

**TERAPI EKSTRAK METANOL DAUN PLETEKAN (*Ruellia
tuberossa L.*) TERHADAP EKSPRESI TUMOR NEKROSIS
FAKTOR ALFA (TNF- α) DAN HISTOPATOLOGI HEPAR
TIKUS DIABETES MELITUS HASIL INDUKSI
STREPTOZOTOCIN**

SKRIPSI

Oleh:

**ERICK TRI MAHENDRA TARIGAN
105130101111026**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

**TERAPI EKSTRAK METANOL DAUN PLETEKAN (*Ruellia
tuberossa L.*) TERHADAP EKSPRESI TUMOR NEKROSIS
FAKTOR ALFA (TNF- α) DAN HISTOPATOLOGI HEPAR
TIKUS DIABETES MELITUS HASIL INDUKSI
STREPTOZOTOCIN**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

ERICK TRI MAHENDRA TARIGAN
105130101111026



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

TERAPI EKSTRAK METANOL DAUN PLETEKAN (*Ruellia tuberosa* L.) TERHADAP EKSPRESI TUMOR NEKROSIS FACTOR ALFA (TNF- α) DAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS DIABETES MELITUS HASIL INDUKSI STREPTOZOTOCIN

Oleh :

Erick Tri Mahendra Tarigan
105130101111026

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 23 Juli 2015
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

Pembimbing II

Dyah Kinasih Wuragil, S.Si., MP., M.Sc
NIP. 19820914 200912 2 004

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran Hewan
Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Erick Tri Mahendra Tarigan
NIM : 105130101111026
Program Studi : Kedokteran Hewan
Penulis Skripsi berjudul:

Terapi Ekstrak Metanol Daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) Terhadap Ekspresi Tumor Nekrosis Faktor Alfa (TNF- α) dan Histopatologi Hepar Tikus Diabetes Melitus Hasil Induksi Streptozotocin

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Juli 2015
Yang menyatakan,

(Erick Tri Mahendra Tarigan)
NIM.105130101111026

**TERAPI EKSTRAK METANOL DAUN PLETEKAN (*Ruellia tuberosa* L.)
TERHADAP EKSPRESI TUMOR NEKROSIS FAKTOR ALFA (TNF- α)
DAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS DIABETES MELITUS
HASIL INDUKSI STREPTOZOTOCIN**

ABSTRAK

Diabetes mellitus (DM) adalah suatu sindroma gangguan metabolisme dan ditandai dengan hiperglikemia yang disebabkan oleh defisiensi sekresi insulin dan atau gangguan kerja insulin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) terhadap ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi hepar pada hewan model tikus diabetes 1. Penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar berumur 2 -3 bulan dengan berat badan antara 150 – 200 gram yang dibagi menjadi 3 kelompok yakni kelompok kontrol, kelompok kontrol positif, dan kelompok terapi (dosis 450 mg/kg BB). Pembuatan tikus Diabetes mellitus 1 dengan cara induksi streptozotocin (STZ) dosis 20 mg/kg/BB/ hari selama 5 hari (MLD STZ) berturut-turut secara intraperitoneal. Pemberian ekstrak pletekan dilakukan selama 10 hari. Pengamatan histopatologi hepar menggunakan metode pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) dan ekspresi TNF- α hepar diamati dengan metode imunohistokimia yang dihitung menggunakan software axiovision dan dianalisa menggunakan ANOVA ($\alpha = 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi ekstrak pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) dapat menurunkan ekspresi TNF- α secara signifikan ($p < 0,05$). Pengamatan histopatologi menunjukkan ekstrak metanol daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) dapat memperbaiki kerusakan sel hepatosit yang mengalami nekrosis. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa dosis efektif ekstrak metanol daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) adalah dosis 450 mg/ kg BB mampu menurunkan ekspresi TNF- α dan memperbaiki kerusakan sel hepatosit pada tikus model diabetes mellitus.

Kata kunci: Diabetes mellitus 1, Histopatologi hepar, TNF- α , Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.).

Theraphy of Methanol Leaves Extract of *Ruellia Tuberosa L.* toward Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) Expresion and Hepar Histopathology on Diabetic Rats Induced by Streptozotocin

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder and characterized by hyperglycemia which caused by deficiency of insulin secretion and/ or impaired insulin action. This research aimed to find the effect of methanol leaves extract of *Ruellia tuberosa L.* as therapy for DM 1 toward *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) expresion and hepar histopathology on rat (*Rattus norvegicus*) model. This research used 2-3 month-old male Wistar strain rats (*Rattus norvegicus*) weigh of 150-200 gram, divided into three groups, were negative control, positive control (DM) and therapy group of methanol leaves extract of *Ruellia tuberosa L.* at dose of 450mg/ Kg BW. Induction of DM Type 1 in rats were conducted by injecting Streptozotocin intraperitonially (i.p) dose of 20 mg/kg BW/day for 5 days (Multiple Low Dose Streptozotocin/ MLD STZ). The therapy of *Ruellia tuberosa L.* leaves extract was administered for 10 days at dose of 450 mg/ kg BW. TNF- α expression was observerd with immunohistochemistry methods and measured with Axiovision program then analyzed with ANOVA ($\alpha = 0,05$). Hepar histopathology was observed with HE stains. The findings of this study showed that of *Ruellia tuberosa L.* leaves extract therapy could decrease *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) expresion significantly ($p < 0.05$). Beside, histopathology examination showed that flavonoid on leaves extract of *Ruellia tuberosa L.* could improve necrosis in hepatocyte. The conclusion of this study showed that administration of *Ruellia tuberosa L.* leaves extract could decrease expression of TNF- α and improve necrosis in hepatocyte on Diabetic rats model.

Keyword: Diabetes mellitus, Hepar histopatology, TNF- α , *Ruellia tuberosa L.* leaves extract.

KATA PENGANTAR

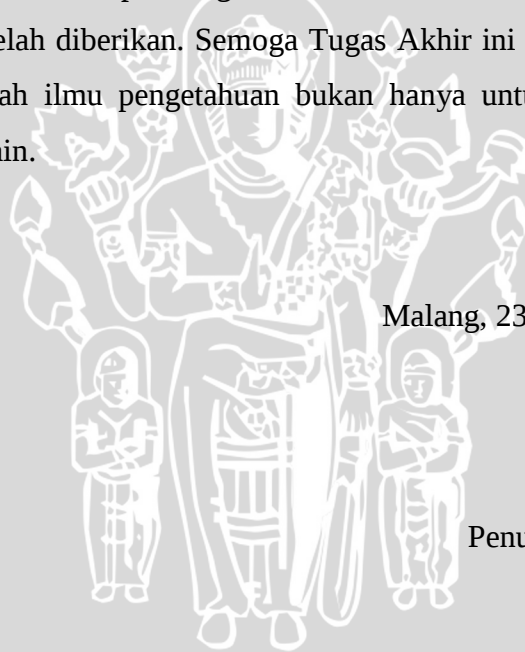
Puji Syukur atas kehadiran Allah SWT yang melimpahkan segala rahmat dan pertolongan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan proposal skripsi yang berjudul **“Terapi ekstrak daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L) terhadap ekspresi Tumor Nekrosis Faktor Alfa (TNF- α) dan gambaran histopatologi hepar tikus diabetes melitus hasil induksi streptozotocin”**. Penelitian ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Program Kedokteran Hewan, Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Universitas Brawijaya.

Dengan penuh rasa hormat dan ketulusan hati, penulis mengucapkan terimakasih kepada segenap pihak secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyusunan proposal skripsi ini. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih terutama kepada :

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES dan Dyah Kinasih Wuragil, S.Si., MP., M.Sc. selaku dosen pembimbing atas segala bantuan, bimbingan, kesabaran, nasihat, waktu, dan arahan yang diberikan tiada hentinya kepada penulis.
2. drh. Herlina Pratiwi, M.Si. dan drh. Viski Fitri Hendrawan M.Vet. selaku dosen penguji atas segala waktu, bimbingan dan arahan yang telah diberikan kepada penulis.
3. Dr. Agung Pramana W.S., M.Si. selaku Ketua Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya atas kepemimpinan dan fasilitas yang telah diberikan.
4. Vindi Augustiany dan putri tercinta, keluarga besar Tarigan di Probolinggo serta keluarga besar di Kab. Buol yang begitu ikhlas menyayangi, memberikan semangat, doa, dan dukungan yang tak terhingga kepada penulis selama belajar di Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.

5. Seluruh staf serta asisten Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
6. Tim Penelitian khususnya mbak Ratna, Dadang, Zulfikar, dan Falen yang saling membantu satu sama lain.
7. Seluruh sahabat Program Kedokteran Hewan angkatan 2010, serta sahabat lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala perhatian, dorongan, dukungan dan doa yang telah diberikan.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan proposal skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan serta ketulusan yang telah diberikan. Semoga Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat dan menambah ilmu pengetahuan bukan hanya untuk penulis namun untuk pembaca yang lain.



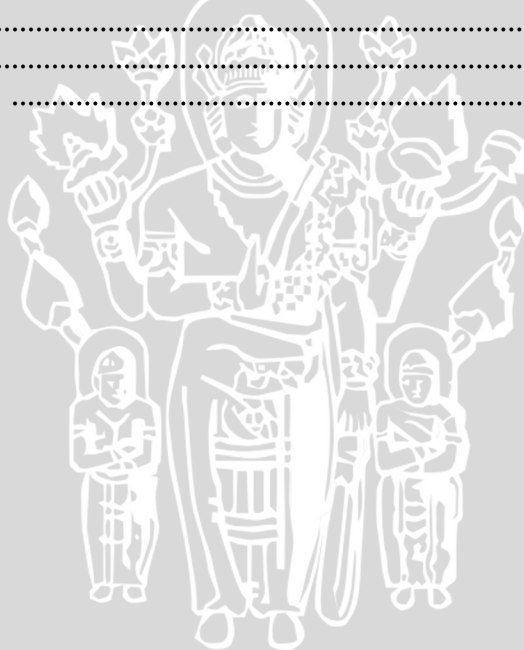
Malang, 23 Juli 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Diabetes Mellitus	7
2.1.1 Definisi	7
2.1.2 Etiologi	7
2.1.3 Patofisiologi Diabetes Mellitus 1	9
2.2 Hewan coba Tikus (<i>Rattus novergicus</i>) Model Diabetes Mellitus ...	11
2.3 Mekanisme Streptozotocin (STZ).....	13
2.4 <i>Ruellia tuberosa</i> L (Pletekan)	15
2.5 Kandungan <i>Ruellia tuberosa</i> L	16
2.6 Hubungan TNF α dengan Diabetes Mellitus	17
2.7 Struktur dan Fungsi Hati.....	19
2.8 Histopatologi Hati pada Diabetes Mellitus.....	21
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	23
3.1 Kerangka Penelitian.....	23
3.2 Hipotesis Penelitian	26
BAB 4 METODE PENELITIAN	27
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	27
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	27
4.2.1 Alat	27
4.2.2 Bahan	28
4.3 Tahapan Penelitian.....	28
4.4 Prosedur Kerja	29
4.4.1 Rancangan Penelitian dan Persiapan Hewan coba	29
4.4.2 Pembuatan senyawa bioaktif Ekstrak <i>Ruellia tuberosa</i> L	30
4.4.3 Penentuan Kadar Glukosa Darah dengan Glukometer	31

4.4.4 Pembuatan Larutan STZ dan Induksi pada Hewan Coba.....	32
4.4.5 Terapi Hewan Coba DM dengan Ekstrak <i>Ruallia tuberosa</i> L	32
4.4.6 Pengamatan Gula Darah pada Tikus DM Terapi.....	33
4.4.7 Pembedahan Hewan Coba dan Pengambilan Organ Hepar....	33
4.4.8 Metode immunohistokimia TNF- α hepar.....	33
4.4.9 Pembuatan Preparat Histopatologi hepar	34
4.4.10 Pengamatan Histopatologi Hepar	36
4.4.11 Analisa Data	36
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN	38
5.1 Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Pletekan (<i>Ruellia tuberosa</i> L.) Terhadap Ekspresi TNF- α Pada Hepar Tikus (<i>Rattus novergicus</i>) Diabetes Mellitus 1 Hasil Induksi Streptozotocin.....	38
5.2 Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Pletekan (<i>Ruellia tuberosa</i> L.) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus (<i>Rattus</i> <i>novergicus</i>) Diabetes Mellitus 1 Hasil Induksi Streptozotocin.....	46
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	52
6.1 Kesimpulan.....	52
6.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53



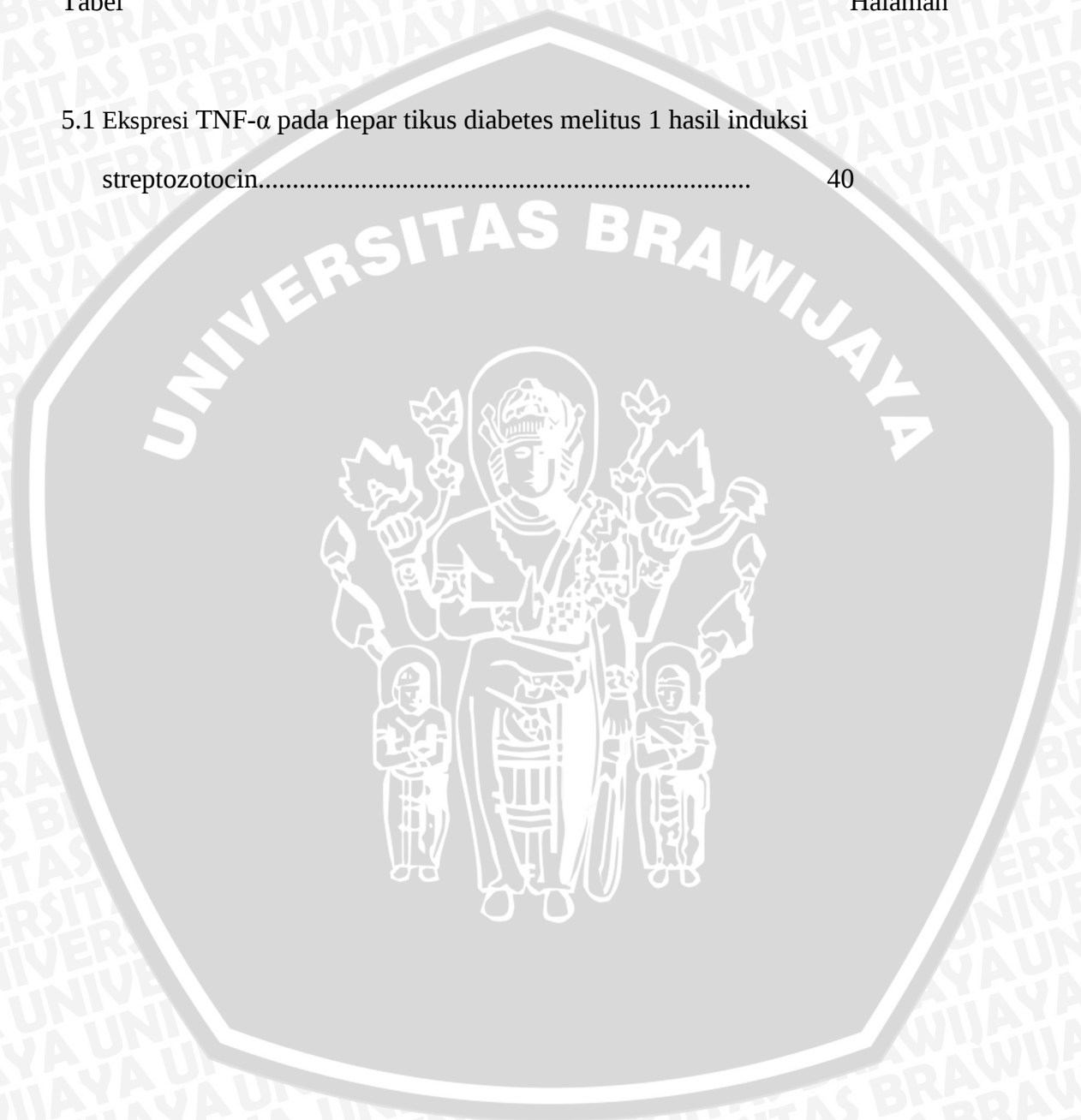
DAFTAR TABEL

Tabel

Halaman

5.1 Ekspresi TNF- α pada hepar tikus diabetes melitus 1 hasil induksi streptozotocin.....

40



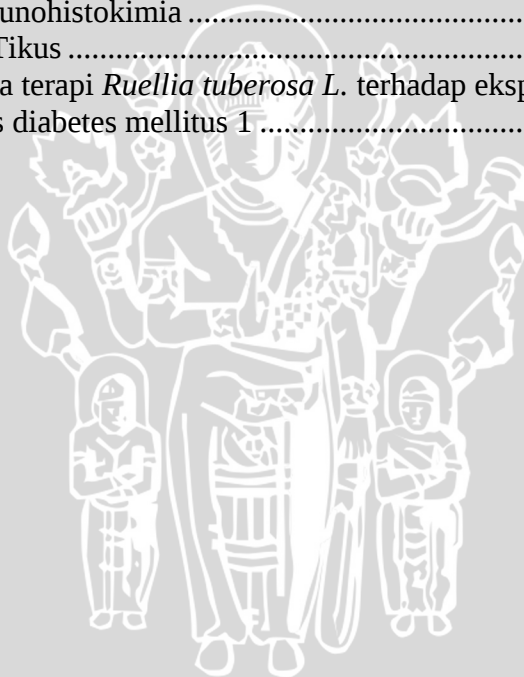
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tikus Putih Strain Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>).....	11
2.2 Struktur STZ	14
2.3 Tanaman <i>Ruellia tuberosa</i> L	15
2.4 Struktur flavonoid dan metabolit sekunder lainnya pada ekstrak metanol pletakan	17
2.5 Histologi normal Hepar.....	20
3.1 Kerangka Konseptual	23
5.1 Ekspresi TNF- α pada organ hepar tikus 400 x.....	39
5.2 Histologi organ hepar tikus dengan (HE, 400 x).....	47



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Sertifikat Laik Etik	59
2. Identifikasi tanaman	60
3. Karakterisasi Flavonoid dalam <i>Ruellia tuberosa</i> L.	61
4. Skema Kerja Penelitian	62
5. Pembuatan senyawa bioaktif ekstrak <i>Ruellia tuberosa</i> L.	64
6. Penghitungan Dosis dan Pengenceran Ekstrak Pletekan.....	65
7. Diagran Kerja Penelitian	66
8. Pewarnaan <i>Hematoksilin- Eosin</i>	68
9. Pengukuran ekspresi TNF- α (<i>Tumor necrosis factor alpha</i>) hepar dengan metode imunohistokimia	69
10. Kadar Gula Dara Tikus	70
11. Hasil Uji stastistika terapi <i>Ruellia tuberosa</i> L. terhadap ekspresi TNF- α hepar tikus diabetes mellitus 1	72



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
ANOVA	<i>Analisis of variant</i>
BNJ	Beda Nyata Jujur
CDCP	<i>The Center for Disease Control and Prevention</i>
DAB	<i>Diamino Benzidine</i>
DM 1	Diabetes Mellitus 1
g	gram
GAD65	<i>Autoantibody glutamic acid decarboxylase</i>
HDL	<i>High-density lipoprotein</i>
HE	<i>Hematoxylin-Eosin</i>
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksida
IFN	Interferon
IL	Interleukin
iNOS	<i>inducible Nitrit oxyde</i>
kDa	kilo dalton
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
mg/dL	miligram per desi Liter
mg/kg BB	miligram per Kilogram Berat Badan
mL	mili Liter
mLD	<i>Multi Low Dose</i>
NAD	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>
Nfkb	<i>Nuclear Factor kappa B</i>
NO	<i>Nitric oxyde</i>
O ₂ ⁻	Superperoksida
PFA	Paraformaldehid
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SA-HRP	<i>Strep avidin- Horse Radin Peroxidase</i>
STZ	Streptozotosin
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
TNF-R1	<i>Reseptor 1 Tumor necrosis factor</i>
TNF-R2	<i>Reseptor 2 Tumor necrosis factor</i>
TRADD	<i>Tumor necrosis factor Reseptor 1 associated protein with dead domain</i>
UPHP	Unit Pengembangan Hewan Percobaan
α	Alfa
β	Beta
μL	Mikroliter