

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN D TERHADAP
EKSPRESI *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FAKTOR*
(VEGF) DAN EKSPRESI *MATRIX METALLO PROTEINASE 9*
(MMP-9) PADA MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**



WINDARTI

011924653002

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN D TERHADAP
EKSPRESI *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FAKTOR*
(VEGF) DAN EKSPRESI *MATRIX METALLO PROTEINASE 9*
(MMP-9) PADA MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

WINDARTI

011924653002

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2022

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN D TERHADAP
EKSPRESI *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FAKTOR*
(VEGF) DAN EKSPRESI *MATRIX METALLO PROTEINASE 9*
(MMP-9) PADA MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister Kesehatan

Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi

Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh :

WINDARTI

011924653002

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**TESIS INI TELAH DISAHKAN
PADA TANGGAL 27 DESEMBER 2022**

Oleh:

Pembimbing I



Dr. Ashon Sa'adi, dr., Sp. OG. (K)
NIP: 19671224 199703 1 003

Pembimbing II



Prof. Dr. Widjiati, drh., M.si.
NIP : 19620915 199002 20 01

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Dr. Ashon Sa'adi, dr., Sp. OG. (K)
NIP : 19671224 199703 1 003

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada
Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Pada tanggal 27 Desember 2022

Panitia penguji,

Ketua : Dr.Sri Ratna Dwiningsih, dr.,Sp.OG (K)

Anggota : 1. Dr. Ashon Sa'adi, dr., Sp.OG (K)
2. Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si.
3. Dr. Reny I'tishom, S.Pi, M.Si.
4. Atika, S.Si., M.Kes.

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Tesis

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam tesis berjudul :

Pengaruh Pemberian Vitamin D Terhadap
Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Faktor* (Vegf) Dan Ekspresi *Matrix*
Metallo Proteinase 9 (MMP-9) Pada Mencit Model Endometriosis

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah di tulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis di acu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila ditemukan bahwa pernyataan saya tidak benar maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku dari Universitas Airlangga.
Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 27 desember2022



WINDARTI

NIM. 011924653002

SURAT PERNYATAAN KESEDIAAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Windarti
 NIM : 011924653002
 Prodi : Ilmu Kesehatan Reproduksi
 Fakultas : Fakultas Kedokteran
 Jenis Karya Ilmiah : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan Menyetujui/Tidak Menyetujui*) untuk memberikan kepada Universitas Airlangga Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN D TERHADAP EKSPRESI *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FAKTOR* (VEGF) DAN EKSPRESI *MATRIX METALLO PROTEINASE 9* (MMP-9) PADA MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS

Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Airlangga berhak menyimpan, alih media/format, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,

Surabaya, 27 desember 2022.

Tim Pembimbing/Promotor,*)

Yang Menyatakan,

1. Dr. Ashon Sa'adi, dr., Sp.OG (K),

2. Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si.,

Windarti



*) 1. Coret yang tidak perlu;

2. Jika tidak menyetujui wajib mengisi form permohonan embargo karya ilmiah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, berkah dan hidayah-Nya sehingga tesis dengan judul " **Pengaruh Pemberian Vitamin D Terhadap Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Faktor* (VEGF) Dan Ekspresi *Matrix Metallo Proteinase 9* (MMP-9) Pada Mencit Model Endometriosis** " dapat diselesaikan. Tesis ini merupakan tugas akhir dalam menempuh program studi Magister Ilmu Kesehatan Reproduksi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

Bersama ini perkenalkan saya mengucapkan terima kasih yang sebesar besarnya kepada :

1. Dr. Ashon Sa'adi, dr. Sp OG (K) selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Kesehatan Reproduksi FK Unair dan juga Pembimbing I yang dengan penuh perhatian dan kesabaran memberikan semangat, bimbingan dan saran yang berharga dalam penyusunan tesis ini, pembimbing I
2. Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si selaku pembimbing II yang dengan penuh perhatian dan kesabaran memberikan dorongan, bimbingan dan saran yang berharga dalam penyusunan tesis ini
3. Prof. Dr. Moh. Nasih, SE., MT., Ak., CMA., selaku Rektor Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan.
4. Pro Dr. Budi Santoso, dr., Sp. OG (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Magister.
5. Dr. Sri Ratna Dwiningsih, dr., Sp. OG (K) , Dr. Reny I'tishom, S.Pi, M.Si, dan Atika, S.Si., M.Kes. selaku dosen dan penguji yang memberikan masukan dan arahan dalam penyusunan tesis ini .
6. Staf Sekretariat pascasarjana FK Unair yang telah membantu dalam hal administrasi
7. Drh. afifudin dan kawan kawan yang telah membantu dalam penelitian.

8. Almarhum kedua orang tua saya Bapak Setu Sastro Sentono dan Ibu Hj. Soeminem yang selalu memberikan do'a dan support yang tidak pernah terputus di sepanjang kehidupannya.
9. Suami saya, H.Bachrul Ulum, S.Pd.SD dan ke-3 putri saya; Shofiyana Khoirul Inayyah, Balqisina Fatimatuzzahro serta Aulia Murtazima Dzatul Aqli, yang selalu memberikan waktu, do'a dan semangat untuk menyelesaikan jenjang pendidikan S2 ini.
10. Bapak Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Nganjuk yang telah memberikan Izin belajar dan kesempatan untuk melanjutkan jenjang pendidikan Magister Ilmu Kesehatan Reproduksi di FK Unair.
11. dr. Alfi Ruham Burjiah, selaku rekan penelitian yang telah berbagi ilmu dan kesempatan dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan tesis ini.
12. Teman-teman mahasiswa program studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
13. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu

Semoga Allah SWT membalas budi baik semua pihak yang telah memberikan kesempatan, dukungan, do'a dan bantuan dalam bentuk apapun yang tidak bisa kami sebutkan satu persatu untuk menyelesaikan tesis ini. Penulis menyadari bahwa makalah ini jauh dari sempurna tetapi penulis berharap bermanfaat bagi pembaca.

Surabaya, 27 Desember 2022

Penulis



Windarti

RINGKASAN

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN D TERHADAP
EKSPRESI *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FAKTOR*
(*VEGF*) DAN EKSPRESI *MATRIX METALLO PROTEINASE 9* (MMP-
9) PADA MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

Endometriosis adalah kelainan ginekologi kompleks pada wanita usia subur disebabkan kombinasi beberapa faktor genetik dan lingkungan ditandai dengan potensi migrasi dan invasif yang tinggi seperti metastase tumor. Prevalensi endometriosis 10 persen dari (Wanita Usia Subur) WUS tanpa memandang etnis dan sosial. Berbagai data prevalensi defisiensi vitamin D pada wanita usia reproduktif di negara-negara Eropa, Amerika, dan Asia bervariasi dari 42%- 90%, kondisi di Indonesia defisiensi vitamin D sebesar 63%.

Peningkatan aktivitas sitokin dan hormone steroid pada jaringan endometrium meningkatkan Ekspresi MMP-9 serta berperan penting dalam invasi dan metastasis. Ekspresi VEGF memainkan peranan dalam pembentukan siklus jaringan vaskular dengan menstimulasi degradasi matriks ekstraseluler di sekitar sel endotel. MMP-9 sebagai kelompok enzim proteolitik yang mendegradasi komponen matriks ekstraseluler dalam melakukan prosesitasnya.

Endometrium memiliki reseptor vitamin dan enzim dalam sintesa Vitamin D yang berfungsi sebagai imunomodulasi serupa dengan sitokin. Aktivasi VDR oleh ligan memodulasi ekspresi MMP-9. Vitamin D dapat menurunkan respon inflamasi yang diinduksi IL-1 β - atau TNF- α sehingga ekspresi MMP-2 dan MMP-9 menurun melalui inhibisi nuclear factor- κ B .

Kelompok makanan dan nutrisi Vitamin A, C, E banyak diteliti dikolerasikan dengan endometriosis, tetapi menunjukkan hasil tidak ada hubungan yang signifikan secara statistik. Suplementasi vitamin D dapat memperbaiki berbagai sitokin pro inflamasi pasien Covid-19 baru baru ini menjadi relevan. Untuk itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian ini.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat penurunan ekspresi VEGF dan penurunan ekspresi MMP-9 serta hubungan penurunan ekspresi tersebut terhadap berbagai dosis yang diberikan pada mencit model endometriosis yang diberikan vitamin D.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Kehewan Unair setelah mendapatkan sertifikat uji kelayakan etik No: 2.KE.144.12.2021. Jumlah sampel mencit 24 ekor dihitung menggunakan rumus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Hewan coba didapatkan dari Pusvetma Fakultas Kehewan Unair. Pembuatan model mencit endometriosis diawali dengan menginjeksi siklosporin A, dilanjutkan injeksi jaringan biopsi endometrium 0,1cc intraperitoneal, dan pada hari ke 5 mencit diberikan injeksi estrogen 5,4 μ g/mencit secara intramuskular. Setelah itu ditunggu selama 14 hari sehingga terbentuklah model mencit endometriosis..

Jenis penelitian *true experimental* menggunakan rancangan acak lengkap *post test only control group design* . Dengan tehnik randomisasi sampel dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol (K) kelompok dengan perlakuan dosis I (P1), dosis II (P2) dan dosis III (P3). Kebutuhan vitamin D dihitung menurut

Endocrine Society (21) dan dilakukan pemicikan sehingga didapatkan hasil kelompok P1 mendapatkan 8 iu Vitamin D = 0,2 cc; kelompok P2 16 iu = 0,4 cc dan kelompok P3 mendapatkan 24 iu = 0,6 cc. Vitamin D diberikan secara personele setiap hari selama 1 kali. Perlakuan dimulai hari ke 15 setelah terjadinya lesi endometriosis dengan memberikan Vitamin D sesuai dengan dosis perkelompok.

Sampel diambil dari jaringan peritonium mencit pada hari ke 37. Jaringan peritonium yang ada lesi endometriosis difiksasi dalam formalin 10%. Analisa ekspresi VEGF menggunakan teknik imunohistokimia. Pewarnaan menggunakan DAB Kit dengan *counterstaining Coomassie brilliant blue*. Analisa ekspresi MMP-9 dilakukan dengan pulasan imuno-histokimia dengan menggunakan antibodi poliklonal MMP-9. Data diuji menggunakan *anova* dan *Kruskal wallis*. Sedangkan untuk menguji hubungan ekspresi VEGF dan MMP-9 menggunakan *Spearman rho*.

Hasil penelitian berhasil membuktikan penurunan secara bermakna ekspresi VEGF dan MMP-9 pada semua kelompok mencit perlakuan dibandingkan kelompok kontrol. Berdasarkan hasil uji *spearman's rho* menghasilkan nilai *correlation coefficient* Ekspresi VEGF sebesar -,467 dengan nilai *p* 0,022. Hubungan Ekspresi MMP dengan dosis bernilai -, 539 dengan nilai *p* 0,007 maka dengan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan penurunan ekspresi VEGF dan Ekspresi MMP-9 dengan berbagai dosis. Kekuatan hubungan Ekspresi VEGF dan MMP-9 dengan dosis masuk dalam kategori sedang dan ke arah negatif.

Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis vitamin D semakin menurun ekspresi VEGF dan MMP-9 mungkin disebabkan penurunan respon stimulasi estrogen ke endometrium. Remodelling siklus endometrium disertai dengan rekonstruksi sistem vaskuler. Perkembangan jaringan endometrium ditekan oleh modulator selektif ER yang menghambat reseptor estrogen. VDR secara konstitutif diekspresikan di seluruh sel endometrium di sel stroma umum dan endometrium. Peningkatan 1α -hidroksilase pada pasien dengan endometriosis menyebabkan produksi lokal dari bentuk aktif vit D, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mengurangi pertumbuhan sel endometriosis. Ekspresi tinggi enzim kunci vit D di endometrium pasien dengan endometriosis menggaris bawahi potensi respon autokrin atau parakrin lokal daripada efek endokrin klasik vit D. Hal ini memperlihatkan Vitamin D mempunyai efek anti mitogenik pada sel endometrium ektopik. Penurunan ekspresi gen VEGF-A, ekspresi VEGF dan MMP-9 pada stroma endometrium ektopik terjadi pada pemberian vitamin D sehingga kapasitas angiogenesis endometriosis.

Kesimpulan hasil penelitian ini mendukung teori terjadinya pathogenesis endometriosis dan menguatkan temuan Vitamin D untuk pengobatan dengan target mediator dan molekul terkait peradangan dalam pengobatan endometriosis. Penurunan ekspresi VEGF dan MMP-9 signifikan berkorelasi dengan dosis, semakin tinggi dosis Vitamin D akan semakin menurun pula Ekspresi VEGF dan MMP-9 pada stroma endometrium ektopik.

SUMMARY

THE EFFECT OF VITAMIN D GIVING ON EXPRESSION OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) AND THE EXPRESSION OF MATRIX METALLO PROTEINASE 9 (MMP-9) IN ENDOMETRIOSIS MOUSE MODEL

Endometriosis is a complex gynecological disorder in women of childbearing age caused by a combination of several genetic and environmental factors characterized by a high migratory and invasive potential such as tumor metastasis. The prevalence of endometriosis is 10 percent of (Women of Reproductive Age) WUS regardless of ethnicity and social status. Various data on the prevalence of vitamin D deficiency in women of reproductive age in European, American and Asian countries vary from 42% - 90%, conditions in Indonesia are vitamin D deficiency of 63%.

Increased activity of cytokines and steroid hormones in endometrial tissue increases MMP-9 expression and plays an important role in invasion and metastasis. VEGF expression plays a role in the formation of vascular tissue cycling by stimulating the degradation of the extracellular matrix around endothelial cells. MMP-9 is a group of proteolytic enzymes that degrade components of the extracellular matrix in their progression.

The endometrium has vitamin receptors and enzymes in Vitamin D synthesis that function as immunomodulators similar to cytokines. VDR activation by ligands modulates MMP-9 expression. Vitamin D can reduce the inflammatory response induced by IL-1 β - or TNF- α so that the expression of MMP-2 and MMP-9 decreases through nuclear factor- κ B inhibition.

Food and nutrition groups Vitamins A, C, E have been widely studied to be correlated with endometriosis, but the results showed no statistically significant relationship. Vitamin D supplementation can improve various pro-inflammatory cytokines in Covid-19 patients which have recently become relevant. For this reason, researchers are interested in conducting this research.

This study aims to look at the decreased expression of VEGF and decreased expression of MMP-9 and the relationship between these decreased expression at various doses given to endometriosis model mice given vitamin D.

The research was carried out at the Airlangga University Faculty of Veterinary Laboratory after obtaining an ethical due diligence certificate No: 2.KE.144.12.2021. The total sample of 24 mice was calculated using a formula that met the inclusion and exclusion criteria. Experimental animals were obtained from the Pusvetma of the Faculty of Animal Science, Airlangga University. The making of the endometriosis mouse model was initiated by injecting cyclosporin A, followed by intraperitoneal injection of 0.1cc endometrial biopsy tissue, and on day 5 the mice were given intramuscular injection of estrogen 5.4 μ g/mice. After that, wait for 14 days so that the endometriosis mouse model is formed.

This type of research is true experimental using a completely randomized design post test only control group design. Using the randomization technique, the samples were divided into 4 groups, namely the control group (K), the group treated with dose I (P1), dose II (P2) and dose III (P3). The need for vitamin D was

calculated according to the Endocrine Society (21) and sampling was carried out so that the results for group P1 were 8 iu Vitamin D = 0.2 cc; group P2 16 iu = 0.4 cc and group P3 received 24 iu = 0.6 cc. Vitamin D is given individually every day for 1 time. Treatment began on the 15th day after the occurrence of endometriosis lesions by giving Vitamin D according to the dose per group.

Samples were taken from the peritoneal tissue of mice on day 37. The peritoneal tissue with endometriotic lesions was fixed in 10% formalin. VEGF expression analysis using immunohistochemical techniques. Staining using DAB Kit with Coomassie brilliant blue counterstaining. MMP-9 expression analysis was performed by immunohistochemical staining using MMP-9 polyclonal antibody. Data was tested using annova and Kruskal wallis. Meanwhile, to test the relationship between VEGF and MMP-9 expression, Spearman rho was used.

The results of the study succeeded in proving a significant decrease in the expression of VEGF and MMP-9 in all groups of treated mice compared to the control group. Based on the results of the Spearman's rho test, a correlation coefficient value of VEGF expression was -.467 with a p value of 0.022. The relationship between MMP expression and dose is -.539 with a p-value of 0.007. Based on these results, it can be concluded that there is a significant relationship between decreased VEGF expression and MMP-9 expression with various doses. The strength of the relationship between the expression of VEGF and MMP-9 with the dose is in the moderate category and towards the negative.

This suggests that the higher the dose of vitamin D, the lower the expression of VEGF and MMP-9, possibly due to a decrease in the response of estrogen stimulation to the endometrium. Endometrial cyclic remodeling is accompanied by reconstruction of the vascular system. Endometrial tissue development is suppressed by selective ER modulators that inhibit estrogen receptors. VDR is constitutively expressed throughout endometrial cells in both common and endometrial stromal cells. Elevated 1 α -hydroxylase in patients with endometriosis leads to local production of the active form of vitamin D, 1,25(OH)₂D₃, reducing endometriosis cell growth. The high expression of key vitamin D enzymes in the endometrium of patients with endometriosis underscores the potential for local autocrine or paracrine responses rather than the classic endocrine effects of vitamin D. This suggests that vitamin D has an anti-mitogenic effect on ectopic endometrial cells. Decreased gene expression of VEGF-A, VEGF and MMP-9 expression in ectopic endometrial stroma occurred in administration of vitamin D so that the capacity of endometriosis angiogenesis.

The conclusion of the results of this study supports the theory of the pathogenesis of endometriosis and strengthens the findings of Vitamin D for treatment by targeting mediators and inflammation-related molecules in the treatment of endometriosis. The decrease in VEGF and MMP-9 expression significantly correlated with dose, the higher the dose of Vitamin D, the lower the expression of VEGF and MMP-9 in ectopic endometrial stroma.

ABSTRAK

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN D TERHADAP
EKSPRESI *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FAKTOR (VEGF)*
DAN EKSPRESI *MATRIX METALLO PROTEINASE 9 (MMP-9)*
PADA MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

Latar Belakang : Endometriosis adalah penyakit ginekologi jinak pada WUS yang etiopatogenesisnya multifaktorial dengan potensi migrasi dan invasif tinggi. Invasi memerlukan angiogenesis yang berasal dari vaskularisasi yang dimediasi oleh VEGF dan diprakarsai oleh MMPs. Vitamin D bekerja pada reproduksi Wanita pada wilayah gen target dengan menghambat proliferasi sel dalam berbagai sel kanker melalui induksi apoptosis dan penangkapan G0/G1, penekanan angiogenesis, dan modulasi ekspresi reseptor faktor pertumbuhan.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan peran vitamin D bertingkat terhadap penurunan ekspresi VEGF dan MMP – 9 yang diberikan pada mencit model endometriosis.

Metode : Penelitian eksperimental dengan sertifikat uji kelayakan etik No: 2.KE.144.12.2021 menggunakan 24 mencit yang dijadikan model endometriosis dibagi menjadi 4 kelompok ; 1 Kelompok Kontrol dan 3 Kelompok perlakuan yang diberikan vitamin D secara oral dengan dosis 8 iu, 16 iu dan 24 iu. Ekspresi VEGF dan MMP-9 dinilai dari jaringan peritonium mencit pada semua kelompok.

Hasil : Terbukti adanya penurunan ekspresi VEGF dan Ekspresi MMP-9 yang bermakna secara statistik dibandingkan dengan mencit model endometriosis yang tidak diberikan perlakuan dan terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi VEGF, ekspresi MMP-9 dengan dosis ke arah negatif, semakin tinggi dosis maka 'semakin rendah nilai ekspresi VEGF dan ekspresi MMP-9.

Kesimpulan : Vitamin D dapat menekan angiogenesis dengan menurunkan Ekspresi VEGF dan MMP-9 mencit model endometriosis pada dosis 24iu.

Kata kunci : Endometriosis, Vitamin D, VEGF, MMP-9, Kesehatan Reproduksi.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DEPAN.....	i
HALAMAN SAMPUL DALAM.....	ii
HALAMAN PRASYARAT	
GELAR.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN.....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
RINGKASAN.....	ix
SUMMARY.....	xi
ABSTRAK.....	xii
i	
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR	
GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.. ..	xviii
DAFTAR SINGKATAN.....	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	7
1.3. Tujuan Penelitian.....	7
1.3.1 Tujuan Umum.....	7
1.3.2 Tujuan Khusus:.....	7
1.4. Manfaat Penelitian.....	8
1.4.1 Manfaat Teoritis	8
1.4.2 Manfaat Praktis.....	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Endometriosis.....	9
2.1.1 Definisi... ..	9
2.1.2 Teori Patogenesis endometriosis	10
2.1.3 Patogenesis.....	12
2.1.4 Gejala Endometriosis	14
2.1.5 Diagnosa Endometriosis.....	14
2.1.6 Pengobatan.....	15
2.2 Vitamin D.....	16
2.3 VEGF.....	20
2.4 MMP.....	22
2.4.1 Hubungan MMP-9 dengan Endometriosis.....	25
2.5 Hubungan VEGF, MMP-9, Endometriosis dan Vitamin D dalam Angiogenesis Endometriosis	26
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	30
3.1 Kerangka Konsep.....	30
3.2 Hipotesis Penelitian	32

BAB 4 METODE PENELITIAN.....	33
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	33
4.2 Lokasi dan Waktu.....	33
4.3 Sampel,Besar Sampel,dan Teknik Pengambilan Sampel.....	34
4.3.1 Sampel.....	34
4.3.2 Estimasi Besar Sampel	34
4.3.3 Teknik Pengambilan Sampel.....	35
4.4 Variabel Penelitian	35
4.4.1 Variabel Terikat.....	35
4.4.2 Variabel Bebas	35
4.4.3 Variabel Kendali.....	36
4.5 Definisi Operasional.....	36
4.6 Bahan dan Instrumen Penelitian.....	37
4.6.1 Bahan Pemeriksaan	37
4.6.2 Instrumen Penelitian.....	37
4.7 Tahapan Penelitian	38
4.8 Kerangka Operasional Penelitian	42
4.9 Pengolahan dan Analisa Data.....	43
4.10 Uji Kelayakan Etik.....	44
BAB 5 HASIL PENELITIAN	45
5.1 Gambaran Umum Penelitian	45
5.2 Data Dasar Penelitian	46
5.3 Uji Homogenitas dan Uji Normalitas Data Ekspresi VEGF dan Ekspresi MMP-9 Pada Mencit Model Endometriosis Yang Diberikan Vitamin D	47
5.4 Analisa Data Pemberian Vitamin D Pada Mencit Model Endometriosis Terhadap Ekspresi VEGF.....	49
5.5 Analisis Data Pemberian Vitamin D Pada Mencit Model Endometriosis Terhadap Ekspresi MMP-9	52
5.6 Analisis Data Hubungan Pemberian Vitamin D3 Berbagai Dosis Pada Mencit Model Endometriosis dengan Ekspresi VEGF dan MMP-9	57
BAB 6 PEMBAHASAN	60
6.1 Model Endometriosis Pada Mencit	60
6.2 Penurunan Ekspresi VEGF Pada Mencit Model Endometriosis Yang Diberikan Vitamin D	61
6.3 Penurunan Ekspresi MMP-9 Pada Mencit Model Endometriosis Yang Diberikan Vitamin D	64
6.4 Hubungan Vitamin D Berbagai Dosis Dengan Ekspresi VEGF dan MMP-9 Pada Mencit Model Endometriosis.....	66
6.5 Keterbatasan Penelitian	68
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN.....	70
7.1 Simpulan	70
7.2 Saran	70
Daftar Pustaka	71
Daftar Lampiran	75

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Definisi operasional Penelitian Pengaruh Pemberian Vitamin D Terhadap Ekspresi VEGF dan MMP-9 Pada Mencit Model Endometriosis.....	36
Tabel 5. 1	Tabulasi Hasil IRS VEGF, MMP-9 dan Berat Badan Mencit	46
Tabel 5.2	Uji Homogenitas Ekspresi VEGF dan MMP-9 Pada Mencit Model Endometriosis Yang Diberikan Vitamin D.....	47
Tabel 5.3	Uji Normalitas Ekspresi VEGF dan MMP-9 Pada Mencit Model Endometriosis Yang Diberikan Vitamin D.....	48
Tabel 5.4	Rerata Ekspresi VEGF dan Uji Kruskall Wallis Ekspresi VEGF Pada Mencit Model Endometriosis Yang Diberikan Vitamin D.....	49
Tabel 5.5	Mean dan Uji One Way ANOVA Ekspresi MMP-9 Pada Mencit Model Endometriosis Yang Diberikan Vitamin D	53
Tabel 5.6	Tabel Post Hoc Bonferroni MMP-9 Pada Mencit Model Endometriosis Yang Diberikan Vitamin D	54
Tabel 5.7	Tabel Uji Korelasi Spearman Hubungan Pemberian Vitamin D Berbagai Dosis dengan Ekspresi VEGF dan MMP-9	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian Pengaruh Pemberian Vitamin D Terhadap Mencit Model Endometriosis....	...
		30
Gambar 4.1	Skema Rancangan Penelitian Pengaruh Pemberian Vitamin D Terhadap Ekspresi VEGF dan MMP-9 Pada Mencit Model Endometriosis.....	
		33
Gambar 4.2	Kerangka Operasional Penelitian Pengaruh Pemberian Vitamin D Terhadap Ekspresi VEGF dan MMP-9 Pada Mencit Model Endometriosis.....	42
Gambar 5.1	Grafik Box-Plot Distribusi Nilai Rerata Ekspresi VEGF Pada Mencit Model Endometriosis Yang Diberikan Vitamin D.....	50
Gambar 5.2	Perbandingan Ekspresi VEGF	52
Gambar 5.3	Grafik distribusi nilai ekspresi MMP-9 pada mencit model endometriosis.....	54
Gambar 5.4	Perbandingan Ekspresi MMP-9.....	56
Gambar 5.5	Grafik Scatter Plot Ekspresi VEGF	58
Gambar 5.6	Grafik Scatter Plot Ekspresi MMP-9.....	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Keterangan Kelaikan Etik Penelitian	75
Lampiran 2: Olah Data dan Analisis Statistik.....	76

DAFTAR SINGKATAN

1,25(OH) ₂ D ₃	: 1,25-dihidroxycholecalciferol
AKG	: Angka Kecukupan Gizi
APC	: <i>Antigen Presenting Cells</i>
CC	: <i>Kemokin</i>
CD	: <i>Cluster Diferensiasi</i>
CD11B+	: <i>Cluster of Differentiation Molecule 11B</i>
CDNA	: <i>Complementary Deoxyribonucleic Acid</i>
COX 2	: <i>Cyclooxygenase 2</i>
CYP24A1	: <i>Cytochrome P450 Family 24 Subfamily A Member 1</i>
CYP27B1	: <i>Cytochrome P450 Family 27 Subfamily B Member 1</i>
CYP2R1	: <i>Cytochrome P450 Family 2 Subfamily R Member 1</i>
DAB Kit	: <i>Diamino Benzidin Tetrahidroklhoride</i>
DC	: <i>Dendritic cell</i>
DEFB	: <i>Defensin Beta</i>
dNK	: <i>Decidual Natural Killer</i>
ECM	: <i>ExtraCellular Matrix</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
<i>EGR- 1</i>	: <i>Early growth response protein- 1</i>
ESHRE	: <i>European Society for Human Reproduction and Embriology</i>
<i>FGF23</i>	: <i>Fibroblast Growth Factor23</i>
FLK- 1	: <i>Fetal Liver Kinase-1</i>
<i>GELB</i>	: <i>Gelatin B</i>
GNRH	: <i>Gonadotropin Releasing Hormone</i>
hCAP	: <i>Human cathelicidin antimicrobial protein</i>
IGF	: <i>Insulin-Like Growth Factor</i>
IHK	: <i>Imunohistokimia</i>
IL-6	: <i>Interleukin - 6</i>
IL-8	: <i>Interleukin - 8</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin - 1 Beta</i>
IRS	: <i>Imunoreactive Score</i>
IU	: <i>International Unit</i>
KDR	: <i>Kinase Insert Domain Receptor</i>
MAPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MCG	: <i>Mikrogram</i>
MHC	: <i>Major Hystocompatibility Complex</i>
<i>MMP</i>	: <i>Matrix Metallo Proteinase</i>
MMP-9	: <i>Matrix Metallo Proteinase 9</i>
<i>MMPS</i>	: <i>Matriks Metallo Proteinase Spesifik</i>
MRI	: <i>Magnetic resonance imaging</i>
<i>MT</i>	: <i>Membrane Type</i>
MT- MMP	: <i>Membrane Type - Matrix Metallo Proteinase</i>
NF-κB	: <i>Nuclear Factor- Kappa B</i>
NK (pNK)	: <i>Natural Kiler (Perifer Natural Killer)</i>
PAPARAN DES	: <i>Paparan Diethylstilbestrol</i>

PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PCB	: <i>Policlorinasi Bifenil</i>
PCOS	: <i>polycystic ovarian syndrome</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PG	: <i>Progesteron</i>
PI3K/AKT	: <i>Phosphatidylinositide-3-Kinase/ Protein Kinase B</i>
PLGF	: <i>Placental Growth Factor</i>
PTH	: <i>Parathyroid Hormone</i>
RNA	: <i>Ribonukleat Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RPMI	: <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SCC	: <i>side chain cleavage</i>
SF-1	: <i>steroidogenik faktor-1</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
StAR	: <i>Steroid Akut Regulasi</i>
TGF - 1β	: <i>Transforming Growth Factor- 1β</i>
TIMP	: <i>Tissue Inhibitors of MetalloProteinase</i>
TIMPs	: <i>Tissue Inhibitors of MetalloProteinase specific</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor - Alpha</i>
USA	: <i>United States of America</i>
VDR	: <i>Vitamin D Receptor</i>
VDRE	: <i>Vitamin D response element</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VEGFR	: <i>vascular endothelial growth factor receptor</i>
Vit D	: <i>Vitamin D</i>
VPF	: <i>Vascular Permeability Factor</i>