

**Pengaruh Terapi Ekstrak Metanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata L.*)  
Terhadap Ekspresi *Inductable Nitric Oxide Synthase* (iNOS) dan Profil  
Protein Lambung Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory  
Bowel Disease* (IBD) Hasil Induksi Indometasin**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

**GILANG SIWI PAMUNGKAS**

**115130100111051**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2016**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**Pengaruh Terapi Ekstrak Metanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata L.*)  
Terhadap Ekspresi *Inductable Nitric Oxide Synthase* (iNOS) dan Profil  
Protein Lambung Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory  
Bowel Disease* (IBD) Hasil Induksi Indometasin**

Oleh:

**GILANG SIWI PAMUNGKAS**

**115130100111051**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 15 Agustus 2016  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Dra. Med. Vet. Herawati, MP**

NIP. 19580127 198503 2 001

**drh. Dyah Ayu Oktavianie, M. Biotech**

NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Brawijaya

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

NIP. 19600903 198802 2 001

**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Gilang Siwi Pamungkas

Nim : 115130100111051

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Pengaruh Terapi Ekstrak Metanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata L.*) Terhadap Ekspresi *Inductable Nitric Oxide Synthase* (iNOS) dan Profil Protein Lambung Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Hasil Induksi Indometasin. 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, 30 Agustus 2016

Yang menyatakan,

(Gilang Siwi P.)  
NIM.115130100111051

**Pengaruh Terapi Ekstrak Metanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata L.*) Terhadap Ekspresi *Inductable Nitric Oxide Synthase* (iNOS) dan Profil Protein Lambung Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Hasil Induksi Indometasin**

ABSTRAK

*Inflammatory Bowel Diseases* (IBD) adalah inflamasi kronis yang menyerang saluran pencernaan yaitu lambung, usus halus dan kolon. Respon awal inflamasi disertai dengan peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Golongan *Non Steroidal Anti Inflammation Drugs* (NSAID) merupakan salah satu penyebab terjadinya keparahan IBD. Kandungan lupeol asetat pada daun kamboja putih (*Plumeria acuminata L.*) berperan sebagai anti inflamasi dan antioksidan alami yang dapat menghambat radikal bebas dan menghambat pengeluaran sitokin proinflamatori. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui efek terapi ekstrak metanol daun kamboja putih dalam menurunkan ekspresi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) dan memperbaiki profil protein pada lambung tikus setelah mendapat paparan indometasin peroral dengan dosis 15 mg/kg BB. Hewan coba yang dipakai yaitu tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar berumur 8-12 minggu dengan berat 150-200 gram. Penelitian menggunakan lima kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif (A), kelompok kontrol positif (B) dan kelompok terapi ekstrak daun kamboja putih (*Plumeria acuminata L.*) dengan pemberian dosis yang berbeda yaitu 500 mg/kg BB (C), 750 mg/kg BB (D) dan 1000 mg/kg BB (E). Pengukuran ekspresi iNOS dilakukan dengan metode *Immunohistokimia* (IHK) sedangkan karakterisasi profil protein dilakukan dengan menggunakan SDS-PAGE dan dianalisis secara semi kuantitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kamboja putih mampu menurunkan ekspresi iNOS secara signifikan ( $p < 0,05$ ) antar kelompok perlakuan, kelompok dengan dosis terapi 1000 mg/kg BB adalah dosis efektif menurunkan ekspresi iNOS sebesar 61,43%. Hasil SDS-PAGE menunjukkan bahwa pemberian terapi dosis 1000 mg/kg BB mampu memperbaiki profil protein yang ditandai dengan tidak terekspresinya protein dengan berat molekul 110 KDa yang diasumsikan sebagai *High Heat Shock Protein* (HHSP).

**Kata kunci:** kamboja putih (*Plumeria acuminata L.*), Indometasin, *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) , Profil Protein.

repository.ub.ac.id

**Therapeutic Effect of Methanolic Extract of *Plumeria acuminata L.* Leaf Against Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) and Protein Profile in Rat (*Rattus norvegicus*) Gastric Inflammatory Bowel Disease Model (IBD) by Indomethacin Induction**

ABSTRACT

Inflammatory Bowel Disease (IBD) is a digestive inflammatory disease that attacks gastric, small intestine and large intestine. Increasing of free radical is due response to the onset of IBD. *Non Steroidal Anti Inflammation Drugs* (NSAID) group is one caused of IBD. The methanolic extract of *Plumeria accuminata L.* leaf contain an active substance of lupeol acetate which has potential as natural anti-inflammatory and antioxidant that can inhibit free radicals and proinflammatory cytokines. This study was aimed to observe therapeutic effect of methanolic extract of *Plumeria accuminata L.* leaf against *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) expression and protein profiles in rat gastric after induced by 15 mg/kg BW dose of indomethacin orally. There were four groups of rats (*Rattus norvegicus*) used in this study. The first group was control (A) and IBD (B). On the other hand, the three groups was obtained methanolic extract of *Plumeria acumiata* leaf with different doses: 500 mg/kg BW (C), 750 mg/kg BW (D) and 1000 mg/kg BW (E). Decreasing of iNOS expression was observed by immunohistochemistry method and measured by *Imunoratio* program then analyzed used ANOVA followed by (*Honestly Significant Difference*) HSD test ( $\alpha = 0.05$ ). Characterization of protein profil conducted by SDS PAGE then analyzed semiquantitatively. The results showed that therapeutic effect of methanolic extract of *Plumeria accuminata L.* leaf decreased iNOS expression significantly ( $p < 0.05$ ), group with a therapeutic dose of 1000 mg/kg BW was the best dose to decrease iNOS expression to be 61.43%. SDS-PAGE showed that therapeutic doses of 1000 mg/kg BW were able to repair the protein profile, characterized by unexpressed of 110 KDa protein which assumed as *High Heat Shock Protein* (HHSP).

**Keywords:** *Plumeria acuminata L.*, Indomethacin, Inflammatory Bowel Disease (IBD), Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS), protein profile.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa karena telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga Laporan Skripsi yang berjudul **“Pengaruh Terapi Ekstrak Metanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata L.*) Terhadap Ekspresi *Inductable Nitric Oxide Synthase* (iNOS) dan Profil Protein Lambung Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Hasil Induksi Indometasin.”** dapat terselesaikan.

Dengan terselesaikannya skripsi ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Dra. Med. Vet. Herawati, MP selaku dosen pembimbing 1 atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
2. drh. Dyah Ayu Oktavianie AP., Mbiotech selaku pembimbing 2 atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
3. Dyah Kinasih Wuragil, S.Si., MP., M.Sc selaku dosen penguji atas tanggapan dan saran yang diberikan.
4. drh. Viski Fitri Hendrawan, M. Vet selaku dosen penguji atas tanggapan dan saran yang diberikan.
5. Prof.Dr.Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
6. Orangtua tercinta, Alm. Sugijanto dan Rumini, S.Pd serta kakak-kakak dalam dukungan, semangat, doa dan motivasi yang diberikan kepada penulis.

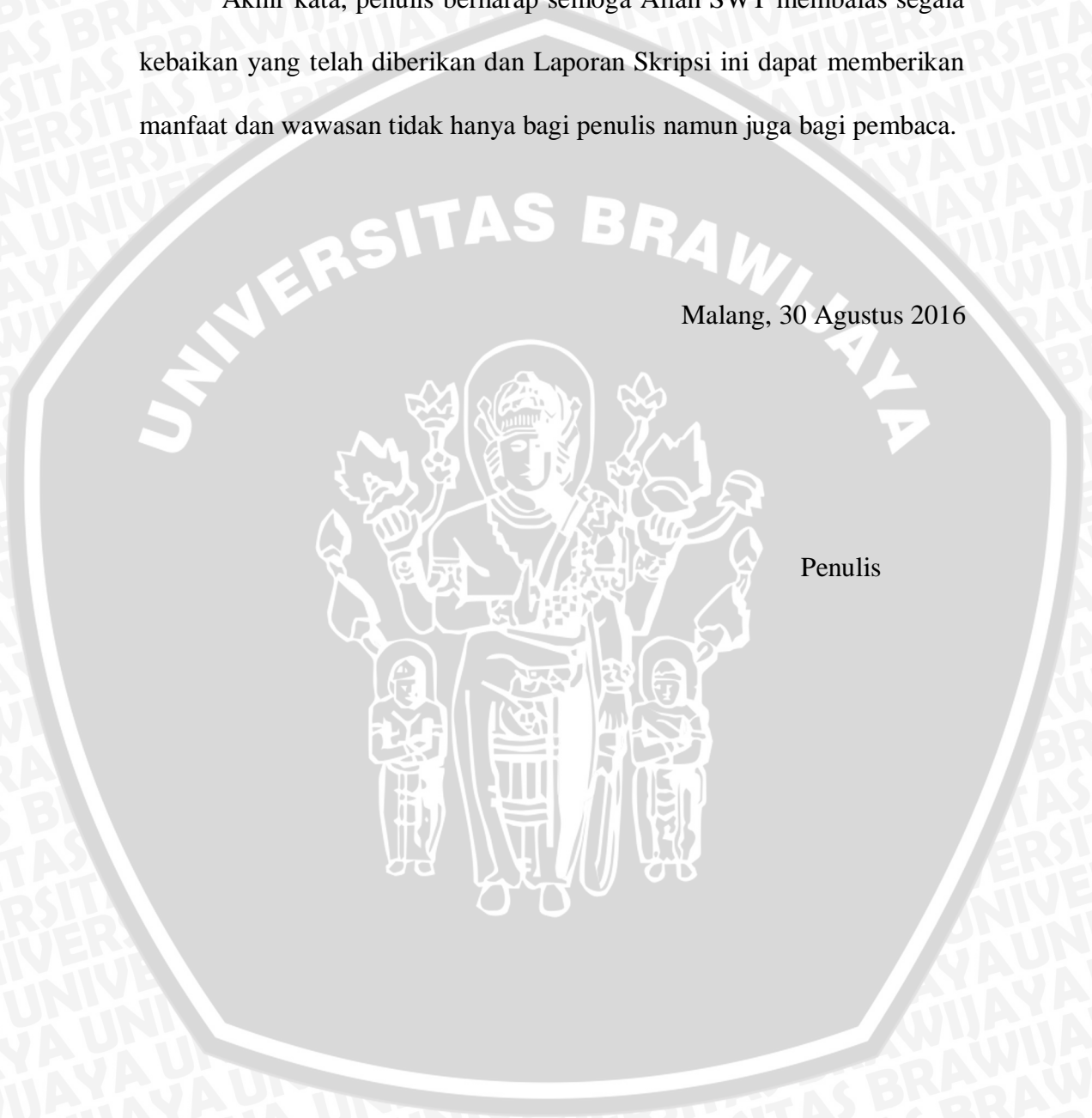
7. Analis dan Staf Laboratorium Biosains dan Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya, yang telah membantu penulis dalam penelitian atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, waktu dan ilmu yang telah diberikan.
8. Anggota kelompok '*Plum Team*', Vetri Handayani, Eni Wulandari, Navy Linggar dan Geta Darantika atas kebersamaan dan kerjasamanya selama penelitian.
9. Secara khusus penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada orangtua tercinta, Alm. Sugijanto dan Rumini, S.Pd serta kakak penulis, Ernanto Budi Prasajo dan Bima Dwija Argandhi atas dukungan, semangat, doa serta motivasi yang diberikan kepada penulis.
10. Sahabat sepermainan, Mufid Hadi, Ibenk, Muhammad Alif, Eka Ramadhan, Yusran Karima, Awangga, Arief Yara, Esa Valian, Jaffar Abdul Jabbar, Galih Suprpto, Adhitya fajar, Abdul Mu'ti, Dimas Amri dan Ema-Enu, .
11. Kolega di VET C CLASS 2011 yang selama ini senantiasa memberikan saran, kritik, motivasi, semangat, inspirasi, kebersamaan atas semua hal yang sangat luar biasa dan juga untuk semua kolega angkatan 2011.
12. Keluarga besar *Purple Petshop and Clinic*, drh. Analis, drh. Yulinar, drh. Risang, Palu, Arief, Ichin, Vetri, Hamni, Reza, Lusi, Almabi, Brasil, dan Dani atas semangat yang telah diberikan epada penulis.
13. Seluruh staf dan karyawan PKH, yang telah membantu proses administrasi dalam membuat tugas akhir.

14. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan karya tulis ini yang tidak sempat disebutkan.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan Laporan Skripsi ini dapat memberikan manfaat dan wawasan tidak hanya bagi penulis namun juga bagi pembaca.

Malang, 30 Agustus 2016

Penulis





## DAFTAR ISI

## Halaman

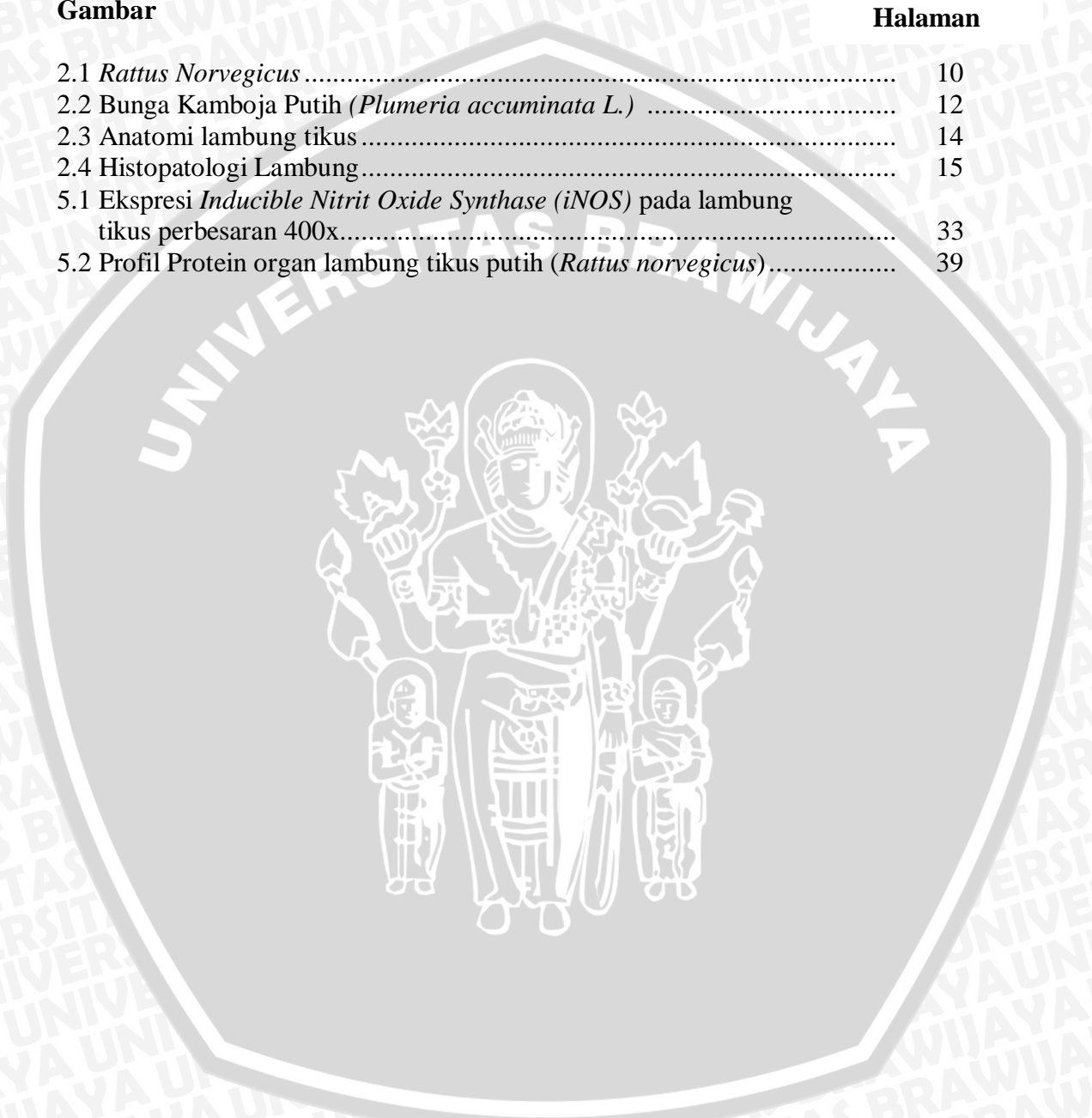
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI</b> .....	ii
<b>LEMBAR PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN</b> .....	xiv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Batasan Masalah .....	4
1.4 Tujuan Penelitian .....	5
1.5 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1 <i>Inflammatory Bowel Disease</i> (IBD) .....	7
2.2 Indometasin .....	8
2.3 Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	9
2.4 Kamboja putih ( <i>Plumeria acuminata L.</i> ) .....	11
2.5 <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i> (iNOS) .....	13
2.6 Lambung .....	14
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....	17
3.1 Kerangka Konsep .....	17
3.2 Hipotesis Penelitian .....	19
<b>BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	20
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	20
4.2 Sampel Penelitian .....	20
4.3 Rancangan Penelitian .....	21
4.4 Variabel Penelitian .....	22
4.5 Alat dan Bahan .....	22
4.6 Tahapan Penelitian .....	23
4.6.1 Persiapan Hewan Coba ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	23
4.6.2 Pembuatan Hewan Model IBD dengan Induksi Indometasin .....	23
4.6.4 Penentuan Dosis dan Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Kamboja Putih ( <i>Plumeria acuminata L.</i> ) .....	24
4.6.4 Pemberian Ekstrak Daun Kamboja Putih .....	25
4.6.5 Pengambilan Organ Lambung .....	26
4.6.6 Penentuan Ekspresi iNOS .....	26
4.6.6.1. Pembuatan Preparat Histologi .....	26

4.6.6.2 Ekspresi iNOS dengan Pewarnaan Imunohistokimia.....	27
4.6.7 Penentuan Gambaran Profil Protein.....	28
4.6.7.1. Isolasi Protein.....	28
4.6.7.2 Persiapan Gel.....	29
4.6.7.3. Injeksi Sampel dan <i>Running</i> .....	29
4.6.7.4 Perlakuan Setelah <i>Running</i> .....	30
4.6.7.5. Penentuan Berat Molekul.....	30
4.7 Analisa data.....	31
<b>BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	29
5.1 Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kamboja Putih ( <i>Plumeria accuminata L.</i> ) terhadap ekspresi <i>Inducible Nitrit Oxide Synthase (iNOS)</i> pada tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) model <i>Inflammatory Bowel Disease</i> yang diinduksi indometasin....	32
5.2 Analisa Profil Protein Lambung.....	38
<b>BAB 6. PENUTUP</b> .....	44
6.1 Kesimpulan.....	44
6.2 Saran.....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	40
<b>LAMPIRAN</b> .....	49



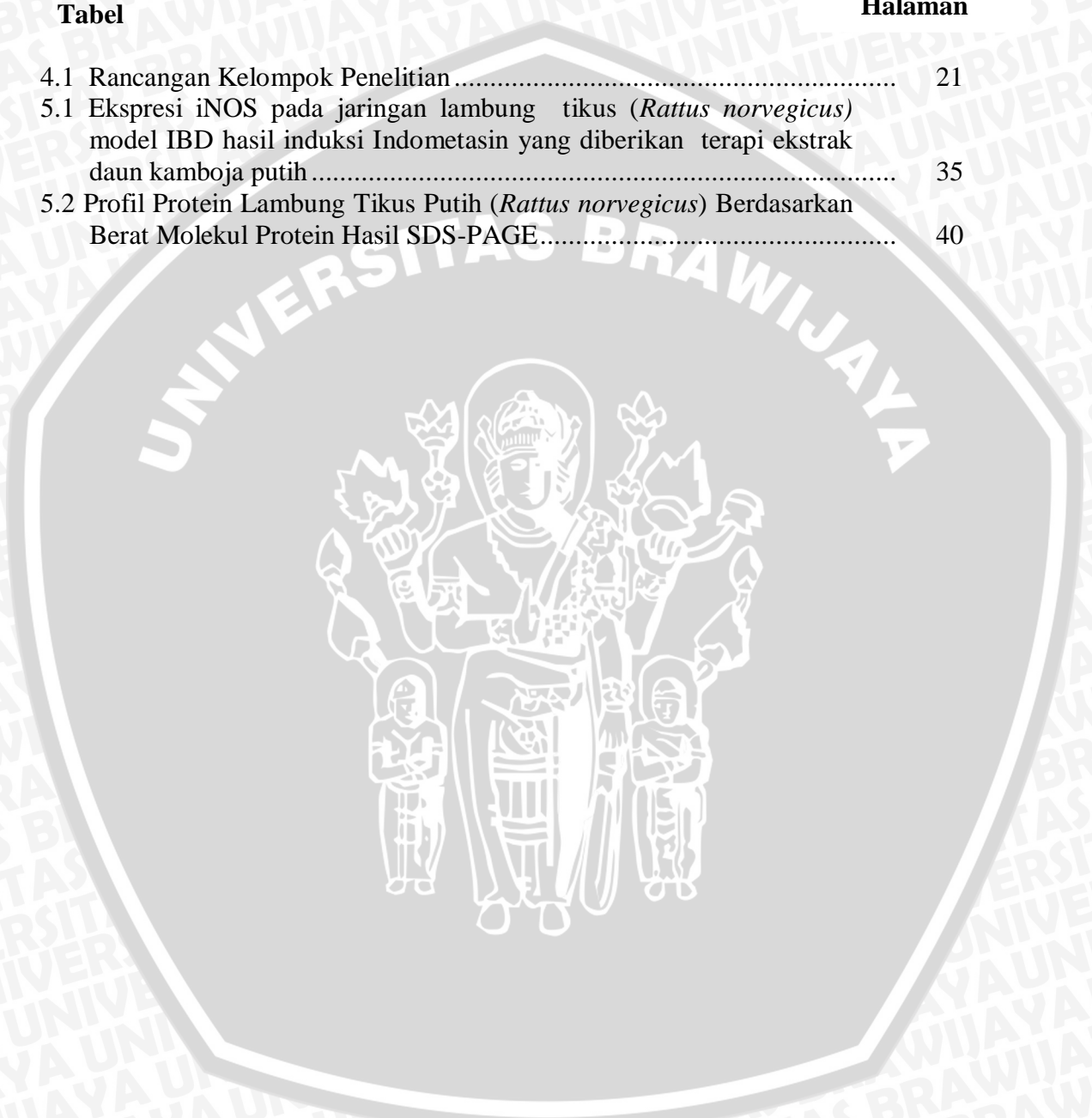
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 <i>Rattus Norvegicus</i> .....	10
2.2 Bunga Kamboja Putih ( <i>Plumeria accuminata L.</i> ) .....	12
2.3 Anatomi lambung tikus .....	14
2.4 Histopatologi Lambung .....	15
5.1 Ekspresi <i>Inducible Nitrit Oxide Synthase (iNOS)</i> pada lambung tikus perbesaran 400x.....	33
5.2 Profil Protein organ lambung tikus putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	39



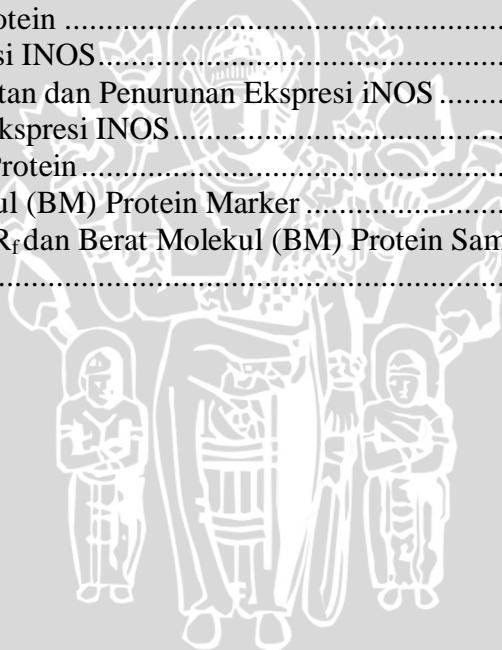
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan Kelompok Penelitian.....	21
5.1 Ekspresi iNOS pada jaringan lambung tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) model IBD hasil induksi Indometasin yang diberikan terapi ekstrak daun kamboja putih.....	35
5.2 Profil Protein Lambung Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Berdasarkan Berat Molekul Protein Hasil SDS-PAGE.....	40



## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman.....	50
2. Serifikat Laik Etik.....	51
3. Kerangka Operasional Rancangan penelitian.....	52
4. Perhitungan Dosis Indometasin.....	54
5. Penentuan Dosis dan Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Kamboja Putih ( <i>Plumeria acuminata L.</i> ).....	55
6. Komposisi Larutan.....	60
7. Pembuatan Preparat Histopatologi.....	61
8. Pembuatan Preparat dengan Teknik Imunohistokimia iNOS.....	62
9. Isolasi Protein.....	63
10. Hasil pencitraan eksptesi INOS menggunakan <i>software Imunoratio</i> .....	64
11. Penentuan Profil Protein.....	65
12. Perhitungan Ekspresi INOS.....	66
13. Presentasi Peningkatan dan Penurunan Ekspresi iNOS.....	66
14. Hasil Uji Statistik Ekspresi INOS.....	67
15. Perhitungan Profil Protein.....	70
16. Grafik Berat Molekul (BM) Protein Marker.....	70
17. Perhitungan Harga $R_f$ dan Berat Molekul (BM) Protein Sampel.....	71
18. Hasil Uji LCMS.....	64



## DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Simbol/ Singkatan	Keterangan
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
BNJ	: <i>Beda Nyata Jujur</i>
IBD	: <i>Inflammatory Bowel Disease</i>
UC	: <i>Ulcerative Colitis</i>
CD	: <i>Crohn Disease</i>
iNOS	: <i>Inducible Nitrit Oxide Synthase</i>
COX-1	: <i>Cyclooxygenase-1</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
NO	: <i>Nitrit Oxide</i>
DAB	: <i>Diamano Benziidine</i>
BB	: <i>Berat Badan</i>
SDS-PAGE	: <i>Sodium Deodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>
kDa	: <i>KiloDalton</i>
HSP	: <i>Heat Shock Protein</i>
HHSP	: <i>High Heat Shock Protein</i>
HSR	: <i>Heat Shock Response</i>
NSAID	: <i>Non Steroidal Antiinflamatory Drugs.</i>
PBSA	: <i>Phospat Buffer Saline Azida</i>
PFA	: <i>Paraformal Aldehida</i>
PGI2	: <i>Prostaglandin I2</i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E2</i>
RAL	: <i>Rancangan Acak lengkap</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>