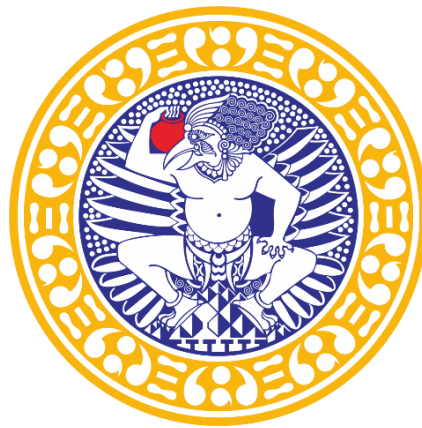


**POTENSI LAKTOFERIN SECARA TOPIKAL
TERHADAP PENINGKATAN EKSPRESI VEGF PADA
PROSES PENYEMBUHAN LUKA SAYAT TIKUS
WISTAR**

SKRIPSI



Oleh:

NG CHEE LING

NIM : 021811133168

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**POTENSI LAKTOFERIN SECARA TOPIKAL
TERHADAP PENINGKATAN EKSPRESI VEGF PADA
PROSES PENYEMBUHAN LUKA SAYAT TIKUS
WISTAR**

SKRIPSI



Oleh:

NG CHEE LING

NIM : 021811133168

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**POTENSI LAKTOFERIN SECARA TOPIKAL TERHADAP
PENINGKATAN EKSPRESI VEGF PADA PROSES
PENYEMBUHAN LUKA SAYAT TIKUS WISTAR
SKRIPSI**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan
Dokter Gigi Di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya**

Oleh :

NG CHEE LING

NIM : 021811133168

Menyetujui

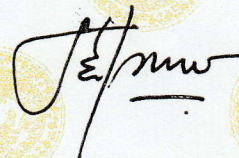
Pembimbing Utama



Sisca Meida Wati, drg., M.Kes., PhD

NIP: 198805192012122002

Pembimbing Serta



Prof. Dr. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes

NIP: 195911141986032002

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

Skripsi ini telah diuji pada tanggal 20 Januari 2022

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

- 1. Sisca Meida Wati, drg., M.Kes., PhD (Pembimbing Utama)**
- 2. Prof. Dr. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes (Pembimbing Serta)**
- 3. Bambang Sumaryono, drg., M.Kes (Ketua Penguji)**
- 4. Prof. Dr. Theresia Indah Budhy S. drg., M.Kes (Anggota Penguji)**
- 5. Astari Puteri, drg. (Anggota Penguji)**

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Ng Chee Ling

NIM : 021811133168

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi

Fakultas : Kedokteran Gigi

Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

**“POTENSI LAKTOFERIN SECARA TOPIKAL TERHADAP
PENINGKATAN EKSPRESI VEGF PADA PROSES PENYEMBUHAN
LUKA SAYAT TIKUS WISTAR”**

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 19 Januari 2021



Ng Chee Ling

NIM. 021811133168

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur bagi Sang Tri Ratna, Para Buddha dan Bodhisattva-Mahasattva, atas berkah dan anugerah-Nya sehingga skripsi yang berjudul “Potensi Laktoferin Secara Topikal Terhadap Peningkatan Ekspresi Vegf Pada Proses Penyembuhan Luka Sayat Tikus Wistar” telah selesai disusun sebagai salah satu syarat kelulusan Program Studi Pendidikan Kedokteran Gigi Strata 1 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Dalam penulisan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan sedalam-dalamnya penulis sampaikan kepada :

1. Dr. Agung Sosiawan drg., M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes, selaku Ketua Departemen Patologi Mulut dan Maksilofasial yang telah memberikan izin dalam pembuatan skripsi.
3. Sisca Meida Wati, drg., M.Kes., PhD, selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, motivasi, saran, waktu dan arahan selama penulisan skripsi ini.
4. Prof. Dr. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes, sebagai dosen pembimbing serta yang turut memberikan masukan, evaluasi, koreksi, dan meluangkan waktu selama penyusunan skripsi.
5. Bambang Sumaryono, drg., M.Kes, selaku ketua dosen penguji yang telah memberikan tanggapan, saran, dan masukan yang membangun demi mencapai hasil skripsi yang baik.
6. Prof. Dr. Theresia Indah Budhy S. drg., M.Kes, selaku dosen penguji yang telah memberikan tanggapan, saran, dan masukan yang membangun demi mencapai hasil skripsi yang baik.

7. Astari Puteri, drg., selaku dosen penguji yang telah memberikan semangat, motivasi, arahan, saran, waktu kepada penulis dan telah banyak membantu penulis dalam melaksanakan penelitian ini.
8. Mbak Levi, sekretaris departemen yang selalu direpotkan, memberikan bantuan, memberikan motivasi dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Kedua orang tua tercinta, Bapak Ng Teik Ee dan Ibu Tung Soo Ngoh, serta kakak Ng Chee Xuan yang selalu memberikan semangat dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Sahabat-sahabat terbaik penulis, yaitu Jihan Hijriya Nabilla, Dewi Cahya Kesuma, Mohammad Denis Solikhin, Bagus Aji Wibowo, Richard Kevin Santoso dan Annisa Rahmaputri yang telah memberikan semangat dan motivasi tiada henti kepada penulis selama penulisan skripsi.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh sebab itu, penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya apabila terdapat kesalahan selama penulis melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, 21 Desember 2021

Penulis,

(Ng Chee Ling)

NIM: 021811133168

ABSTRACT**UPREGULATION OF VEGF EXPRESSION AFTER GIVING TOPICAL LACTOFERRIN IN THE HEALING PROCESS OF INCISIONAL WOUND IN WISTAR RATS**

Background. Angiogenesis, a critical process in wound healing. Sprouting newly formed blood vessels from the pre-existing ones towards the most potent proangiogenic vascular endothelial growth factor (VEGF) provides nutrition and oxygen for the high oxygen demands of healing tissues. Nutraceutical lactoferrin has immunomodulatory properties due to its ability to bind with receptors and affects cells' activities. Lactoferrin possesses anti-inflammatory effects and can induce VEGF expression from macrophage phenotype M2 in the proliferative phase of wound healing. **Aim.** To determine the potency of topical lactoferrin through increasing expression of VEGF in wound healing of Wistar rats. **Method.** The study was based on a randomized post-test-only control group design laboratory experiment. 24 Wistar rats were divided into four groups: the control group (no lactoferrin be given) and the treatment groups with different concentrations of lactoferrin (50%, 70%, and 90%). Lactoferrin was applied topically on the wound once it was incised. Rats were sacrificed on day 3, and tissues were taken for immunohistochemistry examination to determine the expression of VEGF. **Results.** There was a significant difference in VEGF expression in the control group and treatment groups. **Conclusion.** Topical lactoferrin in a concentration of 50% upregulated VEGF expression in the healing process of the incisional wound in Wistar rats.

Keywords: Lactoferrin, Vascular Endothelial Growth Factors (VEGF), Angiogenesis

ABSTRAK

**POTENSI LAKTOFERIN SECARA TOPIKAL TERHADAP PENINGKATAN
EKSPRESI VEGF PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA SAYAT TIKUS
WISTAR**

Latar belakang. Proses angiogenesis merupakan proses penting dalam penyembuhan luka untuk menyediakan nutrisi dan oksigen kepada sel inflamasi yang bermetabolik tinggi terhadap oksigen. Nutrasetikal laktoferin yang mampu mempengaruhi proses angiogenesis melalui ekspresi faktor proangiogenik *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dari makrofag fenotip M2 yang anti-inflamasi. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan potensi laktoferin secara topikal dan menganalisis peningkatan ekspresi VEGF terhadap penyembuhan luka sayat tikus wistar. **Method.** Penelitian eksperimental laboratoris rancangan penelitian *post test only control group design* dengan 24 tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol K (tidak diberikan laktoferin) dan kelompok perlakuan yang diterapi topikal laktoferin konsentrasi 50% (A1), konsentrasi 70% (A2) dan konsentrasi 90% (A3). Tikus wistar disayat pada punggung dan langsung diberikan laktoferin satu kali. Pada hari ke 3, tikus wistar dikorbankan untuk pemeriksaan ekspresi VEGF dengan pewarnaan imunohistokimia. **Hasil.** Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. **Simpulan.** Pemberian laktoferin secara topikal dalam konsentrasi 50% dapat meningkatkan ekspresi VEGF pada proses penyembuhan luka sayat tikus Wistar.

Kata Kunci : *Laktoferin, Vascular Endothelial Growth Factors (VEGF), Angiogenesis*

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN.....	i
HALAMAN SAMPUL DALAM.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRACT.....	viii
ABSTRAK.....	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Anatomi kulit	6
2.1.1. Epidermis.....	7
2.1.2. Dermis	9
2.1.3. Subkutan atau hipodermis	10
2.2. Luka	10
2.2.1. Kontusio	11
2.2.2. Abrasi	12
2.2.3. Laserasi.....	13
2.2.4. Sayat.....	13

2.2.5.	Luka tusuk	14
2.3.	Penyembuhan luka	15
2.3.1.	Fase penyembuhan luka	15
2.3.2.	Klasifikasi penyembuhan luka.....	18
2.4.	Laktoferin	19
2.4.1.	Struktur laktoferin.....	21
2.4.2.	Sintesis laktoferin.....	22
2.4.3.	Reseptor laktoferin.....	23
2.5.	Makrofag.....	24
2.5.1.	M1	24
2.5.2.	M2	25
2.5.3.	Antigen Presenting Cells (APCs).....	26
2.6.	Limfosit T.....	26
2.7.	Toll-like receptors (TLRs)	27
2.8.	Receptor for advanced glycation end products (RAGE)	27
2.9.	Transkripsi faktor.....	28
2.9.1.	Nuclear Factor Kappa Beta (NF- κ B)	28
2.9.2.	Hypoxia-inducible factor.....	29
2.10.	Sitokin	30
2.10.1.	Tumor necrosis factor (TNF- α).....	30
2.10.2.	Interleukin 1.....	31
2.10.3.	Interleukin 4.....	31
2.10.4.	Interleukin 6.....	31
2.11.	Growth factor.....	32
2.11.1.	Vascular endothelial growth factor (VEGF).....	32
2.11.2.	Platelet derived growth factor (PDGF).....	36
2.11.3.	Basic fibroblast growth factor 2 (FGF-2)	37
2.11.4.	Epidermal growth factor (EGF)	37
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	38
3.1.	Kerangka Konseptual.....	38
3.2.	Penjelasan Kerangka Konsep.....	39
3.3.	Hipotesis penelitian.....	40
BAB 4	METODE PENELITIAN.....	41

4.1. Jenis Penelitian	41
4.2. Rancangan Penelitian	41
4.3. Populasi.....	42
4.4. Sampel dan Besar Sampel Penelitian	42
4.4.1. Sampel Penelitian.....	42
4.4.2. Besar Sampel	43
4.5. Variabel Penelitian	44
4.5.1. Variabel Bebas	44
4.5.2. Variabel Terikat	44
4.5.3. Variabel Penelitian.....	44
4.6. Definisi Operasional Variabel	44
4.7. Instrumen Penelitian	45
4.7.1. Alat.....	45
4.7.2. Bahan.....	46
4.8. Lokasi dan Waktu Penelitian	47
4.8.1. Lokasi Penelitian.....	47
4.8.2. Waktu Penelitian.....	47
4.9. Cara Kerja	47
4.9.1. Pengenceran Laktoferin.....	48
4.9.2. Persiapan hewan coba	49
4.9.3. Pemberian sayatan pada punggung tikus.....	50
4.9.4. Pemberian laktoferin pada luka sayat.....	50
4.9.5. Pembuatan preparat histopatologis	50
4.9.6. Pewarnaan imunohistokimia (staining) untuk pemeriksaan ekspresi VEGF	52
4.10. Interpretasi preparat	52
4.11. Analisis data.....	53
BAB 5 HASIL DAN ANALISIS DATA.....	55
5.1 Ekspresi VEGF.....	55
5.2. Analisis statistik data penelitian.....	57
BAB 6 PEMBAHASAN	61
BAB 7 PENUTUP.....	65
7.1 Kesimpulan.....	65
7.2 Saran.....	65

DAFTAR PUSAKA.....	66
LAMPIRAN	80

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Anatomi kulit	6
Gambar 2.2 Pembentukan luka kontusio	11
Gambar 2.3 Pembentukan luka abrasi	12
Gambar 2.4 Pembentukan luka robek	13
Gambar 2.5 Pembentukan luka sayat	14
Gambar 2.6 Pembentukan luka tusuk dengan alat berbeda	14
Gambar 2.7 Struktur laktoferin	22
Gambar 2.8 Proses angiogenesis	35
Gambar 4.1 Skema penelitian	41
Gambar 5.1 Grafik rerata dan standar deviasi ekspresi VEGF	56
Gambar 5.2 Gambaran imunohistokimia ekspresi VEGF	57

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 5.1 Nilai rerata dan standar deviasi VEGF	55
Tabel 5.2 Hasil uji <i>Shapiro-Wilk</i>	58
Tabel 5.3 Hasil Uji <i>Levene</i>	58
Tabel 5.4 Hasil Uji <i>One-way ANOVA</i>	59
Tabel 5.5 Hasil Uji <i>tukey's HSD</i>	60

DAFTAR SINGKATAN

APC	: <i>Antigen-presenting cells</i>
C	: <i>Carboxyl Group</i>
CD 14	: <i>Clusters of differentiation 14</i>
cRel	: <i>Nuclear Factor Kappa Beta subunit</i>
DAB	: <i>Diaminobenzidine tetrahydrochloride</i>
DAMPs	: <i>Damage-associated molecular patterns</i>
DMSO	: <i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
EGFR	: <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
EPO	: <i>Erythropoietin</i>
Fe ³⁺	: <i>Ferric ion</i>
FGF	: <i>Fibroblas Growth Factor</i>
FGF-2	: <i>Basic Fibroblast Growth Factor 2</i>
FLT-1	: <i>Fms-related tyrosine kinase 1</i>
GLUT-1	: <i>Glucose Transporter 1</i>
GM-CSF	: <i>Granulocyte/ macrophage colony -stimulating factor</i>
HB-EGF	: <i>Heparin-Binding Epidermal Growth Factor</i>
HIF	: <i>Hypoxia-Inducible Factors</i>
HIF-1 α	: <i>Hypoxia-Inducible Factors 1 Alpha</i>
HIF-1 β	: <i>Hypoxia-Inducible Factors 1 Beta</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HRE	: <i>Hypoxia Response Elements</i>
IFNs	: <i>Type 1 Interferons</i>
IFN- α	: <i>Interferon Alpha</i>

IFN- β	: <i>Interferon Beta</i>
IFN- γ	: <i>Interferon Gamma</i>
IGF-1	: <i>Insulin-Like Growth Factor-1</i>
IHC	: <i>Immunohistochemistry</i>
IK β	: <i>Inhibitory Kappa β Kinase</i>
IL-1	: <i>Interleukin 1</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin 1Beta</i>
IL-4	: <i>Interleukin 4</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IL-10	: <i>Interleukin 10</i>
IL-12	: <i>Interleukin 12</i>
IL-13	: <i>Interleukin 13</i>
IL-18	: <i>Interleukin 18</i>
IL-23	: <i>Interleukin 23</i>
KDR	: <i>Kinase Insert Domain Receptor</i>
LPS	: <i>Lipopolysaccharide</i>
LSD	: <i>Least Significant Difference</i>
MAPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MHC II	: <i>Major histocompatibility complex class II</i>
M0	: <i>Non-activated / resting macrophage</i>
M1	: <i>Proinflammatory macrophage</i>
M2	: <i>Anti-inflammatory macrophage</i>
mRNA	: <i>Messenger Ribonucleic Acid</i>
MyD88	: <i>Myeloid differentiation factor 88</i>
N	: <i>Amino Group</i>
NBF	: <i>Netral Buffer Formalin</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa Beta</i>

NF- κ B1	: <i>Nuclear Factor Kappa Beta p50-p105 subunit</i>
NF- κ B2	: <i>Nuclear Factor Kappa Beta p52-p100 subunit</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
One-way ANOVA	: <i>One-way Analysis of Variance</i>
PAMPs	: <i>Pathogen-associated molecular patterns</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PDGFB	: <i>Platelet-Derived Growth Factor Subunit B</i>
PF4	: <i>Platelet Factor-IV</i>
PHD	: <i>Prolyl-hydroxylase</i>
PIGF	: <i>Placenta Growth Factor</i>
PRRs	: <i>Pattern-recognition receptors</i>
RAGE	: <i>Receptors for Advanced Glycation End Products</i>
RelA	: <i>Nuclear Factor Kappa Beta p65 subunit</i>
RelB	: <i>Nuclear Factor Kappa Beta subunit</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SRCL	: <i>Scavenger Receptor C-Type Lectin</i>
TBS	: <i>Tris-buffered saline</i>
TcR	: <i>T cell receptor</i>
TGF- α	: <i>Transforming Growth Factor Alpha</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor Beta</i>
Th	: <i>Helper T cell</i>
Th0	: <i>Naïve T cell</i>
Th1	: <i>Helper T cell type 1</i>
Th2	: <i>Helper T cell type 2</i>
TLR	: <i>Toll-Like Receptor</i>
TLR4	: <i>Toll-Like Receptor 4</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>

TNF- β	: <i>Tumor Necrosis Factor Beta</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VEGFR-1	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1</i>
VEGFR-2	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2</i>
VEGFR-3	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 3</i>
pVHL	: <i>Von Hippel-Lindau Tumor Suppressor</i>