus tua beda ini tampak lebih tinggi dibandingkan tikus muda. Sebaliknya, BDNF menjadi lebih rendah cukup signifikan pada tikus tua, sedangkan pada tikus muda naik sedikit ( $p=0.000$ ). TrkB dan plasmin tampaknya tidak terpengaruh oleh paparan oksigen konsentrasi tinggi. P75NTR meningkat sangat tinggi pada tikus tua tapi pada tikus muda meningkat tapi tidak berbeda bermakna.

Analisa hubungan antar variable menunjukkan bahwa peningkatan apoptosis sel neuron yang terjadi setelah paparan oksigen konsentrasi tinggi melalui jalur yang berbeda antara tikus tua dan tikus muda. Pada tikus tua, peningkatan ProBDNF dan p75NTR tidak berhubungan secara signifikan dengan peningkatan  $H_2O_2$ , yang berarti ada mekanisme lain yang mendasari peningkatan tersebut. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa selain ikatan ProBDNF-P75NTR, juga ada jalur lain yang tidak lewat jalur tersebut tapi dapat menyebabkan peningkatan apoptosis sel neuron hippocampus setelah paparan oksigen. Penelitian ini juga menunjukkan kemungkinan aktivasi P75NTR melalui jalur yang berbeda mempunyai fungsi menghambat proses apoptosis.

Pada tikus muda, peningkatan ProBDNF oleh paparan oksigen tinggi melalui peningkatan  $H_2O_2$  seperti tampak pada analisa jalur, tetapi tidak diikuti dengan peningkatan P75NTR sehingga efek ikatan ProBDNF-P75NTR tidak signifikan dalam menyebabkan peningkatan apoptosis. Meningkatnya apoptosis ini lebih banyak disebabkan oleh tingginya  $H_2O_2$  melalui jalur selain jalur ProBDNF-P75NTR.

Penelitian ini menunjukkan meningkatnya rasio ProBDNF-BDNF sebagai akibat paparan oksigen tinggi dan tampak tidak berhubungan dengan plasmin.

Pada akhirnya dapat diambil kesimpulan bahwa hasil penelitian ini menunjukkan kelompok usia lanjut lebih rentan terhadap paparan oksigen konsentrasi tinggi dan melalui mekanisme yang berbeda dengan mekanisme pada kelompok muda dalam meningkatkan apoptosis neuron hipokampus. Plasmin tampak tidak memegang peran yang cukup signifikan dalam meningkatkan rasio ProBDNF-BDNF, hal ini membuka peluang untuk penelitian lanjutan tentang mekanisme yang dipengaruhi oleh tingginya oksigen dalam fungsinya mengubah ProBDNF menjadi BDNF matur. Selanjutnya untuk manfaat lebih jauh dalam praktek klinik, diperlukan penelitian epidemiologi klinik untuk mengidentifikasi



kondisi yang menunjukkan kerentanan yang tinggi pada kelompok usia lanjut dengan menggunakan parameter yang lebih fisibel dilakukan pada manusia.

## SUMMARY

### **Mechanism of Hippocampal Neuron Apoptosis Induced by High Oxygen Concentration in Aged Rat : *The Role of Hydrogen Peroxide, ProBDNF-BDNF ratio, Plasmin, P75NTR and TrkB***

Memory impairment after an episode of life challenge event, primarily in the elderly is becoming an extremely concerning problem in their daily activities. Present days, there are a growing number of aged patients undergoing various surgeries, as part of the consequence of an increased life span. Studies on Post Operative Cognitive Dysfunction described a high incidence among, elderly patient older than 60 years. Although various factors that might contribute the cause have been investigated, the underlying mechanism of this phenomenon remains poorly understood. One of the reasonable causes is the oxygen supplement as it is frequently given during anesthesia procedures. There has been a large body of evidences that scavenger enzymes malfunction related to REDOX signaling followed the aging process. The preliminary study demonstrated a marked increase of apoptotic cells in aged rat hippocampal neuron after exposed to high oxygen concentration. Recent studies suggested the important role of ProBDNF-BDNF in neuron survival, which has been known to be abundantly synthesized in hippocampus.

The objective of the present study was to analyze the role of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), Plasmin, ProBDNF-BDNF and their receptors in high oxygen induced hippocampal neuron apoptotic using aged rat as an experimental model in vivo. This study might contribute direction to other researcher who is interested in exploring more deeply involving hyperoxia.

Twenty female of 20 month-Sprague Dawley rats and another 20 of 3 months fulfilled inclusion criteria, each divided randomly into 2 groups. They were conducted for 3 hours 96% of oxygen exposure and normal air for the control group. Inspired oxygen ( $FiO_2$ ) and carbon dioxide fraction were monitored closely to assure 96%  $FiO_2$  and 0% of inspired  $CO_2$ . Subjects were sacrificed at the end of the study in the way, which was according to animal experimental ethical approval. Hippocampal neuron apoptotic cell was identified by TUNEL, protein ProBDNF, BDNF, P75NTR and TrkB by immunohistochemistry, Plasmin by ELISA. Data was analyzed with Kruskal-Wallis and Mann-Whitney for comparison, as it was not distributed normally. The correlation among variables was analyze using gradual regression method.

The result demonstrated a basic data that the aged rats had had a higher  $H_2O_2$ , ProBDNF and P75NTR and lower BDNF, TrkB and plasmin compared to the young adult which were statistically significant ( $p=0.000$ ). High level of oxygen exposure dramatically increased  $H_2O_2$  and ProBDNF in both age groups while decreased BDNF in aged only. While small significantly BDNF elicit in young adult group, TrkB and plasmin were not significantly affected. P75NTR increased very high in the aged group but no significant increase in the young adult. Statistically analyzed on this study showed that the elicit of apoptosis in the aged group was mainly affected by the increase of ProBDNF through a

mechanism not involving  $H_2O_2$ , on the other hand,  $H_2O_2$  played an important role in high oxygen- induced hippocampal neuron apoptosis in the young adult. Despite of showing that ProBDNF-P75NTR bound activated pro-apoptotic process, this study also demonstrated, a probability of different mechanism of P75NTR in aged rat, playing a pro-survival role for hippocampal neuron in aged rat exposed to high oxygen concentration.

In younger rat, high oxygen exposure resulted an increase of ProBDNF without significant enhanced P75NTR, meanwhile, regression analysis showed a non significant role of the interaction between ProBDNF and P75NTR to enhance cell apoptosis. ProBDNF itself appeared to cause cell apoptosis through different mechanism.

High oxygen exposure also increased ProBDNF-BDNF ratio which was unlikely reflected plasmin involvement. In conclusion, the present study suggested that the aged was more vulnerable to high oxygen exposure in different manner than the younger. And plasmin did not likely to be the most important protease affected by high oxygen concentration to cause the impairment of ProBDNF cleavage in oxygen-induced hippocampal neuron apoptosis. This opens a further perspective to investigate the mechanism which plays an important role in impairing the transformation of ProBDNF to BDNF during high oxygen exposure. Eventually, clinical epidemiology research, with feasible parameters to identify the most vulnerable aged group, might yield a clinical benefit.

## ABSTRACT

### **Mechanism of Hippocampal Neuron Apoptosis Induced by High Oxygen Concentration in Aged Rat : The Role of Hydrogen Peroxide, ProBDNF-BDNF ratio, Plasmin, P75NTR and TrkB**

**Philia Setiawan**

Studies on Post Operative Cognitive Dysfunction described a high incidence, among elderly patients having ROS scavenger enzymes malfunction. Meanwhile oxygen supplement is frequently given during anesthesia procedures. The preliminary study demonstrated a marked increase of apoptotic cells in aged rat hippocampal neuron after exposed to high oxygen concentration (hyperoxia). Recent studies suggested the important role of ProBDNF-BDNF in neuron survival, which has been known to be abundantly synthesized in hippocampus. The objective of the present study was to analyze the role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Plasmin, ProBDNF-BDNF and their receptors, in hyperoxia induced hippocampal neuron apoptosis using aged rat as an experimental model in vivo.

Twenty female of 20-months old and 20 female of 3-months old Sprague Dawley rats were each divided into 2 group and given a 3-hour 96% of oxygen exposure as treatment group and normal air as control group respectively. Hippocampal tissue was analysis for neuronal apoptotic cell, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ProBDNF, BDNF, P75NTR, TrkB Plasmin. (using TUNEL for Apoptosis, Colorimetri for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, IHC for Pro/matur BDNF, P75NTR and TrkB, ELISA for Plasmin)

Results showed that in the control group, the aged rat had a higher H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ProBDNF and P75NTR and lower BDNF, TrkB and plasmin compared to the young-adults. Hyperoxia dramatically increased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and ProBDNF, and significantly higher in the aged compared to the young-adults. TrkB and plasmin were not significantly affected in both groups. The aged group demonstrated that ProBDNF, but not H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, played an important role in hippocampal neuron apoptosis elevation.

In contrast, in young-adult rats, the increase of ProBDNF was induced by the elevation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Though ProBDNF-BDNF ratio was highly increased in both groups, Plasmin was not proven to be involved.

In conclusion, the present study suggested that the aged rat were more vulnerable than the young-adult one to high oxygen exposure through different mechanism, further, plasmin was unlikely the most important part of the mechanism affected by hyperoxia in ProBDNF cleavage impairment.

**Key words:** high oxygen concentration, hyperoxia, elderly, apoptosis, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, proBDNF, BDNF, plasmin, hippocampus.

## DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Dalam.....	i
Lembar Pengesahan.....	iv
Ucapan Terima Kasih.....	vi
Ringkasan.....	x
Summary.....	Xiii
Abstract.....	xv
Daftar Isi.....	xvi
Daftar Tabel.....	xx
Daftar Gambar.....	xxi
Daftar Lampiran.....	xxii
Daftar Singkatan.....	xxiii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	6
1.3. Tujuan.....	7
1.3.1. Tujuan Umum.....	7
1.3.2. Tujuan Khusus.....	7
1.4. Manfaat Penelitian.....	7
1.4.1. Manfaat Akademik.....	7
1.4.2. Manfaat dalam aplikasi.....	8
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Oksigen dan timbulnya 'Reactive Oxygen Species' (ROS).....	9
2.1.1. Perjalanan 'nasib' oksigen.....	9
2.1.2. Peranan radikal bebas dan ROS.....	12
2.1.3. ROS dan proses penuaan.....	13
2.1.4. Pengaruh hiperoksia.....	15
2.1.5. Peranan Hydrogen Peroksida dalam mening katkan apoptosis atau nekrosis sel.....	16
2.1.6. Proses Kematian sel.....	17
2.1.6.1 Apoptosis.....	17
2.1.6.2 Mekanisme proses apoptosis.....	18
2.1.6.3 Peranan c-Jun N terminal protein kinase (JNK)dalam proses apoptosis..	21
2.3. Hippocampus dan memori.....	22
2.3.1 Hippocampus.....	22
2.3.2 Hubungan Hippocampus dan memori.....	23
2.3.3 Memori dan Long-term Potentiation(LTP)...	25
2.4. Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF).....	26
2.4.1. Ekspresi BDNF dan perjalanannya.....	26
2.4.2. Mekanisme sekresi BDNF.....	28

2.4.3	Peranan BDNF dalam kelangsungan hidup sel otak.....	31
2.4.4	Peranan ProBDNF dalam menginduksi terjadinya apoptosis sel otak.....	33
2.4.5.	Aktivasi TrkB melalui jalur non BDNF.....	35
2.4.6.	BDNF dan memori.....	36
2.5.	Plasmin .....	38
2.6.	Pengaruh proses penuaan pada fungsi dan metabolisme hipokampus.....	38
2.6.1	Pengaruh proses penuaan pada fungsi mitokondria .....	38
2.6.2	Pengaruh usia terhadap <i>ekspresi tissue plasminogen activator dan plasminogen activator inhibitor-1</i> .....	40
2.6.3	Pengaruh usia terhadap ekspresi ProBDNF, BDNF, P75NTR dan TrkB .....	41
2.7.	Kerangka teori.....	41
 <b>BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS</b>		
3.1.	Kerangka konseptual .....	44
3.2.	Hipotesis .....	46
 <b>BAB 4. METODE PENELITIAN</b>		
4.1.	Jenis dan rancangan penelitian .....	47
4.1.1.	Jenis penelitian.....	47
4.1.2.	Rancangan penelitian.....	47
4.2.	Unit eksperimen, besar sampel dan teknik pengambilan sampel .....	48
4.2.1.	Unit eksperimen .....	48
4.2.2.	Besar sampel.....	48
4.2.3.	Teknik pengambilan sampel.....	48
4.3	Variabel penelitian dan definisi operasional .....	49
4.3.1.	Klasifikasi variabel .....	49
4.3.2.	Definisi operasional .....	50
4.3.3	Kerangka Penelitian (Alur Penelitian).....	55
4.4.	Bahan penelitian .....	56
4.5.	Alat penelitian .....	56
4.6.	Bahan penelitian dan alat laboratorium .....	56
4.6.1.	Bahan laboratorium .....	56
4.6.2.	Alat penelitian laboratorium .....	57
4.7.	Lokasi penelitian dan waktu penelitian .....	57
4.8.	Prosedur penelitian, pengambilan dan pengumpulan data .....	58
4.8.1.	Prosedur penelitian .....	58
4.8.2.	Pengambilan dan pengumpulan data .....	60
4.8.3.	Pengolahan dan analisa data .....	61

## **BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL**

5.1. Gambaran Umum Penelitian.....	62
5.1.1 Karakteristik subyek penelitian .....	63
5.1.2 Rangkuman hasil penelitian .....	64
5.1.3 Pengaruh paparan oksigen konsentrasi tinggi terhadap kadar hidrogen peroksida.....	65
5.1.4 Hasil ProBDNF dan P75NTR .....	66
5.1.5 Hasil BDNF dan TrkB.....	69
5.1.6 Hasil Plasmin dan rasio ProBDNF-BDNF....	71
5.1.7 Hasil apoptosis sel neuron hipokampus .....	73
5.2. Analisa jalur .....	76
5.2.1 Jalur kelompok tikus tua .....	76
5.2.1.1 Jalur korelasi antara oksigen, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dan apoptosis .....	77
5.2.1.2 Korelasi oksigen konsentrasi tinggi terhadap ProBDNF dan P75NTR .....	77
5.2.1.3 Korelasi oksigen konsentrasi tinggi terhadap plasmin.....	78
5.2.1.4 Korelasi oksigen konsentrasi tinggi terhadap BDNF-TrkB.....	78
5.2.2 Jalur kelompok tikus muda .....	79
5.2.2.1 Korelasi antara oksigen konsentrasi tinggi dengan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dan apoptosis.....	80
5.2.2.2 Korelasi antara oksigen konsentrasi tinggi dengan ProBDNF-P75NTR.....	80
5.2.2.3 Korelasi antara oksigen konsentrasi tinggi dengan kadar plasmin.....	81
5.2.2.4 Korelasi antara oksigen konsentrasi tinggi dengan BDFNF-TrkB .....	81

## **BAB 6. PEMBAHASAN**

6.1. Korelasi Oksigen konsentrasi tinggi-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -apoptosis.	83
6.2 Korelasi antara oksigen tinggi dengan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , proBDNF, P75NTR, BDNF, dan TrkB.....	86
6.3 Korelasi antara oksigen konsentrasi tinggi dengan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Plasmin dan rasio ProBDNF-BDNF.....	89
6.4 Jalur hasil penelitian tikus tua dan muda.....	90
6.5 Hasil temuan baru.....	91
6.6 Implikasi hasil baru.....	91
6.7 Tindak lanjut terhadap temuan baru.....	92
6.8 Keterbatasan penelitian.....	92

## **BAB 7 PENUTUP**

7.1 Kesimpulan .....	93
7.2 Saran-saran .....	94

DAFTAR PUSTAKA ..... 96



8. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1/H3/PR/2012 tentang Perubahan Atas Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 26/H3/PR/2011 tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas Airlangga sebagaimana diubah dengan Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1/H3/PR/2012;
9. Keputusan Rektor Universitas Airlangga No. 1278/H3/KP/2010 tentang Pengangkatan Dekan dan Direktur Program Pascasarjana Periode 2010 – 2015;
10. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1947/H3/KR/2011 tentang Penetapan Ruang Lingkup Program Studi dalam Kategori Monodisiplin, Interdisiplin dan Multidisiplin untuk Pengelolaan Program Magister dan Program Doktor.

**M E M U T U S K A N :**

Menetapkan : **KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN TENTANG PENGANGKATAN PENYANGGAH UJIAN DOKTOR TERBUKA PROGRAM DOKTOR PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN FAKULTAS KEDOKTERAN ATAS NAMA PHILIA SETIAWAN, dr.,Sp.An.KIC.,KAKV.**

PERTAMA : Mengangkat Penyanggah Ujian Doktor Terbuka Program Doktor Program Studi Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran atas nama Philia Setiawan, dr.,Sp.An.KIC.,KAKV yang dilaksanakan pada tanggal, 22 Oktober 2015 dengan susunan nama sebagai berikut:

1. Prof. Dr. H.R. Eddy Rahardjo, dr.,Sp.An.KIC
2. Prof. Dr. Harjanto JM., dr.,AIFM
3. Dr. Ike Sri Redjeki, dr.,M.Kes.,Sp.An.,KIC.,KMN
4. Dr. Irwanto, dr.,Sp.A(K)
5. Dr. Arie Utariani, dr.,Sp.An.,KAP
6. Dr. Arifa Mustika, dr.,M.Si
7. Muchammad Yunus, DVM.,M.Kes.,Ph.D
8. Dr. Abdurachman, dr.,M.Kes.,PA(K)
9. Prof. Dr. Subijanto Marto Sudarmo, dr.,Sp.A(K)
10. Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr.,Sp.A(K),Sp.JP.FIHA

KEDUA : Keputusan ini mulai berlaku sejak tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Surabaya  
pada tanggal, 15 Oktober 2015

DEKAN,

ttd,

AGUNG PRANOTO  
NIP 19560104 198312 1 001

Salinan sesuai dengan aslinya  
Kepala Biro Akademik dan Kemahasiswaan

Dr. Gadis Wiernan Sari, dr.,M.Kes.   
NIP 19660504199603 2 001  
Salinan disampaikan Kepada Yth.  
1. Yang bersangkutan  
2. Rektor Universitas Airlangga

