



LAMPIRAN

repository.ub.ac.id

54

Lampiran 1. Laik Etik



UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU
KOMISI ETHICAL CLEARANCE UNTUK PENELITIAN PRAKLINIK

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
(*Ethical Clearance*)

Nomor: 134/KEC-LPPT/II/2014

Komisi *Ethical Clearance* untuk penelitian praklinik Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, setelah mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan bahwa penelitian:

- Judul penelitian** : Kajian *In Vivo* Antihipertensi Alami Berbasis Peptida Bioaktif Susu Kambing Hasil Fermentasi Bakteri Asam Laktat
- Peneliti Utama** : drh. Masdlana C. Padaga, M. App.Sc.
- Asal Instansi** : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang
- Lokasi Penelitian** : Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu UGM

Telah dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan penelitian tersebut pada hewan uji tikus. Komisi *Ethical Clearance* mempunyai hak untuk melakukan pemantauan selama penelitian berlangsung.

Yogyakarta, 7 Februari 2014

Komisi *Ethical Clearance*

Ketua

Prof. Dr. drh. Pudji Astuti, MP.



Lampiran 2. Surat pernyataan payung penelitian

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Ayu Alfisa

Nim : 0911313003

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Fakultas : Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas : Brawijaya

Menyatakan bahwa penelitian saya yang berjudul “Efek Terapi Yogurt Susu Kambing Terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Dan Gambaran Histopatologi Pembuluh Darah Tikus (*Rattus Norvegicus*) Model Hipertensi Yang Diinduksi *Deoxycorticosterone Acetate* (DOCA)-Salt” merupakan bagian dari penelitian yang berjudul “Kajian In Vivo Antihipertensi Alami Berbasis Peptida Bioaktif Susu Kambing Hasil Fermentasi Bakteri Asam Laktat”. Untuk itu kepemilikan dan hak publikasi menjadi hak milik dari peneliti utama Dr. Masdiana C. Padaga, drh., M.App.Sc.

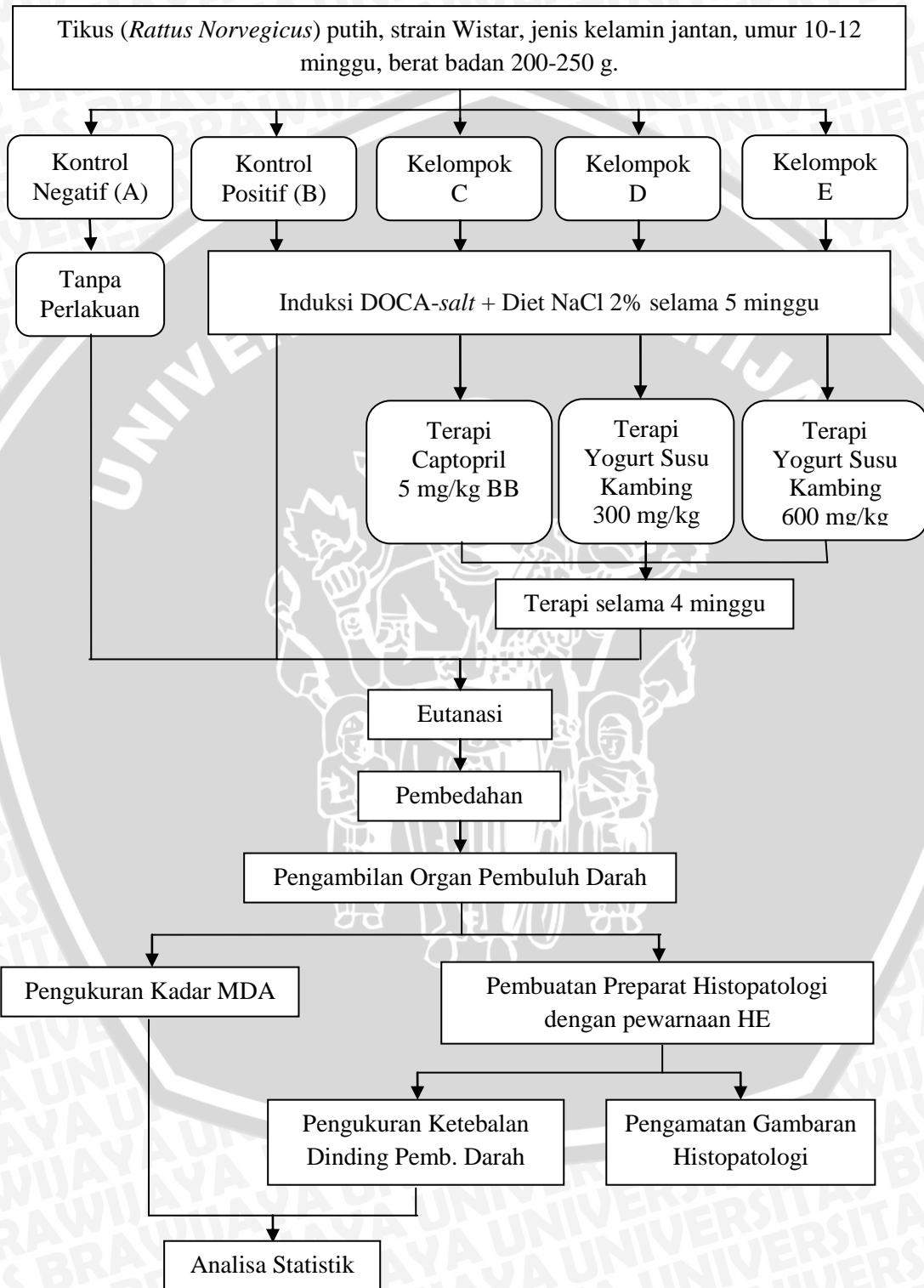
Malang, 18 September 2016

Yang membuat pernyataan,

Ayu Alfisa

NIM. 0911313003

Lampiran 3. Diagram Tahapan Penelitian.



Lampiran 4. Perhitungan Dosis DOCA-salt

- Dosis : a. 20 mg/kg BB pada 5 kali injeksi pertama
b. 10 mg/kg BB pada 5 kali injeksi selanjutnya
- Waktu pemberian = 2x/minggu selama 5 minggu (10 Injeksi)
- Rumus Perhitungan :

$$\frac{\text{Berat Badan}}{1000} \times \text{Dosis DOCA}$$

- Hasil perhitungan dosis DOCA selanjutnya dilarutkan dalam 0,5 ml minyak jagung.

Tabel 1. Tabel Hasil Perhitungan Dosis DOCA-salt

Dosis DOCA	Injeksi Ke-	N	Kelompok B		Kelompok C		Kelompok D		Kelompok E	
			BB (g)	DOCA (mg)	BB (g)	DOCA (mg)	BB (g)	DOCA (mg)	BB (g)	DOCA (mg)
20 mg/kg BB	1	4	224,4	4,488	210,9	4,218	218,3	4,366	221,8	4,436
	2	4	224,4	4,488	210,9	4,218	218,3	4,366	221,8	4,436
	3	4	201,7	4,034	189,2	3,783	204,1	4,082	211,6	4,231
	4	4	201,7	4,034	189,2	3,783	204,1	4,082	211,6	4,231
	5	4	193,4	3,864	201,7	4,032	213,0	4,258	216,1	4,320
10 mg/kg BB	6	4	193,4	1,932	201,7	2,016	213,0	2,129	216,1	2,160
	7	4	197,8	1,978	216,9	2,168	224,4	2,243	232,7	2,326
	8	4	197,8	1,978	216,9	2,168	224,4	2,243	232,7	2,326
	9	4	208,8	2,087	234,6	2,364	234,2	2,341	224,0	2,440
	10	4	208,8	2,087	234,6	2,364	234,2	2,341	224,0	2,440

Lampiran 5. Perhitungan Dosis Terapi Yogurt Susu Kambing

- Dosis Terapi Yogurt Susu Kambing 300 mg/kg BB dan 600 mg/kg BB
- Waktu pemberian : 1x sehari selama 4 minggu (28 hari)
- Rumus Perhitungan :

$$\frac{\text{Berat Badan}}{1000} \times \text{Dosis Yogurt Susu Kambing}$$

- Hasil perhitungan dosis yogurt susu kambing selanjutnya dilarutkan dalam 1-2 ml air mineral

Tabel 1. Hasil Perhitungan Dosis Terapi Yogurt Susu Kambing

Hari Ke-	Ulangan (N)	Kelompok D (Terapi Yogurt 300 mg/kg BB)		Kelompok E (Terapi Yogurt 600 mg/kg BB)	
		BB (g)	Hasil (mg)	BB (g)	Hasil (mg)
1	4	245,4	73,62	276,1	165,66
2	4	245,4	73,62	276,1	165,66
3	4	245,4	73,62	276,1	165,66
4	4	245,4	73,62	276,1	165,66
5	4	245,4	73,62	276,1	165,66
6	4	245,4	73,62	276,1	165,66
7	4	245,4	73,62	276,1	165,66
8	4	269,5	80,85	296,7	178,02
9	4	269,5	80,85	296,7	178,02
10	4	269,5	80,85	296,7	178,02
11	4	269,5	80,85	296,7	178,02
12	4	269,5	80,85	296,7	178,02
13	4	269,5	80,85	296,7	178,02
14	4	269,5	80,85	296,7	178,02
15	4	288,5	86,55	311,0	186,60
16	4	288,5	86,55	311,0	186,60
17	4	288,5	86,55	311,0	186,60
18	4	288,5	86,55	311,0	186,60
19	4	288,5	86,55	311,0	186,60
20	4	288,5	86,55	311,0	186,60
21	4	288,5	86,55	311,0	186,60
22	4	300,1	90,00	324,0	194,40
23	4	300,1	90,00	324,0	194,40
24	4	300,1	90,00	324,0	194,40
25	4	300,1	90,00	324,0	194,40
26	4	300,1	90,00	324,0	194,40
27	4	300,1	90,00	324,0	194,40
28	4	300,1	90,00	324,0	194,40



Lampiran 6. Perhitungan Dosis Terapi Captopril

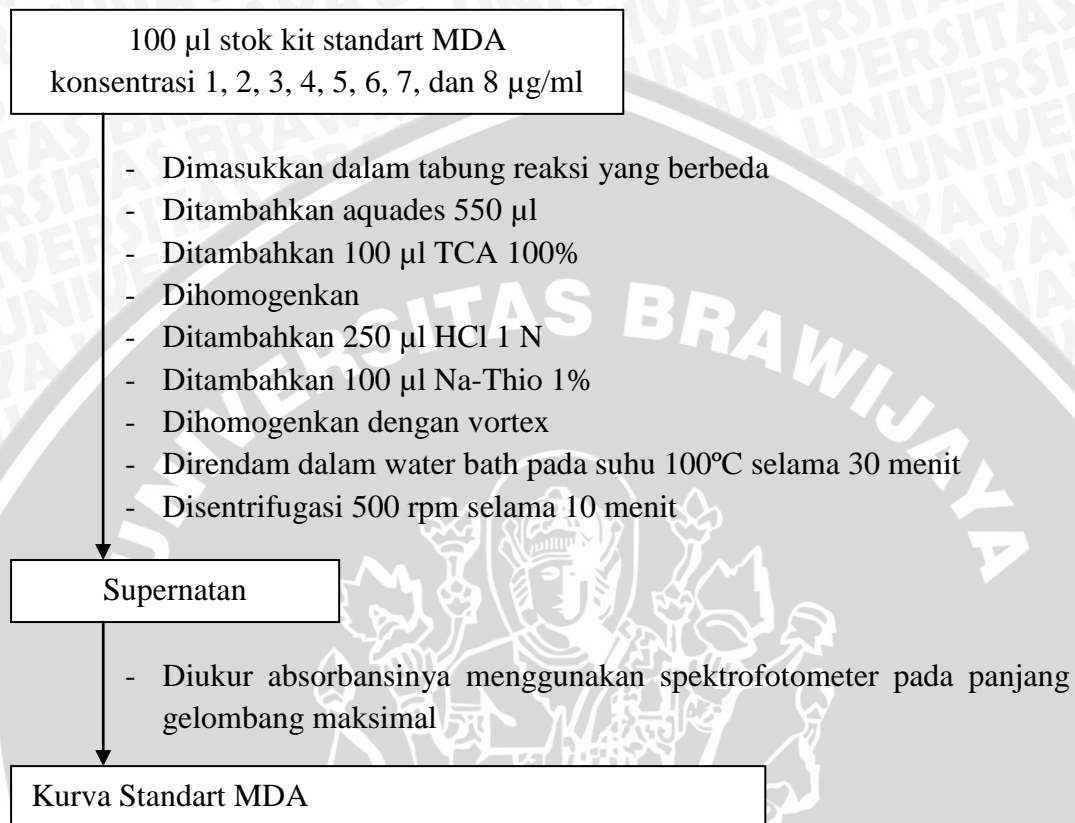
- Dosis Terapi Captopril : 5 mg/kg BB
- Waktu pemberian : 1 kali sehari selama 4 minggu (28 hari)
- Rumus Perhitungan :

$$\frac{\text{Berat Badan}}{1000} \times \text{Dosis Captopril}$$

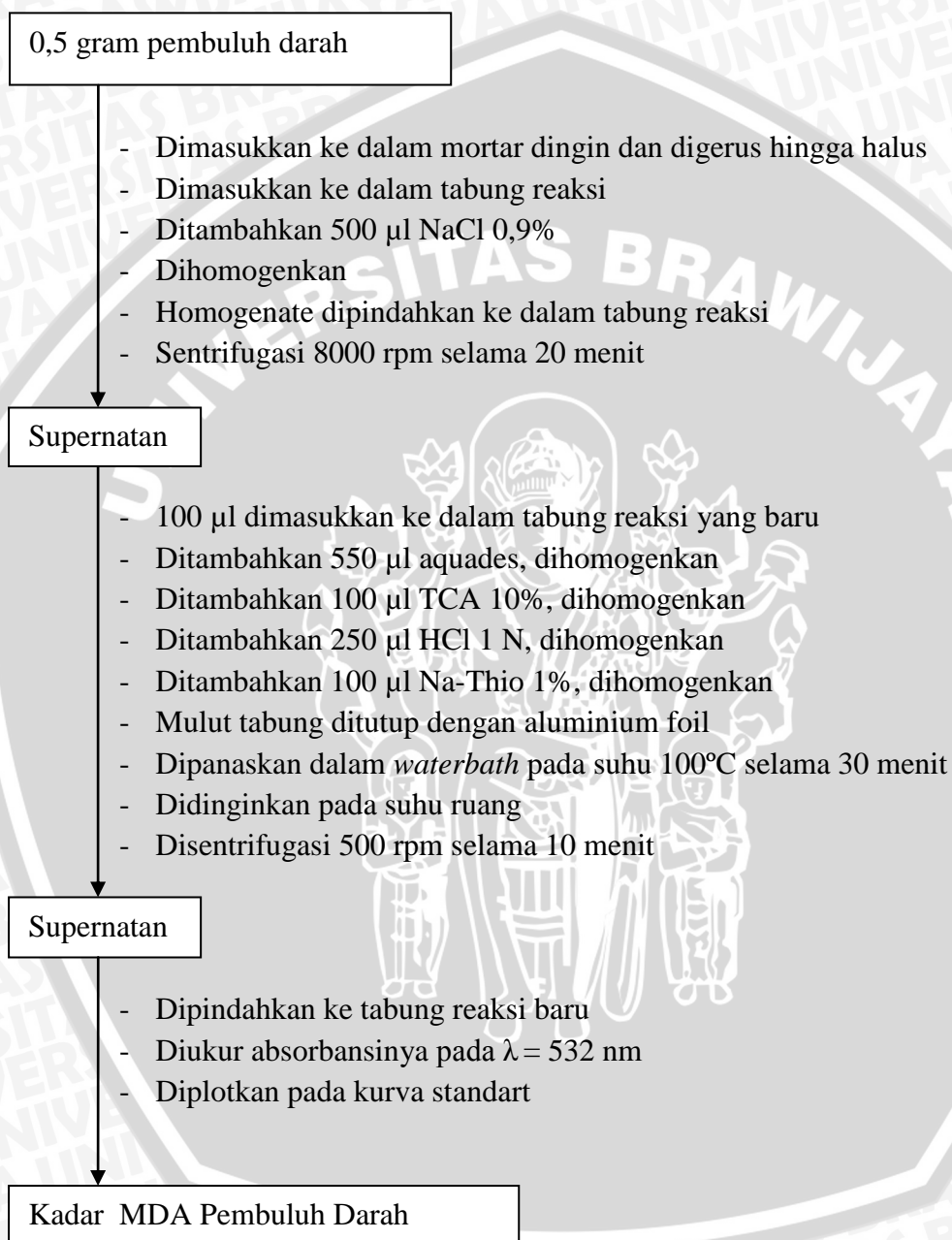
- Hasil perhitungan dosis captopril selanjutnya dilarutkan dalam 1 ml air minum RO

Tabel 1. Tabel Hasil Perhitungan Dosis Terapi Captopril

Hari Ke-	Ulangan (N)	Kelompok C (Terapi Captopril 5 mg/kg BB)	
		BB (g)	Hasil (mg)
1	4	264,9	1,33
2	4	264,9	1,33
3	4	264,9	1,33
4	4	264,9	1,33
5	4	264,9	1,33
6	4	264,9	1,33
7	4	264,9	1,33
8	4	282,2	1,41
9	4	282,2	1,41
10	4	282,2	1,41
11	4	282,2	1,41
12	4	282,2	1,41
13	4	282,2	1,41
14	4	282,2	1,41
15	4	296,2	1,48
16	4	296,2	1,48
17	4	296,2	1,48
18	4	296,2	1,48
19	4	296,2	1,48
20	4	296,2	1,48
21	4	296,2	1,48
22	4	304,1	1,52
23	4	304,1	1,52
24	4	304,1	1,52
25	4	304,1	1,52
26	4	304,1	1,52
27	4	304,1	1,52
28	4	304,1	1,52

Lampiran 7. Pembuatan Kurva Standart MDA (Aulanni'am *et al.*, 2012)

Lampiran 8. Pengukuran Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Organ Pembuluh darah dengan Uji TBA (Aulanni'am *et al.*, 2012)



Lampiran 9. Pembuatan Preparat Histopatologi (Wati dkk., 2013)**a. Embedding Pembuluh Darah**Pembuluh Darah Tikus (*Rattus norvegicus*)

- Direndam dalam larutan formaldehid 10%
- Direndam dalam etanol 70%, dibiarkan selama 24 jam
- Dipindah dalam etanol 80%, dibiarkan selama 2 jam
- Direndam etanol 90% selama 20 menit
- Direndam etanol 95% selama 20 menit
- Direndam etanol absolut selama 20 menit dan dilakukan pengulangan 3 kali
- Dimasukkan ke dalam larutan xilol I selama 20 menit
- Dimasukkan ke dalam larutan xilol II selama 20 menit
- Dimasukkan larutan xilol III selama 30 menit pada suhu 60-63°C
- Dichelupkan parafin cair

Pembuluh Darah Dalam Blok Parafin

b. Pembuatan Preparat Pembuluh Darah

Pembuluh Darah Dalam Blok Parafin

- Dimasukkan ke dalam penjepit *microtome* yang sejajar dengan mata pisau *microtome*
- Dipotong 5µm
- Diambil irisan dengan kuas dan dimasukkan air pada suhu ruang
- Dipindahkan irisan dengan kuas dalam air hangat 38-40°C
- Diambil irisan yang telah terentang dengan menggunakan objek gelas
- Dikeringkan kemudian diletakkan diatas hot plate dengan suhu 38-40°C sampai kering
- Disimpan pada inkubator dengan suhu 38-40°C selama 24 jam

Pewarnaan Preparat

c. Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE)

Preparat Pembuluh Darah

- dideparafinasi dengan dimasukkan dalam xilol bertingkat 1-3 masing-masing selama 5 menit
- direhidrasi dengan dimasukkan dalam etanol absolut bertingkat 1-3 masing-masing 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 95% selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 90% selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 80% selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 70% selama 5 menit
- direndam dalam akuades selama 5 menit
- dimasukkan dalam pewarna hematoxylen hingga diperoleh hasil warna terbaik kurang lebih 10 menit
- dicuci dengan air mengalir selama 30 menit
- direndam dalam akuades untuk menghilangkan kelebihan eosin
- dimasukkan dalam etanol 80% selama 5 detik
- dimasukkan dalam etanol 90% selama 5 detik
- dimasukkan dalam etanol 95% selama 5 detik
- dimasukkan ke dalam etanol absolut 1-3 selama 2 menit
- dimasukkan pada xilol I
- dimasukkan pada xilol II
- dikeringanginkan
- dilakukan *mounting* dengan entellan

Preparat Pembuluh Darah

Lampiran 10. Data Absorbansi dan Perhitungan Kadar MDA Organ Pembuluh Darah Tikus (*Rattus Norvegicus*)

Tabel 1. Hasil Perhitungan Kadar MDA Organ Pembuluh Darah

Ulangan	Kontrol negative		Kontrol Positif		Terapi Captopril		Terapi Yogurt 300 mg		Terapi Yogurt 600 mg	
	Absorbansi	Konsentrasi	Absorbansi	Konsentrasi	Absorbansi	Konsentrasi	Absorbansi	Konsentrasi	Absorbansi	Konsentrasi
1	0,047	0,440	0,075	0,757	0,053	0,508	0,043	0,395	0,045	0,417
2	0,033	0,282	0,057	0,553	0,052	0,497	0,047	0,440	0,047	0,440
3	0,029	0,236	0,057	0,553	0,054	0,519	0,056	0,542	0,044	0,406
4	0,036	0,316	0,060	0,587	0,058	0,564	0,046	0,429	0,041	0,372
Rata- rata		0,318		0,613		0,522		0,451		0,409
Std. Dev.		0,087		0,097		0,030		0,063		0,028

Data Absorbansi yang didapat, dihitung konsentrasinya dengan menggunakan kurva baku MDA yang sudah ada.

Contoh Perhitungan konsentrasi MDA :

$$Y = 0,0944x + 0,022$$

$$0,047 = 0,0944x + 0,022$$

$$x = (0,047 - 0,022) / 0,0944$$

$$x = 0,440$$

