

**EFEK PENCEGAHAN ARANG AKTIF TERHADAP
KADAR *LOW DENSITY LIPOPROTEIN* (LDL) DAN
GAMBARAN HISTOPATOLOGI DUODENUM
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA**

SKRIPSI

Oleh:
BAGAS ABRIANTO
135130101111064



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**EFEK PENCEGAHAN ARANG AKTIF TERHADAP
KADAR *LOW DENSITY LIPOPROTEIN* (LDL) DAN
GAMBARAN HISTOPATOLOGI DUODENUM
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
BAGAS ABRIANTO
135130101111064



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**



LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Efek Pencegahan Arang Aktif Terhadap Kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan Gambaran Histopatologi Duodenum pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia

Oleh :

BAGAS ABRIANTO
NIM. 135130101111064

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 23 Januari 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing 1

Pembimbing 2

Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D.
NIP. 19810504 2005 1 001

drh. Analis Wisnu Wardhana, M.Biomed.
NIP. 19800904 200812 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

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

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Bagas Abrianto
NIM : 135130101111064
Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Efek Pencegahan Arang Aktif terhadap Kadar *Low Density Lipoprotein (LDL)* dan Gambaran Histopatologi Duodenum pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia 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 termaksud 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, 19 Januari 2018

Yang menyatakan,

(BagasAbrianto)

NIM.135130101111064

Efek Pencegahan Arang Aktif terhadap Kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan Gambaran Histopatologi Duodenum pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia

ABSTRAK

Hiperkolesterolemia adalah suatu kondisi dimana meningkatnya konsentrasi kolesterol dalam darah yang melebihi nilai normal. Arang aktif dapat menyerap ribuan kali beratnya sendiri zat-zat berupa gas, logam berat, racun-racun dan bahan-bahan kimia lain, sehingga merupakan bahan yang efektif dan tidak berbahaya. Penelitian ini bersifat *true experimental* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan model menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan berumur 8 – 12 minggu, dengan berat badan antara 100-150 gr diadaptasikan selama 7 hari dan dibagi dalam enam kelompok perlakuan yaitu kelompok negatif, positif, kelompok perlakuan 1, 2, 3 dan kelompok perlakuan 4 (placebo). Pemberian diet hiperkolesterolemia menggunakan bahan asam kholat 0,1%, minyak babi 10%, dan kuning telur puyuh rebus segar 5 % dengan total pemberian 3,02 gr/2mL selama 14 hari. Suplementasi menggunakan arang aktif dengan dosis masing-masing 340 mg/ekor, 680 mg/ekor, 1020 mg/ekor dan placebo dengan dosis 680 mg/ekor tanpa pemberian diet hiperkolesterolemia. Pemberian dengan sonde lambung selama 14 hari. Pengukuran kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) menggunakan spektrofotometri, analisa data dilakukan secara kuantitatif menggunakan uji *One Way ANOVA*, $\alpha = 5\%$ dan uji Tukey ($p < 0,01$). Hasil gambaran histopatologi organ duodenum dianalisa secara deskriptif. Dari hasil yang didapat dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian arang aktif dapat mencegah hiperkolesterolemia dilihat dari pencegahan kerusakan histopatologi duodenum dan penghambatan kenaikan kadar LDL dengan dosis pemberian efektif 680 mg/ekor.

Kata kunci : Hiperkolesterolemia, Arang aktif, *Low Density Lipoprotein*, Histopatologi Duodenum

Preventive Effect of Activated Charcoal on *Low Density Lipoprotein* (LDL) Levels and The Description Duodenum Histopathology in Rats (*Rattus norvegicus*) Model of Hypercholesterolemia

ABSTRACT

Hypercholesterolemia is a condition which the concentration of cholesterol in the blood increased more than it is normal value. Activated charcoal can absorb thousands times of its own weight gaseous substances, heavy metals, toxins and other chemicals substances, so that is an effective material and harmless one. This research has the quality of true experimental using Complete Random Design (RAL). This research uses male rats (*Rattus norvegicus*) Wistar strain aged 8-12 weeks, weighing between 100-150 grams. It is being adapted for 7 days and grouped into six different treatments. They are negative group, positive group, treatment groups 1, 2, 3 and the 4 (placebo) group. The giving hypercholesterolemic diet consists of cholic acid 0.1%, lard 10%, and fresh boiled quail egg yolks 5% with the total of 3.02 gr/ 2 mL for 14 days. Supplementation using activated charcoal with each dose of 340 mg/150 gram BW, 680 mg/150 gram BW, 1020 mg/150 gram BW and the placebo at a dose of 680 mg/150 gram BW without giving any hypercholesterolemic diet with gastric sonde for 14 days. *Low Density Lipoprotein* (LDL) levels was measured using the spectrofotometry, quantitative data analysis was performed using One Way ANOVA, $\alpha = 5\%$ and continued by the Tukey test ($p < 0.01$). The results overview duodenum organ histopathology were analyzed descriptively. From the results obtained it can be conclude that activated charcoal giving can prevent hypercholesterolemia seen from prevention of duodenal histopathology damage and inhibition increase of LDL level with effective dose of 680 mg/150 gram BW.

Keyword : Hypercholesterolemia, Activated charcoal, *Low Density Lipoprotein*, duodenum histopathology

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWTatas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Efek Pencegahan Arang Aktif terhadap Kadar *Low Density Lipoprotein (LDL)* dan Gambaran Histopatologi Duodenum pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia”** sebagai syarat kelulusan menjadi Sarjana Kedokteran Hewan.

Proposal ini disusun berdasarkan diskusi dengan berbagai pihakserta literatur yang penulis baca dari beberapa referensi. Penulis sepenuhnya menyadari bahwa tanpa adanya motivasi dan bimbingan dari berbagai pihak, maka tugas akhir ini tidak akan terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D. dan drh. Analis Wisnu Wardhana, M.Biomed. sebagai dosen pembimbing I dan II yang telah menyisihkan waktunya untuk membimbing penulis pada saat penulisan proposal ini.
2. drh. M. Arfan Lesmana, M.Sc. dan drh. Wawid Purwatiningsih, M.Vet. selaku dosen penguji atas segala ilmu, dukungan, serta saran dan masukan dalam penyempurnaan penulisan tugas akhir ini.
3. Prof.Dr.Aulanni'am, drh., DES, selaku selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
4. Keluarga tercinta yang selalu memberi kasih sayang, dorongan, dukungan dan doa untuk menyelesaikan studi penulis serta perhatiannya akan kebutuhan penulis baik secara moril maupun materi.
5. Seluruh dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama menjalankan studi di Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
6. Teman-teman Dexa (2013-D) khususnya keluarga cemara dan seluruh kolega di FKH UB.

7. Teman-teman Kicau Mania khususnya Taman Asri SF atas semangat dan dukungannya untuk penulis.
8. Elsa, Anggit, Dwiky, dan Hanny selaku rekan-rekan kelompok skripsi atas semangat dan ketersediaannya selalu mengingatkan untuk menyelesaikan studi penulis.

Semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi pihak-pihak terkait dan masyarakat pada umumnya. Mohon maaf apabila terdapat kekurangan pada penyusunan tugas akhir ini.

Malang, 19 Januari 2018

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Batasan Masalah	6
1.4 Tujuan Penelitian	7
1.5 Manfaat Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Hiperkolesterolemia.....	9
2.1.1 Definisi Hiperkolesterolemia.....	9
2.1.2 Etiologi Hiperkolesterolemia.....	11
2.1.3 Metabolisme Kolesterol.....	12
2.1.4 Patomekanisme Hiperkolesterolemia	13
2.1.5 Pencegahan Hiperkolesterolemia.....	16
2.1.6 Pengobatan Hiperkolesterolemia	16
2.2 Arang Aktif.....	17
2.2.1 Definisi Arang Aktif.....	17
2.2.2 Karakteristik Arang Aktif.....	18
2.2.3 Fungsi Arang Aktif.....	20
2.2.4 Metode Aktifasi Arang Aktif.....	21
2.2.5 Manfaat Arang Aktif untuk Kesehatan.....	22
2.3 Hewan Coba.....	22
2.4 Kadar LDL Terhadap Hiperkolesterolemia.....	25
2.5 Histopatologi Duodenum	28
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN ...	35
3.1 Kerangka Konseptual.....	35
3.2 Hipotesis Penelitian	39



BAB IV METODE PENELITIAN	40
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	40
4.2 Alat dan Bahan.....	40
4.2.1 Alat	40
4.2.2 Bahan	41
4.3 Tahapan Penelitian	41
4.4 Prosedur Kerja	42
4.4.1 Kerangka Penelitian dan Preparasi Hewan Coba Tikus ..	42
4.4.2 Preparasi Tikus dengan Diet Hiperkolesterolemia	44
4.4.3 Preparasi Arang Aktif	45
4.4.4 Pengambilan Organ Duodenum.....	44
4.4.5 Penentuan Kadar LDL dengan Spektrofotometri	46
4.4.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Organ Duodenum dengan Pewarnaan HE dan Pengamatan Histopatologi	52
4.4.7 Analisis Data.....	53
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	54
5.1 Pengaruh Pencegahan Arang Aktif Terhadap Kadar <i>Low Density Lipoprotein</i> (LDL) Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	54
5.2 Pengaruh Preventif Arang Aktif Terhadap Histopatologi Organ Hepar Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	64
BAB VI PENUTUP	70
6.1 Kesimpulan	70
6.2 Saran	70
DAFTAR PUSTAKA	71
LAMPIRAN	77

DAFTAR TABEL

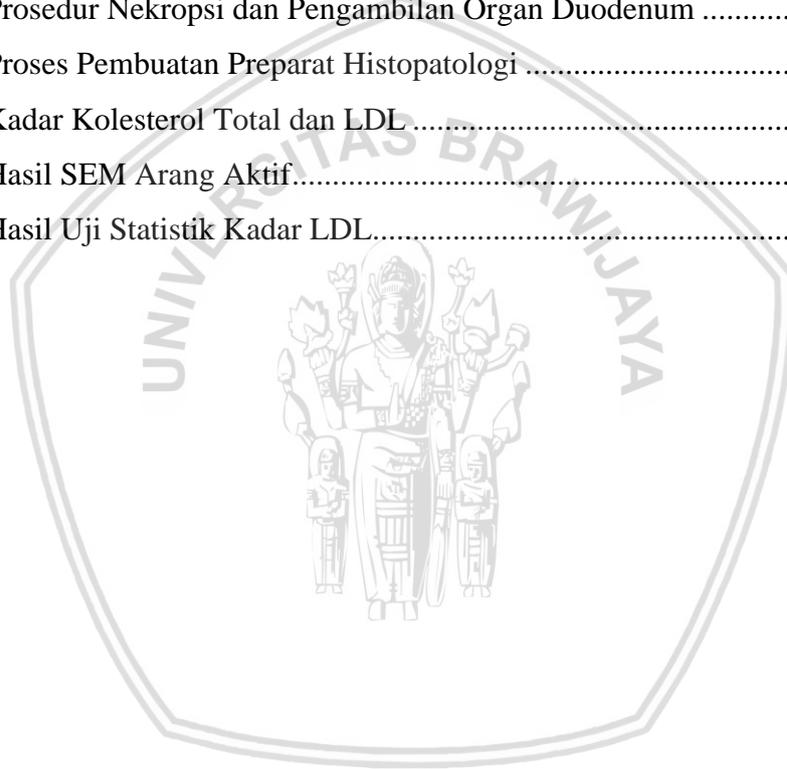
Tabel	Halaman
2.1 Karakteristik Utama Lipoprotein Plasma pada Anjing dan Kucing.....	9
4.1 Komposisi Bahan Diet Tinggi Kolesterol.....	44
4.2 Komposisi Diet Tinggi Kolesterol.....	44
4.3 Prosedur Pencampuran Reagen Kolesterol Total.....	49
4.4 Prosedur Pencampuran Reagen Triglicerida.....	50
4.5 Prosedur Pencampuran Reagen HDL.....	51
4.6 Prosedur Pencampuran Reagen HDL dengan Presipitan.....	51
5.1 Kadar LDL Darah Tikus Putih Model Hiperkolesterolemia.....	55
5.2 Kandungan Arang Aktif Hasil SEM.....	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) Strain Wistar	24
2.2 Anatomi Struktur LDL.....	26
2.3 Anatomi Duodenum.....	31
2.4 Histologi Duodenum.....	33
2.5 Gambaran Histopatologi Tunika Mukosa Duodenum	34
3.1 Kerangka Konseptual.....	35
5.1 Grafik Kadar LDL dan Standar Deviasi.....	57
5.2 Ukuran Pori-pori Arang Aktif Hasil Analisa SEM.....	62
5.3 Histopatologi Duodenum Tikus dengan Pewarnaan HE.....	64

DAFTAR LAMPIRAN

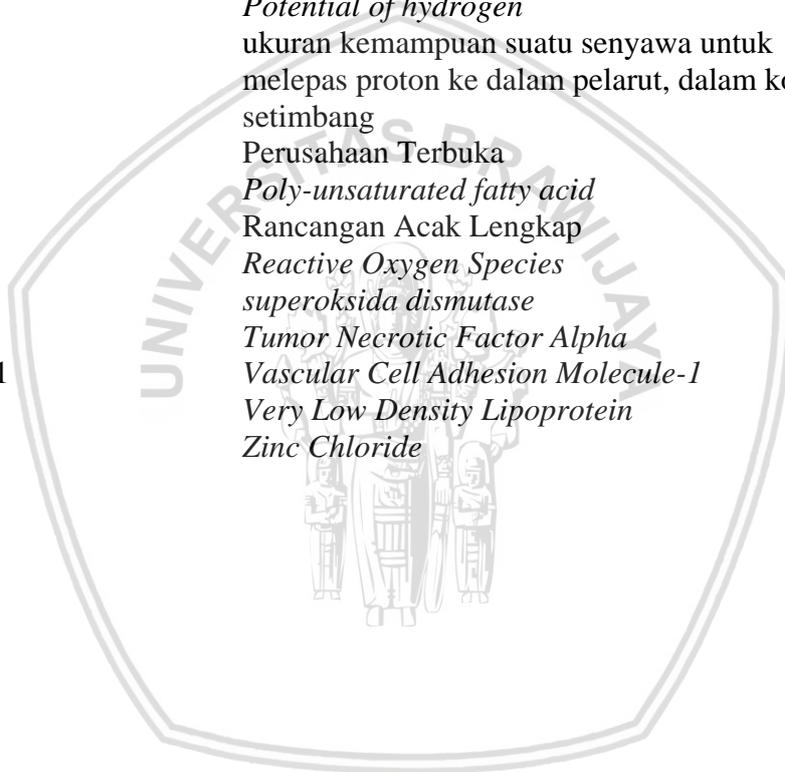
Lampiran	Halaman
1. Keterangan Laik Etik	76
2. Bagan Rancangan Penelitian.....	77
3. Komposisi Pakan Standar	78
4. Persiapan Arang Aktif.....	79
5. Prosedur Nekropsi dan Pengambilan Organ Duodenum	81
6. Proses Pembuatan Preparat Histopatologi	82
7. Kadar Kolesterol Total dan LDL	84
8. Hasil SEM Arang Aktif.....	86
9. Hasil Uji Statistik Kadar LDL.....	87



DAFTAR SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
μl	Mikroliter
Å	Angstrom
ANOVA	<i>Analysis of variance</i>
APO-100	Apolipoprotein 100
APO B-100	Apolipoprotein B-100
APO E	Apolipoprotein E
BB	Berat badan
BW	Body Weight
C	<i>Celcius</i>
CHOD-PAP	<i>Cholesterol Oxidase-Peroxidase</i> <i>Aminoantipyrine Phenol</i>
Cm	<i>Centimeter</i>
CO ₂	Karbon dioksida
DI	Desiliter
FFA	<i>Free Fatty Acid</i>
g/gr	Gram
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida
H ₂ SO ₄	Gas Hydrogen Sulfide
H ₄ PO ₄	<i>Phosporic Acid</i>
HCl	<i>Chloride Acid</i>
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
HE	Hematoksilin-Eosin
HL	<i>Hepatic Lipase</i>
I ₂	Iodine
ICAM-1	<i>Inter Cellular Adhesion Molecule-1</i>
IDL	<i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
IL-1	<i>Interleukin-1</i>
IL-2	<i>Interleukin-2</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
IL-9	<i>Interleukin-9</i>
L/l	<i>Liter</i>
LCAT	<i>Lesitin-kolesterol asil transferase</i>
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LPL	enzim lipoprotein lipase
m ²	Meter persegi
MgCl ₂	<i>Magnesium Chloride</i>
mL / ml	Milliliter
Mg	Miligram

mmol	Milimol
N ₂	Nitrogen
NaCl	<i>Natrium Chloride</i>
NADPH	<i>nicotinamide adenin dinucleotide phospat hydrolase</i>
NF-kB	<i>Nuklear Factor Kappa Beta</i>
nm	Nanometer
O ₂ ⁻	Anion superoksitatif
O ₂	Oksigen
PFA	<i>Paraformaldehyde</i>
PBS-azida	<i>Phosphate Buffer Saline-Azida</i>
pH	<i>Potential of hydrogen</i>
pKa	ukuran kemampuan suatu senyawa untuk melepas proton ke dalam pelarut, dalam kondisi setimbang
PT	Perusahaan Terbuka
PUFA	<i>Poly-unsaturated fatty acid</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	<i>superoksida dismutase</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrotic Factor Alpha</i>
VCAM-1	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
ZnCl ₂	<i>Zinc Chloride</i>



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kolesterol adalah suatu zat lemak yang beredar di dalam darah, berwarna kekuningan dan berupa seperti lilin, yang diproduksi oleh hati dan sangat diperlukan oleh tubuh. Kolesterol termasuk golongan lemak yang tidak terhidrolisis dan merupakan sterol utama dalam jaringan tubuh manusia. Kolesterol mempunyai makna penting karena merupakan unsur utama dalam lipoprotein plasma dan membran plasma serta menjadi prekursor sejumlah besar senyawa steroid (Usman, 2014).

Kolesterol yang diproduksi oleh tubuh terdiri dari 2 jenis, yaitu kolesterol *High Density Lipoprotein* yang (HDL) biasa disebut dengan kolesterol baik dan kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) disebut dengan kolesterol jahat. Kolesterol LDL akan menumpuk pada dinding pembuluh darah arteri koroner yang menyebabkan penyumbatan, karena itu LDL disebut sebagai kolesterol jahat (Kowalski, 2010). Kelebihan kadar kolesterol dalam darah disebut dengan hiperkolesterolemia (Mayes, 2003).

Hiperkolesterolemia adalah peningkatan kadar kolesterol dalam darah. Hiperkolesterolemia saat ini sering terjadi pada hewan, hal ini disebabkan oleh pola pemberian pakan terhadap hewan kesayangan dengan pakan berlemak dan kadar kolesterol tinggi yang melebihi kebutuhan tubuh sehari-hari (Lichtenstein, 2006). Pada hewan, kejadian penyakit ini sekitar 13% pada

kucing (Xenoulis and Steiner, 2010). Sebuah studi terbaru menunjukkan bahwa hiperkolesterolemia pada anjing di Amerika Serikat ditemukan pada 32,8% dari 192 ekor yang diselidiki (Arauna dkk, 2013). Hiperkolesterolemia berhubungan dengan beberapa faktor salah satunya adalah diet tinggi lemak jenuh. Hiperkolesterolemia merupakan suatu kondisi dimana kolesterol dalam darah meningkat melebihi ambang normal yang ditandai dengan meningkatnya kadar kolesterol total terutama *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan diikuti dengan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) darah (Hendarsyah, 2014).

Hiperkolesterolemia mengakibatkan kadar trigliserida dalam darah meningkat akibat penimbunan *visceral fat* dan penurunan aktivitas enzim Lipoprotein Lipase (LPL) karena adanya radikal bebas. Aktivitas enzim LPL juga berpengaruh terhadap metabolisme lemak, dan apabila aktivitas enzim LPL rendah maka akan meningkatkan katabolisme dari HDL. Penurunan aktivitas enzim LPL juga mengakibatkan perubahan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) menjadi *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL) terganggu, sehingga VLDL akan mengendap di dalam hati dan menyebabkan perlemakan di hati berupa infiltrasi lemak pada sinusoid dan sekitar sel-sel hepatosit (Arauna dkk., 2013).

Hiperkolesterolemia saat ini sering terjadi pada hewan, hal ini disebabkan oleh pola pemberian pakan terhadap hewan kesayangan dengan pakan berlemak dan kadar kolesterol tinggi yang melebihi kebutuhan tubuh

sehari-hari. Hewan kesayangan sering menderita hiperkolesterolemia akibat pola pemberian pakan berkadar kolesterol tinggi (Lichtenstein, 2006).

Tingginya kadar kolesterol biasanya diikuti dengan tingginya kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL), yang mudah teroksidasi. Hasil samping oksidasi LDL adalah radikal bebas. Pada kondisi hiperkolesterolemia terbentuk radikal bebas yang berlebihan akibat meningkatnya proses peroksidasi lipid. Hiperkolesterolemia juga menyebabkan peningkatan sintesis garam empedu. Hal ini memicu tingginya pembentukan anion superoksidatif (O_2^-) dalam tubuh (Price dan Wilson, 2006). Anion superoksidatif (O_2^-) merupakan radikal bebas yang mampu beredar keseluruhan tubuh salah satunya pada organ duodenum. Tingginya radikal bebas yang beredar menyebabkan terjadinya stress oksidatif pada jaringan duodenum dan akan berikatan dengan membran sel duodenum yang mengandung *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) sehingga timbul lipid peroksidase (Droge, 2002).

Konsumsi diet tinggi kolesterol berperan penting dalam memicu terjadinya hiperkolesterol dan reaksi inflamasi pada organ pencernaan yakni duodenum. Duodenum memiliki ductus spingkter oddi yang merupakan muara dari ductus hepaticus yang berisikan asam empedu, enzim pencernaan, dan radikal bebas. Kondisi Hiperkolesterolemia menyebabkan peningkatan sintesa asam empedu dan aktivitas sitokrom P-450 sehingga menghasilkan radikal bebas dalam jumlah besar (Wresdiyati et al.,2006). Hal ini beresiko terjadinya reaksi inflamasi pada organ duodenum akibat dari proses oksidatif

oleh radikal bebas yang dipicu akibat peningkatan metabolisme kolesterol pada usus (Xenoulis *and* Steiner, 2010).

Hiperkolesterolemia dapat berkembang menjadi aterosklerosis, berupa penyempitan pembuluh darah, terutama di jantung, otak, ginjal, dan mata (Vodjani, 2003). Aterosklerosis dapat terjadi diawali dengan oksidasi kolesterol-LDL pada lapisan subendotel arteri, kemudian dilanjutkan dengan berbagai reaksi inflamasi hingga pembentukan lesi (Corwin, 2009). Selain aterosklerosis, hiperkolesterolemia dapat meningkatkan resiko terkena penyakit jantung koroner, pankreatitis (peradangan pada organ pankreas), diabetes melitus, gangguan tiroid, penyakit hepar dan penyakit ginjal. Faktor penyebab hiperkolesterolemia antara lain, faktor keturunan, konsumsi makanan tinggi lemak, kurang *exercise* dan kebiasaan menghirup polusi (Setiati, 2009).

Pengobatan hiperkolesterolemia yang paling sering dilakukan ialah mengatur diet yang mempertahankan berat badan normal dan mengurangi kadar lipid plasma (Suyatna, 2007). Pada banyak kasus, diet saja tidak akan menurunkan kadar lipid darah. Karena 75 - 85% kolesterol serum berasal dari endogenous, perubahan diet saja akan menurunkan kolesterol total sebanyak 10 - 30% (Mahley dan Bersot, 2008). Penggunaan obat hiperkolesterolemia atau obat sintetis jangka panjang akan menimbulkan efek samping berupa nyeri sendi dan kerusakan hati (Nafrialdi, 2007). Maka perlu pengobatan alternatif, salah satunya dengan arang aktif yang diharapkan mampu

menyerap kolesterol berlebih dalam usus sebelum kolesterol masuk ke peredaran darah.

Karbon berpori atau yang lebih dikenal dengan nama arang aktif digunakan secara luas sebagai adsorben dalam proses industri untuk menghilangkan sejumlah pengotor, terutama yang berhubungan dengan zat warna, pengolahan limbah, pemurnian air, obat-obatan dan lain-lain. Arang selain digunakan sebagai bahan bakar, juga dapat digunakan sebagai adsorben (penyerap). Daya serap ditentukan oleh luas permukaan partikel dan kemampuan ini dapat menjadi lebih tinggi jika terhadap arang tersebut dilakukan aktivasi dengan aktif faktor bahan-bahan kimia ataupun dengan pemanasan pada temperatur tinggi, dengan demikian arang akan mengalami perubahan sifat-sifat fisika dan kimia. Arang yang demikian disebut sebagai arang aktif. Arang aktif merupakan suatu padatan berpori, yang sebagian besar terdiri dari unsur karbon bebas dan masing-masing berikatan secara kovalen sehingga permukaan arang aktif bersifat non polar. Struktur pori berhubungan dengan luas permukaan juga menentukan kemampuannya dalam menyerap bahan organik, logam berat, dan gas (Napitupulu, 2009).

Arang aktif dapat menyerap lebih banyak racun daripada bahan lain. Arang aktif dapat menyerap racun dari tumbuhan (*strychnine*), berbagai macam obat-obatan (termasuk kokain, *iodine*, *penicilline*, aspirin, *phenobarbital*), dan bahan-bahan anorganik (klorin, timah dan merkuri). Arang aktif dapat menyerap ribuan kali beratnya sendiri zat-zat berupa gas,

logam berat, racun-racun dan bahan-bahan kimia lain, sehingga merupakan bahan yang efektif dan tidak berbahaya (Manullang, 2014).

Arang aktif memiliki kemampuan dalam penyerapan kolesterol berlebihan dalam duodenum yang merupakan tempat penyerapan lemak. Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, penelitian ini dilakukan untuk melihat kemampuan arang aktif dalam mencegah hiperkolesterolemia dengan mengukur kadar LDL dan melihat gambaran histopatologi duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia, sehingga diharapkan dapat digunakan sebagai alternatif pencegahan pada hiperkolesterolemia pada hewan kesayangan.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah arang aktif dapat mencegah hiperkolesterolemia pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet pakan tinggi kolesterol dilihat berdasarkan pencegahan peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) ?
2. Apakah arang aktif dapat mencegah hiperkolesterolemia pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet pakan tinggi kolesterol dilihat berdasarkan pencegahan kerusakan gambaran histopatologi duodenum?

1.3. Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan model tikus yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar, umur 10-12 minggu dengan berat badan 100-150 gram yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.
2. Pembuatan hewan model hiperkolesterolemia dilakukan dengan pemberian diet hiperkolesterol komposisi asam kholat 0,1%, minyak babi 10%, dan kuning telur puyuh rebus 5% selama 14 hari secara *force feeding* dengan sonde lambung (Larasathi, 2014).
3. Arang aktif diperoleh dari PT. Haycarb Palu Mitra.
4. Dosis Arang Aktif diberikan pada tikus 1 x sehari melalui oral, menggunakan sonde selama 14 hari dengan dosis plasebo 680 mg/ekor dan perlakuan 340 mg/ekor, 680 mg/ekor, 1020 mg/ekor.
5. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah kadar LDL pada darah tikus dan histopatologi organ duodenum dengan pewarnaan Hematosiklin Eosin.

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui potensi arang aktif sebagai pencegahan hiperkolesterolemia berdasarkan pencegahan peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui potensi arang aktif sebagai pencegahan hiperkolesterolemia berdasarkan pencegahan kerusakan gambaran histopatologi duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.5. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan oleh penulis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai kajian ilmiah pemanfaatan arang aktif untuk pencegahan hiperkolesterolemia akibat pemberian diet pakan tinggi kolesterol.
2. Penelitian ini dapat digunakan untuk mengetahui efek pemberian arang aktif dalam mencegah peningkatan kadar LDL serta terhadap profil histopatologi duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet pakan tinggi kolesterol.
3. Penelitian ini dapat digunakan sebagai literatur pemanfaatan arang aktif sebagai alternatif pencegahan hiperkolesterolemia dalam dunia kedokteran hewan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hiperkolesterolemia

2.1.1 Definisi Hiperkolesterolemia

Pada anjing yang sehat, nilai-nilai referensi untuk konsentrasi kolesterol plasma total adalah <7.8 mmol/L dan <1,7 mmol/L untuk konsentrasi total trigliserida plasma. Dalam fraksi lipoprotein, konsentrasi kolesterol yang ditemukan dalam literatur untuk anjing peliharaan sehat berbagai keturunan, yaitu <0,61 mmol/L untuk VLDL, 4.12 mmol/L untuk HDL, dan 2,25 mmol/L untuk LDL. Konsentrasi trigliserida yaitu <2.2 mmol/L untuk VLDL dan <1,06 mmol/L untuk LDL-HDL. Namun, nilai-nilai ini berasal dari anjing peliharaan dan anjing eksperimental secara umum memiliki nilai yang lebih rendah (Jeusette *et al.*, 2005). Anjing mengalami hiperkolesterolemia apabila melebihi nilai normal tersebut.

Tabel 2.1. Karakteristik Utama Lipoprotein Plasma pada Anjing dan Kucing

Lipoprotein	Species	Major lipids	Major apolipoproteins	Size (nm)	Density (g/mL)
Chylomicron	Dog, cat	Dietary triglycerides	B, C	75–1200	<0.960
VLDL	Dog, cat	Endogenous triglycerides	B, C, E	30–80	0.93–1.006
LDL	Dog, cat	Phospholipids, cholesteryl esters	B	18–25	1.019–1.087
HDL1	Dog	Phospholipids, cholesteryl esters	A, C, E	10–35	1.025–1.100
HDL2	Dog, cat	Phospholipids	A, C, E	9–12	1.063–1.100
HDL3	Dog, cat	Phospholipids	A, C	5–9	1.100–1.210

VLDL: very low-density lipoproteins, LDL: low-density lipoproteins, HDL: high-density lipoproteins.

(Xenoulis and Steiner, 2010)

Hiperkolesterolemia merupakan suatu keadaan dimana kadar kolesterol tinggi dalam darah. Keadaan ini bukanlah suatu penyakit tetapi gangguan metabolik yang bisa menyumbang dalam terjadinya berbagai penyakit terutama penyakit kardiovaskuler (Diyanti, 2015). Dalam keadaan normal hati melepaskan kolesterol ke darah sesuai kebutuhan. Tetapi bila diet mengandung terlampau banyak kolesterol atau lemak hewani jenuh maka kadar kolesterol darah akan meningkat. Hiperkolesterolemia adalah suatu kondisi dimana meningkatnya konsentrasi kolesterol dalam darah yang melebihi nilai normal (Siregar, 2015).

Hiperkolesterolemia dapat diklasifikasikan berdasarkan penyebabnya yaitu hiperkolesterolemia primer terutama disebabkan oleh faktor genetik, usia, jenis kelamin dan hiperkolesterolemia sekunder yang disebabkan oleh kebiasaan diet lemak jenuh, kurangnya aktivitas fisik, obesitas serta sindrom nefrotik (Usman, 2014). Hiperkolesterolemia dapat diklasifikasikan menjadi:

a. Hiperkolesterolemia Primer

Hiperkolesterolemia primer adalah gangguan lipid yang terbagi menjadi dua bagian, yaitu hiperkolesterol poligenik dan hiperkolesterol familial. Hiperkolesterol poligenik disebabkan oleh berkurangnya daya metabolisme kolesterol, dan meningkatnya penyerapan lemak. Keadaan ini merupakan penyebab hiperkolesterolemia tersering (>90%). Merupakan interaksi antara kelainan gen yang multipel, nutrisi, dan faktor lingkungan lainnya serta mempunyai lebih dari satu dasar metabolik. Hiperkolesterolemia biasanya ringan atau sedang dan tidak ada xantoma. Hiperkolesterolemia familial adalah meningkatnya kadar kolesterol yang sangat dominan (banyak) akibat

ketidakmampuan reseptor LDL. Hiperkolesterolemia ini terjadi akibat kelainan genetik atau mutasi gen pada tempat kerja reseptor LDL, sehingga menyebabkan pembentukan jumlah LDL yang tinggi atau berkurangnya kemampuan reseptor LDL (Siregar, 2015).

Hiperkolesterolemia primer adalah suatu penyakit hereditas yang menyebabkan seseorang mewarisi kelainan gen pembentuk reseptor lipoprotein berdensitas rendah pada permukaan membran sel tubuh. Bila reseptor ini tidak ada, hati tidak dapat mengabsorpsi lipoprotein berdensitas sedang atau lipoprotein berdensitas rendah. Tanpa adanya absorpsi tersebut, mesin kolesterol di sel hati menjadi tidak terkontrol dan terus membentuk kolesterol baru. Hati tidak lagi memberi respons terhadap inhibisi umpan balik dari jumlah kolesterol plasma yang terlalu besar. Akibatnya, jumlah lipoprotein berdensitas sangat rendah yang dilepaskan oleh hati ke dalam plasma menjadi sangat meningkat (Diyanti, 2015).

b. Hiperkolesterolemia Sekunder

Hiperkolesterolemia Sekunder terjadi akibat penderita mengidap suatu penyakit tertentu, seperti diabetes melitus, obesitas, sindroma nefrotik, stres, atau kurang gerak (olahraga) (Siregar, 2015). Hiperkolesterolemia sekunder diakibatkan oleh adanya gangguan sistemik (Diyanti, 2015).

2.1.2 Etiologi Hiperkolesterolemia

Kolesterol yang berada dalam zat makanan yang kita makan akan dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam darah yang berakibat hiperkolesterolemia (Hendarsyah, 2014). Hiperkolesterolemia dicirikan dengan peningkatan kadar LDL dan kolesterol total. Gangguan metabolisme ini penyebabnya 5% adalah

kasus familial/keturunan dan 95% tidak diketahui penyebabnya. Faktor resiko hiperkolesterolemia (Siregar, 2015):

- a. Stres juga memegang peranan nyata terutama pada orang dengan struktur kepribadian sangat bersemangat berlebihan, tidak sabaran, bekerja keras dan cepat. Mereka lebih besar resikonya mengidap penyakit jantung dan pembuluh dari pada orang yang lebih santai dan tidak tergesa-gesa.
- b. *Low-density lipoprotein* (LDL) tinggi (> 175 mg/dl) adalah faktor resiko terpenting, terlebih pula bila TG meningkat (> 310 mg/dl). *Low-density lipoprotein* (LDL) dapat diturunkan dengan penurunan berat badan dan diet mengurangi lemak jenuh dan kolesterol serta peningkatan asupan lemak tak jenuh, serat dan protein nabati.
- c. *High-density lipoprotein* (HDL) rendah (< 35 mg/dl) dapat disebabkan oleh merokok, obesitas dan kurang gerak badan, juga akibat obat-obat seperti diuretika dan β -blockers, hormon kelamin dan hormon adrenalin dan kortisol.

2.1.3 Metabolisme Kolesterol

Hampir seluruh kolesterol dan fosfolipid akan diabsorpsi di saluran gastrointestinal dan masuk ke dalam kilomikron yang dibentuk di dalam mukosa usus. Kilomikron sebagian besar dibentuk oleh trigliserida dengan sebagian lain dibentuk oleh fosfolipid (9%), kolesterol (3%), dan apoprotein B (1%). Setelah kilomikron mengeluarkan trigliseridanya di jaringan adiposa, kilomikron sisanya akan menyerahkan kolesterol ke hati. Kilomikron dan sisanya merupakan suatu sistem transpor untuk lipid eksogen dari makanan. Juga ada sistem endogen yang terdiri dari *very lowdensity lipoprotein* (VLDL), *high-density lipoprotein* (HDL),

low-density lipoprotein (LDL), dan *intermediate-density lipoprotein* (IDL), yang mengangkut trigliserida dan kolesterol ke seluruh tubuh. *Very lowdensity lipoprotein* (VLDL) terbentuk di hati dan mengangkut trigliserida yang terbentuk dari asam lemak dan karbohidrat di hati ke jaringan ekstra hati. Setelah sebagian besar trigliserida dikeluarkan oleh kerja lipoprotein lipase, VLDL ini menjadi IDL. IDL menyerahkan fosfolipid dan melalui kerja enzim plasma lesitin-kolesterol asiltransferase, mengambil ester kolesterol yang terbentuk dari kolesterol di HDL. Sebagian IDL diserap oleh hati. *Intermediate-density lipoprotein* (IDL) sisanya kemudian melepaskan lebih banyak trigliserida dan protein, kemungkinan di sinusoid hati, dan menjadi LDL. Selama perubahan ini sistem endogen kehilangan APO E, tetapi APO B-100 tetap ada. *Low-density lipoprotein* (LDL) menyediakan kolesterol bagi jaringan. Di hati dan kebanyakan jaringan ekstra hati, LDL diambil melalui endositosis dengan perantara reseptor yang mengenali komponen APO-100 dari LDL tersebut (Diyanti, 2015).

2.1.4 Patomekanisme Hiperkolesterolemia

Lemak yang berasal dari makanan mengalami proses pencernaan di dalam usus menjadi asam lemak bebas, trigliserida, fosfolipid, dan kolesterol. Lipoprotein mengangkut lipid dari usus sebagai kilomikron. Kilomikron melepaskan trigliserida dalam jaringan adiposa, sedangkan sisa kilomikron lainnya akan membawa kolesterol ke hepar. Selain itu hepar juga membentuk kolesterol, dimana sebagian kolesterol hepar diekskresikan dalam empedu, baik dalam bentuk bebas maupun sebagai asam empedu. Sisa kolesterol akan menjadi satu dengan VLDL. Trigliserida di VLDL dalam sirkulasi akan dihidrolisis oleh

enzim *Lipoprotein Lipase* (LPL) sehingga VLDL berubah menjadi IDL. *Intermediate-density lipoprotein* (IDL) sebagian kembali ke hepar dan sebagian lainnya akan dihidrolisis kembali oleh LPL sehingga menjadi LDL. *Low-density lipoprotein* (LDL) akan membawa kolesterol ke seluruh jaringan perifer sesuai dengan kebutuhan. Sisa kolesterol di perifer akan berikatan dengan HDL dan dibawa kembali ke hepar untuk dikonversi menjadi asam empedu (Pangestika, 2014).

Radikal bebas adalah suatu molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul lain dan menimbulkan reaksi yang destruktif. Hubungan antara kolesterol dengan radikal bebas adalah keterkaitan keduanya dalam proses sintesis asam empedu. Tubuh berusaha menyeimbangkan kadar kolesterol plasma dengan jalan mengubah kolesterol menjadi asam empedu. Reaksi 7α -hidroksilasi merupakan tahap pertama pada biosintesis asam empedu dan juga membatasi laju reaksi hidroksilase, suatu enzim mikrosomal yang memerlukan oksigen, NADPH, dan sitokrom P-450. Reaksi hidroksilasi mengakibatkan oksigen mudah tereduksi menjadi radikal bebas anion superoksida (O_2^-). Efek kimiawi O_2^- dalam jaringan akan menimbulkan reaksi rantai radikal bebas. O_2^- yang terikat pada sitokrom P-450 merupakan intermediet dalam pengaktifan oksigen dalam berbagai reaksi hidroksilasi. Peningkatan sintesis asam empedu akan meningkatkan aktivitas sitokrom P-450 dan semakin banyak oksigen yang diperlukan. Peningkatan oksigen akan menghasilkan radikal bebas sebagai hasil sampingan sehingga radikal bebas terbentuk secara berlebihan pada kondisi hiperkolesterolemia.

Produksi radikal bebas berlebihan akan mengakibatkan enzim antioksidan didalam tubuh khususnya organ hati seperti *superoksida dismutase* (SOD) tidak mampu mengatasinya dan menimbulkan kondisi stres oksidatif. Stres oksidatif adalah suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antar radikal bebas dengan antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas yang terbentuk sebagian besar termasuk ke dalam kelompok *reactive oxygen species* (ROS). Beberapa ROS yang terdapat di dalam tubuh adalah *radical superoxide* ($O_2^{\bullet-}$), *hydroxyl radicals* (OH^{\bullet}), dan *hydrogen peroxide* (H_2O_2) (Larasathi, 2014).

Diet hiperkolesterol menyebabkan hiperkolesterolemia yang dapat mengganggu fungsi endotel pembuluh darah akibat LDL menumpuk di dinding vaskuler. Infiltrasi LDL pada pembuluh darah dan tingginya *Reactive Oxygen Species* (ROS) menyebabkan terbentuknya LDL teroksidasi (LDL-oks). Faktor transkripsi *Nuklear Factor Kappa Beta* (NF- κ B) yang akan menginduksi terbentuknya molekul-molekul adhesi (*Inter Cellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1), *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1) dan *Selectin*), dan sitokin-sitokin proinflamasi (IL-1, IL-2, IL-6, IL-9 dan TNF- α) diakifkan oleh LDL-oks. Monosit semula berada di sepanjang lumen pembuluh darah dan akan mengikat molekul adhesi, kemudian penetrasi ke lapisan lebih dalam di bawah intima dan berdeferensiasi menjadi makrofag. Makrofag akan memfagosit LDL-oks yang masuk ke dalam pembuluh darah. Aktivasi makrofag juga mempengaruhi pelepasan sitokin proinflamasi TNF- α . *Tumor Necrosis Factor-Alpha* akan menyebabkan reaksi inflamasi sehingga hati mengalami kerusakan yang semakin parah (Pangestika, 2014).

2.1.5 Pencegahan Hiperkolesterolemia

Pencegahan untuk penyakit hiperkolesterolemia sebagai berikut (Siregar, 2015):

- a. Hindari asap rokok.
- b. Tidak meminum alkohol.
- c. Mengatur pola makan seimbang dan rendah lemak.
- d. Konsumsi makanan berserat, seperti sayur-sayuran dan buah - buahan.
- e. Lakukan olahraga yang memadai sesuai dengan umur. Usahakan untuk berolahraga setiap hari minimal 30 menit.
- f. Menjaga berat badan ideal yang sesuai dengan tinggi badan.
- g. Hindari stres

2.1.6 Pengobatan Hiperkolesterolemia

Prinsip utama pengobatan hiperkolesterolemia ialah mengatur diet yang mempertahankan berat badan normal dan mengurangi kadar lipid plasma. Langkah pengaturan diet selalu dilakukan agar dapat menghindari perlunya penggunaan obat. Pada banyak kasus, diet saja tidak akan menurunkan kadar lipid darah. Karena 75 - 85% kolesterol serum berasal dari endogenous, perubahan diet saja akan menurunkan kolesterol total sebanyak 10 - 30%. Jika hiperlipidemia tidak dapat dikendalikan dengan diet (menghindari lemak jenuh dari sumber hewani) dan olahraga, biasanya diberikan obat-obat antihiperkolesterolemia (Siregar, 2015).

2.2 Arang Aktif

2.2.1 Definisi Arang Aktif

Arang merupakan suatu padatan berpori yang mengandung 85-95% karbon, dihasilkan dari bahan-bahan yang mengandung karbon dengan pemanasan pada suhu tinggi. Ketika pemanasan berlangsung, diusahakan agar tidak terjadi kebocoran udara di dalam ruangan pemanasan sehingga bahan yang mengandung karbon tersebut hanya terkarbonisasi dan tidak teroksidasi. Arang selain digunakan sebagai bahan bakar, juga dapat digunakan sebagai adsorben (penyerap). Daya serap ditentukan oleh luas permukaan partikel dan kemampuan ini dapat menjadi lebih tinggi jika terhadap arang tersebut dilakukan aktivasi dengan aktif faktor bahan-bahan kimia ataupun dengan pemanasan pada temperatur tinggi. Dengan demikian, arang akan mengalami perubahan sifat-sifat fisika dan kimia. Arang yang demikian disebut sebagai arang aktif (Napitupulu, 2009). Karbon aktif merupakan salah satu adsorben yang paling sering digunakan pada proses adsorpsi. Hal ini disebabkan karena karbon aktif mempunyai daya adsorpsi dan luas permukaan yang lebih baik dibandingkan adsorben lainnya. Karbon aktif yang baik haruslah memiliki luas area permukaan yang besar sehingga daya adsorpsinya juga akan besar (Pujiyanto, 2010). Arang aktif dapat dibedakan dengan arang berdasarkan sifat pada permukaannya. Permukaan arang masih ditutupi oleh deposit hidrokarbon yang menghambat keaktifannya, sedangkan permukaan arang aktif relatif telah bebas dari deposit, permukaannya luas dan pori-porinya telah terbuka, sehingga memiliki daya serap tinggi. Untuk

meningkatkan daya serap arang, maka bahan tersebut dapat diubah menjadi arang aktif melalui proses aktivasi (Lempang dan Tikupadang, 2014).

Kapasitas adsorpsi arang aktif bergantung pada karakteristik arang aktifnya, seperti: tekstur (luas permukaan, distribusi ukuran pori), kimia permukaan (gugus fungsi pada permukaan), dan kadar abu. Selain itu juga bergantung pada karakteristik adsorpsi: bobot molekul, polaritas, pKa, ukuran molekul, dan gugus fungsi. Kondisi larutan juga berpengaruh, seperti: pH, konsentrasi, dan adanya kemungkinan adsorpsi terhadap zat lain (Evika, 2011).

2.2.2 Karakteristik Arang Aktif

Karbon aktif adalah senyawa karbon yang telah ditingkatkan daya adsorpsinya dengan proses aktivasi. Pada proses aktivasi ini terjadi penghilangan hidrogen, gas-gas dan air dari permukaan karbon sehingga terjadi perubahan fisik pada permukaannya. Aktivasi ini terjadi karena terbentuknya gugus aktif akibat adanya interaksi radikal bebas pada permukaan karbon dengan atom-atom seperti oksigen dan nitrogen. Pada proses aktivasi juga terbentuk pori-pori baru karena adanya pengikisan atom karbon melalui oksidasi ataupun pemanasan. Karbon aktif terdiri dari 87 – 97 % karbon dan sisanya berupa hidrogen, oksigen, sulfur dan nitrogen serta senyawa-senyawa lain yang terbentuk dari proses pembuatan. Volume pori-pori karbon aktif biasanya lebih besar dari 0,2 cm³/gram dan bahkan terkadang melebihi 1 cm³/gram. Luas permukaan internal karbon aktif yang telah diteliti umumnya lebih besar dari 500 m²/gram dan bisa mencapai 1908 m²/gram (Pujiyanto, 2010). Luas permukaan arang aktif berkisar antara 300-3500 m²/gram dan ini berhubungan dengan struktur pori internal yang menyebabkan

arang aktif mempunyai sifat sebagai adsorben. Arang aktif dapat mengadsorpsi gas dan senyawa-senyawa kimia tertentu atau sifat adsorpsinya selektif, tergantung pada besar atau volume pori-pori dan luas permukaan. Daya serap arang aktif sangat besar, yaitu 25-100% terhadap berat arang aktif (Napitupulu, 2009).

Daya serap arang aktif merupakan suatu akumulasi atau komponen terkonsentrasi di permukaan atau antar muka dalam dua fasa. Bila ke dua fasa saling berinteraksi, maka akan terbentuk suatu fasa baru yang berbeda dengan masing-masing fasa sebelumnya. Hal ini disebabkan karena terdapat gaya tarik-menarik antar molekul, ion atau atom dalam ke dua fasa tersebut. Gaya tarik-menarik ini dikenal sebagai gaya *Van der Waals*. Pada kondisi tertentu, atom, ion atau molekul dalam daerah antar muka mengalami ketidakseimbangan gaya, sehingga mampu menarik molekul lain sampai keseimbangan gaya tercapai (Manocha, 2003).

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi daya serap arang aktif (Agustina, 2004), yaitu sifat arang aktif, sifat komponen yang diserap, sifat larutan dan sistem kontak. Daya serap arang aktif terhadap komponen-komponen yang berada dalam larutan atau gas disebabkan oleh kondisi permukaan dan struktur pori (Guo *et al.*, 2007).

Dua jenis perbedaan yang dipertimbangkan dalam pembuatan dan penggunaan karbon aktif :

1. Fase liquid yaitu karbon-karbon aktif umumnya ringan dan halus berbentuk seperti serbuk.

2. Fase atau Penyerap uap yaitu karbon-karbon aktifnya keras, berbentuk butiran atau pil.

Menurut Standard Industri Indonesia (SII No. 0258-79) yang dikeluarkan departemen perindustrian, persyaratan arang aktif adalah sebagai berikut (Kurniati, 2008):

- a. Bagian yang hilang pada suhu 950°C maksimum 15%
- b. Air maksimum 10%
- c. Abu maksimum 2,5%
- d. Bagian yang tidak diperarang (tidak terbakar menjadi arang) tidak ada
- e. Daya serap terhadap larutan I₂ minimum 20%

Berdasarkan ukuran pori-porinya karbon aktif dikelompokkan menjadi dua jenis yaitu (Kurniati, 2008):

1. Mikropori, dengan ukuran pori-pori 10-1000 Angstrom.
2. Makropori, dengan ukuran pori-pori lebih besar dari 1000 Angstrom.

2.2.3 Fungsi Arang Aktif

Arang aktif dibagi atas 2 tipe, yaitu arang aktif sebagai pemucat dan sebagai penyerap. Arang aktif sebagai pemucat, biasanya berbentuk powder yang sangat halus, diameter pori mencapai 1000 Å, digunakan dalam fase cair, berfungsi untuk memindahkan zat-zat pengganggu yang menyebabkan warna dan bau yang tidak diharapkan, membebaskan pelarut dari zat-zat pengganggu dan kegunaan lain yaitu pada industri kimia dan industri baju. Diperoleh dari serbuk-serbuk gergaji, ampas pembuatan kertas atau dari bahan baku yang mempunyai densitas kecil dan mempunyai struktur yang lemah. Arang aktif sebagai penyerap uap, biasanya

berbentuk granular atau pellet yang sangat keras diameter pori berkisar antara 10-200 Å, tipe pori lebih halus, digunakan dalam fase gas, berfungsi untuk memperoleh kembali pelarut, katalis, pemisahan dan pemurnian gas. Diperoleh dari tempurung kelapa, tulang, batu bata atau bahan baku yang mempunyai struktur keras (Napitupulu, 2009).

2.2.4 Metode Aktifasi Arang Aktif

Aktifasi adalah suatu perlakuan terhadap arang yang bertujuan untuk memperbesar pori yaitu dengan cara memecahkan ikatan hidrokarbon atau mengoksidasi molekul-molekul permukaan sehingga arang mengalami perubahan sifat, baik fisika maupun kimia, yaitu luas permukaan bertambah besar dan berpengaruh terhadap daya adsorpsi (Evika, 2011).

Metoda aktifasi yang umum digunakan dalam pembuatan arang aktif adalah:

- a. Aktifasi Kimia. Adalah proses pemutusan rantai karbon dari senyawa organik dengan pemakaian bahan-bahan kimia. Untuk aktifasi kimia, aktifator yang digunakan adalah bahan-bahan kimia seperti: hidroksida, logam alkali, garam-garam karbonat, klorida, sulfat, fosfat dari logam alkali tanah dan khususnya $ZnCl_2$, asam-asam anorganik seperti H_2SO_4 dan H_4PO_4 (Evika, 2011).
- b. Aktifasi Fisika. Proses pemutusan rantai karbon dari senyawa organik dengan bantuan panas, uap dan CO_2 . Aktivasi arang secara fisika menggunakan oksidator lemah, misal uap air, gas CO_2 , N_2 , O_2 dan gas pengoksidasi lain. Proses ini tidak terjadi oksidasi terhadap atom-atom karbon penyusun arang, akan tetapi oksidator tersebut hanya

mengoksidasi komponen yang menutupi permukaan pori arang. Prinsip aktivasi ini dimulai dengan mengalir gas-gas ringan, seperti uap air, CO₂, atau udara ke dalam kaleng yang berisi arang dan dipanaskan pada suhu 800-1000°C. Pada suhu di bawah 800°C, proses aktivasi dengan uap air atau gas CO₂ berlangsung sangat lambat, sedangkan pada suhu di atas 1000 °C, akan menyebabkan kerusakan struktur kisi-kisi heksagonal arang (Manocha,2003).

2.2.5 Manfaat Arang Aktif untuk Kesehatan

Didalam bidang kesehatan, arang aktif digunakan dalam penanganan keracunan eksternal dan terapi diare sekretorik. Pada keracunan secara oral, untuk menghindari penyerapan sejumlah racun yang masih ada dalam saluran cerna dapat dilakukan dengan pemberian adsorben. Adsorben yang paling berkasiat dan kurang berbahaya sehingga paling banyak digunakan adalah arang aktif. Toksin *Cholera*, *Salmonella sp* dan *Shigella sp* serta galur *Coli* patogen menyebabkan peningkatan sekresi elektrolit dan air ke dalam lumen usus (diare sekretorik). Terapi diare sekretorik dapat dilakukan dengan penggunaan adsorben (misal arang aktif) (Lempang dan Tikupadang, 2014).

2.3 Hewan Coba

Hewan percobaan adalah hewan yang sengaja dipelihara untuk digunakan sebagai hewan model di dalam berbagai bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorik. Salah satu hewan percobaan yang memiliki sifat fisiologis mirip dengan manusia adalah tikus. Tikus memiliki dua spesies, yaitu tikus hitam (*Rattus rattus*) dan tikus putih (*Rattus norvegicus*). Spesies yang

paling sering digunakan sebagai hewan model pada penelitian mengenai manusia maupun mamalia lain adalah *Rattus norvegicus*. *Rattus norvegicus* adalah hewan percobaan yang paling banyak digunakan dalam penelitian yang berkaitan dengan pencernaan (Larasathi, 2014). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dipilih sebagai hewan model karena tikus memiliki fisiologis dan respon endokrin yang mirip dengan manusia. Tikus putih tergolong sebagai hewan nocturnal yang termasuk cerdas dan tahan terhadap infeksi (Azhar, 2015). Klasifikasi tikus *Rattus norvegicus* sebagai berikut (Pangestika, 2014):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Class	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Sub Ordo	: Sciurognathi
Familia	: Muridae
Sub Familia	: Muribae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) memiliki warna umum coklat atau abu-abu kehitaman dengan rambut tersebar, berwarna abu-abu pucat atau coklat keabu-abuan, abu-abu putih, putih hitam atau dua warna dengan ciri bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit, telinga tebal dan pendek dengan rambut halus. Tikus ini memiliki mata yang berwarna merah..(Sirois, 2005).**(Gambar 2.1)**



Gambar 2.1 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (Alexandru, 2011)

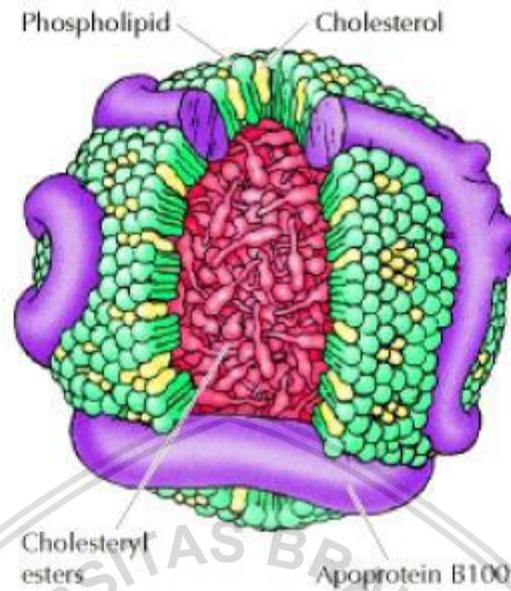
Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar memiliki berat badan mencapai 35-40 g pada umur 4 minggu dan setelah dewasa rata-rata 200-250 g. Tikus jantan umur 12 minggu memiliki berat badan hingga 240 g. Panjang tubuh tikus putih ini mencapai 40 cm bila diukur dari hidung sampai ujung ekor. Panjang ekor dapat mencapai 20,5 cm.

Tikus yang digunakan sebagai hewan model hiperkolesterolemia adalah tikus jantan memiliki kadar hormon estrogen yang sedikit, sehingga tidak akan mempengaruhi kadar kolesterol dalam darah. Tikus jantan juga memiliki kadar kolesterol yang tidak dipengaruhi variasi hormon. Tikus jantan yang diinduksi hiperkolesterolemia selama 14 hari akan menyebabkan metabolisme kolesterol dalam tubuh terganggu, sehingga merangsang peningkatan kadar trigliserida dan kolesterol yang tinggi yang akan mengakibatkan hiperkolesterolemia. Tikus memiliki kadar kolesterol total normal dengan nilai 40-130 mg/dl, total HDL (*High Density Lipoprotein*) ≥ 35 mg/dl, dan total LDL (*Low Density Lipoprotein*) 7-27,2 mg/dl (Azhar, 2015).

Preparasi hewan coba hiperkolesterolemia pada *Rattus norvegicus* dilakukan dengan pemberian diet hiperkolesterol. Diet hiperkolesterol merupakan komposisi pakan yang terdiri dari asam khota 0,1%, minyak babi 10%, dan kuning telur puyuh rebus segar 5%. Pakan yang mengandung banyak kolesterol akan dimetabolisme dalam tubuh tikus. Lipid dihidrolisis menjadi kolesterol, asam lemak, fosfolipid, dan trigliserida. Usus akan mensintesis kilomikron untuk mengalirkan kolesterol dan masuk ke dalam hati. Hati akan mensintesis LDL untuk mengalirkan kolesterol ke seluruh tubuh. Pemberian induksi hiperkolesterol pada tikus selama 14 hari akan menyebabkan terganggunya metabolisme kolesterol di dalam tubuh karena kolesterol menumpuk di hati (Larasathi, 2014).

2.4 Kadar Low Density Lipoprotein (LDL) Terhadap Hiperkolesterolemia

LDL merupakan senyawa lipoprotein berat jenis rendah (Heslet, 1996). LDL mempunyai densitas yaitu 1.019-1.063 g/ml. LDL mempunyai diameter antara 20 – 25 mikron (Murray dkk, 2003). Lipoprotein inidisusun oleh inti berupa 1500 molekul kolesterol yang dibungkus oleh lapisan fosfolipid dan molekul kolesterol tidak teresterifikasi (**Gambar 2.2**). Bagian hidrofilik molekul terletak di sebelah luar, sehingga memungkinkan LDL larut dalam darah atau cairan ekstraseluler. Protein berukuran besar yang disebut apoprotein B-100 mengenal dan mengikat reseptor LDL yang mempunyai peranan penting dalam pengaturan metabolisme kolesterol. Protein utama pembentuk LDL adalah Apo B (apolipoprotein-B). Kandungan lemak jenuh tinggi membuat LDL mengambang di dalam darah. LDL dapat menyebabkan penempelan kolesterol di dinding pembuluh darah (Brown dan Goldstein, 1994).



Gambar 2.2 Animasi Struktur LDL

Sumber: Alwiyah, 2011

Trigliserida dan kolesterol disintesis di hati dan disekresi ke dalam sirkulasi sebagai lipoprotein VLDL dengan apolipoprotein B-100. Dalam sirkulasi, trigliserida di VLDL mengalami hidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase (LPL) berubah menjadi IDL yang mengalami hidrolisis dan berubah menjadi LDL. Dalam sirkulasi trigliserida yang banyak di VLDL bertukar dengan kolesterol ester dari LDL menghasilkan LDL yang kaya trigliserida tetapi kurang kolesterol ester. Trigliserida di dalam LDL akan dihidrolisis oleh enzim Hepatic Lipase (HL) menghasilkan LDL yang kecil tetapi padat, yang dikenal dengan *small dense* LDL (Adam, 2005).

Suryaatmadja dan Silman (2006) mengatakan bahwa LDL berfungsi mengirimkan kolesterol ke jaringan ekstra-hepatik, seperti sel korteks adrenal, ginjal, otot, dan limfosit. Sel tersebut mempunyai reseptor LDL di

permukaannya. LDL melepaskan kolesterol di dalam sel untuk pembentukan hormon steroid dan sintesa dinding sel. Sel fagosit dari sistem retikuloendotel menangkap dan memecah LDL. Bila sel-sel mati maka kolesterol terlepas dan diikat oleh HDL. Enzim Lecithin Cholesterol Acyl Transferase (LCAT) menyebabkan kolesterol berikatan dengan asam lemak, dikembalikan ke VLDL dan LDL. Sebagian diangkut ke hati dan diekskresi ke empedu. LDL kaya akan kolesterol. Partikel ini mengandung 10 % trigliserida, 40% kolesterol dan ester kolesterol, 30 % fosfolipid dan 20 % protein (Murray dkk, 2003). LDL membawa lemak dan mengandung kolesterol yang sangat tinggi, dibuat dari lemak endogenus di hati. Kira-kira 50% LDL dimetabolisme oleh jaringan perifer, dan 50% sisanya diambil hepar (Hanafi, 2007). LDL merupakan kolesterol jahat karena memiliki sifat aterogenik (mudah melekat pada dinding sebelah dalam pembuluh darah dan mengurangi pembentukan reseptor LDL). Hal ini akan menyebabkan terjadinya kenaikan kadar kolesterol-LDL. Kelebihan kolesterol dalam pembuluh darah akan dikembalikan oleh HDL ke hati dan mengeluarkannya bersama empedu (Heslet, 1996).

LDL berfungsi membawa kolesterol dan fosfolipid ke berbagai jaringan untuk sintesis membran sel (Murray dkk, 2003). LDL ini diperlukan tubuh untuk mengangkut kolesterol dari hati ke seluruh jaringan tubuh. LDL berinteraksi dengan reseptor pada membran sel membentuk kompleks LDL-reseptor. Kompleks LDL-reseptor masuk ke dalam sel melalui proses yang khas, yaitu dengan pengangkutan aktif atau dengan endositosis (Heslet, 1996). Kolesterol yang berasal dari LDL akan dimanfaatkan oleh jaringan. Bisa dipakai untuk

membuat atau menyusun membran, mensintesis steroid hormon dan apabila berlebihan dapat menyebabkan penyakit aterosklerosis. Reseptor spesifik untuk LDL yang berperan penting dalam pengaturan metabolisme kolesterol, mengambil dan mendegradasi LDL untuk diubah menjadi kolesterol, sehingga secara efektif dapat menurunkan kadar LDL serum. Namun, respon ini tergantung pada jumlah reseptor LDL dan kebutuhan terhadap kolesterol. Terjadinya penurunan jumlah reseptor dan penurunan laju penghilangan IDL dalam sirkulasi darah mengakibatkan konsentrasi LDL plasma meningkat, sehingga akan mengakibatkan kondisi hiperkolesterolemia (Hanafi, 2007).

2.5 Histopatologi Duodenum

Fungsi utama dari usus halus adalah digesti enzimatik dan mengabsorpsi nutrisi. Usus halus memiliki epitel khusus yang mempunyai daerah permukaan yang luas. Struktur seperti vili pada mukosa dapat mengoptimalkan absorpsi. Vili ditutupi oleh sel absorptif (enterosit) yang tersusun erat, masing-masing memiliki mikrovili pada permukaan lumen sepanjang membran plasma. Keberadaan mikrovili akan meningkatkan luas permukaan (Samuelson, 2007).

Panjang rata-rata duodenum, jejunum, dan ileum pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa adalah 10 cm, 100 cm, dan 3 cm. Jumlah vili pada usus menurun seiring dengan penambahan umur, terutama pada umur 21-35 hari. Ukuran vili juga mengalami penurunan dari duodenum ke ileum (Sharp and Villano, 2013).

Bagian yang unik dari usus tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah terdapat kelenjar Brunner yang ditemukan di duodenum proksimal (Sharp dan Villano,

2013). Salah satu fungsi dari kelenjar Brunner adalah mensekresi mukus. Kelenjar tersebut menghasilkan cairan basa yang mengandung mucin. Mucin melindungi epitel di lambung dan mukosa duodenum proksimal dengan memelihara gradien pH dan mencegah autodigesti. Kelenjar ini juga mensekresikan ion bikarbonat dan faktor pertumbuhan epidermis (Suckow *et al.*, 2006). Penyerapan karbohidrat bergantung pada kondisi fisiologi, sedangkan penyerapan asam amino dan lemak terjadi di jejunum (Sharp *and* Villano, 2013).

Duodenum, tersusun melingkar dengan panjang kira-kira 10 cm. Duodenum tersusun secara ventro-transversal ke arah dinding abdomen lateral bagian kanan dan kemudian dari dorsal ke bidang tengah melingkar disebut duodenum transversal yang berakhir di tepi kolon transversal. Daerah permukaan usus halus di tingkatkan dengan adanya penonjolan yang berbentuk seperti jari yang disebut vili. Vili pada duodenum panjang dan berbentuk lembaran, sedangkan pada jejunum panjang dan berbentuk silindris, sedangkan pada ileum lebih pendek dan silindris. Glandula intestinal berbentuk tubula terbuka antara vili yang berdekatan (kripta Lieberkhun). Kelompok glandula duodenal berbentuk tubulo-alveoler terdapat didaerah pilori yang meluas sampai sub mukosa dan terbuka pada basal glandula intestinal (Brunner). Epitel yang melapisi vili usus halus adalah kolumnar selapis dengan inti terdapat di basal serta mempunyai mikrovili (Snell, 2006).

Pada usus halus sel goblet berbentuk oval dan tersebar diantara sel-sel epitel dan terutama paling banyak terdapat di ileum. Sel lain, yaitu sel Paneth ditemukan di dasar vili sel ini mempunyai sitoplasma acidofilik terutama pada jejunum.

Glandula intestinal dibatasi sel kolumner kuboid sedang glandula duodenal dibatasi sel kuboid (Snell, 2006).

Duodenum merupakan bagian intestinum dengan panjang dari duodenum \pm 25 cm, dimulai dari akhir pylorus lambung, disebelah kanan tulang belakang pada vertebra lumbal 1, kemudian membentuk C-shaped curve mengelilingi kaput pankreas dan akhirnya berhubungan dengan jejunum disebelah kiri vertebra lumbal 2 (**Gambar 2.3**). Duodenum merupakan bagian paling proksimal, paling lebar, paling pendek, dan paling sedikit pergerakannya dari bagian usus halus lainnya. (Snell,2006)

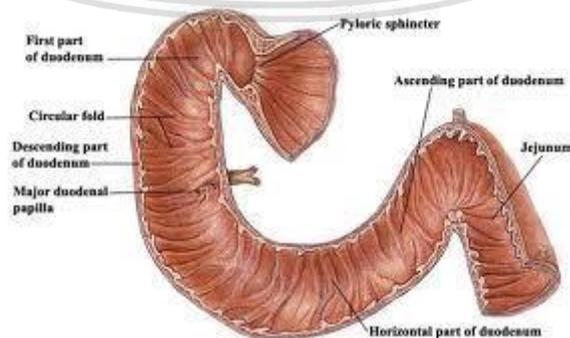
Duodenum dibagi menjadi 4 bagian:

- 1) Bagian pertama / superior / bulbus duodeni / duodenal cap / D1
- 2) Bagian kedua / vertikal / descenden/ D2
- 3) Bagian ketiga / horizontal / transversal/ D3
- 4) Bagian keempat / obliq / ascending / D4

Intestinum mempunyai dua fungsi utama yaitu pencernaan dan penyerapan atau absorpsi. Duodenum melanjutkan proses pencernaan makanan yang telah dilakukan oleh organ traktus digestivus sebelumnya. Proses pencernaan selanjutnya oleh duodenum seperti pencernaan karbohidrat, lemak dan protein menjadi zat yang lebih sederhana oleh bantuan enzim-enzim dari pankreas. Untuk mencerna lemak juga dibutuhkan garam empedu untuk mengemulsinya, prosesnya terjadi ketika lemak yang bersentuhan mukosa duodenum menyebabkan kontraksi kandung empedu yang diperantarai oleh kerja kolesistokinin yang merupakan hasil sekresi dari mukosa duodenum. Di epitel usus halus juga terdapat enzim

penting untuk memecah disakarida maupun polimer glukosa kecil menjadi monosakarida yaitu lactase, sukrase, maltase dan alfa dekstrinase. Proses selanjutnya yaitu absorpsi zat-zat penting dari makanan yang telah dicerna sebelumnya. Absorpsi gula, asam amino dan lemak sebagian besar terjadi di duodenum dan jejunum. Begitu pula absorpsi besi dan kalsium yang membutuhkan vitamin D. Vitamin larut lemak (A, D, E, K) di absorpsi di duodenum dan dibutuhkan garam-garam empedu dalam prosesnya. (Price dan Wilson, 2006)

Efisiensi fungsi absorpsi duodenum ditingkatkan oleh sejumlah struktur yang meningkatkan permukaan total dari lapisan mukosa. Struktur ini disebut plika sirkularis (valvula conniventes). Plika sirkularis meningkatkan daerah permukaan absorpsi mukosa menjadi tiga kali lipat. Pada duodenum juga terdapat kelenjar duodenum (Brunner) yang letaknya di submukosa. Kelenjar Brunner menghasilkan mukus yang alkalis untuk melindungi dinding duodenum dari getah lambung yang sangat asam. Kelenjar ini juga menghasilkan hormon sekretin yang akan menghambat sekresi HCL gaster dan akan meningkatkan proliferasi epitel dalam usus halus. (Eroschenko, 2003)



Gambar 2.3 Anatomi duodenum

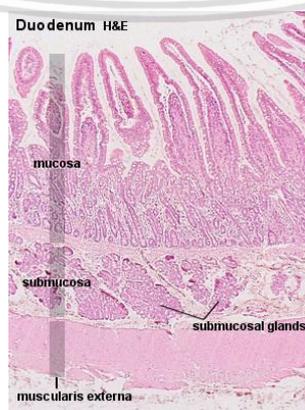
Histologi intestinum tenue ditandai dengan banyaknya penjurulan dari mukosa dan menonjol kepermukaan lumen yang disebut vili. Adanya vili intestinalis menjadikan perluasan mukosa menjadi lebih efektif. Pada dasarnya vili merupakan modifikasi dari permukaan mukosa. Pada duodenum vili ini berbentuk seperti daun. Di antara vili terdapat muara kecil dari kelenjar tubular simplek yang di sebut kripte Lieberkuhn atau kelenjar intestinal. Struktur yang juga terlihat pada duodenum yaitu plika sirkularis yang merupakan lipatan-lipatan mukosa yang sangat khas pada duodenum dan jejunum (**Gambar 2.4**). Dinding duodenum terdiri atas empat lapisan konsentris :(Junqueira,2007)

- 1) Lapisan paling luar yang dilapisi peritoneum, disebut serosa. Merupakan kelanjutan dari peritoneum, tersusun atas selapis pipih sel-sel mesothelial diatas jaringan ikat longgar dan pembuluh darah.
- 2) Lapisan muskuler disebut juga tunika muskularis yang tersusun atas serabut otot longitudinal (luar) dan sirkuler (dalam). Pleksus mienterikus Aurbach terletak diantara kedua lapisan ini dan berfungsi mengatur otot disepanjang usus.
- 3) Lapisan selanjutnya yaitu submukosa yang hampir keseluruhan ditempati oleh kelenjar duodenal tubuler yang sangat bercabang. Kelenjar ini juga disebut kelenjar brunner yang merupakan ciri khas dari duodenum. Kelenjar brunner bermuara ke krypta Lieberkuhn melalui duktus sekretorius. Sekresi dari kelenjar brunner bersifat visceus , jernih, dengan pH alkalis (pH 8,2 – 9,3), berguna melindungi mukosa duodenum

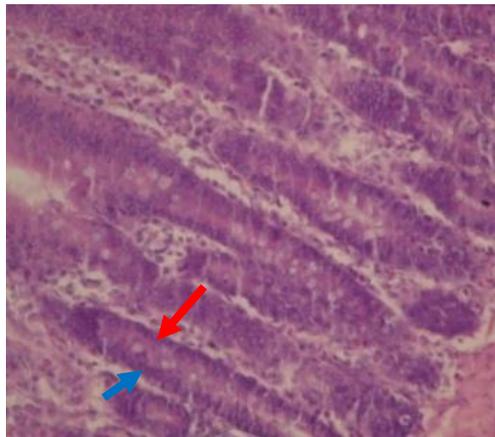
terhadap sifat korosif dari getah lambung yang asam dan mengoptimalkan pH usus bagi kerja enzim pankreas.

- 4) Mukosa, yang merupakan lapisan dinding yang paling dalam. Terdiri dari 3 lapisan: lapisan dalam adalah muskularis mukosa , lapisan tengah adalah lamina propria, lapisan terdalam terdiri dari selapis sel-sel epitel kolumnar yang melapisi krypte dan villi-villinya.

Fungsi utama krypte lieberkuhn ialah (1) pertumbuhan sel ; (2) fungsi eksokrin, endokrin, dan fungsi sekresi ion dan air ; (3) penyerapan garam, air dan nutrien spesifik. Mukosa duodenum terdapat sel-sel absortif, yaitu Paneth, goblet dan sel enteroendokrin. Sel goblet berfungsi memproduksi dan mensekresi mucin untuk melindungi epitel dari abrasi dan mencegah lekatan dan invasi dari bakteri pathogen. Sel enteroendokrin berfungsi mengendapkan bikarbonat alkalis dan mengendapkan garam perak, sel ini disebut sel argentafin. Untuk sel paneth pada penelitian terdahulu tentang kandungan kimianya belum bisa menentukan fungsi sel paneth tersebut.(Junqueira,2007)



Gambar 2.4 Histologi duodenum



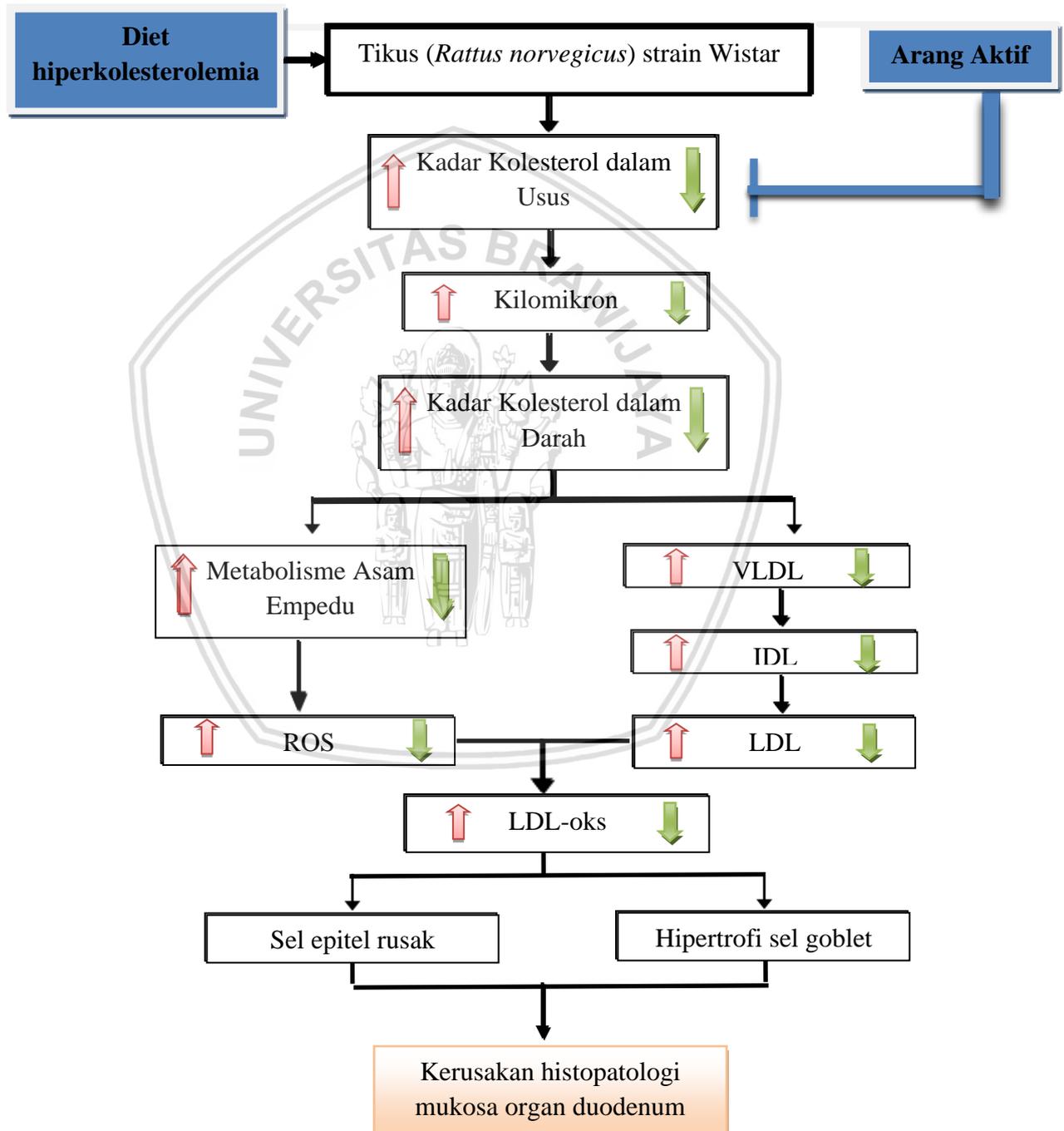
Gambar 2.5 Gambaran histopatologi tunika mukosa duodenum panah biru = sel epitel ; panah merah =sel goblet



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan :



: Variabel bebas



: Menstimulasi



: Variabel tergantung



: Menghambat



: Meningkatkan



: Menurun

Pemberian diet tinggi kolesterol selama 14 hari dapat menyebabkan kadar kolesterol yang tinggi sehingga mengakibatkan hiperkolesterolemia. Hiperkolesterolemia adalah suatu keadaan konsentrasi kolesterol dalam darah melebihi normal. Kolesterol yang tinggi akan didetoksifikasi oleh hati dan akan diseimbangkan kadarnya dengan peningkatan sintesa asam empedu. Kolesterol diubah ke dalam asam empedu melalui reaksi 7α -hidroksilasi dan menghasilkan radikal bebas sebagai hasil sampingan. Radikal bebas akan menyebabkan kerusakan jaringan. *Reactive Oxygen Species* (ROS) bersifat aktif dan dapat menyebabkan kerusakan sel, disfungsi membran, modifikasi protein, inaktivasi enzim dan pecahnya rantai DNA.

Pada kondisi hiperkolesterolemia kolesterol yang disintesis oleh hati akan meningkat dan akan diangkut secara endogen dalam bentuk VLDL ke dalam darah. VLDL akan mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase yang juga menghidrolisis kilomikron menjadi IDL. Partikel IDL kemudian mengalami pemecahan menjadi LDL.

LDL merupakan senyawa lipoprotein berat jenis rendah yang disusun oleh inti berupa 1500 molekul kolesterol yang dibungkus oleh lapisan fosfolipid dan molekul kolesterol tidak teresterifikasi. Bagian hidrofilik molekul terletak di sebelah luar, sehingga memungkinkan LDL larut dalam darah atau cairan

ekstraseluler. Protein berukuran besar yang disebut apoprotein B-100 mengenal dan mengikat reseptor LDL yang mempunyai peranan penting dalam pengaturan metabolisme kolesterol. Protein utama pembentuk LDL adalah Apo B (apolipoprotein-B). Kandungan lemak jenuh tinggi membuat LDL mengambang di dalam darah. LDL dapat menyebabkan penempelan kolesterol di dinding pembuluh darah. Peningkatan sintesis asam empedu akan meningkatkan aktivitas sitokrom P-450 dan semakin banyak oksigen yang diperlukan. Peningkatan oksigen akan menghasilkan radikal bebas sebagai hasil sampingan sehingga radikal bebas terbentuk secara berlebihan pada kondisi hiperkolesterolemia. Dalam kondisi ini, bagian epitel kelenjar brunner mengalami kerusakan cukup berat. Bentuk epitel kelenjar brunner pada lapisan submukosa tidak lagi kuboidal dan menjadi iregular. Hal ini terjadi diakibatkan adanya inflamasi dari reaksi peroksidasi lipid, permukaan submukosa menjadi *iregular*. Kerusakan pada sel epitel kelenjar brunner disebabkan oleh reaksi inflamasi yang disebabkan oleh peroksidasi lipid, munculnya sel kanker, dan obstruksi pada duodenum akibat meningkatnya kadar LDL di dalam darah.

Akibat lain yaitu hipertrofi sel goblet yang berada diantara epitel kelenjar brunner. Hipertrofi sel goblet merupakan respon inflamasi yang terjadi di dalam usus halus. Hipertrofi sel goblet merupakan salah satu bentuk respon inflamasi yang terjadi pada usus halus. Sel goblet secara normal berfungsi sebagai penghasil cairan mukus yang digunakan untuk sterilisasi makanan. Infiltrasi sel radang seperti neutrofil dan leukosit juga akan muncul yang mengakibatkan kerusakan lapisan mukosa duodenum sebagai kondisi hiperkolesterolemia.

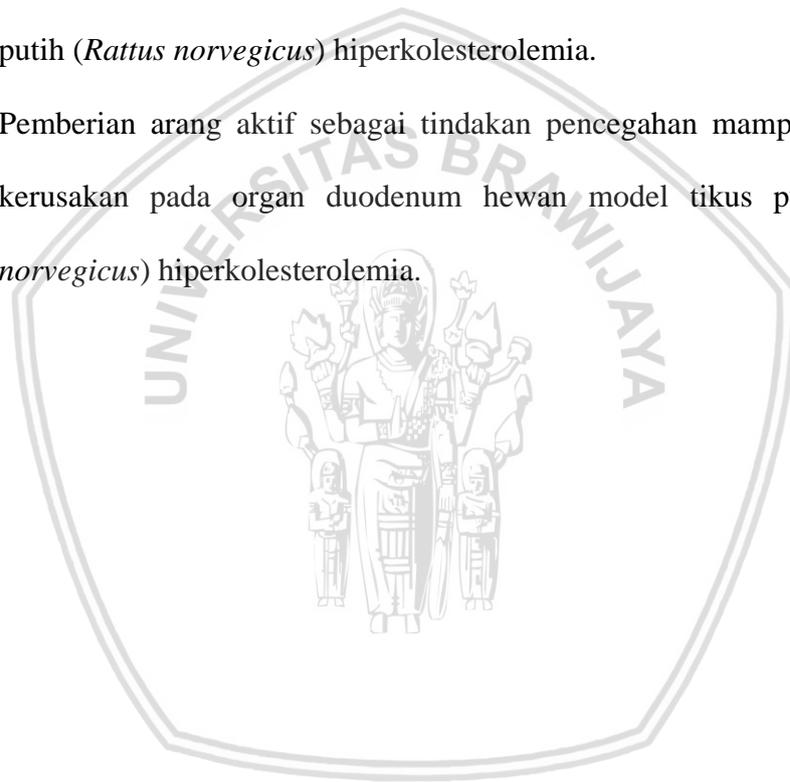
Arang aktif diberikan dengan cara disonde satu jam setelah sonde diet hiperkolesterol karena pengosongan lambung tikus memerlukan waktu selama satu jam. Arang aktif akan menyerap kolesterol di dalam usus sebelum terjadi penyerapan kolesterol oleh usus sehingga kadar kolesterol dalam darah tidak meningkat. Kolesterol adalah sterol terbanyak di dalam tubuh, bentuknya dapat sebagai kolesterol bebas ataupun terikat pada asam lemak sebagai kolesterol ester. Interaksi antara asam lemak bebas dengan karbon aktif terjadi adsorpsi secara fisika karena setiap partikel adsorbat yang mendekati ke permukaan adsorben melalui gaya Van der Waals atau ikatan hidrogen. Arang aktif merupakan salah satu adsorben yang paling sering digunakan pada proses adsorpsi karena mempunyai daya adsorpsi dan luas permukaan yang lebih baik dibandingkan adsorben lainnya. Arang aktif memiliki pori-pori yang mampu menyerap kolesterol. Arang aktif yang biasa beredar di pasar umumnya terbuat dari tempurung kelapa, kayu dan batubara. Mekanisme peristiwa adsorpsi berlangsung sebagai berikut : molekul adsorbat (kolesterol) berdifusi melalui suatu lapisan batas ke permukaan luar adsorben (difusi eksternal), sebagian ada yang teradsorpsi di permukaan luar, sebagian besar berdifusi lanjut di dalam pori-pori adsorben (difusi internal). Dengan demikian arang aktif berperan dalam proses adsorpsi kolesterol dan bersifat sebagai inhibitor dalam penyerapan kolesterol oleh duodenum. Adsorpsi kolesterol usus oleh arang aktif akan mencegah peningkatan kadar kolesterol dalam darah. Kolesterol yang telah diadsorpsi oleh arang aktif akan dibuang bersama feses. Dengan mencegah peningkatan kadar

kolesterol dalam darah maka dapat mencegah kerusakan lapisan mukosa duodenum dan mencegah peningkatan kadar LDL pada darah.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

1. Pemberian arang aktif sebagai tindakan pencegahan mampu mencegah kenaikan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia.
2. Pemberian arang aktif sebagai tindakan pencegahan mampu mencegah kerusakan pada organ duodenum hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2017. Penggerusan arang aktif dilakukan di Laboratorium Farmakologi Veteriner FKH UB. Pemeliharaan hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi FK UB. Pengukuran kadar LDL dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik FK UB. Pembuatan gambaran histopatologi duodenum dilakukan di Laboratorium Patologi Kessima Medika RS Islam Aisiyah Malang.

4.2 Alat dan Bahan

4.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, untuk perlakuan penelitian menggunakan kandang tikus, tempat pakan, tempat minum, timbangan tikus, termometer, dan sonde landung.. *Scanning electron microscopy* digunakan untuk mengukur diameter pori-pori arang aktif, dibutuhkan mortar untuk menggerus arang aktif dan timbangan digital untuk mengukur dosis perlakuan arang aktif. Preparasi organ duodenum membutuhkan seperangkat alat bedah, silet, *hand glove*, dan masker. Pembuatan preparat histopatologi membutuhkan telenan, pisau scalpel, pinset, saringan, *tissue casset*, mesin *processor* otomatis, mesin *vaccum*, mesin bloking, *freezer* (-20 °C), mesin *microtome*, pisau *microtome*, *water bath* 46 °C, *Object glass*, *coverglass*, dan mikroskop cahaya. Pengukuran kadar LDL membutuhkan tabung venoject, vorteks, incubator,

fotometer klinikal, spektrofotometer, tabung *eppendorf*, seperangkat alat sentrifugasi (tabung sentrifugasi, alat sentrifugasi), dan lemari pendingin.

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam perlakuan penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar, desinfektan, pakan pellet, dan air minum. Bahan untuk pembuatan pakan diet hiperkolesterolemia adalah asam kholat 0,1%, minyak babi 10%, kuning telur puyuh rebus segar 5 % dan akuades. Bahan untuk pembuatan preparat histopatologi adalah organ duodenum direndam pada formalin 10 %, NaCl fisiologis 0,9%, formalin 10%, alkohol asam 1%, alkohol 70%, 80%, 96%, xilol, parafin, dan pewarna histopatologi HE. Bahan untuk pengukuran kadar LDL adalah serum darah, reagen enzim, campuran larutan heparin dan natrium sitrat, pereaksi kit (mengandung kolesterol esterase, kolesterol oksidase, fenol, 4-aminoantipyrine, peroksidase dan bufer), dan asam fosfotungstat serta ion magnesium ($MgCl_2$).

4.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian adalah sebagai berikut:

1. Kerangka penelitian dan preparasi hewan coba tikus
2. Penentuan dosis terapi arang aktif
3. Pembuatan arang aktif
4. Preparasi tikus hiperkolesterolemia dengan diet hiperkolesterol
5. Preparasi terapi arang aktif
6. Euthanasia / pembedahan tikus
7. Pengambilan darah dan organ duodenum

8. Pengukuran kadar LDL
9. Pembuatan preparat histopatologi organ duodenum dengan pewarnaan *hematosiklin-eosin* (HE) dan pengamatan histopatologi.
10. Analisa data

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Kerangka Penelitian Dan Preparasi Hewan Coba Tikus

Penelitian bersifat eksperimental dengan desain penelitian *True Experimental* dan rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari empat ekor tikus sebagai ulangan. Masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut:

1. Kelompok A : Tikus sehat tanpa perlakuan (Kontrol negatif).
2. Kelompok B : Tikus diberi diet hiperkolesterolemia sebanyak 3,02 g/ekor (kontrol positif).
3. Kelompok C : Tikus diberi diet hiperkolesterolemia sebanyak 3,02 g/ekor dan diterapi dengan arang aktif 340mg/ekor
4. Kelompok D : Tikus diberi diet hiperkolesterolemia sebanyak 3,02 g/ekor dan diterapi dengan arang aktif 680 mg/ekor.
5. Kelompok E : Tikus diberi diet hiperkolesterolemia sebanyak 3,02 g/ekor dan diterapi dengan arang aktif 1020 mg/ekor.
6. Kelompok F : Tikus diterapi dengan arang aktif 680 mg/ekor.

Bagan rancangan penelitian dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

Sampel penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar dengan berat badan 100-150 gram. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus Federer (Larasathi, 2014) :

$$t(n-1) \geq 15$$

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n-6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

Keterangan :

t : jumlah kelompok (perlakuan)

n : jumlah ulangan yang diperlakukan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk lima kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan paling sedikit empat (4) kali dalam setiap kelompok sehingga dibutuhkan 24 ekor hewan coba.

Variabel yang diamati dalam penelitian adalah:

Variabel bebas : Dosis arang aktif dan diet hiperkolesterol

Variabel tergantung : Kadar LDL darah tikus dan histopatologi duodenum

Variabel kontrol : Umur, berat badan, jenis kelamin, Strain Wistar, pakan, kandang.

Preparasi *Rattus norvegicus* sebelum diberi perlakuan perlu dilakukan adaptasi di dalam laboratorium selama tujuh hari. Tikus dikandangkan sesuai dengan kelompok perlakuan dalam kandang yang terbuat dari bak plastik dengan ukuran 17,5 x 23,75 x 17,5 cm yang dilengkapi dengan penutup kawat.

4.4.2 Preparasi Tikus Hiperkolesterolemia Dengan Diet Hiperkolesterol

Metode pakan diet hiperkolesterol (Gani dkk, 2013), pakan diet hiperkolesterol terdiri dari asam kholat 0,1%, minyak babi 10%, dan kuning telur puyuh rebus segar 5%. Semua bahan dicampur lalu diencerkan dengan akuades sampai volume 2 ml. Pakan diet hiperkolesterol diberikan setiap hari selama 14 hari dengan metode *force feeding* sebesar 3,02gram yang diencerkan dengan akuades sampai volume 2 ml. Setelah itu, tikus diberi minum dan pakan standar. Pakan yang diberikan sebanyak 20 g/ekor/hari. Metode pakan diet hiperkolesterolemia susunan ransum pakan diet hiperkolesterolemia dapat dilihat pada **Tabel 4.1**

Tabel 4.1 Komposisi bahan diet tinggi kolesterol

Bahan	%/Kg	Jumlah (gram)
Asam kholat	0,1	0,02
Minyak babi	10	2
Kuning telur puyuh rebus	5	1

Bahan-bahan tersebut ditambah air hingga 2 ml diberikan dengan metode sonde lambung dan ditambah pakan standar.

Tabel 4.2 Komposisi diet tinggi kolesterol

Tinggi lemak	%
Bahan kering	86,66
Kadar abu	7,59
Lemak kasar	10,21
Protein kasar	18,61
Serat kasar	6,56

Pemberian diet tinggi kolesterol pada kelompok (B), kelompok (C) dan kelompok (D) selama 14 hari, selanjutnya akan menimbulkan gangguan metabolisme kolesterol dalam tubuh.

Menurut Arauna dkk (2013), pakan ideal untuk harus memenuhi kebutuhan zat makanan antara lain protein 12%, lemak 5%, dan serat kasar kira-kira 5%, sehingga pakan yang diberikan sudah mencukupi kebutuhan tikus (*Rattus norvegicus*). Ransum pakan standar yang diberikan pada tikus dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

4.4.3 Preparasi Arang Aktif

Arang aktif yang digunakan pada penelitian ini merupakan produk arang aktif dari PT. Haycarb Palu Mitra. Produk arang aktif berbentuk granul kemudian digerus hingga berbentuk serbuk dengan cara menggerus dengan mortar. Arang aktif serbuk dilihat diameter pori-porinya menggunakan *Scanning Electron Microscopy*. Hasil arang aktif serbuk ditimbang dengan timbangan digital sesuai perhitungan dosis yang terlampir pada **Lampiran 4**. Arang aktif dengan dosis 340 mg/ekor dan 680 mg/ekor dilarutkan dalam 2 ml akuades, arang aktif dengan dosis 1020 mg/ekor dilarutkan dalam 3 ml akuades, kemudian diberikan kepada tikus model dengan metode sonde lambung.

4.4.4 Pengambilan Organ Duodenum

Metode pengambilan organ berdasarkan Arauna dkk (2013), tikus terlebih dahulu dibuat tidak sadar dengan cara dislokasi leher, selanjutnya dilakukan pembedahan (pada hari ke-22 untuk semua perlakuan). Kemudian organ duodenum diambil dan dicuci dengan NaCl-fisiologis 0,9% dan direndam larutan Paraformaldehyde (PFA) 4%. Prosedur nekropsi / otopsi dapat dilihat pada **Lampiran 5**

4.4.5 Penentuan Kadar LDL dengan Spektrofotometri

Sampel penelitian ini adalah darah tikus. Tahapannya yaitu darah diambil dari ditampung dalam tabung venoject tanpa antikoagulan. Darah disentrifugasi dengan menggunakan alat sentrifugasi berkecepatan 1500 rpm selama 3 menit sehingga serum plasma terpisah dari darah. Terdapat dua lapisan setelah sentrifugasi dilakukan yaitu lapisan bawah atau debris (sel darah) dan lapisan atas atau supernatan. Lapisan supernatan (serum) diambil menggunakan mikropipet dan ditempatkan pada tabung *ependorf*. Serum tersebut kemudian disimpan pada *freezer* selama menunggu proses selanjutnya. (Archer et al, 2003).

Untuk mengukur kadar LDL secara spektrofotometri, terlebih dahulu harus mengukur kolesterol total dan kolesterol dalam supernatan. Untuk kolesterol total caranya yaitu dengan mengambil serum sebanyak 10 μ l lalu dicampur reagen enzim sebanyak 1000 μ l, kemudian di vorteks dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20-25 $^{\circ}$ C. Untuk mengukur kolesterol dalam supernatan caranya yaitu dengan mengambil serum sebanyak 100 μ l dimasukkan kedalam tabung *ependorf* kemudian dicampur dengan 1000 μ l pengendap yang terdiri dari campuran larutan heparin dan natrium sitrat. Campuran antara natrium dan pereaksi di vorteks kemudian diinkubasi selama 10 menit dengan temperatur 20-25 $^{\circ}$ C dan disentrifus. Setelah di sentrifus, diamkan selama 1 jam agar LDL mengendap. Kemudian diambil supernatant sebanyak 100 μ l, dimasukkan ke dalam tabung kemudian di campur dengan 1000 μ l reagen enzim. Setelah tercampur, ditentukan kadar kolesterol dalam supernatant dengan fotometer klinikal. Barulah dihitung kadar LDL dengan rumus :

Kadar LDL kolesterol = kolesterol total – kolesterol dalam supernatan

Konsentrasi kolesterol LDL dihitung dari kadar kolesterol total, HDL, dan trigliserida menurut rumus Friedewald (1972):

$$\text{LDL} = \text{Kolesterol Total} - \text{HDL} - \text{Trigliserida}/5 \text{ mg/dl}$$

$$\text{LDL} = \text{Kolesterol Total} - \text{HDL} - \text{Trigliserida}/2.2 \text{ mmol/l}$$

Diasumsikan bahwa $\text{Trigliserida}/5$ merupakan kadar VLDL.

Rumus Friedewald ini memiliki keterbatasan yaitu sebelum pemeriksaan subjek yang akan diperiksa dipuasakan selama 12-14 jam terlebih dahulu. Selain itu, rumus ini tidak berlaku bila kadar trigliserida >400 mg/dl, terdapat dislipoproteinemia, kelainan tipe I/III.

Apabila tidak dapat dilakukan pemeriksaan kadar LDL dengan menggunakan rumus Friedewald tidak dapat dilakukan, maka menggunakan metoda pemeriksaan LDL secara tidak langsung, yaitu metoda homogenous dengan alat spektrofotometer. Adapun prinsip pemeriksaannya adalah sebagai berikut:

HDL, VLDL, CM—detergen 1 \rightarrow Micellary Kolesterol —kol. esterase dan kol. peroksidase \rightarrow H₂O₂



LDL – detergen $2 \rightarrow$ Micellary Kolesterol —kol.l esterase dan kol.

Peroksidase \rightarrow H_2O_2

$H_2O_2 + 4$ aminoantipirin + DSBmT —kol.l esterase dan kol. Peroksidase \rightarrow
colour product

Warna yang dihasilkan adalah biru. Intensitas warna, menunjukkan kadar kolesterol LDL. Pemeriksaan ini dipengaruhi oleh bilirubin 20 mg/dl, hemoglobin 500 mg/dl, dan trigliserida 1500 mg/dl. Diukur dengan panjang gelombang 550 nm.

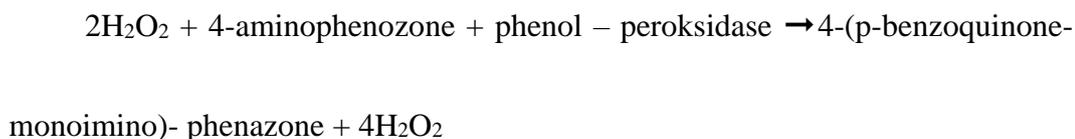
Pada penelitian ini, pemeriksaan menggunakan rumus Friedewald sehingga terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan kolesterol total, trigliserida, dan kolesterol HDL. Adapun cara pemeriksaan dari ketiganya, adalah sebagai berikut:

1. Pengukuran kadar kolesterol total

Pengukuran kadar kolesterol total ini menggunakan alat ukur spektrofotometer, dengan metoda CHOD-PAP yang merupakan tes warna enzimatik. Adapun prinsip pada metoda pemeriksaan CHOD-PAP adalah sebagai berikut :

Kolesterol Ester + H_2O —Kol.esterase \rightarrow Kolesterol + Asam lemak

Kolesterol + O_2 — Kol. oksidase \rightarrow 4-kolestone-3-one + H_2O_2



Pada proses pengukuran ini darah yang diperoleh didiamkan selama 10-15 menit kemudian di sentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Kemudian serum yang dihasilkan dari proses sentrifus diambil menggunakan mikropipet dan diletakan di tabung.

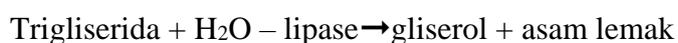
Prosedur analisis yaitu sampel atau standar diambil sebanyak 10 μl dan dicampurkan dengan 1000 μl pereaksi kit (mengandung kolesterol esterase, kolesterol oksidase, fenol, 4-aminoantipyrine, peroksidase dan bufer) kemudian dimasukkan ke dalam tabung lalu dicampurkan sampai homogen. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit, dan kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm.

Tabel 4.3 Prosedur pencampuran reagen kolesterol total

	Blanko	Standar/ control	Sampel
Reagen kerja	1000 μl	1000 μl	1000 μl
Standar	-----	10 μl	-----
Serum	-----	-----	10 μl

2. Pengukuran kadar trigeliserida

Trigliserida ditentukan setelah hidrolisis enzimatis dengan lipase.



Gliserol + ATP - gliserol kinase → gliserol-3-fosfat + ADP

Gliserol-3-fosfat + O₂ - gliserol-3-fosfat oksidase → dihidroksiaseton fosfat
+ H₂O₂

2H₂O₂ + 4-aminofenazon + 4 klorofenol - peroksidase → quinoneimine +
HCl + 4H₂O

Darah sebanyak 2 ml kemudian didiamkan 10 menit kemudian disentrifuge menggunakan sentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serumnya. Sampel atau standar diambil sebanyak 10 µl dan dicampurkan dengan 1000 µl pereaksi kit, kemudian dimasukkan ke dalam tabung lalu dicampurkan sampai homogen. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit, dan kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm.

Tabel 4.4 Prosedur pencampuran reagen trigliserida

	Blanko	Standar/ control	Sampel
Reagen kerja	1000µl	1000µl	1000µl
Standar	-----	10µl	-----
Serum	-----	-----	10µl

3. Pengukuran kadar HDL

Pada proses pengukuran ini darah yang diperoleh didiamkan selama 10-15 menit, kemudian di sentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm.

Kemudian serum yang dihasilkan dari proses sentrifus diambil menggunakan mikropipet dan diletakan di tabung.

Pengukuran HDL dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan presipitasi terhadap lipoprotein densitas rendah (LDL dan VLDL) dan kilomikron. Presipitasi dilakukan dengan penambahan asam fosfotungstat dan kehadiran ion magnesium ($MgCl_2$). Setelah sentrifugasi, HDL dalam supernatan diukur menggunakan pereaksi kit yang sama dengan pengukuran total kolesterol (CHOD-PAP).

Tabel 4.5 Prosedur pencampuran reagen HDL

	Standar/ kontrol	Sampel
Reagen HDL	200 μ l	200 μ l
Standar	100 μ l	-----
Serum	-----	100 μ l

Prosedur presipitasi adalah sebanyak 100 μ l serum darah dicampurkan dengan 200 μ l, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar. Setelah sentrifugasi 4000 rpm selama 10 menit, dihasilkan supernatan yang siap untuk dianalisis sama seperti analisis total kolesterol di atas.

Serum sebanyak 100 μ l ditambah 200 μ l reagen presipitan dicampur baik-baik, kemudian disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit sehingga menghasilkan filtrat. Filtrat didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit atau pada suhu 37°C selama 5 menit, dan kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm.

Tabel 4.6 Prosedur pencampuran reagen HDL dengan presipitan

	Blanko	Standar/ control	Sampel
Reagen kerja	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l
Standar	-----	50 μ l	-----
Serum	-----	-----	50 μ l

Setelah semua langkah dilakukan, barulah dapat diketahui kadar LDL.

4.4.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Organ Duodenum Dengan Pewarnaan Hematosiklin-Eosin (HE) Dan Pengamatan Histopatologi

Langkah – langkah pembuatan preparat histopatologi menurut Arauna dkk (2013), yaitu:(Lampiran 6)

a. Fiksasi

Fiksasi dilakukan untuk mengawetkan dan mengeraskan jaringan. Jaringan duodenum difiksasi dengan formalin buffer 10% selama 18-24 jam.

b. Dehidrasi

Dehidrasi adalah proses pengeluaran air dari dalam jaringan yang difiksasi. Jaringan dimasukkan dalam aquades selama 1 jam kemudian didehidrasi dengan alkohol bertingkat 30%, 50%, 70%, 80%, 90% sampai alkohol absolute.

c. Penjernihan (*cleaning*)

Penjernihan (*cleaning*) merupakan proses mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantikannya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Jaringan dimasukkan ke larutan alkohol xylol selama 1 jam, larutan xylol murni selama 2 x 2 jam, parafin cair 2 x 2 jam.

d. *Embedding*

Embedding merupakan proses untuk mengeluarkan cairan *cleaning agent* dari jaringan dan diganti dengan parafin. Jaringan duodenum dicelup ke dalam parafin cair yang telah dituang ke dalam wadah hingga parafin memadat.

e. Pemotongan (*Sectioning*) dan penempelan pada objek glass

Jaringan dipotong dengan blok parafin dengan mikrotom serebal 4 mikron, irisan diletakkan pada *poly-L-lysine slide*. Potongan terpilih dikeringkan dan diletakkan di atas *hot plate* 38-40°C sampai kering dan siap diwarnai dengan pewarna Hematoksin-Eosin (HE) yang akan dianalisis dan disajikan secara deskriptif untuk melihat histopatologi duodenum menggunakan mikroskop Olympus BX51 dengan perbesaran 400x. Dalam penelitian ini, diamati bagian tunika mukosa duodenum meliputi sel goblet dan epitel yang diwakili dalam lima lapang pandang.

4.4.7 Analisa Data

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar LDL dan gambaran histopatologi duodenum. Analisa data dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif yang digunakan yaitu pemeriksaan kadar LDL menggunakan uji ANOVA dengan taraf kepercayaan $\alpha = 0,05$ dan dilakukan analisis lebih dengan uji *Tukey* ($p < 0,01$), apabila terdapat perbedaan yang sangat nyata. Data kualitatif yang digunakan yaitu gambaran histopatologi duodenum dengan pewarnaan HE yang akan dianalisis dan disajikan secara deskriptif.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pencegahan Arang Aktif Terhadap Kadar *Low Density Lipoprotein*(LDL)Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

LDL merupakan senyawa lipoprotein berat jenis rendah (Heslet, 1996). Kandungan lemak jenuh tinggi membuat LDL mengambang di dalam darah. LDL dapat menyebabkan penempelan kolesterol di dinding pembuluh darah (Brown dan Goldstein, 1994). LDL merupakan kolesterol jahat karena memiliki sifat aterogenik (mudah melekat pada dinding sebelah dalam pembuluh darah dan mengurangi pembentukan reseptor LDL). Hal ini akan menyebabkan terjadinya kenaikan kadar kolesterol-LDL.

Pengukuran kadar LDL dilakukan secara spektrofotometri, terlebih dahulu harus mengukur kolesterol total dan kolesterol dalam supernatan. Setelah tercampur, ditentukan kadar kolesterol dalam supernatant dengan fotometer klinikal. Barulah dihitung kadar LDL dengan rumus :

Kadar LDL kolesterol = kolesterol total – kolesterol dalam supernatan

Konsentrasi kolesterol LDL dihitung dari kadar kolesterol total, HDL, dan trigliserida menurut rumus Friedewald (1972):

$LDL = \text{Kolesterol Total} - HDL - \text{Trigliserida}/5 \text{ mg/dl}$

$LDL = \text{Kolesterol Total} - HDL - \text{Trigliserida}/2.2 \text{ mmol/l}$

Pengukuran kadar LDL menggunakan spektrofotometri bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian arang aktif dalam mencegah peningkatan kadar LDL darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia. Hasil pengukuran kadar LDL kemudian dianalisa secara statistik menggunakan uji one way ANOVA yang dilanjutkan dengan uji BNJ atau Tukey dengan tingkat kepercayaan 95%. Untuk menentukan perbedaan antara perlakuan. Hasil pengukuran kadar LDL darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia dapat dilihat pada **Tabel 5.1** dan **Lampiran 7**.

Tabel 5.1 Kadar LDL Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia

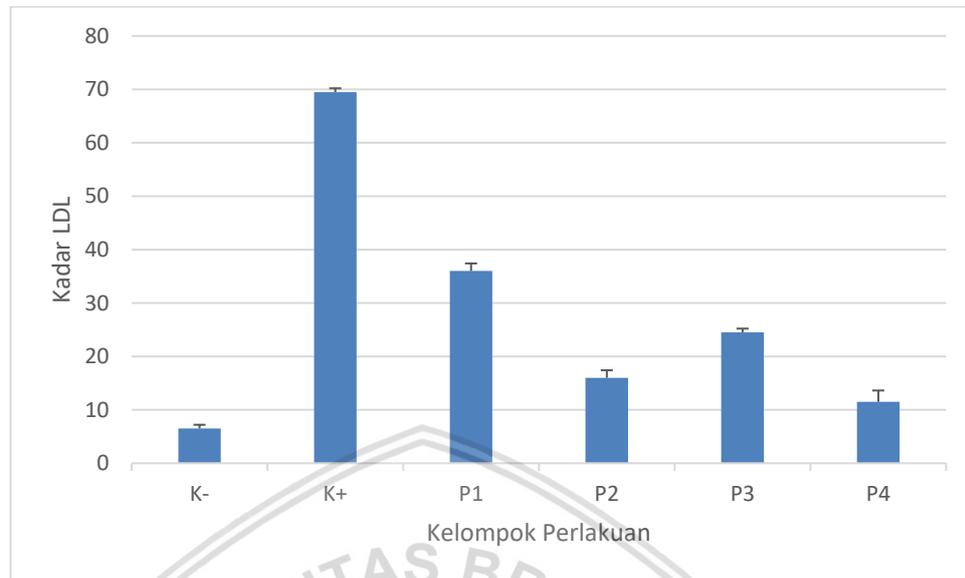
Kelompok Perlakuan	Rata-rata kadar LDL (rerata \pm SD) (mg/dL)
Kontrol Negatif	6,50 \pm 0,707 ^a
Kontrol Positif	69,50 \pm 0,707 ^e
Perlakuan 1	36,00 \pm 1,414 ^d
Perlakuan 2	16,00 \pm 1,414 ^b
Perlakuan 3	24,50 \pm 0,707 ^c
Perlakuan 4 (placebo)	11,50 \pm 2,121 ^{ab}

Keterangan : perbedaan notasi a, b, c, d, dan e menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan

Hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan bahwa pemberian arang aktif pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) mencegah terjadi peningkatan kadar LDL dan memberikan hasil yang signifikan ($p < 0,05$). Analisa uji one way ANOVA menunjukkan bahwa pemberian arang aktif dapat mencegah peningkatan kadar LDL ($p < 0,05$), hal ini ditunjukkan dengan adanya 5 jenis notasi pada uji lanjutan Tukey (**Tabel 5.1**). Hasil uji Tukey menunjukkan pada kelompok kontrol negatif

berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol positif, perlakuan 1 dan 3, tetapi tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan 2 dan bernotasi sama dengan perlakuan 4 (placebo). Pada kelompok kontrol positif berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan 1, 2, 3, dan 4. Kelompok perlakuan 1 berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 2, 3, dan 4 (placebo). Pada kelompok perlakuan 2 berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, perlakuan 1 dan 3, tetapi tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan kontrol negatif dan bernotasi sama dengan perlakuan 4 (placebo). Pada kelompok perlakuan 3 berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1, 2, dan 4 (placebo). Kelompok perlakuan 4 (placebo) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, perlakuan 1 dan 3, tetapi tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan 2 dan kontrol negatif karena bernotasi sama dengan keduanya. Hal tersebut menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 2 dapat mencegah peningkatan kadar LDL dibandingkan dengan kontrol positif, karena berada di notasi sama dengan perlakuan 4 (placebo) dan mendekati keadaan normal pada kontrol negatif yang ditandai dengan notasi yang tidak berbeda signifikan (**Tabel 5.1**).

Hasil pemeriksaan kadar LDL dapat dilihat pada (**Gambar 5.1**) di bawah ini dengan nilai rujukan 2-27 mg/dL.



Gambar 5.1 Grafik Kadar LDL dan Standar Deviasi

Dari gambar diatas hasil penelitian ditunjukkan pada grafik nilai kadar LDL kelompok perlakuan 2 dengan nilai 16 mg/dL yang diberikan arang aktif dengan dosis 680 mg/ekor memiliki kadar LDL mendekati kontrol negatif dan perlakuan 4 serta berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif. Kelompok kontrol negatif dengan nilai kadar LDL darah rata-rata 6,5 mg/dL dalam kadar yang rendah pada keadaan normal. Pada kelompok kontrol negatif ini digunakan sebagai standart untuk mengetahui adanya peningkatan kadar LDL. Tikus kelompok kontrol negatif pada **Gambar 5.1** menunjukkan yang paling rendah dibandingkan kelompok perlakuan yang lain. Hal ini dikarenakan tikus kelompok kontrol negatif merupakan tikus sehat, tanpa diberi diet hiperkolesterol sehingga radikal bebas yang dihasilkan sebagai hasil sampingan sintesa kolesterol berlebih menjadi asam empedu masih bisa ditangkap oleh antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil sampingan sintesis asam empedu

sebagian besar termasuk dalam kelompok *reactive oxygen species* (ROS). Tingginya ROS dan LDL dalam tubuh akibat diet hiperkolesterol akan membentuk LDL-oks yang menyebabkan reaksi oksidatif. Peningkatan ROS dalam jaringan berbanding lurus dengan stress oksidatif dan kadar LDL dalam jaringan. Semakin tinggi LDL, maka semakin tinggi pula stress oksidatif dan kadar ROS dalam darah.

Menurut Wedhasari (2014) Antioksidan diperlukan untuk mencegah stres oksidatif. Stres oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas yang ada dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbitalnya, sehingga bersifat sangat reaktif dan mampu mengoksidasi molekul di sekitarnya (lipid, protein, DNA, dan karbohidrat). Antioksidan bersifat sangat mudah dioksidasi, sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan melindungi molekul lain dalam sel dari kerusakan akibat oksidasi oleh radikal bebas atau oksigen reaktif. Suatu penelitian pada tikus menunjukkan bahwa kadar LDL meningkat secara signifikan pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan kelompok yang diberi diet tinggi karbohidrat dibandingkan kelompok yang diberi diet normal.

Pada kelompok perlakuan 1 dengan nilai kadar LDL 36 mg/dL (arang aktif dosis 340 mg) dan 3 nilai kadar LDL 24,5 mg/dL (arang aktif dosis 1020 mg) nilai kadar LDL cenderung lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan 2 seperti yang ditunjukkan pada grafik (**Gambar 5.1**). Kelompok perlakuan 4

menunjukkan grafik yang tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, yang berarti kelompok perlakuan 4 nilai kadar LDL 11,5 mg/dL dengan dosis arang aktif saja sebanyak 680 mg/ekor tanpa pemberian diet hiperkolesterolemia tidak mempengaruhi kenaikan kadar LDL. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 2 merupakan dosis efektif yang dapat digunakan untuk menurunkan nilai kadar LDL pada hewan coba tikus putih. Peningkatan kadar LDL pada kelompok perlakuan 1 kemungkinan disebabkan karena dosis arang aktif yang diberikan kurang efektif dalam menghambat penyerapan kolesterol di darah, sehingga hasil grafik kadar LDL masih tinggi. Sedangkan, pemberian dosis arang aktif yang terlalu tinggi seperti pada perlakuan 3, dapat meningkatkan resiko obstruksi pada usus halus, menurut Lowry (2008) dosis yang dianjurkan pada orang dewasa adalah 50 g pada untuk dosis awal (atau dosis tunggal yang direkomendasikan dari arang aktif) diikuti per-jam, setiap 2 jam atau 4 jam sama dengan 12,5 g per jam (pada orang dewasa). Arang aktif dengan dosis 1020 mg/ekor/hari tidak menjadi dosis efektif, hal ini dikarenakan 1020 mg arang aktif sulit diencerkan dalam 3 ml akuades, sehingga mempersulit sonde arang aktif yang menyebabkan stres pada tikus. Eddleston (2008) menganjurkan pemberian arang aktif diatas 50 gr diberikan secara bertahap, dua kali pemberian dengan selang waktu 4 jam, 50 gr untuk manusia sama dengan 680 mg untuk tikus. Lopus (2007) menjelaskan mekanisme penyerapan arang aktif melalui metode pemberian bertahap yaitu arang aktif kedua akan menyerap molekul yang mengalami difusi pasif apabila konsentrasi pada usus lebih rendah dari konsentrasi pada darah. Pada pemberian pertama, arang aktif akan menyerap kolesterol yang berada dalam

lambung dan usus, kemudian kolesterol dalam darah akan berdifusi pasif menuju usus saat konsentrasi kolesterol di usus lebih rendah dan akan diserap oleh arang aktif pemberian kedua. Hal tersebut didukung dengan hasil penelitian Dekker (1999) pemberian arang aktif menggunakan multiple dose menurunkan risiko sembelit dan obstruksi usus menjadi kecil, dibandingkan dengan pemberian arang aktif secara dosis tunggal yang sangat besar. Dosis 50 g pada manusia dewasa dikonversikan menjadi 680 mg untuk tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Pemberian arang aktif dengan dosis yang tinggi pada tikus putih kemungkinan dapat menyebabkan obstruksi atau penyumbatan usus. Perlukaan pada usus akan mengaktivasi neutrofil, sehingga berpotensi dalam pembentukan ROS yang dapat menambah kadar radikal bebas pada usus halus (Aulanni'am, 2011). Produksi ROS yang berlebih memicu terjadi stress oksidatif. Peningkatan ROS dalam jaringan berbanding lurus dengan stress oksidatif dan kadar LDL dalam jaringan. Semakin tinggi ROS, maka semakin tinggi pula stress oksidatif dan kadar LDL dalam darah.

Peran arang aktif dalam pencegahan hiperkolesterolemia, yaitu bekerja lokal pada usus halus, sehingga menghambat adsorpsi kolesterol dan menginhibisi transpor balik kolesterol dari usus ke hati. Kerja arang aktif yang menghambat absorpsi kolesterol yang berasal dari diet ataupun yang diekskresi oleh empedu, akan menurunkan kadar kolesterol darah terutama komponen LDL. Radikal bebas merupakan senyawa reaktif dan bereaksi dengan berbagai biomolekul sel seperti lipid, protein, dan DNA. Peningkatan radikal bebas pada usus diakibatkan proses

absorpsi kolesterol oleh usus meningkat, sehingga peran arang aktif adalah mengadsorpsi kolesterol dari diet hiperkolesterolemia yang diberikan sebelum diserap oleh usus. Menurut Lapus (2007) penyerapan oleh arang aktif terjadi jika zat masuk ke atau melalui jaringan, seperti air yang masuk ke dalam spons berongga. Setelah bahan kimia atau obat termetabolisme dalam gastro-intestinal, arang aktif tidak mampu mengadsorpsi zat beracun. Zat yang dapat diserap oleh arang aktif masih berada didalam lumen lambung atau usus. Oleh sebab itu arang aktif lebih tepat diberikan sebagai pencegahan daripada pengobatan.

Menurut Ibrahim (2014), arang aktif yang saat ini banyak dikenal sebagai adsorben juga memiliki kemampuan menurunkan kadar kolesterol, penyakit jantung koroner, dan aterosklerosis. Pemberian arang aktif kepada manusia penderita hiperkolesterolemia sebanyak 8 g dan tiga kali sehari selama 4 minggu menurunkan total plasma kolesterol sebesar 25% dan kolesterol LDL sebesar 41%. Selain itu, kolesterol HDL meningkat sebesar 8%, dan dalam penelitian tersebut juga tidak ditemukan efek samping yang berarti.

Arang aktif yang digunakan pada penelitian ini dianalisis SEM untuk mengetahui ukuran pori-pori dan kandungan arang aktif. Hasil analisis SEM (**Lampiran 8**) menunjukkan rata-rata ukuran pori-pori arang aktif sebesar 4.23 μm atau sebesar 42.300 Angstrom (**Gambar 5.2**). Ukuran pori-pori arang aktif termasuk besar dan masuk dalam jenis arang aktif makropori. Menurut Kurniati (2008) terdapat dua jenis arang aktif berdasarkan ukuran pori-pori yaitu mikropori dengan ukuran pori-pori 10 – 1000 Angstrom dan makropori dengan ukuran pori-

pori lebih dari 1000 Angstrom. Dari hasil SEM diketahui arang aktif yang digunakan pada penelitian mengandung karbon 93,66%, oksigen 5,56% dan potassium 0,78% (**Tabel 5.2**). Menurut Pujiyanto (2010) karbon aktif terdiri dari 87-97% karbon dan sisanya berupa hidrogen, oksigen, sulfur dan nitrogen serta senyawa-senyawa lain yang terbentuk dari proses pembuatan.

Tabel 5.2 Kandungan Arang Aktif Hasil SEM

Element	Weight %	Weight % σ	Atomic %
Carbon	93.658	0.381	95.498
Oxygen	5.561	0.379	4.257
Potassium	0.781	0.055	0.245



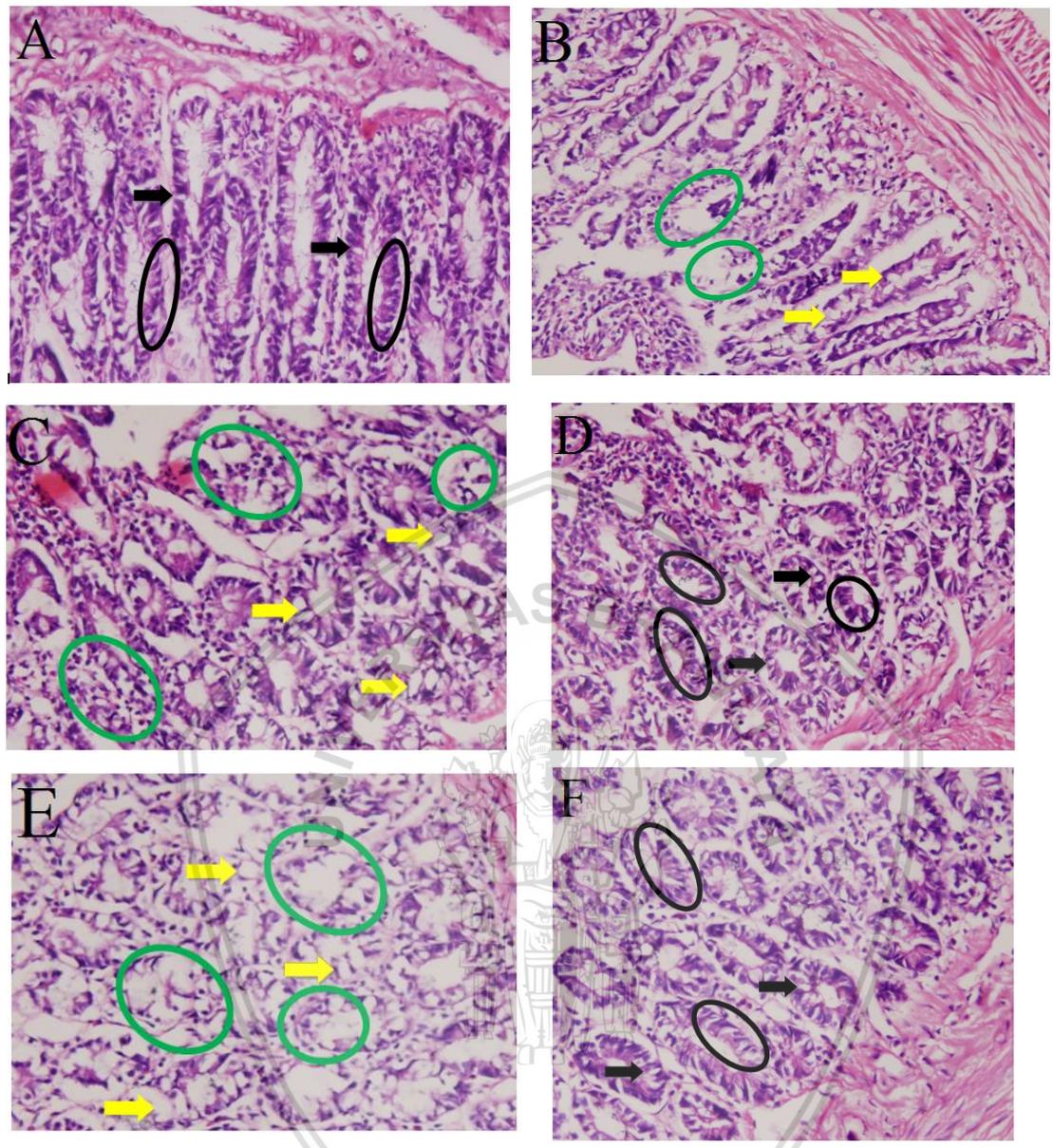
arang aktif

Gambar 5.2 Ukuran pori-pori arang aktif hasil analisis SEM

5.2 Pengaruh Preventif Arang Aktif Terhadap Histopatologi Organ Duodenum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Hasil penelitian pengaruh preventif arang aktif terhadap gambaran histopatologi duodenum dengan pewarnaan *hematoxyline-eosin* (HE) dianalisa secara deskriptif menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Gambaran histopatologi duodenum tikus masing-masing perlakuan disajikan pada **Gambar 5.3.**





Gambar 5.3 Histopatologi duodenum tikus dengan pewarnaan HE (Perbesaran 400x);

Keterangan : A = Kontrol negatif (tikus sehat), B = Kontrol positif (tikus yang diberi diet hiperkolesterol), C = hiperkolesterol + terapi arang aktif 340 mg/ekor/hari, D = hiperkolesterol + terapi arang aktif 680 mg/ekor/hari, E = hiperkolesterol + terapi arang aktif 1020 mg/ekor/hari, F = terapi arang aktif 680 mg/ekor/hari. **➡** = sel goblet normal,

○ = sel epitel normal,

➡ = sel goblet hipertrofi,

○ = sel epitel erosi.



Histologi duodenum dalam keadaan normal tersusun atas tunika mukosa, tunika submukosa, tunika muskularis, dan tunika serosa (Frappier, 2006). Dinding duodenum kaya akan pembuluh darah yang mengangkut zat-zat nutrisi menuju hati melalui vena porta. Pada kelompok kontrol negatif (**Gambar 5.3 A**) struktur sel epitel vili terlihat baik normal beraturan, tersusun rapi, rapat dan teratur (lingkaran hitam), tidak terlihat ada sel radang pada lamina propia, dan sel goblet normal (panah hitam). Sel goblet berfungsi untuk mengeluarkan mukus yang merupakan cairan kental dan terdiri dari mukus protein glikosilasi yang tersuspensi dalam elektrolit (Balqis dkk., 2011). Fungsi utama dari mukus yaitu melindungi mukosa saluran cerna dan melindungi dari mikroorganisme dan partikel. Sel epitel duodenum menutupi seluruh lapisan membran mukosa dan berbentuk epitel silindris selapis (Xu, 2003).

Pada kelompok kontrol positif (**Gambar 5.3 B**), gambaran histopatologi duodenum pada tunika mukosa menunjukkan terdapat erosi sel epitel silindris sebaris ditunjukkan dengan lingkaran hijau, sel goblet mengalami hipertropi ditunjukkan oleh tanda panah kuning dan terdapat infiltrasi sel inflamasi pada lamina propia. Perbandingan kelompok tikus kontrol positif hiperkolesterolemia dan kontrol negatif adalah terjadi perubahan kerusakan sel epitel silindris sebaris mengalami erosi, sel goblet mengalami hipertropi dan tidak terdapat infiltrasi sel inflamasi pada lamina propia. dan terdapat sel radang pada lamina propia. Erosi pada beberapa bagian epitel menunjukkan proses terbentuk ulser pada bagian mukosa duodenum. Kelompok perlakuan 1 (**Gambar 5.3 C**) yang diberi arang aktif dengan dosis 340 mg/ekor, terlihat adanya erosi sel epitel silindris sebaris

dibeberapa bagian ditunjukkan lingkaran hijau, banyak sel goblet mengalami hipertropi ditunjukkan tanda panah kuning dan pada lamina propia masih terdapat inflamasi. Kelompok tikus putih perlakuan 2 (**Gambar 5.3 D**) yang diberi perlakuan arang aktif 680 mg/ekor, epitel silindris sebaris normal ditunjukkan dengan lingkaran hitam, namun masih terdapat juga epitel yang mengalami erosi di bagian tertentu, sel goblet dominan normal ditunjukkan dengan tanda panah hitam, namun masih terdapat hipertrofi di beberapa bagian dan tidak terdapat infiltrasi sel-sel inflamasi pada lamina propia. Kelompok perlakuan 3 (**Gambar 5.3 E**) yang diberikan arang aktif dengan dosis 1020 mg/ekor, terlihat ada erosi sel epitel silindris sebaris di beberapa areaditunjukkan dengan lingkaran hijau, hipertrofi sel goblet di banyak tempat ditunjukkan dengan tanda panah kuning dan terdapat infiltrasi sel-sel inflamasi pada lamina propia. Hal ini dapat disebabkan karena dosis arang aktif yang lebih besar menyebabkan absorbs terhadap cairan intrasel. Kelompok perlakuan 4 (**Gambar 5.3 F**) yang diberikan perlakuan arang aktif dengan dosis 680 mg/ekor, tanpa diet hiperkolesterolemia terlihat sel epitel silindris sebaris normal ditunjukkan dengan lingkaran hitam, namun terdapat sedikit yang masih mengalami erosi, sel goblet didominasi normal ditunjukkan dengan tanda panah hitam namun terdapat sedikit hipertrofi di beberapa bagian dan tidak terdapat infiltrasi sel inflamasi pada lamina propia.

Kerusakan tunika mukosa pada kelompok perlakuan hiperkolesterolemia diakibatkan oleh pemberian diet hiperkolesterolemia. Hal ini terjadi akibat adanya inflamasi dari reaksi peroksidasi lipid, permukaan mukosa menjadi *irregular*. Kerusakan pada sel epitel disebabkan oleh reaksi inflamasi yang disebabkan oleh

peroksidasi lipid, munculnya sel kanker, dan obstruksi pada duodenum akibat meningkatnya kadar LDL di dalam darah. Akibat lain yaitu hipertrofi sel goblet yang berada diantara epitel. Hipertrofi sel goblet merupakan respon inflamasi yang terjadi di dalam usus halus. Infiltrasi sel radang seperti neutrofil dan leukosit juga akan muncul yang mengakibatkan kerusakan lapisan mukosa duodenum sebagai kondisi hiperkolesterolemia. Pada tubuh, duodenum berfungsi sebagai absorpsi kolesterol dengan bantuan proses enzimatis. Hiperkolesterolemia merupakan kondisi peningkatan kadar kolesterol dalam darah. Kolesterol merupakan bagian dari lipid yang diserap melalui dinding duodenum pada absorpsi nutrisi makanan yang masuk kedalam tubuh, makanan yang mengandung lipid yang berlebihan menyebabkan duodenum bekerja keras dalam mengabsorpsi, sehingga tubuh akan berusaha membantu dengan meningkatkan produksi asam empedu. Asam empedu diproduksi didalam hati yang berfungsi dalam penyerapan kolesterol pada usus.

Peningkatan produksi asam empedu akan menghasilkan radikal bebas sebagai hasil sampingan sehingga radikal bebas terbentuk secara berlebihan pada kondisi hiperkolesterolemia. Bila produksi radikal bebas terjadi secara berlebihan enzim antioksidan tubuh tidak mampu mengatasi, sehingga radikal bebas akan terbentuk secara terus menerus pada kondisi hiperkolesterolemia (Wresdiyati dan Astawan, 2005).

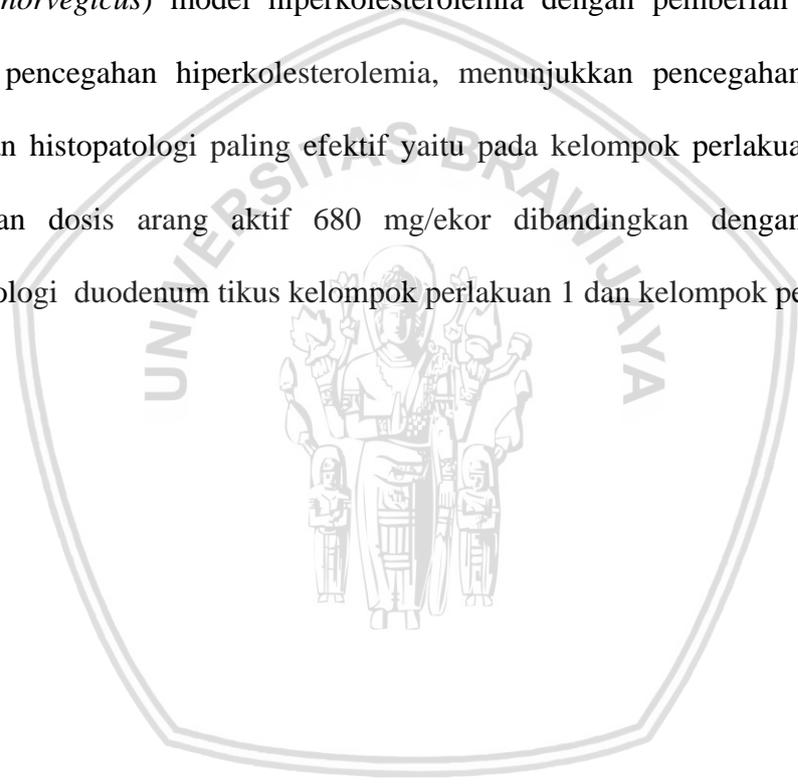
Pada kondisi hiperkolesterolemia kadar LDL akan meningkat, LDL yang tidak terlindungi oleh antioksidan akan mudah termutasi oleh proses oksidasi. Perubahan LDL (*Low Density Lipoprotein*) menjadi bentuk LDL teroksidasi yang

diperantarai oleh radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Sayuti dan Yenrina, 2015). Peningkatan radikal bebas yang terbentuk memicu kerusakan ikatan lipid bilayer membran sel. Ikatan membran lipid bilayer yang rusak berakibat pada ketidakmampuan sel dalam mempertahankan keutuhan membran, sehingga terjadi destruksi sel-sel epitel silindris (Mayoral et al, 2000). Kerusakan pada tunika mukosa duodenum memicu kemunculan sel-sel inflamasi. Kerusakan yang muncul menyebabkan hipertropi sel goblet. Menurut Frappier (2006), sel goblet berfungsi sebagai cairan mukus yang digunakan untuk sterilisasi makanan.

Arang aktif berfungsi untuk menghentikan reaksi berantai peroksidasi dari lipid dengan cara menghambat absorpsi kolesterol oleh usus. Arang aktif memiliki pori-pori yang dapat menyerap kolesterol yang bermolekul besar sebelum diserap oleh tubuh. Mekanisme peristiwa adsorpsi berlangsung dengan cara molekul adsorbat (kolesterol) berdifusi melalui suatu lapisan batas ke permukaan luar adsorben (arang aktif) secara difusi eksternal, sebagian ada yang teradsorpsi di permukaan luar, sebagian besar berdifusi lanjut didalam pori-pori adsorben secara difusi internal (Setyaningsih, 1995). Kolesterol yang telah diadsorpsi oleh arang aktif akan dibuang bersama feses. Sehingga, kolesterol dapat diserap oleh arang aktif sebelum mengalami penyerapan oleh duodenum, dan kerusakan gambaran histopatologi duodenum dapat dicegah. Hasil SEM arang aktif yang digunakan dalam penelitian menunjukkan bahwa rata-rata diameter pori-pori arang aktif adalah 4,23 μm (**Lampiran 8**), sedangkan diameter kilomikron menurut Kane JP

dan Malloy MJ (2000) adalah 80-500 nm atau 0,08-0,5 μm , hal ini menunjukkan arang aktif efektif dalam menyerap kolesterol.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa arang aktif dapat mencegah kerusakan tunika mukosa pada duodenum tikus coba tanpa menimbulkan efek samping. Dari hasil pengamatan gambaran histopatologi duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia dengan pemberian arang aktif sebagai pencegahan hiperkolesterolemia, menunjukkan pencegahan kerusakan gambaran histopatologi paling efektif yaitu pada kelompok perlakuan 2 dengan pemberian dosis arang aktif 680 mg/ekor dibandingkan dengan gambaran histopatologi duodenum tikus kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 3.



BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian preventif arang aktif dapat menghambat kenaikan kadar LDL darah serta dapat mencegah kerusakan erosi epitel dan hipertrofi sel goblet duodenum pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet hiperkolesterol dengan dosis pemberian arang aktif paling efektif yaitu 680 mg/ekor/hari.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian arang aktif dengan dosis yang lebih bervariasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia serta diharapkan arang aktif dapat diaplikasikan pada hewan lain untuk mencegah terjadinya hiperkolesterolemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, J. M. F. 2005. *Meningkatkan Kolesterol HDL, Paradigma Baru Penatalaksanaan Dislipidemia*. *J. Med. Nus.* 26: 200-4.
- Agustina, S. 2004. *Kajian Proses Aktivasi Ulang Arang Aktif Bekas Adsorpsi Gliserin dengan Metode Pemanasan*. [Tesis]. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Alexandru, I. 2011 *Experimental Use of Animals in Research Spa*. *Balneo-Res. Journal.* 2(1): 65-9.
- Alwiyah, Sayidatu. 2012. *Perbedaan Kadar Low Density Lipoprotein (LDL) Darah Tikus Wistar (Rattus Norvegicus) Jantan Setelah Dipapar Stresor Rasa Sakit Renjatan Listrik* [Skripsi]. Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Arauna, Y., Aulann'am, dan D.A. Oktavianie. 2013. *Studi Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologis Hepar Hewan Model Tikus (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia Yang Diberi Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (Dendrothoe pentandra)*. *S. J. Vetschool Universitas Brawijaya.* 2(3):1-8.
- Archer, W. et al. 2003. *High Carbohydrate and High Monounsaturated Fatty Acid Diets Similary Affect LDL Electroforetic Characteristic in Men Who Are Losing Weight*. USA. American Society for Nutritional Sciences: 3124-3126:
- Aulanni'am, R. Anna dan N.L. Rahma. 2011. *Potensi Fraksi Etanol dan Etil Asetat Rumput Laut Coklat (Sargassum duplicatum Bory) Terhadap Penurunan Kadar Malondialdehid dan Perbaikan Gambaran Histologis Jejunum Usus Halus Tikus IBD (Inflammatory Bowel Disease)*. Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan*, Vol. 4, No. 1, Februari 2011.
- Azhar, Lailaturrizqiyah Aninda. 2015. *Yoghurt Susu Kambing Sebagai Tindakan Preventif Hiperkolesterolemia Melalui Pengukuran Kadar Malondialdehyde (MDA) dan Ekspresi Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) Ginjal Tikus (Rattus norvegicus)* [Skripsi]. Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Malang.

- Balqis, U., Darmawi, dan M. Hambal. 2011. *Goblet Cell Response Against Parasitic Disease in Laying Hens Treated With Excretory/secretory of Ascaridia galli*. Ukm-Bangi, Malaysia
- Brown MS dan Goldstein. 1994. *The Hyperlipoprotein And Orther Disorders Of Lipid Metabolism*. In : *Harrison's Principle of Internal Medicine*. 13th ed. New York : 2040-61.
- Corwin, E. J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. EGC. Jakarta.
- Diyanti, Sumawar. 2015. *Hubungan Antara Hiperkolesterolemia Dengan Penderitaacute Coronary Syndrome Di RSUP Haji Adam Malik Medan Tahun 2014* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Droge, W., 2002. Free Radicals in thePhysiological Control of Cell Function.*Journal* 82: pp.47-95.
- Eddleston, Michael et al. "Multiple-Dose Activated Charcoal in Acute Self-Poisoning: A Randomised Controlled Trial." *Lancet* 371.9612 (2008): 579–587. PMC. Web. 17 May 2017.
- Eroschenko, v diFiore's. 2003. *Atlas of Histology with Functional Correlations* 9 terjemahan. Tambayong J ed. Jakarta : EGC, ; p.196-197
- Evika.2011. Penggunaan Adsorben Arang Aktif Tempurung Kelapa pada Pemurnian Minyak Goreng Bekas.[*Skripsi*]. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.Pekanbaru.
- Frappier, B.L. 2006. *Digestive System*. Di dalam J.A. Eurell dan B.L. Frappier, editor. *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*. Edisi Ke-6. Oxford: Blakwell Publishing. Halaman 170-211.
- Friedewald, W.T. 1972. *Estimation of The Concentration of Low Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of The Preparative Ultracentrifuge*. NCBI PubMed Medline.
- Gani, N., I. Lidya dan P. Mariska. 2013. Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (*Abelmoschus manihot L.*). <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmou>. Manado. Jurusan Kimia FMIPA Unsrat.Diakses pada tanggal 29 November 2016.

- Guo, J., Y. Luo, A.C. Lua, R.A. Chi, Y.L. Chen, X.T. Bao, and S.X. Xiang. 2007. Adsorption of Hydrogen Sulphide (H₂S) by Activated Carbons Derived from Oil-palm Shell. *Carbon Journal*. 45:330-336.
- Hanafi, Muhammad. 2007. *Metabolisme Lipida*. Surabaya: FK UNAIR
- Hendarsyah, Faddy. 2014. *Perbandingan Pengaruh Pemberian Extra Virgin Olive Oil, Madu Dan Kombinasi Extra Virgin Olive Oil Dan Madu Terhadap Kadar High Density Lipoprotein Darah Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Jantan Galur Sprague Dawley Yang Diinduksi Diet Tinggi Kolesterol [Skripsi]*. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Lampung.
- Heslet, L. 1996. *Kolesterol*. Terjemahan Anton Adiwijoto. Jakarta: PT. Kesaint Blanc Indah.
- Hussein FN. 2008. *Anesthesia and Euthanasia in Laboratory Animals. Workshop on the Care and Use of Lab An Res.* Collaboration Fac.Vet.Med. Airlangga Univ. and Fac.Vet. Med. UPM. Surabaya.
- Ibrahim, Agus Malik. 2014. *Peran Glukomanan-Arang Aktif Sebagai Hipokolesterolemik Pada Tikus Sprague Dawley*. Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Jeusette I.C., Estelle T. L., Louis P. 2005. Influence of Obesity on Plasma Lipid and Lipoprotein Concentrations in Dogs. *Am J Vet Res. Vol 66. No 1.*:81–86. Animal Nutrition Unit, Veterinary Faculty, University of Liege. Belgium.
- Junqueira LC, Carneiro J. 2007. *Histologi Dasar Teks dan Atlas*. 10th ed. Jakarta: EGC;
- Kane, J.P, dan Malloy M.J. 2000. *Remnant of Lipoproteins of Intestinal and Hepatic Origin in Familial Dysbetalipoproteinemia*. Journal of The American Heart Association.
- Kowalski, Robert. 2010. *Terapi Hipertensi: Program 8 minggu Menurunkan Tekanan Darah Tinggi*. Alih Bahasa: Rani Ekawati. Qanita Mizan Pustaka. Bandung.
- Kurniati, Elly. 2008. *Pemanfaatan Cangkang Kelapa Sawit Sebagai Arang Aktif. Teknik Kimia FTI – UPN "Veteran"*. Jawa Timur. Jurnal Penelitian Ilmu Teknik, Vol.8, No.2.

- Lapus, Robert Michael. 2007. *Activated charcoal for pediatric poisonings: the universal antidote?* Curr Opin Pediatr 19:216–222. Lippincott Williams & Wilkins.
- Larasathi, Anggun Sasnita. 2014. *Pengaruh Terapi Yoghurt Susu Kambing Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Ekspresi Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) Organ Hati Hewan Model Tikus (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia* [Skripsi]. Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Malang
- Lempang, M. dan H.Tikupadang. 2014. Pembuatan dan Kegunaan Arang Aktif. *Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea* 2 (2): 121-137. Balai Penelitian Kehutanan Makassar, Makassar.
- Lichtenstein, A.H. 2006. Diet And Lifestyle Recommendations Revisited. *A scientific statement from the American heart association nutrition committee*. Circulation. 114:82-96.
- Lowry, J.A. 2008. *Use of Activated Charcoal in Pediatric Populations*. The Children's Mercy Hospitals and Clinics. Kansas City.
- Mahley, R.W., and Bersot, T.P. 2008. *Terapi Obat Untuk Hiperkolesterolemia dan Dislipidemia*. Dalam: Gilman, A.G., Hardman, J.G., dan Limbird, L.E. 2008. *Goodman dan Gilman Dasar Farmakologi dan Terapi. Edisi 10, Volume I*. Terjemahan Oleh: Cucu Aisyah, Ella Elviana, Winny Syarief, Amalia Hanif, dan July Manurung. Jakarta: EGC. Hal. 962-968.
- Manocha, S. 2003. *Porous carbon*. Sadhana 28 (1-2): 335-348.
- Manullang, W.P. 2014. 1,2-Dimetil-1,1,2,2-Tetrafenildisilana Sulfonat Sebagai Katalis Reaksi Transesterifikasi Cpo (Crude Palm Oil) Berkadar Asam Lemak Bebas Tinggi Untuk Menghasilkan Biodiesel. [Skripsi]. FMIPA Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Mayes, Peter A. 2003. *Pengangkutan dan Penyimpanan Lipid dalam* : Murray et al, editor : Biokimia Harper. Edisi 25. Jakarta : EGC. Hal 254, 260-262.
- Mayoral W, Salcedo JA, Montgomery E. 2000. *Biliary Obstruction And Pancreatitis Caused by Brunner's Gland Hyperplasia of The Ampulla of Vater: A Case Report And Review Of The Literature*. Endoscopy;32(12):998–1001.
- Murray.R.K., Granner, and Rodwell. 2003. *Biokimia Harper Edisi 25*. Penerjemah: Andry Hartono. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

- Nafrialdi, S. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi ke-5*. Gaya Baru, Jakarta.
- Napitupulu, Albert. 2009. *Impregnasi Karbon Aktif Dengan Sulfida Untuk Mengikat Ion Tembaga (II) Dan Kadmium (II) Di Dalam Air* [Tesis]. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Pangestika, Andhika. 2014. *Efek Terapi Yoghurt Susu Kambing Terhadap Ekspresi Tumour Necrosis Factor Alpha (TNF- α) dan Gambaran Histopatologi Aorta Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia* [Skripsi]. Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Malang.
- Price, S. A. dan Wilson, L. M. (2006). *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit, Edisi 6, Volume 1*. EGC. Jakarta.
- Pujiyanto. 2010. *Pembuatan Karbon Aktif Siper Dari Batu Bara dan Tempurung Kelapa* [Tesis]. Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Jakarta.
- Samuelson, D. A., 2007, *Textbook of Veterinary Histology*. Saunders ElSevier.
- Sayuti, Kesuma dan Rina Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang : Andalas University Press.
- Setiati, E. 2009. *Bahaya Kolesterol, Mengenal, Mencegah dan Menanggulangi Kolesterol*. Dokter Books. Yogyakarta. hlm. 31-32, 36.
- Setyaningsih, H. 1995. *Pengolahan Limbah Batik dalam Proses Kimia dan Adsorpsi Karbon Aktif*. [Tesis]. Program Pascasarjana. UI Jakarta.
- Sharp, P., dan Villano, J., 2013. *The Laboratory Rat, Edisi 2*. CRC Press. California. Page 9-11.
- Siregar, Arif Siddiq. 2015. *Uji Klinis Pendahuluan Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak Herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata* (Burm F) Ness) Dan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp) Pada Pasien Hiperkolesterolemia* [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Sirois, M. 2005. *Laboratory Animal Medicine*. United of State America: Mosby. Inc. Hlm 87-115.
- Snell R. 2006. *Clinical Anatomy for Medical Student*. ed 6 terjemahan. Hartanto H ed. Jakarta: EGC,; p.223-226

- Suckow, M. A., S. H. Weisbroth, and C. L. Franklin. 2006. *The Laboratory Rat Edisi 2*. American College of Laboratory Animal Medicine Series. Page 101-104.
- Suryaatmadja, M dan Silman, E. 2006. *Diagnosa Laboratorium Kelainan Lemak Darah*. CDK 30: 14-6
- Suyatna, F.D. 2007. Dalam : Sulistia G.G. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta : Badan Penerbit FK Universitas Indonesia. p : 373-378
- Usman, Meutia. 2014. *Pengaruh Konsumsi Buah Alpukat (Persea Americana Mill.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Pada Pasien Hiperkolesterol Di Wilayah Kerja Puskesmas Padang Pasir Kota Padang Tahun 2013* [Skripsi]. Fakultas Keperawatan Universitas Andalas. Padang.
- Vodjani, A. 2003. *How Probiotics Help Lower Cholesterol*. www.natren.com. Diakses pada tanggal 29 November 2016.
- Wedhasari, Asri. 2014. *Peran Antioksidan Bagi Kesehatan*. Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Balitbangkes, Kemenkes RI.
- Wresdiyati, T. dan M. Astawan. 2005. *Deteksi Secara Imunohistokimia, Superoksida Dismutase (SOD) pada Jaringan Tikus Hiperkolesterolemia Yang Diberi Pakan Rumput Laut*. [Laporan Penelitian]. Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Bogor.
- Xenoulis, P. G. and J. M. Steiner. 2010. *Lipid Metabolism and Hyperlipidemia in Dog*. *The Veterinary Journal* 183. College of Veterinary Medicine and Biomedical Science. Texas A&M University.
- Xu, ZR. *Effects of Dietary Fructooligosaccharide on Digestive Enzyme Activities, Intestinal Microflora and Morphology of Male Broilers*. China : Poultry Sci.