

**POTENSI PEMBERIAN EKSTRAK *Moringa oleifera*
TERHADAP EKSPRESI *INDUCIBLE NITRIC OXIDE*
SYNTHASE (iNOS) PADA GLOMERULUS
Rattus norvegicus YANG DIINJEKSI
*CYCLOPHOSPHAMIDE***

SKRIPSI



Oleh:

MILENIATRI EVRIANY LESTARI BR PAKPAHAN

NIM : 021911133116

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**POTENSI PEMBERIAN EKSTRAK *Moringa oleifera*
TERHADAP EKSPRESI *INDUCIBLE NITRIC OXIDE*
SYNTHASE (iNOS) PADA GLOMERULUS
Rattus norvegicus YANG DIINJEKSI
*CYCLOPHOSPHAMIDE***

SKRIPSI



Oleh:

MILENIATRI EVRIANY LESTARI BR PAKPAHAN

NIM : 021911133116

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**POTENSI PEMBERIAN EKSTRAK *Moringa oleifera*
TERHADAP EKSPRESI *INDUCIBLE NITRIC OXIDE*
SYNTHASE (iNOS) PADA GLOMERULUS
Rattus norvegicus YANG DIINJEKSI
*CYCLOPHOSPHAMIDE***

SKRIPSI

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

Oleh:

MILENIATRI EVRIANY LESTARI BR PAKPAHAN

NIM. 021911133116

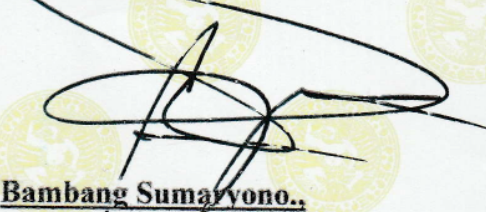
Menyetujui

Pembimbing Utama



**Prof. Dr. Theresia Indah
Budhy., drg., M. Kes, Sp. PMMF (K)**
NIP: 196106071987032005

Pembimbing Serta



**Bambang Sumaryono.,
drg., M. Kes, Sp. PMMF**
NIP: 195712211985031001

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Proposal skripsi ini telah diuji pada tanggal 22 November 2022

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

1. Prof. Dr. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes, Sp.PMMF (K) (Ketua Penguji)
2. Prof. Dr. Theresia Indah Budhy, drg., M.Kes, Sp.PMMF (K) (Dosen Pembimbing Utama)
3. Bambang Sumaryono., drg., M.Kes, Sp.PMMF (Dosen Pembimbing Serta)
4. Sisca Meida Wati, drg., M.Kes, Sp.PMMF (Anggota Penguji)

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang Bertanda tangan dibawah ini, saya:

Nama : Mileniatri Evriany Lestari Br Pakpahan

NIM : 021911133116

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi

Fakultas : Kedokteran Gigi

Jenjang : Sarjana (S1)

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

**POTENSI PEMBERIAN EKSTRAK *Moringa oleifera* TERHADAP
EKSPRESI *INDUCIBLE NITRIC OXIDE SYNTHASE (iNOS)* PADA
GLOMERULUS *Rattus norvegicus* YANG DIINJEKSI
CYCLOPHOSPHAMIDE**

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, November 2022

Mileniatri Evriany Lestari Br Pakpahan

NIM. 021911133116

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan pada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes., SH., MH., MKes. 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, Sp.PMMF (K) selaku Kepala Departemen Patologi Mulut dan Maksilofasial yang telah memberikan izin dalam pembuatan skripsi
3. Prof. Dr. Theresia Indah Budhy, drg., M.Kes, Sp.PMMF (K) selaku dosen pembimbing utama yang telah selalu memberikan masukan, bimbingan, arahan, dan senantiasa meluangkan waktu selama penyusunan skripsi
4. Bambang Sumaryono., drg., M.Kes, Sp.PMMF selaku dosen pembimbing serta yang selalu memberikan masukan, bimbingan, arahan, dan senantiasa meluangkan waktu selama penyusunan skripsi
5. Seluruh dosen Departemen Patologi Mulut dan Maksilofasial, Prof. Dr. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes, Sp.PMMF (K), Prof. Dr. Theresia Indah Budhy, drg., M.Kes, Sp.PMMF (K), Bambang Sumaryono., drg., M.Kes, Sp.PMMF, Sisca Meida Wati, drg., M.Kes, Sp.PMMF, Astari Puteri, drg., M.Si, Fery Setiawan, drg., M.Si, Hilmy Irsyadi Hanif, drg, Muhammad Fadhli Putranto, drg yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran dan masukan dalam penulisan skripsi ini

6. Staf Departemen Patologi Mulut dan Maksilofasial, Mba Levi yang telah membantu penulis dalam penulisan skripsi ini
7. Mas Yoni dan Mas Heru selaku staff Research Center Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah membantu selama penelitian
8. Papa Kolbert Pakpahan dan mama Erna Sinaga, adik Dilidia Pakpahan, adik Yohanes Pakpahan dan Cola yang selalu memberikan doa, dukungan, kasih sayang dan semangat bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini
9. Teman dekat saya Rachel Purba, teman teman “Yey”, teman satu Angkatan dan teman seperbimbingan yang selalu menemani perjalanan kuliah dan berjuang bersama-sama
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih membutuhkan penyempurnaan, oleh karena itu penulis berharap akan saran dan kritik yang membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, November 2022

Penulis

ABSTRACT

**POTENTIAL OF MORINGA OLEIFERA EXTRACT TO THE EXPRESSION
OF INDUCIBLE NITRIC OXIDE SYNTHASE (iNOS) IN THE
GLOMERULUS OF RATTUS NORVEGICUS INJECTED
CYCLOPHOSPHAMIDE**

Background: Cyclophosphamide is one of the anti-cancer drugs used today even though there are still side effects. Cyclophosphamide metabolism produces acrolein which has a toxic effect on the kidneys. Acrolein increases iNOS production resulting in an increase in NO. Excessive increase in NO can cause cell damage resulting in inflammation. Data on the use of cyclophosphamide at the Dharmas Cancer Hospital Jakarta for the period July 2012-July 2013 found that patient complaints were nausea (69.9%), vomiting (50.6%), leukopenia (96.2%), anemia (87.3%) and hemorrhagic cystitis (13.9%) even though this cyclophosphamide is still used as seen in Dr.M. Djamil Padang for the period January 2017 to July 2018, that is, in 14 cases of mammary carcinoma and 13 cases of glossitis carcinoma by 11%. Moringa oleifera leaf extract is an ingredient that contains flavonoids which have the ability to reduce inflammation. **Purpose:** To determine the potential of Moringa oleifera extract to decrease the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in the glomeruli of white rats (*Rattus norvegicus*) injected with cyclophosphamide. **Methods:** Laboratory experimental study with a posttest only control group design. Consisting of 30 *Rattus norvegicus* which were divided into sample groups namely K1 (NaCl), K2 (NaCl and cyclophosphamide), and P (Moringa oleifera leaf extract). iNOS expression was obtained by immunohistochemical technique. Data were analyzed statistically with the Kruskal Wallis and Mann Whitney tests. **Results:** The decrease in iNOS in the P group was more than in the K1 and K2 groups. The Mann Whitney test showed a significant difference in iNOS expression between groups K1, K2 and P ($p < 0.05$). **Conclusion:** Administration of moringa leaf extract (*Moringa oleifera* L.) has the potential to decrease the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in the glomeruli of white rats (*Rattus norvegicus*) injected with cyclophosphamide.

Keywords: Cyclophosphamide, moringa oleifera, iNOS

ABSTRAK

**POTENSI PEMBERIAN EKSTRAK *Moringa Oleifera* TERHADAP
EKSPRESI *INDUCIBLE NITRIC OXIDE SYNTHASE* (Inos) PADA
GLOMERULUS *Rattus Norvegicus* YANG DIINJEKSI
*CYCLOPHOSPHAMIDE***

Latar belakang: *Cyclophosphamide* merupakan salah satu obat anti kanker yang digunakan saat ini meskipun masih terdapat efek samping. Metabolisme *cyclophosphamide* menghasilkan zat akrolein yang memiliki efek toksik terhadap ginjal. Akrolein meningkatkan produksi iNOS sehingga terjadi peningkatan NO. Peningkatan NO yang berlebih dapat menyebabkan kerusakan sel sehingga terjadi inflamasi. Data penggunaan *cyclophosphamide* Rumah Sakit Kanker Dharmas Jakarta periode Juli 2012-Juli 2013 didapatkan keluhan pasien yaitu mual (69,9%), muntah (50,6%), leukopenia (96,2%), anemia (87,3%) dan sistisis hemoragik (13,9%) walaupun demikian *cyclophosphamide* ini masih digunakan seperti yang terlihat pada RSUP dr.M. Djamil Padang periode Januari 2017 hingga Juli 2018 yaitu, pada 14 kasus karsinoma mammae dan 13 kasus karsinoma glositis sebesar 11%. Ekstrak daun *Moringa oleifera* merupakan bahan yang mengandung flavonoid yang memiliki kemampuan dalam penurunan inflamasi. **Tujuan:** Mengetahui potensi ekstrak *Moringa oleifera* terhadap penurunan ekspresi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) pada glomerulus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinjeksi *cyclophosphamide*. **Metode:** Studi eksperimental laboratorium dengan desain *posttest only control group design*. Terdiri dari 30 *Rattus norvegicus* yang dibagi menjadi kelompok sampel yaitu K1 (NaCl), K2 (NaCl dan *cyclophosphamide*), dan P (ekstrak daun *Moringa oleifera*). Ekspresi iNOS diperoleh dengan teknik imunohistokimia. Data dianalisis secara statistik dengan uji Kruskal Wallis dan Mann Whitney. **Hasil:** Penurunan iNOS pada kelompok P lebih banyak dari kelompok K1 dan K2. Uji Mann Whitney menunjukkan perbedaan yang signifikan ekspresi iNOS antar kelompok K1, K2 dan P ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) berpotensi terhadap penurunan ekspresi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) pada glomerulus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinjeksi *cyclophosphamide*.

Kata kunci: *Cyclophosphamide*, *moringa oleifera*, iNOS.

DAFTAR ISI

Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam	ii
Lembar Pengesahan	iii
Penetapan Panitia Penguji	iv
Surat Pernyataan Orisinalitas	v
Ucapan Terima Kasih.....	vi
Abstrack	viii
Abstrak	ix
Daftar isi.....	x
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar.....	xiv
Daftar Lampiran	xv
Daftar Singkatan.....	xvi
BAB 1	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	4
1.4.1 Manfaat teoritis	4
1.4.2 Manfaat praktis.....	4
BAB 2	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.)	5

2.1.1 Kandungan kimia tanaman kelor	7
2.1.2 Kandungan fitokimia dan manfaat <i>Moringa oleifera</i>	8
2.2 Flavonoid	10
2.3 <i>Cyclophosphamide</i> (Siklofosfamid).....	10
2.3.1 <i>Standard operating procedure</i> (SOP) penggunaan <i>cyclophosphamide</i>	11
2.3.2 Efek samping <i>cyclophosphamide</i>	11
2.3.3 Mekanisme <i>cyclophosphamide</i> terhadap inflamasi.....	12
2.4 Inflamasi.....	14
2.4.1 Inflamasi akut.....	14
2.4.2 Inflamasi kronis.....	16
2.5 <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i> (iNOS).....	17
2.6 Gambaran Klinis <i>Rattus norvegicus</i> yang diinjeksi <i>Cyclophosphamide</i>	19
BAB 3	19
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	19
3.1 Kerangka Konseptual	19
Penelitian	19
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep.....	20
3.3 Hipotesis Penelitian.....	21
BAB 4	22
METODE PENELITIAN.....	22
4.1 Jenis Penelitian.....	22
4.2 Rancangan Penelitian	22
4.3 Populasi dan Sampel Penelitian	23
4.3.1 Populasi.....	23
4.3.2 Sampel.....	23
4.4 Variabel Penelitian	25
4.4.1 Variabel bebas.....	25
4.4.2 Variabel terikat.....	25
4.4.3 Variabel kontrol	25
4.5 Definisi Operasional.....	25
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	26
4.6.1 Lokasi penelitian	26

4.6.2 Waktu penelitian	27
4.7 Alat dan Bahan.....	27
4.7.1 Alat penelitian	27
4.7.2 Bahan penelitian.....	27
4.8 Prosedur Penelitian.....	28
4.8.1 Ekstraksi <i>Moringa oleifera</i>	28
4.8.2 Adaptasi hewan coba.....	28
4.8.3 Pengelompokan hewan coba	29
4.8.4 Pemberian ekstrak <i>Moringa oleifera</i>	29
4.8.5 Injeksi <i>cyclophosphamide</i>	30
4.8.6 Pengambilan organ.....	31
4.8.7 Pembuatan preparat histopatologi	31
4.8.8 Uji imunohistokimia.....	32
4.9 Pengelolaan dan Analisis Data.....	34
4.10 Alur Penelitian	35
BAB 5	36
HASIL PENELITIAN.....	36
5.1 Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia Ekspresi iNOS.....	36
5.2 Uji Normalitas Data	36
5.3 Uji Homogenitas Data.....	37
5.4 Uji Hipotesis	38
BAB 6	42
PEMBAHASAN	42
BAB 7	46
PENUTUP	46
7.1 Kesimpulan	46
7.2 Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA	47

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Analisis Fitokimia <i>Moringa oleifera</i>	8
Tabel 2. 2 Hasil Uji Fitokimia pada Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.)	8
Tabel 5. 1 Jumlah ekspresi INOS pada glomerulus <i>Rattus norvegicus</i>	36
Tabel 5. 2 Uji Normalitas Data	37
Tabel 5. 3 Uji Homogenitas Data	38
Tabel 5. 4 Uji Kruskal Wallis.....	39
Tabel 5. 5 Uji Mann-Whitney	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Pohon Kelor (Laras, 2018).	6
Gambar 2. 2 Histopatologi kongesti ginjal tikus (Dobrek et al., 2017).....	13
Gambar 2. 3 Pemeriksaan histopatologi ginjal tikus (Temel et al., 2020).	13
Gambar 2. 4 Induksi iNOS (Aktan, 2004).....	18
Gambar 3. 1 Kerangka konseptual	19
Gambar 4. 1 Rancangan penelitian.....	22
Gambar 4. 2 Alur penelitian	35
Gambar 4. 3 a) ekspresi iNOS K1, b) ekspresi iNOS K2, c) ekspresi iNOS P ...	41
Gambar 5. 1 Grafik rerata ekspresi iNOS pada glomerulus Rattus norvegicus ..	40

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN I	Surat Keterangan Kelaikan Etik
LAMPIRAN II	Hasil Pemeriksaan IHC

DAFTAR SINGKATAN

COX	: <i>Cyclooxygenase</i>
DAB	: <i>Diamono Benzdine</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
eNOS	: <i>endotel Nitric Oxide Synthase</i>
GMP	: <i>Guanosin Monofosfat</i>
HRP	: <i>Horse Radish Peroxidase</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin 1 Betta</i>
INF- γ	: <i>Interferon Gamma</i>
iNOS	: <i>inducible Nitric Oxide Synthase</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
NaCl	: <i>Natrium Chloride</i>
Na-CMC	: <i>Natrium– Carboxymethyle Cellulose</i>
NBF	: <i>Neutral Buffer Formalin</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor-KappaB</i>
nNOS	: <i>nuronal Nitric Oxide Synthase</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
STAT-1	: <i>Signal transducer and activator of transcription 1</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
XO	: <i>Xanthine Oxide</i>