

**PENGARUH EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis
angulata L.*) TERHADAP JUMLAH SEL BUSA (*Foam Cell*)
PADA AORTA TIKUS GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*)
MODEL PREEKLAMSI dengan INDUKSI L-NAME**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

Sami' Irma Lydiawati

NIM 155070101111004

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata L.*) TERHADAP JUMLAH SEL BUSA (*Foam Cell*) PADA AORTA TIKUS GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*) MODEL PREEKLAMSI dengan INDUKSI L-NAME

Oleh:

Sami' Irma Lydiawati

NIM 155070101111004

Telah diuji pada
Hari : Senin
Tanggal : 8 April 2019
dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

Dr. Khuznita Dasa Sp. THT KL
NIP. 2016098211102001

Pembimbing-I/Penguji-II,

Pembimbing-II/ Penguji-III,

Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.kes
NIP. 195210271981032001

dr. Elly Mayangsari, M.Biomed
NIP. 198405162009121005

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter,

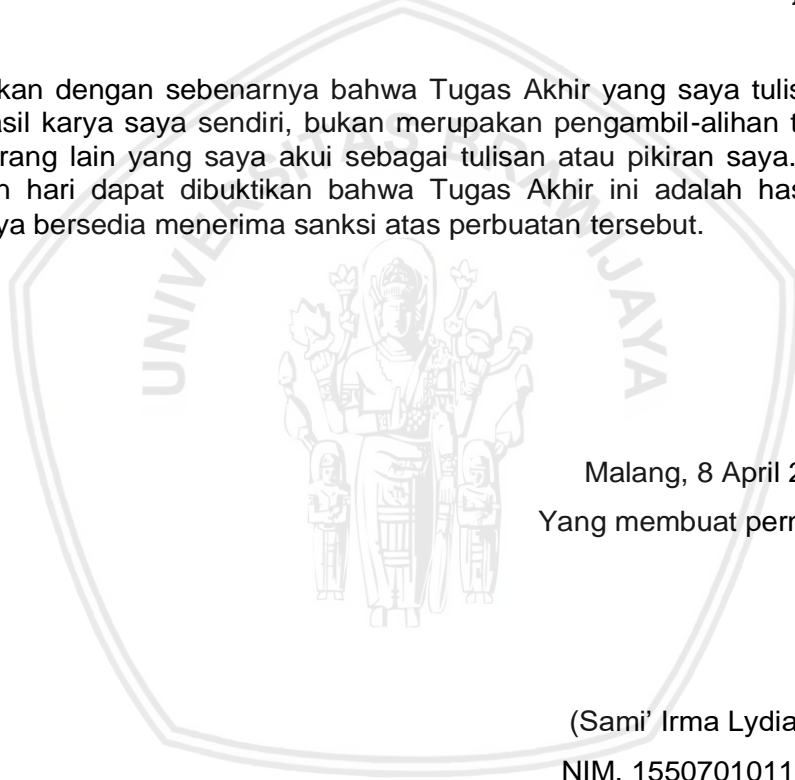
dr. Tri Wahyu Astuti, M.Kes., Sp. P(K)
NIP 196310221996012001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sami' Irma Lydiawati
NIM : 155070101111004
Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.



Malang, 8 April 2019
Yang membuat pernyataan,

(Sami' Irma Lydiawati)
NIM. 155070101111004

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat, petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul "Pengaruh Ekstrak Daun Ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap Jumlah Sel Busa (*Foam Cell*) pada Aorta Tikus Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*) Model Preeklamsia dengan Induksi L-NAME". Tujuan penyusunan Tugas Akhir ini untuk memenuhi persyaratan dalam memperoleh gelar sarjana kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya pengaruh ekstrak daun ciplukan terhadap pencegahan peningkatan sel busa pada aorta tikus hamil model preeklamsia dengan induksi L-NAME.

Dalam penyusunan Tugas Akhir ini telah melibatkan banyak pihak yang membantu banyak hal. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes, sebagai pembimbing pertama yang telah membimbing, memberi masukan dan mendampingi penulis dalam penyusunan Tugas Akhir serta senantiasa memberi dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
2. dr. Elly Mayangsari, M.Biomed sebagai pembimbing kedua yang telah membimbing dan memberi masukan kepada penulis dalam penyusunan Tugas Akhir dan senantiasa memberi dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. dr. Khuznita Dasa Sp.THT KL sebagai penguji tugas akhir yang telah memberikan masukan dan saran kepada penulis mengenai Tugas Akhir ini.

4. Dr.dr. Sri Andarini, M.Kes sebagai dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang memberikan penulis kesituyhgjhjhempatan untuk menuntut ilmu
5. dr. Tri Wahyu Astuti, M.Kes., Sp. P(K) sebagai Ketua Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. yang telah membimbing penulis dalam menuntut ilmu
6. Seluruh Dosen dan Staf di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan ilmu dan arahan kepada penulis selama menjalani pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
7. Para laboran di laboratorium Farmakologi dan Lab Patologi yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.
8. Ayahanda dan Ibunda tercinta atas segala doa, kasih sayang, motivasi dan dukungannya.
9. Seluruh teman, rekan dan sahabat termasuk seluruh teman seperjuangan Pendidikan Dokter angkatan 2015 FKUB dan teman-teman yaitu Faizah, Dela, Mitha, Zalfa, Salsabila, Zuke, Lisa, Isna, Sofi, Nila, dan Thea yang senantiasa memberikan semangat dan dukungan.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan Tugas Akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis sadar bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis menerima segala saran dan kritik yang membangun. Semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 8 April 2019

Penulis

ABSTRAK

Irma, Sami. 2018. *Pengaruh Ekstrak Daun Ciplukan (Physalis angulata L.) terhadap Jumlah Sel Busa (Foam Cell) pada Aorta Tikus Galur Wistar (Rattus Norvegicus) Model Preeklamsia dengan Induksi L-NAME*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) dr. Setyawati, M.Biomed (2) Elly Mayangsari, M.Biomed

Peningkatan vasokonstriksi pada pembuluh darah mengakibatkan disfungsi endotel disebabkan oleh penurunan nitrit oksida dapat disertai kelainan metabolisme lipid sehingga menyebabkan peningkatan tekanan darah terutama pada ibu hamil. Peningkatan tekanan darah dapat dimodifikasi pada mencit dengan menggunakan L-NAME. L-NAME dapat menyebabkan gangguan produksi pada nitrit oksida sehingga memicu terjadinya vasokonstriksi berlebihan karena penurunan vasodilator. Vasokonstriksi berlebihan dapat menyebabkan pembentukan ROS sebagai respon dari inflamasi pada endotel aorta. Inflamasi dan vasokonstriksi berlebihan pada aorta menyebabkan disfungsi endotel yang meningkatkan ROS memicu oksidasi lipid membentuk sel busa, sel ini terbentuk dari mekanisme ROS yang berlebihan sebagai respon terjadinya inflamasi pada aorta. Selain itu kelainan metabolisme lipid juga ikut berperan dalam proses pembentukan sel busa melalui fagositosis oleh makrofag. Selama ini pengobatan preeklamsia menggunakan $MgSO_4$, untuk itu dilakukan penelitian mengenai tanaman ciplukan. Ekstrak daun ciplukan memiliki kandungan flavonoid dan polifenol yang dapat menurunkan jumlah sel busa sebagai respon protektif sel aorta. Tujuan penelitian ini adalah menurunkan jumlah sel busa pada aorta. Penelitian ini menggunakan metode pengamatan mikroskopis sediaan histopatologi aorta dengan pengecatan HE. Ditemukan gambaran sel lipid berwarna putih kemerahan. Kelompok I adalah kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan apapun, kelompok 2 adalah kontrol positif yang diinduksi L-NAME saja pada hari ke 5-17 kehamilan, sedangkan kelompok 3, 4 dan 5 merupakan kelompok tikus perlakuan yang diinduksi L-NAME dan diberi ekstrak daun ciplukan sesuai dosis yang ditentukan secara per oral. Hasil penelitian menunjukkan jumlah sel busa terbanyak pada control positif dan penurunan jumlah sel busa terdapat pada kelompok 3, 4 dan 5. Analisis data dengan uji *One-Way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada setiap perubahan konsentrasi ekstrak terhadap penurunan jumlah sel busa dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Dari hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun ciplukan dapat memiliki aktivitas antioksidan melalui penurunan jumlah sel busa

Kata Kunci: Preeklamsia, L-NAME, aorta, sel busa, daun ciplukan

ABSTRACT

Irma, Sami 2018. *Effect of Ciplukan Leaf Extract (Physalis minima L.) on the Number of Foam Cells in the Preortal Model of Wistar (Rattus Norvegicus) Aorta with L-NAME Induction. Final Project, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Advisors: (1) dr. Setyawati, M.Biomed (2) Elly Mayangsari, M.Biomed*

Increased vasoconstriction in blood vessels results in endothelial dysfunction caused by a decrease in nitric oxide which can be accompanied by abnormalities of lipid metabolism which causes an increase in blood pressure especially in pregnant women. Increased blood pressure can be modified in mice using L-NAME. L-NAME can cause production disruption in nitric oxide, leading to excessive vasoconstriction due to decreased vasodilators. Excessive vasoconstriction can cause the formation of ROS in response to inflammation of the aortic endothelium. Excessive inflammation and vasoconstriction in the aorta causes endothelial dysfunction that increases ROS triggers lipid oxidation to form foam cells, these cells are formed from excessive ROS mechanisms in response to inflammation of the aorta. In addition, abnormalities of lipid metabolism also play a role in the process of foam cell formation through phagocytosis by macrophages. During this time the treatment of preeclampsia using MgSO₄, for that research was conducted on ciplukan plants. Ciplukan leaf extract contains flavonoids and polyphenols which can reduce the number of foam cells as a protective response to aortic cells. The purpose of this study was to reduce the number of foam cells in the aorta. This study used the microscopic observation method of histopathological preparations for the aorta by painting HE. Reddish white lipid cells were found. Group I was negative control that was not given any treatment, group 2 was positive control that was induced by L-NAME only on the 5-17 day of pregnancy, while groups 3, 4 and 5 were groups of treated rats induced by L-NAME and were given leaf extract ciplukan according to the dosage determined orally. The results showed that the highest number of foam cells in the positive control and the decrease in the number of foam cells were in groups 3, 4 and 5. Data analysis with the One-Way ANOVA test showed that there were significant differences in each change in extract concentration with a decrease in the number of foam cells with a significance value amounting to 0,000 ($p < 0.05$). From the results of this study, it can be concluded that ciplukan leaf extract can have antioxidant activity by decreasing the number of foam cells

Keywords: Preeclampsia, L-NAME, aorta, foam cells, ciplukan leaves

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--------------------------------------|---------|
| Judul..... | i |
| Halaman Pengesahan | ii |
| Pernyataan Keaslian Tulisan | iii |
| Kata Pengantar | iv |
| Abstrak | vi |
| Abstract..... | vii |
| Daftar Isi | viii |
| Daftar Tabel | xi |
| Daftar Gambar | xii |
| Daftar Lampiran | xiii |
| Daftar Singkatan | xiv |
| | |
| BAB 1 PENDAHULUAN | |
| 10.1 | L |
| atar Belakang | 1 |
| 10.2 | R |
| umusan Masalah | 4 |
| 10.3 | T |
| ujuan Penelitian | 4 |
| 10.4 | M |
| manfaat Penelitian | 4 |
| 10.4.1 Manfaat Akademik..... | 4 |
| 10.4.2 Manfaat Praktis | 4 |
| | |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Preeklamsia..... | 6 |
| 2.1.1 Definisi Preeklamsia | 6 |
| 2.1.2 Etiologi..... | 7 |
| 2.1.3 Faktor Resiko | 8 |
| 2.1.4 Patofisiologi Preeklamsia..... | 8 |
| 2.2 LNAME | 11 |
| 2.3 Aorta | 12 |
| 2.3.1 Anatomi Aorta | 12 |
| 2.3.2 Histologi Aorta..... | 15 |



| | | |
|-------|---------------------------------|----|
| 2.3.4 | Sel Endotel Aorta..... | 17 |
| 2.3.2 | Nitrit Oksida..... | 17 |
| 2.4 | Tanaman Ciplukan..... | 18 |
| 2.4.1 | Taksonomi Ciplukan..... | 19 |
| 2.4.2 | Tanaman Ciplukan..... | 19 |
| 2.4.3 | Kandungan Senyawa Ciplukan..... | 20 |
| 2.5 | Sel Busa..... | 21 |
| 2.6 | Antioksidan dan Oksidan..... | 23 |

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

| | | |
|-----|--|----|
| 3.1 | Kerangka Konsep..... | 25 |
| 3.2 | Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian..... | 26 |
| 3.3 | Hipotesis Penelitian..... | 28 |

BAB 4 METODE PENELITIAN

| | | |
|-------|--|----|
| 4.1 | Rancangan Penelitian..... | 29 |
| 4.2 | Populasi dan Sampel..... | 31 |
| 4.3 | Variabel Penelitian..... | 32 |
| 4.4 | Tempat dan Waktu Penelitian..... | 32 |
| 4.5 | Bahan dan Alat..... | 33 |
| 4.5.1 | Bahan..... | 33 |
| 4.5.2 | Alat..... | 34 |
| 4.6 | Definisi Operasional..... | 37 |
| 4.7 | Prosedur Penelitian..... | 38 |
| 4.7.1 | Ekstraksi Daun Ciplukan..... | 38 |
| 4.7.2 | Penentuan Dosis EDC..... | 38 |
| 4.7.3 | Persiapan Hewan Coba..... | 38 |
| 4.7.4 | Pemberian EDC pada Tikus..... | 38 |
| 4.7.5 | Pengambilan Organ Aorta..... | 38 |
| 4.7.6 | Pembuatan Slide Histopatologi..... | 39 |
| 4.8 | Prosedur Pengambilan dan Analisis Data..... | 40 |
| 4.8.1 | Pengumpulan Data..... | 40 |
| 4.8.2 | Perhitungan Jumlah Sel Busa dan Sediaan Histopatologi..... | 40 |
| 4.8.3 | Pengukuran Tekanan Darah..... | 41 |



| | |
|--|----|
| 4.8.4 Teknik Analisa Data..... | 42 |
| BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA | |
| 5.1 Hasil Penelitian | 43 |
| 5.2 Analisa Data..... | 45 |
| 5.2.1 Normalitas Distribusi Data | 45 |
| 5.2.2 Homogenitas Data | 46 |
| 5.2.3 One Way Annova..... | 46 |
| 5.2.4 Post Hoc Tukey..... | 46 |
| BAB 6 PEMBAHASAN | |
| 6.1 Pembahasan Hasil Penelitian..... | 47 |
| BAB 7 PENUTUP | |
| 7.1 Kesimpulan | 53 |
| 7.2 Saran..... | 53 |
| Daftar Pustaka | 54 |
| Lampiran | 56 |



DAFTAR TABEL

Halaman

| | |
|---|----|
| Tabel 5.1 Data Rerata Jumlah Sel Busa Aorta Tikus Wistar Masing-Masing Kelompok Penelitian | 44 |
|---|----|



DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| Gambar 2.1 Anatomi Aorta | 12 |
| Gambar 2.2 Histologi Aorta | 15 |
| Gambar 2.3 Pengukuran Tekanan darah..... | 41 |
| Gambar 2.4 Histopatologi Aorta | 4 |
| Gambar 2.5 Data Rerata Jumlah Sel Busa..... | 45 |



DAFTAR LAMPIRAN

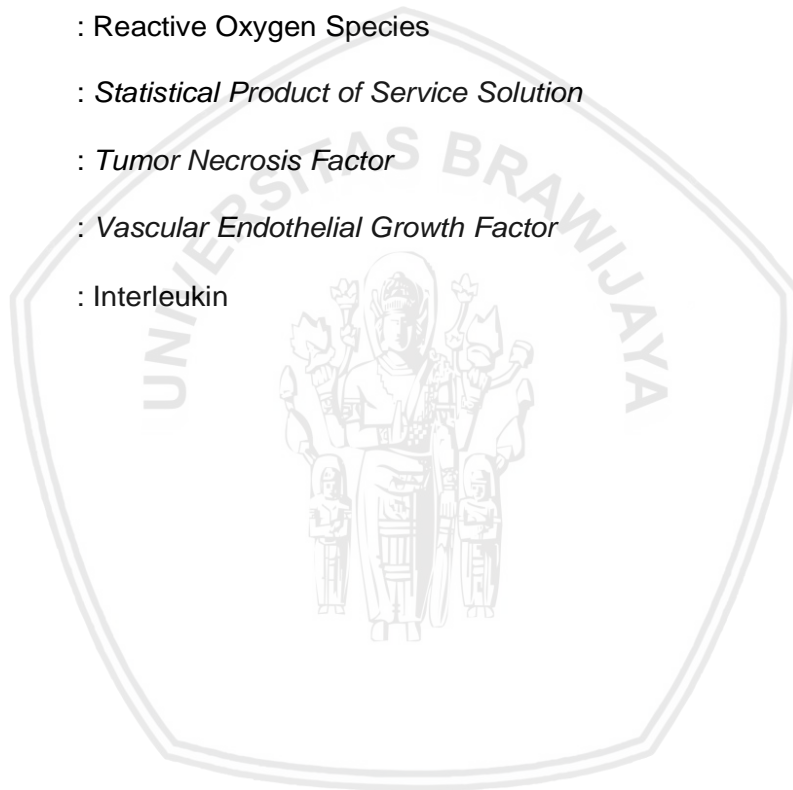
Lampiran 1. Hasil Uji ANOVA..... 65

Lampiran 2. Surat Keterangan Kelaikan Etik 70



DAFTAR SINGKATAN

| | |
|-------------------|--|
| ANOVA | : <i>Analysis of Variance</i> |
| RAAS | : Renin Angiotensin Aldosteron System |
| dkk | : dan kawan-kawan |
| MgSO ₄ | : Magnesium Sulfat |
| ROS | : Reactive Oxygen Species |
| SPSS | : <i>Statistical Product of Service Solution</i> |
| TNF | : <i>Tumor Necrosis Factor</i> |
| VEGF | : <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> |
| IL | : Interleukin |



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut WHO, preeklamsia merupakan penyakit hipertensi pada kehamilan, 30% insiden preeklamsia termasuk penyebab kematian ibu dan perinatal di seluruh dunia. Preeklamsia pada kehamilan ditandai dengan adanya hipertensi (Walker,2011; North et al.,2011). Preeklamsia dibedakan menjadi ringan dan berat, sesuai dengan tingkat keparahan dan jenis gejala (Cunningham, 2013).

Preeklamsia banyak disebabkan oleh beberapa faktor seperti vasokonstriksi pembuluh darah, kegagalan remodeling arteri spiralis, hipoksia, kelainan metabolisme lipid, inflamasi, dan disfungsi endotel. Salah satu faktor pemicu proses terjadinya preeklamsia yaitu kekurangan nitrit oksida (Giardina JB *et.al.*, 2010). Sel endotel memproduksi nitrit oksida sebagai vasodilator untuk mengontrol aliran darah dan zat endotelin yang mengakibatkan kontraksi otot polos arteriol (Lauralee, 2013).

Kekurangan nitrit oksida selama kehamilan meningkatkan vasokonstriksi pembuluh darah, mengurangi sirkulasi *uteroplacenta* dan meningkatkan faktor humoral pada sirkulasi kehamilan seperti peningkatan ROS dan meningkatkan permeabilitas kapiler memicu terjadinya disfungsi endotel sehingga tekanan darah meningkat disertai proteinuria (Matsubara, 2015). Vasokonstriksi pembuluh darah menyebabkan kegagalan remodeling arteri spiralis karena mengganggu sirkulasi *uteroplacenta* selama implantasi dan mengakibatkan hipoksia. Keadaan hipoksia ini memicu proses inflamasi. Sitokin pro inflamasi seperti TNF α dan IL-6 menyebabkan disfungsi endotel (Giardina JB *et.al.*, 2010). Disfungsi endotel menurunkan availabilitas NO dan meningkatkan ROS sehingga meningkatkan tekanan darah (Lubos *et.al.*, 2008). ROS juga

menyebabkan disfungsi endotel (Gilbert *et.al.*, 2008). ROS yang meningkat akan mengalami oksidasi dengan lipid dan memicu pembentukan sel busa (Katabuchi *et.al.*, 2012).

Selain itu proses metabolisme ibu hamil berbeda dengan orang normal, terutama metabolisme lipid. Kondisi kehamilan sering menyebabkan kondisi hiperlipidemia (Herrera, 2014). Perubahan fisiologi lipid selama kehamilan untuk mencukupi nutrisi bagi janin (Sarah & Robert, 2018). Kondisi preeklamsia dapat disertai comorbid gangguan metabolisme lipid seperti terjadi peningkatan TG dan FFA. Pada ibu hamil dengan preeklamsia sering mengakibatkan peningkatan lipoprotein. Peningkatan lipoprotein dapat mengganggu keseimbangan TG, HDL, VLDL terutama LDL (Aghade, 2017). Berdasarkan penelitian Aghade *et.al.*, juga terdapat peningkatan TG, VLDL terutama LDL dan penurunan HDL secara signifikan pada percobaan model tikus preeklamsia. Lipoprotein lipase sangat penting untuk mencerna TG, VLDL dan LDL. Jika menurun maka TG, VLDL dan LDL di jaringan akan meningkat dan apabila LDL teroksidasi maka akan membentuk sel busa sebagai tanda terjadinya atherosclerosis akut. Atherosclerosis akut ini dapat menjadi faktor predisposisi atherosclerosis (Aghade, 2017). Peningkatan plasma TG secara signifikan diikuti peningkatan LDL. Peningkatan FFA juga berkontribusi menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel memicu terjadinya lipid peroksidasi melalui peningkatan ROS. Penyebab preeklamsia masih belum jelas dan dapat disebabkan beberapa faktor lain (Gilbert *et.al.*, 2008). Pada kondisi preeklamsia terjadi penurunan HDL dan peningkatan LDL. Disfungsi endotel meningkatkan ROS dan membentuk MDA. MDA merupakan hasil terakhir dari proses lipid peroksidasi. MDA merusak molekul LDL, kemudian difagosit oleh makrofag melalui *scavenger receptor* dan membentuk sel foam pada arteri spiralis. Ini merupakan proses awal dari terjadinya atherogenesis (Meera, 2010). Menurut penelitian Meera *et.al.*,

terdapat pembentukan sel busa pada arteri spiralis. Hal ini mendorong dilakukannya penelitian apakah ada kemungkinan terdapat pembentukan sel busa di pembuluh darah lainnya.

Pada penelitian ini digunakan L-NAME yang merupakan zat yang diinduksi pada tikus hamil sehingga menjadi tikus model preeklamsia. L-NAME mempengaruhi kinerja endotel pada aorta dengan menghambat eNOS sehingga produksi NO berkurang. Kekurangan NO pada dinding pembuluh darah dapat mengakibatkan berkurangnya kemampuan vasodilatasi untuk menurunkan tekanan darah dan mengakibatkan hipertensi dan menyebabkan disfungsi endotel (Phoulos, Thomas L. and Li, Huiying, 2013). Menurut Redman dan Sargent (2013), disfungsi endotel ini mengakibatkan peningkatan ROS dan penurunan NO sehingga vasokonstriksi pembuluh darah mengakibatkan tekanan darah meningkat.

Penelitian sebelumnya diketahui bahwa terapi definitif preeklamsia menggunakan magnesium sulfat (Prawirohardjo, 2008). Terapi alternatif masih jarang digunakan dikarenakan potensi kandungan zat dalam mencegah terjadinya pembentukan sel busa yang merupakan tanda atherosclerosis akut pada model tikus preeklamsia belum diteliti lebih lanjut. Penelitian ini menggunakan ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) sebagai pengobatan alternatif, dilakukan uji efektivitas antioksidan dari ekstrak daun ciplukan terhadap sel busa. Dari penelitian yang telah dilakukan, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, didapatkan hasil penelitian bahwa ciplukan memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antihiperlipidemia, antibakteri, antivirus, imunostimulan dan immunosupresan (imunomodulator), antiinflamasi, dan sitotoksik (Januario *et al.*, 2000). Adanya berbagai kandungan kimia pada *Physalis minima L* dan penggunaan secara empiris *Physalis angulata*, yang memiliki kandungan alkaloid dan polifenol yang

sama dengan *Physalis minima L* sebagai antioksidan (Tarannita, Citra, Permatasari, Nur & Sudiarto, 2009).

Penelitian Baedowi, ekstrak daun ciplukan digunakan sebagai antiinflamasi dan antioksidan serta memiliki efektivitas dalam antihiperqlikemi pada sel B pancreas. Kandungan ekstrak daun ciplukan yang digunakan sebagai antioksidan adalah fenol dan flavonoid, zat tersebut dapat mencegah proses oksidasi sehingga menurunkan jumlah radikal bebas pada sel radang (Krishna M, 2013). Pada kultur sel endotel (HUVECs), pemberian ekstrak daun ciplukan dapat memicu sinyal transduksi Ca^{2+} , ekspresi *endothelial nitric oxide* (eNOS) dan *nitric oxide* (NO). Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun ciplukan kemungkinan merangsang transkripsi gen yang berperan pada ekspresi eNOS, sehingga dapat diduga bahwa ekstrak daun ciplukan bekerja serupa dengan antioksidan (Tarannita, Citra, Permatasari, Nur & Sudiarto, 2009).

Berdasarkan permasalahan diatas peneliti melakukan uji penelitian tentang pengaruh ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) untuk mencegah peningkatan sel busa pada aorta tikus betina model preeklamsia (*Rattus norvegicus strain wistar*) dengan induksi *L-name*. Jadi dengan demikian, daun ciplukan diharapkan dapat bekerja sebagai antioksidan pada aorta model tikus betina preeklamsia dengan induksi *L-name* melalui pengamatan jumlah sel busa.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata*) dapat mencegah peningkatan jumlah sel busa aorta pada tikus preeklamsia dengan induksi L-NAME.

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas maka tujuan dari penelitian membuktikan bahwa ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata*) dapat mencegah peningkatan jumlah sel busa aorta pada tikus model preeklamsia dengan induksi L-NAME.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Turut menyumbang pengembangan ilmu pengetahuan di bidang kesehatan.
2. Menambah referensi bacaan ilmiah yang dapat dijadikan kajian pustaka untuk penelitian atau penulisan karya ilmiah berikutnya yang terkait dengan efek ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata*).

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Memperluas pengetahuan masyarakat tentang efek dari daun ciplukan (*Physalis angulata*) sebagai antioksidan terhadap kondisi preeklamsia.
2. Mengenalkan daun ciplukan (*Physalis angulata L*) yang dapat digunakan sebagai obat herbal pencegah stres oksidatif endotel aorta melalui pengamatan penurunan sel busa (*foam cell*) pada model tikus betina preeklamsia dengan induksi *L-name*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Preeklamsia

2.1.1. Definisi Preeklamsia

Menurut WHO, preeklamsia merupakan penyakit hipertensi pada kehamilan dengan insiden yang sangat tinggi dan salah satu penyebab utama kematian ibu dan perinatal di seluruh dunia. Preeklamsia pada kehamilan ditandai dengan adanya hipertensi (Cunningham, 2013).

Menurut *American College of Obstetricians and Gynecologists*, hipertensi dalam kehamilan dikelompokkan menjadi empat kategori yaitu : preeklamsia-eklamsia, hipertensi kronik, hipertensi kronik dengan superimposed preeklamsia, dan hipertensi gestasional.

Preeklamsia terutama didefinisikan sebagai hipertensi gestasional ditambah proteinuria (300 mg atau lebih per 24 jam / periode). Jika koleksi urin 24 jam tidak tersedia, maka proteinuria didefinisikan sebagai konsentrasi minimal 300 mg / dL (setidaknya 1 dipstick). Preeklamsia dibedakan menjadi ringan dan berat, sesuai dengan tingkat keparahan dan jenis gejala. Bentuk ringan pre-eklamsia ditandai dengan sistolik tekanan darah (SBP) 140 mmHg atau tekanan darah diastolik (DBP) 90 mmHg, dan proteinuria > 300 mg / 24 jam. Bentuk parah preeklamsia ditandai oleh hipertensi berat (SBP> 160 mmHg atau DBP> 110 mmHg), atau proteinuria berat (> 2 g / 24 jam), atau tanda dan gejala kerusakan organ target (Cunningham, 2013). Wanita dengan pre-eklamsia berat dapat menyebabkan sakit kepala, gangguan visual (termasuk kebutaan), nyeri epigastrium, mual dan muntah, insufisiensi hati dan ginjal, dan edema paru (Goncalo,2018).

Menurut beberapa penelitian juga menjelaskan bahwa preeklampsia dianggap berat jika dengan keterlibatan multiorgan seperti paru edema, kejang, oliguria (kurang dari 500 mL per 24 jam periode), trombositopenia (jumlah trombosit kurang dari 100.000 / mm³), enzim hati yang tidak normal dengan nyeri epigastrium persisten atau nyeri kuadran kanan atas, atau gejala sistem saraf pusat yang terus-menerus berat (perubahan status mental, sakit kepala, penglihatan kabur atau kebutaan). Dengan tidak adanya proteinuria, preeklampsia dipertimbangkan dengan hipertensi gestasional dihubungkan dengan gejala serebral persisten, nyeri epigastrik atau nyeri kuadran kanan atas dengan mual atau muntah, atau trombositopenia dan enzim hati yang tidak normal. Tingkat preeklampsia berkisar antara 2% dan 7% pada wanita nulipara yang sehat. Secara substansial lebih tinggi pada wanita dengan gestasi kembar (14%) dan mereka dengan preeklampsia sebelumnya (18%) (Bress C. et.al., 2009).

2.1.2. Etiologi

Beberapa dari penelitian mengatakan kemungkinan adanya *abnormal invasi* trofoblas pembuluh darah uterus, imunologi intoleransi antara *fetoplacental* dan maternal jaringan, maladaptasi ke perubahan kardiovaskular atau perubahan peradangan kehamilan, defisiensi diet, dan kelainan genetik. Beberapa kelainan yang dilaporkan termasuk iskemia plasenta, vasospasme generalisata, *abnormal hemostasis* dengan aktivasi sistem koagulasi, disfungsi endotel vaskular, nitrat oksida abnormal dan metabolisme lipid, aktivasi leukosit, dan perubahan berbagai sitokin serta resistensi insulin (Baha, 2003).

Menurut penelitian sebelumnya mengatakan bahwa preeklampsia banyak disebabkan oleh beberapa faktor seperti vasokonstriksi pembuluh darah, kegagalan remodeling arteri spiralis, hipoksia, kelainan metabolisme lipid, inflamasi, dan disfungsi

endotel. Salah satu faktor pemicu pada proses terjadinya preeklamsia yaitu kekurangan nitrit oksida (Giardina JB *et.al.*, 2010). Kekurangan nitrit oksida selama kehamilan meningkatkan vasokonstriksi pembuluh darah, mengurangi sirkulasi *uteroplacenta* dan meningkatkan faktor humoral pada sirkulasi kehamilan seperti peningkatan ROS memicu terjadinya disfungsi endotel sehingga terjadi preeklamsia (Matsubara, 2015). Kelainan metabolisme lipid juga mempengaruhi regulasi tekanan darah. Peningkatan lipoprotein lipase juga bisa meningkatkan resiko preeklamsia (Aghade, 2017).

2.1.3. Faktor Resiko

Ada beberapa faktor resiko yang dapat mengakibatkan kondisi preeklamsia yaitu nulliparitas, kehamilan multifetal, kegemukan, riwayat keluarga preeklamsia-eklamsia, preeklamsia pada kehamilan sebelumnya (Cunningham, 2013), sindrom *HELLP*, studi Doppler uterus abnormal pada 18 dan 24 minggu dengan proteinuria, diabetes melitus, hipertensi atau penyakit ginjal (Baha, 2013).

2.1.4. Patofisiologi Preeklamsia

Menurut WHO, patogenesis pre-eklamsia berhubungan dengan gangguan dalam plasentasi pada awal kehamilan, diikuti oleh peradangan umum dan kerusakan endotel progresif. Preeklamsia adalah sindrom kehamilan sistemik berasal dari plasenta (Cunningham, 2013). Disebabkan oleh sitotrofoblas plasenta yang tidak adekuat invasi, diikuti disfungsi endotel pada ibu. Penelitian telah menunjukkan bahwa kelebihan dari faktor antiangiogenik larut fms-seperti tirosin kinase 1 (sFlt1) dan endoglin terlarut (sEng) yang dilepaskan oleh plasenta ke pembuluh darah ibu, menyebabkan disfungsi endotel yang menghasilkan hipertensi, proteinuria, dan manifestasi sistemik lainnya preeklamsia. Peran

antiangiogenik ini merupakan protein pada vaskular plasenta awal perkembangan dan invasi trofoblas (Baha, 2013). Hipoksia mungkin terjadi yang merupakan kontribusi disfungsi endotel. Selain itu, terjadi gangguan sistem RAAS, faktor stres oksidatif yang berlebihan, peradangan, maladaptasi kekebalan tubuh, dan kerentanan genetic semua dapat berkontribusi pada pathogenesis preeklamsia. Preeklamsia berat dikaitkan dengan gambaran patologis hipoperfusi plasenta dan iskemia. Temuan termasuk atherosclerosis akut, lesi obstruksi vaskuler difus yang termasuk deposisi fibrin, penebalan intima, nekrosis, aterosklerosis, dan kerusakan endotel. Infark plasenta, mungkin karena oklusi arteri spiralis, pada gambaran *uterine doppler ultrasound* tampak tidak normal dengan konsisten dengan penurunan uteroplasenta perfusi (Bress C. *et.al*, 2009). Fungsi patologis organ dan sistem organ berpengaruh terhadap terjadinya preeklamsia melalui mekanisme vasospasme dan iskemik. Hipertensi selama kehamilan terjadi akibat perubahan kardiovaskular, hematologis, endokrin, metabolit dan aliran darah. Pembuluh darah konstriksi menyebabkan resistensi aliran darah dan menyebabkan arteri mengalami hipertensi. Vasospasme berlebihan mengakibatkan kerusakan pembuluh darah. Kerusakan pembuluh darah akan memicu angiotensin II yang merangsang sel endotel kontraksi. Perubahan ini memicu kerusakan sel endotel dan kekurangan sel intraendotelial bisa mengakibatkan hipoksia jaringan dan terjadi pendarahan disertai trombosit, fibrinogen dan kemungkinan gangguan pada organ (Cunningham, 2013).

Nitrit oksida disintesis oleh sel endothelial dari L-arginine sebagai vasodilator poten untuk menurunkan tekanan darah hipertensi. Perubahan konsentrasi nitrit oksida penting untuk diketahui untuk mempertahankan tekanan darah (Cunningham, 2013).

Endotelin merupakan vasokonstriktor yang dihasilkan sel endotel, plasma endotelin-1 meningkat pada tekanan darah normal

pada kehamilan dan sangat tinggi pada kondisi preeklamsia (Cunningham, 2013).

Salah satu pemicu terjadinya proses preeklamsia yaitu kekurangan nitrit oksida. Sel endotel memproduksi nitrit oksida (NO) sebagai vasodilator untuk mengontrol aliran darah dan zat endotelin yang mengakibatkan kontraksi otot polos arteriol (Lauralee, 2013). Kekurangan nitrit oksida selama kehamilan meningkatkan vasokonstriksi pembuluh darah, mengurangi sirkulasi *uteroplacenta* dan meningkatkan faktor humoral pada sirkulasi kehamilan seperti peningkatan ROS dan meningkatkan permeabilitas kapiler memicu terjadinya disfungsi endotel sehingga tekanan darah meningkat disertai proteinuria (Matsubara, 2015). Vasokonstriksi pembuluh darah menyebabkan defisiensi remodeling arteri spiralis karena mengganggu sirkulasi *uteroplacenta* selama implantasi dan mengakibatkan hipoksia, keadaan hipoksia ini memicu proses inflamasi. Sitokin pro inflamasi seperti TNF α dan IL-6 menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel menurunkan availabilitas NO dan meningkatkan ROS sehingga meningkatkan tekanan darah. ROS juga menyebabkan disfungsi endotel. Peningkatan ROS memicu proses lipid peroksidasi sehingga membentuk sel busa (Gilbert *et.al.*, 2008).

Selain itu proses metabolisme ibu hamil berbeda dengan orang normal, terutama metabolisme lipid. Kondisi kehamilan sering menyebabkan kondisi hiperlipidemia (Herrera, 2014). Perubahan fisiologi lipid selama kehamilan untuk mencukupi nutrisi bagi janin (Sarah & Robert, 2018). Kondisi preeklamsia dapat disertai comorbid gangguan metabolisme lipid seperti terjadi peningkatan TG dan FFA. Pada ibu hamil dengan preeklamsia sering mengakibatkan peningkatan lipoprotein. Peningkatan lipoprotein dapat mengganggu keseimbangan TG, HDL, VLDL terutama LDL (Aghade, 2017). Berdasarkan penelitian Aghade *et.al.*, juga terdapat peningkatan TG, VLDL terutama LDL dan penurunan HDL

secara signifikan pada percobaan model tikus preeklamsia. Lipoprotein lipase sangat penting untuk mencerna TG, VLDL dan LDL. Jika menurun maka TG, VLDL dan LDL di jaringan akan meningkat dan apabila LDL teroksidasi maka akan membentuk sel busa sebagai tanda terjadinya atherosclerosis akut. Atherosclerosis akut ini dapat menjadi faktor predisposisi atherosclerosis (Aghade, 2017). Peningkatan plasma TG secara signifikan diikuti peningkatan LDL. Peningkatan FFA juga berkontribusi menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel memicu terjadinya lipid peroksidasi melalui peningkatan ROS. Penyebab preeklamsia masih belum jelas dan dapat disebabkan beberapa faktor lain (Gilbert *et.al.*, 2008). Pada kondisi preeklamsia terjadi penurunan HDL dan peningkatan LDL. Disfungsi endotel meningkatkan ROS dan membentuk MDA. MDA merupakan hasil terakhir dari proses lipid peroksidasi. MDA merusak molekul LDL, kemudian difagosit oleh makrofag melalui *scavenger receptor* dan membentuk sel foam pada arteri spiralis. Ini merupakan proses awal dari terjadinya atherogenesis (Meera, 2010).

2.2 N^G-nitro-L-arginine-methyl ester (LNAME)

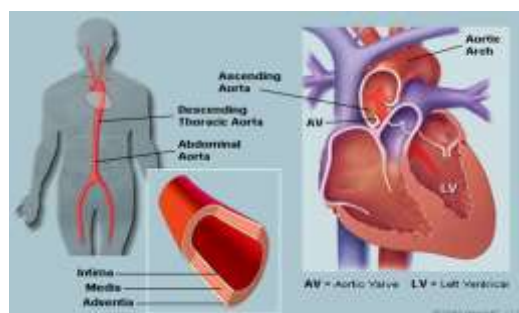
Manusia menghasilkan tiga isoform NOS: NOS endotel (eNOS), NOS neuronal (nNOS), dan NOS yang dapat diinduksi (iNOS). Nitrit oksida sintase (NOS) mengubah L-arginine menjadi L-citrulline dan melepaskan yang penting molekul pensinyalan nitrat oksida (NO). Pada sistem kardiovaskular NO diproduksi oleh endothelial NOS (eNOS) melemaskan otot polos yang mengendalikan vaskular dan tekanan darah (Phoulos, Thomas L. dan Li, Huiying, 2013).

Pada kondisi kehamilan dapat terjadi kondisi hipoksia jaringan akibat *hipoperfusi uteroplacenta* sehingga bisa membentuk ROS. Pada kondisi kehamilan ROS jika seimbang dengan kadar antioksidan merupakan fisiologis (Yang *et al.*, 2012). ROS yang berlebih disebut stres oksidatif kemudian mengganggu fungsi

pembuluh darah dan sel endotel yang dapat mempengaruhi DNA, protein dan lipid serta struktur sel sehingga mengalami perubahan fungsi sel dan mempengaruhi peningkatan tekanan darah pada tikus betina saat kondisi hamil (Jones *et.al.*, 2013), sehingga mengakibatkan preeklamsia pada tikus (Sunderland *et.al*, 2011). Pada kondisi *placental hipoperfussion*, terjadi tidak keseimbangan aliran darah disertai pelepasan sitokin dan zat pro inflamasi seperti TNF a, Interleukin (IL)-6, dan IL-10, C-reactive protein (CRP), dan kerusakan jaringan serta bisa menginduksi apoptosis (Yiyenoglu *et al.*, 2013). L-NAME merupakan zat yang diinduksi pada penelitian terhadap tikus hamil normal menjadi tikus model preeklamsia. L-NAME mempengaruhi kinerja endotel pada aorta dengan menghambat eNOS sehingga produksi NO berkurang. Kekurangan NO pada dinding pembuluh darah dapat mengakibatkan berkurangnya kemampuan vasodilatasi untuk menurunkan tekanan darah dan mengakibatkan hipertensi dan menyebabkan disfungsi endotel (Phoulos, Thomas L. and Li, Huiying, 2013). Menurut Redman dan Sargent (2013), disfungsi endotel ini mengakibatkan peningkatan ROS dan penurunan NO sehingga mengakibatkan tekanan darah meningkat.

2.3 Aorta

2.3.1 Anatomi Aorta



Gambar 2.2 Anatomi Aorta
(Lauralee, 2013)

Aorta merupakan pembuluh darah besar elastis dari pembuluh darah yang berfungsi membawa darah yang mengandung oksigen ke berbagai jaringan di tubuh untuk kebutuhan nutrisinya.. Aorta dapat dipisahkan menjadi beberapa bagian: aorta *ascenden*, *arcus* aorta, dan aorta *descenden* yang dibagi lagi menjadi aorta *thoracica* dan aorta *abdominalis*. (Sherwood Lauralee, 2013).

Aorta *ascenden* panjangnya menyusun bagian atas dari basis ventrikel kiri, setinggi batas bawah kartilago kosta ketiga dibelakang kiri pertengahan sternum, melintas keatas secara oblik, kedepan dan ke kanan searah aksis jantung, setinggi batas atas dari kartilago kosta kedua. Saat pertemuan aorta *ascenden* dengan *arcus* aorta, kaliber pembuluh darah meningkat, karena bulging dinding kanannya. Segmen dilatasi ini disebut *bulbus aortikus*, dan pada potongan transversal menunjukkan bentuk yang oval. Aorta *ascenden* terdapat dalam perikardium. Batas-batas aorta *ascenden* dilindungi oleh *trunkus arteri pulmonalis* dan *aurikula dekstra*, dan, lebih tinggi lagi, terpisah dari sternum oleh perikardium, pleura kanan, batas atas dari *pulmo dekstra*, jaringan ikat longgar, dan sisa dari jaringan timus, di posterior menempel pada atrium *sinistra* dan arteri *pulmonari dekstra*. Pada sisi kanan berdekatan dengan vena *cava superior* dan atrium *dekstra* sedangkan pada sisi kiri dengan arteri *pulmonari*. Cabang-cabang satu-satunya cabang dari aorta *ascenden* adalah arteria coronaria yang mensuplai jantung. (Sherwood Lauralee, 2013).

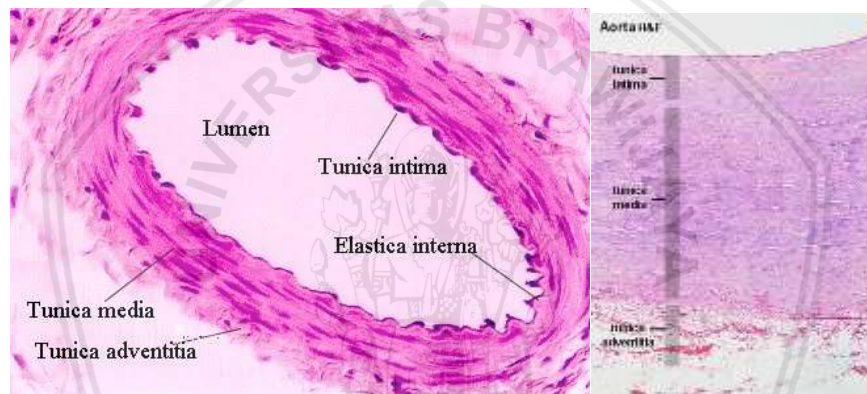
Arcus Aorta dimulai setinggi batas atas *artikulasi sternokostalis* ke II pada sisi kanannya, dan berjalan keatas, kebelakang, dan ke kiri di depan trakea, kemudian mengarah ke belakang pada sisi kiri trakea dan akhirnya turun lewat sisi kiri tubuh setinggi *vertebra thoracica* ke IV, kemudian berlanjut menjadi aorta *descenden*. Sehingga terbentuk dua *kurvatura*, satu melengkung keatas, yang kedua melengkung ke depan dan ke kiri.

Batas atasnya dibawah *superior manubrium sterni*. Batas-batas *arcus aorta* dilindungi oleh pleura di *anterior* dan margo *anterior* dari *pulmo* dan dengan sisa dari timus. Saat pembuluh melintas ke belakang sisi kirinya bersentuhan dengan *pulmo sinistra* dan pleura. Melintas ke bawah pada sisi kiri bagian tersebut pada *arcus* terdapat 4 nervus: *nervus phrenicus sinistra*, *cardiacus superior* cabang *nervus vagus sinistra*, cabang *nervus cardiacus superior* dari *trunkus simpaticus sinistra*, dan *trunkus vagus sinistra*. Saat nervus terakhir tadi melintasi *arcus* dia memberikan cabang *recurrent*, yang melingkar dibawah pembuluh dan melintas keatas pada sisi kanan. Vena *intercostalis* melintas oblik keatas dan kedepan pada sisi kiri *arcus*, diantara *nervus phrenicus* dan *vagus*. Pada sisi kanan terdapat *plexus cardiac profunda*, *nervus recurrent sinistra*, *esophagus*, dan *ductus thoracicus*, trakea berada dibelakang kanan dari pembuluh. Diatas adalah arteri *innominata*, *carotis comunis sinistra*, dan arteri *subclavia sinistra*, yang muncul dari lengkungan *arcus* dan bersilangan berdekatan di pangkalnya dengan vena *innominata sinistra*. Dibawah adalah *bifurkasio* arteri *pulmonalis*, *bronchus sinistra*, *ligamentum arteriosum*, bagian *superfisial* dari *pleksus cardiacus*, dan *nervus recurrent sinistra*. *Ligamentum arteriosum* menghubungkan arteri *pulmonari sinistra* dengan *arcus aorta*. Diantara awal arteri *subclavia* dan perlekatan *ductus arteriosus*, lumen aorta bayi sedikit menyempit, membentuk bangunan yang disebut sebagai *isthmus aorticus*, yang pada saat diatas *ductus arteriosus* pembuluh membentuk dilatasi yang disebut *aortic spindle*. Cabang-cabang *arcus aorta* mempercabangkan tiga buah pembuluh darah: arteri *innominata*, *carotis comunis sinistra*, dan *subclavia sinistra* (Sherwood Lauralee, 2013).

Aorta descendens dibagi menjadi dua bagian, *thoracica* dan *abdominalis*, saat melewati dua rongga besar tubuh. *Aorta thoracalis* terdapat dalam *cavum mediatinum posterior*.

Dimulai pada batas bawah dari *vertebra thoracica* keempat dimana merupakan lanjutan dari *arcus aorta*, dan berakhir di depan batas bawah dari *vertebra thoracic* ke dua belas pada *hiatus aorticus diafragma*. Dalam perjalanannya terdapat di sisi kiri *kolumna vertebralis*, yang mendekati garis tengah saat turun dan, saat terminasinya berada tepat didepan *kolumna vertebralis* (Sherwood Lauralee, 2013).

2.3.2 Histologi Aorta



Gb. 2 Histologi Aorta
(Eroschenko, 2008)

Arteri elastis menerima darah langsung dari jantung. Arteri elastis termasuk aorta dan cabang terbesarnya (arteri karotis komunis, brakiosefalika, subklavia dan iliaka komunis) memiliki diameter lebih dari 1 cm. Dinding arteri ini mampu mengakomodasi perubahan besar tekanan darah antara sistol dan diastole. Sata darah dipompa ke dalam arteri selama sistol, dinding arteri berdistensi. Serabut kolagen di dalam lapisan tunika media dan adventisia mencegah terjadinya distensi secara luas. (Raissa FifiNELA, 2014)

Selama diastol (fase relaksasi dari siklus jantung), tekanan darah dipertahankan oleh daya recoil arteri elastis, mendorong

darah dari jantung menuju ke sirkulasi sisanya. Rekoil elastis ini juga mendorong darah kembali menuju ke sirkulasi sisanya. Rekoil elastis juga mendorong darah kembali menuju jantung, namun darah ini dicegah masuk kembali ke jantung oleh penutupan katup aorta dan pulmonal (Raissa Fifinela, 2014). Arteri elastis tersusun 3 lapisan secara umum yaitu tunika intima, tunika media dan tunika adventisia. Dinding arteri disusun oleh lapisan endotel untuk membentuk sawar permeabilitas selektif antara jaringan dan darah, stratum subendoteliale, dan lapisan jaringan ikat longgar yang berisi elastin dan kolagen terdiri dari lamina elastika interna (membrane yang memisahkan tunika media dan tunika intima). Tunika media, terdiri dari serat otot polos melingkar untuk sintesis kolagen dan elastin. Sedangkan tunika adventisia tersusun oleh jaringan ikat (kolagen dan elastin), fibroblast, makrofag, dan pembuluh darah kecil (*vasa vasorum*) (Eroschenko, Victor P., 2008).

2.3.3 Fisiologi Aorta

Pembuluh darah arteri yang terbesar adalah aorta (yang keluar dari *ventrikel sinistra*) dan arteri *pulmonalis* (yang keluar dari *ventrikel dekstra*). Dalam sirkulasi arteri mentranspor darah ke jaringan dengan tekanan tinggi, untuk ini arteri mempunyai dinding yang tebal dan kuat karena darah mengalir dengan cepat pada arteri. Fungsi arteri adalah membawa darah yang mengandung oksigen ke seluruh jaringan tubuh kecuali arteri pulmonalis, mempunyai dinding yang tebal, mempunyai jaringan yang elastis. Cabang dari arteri disebut arteriol yang selanjutnya dalam sistem peredaran darah menjadi kapiler. Arteriol berfungsi mengontrol darah yang dikeluarkan ke dalam kapiler. Arteriol mempunyai dinding otot yang kuat, mampu menutup arteriol dan melakukan dilatasi beberapa kali lipat. Di dalam kapiler terjadi pertukaran cairan, zat makanan elektrolit, hormon dan bahan lainnya antara

darah dan cairan interstisial. Aorta berperan dalam sistem kardiovaskular, aorta memiliki diameter besar dan resistensi rendah, aliran darah dari jantung ke jaringan, sebagai reservoir tekanan untuk menghasilkan gaya pendorong saat jantung relaksasi. Tekanan darah bergantung pada volume darah di dalam pembuluh dan distensibilitas atau daya regang pembuluh. Tekanan darah sistemik terbesar di aorta dan terendah di vena cava. Penurunan tekanan darah terjadi di arteriol yg terdapat resistensi terbesar. Tekanan darah sangat berpengaruh dalam sistem sirkulasi peredaran darah. Tekanan sistolik yang merupakan tekanan maksimum yg ditimbulkan di arteri selama sistol. Sedangkan tekanan diastolik merupakan tekanan minimum di dalam arteri selama diastole. Selain tekanan darah dalam pengaturan sistem kardiovaskular ada juga tekanan nadi yang berupa selisih antara tekanan sistolik dan tekanan diastolic. Tekanan darah rata-rata (mean arterial pressure/ MAP) merupakan gaya pendorong utama agar darah mengalir dan dipengaruhi oleh resistensi perifer dan cardiac output apabila terjadi peningkatan atau penurunan maka akan berpengaruh terhadap penilaian tekanan darah rata - rata. (Sherwood Lauralee, 2013)

2.3.4 Sel Endotel Aorta

Sel endotel pembuluh darah mengeluarkan bahan – bahan vasoaktif sebagai respon terhadap perubahan kimiawi dan fisik local yang mengakibatkan vasodilatasi (relaksasi) dan vasokonstriksi (kontraksi) otot polos arteriol di bawahnya. Sel endotel mengeluarkan zat nitrit oksida (NO) sebagai vasodilator untuk mengontrol aliran darah dan zat endotelin yang mengakibatkan kontraksi otot polos arteriol (Lauralee, 2013).

2.3.5 Nitrit Oksida

Nitrat oksida (NO) merupakan bahan vasoaktif yang dihasilkan sel endotel dalam mengatur tekanan darah yang dalam keadaan normal menyebabkan vasodilatasi arteriol lokal dengan memicu relaksasi otot polos arteriol di sekitarnya. Zat ini melakukannya dengan meningkatkan konsentrasi cairan kedua intrasel, GMP siklik, yang menyebabkan aktivasi enzim yang mengurangi fosforilasi miosin. Miosin otot polos dapat berikatan dengan aktin dan memicu pergeseran filamen melalui saat myosin terfosforilasi. NO berperan penting dalam mengontrol aliran darah melalui jaringan dan dalam mempertahankan tekanan arteri rerata. Tekanan arteri rerata juga dipengaruhi oleh curah jantung dan resistensi perifer total. Pengaruh fisik lokal lainnya dapat mempengaruhi diameter internal arteriol sebagai respon pembuluh darah terhadap *shear stress*. Endotel melepaskan NO vasodilator sebagai respon terhadap peningkatan stress oksidatif. Peningkatan diameter internal arteriol yang terjadi mengurangi stress oksidatif dengan sel endotel mengorientasikan dirinya sendiri menjadi sejajar terhadap arah aliran darah. Kekurangan NO pada dinding pembuluh darah dapat mengakibatkan berkurangnya kemampuan vasodilatasi untuk menurunkan tekanan darah yang mengakibatkan hipertensi. Selain itu, nitrit oksida dihasilkan makrofag untuk respon saat terjadi inflamasi (Lauralee, 2013).

2.4 Ciplukan

2.4.1. Taksonomi Ciplukan

Berdasarkan taksonomi tumbuhan, Ciplukan (*Physalis minima L.*) digolongkan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Solanales
Famili : Solanaceae
Marga : Physalis
Spesies : *Physalis minima* L.

2.4.2. Tanaman Ciplukan

Ciplukan adalah tumbuhan asli Amerika yang kini telah tersebar secara luas di daerah tropis di dunia. Di Jawa tumbuh secara liar di kebun, tegalan, tepi jalan, kebun, semak, hutan ringan, tepi hutan. Ciplukan biasa tumbuh di daerah dengan ketinggian antara 1-1550 m dpl (Januario *et al.*, 2000).

Sejak lama, ciplukan sebenarnya telah diteliti oleh para ahli dari berbagai negara. Penelitian tersebut biasanya terfokus pada aktivitas yang dimiliki oleh ciplukan. Dari penelitian yang telah dilakukan, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, didapatkan informasi bahwa ciplukan memiliki aktivitas sebagai antihiperqlikemi, antibakteri, antivirus, imunostimulan dan immunosupresan (imunomodulator), antiinflamasi, antioksidan, dan sitotoksik (Januario *et al.*, 2000).

Baedowi [1998] telah melakukan penelitian terhadap ciplukan secara *in vivo* pada mencit. Dari penelitiannya tersebut, didapatkan informasi bahwa ekstrak daun ciplukan dengan dosis 28,5 mL/kg BB dapat mempengaruhi sel β insulin pankreas. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas antihiperqlikemi dari ciplukan.

Januario *et al.* (2000) telah menguji aktivitas antimikroba ekstrak murni herba *Physalis angulata* L. Fraksi A1-29-12 yang terdiri dari fisalin B, D, dan F menunjukkan KHM (Kadar Hambat Minimum) dalam menghambat *Mycobacterium tuberculosis* sebesar 32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Fisalin B dan D murni menunjukkan nilai KHM dalam menghambat *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv masing-masing sebesar $>128 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ dan 32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Diduga fisalin D berperan penting pada aktivitas antimikroba yang ditunjukkan.

Akar tumbuhan ciplukan pada umumnya digunakan sebagai obat cacing dan penurun demam. Daunnya digunakan untuk penyembuhan patah tulang, busung air, bisul, borok, penguat jantung, keseleo, nyeri perut, dan kencing nanah. Buah ciplukan sendiri sering dimakan; untuk mengobati epilepsi, tidak dapat kencing, dan penyakit kuning (Januario *et al.*, 2000).

2.4.3 Kandungan Senyawa Ekstrak Daun Ciplukan

Dari hasil penelitian Mulchandani dkk (1979), diketahui bahwa tanaman *Physalis minima* L mengandung senyawa-senyawa steroid yang diberi nama fisalin A, fisalinB, fisalin C, fisalin D, wita fisalin A, wita fisalin C dan 5,6 epoksi fisalin B. Kandungan kimia lain yang teramati ada dalam tanaman ini adalah senyawa golongan polifenol pada akar, batang dan daun. Berdasarkan pemeriksaan total, tanaman ini mengandung unsur kalium, magnesium dan besi. Selain itu tanaman dari family solanaceae dapat memproduksi berbagai macam alkaloid. Dari berbagai genus yang berbeda tetapi family yang sama kemungkinan akan mengandung suatu alkaloid yang sama (Mulchandani, P., 1979 in Tarannita, Citra, Permatasari, Nur & Sudiarto, 2009). Aktivitas antiinflamasi dan analgesik ekstrak metanol daun *P. angulate* L., telah dilakukan ekstrak dengan dosis 400mg/kgBB memiliki efek antiinflamasi dan analgesik lebih baik dari kontrol positif ibuprofen 100mg/kgBB (Ukwubile & Oise, 2016).

Pada penelitian Efendi (1998), ditemukan alkaloid pada daun *Physalis minima* L yang terbagi menjadi fraksi A, B, dan C. Fraksi C menunjukkan hampir sama dengan Belladona yang mengandung antara lain alkaloid atropin dan scopolamin (Cordell, GA., 1981 in Tarannita, Citra, Permatasari, Nur & Sudiarto, 2009). Adanya kandungan kimia polifenol dan alkaloid pada *Physalis minima* L dan penggunaan secara empiris *Physalis angulata*, yang memiliki

kandungan yang sama dengan *Physalis minima L*, sebagai antioksidan mendorong dilakukannya penelitian tentang efek ekstrak daun ciplukan terhadap penurunan peradangan pada aorta tikus galur putih dengan induksi L-NAME (Tarannita, Citra, Permatasari, Nur & Sudiarto, 2009). Alkaloid dan polifenol merupakan senyawa antioksidan karena senyawa tersebut adalah senyawa dengan suatu gugus –OH yang terikat pada karbon cincin aromatic, produk radikal bebas terstabilkan secara resonansi dan berfungsi sebagai antioksidan efektif (Fessenden, 1994).

2.5 Sel Busa

Sel busa merupakan hasil oksidasi dari peningkatan ROS dan oksidasi LDL. Sel busa disebabkan karena proses vasokonstriksi pembuluh darah dan gangguan metabolisme lipid pada kondisi preeklamsia. Vasokonstriksi pembuluh darah menyebabkan defisiensi remodeling arteri spiralis karena mengganggu sirkulasi uteroplacenta selama implantasi dan mengakibatkan hipoksia, keadaan hipoksia ini memicu proses inflamasi. Sitokin pro inflamsai seperti TNFa dan IL-6 menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel mmenurunkan availabilitas NO dan meningkatkan ROS sehingga meningkatkan tekanan darah. ROS juga menyebabkan disfungsi endotel. Peningkatan ROS memicu proses lipid peroksidasi sehingga membentuk sel busa (Gilbert *et.al.*, 2008). Pada penelitian sebelumnya juga disebutkan bahwa pada kondisi preeklamsia dapat disertai comorbid gangguan metabolisme lipid seperti terjadi peningkatan TG dan FFA. Peningkatan plasma TG secara signifikan diikutin peningkatan LDL. Peningkatan FFA juga berkontribusi menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel memicu terjadinya lipid peroksidasi melalui peningkatan ROS. Karena itu penyebab preeklamsia masih belum jelas dan dapat disebabkan beberapa faktor lain. (Gilbert *et.al.*, 2008). Apabila HDL turun maka oksidasi LDL meningkat

terutama pada kondisi preeklamsia. Disfungsi endotel meningkatkan ROS dan membentuk MDA. MDA merupakan hasil terakhir dari proses lipid peroksidasi. MDA merusak molekul LDL, kemudian difagosit oleh makrofag melalui *scavenger receptor* dan membentuk sel foam pada arteri spiralis. Ini merupakan proses awal dari terjadinya atherogenesis (Meera, 2010).

2.6 Antioksidan dan Oksidan

Antioksidan adalah zat atau senyawa alami yang dapat melindungi sel tubuh kita dari kerusakan dan penuaan yang disebabkan oleh molekul reaktif atau disebut radikal bebas. Senyawa alami tersebut menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat molekul liar serta menjaga struktur genetik dari suatu sel agar tetap dalam kondisi normal. Antioksidan dapat melemahkan zat yang berpotensi sebagai molekul reaktif jika bereaksi dengan oksigen (teroksidasi). Reaksi oksidasi dihambat dengan cara reduksi. Karena itulah antioksidan juga disebut senyawa pereduksi. Mekanisme kerja antioksidan meliputi mencegah terbentuknya molekul radikal, mereduksi molekul liar, memperbaiki kerusakan oksidatif, mengeliminasi molekul yang rusak, dan mencegah terjadinya mutasi (Matsubara, 2015)

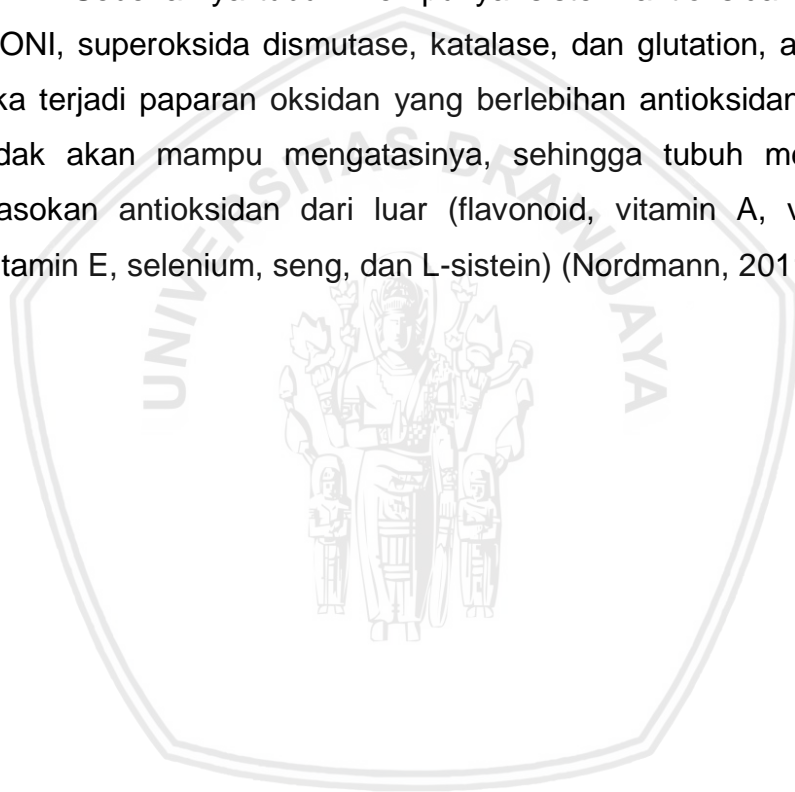
Spesies Oksigen reaktif (ROS= Reactive Oxygen Species) termasuk radikal superoksid, radikal hidroksil, hidrogen peroksidase, dan lipid peroksida radikal diperlukan oleh tubuh untuk proses signaling dan proses fagositosis bakteri, akan tetapi adanya ROS yang berlebihan diindikasikan merupakan penyebab utama dari proses penuaan dan banyak penyakit, seperti asma, kanker, penyakit kardiovaskular, katarak, inflamasi saluran pencernaan, liver, dan penyakit inflamasi lainnya (Finkel and Holbrook, 2010).

Spesies radikal oksigen ini diproduksi secara normal oleh tubuh sebagai konsekuensi dari proses biokimia apabila terdapat kenaikan paparan xenobiotic baik dari makanan atau lingkungan

pada tubuh. Mekanisme perusakan sel oleh radikal bebas berawal dari teroksidasinya asam lemak tak jenuh pada lapisan lipid membran sel (Finkel and Holbrook, 2010).

Reaksi ini mengawali terjadinya oksidasi lipid berantai yang menyebabkan kerusakan membran sel, oksidasi lebih jauh akan terjadi pada protein yang berakibat fatal dengan rusaknya DNA. Diperkirakan sebagian penyakit yang disebutkan di atas diawali oleh proses perusakan ini (Cook and Samman, 2016).

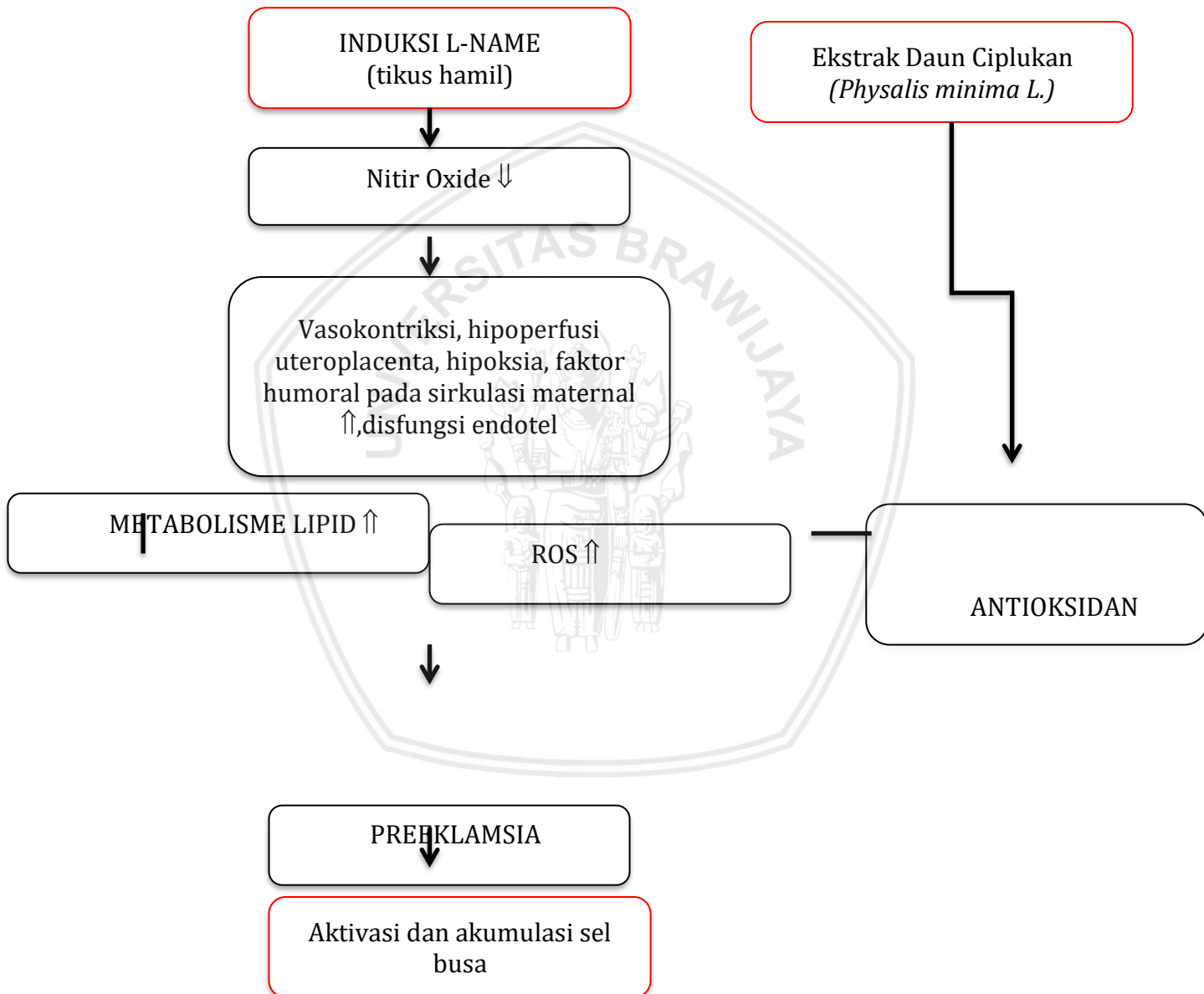
Sebenarnya tubuh mempunyai sistem antioksidan termasuk PONI, superoksida dismutase, katalase, dan glutathione, akan tetapi jika terjadi paparan oksidan yang berlebihan antioksidan tubuh ini tidak akan mampu mengatasinya, sehingga tubuh memerlukan pasokan antioksidan dari luar (flavonoid, vitamin A, vitamin C, vitamin E, selenium, seng, dan L-sistein) (Nordmann, 2011).

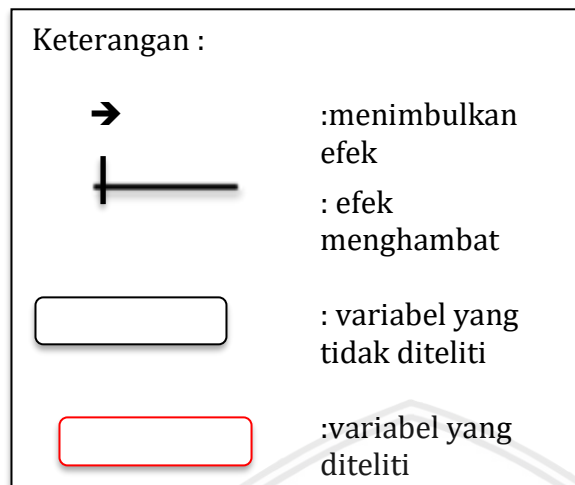


BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian





3.2 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian

L-NAME merupakan zat yang diinduksi pada tikus hamil normal menjadi tikus model preeklamsia dalam penelitian ini. L-NAME mempengaruhi kinerja endotel pada aorta dengan menghambat eNOS sehingga produksi NO berkurang. Kekurangan NO pada dinding pembuluh darah dapat mengakibatkan berkurangnya kemampuan vasodilatasi untuk menurunkan tekanan darah dan mengakibatkan hipertensi dan menyebabkan disfungsi endotel (Phoulos *dkk.*, 2013). Menurut Redman dan Sargent (2013), disfungsi endotel ini mengakibatkan peningkatan ROS dan penurunan NO sehingga mengakibatkan tekanan darah meningkat.

Vasospasme berlebihan menimbulkan kerusakan sel endotel dan kekurangan sel interendotelial bisa mengakibatkan hipoksia (Cunningham F., 2013). Kondisi hipoksia bisa membentuk ROS. ROS kemudian mengganggu fungsi sel endotel yang dapat mempengaruhi kerusakan DNA, protein dan lipid serta struktur sel sehingga mengalami perubahan fungsi sel dan mempengaruhi peningkatan tekanan darah pada tikus betina saat kondisi hamil (Jones *et.al.*, 2013).

Kekurangan nitrit oksida selama kehamilan meningkatkan vasokonstriksi pembuluh darah, mengurangi sirkulasi *uteroplacenta*

dan meningkatkan faktor humoral pada sirkulasi kehamilan seperti peningkatan ROS dan meningkatkan permeabilitas kapiler memicu terjadinya disfungsi endotel sehingga tekanan darah meningkat disertai proteinuria (Matsubara, 2015). Vasokonstriksi pembuluh darah menyebabkan kegagalan remodeling arteri spiralis karena mengganggu sirkulasi uteroplacenta selama implantasi dan mengakibatkan hipoksia. Keadaan hipoksia ini memicu proses inflamasi. Sitokin pro inflamasi seperti TNF α dan IL-6 menyebabkan disfungsi endotel (Giardina JB *et.al.*, 2010). Disfungsi endotel menurunkan availabilitas NO dan meningkatkan ROS sehingga meningkatkan tekanan darah (Lubos *et.al.*, 2008). ROS juga menyebabkan disfungsi endotel (Gilbert *et.al.*, 2008). ROS yang meningkat akan mengalami oksidasi dengan lipid dan memicu pembentukan sel busa (Katabuchi *et.al.*, 2012).

Selain itu proses metabolisme ibu hamil berbeda dengan orang normal, terutama metabolisme lipid. Kondisi kehamilan sering menyebabkan kondisi hiperlipidemia (Herrera, 2014). Perubahan fisiologi lipid selama kehamilan untuk mencukupi nutrisi bagi janin (Sarah & Robert, 2018). Kondisi preeklamsia dapat disertai comorbid gangguan metabolisme lipid seperti terjadi peningkatan TG dan FFA. Pada ibu hamil dengan preeklamsia sering mengakibatkan peningkatan lipoprotein. Peningkatan lipoprotein dapat mengganggu keseimbangan TG, HDL, VLDL terutama LDL (Aghade, 2017). Berdasarkan penelitian Aghade *et.al.*, juga terdapat peningkatan TG, VLDL terutama LDL dan penurunan HDL secara signifikan pada percobaan model tikus preeklamsia. Lipoprotein a sangat penting untuk berikatan dengan LDL dan jika terganggu maka LDL di jaringan akan meningkat dan apabila teroksidasi maka akan membentuk sel busa sebagai tanda terjadinya atherosclerosis akut. Atherosclerosis akut ini dapat menjadi faktor predisposisi atherosclerosis (Aghade, 2017). Peningkatan plasma TG secara signifikan diikuti peningkatan LDL. Peningkatan FFA

juga berkontribusi menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel memicu terjadinya lipid peroksidasi melalui peningkatan ROS. Penyebab preeklamsia masih belum jelas dan dapat disebabkan beberapa faktor lain (Gilbert *et.al.*, 2008). Apabila HDL turun maka oksidasi LDL meningkat terutama pada kondisi preeklamsia. Disfungsi endotel meningkatkan ROS dan membentuk MDA. MDA merupakan hasil terakhir dari proses lipid peroksidasi. MDA merusak molekul LDL, kemudian difagosit oleh makrofag melalui *scavenger receptor* dan membentuk sel foam pada arteri spiralis. Ini merupakan proses awal dari terjadinya atherogenesis (Meera, 2010). Menurut penelitian Meera *et.al.*, terdapat pembentukan sel busa pada arteri spiralis. Hal ini mendorong dilakukannya penelitian apakah ada kemungkinan terdapat pembentukan sel busa di pembuluh darah lainnya.

Pada penelitian ini digunakan ekstrak daun ciplukan (*Physalis minima L.*) untuk mengetahui uji efektivitas antioksidan dari ekstrak daun ciplukan terhadap sel busa yang merupakan tanda atherosclerosis akut pada model tikus preeklamsia. Pada kultur sel endotel (HUVECs), pemberian ekstrak daun ciplukan dapat memicu sinyal transduksi Ca^{2+} , ekspresi *endothelial nitric oxide* (eNOS) dan *nitric oxide* (NO). Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun ciplukan kemungkinan merangsang transkripsi gen yang berperan pada ekspresi eNOS, sehingga dapat diduga bahwa ekstrak daun ciplukan bekerja serupa dengan antioksidan (Tarannita, Citra, Permatasari, Nur & Sudiarto, 2009).

Sehingga dilakukan uji penelitian tentang pengaruh ekstraksi daun ciplukan (*Physalis minima L.*) untuk mencegah peningkatan sel busa pada aorta dengan model tikus betina preeklamsia (*Rattus norvegicus strain wistar*) dengan induksi *L-name*. Jadi dengan demikian, daun ciplukan diharapkan dapat bekerja sebagai antioksidan pada aorta model tikus betina preeklamsia dengan induksi *L-name* melalui pengamatan jumlah sel busa.

3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulate L.*) dapat mencegah peningkatan jumlah sel busa aorta pada tikus preeklamsia dengan induksi L-NAME.



BAB 4

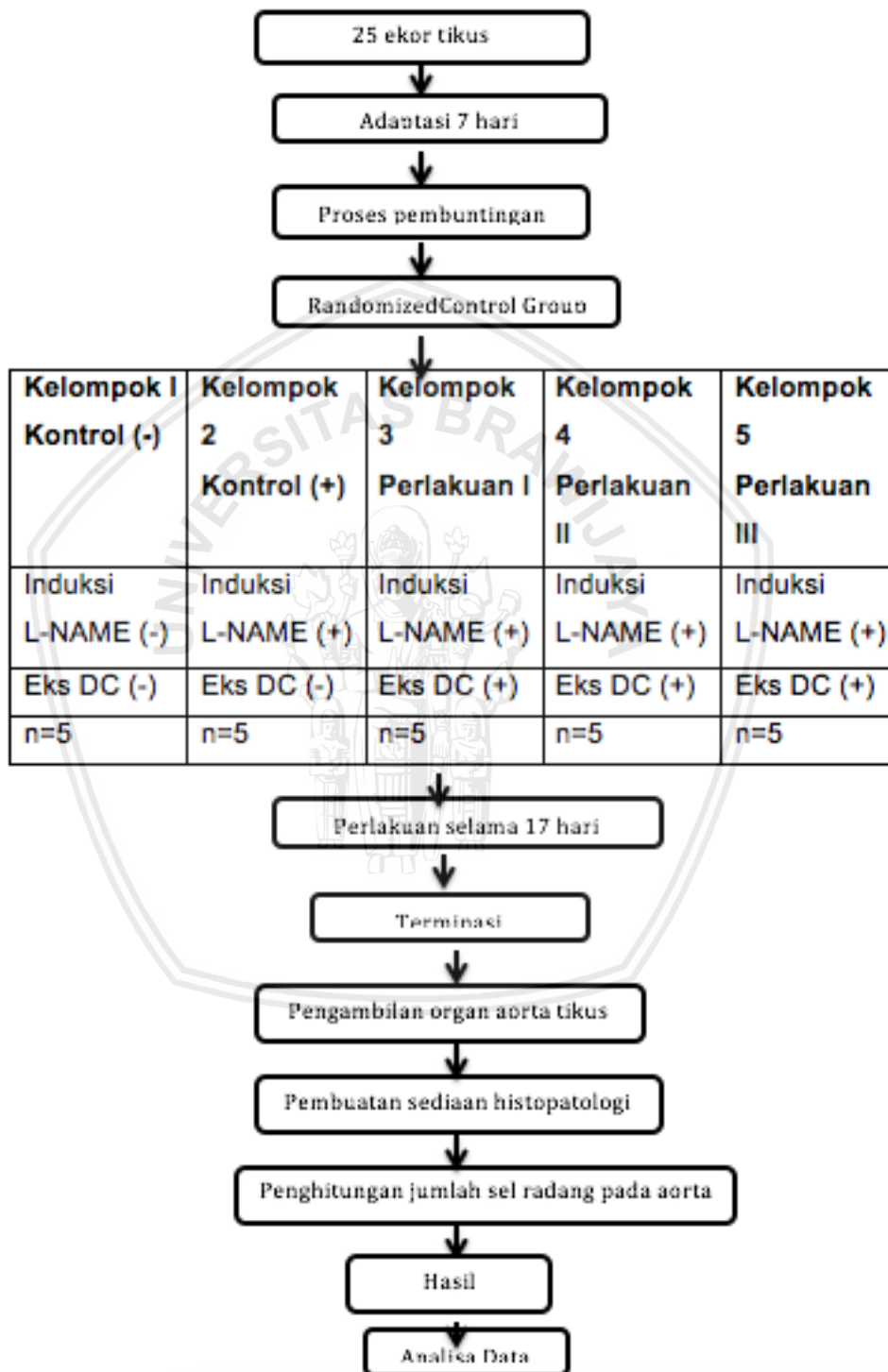
METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Rancangan eksperimental dengan menggunakan metode *Randomized post test only group design* untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun ciplukan terhadap penurunan jumlah sel busa pada sediaan histopatologi aorta tikus betina hamil yang diinduksi L-NAME. Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus betina dimana setiap tikus memiliki probabilitas yang sama untuk mendapatkan perlakuan. Setiap tikus betina akan dilakukan proses pembuntingan selama satu malam. Sebelum proses pembuntingan, dilakukan pemeriksaan ekstras (fase birahi) dengan *vaginal swab*, tikus betina *ekstras* merupakan kriteria untuk proses pembuntingan. Untuk mengetahui kondisi tikus betina hamil atau tidak dilakukan pemeriksaan *vaginal pluk* pada tikus betina atau *cctv* untuk mengetahui telah terjadi kopulasi atau tidak pada tikus. Perlakuan pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun ciplukan dengan dosis yang berbeda-beda pada tikus betina hamil yang diinduksi L-NAME. Tikus betina hamil yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok dan masing-masing kelompok ada 5 ekor tikus.

Kelompok 1 adalah kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan apapun, kelompok 2 adalah kontrol positif yang diinduksi L-NAME saja pada hari ke 5-17 kehamilan, sedangkan kelompok 3, 4 dan 5 merupakan kelompok tikus perlakuan yang diinduksi L-NAME dan diberi ekstrak daun ciplukan sesuai dosis yang ditentukan secara per oral. Pemberian induksi L-NAME dalam dosis yang sama pada kelompok 3, 4 dan 5 diberikan hari ke 5-17 kehamilan dan ekstrak daun ciplukan diberikan per oral pada hari ke 1-17 kehamilan. Hari ke 18 kehamilan dilakukan terminasi, tikus diambil aortanya untuk

dilihat sediaan histopatologinya. Secara skematis, desain penelitian tersebut ditunjukkan pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Skema desain penelitian

Keterangan :

- Induksi L-NAME = pemberian L-NAME dengan dosis tertentu.
- Eks DC = ekstrak daun ciplukan
- n = jumlah tikus
- Kelompok 1 = kontrol negatif, yaitu kelompok tikus yang tidak diinduksi L-NAME dan tidak diberi ekstrak daun ciplukan
- Kelompok 2 = kontrol positif, yaitu kelompok tikus yang diinduksi L-NAME namun tidak diberi ekstrak daun ciplukan
- Kelompok 3 = kelompok perlakuan, yaitu kelompok tikus yang diinduksi L-NAME , diberi ekstrak daun ciplukan dengan dosis 500 mg/kgBB
- Kelompok 4 = kelompok perlakuan, yaitu kelompok tikus yang diinduksi L-NAME namun tidak diberi ekstrak daun ciplukan dengan dosis 1500 mg/kgBB
- Kelompok 5 = kelompok perlakuan, yaitu kelompok tikus yang diinduksi L-NAME namun tidak diberi ekstrak daun ciplukan dengan dosis 2500 mg/kgBB

4.2. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi yang menjadi target penelitian ini adalah tikus putih galur wistar (*Rattus Norvegicus*). Sampel penelitian yang digunakan adalah tikus putih galur wistar dengan kriteria berikut :

- a. Kriteria inklusi :
 - Tikus betina hamil berusia 10-12 minggu sebelum kehamilan
 - Berat badan sekitar 150-270 gram
 - Kondisi badan sehat yang ditandai dengan mata jernih , bulu mengkilap, gerakan aktif dan lincah dan feces tidak lembek.
- b. Kriteria eksklusi :
 - Tikus yang mati
 - Tikus yang sakit

- Sebelumnya pernah digunakan untuk eksperimen lain
Jumlah sampel yang diperlukan untuk masing – masing kelompok perlakuan dihitung berdasarkan rumus di bawah ini

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

dengan r = jumlah sampel tiap perlakuan

t = jumlah perlakuan, dimana di dalam kelompok ini ada 5 kelompok perlakuan

sehingga :

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

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$(r-1) \geq 15:4$$

$$(r-1) \geq 3,75$$

$$r \geq 4,75$$

Dari hasil perhitungan, diperlukan jumlah replikasi atau ulangan paling sedikit 5 kali (pembulatan dari 4,75) untuk masing-masing kelompok, sehingga jumlah total tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor tikus.

4.3. Variabel Penelitian

- Variabel bebas : ekstrak daun ciplukan
- Variabel tergantung : jumlah sel busa pada aorta tikus

4.4. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama 12 bulan dari bulan Februari 2017 sampai bulan Februari 2018 dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Agustus 2018 – November 2018.

4.5. Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

4.5.1.1 Bahan Ekstraksi Daun Ciplukan

Pada proses ekstraksi dengan metode maserasi digunakan bahan berikut :

1. Daun ciplukan
2. Etanol 95% (pelarut)
3. Aquades

4.5.1.2 Induksi L-NAME

Pemberian L-NAME pada kelompok 2 hingga 5 pada tikus wistar diberi 40 mg/hari secara injeksi pada abdomen. Pemberian L-name selama hari ke 5-17 kehamilan. Kelompok ekor tikus yang diberi L-NAME dilakukan terminasi saat hari ke 17 kehamilan untuk melihat perkembangan adanya kerusakan endotel pada aorta dengan menghitung jumlah sel busa.

4.5.1.3 Bahan pengambilan organ aorta tikus

Bahan yang dibutuhkan selain tikus penelitian sebagai berikut :

1. Ketamin 40 mg/kg/BB secara intraperitoneal
2. Kapas
3. Formalin 10%

4.5.1.4 Bahan Pembuatan Sediaan Histopatologi Aorta Tikus

Bahan – bahan yang dibutuhkan dalam pembuatan sediaan histopatologi aorta adalah :

1. Cat hematoksin-Eosin (HE)
2. Xylol
3. Counter Staining
4. Entellan
5. Sediaan aorta tikus penelitian

6. Parafin
7. Alkohol
8. Aquades
9. Alkohol dengan berbagai konsentrasi yang diperlukan

4.5.2. Alat Penelitian

4.5.2.1 Alat Ekstraksi Daun Ciplukan

Pada proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dibutuhkan alat –alat sebagai berikut :

1. Oven
2. Blender
3. Timbangan (1)
4. Gelas Erlenmeyer (2)
5. Corong gelas (1)
6. Kertas Saring (1)
7. Labu evaporator (1)
8. Labu penampung methanol (1)
9. Evaporator (1)
10. Pendingan spiral / rotary evaporator (1)
11. Selang water pump
12. Water pump
13. Water bath
14. Vacuum pump (1)
15. Botol hasil ekstrak

4.5.2.2 Alat Pemberian Ekstrak Daun Ciplukan pada Tikus

Pemberian ekstrak daun ciplukan pada tikus wistar digunakan alat spuit dan sonde. Sonde dipasang pada ujung spuit sehingga kemudian dapat dimasukkan ke dalam mulut tikus.

4.5.2.3 Alat Pemberian Induksi L-NAME

Pemberian L-NAME pada dosis 500 mg/kg/BB, 1500 mg/kg/BB dan 2500 mg/kg/BB menggunakan jarum suntik 1 cc yang diinjeksi pada abdomen tikus saat hari ke 5 hingga hari ke 17 kehamilan.

4.5.2.4 Alat Pengambilan Organ Aorta Tikus

Untuk pengambilan organ aorta pada tikus dibutuhkan alat sebagai berikut :

1. Alat bedah minor
2. Tabung sementara tempat pengawetan
3. Kotak tertutup

4.5.2.5 Alat Pembuatan Sediaan Histopatologi Aorta Tikus

Dalam pembuatan sediaan histopatologi aorta tikus alat yang digunakan sebagai berikut :

1. Mikrotom
2. Object glass
3. Cover glass

4.6. Definisi Operasional

1. Ekstrak Daun Ciplukan melalui proses ekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi yang hasilnya kemudian diuapkan dari pelarutnya (*methanol 95%*) menggunakan *rotary evaporator*. Hasil yang di dapat adalah ekstrak daun ciplukan kasar. Pemberian ekstrak daun ciplukan pada dosis 500 mg/kg/BB, 1500 mg/kg/BB dan 2500 mg/kg/BB menggunakan sonde.
2. Hewan Coba tikus : yang digunakan adalah tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) betina hamil berumur 3-4 bulan dengan berat badan 350-400 gram. Tikus diperoleh dari ITB. Tikus yang sudah disiapkan dibagi menjadi 5 kelompok

dimana masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Satu kelompok kontrol negatif dan empat kelompok kontrol positif. Tikus dilakukan proses pembuntingan selama semalam namun sebelumnya dilakukan pemeriksaan ekstrus, indikasi kehamilan dilihat melalui *vaginal pluk* atau *cctv* untuk pemantuan telah terjadi kopulasi. Penelitian menggunakan tikus ini juga dimintakan perizinan komisi etik penelitian FKUB.

3. Induksi L-NAME : Induksi L-NAME menggunakan jarum spuit 40 mg/Kg/BB yang diinjeksi pada abdomen tikus saat hari ke 1 hingga hari ke 17 kehamilan mengakibatkan kondisi preeklamsia pada tikus.
4. Sel Busa : merupakan hasil dari disfungsi endotel meningkatkan ROS dan membentuk MDA. MDA merupakan hasil terakhir dari proses lipid peroksidasi. MDA merusak molekul LDL, kemudian difagosit oleh makrofag melalui *scavenger receptor* dan membentuk sel foam pada arteri spiralis. Ini merupakan proses awal dari terjadinya atherogenesis (Meera, 2010).
5. Aorta tikus : yang digunakan untuk penghitungan jumlah sel busa aorta tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*), yang kemudian dibuat preparat histologinya dan diamati secara mikroskopik dalam 20 lapang pandang.

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1 Ekstraksi Daun Ciplukan

Untuk mendapatkan kandungan zat aktif alkaloid dan polifenol dalam daun ciplukan diperlukan suatu proses pengekstraksian. Dalam penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi. Cara kerjanya sebagai berikut :

- A. Proses pengeringan :

1. Daun Ciplukan (sample basah) dicuci bersih sebelum dikeringkan.

2. Selanjutnya dimasukkan oven dengan suhu 40-60°C atau dengan

panas matahari hingga kering (bebas kandungan air)

B. Proses Ekstraksi :

1. Setelah kering, dihaluskan dengan blender sampai halus

2. Ditimbang sebanyak 100 gram (sample kering)

3. Dimasukkan 100 gram sample kering ke gelas elenmeyer ukuran +1L

4. Kemudian direndam dengan ethanol sampai volume 900 ml

5. Dikocok sampai benar-benar tercampur (+30menit)

6. Didiamkan 1 malam sampai mengendap

7. Diambil lapisan atas campuran etanol (pelarut) dengan zat aktif yang tercampur (bisa dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring)

8. Proses perendaman dilakukan sampai 3 kali

C. Proses Evaporasi :

1. Hasil dari proses ekstraksi dimasukkan dalam labu evaporasi 1 L

2. Labu evaporasi dipasang pada evaporator

3. Water bath diisi dengan air sampai penuh

4. Semua rangkaian alat dipasang termasuk rotary evaporator, pemanas water bath (diatur sampai 90°C atau sesuai dengan titik didih pelarut), kemudian disambungkan dengan aliran listrik.

5. Larutan ethanol dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporasi

6. Ditunggu sampai aliran ethanol berhenti menetes pada labu penampung (+1,5 sampai 2 jam untuk 1 labu) +900 ml

7. Hasil yang diperoleh kira-kira ½ bahan kering

8. Hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam botol plastik/ kaca

9. Kemudian disimpan dalam freezer

4.7.2 Penentuan Dosis Ekstrak Daun Ciplukan

Dalam penelitian ini dosis ekstrak daun ciplukan digunakan dosis 500 mg/kg/BB, 1500 mg/kg/BB dan 2500 mg/kg/BB.

4.7.3 Persiapan hewan Coba

Sebelum penelitian dimulai dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan yang ditempatkan pada suhu ruang 20-25°C, sekam yang diganti tiap 2 hari, tempat makan dan minum, serta makanan berbentuk pelet dengan kebutuhan 50 gram/ekor. Tikus-tikus penelitian dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus, yaitu kelompok kontrol negatif I dan kelompok kontrol positif II, III, IV, dan V.

4.7.4 Pemberian Ekstrak Daun Ciplukan pada Tikus

Pemberian Ekstrak daun ciplukan pada kelompok tikus yang akan diberi perlakuan dilakukan melalui alat sonde dengan dosis yang sudah ditentukan pada dosis 500 mg/kg/BB, 1500 mg/kg/BB dan 2500 mg/kg/BB pada hari ke 1 hingga hari ke 17 kehamilan secara per oral. Sonde dipasang pada ujung spuit lalu dimasukkan ke dalam mulut tikus wistar sehingga mencapai esophagus bahkan sampai lambung.

4.7.5 Perlakuan Induksi L-NAME

Pemberian L-NAME menggunakan jarum suntik 1cc yang diinjeksi pada abdomen tikus wistar betina hamil dengan dosis 40mg/kg/BB pada hari ke 5-17 kehamilan.

4.7.6 Pengambilan Organ Aorta Tikus

Dalam penelitian ini organ aorta tikus yang akan diambil adalah aortanya, dimana akan dibuat sediaan histopatologinya untuk diamati dan dihitung jumlah sel radang yang ada. Cara kerja untuk pengambilannya sebagai berikut :

1. Hewan coba tikus dianestesi dengan cara disuntikkan ketamin pada intraperitoneal.
2. Tikus dibiarkan lemas dan tidak bergerak lagi.
3. Lalu dilakukan pembedahan kemudian dieksanguinasi lalu diambil organ aortanya.
4. Aorta yang telah diambil, diletakkan dalam tabung sementara dan difiksasi dalam formalin 10%.
5. Masing-masing tabung diberi identitas sesuai dengan kelompok perlakuan.
6. Organ aorta selanjutnya siap untuk dibuat preparat histologi.

4.7.7 Pembuatan Sediaan Histopatologi Aorta Tikus

Pembuatan sediaan histopatologi paru tikus dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Cara kerja pembuatan sediaan sebagai berikut :

1. Setelah direndam, jaringan aorta didehidrasi dengan meendamnya pada alkohol dengan kosentrasi bertingkat, yaitu 30%, 50%, 70%, 95% dan dua kali alkohol absolut. Semua perendaman pada fase dehidrasi ini dilakukan masing-masing selama 30 menit.
2. Setelah semua proses perendaman selesai, dilanjutkan dengan proses clearing, yaitu dengan merendam sediaan pada xylol sebanyak 2 kali masing-masing 1 jam.
3. Lalu dilakukan proses infiltrasi dengan paraffin lunak pada suhu 42-46°C selama dua kali satu jam.

4. Dilakukan *blocking* dengan parafin keras pada suhu 46-52°C selama 1 jam.
5. Kemudian disliding pada mikrotom rotary dengan ukuran 4-6 mm.
6. Dipanaskan dengan suhu 60°C.
7. Dilakukan deparafanasi dengan perendaman jaringan pada cairan xylol selama dua kali lima menit.
8. Selanjutnya dilakukan perendaman dalam alkohol bertingkat dengan ukuran konsentrasi terbalik mulai dari alkohol 95%, 85%, 75%, 50%, 30%, dan terakhir dengan aquades selama 3 menit.
9. Terakhir dilakukan pewarnaan HE sebagai berikut:
 - a. Pemberian HE 15 menit
 - b. Direndam pada alkohol asam selama 3-10 detik
 - c. Diberi cairan ammonium selama 3-10 detik
 - d. Pemberian counter staining selama 15-20 detik
 - e. Didehidrasi pada alkohol bertingkat (50%, 70%, 85%, 90%, dua kali alkohol bebas)
 - f. Pemberian xylol 5 menit
 - g. Dilakukan mounting menggunakan entellan.
10. Sediaan siap diamati dengan mikroskop dan didokumentasikan dengan kamera.

4.8. Prosedur Pengambilan dan Analisis Data

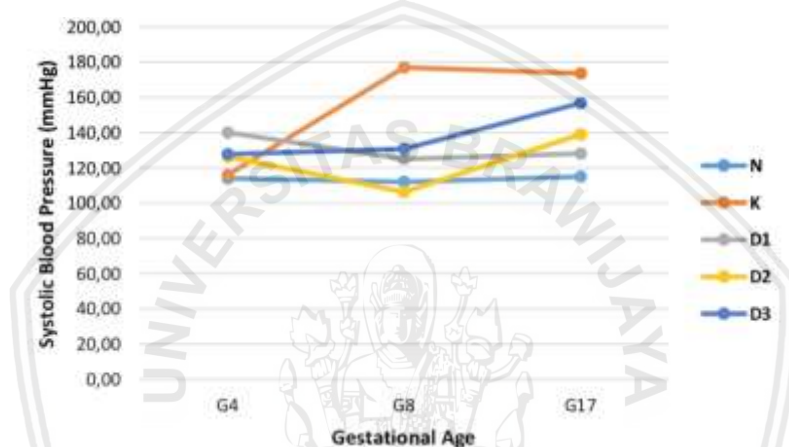
4.8.1 Pengumpulan Data

Data dalam penelitian ini dikumpulkan dari hasil evaluasi pada lima kelompok tikus . Setelah perlakuan selama hari ke 1 hingga 17 kehamilan dilakukan pembedahan untuk evaluasi jumlah sel busa pada aorta dengan metode pembuatan dan pengecatan HE, pengamatan sel busa, penghitungan dan pencatatan hasil sampel untuk evaluasi.

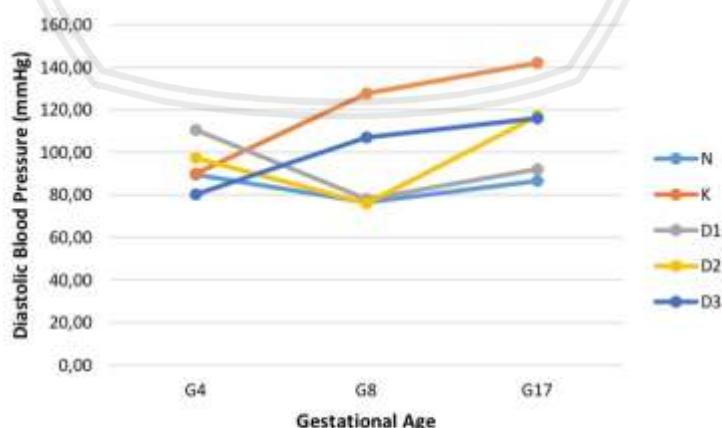
4.8.2 Penghitungan Jumlah Sel Busa pada Sediaan Histopatologi

Penentuan jumlah sel busa tikus didapatkan melalui pengamatan pada sediaan histopatologi aorta tikus dengan pengecatan HE yang dihitung menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 400x. Pada pengamatan dihitung jumlah sel busa pada aorta tikus sebanyak 20 lapang pandang setiap sediaan.

4.8.3 Pengukuran Tekanan Darah



Gambar 1. Tekanan darah sistolik. Tekanan darah sistolik diukur pada kehamilan hari ke-4 (G4) dan ke-8 (G8) secara non-invasif dengan metode tail-cuff. Data ditampilkan dalam nilai mean (n=4) dengan satuan milimeter merkuri (mmHg). N: normal, K: kontrol preeklampsia, D1-D3: tikus preeklampsia yang diberi ekstrak daun ceplukan dosis 500, 1500, dan 2500 mg/kgBB, secara berurutan.



Gambar 2. Tekanan darah diastolik. Tekanan darah diastolik diukur pada kehamilan hari ke-4 (G4) dan ke-8 (G8) secara non-invasif dengan metode tail-cuff. Data ditampilkan dalam nilai mean (n=4) dengan satuan milimeter merkuri (mmHg). N: normal, K: kontrol preeklampsia, D1-D3: tikus preeklampsia yang diberi ekstrak daun ceplukan dosis 500, 1500, dan 2500 mg/kgBB, secara berurutan.

Berdasarkan grafik pengukuran tekanan darah didapatkan hasil pengukuran tekanan darah pada kelompok perlakuan kontrol negatif didapatkan rerata tekanan sistolik dengan tekanan diastolik pada hari ke 4 sebesar 110/90 mmHg, hari ke 8 sebesar 110/80 mmHg dan hari ke 17 sebesar 110/90 mmHg. Pada kelompok kontrol positif pada hari ke 4 sebesar 110/90mmHg, 170/130 mmHg, hari ke 8 sebesar 170/140 mmHg. Pada kelompok EDC 1 pada hari ke 4 sebesar 140/110mmHg, 130/80 mmHg, hari ke 8 sebesar 130/90 mmHg. Pada kelompok EDC 2 pada hari ke 4 sebesar 130/90mmHg, 110/80 mmHg, hari ke 8 sebesar 110/90 mmHg. Pada kelompok EDC 3 pada hari ke 4 sebesar 110/110mmHg, 110/80 mmHg, hari ke 8 sebesar 110/90 mmHg. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun ciplukan dapat menurunkan tekanan darah pada tikus preeklamsia pada kelompok perlakuan EDC 1, 2 dan 3. Namun untuk perbedaan penurunan tekanan darah berdasarkan dosis tidak terlalu signifikan.

4.8.4 Teknik Analisa Data

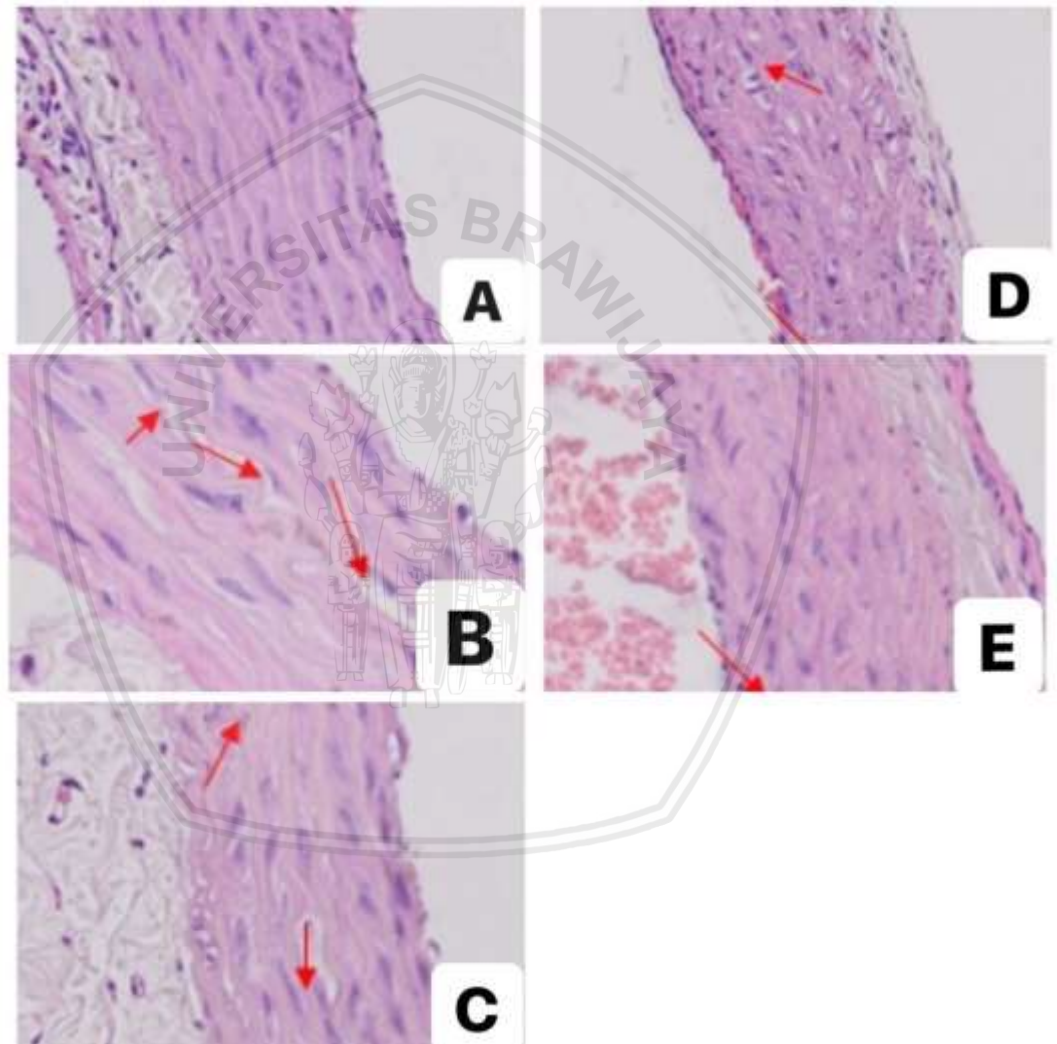
Analisis data dilakukan dengan bantuan software SPSS 17.0 for Windows. Data dari penghitungan jumlah sel busa pada aorta tikus antara kelompok 1,2,3,4 dan 5 dianalisa dengan *analysis of varian* (ANOVA). Hasil penghitungan jumlah sel inflamasi juga ditabulasi dan dicari rata-rata dan standar deviasinya. Uji *One Way* ANOVA ini digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jumlah sel busa aorta antar kelompok. Penelitian dianggap bermakna atau signifikan bila nilai signifikansi $p < 0,05$. Jika memang terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan maka analisis dilanjutkan dengan uji Tukey HSD (*post-hoc test*). Hasil uji ini akan menunjukkan kelompok mana saja yang berbeda secara bermakna (Dahlan, 2011).

BAB 5

Hasil Penelitian dan Analisis Data

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Pengamatan Histopatologi



Gambar 5.4 Histopatologi Aorta

Keterangan :

Gambar A : Histopatologi Aorta Kontrol Negatif

Gambar B : Histopatologi Aorta Kontrol Positif

Gambar C : Histopatologi Aorta EDC 1

Gambar D : Histopatologi Aorta EDC 2

Gambar E : Histopatologi Aorta EDC 3

**Keterangan gambar : Sel busa ditunjukkan dengan panah merah,
Dilihat dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400x**

5.1.2 Data Rerata Perhitungan Jumlah Sel Busa Aorta Tikus Wistar

| Kelompok Perlakuan | N | Rata-rata ± SD |
|---------------------------|----------|---------------------------|
| K- (Kontrol Negatif) | 5 | 8.0 ± 2.55 ^{ab} |
| K+ (Kontrol Positif) | 5 | 14.2 ± 4.49 ^c |
| EDC 1 | 5 | 11.2 ± 1.92 ^{bc} |
| EDC 2 | 5 | 8.6 ± 2.40 ^{ab} |
| EDC 3 | 5 | 5.0 ± 2.23 ^a |

Tabel 5.1 Data Rerata Jumlah Sel Busa Aorta Tikus Wistar Masing-Masing Kelompok Penelitian

Keterangan :

- K- : Tanpa Induksi LNAME + EDC**
- K+ : Induksi LNAME**
- EDC 1 : Induksi LNAME + EDC 500 mg/kg/BB**
- EDC 2 : Induksi LNAME + EDC1500 mg/kg/BB**
- EDC 3 : Induksi LNAME + EDC 2500 mg/kg/BB**



Gambar 5.3 Data Rerata Jumlah Sel Busa Aorta Kelompok Penelitian

Berdasarkan grafik diatas diketahui bahwa rata rata jumlah sel busa aorta pada kontrol negatif sebesar 8 , kelompok kontrol positif sebesar 14,2, kelompok EDC 1 sebesar 11,2, kelompok EDC 2 sebesar 8,6 dan kelompok EDC 3 sebesar 5. Sehingga dapat disimpulkan bahwa rerata kontrol positif memiliki jumlah sel busa yang sangat tinggi dan kontrol negatif dalam jumlah normal sebagai bentuk respon adaptif dan terjadi penurunan jumlah sel busa terhadap jaringan aorta karena adanya penambahan ekstrak daun ciplukan.

5.2 ANALISA DATA

5.2.1 Uji Normalitas

Berdasarkan uji normalitas pada (tabel 2) didapatkan signifikansi masing masing kelompok perlakuan lebih dari α 0,05 artinya data terdistribusi normal.

5.2.2 Uji Homogenitas

Uji ini bertujuan untuk menguji berlaku tidaknya asumsi untuk Anova, yaitu apakah kelima sampel mempunyai varians yang sama. Untuk mengetahui apakah asumsi bahwa ketiga kelompok sampel yang ada mempunyai varian yang sama (homogen) dapat diterima. Untuk itu sebelumnya perlu dipersiapkan hipotesis tentang hal tersebut. Adapun hipotesisnya adalah sebagai berikut :

H_0 = Ketiga variansi populasi adalah sama

H_1 = Ketiga varians populasi adalah tidak sama

Signifikansi lebih dari α 0,05 artinya data homogen. Jika signifikan (tabel 3) > 0.05 maka H_0 diterima (H_0 = Ketiga variansi populasi adalah sama)

5.2.3 One Way Anova

Anova dapat dilakukan jika memenuhi syarat uji normalitas dan homogenitas. Anova satu arah (one way anova) digunakan apabila yang akan dianalisis terdiri dari satu variabel terikat dan satu variabel bebas. Setelah ketiga varians terbukti sama, baru dilakukan uji Anova untuk menguji apakah ketiga sampel mempunyai rata-rata yang sama. Output Anova adalah akhir dari perhitungan yang digunakan sebagai penentuan analisis terhadap hipotesis yang akan diterima atau ditolak. Dalam hal ini hipotesis yang akan diuji adalah:

H_0 = Tidak ada perbedaan rata-rata (Sama)

H_1 = Ada perbedaan rata-rata (Tidak Sama)

Berdasarkan hasil (table 4), diperoleh nilai probabilitas signifikansi sebesar 000. Karena nilai probabilitas signifikansi $0,00 < 0,05$. Jika signifikan atau probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak (H_0 = Tidak ada perbedaan rata-rata hasil penurunan jumlah sel busa)

5.2.4 Post Hoc Test Tukey

Post Hoc Test Tukey dilakukan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda dan yang tidak berbeda. Uji tukey dilakukan

apabila koefisiensi keseragaman $<5\%$. Hal ini dapat dilakukan bila F hitungnya menunjukkan ada perbedaan. Kalau F hitung menunjukkan tidak ada perbedaan, analisis sesudah anova tidak perlu dilakukan.

Post hoc test tukey (table 5) menunjukkan bahwa antara kelompok control positif dengan dosis 2 dan dosis 3 merupakan kelompok satu dengan signifikansi 0,264. Kelompok dosis 1, 2 dan 3 merupakan kelompok dua dengan signifikansi 0,372. Kelompok dosis satu dan control negative merupakan kelompok tiga dengan signifikansi 0,434. Masing- masing kelompok tidak signifikan. Berdasarkan hasil tersebut, disimpulkan bahwa kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan terdapat perbedaan rerata jumlah sel busa yang signifikan pada masing- masing kelompok perlakuan. Dan kelompok dosis 1 dan dosis 2 lebih baik menurunkan jumlah sel busa secara efektif dibandingkan dosis 3. Kelompok dosis 1 dan dosis 2 tidak terlalu berbeda signifikan dengan control negative. Sedangkan kelompok kelompok dosis 3 tidak terlalu efektif dalam mencegah peningkatan jumlah sel busa jika dibandingkan dengan control positif.

BAB 6

PEMBAHASAN

L-NAME merupakan zat yang diinduksi pada tikus hamil normal menjadi tikus model preeklamsia dalam penelitian ini. L-NAME mempengaruhi kinerja endotel pada aorta dengan menghambat eNOS sehingga produksi NO berkurang. Kekurangan NO pada dinding pembuluh darah dapat mengakibatkan berkurangnya kemampuan vasodilatasi untuk menurunkan tekanan darah dan mengakibatkan hipertensi dan menyebabkan disfungsi endotel (Phoulos, Thomas L. and Li, Huiying, 2013). Menurut Redman dan Sargent (2013), disfungsi endotel ini mengakibatkan peningkatan ROS dan penurunan NO sehingga mengakibatkan tekanan darah meningkat.

Kekurangan nitrit oksida selama kehamilan meningkatkan vasokonstriksi pembuluh darah, mengurangi sirkulasi *uteroplacenta* dan meningkatkan faktor humoral pada sirkulasi kehamilan seperti peningkatan ROS dan meningkatkan permeabilitas kapiler memicu terjadinya disfungsi endotel sehingga tekanan darah meningkat disertai proteinuria (Matsubara, 2015). Vasokonstriksi pembuluh darah menyebabkan kegagalan remodeling arteri spiralis karena mengganggu sirkulasi *uteroplacenta* selama implantasi dan mengakibatkan hipoksia. Keadaan hipoksia ini memicu proses inflamasi. Sitokin pro inflamasi seperti TNF α dan IL-6 menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel menurunkan availabilitas NO dan meningkatkan ROS sehingga meningkatkan tekanan darah. ROS juga menyebabkan disfungsi endotel (Gilbert *et.al.*, 2008).

Selain itu proses metabolisme ibu hamil berbeda dengan orang normal, terutama metabolisme lipid. Kondisi kehamilan sering menyebabkan kondisi hiperlipidemia (Herrera, 2014). Pada kondisi hiperlipidemia dapat meningkatkan lipoprotein a. Lipoprotein a

sangat penting untuk berikatan dengan LDL dan jika meningkat maka LDL di jaringan akan meningkat dan apabila teroksidasi maka akan membentuk sel busa sebagai tanda terjadinya atherosclerosis akut. Atherosclerosis akut ini dapat menjadi faktor predisposisi atherosclerosis (Aghade, 2017).

Menurut gambar histopatologi hasil penelitian dapat diidentifikasi pembentukan sel busa pada aorta, terdapat gambaran sel menyerupai seperti lipid dan berwarna merah muda melalui pengecatan HE (Escherinco, 2013) dan pengamatan di mikroskop dengan perbesaran 400x, sel busa ini yang terbentuk akibat disfungsi endotel yang meningkatkan ROS dan membentuk MDA. MDA merupakan hasil terakhir dari proses lipid peroksidasi. MDA merusak molekul LDL, kemudian difagosit oleh makrofag melalui *scavenger receptor* dan membentuk sel foam pada arteri spiralis. Ini merupakan proses awal dari terjadinya atherogenesis (Meera, 2010). Menurut penelitian Meera *et.al*, terdapat pembentukan sel busa ditemukan biasanya pada arteri spiralis. Hal ini mendorong dilakukannya penelitian apakah ada kemungkinan terdapat pembentukan sel busa di pembuluh darah lainnya.

Pada gambaran histopatologi pada aorta menunjukkan terdapat sel busa, jadi dapat disimpulkan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan bahwa pada pembuluh darah lain terdapat sel busa. Sebaran sel busa pada masing-masing kelompok berbeda, Hasil pengamatan yang telah dilakukan dengan pengecatan HE dan perbesaran 400x ditemukan pada kelompok control negatif ditemukan sel busa rata-rata 8,0, kelompok control positif ditemukan sel busa rata-rata 14,2, kelompok dosis 1 ditemukan sel busa rata-rata 11,2, kelompok dosis 2 rata-rata 8,6, dan kelompok dosis 3 rata-rata 5,0. Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak daun ciplukan memiliki efektifitas dalam mencegah peningkatan sel busa, hal ini ditunjukkan dengan perbandingan antara kelompok dosis 2 dan dosis 3 yang jumlah sel busa tidak

terlalu berbeda jauh dengan kelompok control negatif. Namun dosis 1 tidak terlalu jauh berbeda dengan control positif. Jadi dapat disimpulkan korelasi dosis ekstrak daun ciplukan menentukan keefektifan dalam mencegah peningkatan sel busa.

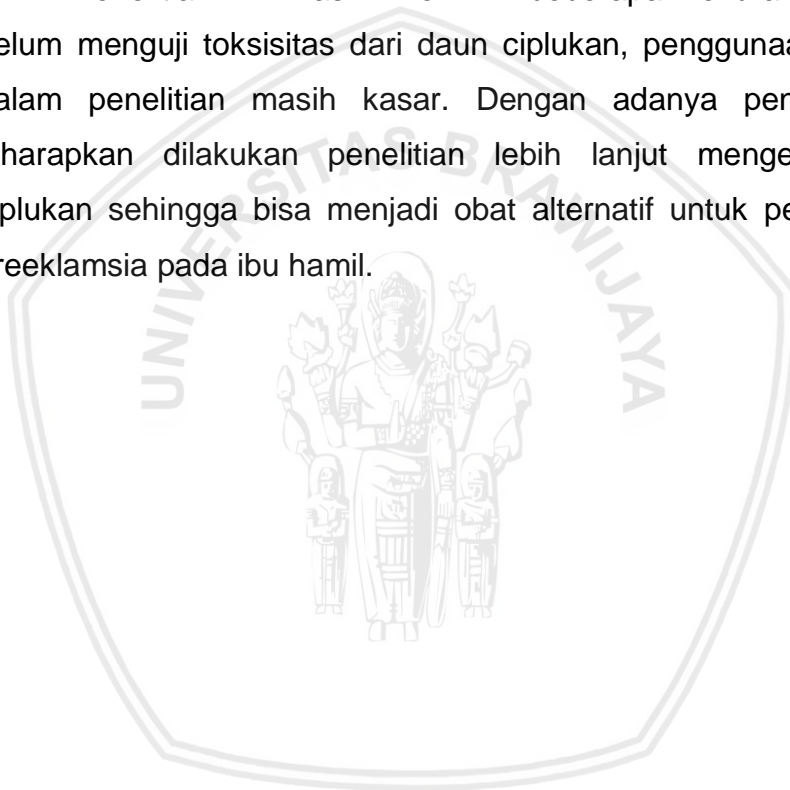
Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun ciplukan dapat mengurangi tingkat sel busa pada aorta tikus yang diinduksi *L-NAME*. Uji one way anova dilakukan setelah data terbukti normalitas dan homogen. Hasil uji one way annova adalah 0,000 (table 2). Terdapat rata-rata jumlah sel busa aorta pada setiap kelompok berbeda. Hal ini menyatakan bahwa ekstrak daun ciplukan memiliki efektifitas dalam menurunkan jumlah sel busa. Sel busa merupakan hasil dari proses oksidasi lipid karena pembentukan ROS dan kelainan metabolisme lipid (Aghade, 2017). Menurut penelitian Januari *et.al*, dikatakan bahwa daun ciplukan dapat digunakan sebagai imunodulator, antiinflamasi dan antioksidan. Pemberian zat antioksidan mencegah terjadinya proses oksidasi lipid dan ROS (Agheea,2017). Menurut penelitian, ekstrak daun ciplukan (*Physalis minima L.*) ternyata memiliki kandungan kimia alkaloid dan fenol, penggunaannya secara empiris mirip dengan *Physalis angulata*, memiliki kandungan alkaloid dan polifenol yang sama dengan *Physalis minima L.*, sebagai antioksidan (Tarannita, Citra, Permatasari, Nur & Sudiarto, 2009). Ekstrak daun ciplukan mengandung senyawa alkaloid serta fenol sebagai antioksidan yang bekerja pada sel endotel aorta dengan menginduksi sistem eNOS sehingga nitrit oksida dapat diproduksi dan tidak terjadi vasokonstriksi pada arteri yang mengakibatkan peningkatan ROS dan gangguan metabolisme lipid. Berdasarkan penelitian ini dapat dibuktikan bahwa ekstrak daun ciplukan dapat digunakan sebagai antioksidan karena terdapat pengeluaran senyawa alkaloid dan polifenol sehingga ROS menurun, tidak mengganggu metabolisme lipid dan mengakibatkan jumlah sel busa tidak meningkat.

Hasil post hoc test tukey (table 5) menunjukkan bahwa antara kelompok control positif dengan dosis 2 dan dosis 3 merupakan kelompok satu dengan signifikansi 0,264. Kelompok dosis 1, 2 dan 3 merupakan kelompok dua dengan signifikansi 0,372. Kelompok dosis satu dan control negative merupakan kelompok tiga dengan signifikansi 0,434. Masing- masing kelompok tidak signifikan. Berdasarkan hasil tersebut, disimpulkan bahwa kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan terdapat perbedaan rerata jumlah sel busa yang signifikan pada masing- masing kelompok perlakuan. Dan kelompok dosis 1 dan dosis 2 lebih baik menurunkan jumlah sel busa secara efektif dibandingkan dosis 3. Kelompok dosis 1 dan dosis 2 tidak terlalu berbeda signifikan dengan control negative. Sedangkan kelompok dosis 3 tidak terlalu efektif dalam mencegah peningkatan jumlah sel busa jika dibandingkan dengan control positif.

Jika diperhatikan pada tabel rerata jumlah sel busa pada tikus terdapat perbedaan rerata jumlah sel busa signifikan yang didapatkan dari hasil post hoc test tukey, pada kelompok kontrol positif jumlah sel busa relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 yang menunjukkan terjadi pencegahan peningkatan jumlah sel busa dengan pemberian ekstrak daun ciplukan pada kelompok dosis 1, 2, dan 3. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun ciplukan memegang peranan penting dalam menghambat aktivasi ROS dan oksidasi lipid pada preeklamsia. Selain itu, dalam post hoc test tukey juga dilakukan perhitungan standar deviasi pada tabel adalah ukuran yang digunakan untuk mengukur jumlah variasi atau sebaran sel busa. Standar deviasi yang rendah menunjukkan bahwa sel busa cenderung mendekati *mean* (rata-rata), sedangkan standar deviasi yang tinggi menunjukkan bahwa sel busa tersebar pada rentang nilai yang lebih luas.

Penggunaan dosis ekstrak daun ciplukan 500 mg/kg/BB, 1500 mg/kg/BB dan 2500 mg/kg/BB dapat digunakan sebagai antioksidan melalui pengamatan penurunan jumlah sel busa pada kondisi preeklamsia. Menurut penelitian sebelumnya digunakan penggunaan ekstrak daun ciplukan dalam 3 dosis yaitu 500 mg/kg/BB, 1500 mg/kg/BB dan 2500 mg/kg/BB sebagai penggunaan untuk terapi (Tarannita, Citra, Permatasari, Nur & Sudiarto, 2009).

Penelitian ini masih memiliki beberapa kekurangan yaitu belum menguji toksisitas dari daun ciplukan, penggunaan ekstrak dalam penelitian masih kasar. Dengan adanya penelitian ini diharapkan dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daun ciplukan sehingga bisa menjadi obat alternatif untuk pencegahan preeklamsia pada ibu hamil.



BAB 7

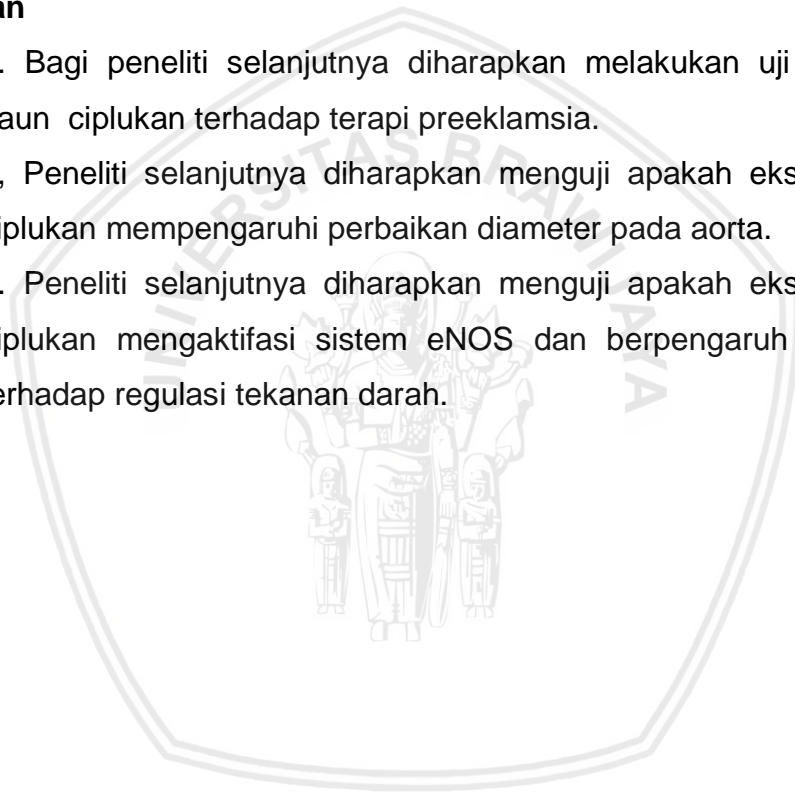
KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Pemberian ekstrak daun ciplukan dapat mencegah peningkatan jumlah sel busa pada organ aorta tikus model preeklamsia.

7.2 Saran

1. Bagi peneliti selanjutnya diharapkan melakukan uji toksisitas daun ciplukan terhadap terapi preeklamsia.
2. Peneliti selanjutnya diharapkan menguji apakah ekstrak daun ciplukan mempengaruhi perbaikan diameter pada aorta.
3. Peneliti selanjutnya diharapkan menguji apakah ekstrak daun ciplukan mengaktifasi sistem eNOS dan berpengaruh signifikan terhadap regulasi tekanan darah.



Lampiran 1

Uji Normalitas

| | Kelompok | Shapiro-Wilk | | |
|--------|-------------|--------------|----|-------|
| | | Statistic | Df | Sig. |
| Jumlah | Perlakuan 1 | ,987 | 5 | ,967 |
| | Perlakuan 2 | ,989 | 5 | ,978 |
| | Perlakuan 3 | ,979 | 5 | ,928 |
| | Perlakuan 4 | ,957 | 5 | ,787 |
| | Perlakuan 5 | ,999 | 5 | 1,000 |

Catatan;

Signifikansi lebih dari α 0,05 (artinya data terdistribusi Normal)

Ui Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Data

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1.678 | 4 | 20 | .194 |

Catatan;

Signifikansi lebih dari α 0,05 (artinya data homogen)

One Way Anova

ANOVA

| Data | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 241.200 | 4 | 60.300 | 8.105 | .000 |
| Within Groups | 148.800 | 20 | 7.440 | | |



ANOVA

| Data | | | | | |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Between Groups | 241.200 | 4 | 60.300 | 8.105 | .000 |
| Within Groups | 148.800 | 20 | 7.440 | | |
| Total | 390.000 | 24 | | | |

Post Hoc Test

Data

Tukey HSD

| Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|-----------|---|-------------------------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 5 | 5.00 | | |
| 2 | 5 | 8.00 | 8.00 | |
| 3 | 5 | 8.60 | 8.60 | |
| 4 | 5 | | 11.20 | 11.20 |
| 5 | 5 | | | 14.20 |
| Sig. | | .264 | .372 | .434 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Rata-Rata Jumlah Sel Radang Pada Aorta Tikus (*Rattus Norvegicus*)

| Kelompok Perlakuan | N | Rata-rata ± SD |
|----------------------|---|---------------------------|
| K- (Kontrol Negativ) | 5 | 8.0 ± 3.55 ^{ab} |
| K+ (Kontrol Positiv) | 5 | 14.2 ± 4.49 ^c |
| EDC 1 | 5 | 11.2 ± 1.92 ^{bc} |
| EDC 2 | 5 | 8.6 ± 2.40 ^{ab} |
| EDC 3 | 5 | 5.0 ± 2.23 ^a |

DAFTAR PUSTAKA

- Aghade. 2017. Atherosis Acute in Preeclampsia. USA. 2015. PublicMedicine.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. 2016. *Classification hypertension of Pregnancy. American College. 207-2011*
- Baedowi, 1998, Timbunan Glikogen dalam Hepatosit dan Kegiatan Sel Beta Insula Pancreatisi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Akibat Pemberian Ekstrak Daun Ciplukan, Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi di Indonesia IX, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 139.
- Baha D. K. Y. 2013. Preeclampsia cause acute atherosis. USA. 2013. PublicMedicine.
- Bress C.K. Y., and Roberts, J. M. (2009). Contemporerary concepts of the pathogenesis and management of preeclampsia. JAMA 287, 3183-3186. doi: 10.1001/jama.287.24.3183
- Cook and Samman. 2016. Reactive Oxygen Species and Antioxidant. NewYork : PublicMedicine.
- Cordell GA. Introduction to alkaloid a biogenetic approach. New York: John Wiley and Sons; 1981. in Tarannita, Citra, Permatasari, Nur & Sudiarto, 2009.
- Dahlan S. 2011. Analisa Statistik . Jakarta. EGC
- Efendi Magfur. Pengaruh Alkaloid dari *Physalis minima L* Terhadap Penurunan Kontraktilitas Aorta Setelah Pemberian NE Eksogen. [Tugas Akhir]. Malang: Fakultas MIP Universitas Brawijaya; 1998. in Tarannita, Citra, Permatasari, Nur & Sudiarto, 2009).
- Eroschenko, Victor P., 2008. diFiore'S Atlas of histology with Functional Correlations. USA. Lippincot Williams Inc.
- Finkel and Holbrook, 2010. Antioxidant For Reactive Oxygen Species. NewYork. PublicMedicine
- Gary Cunningham F. et.al, 2013. William Obstetric. Mc Graw Hill Companies, Inc.
- Giardina JB , .2010. Nitrit Oxide and Endotelin in Preeclampsia. Singapura: Inc
- Gilbert , Meyska L., Tarantono & Noval Zedd. 2008. Disfunction Endotel in Preeclampsia
- Goncalo. 2018. Classification Preeclampsia on Pregnancy. USA. 2018. PublicMedicine.

Herrera, Ortega & Senovilla H. 2014. Lipid metabolism during pregnancy and its implications for fetal growth. USA. 2014. PublicMedicine.

Januário, Filho, Petro, Kashima, Sato, and França, 2000, Antimycobacterial Physalins from *Physalis angulata* L. (Solanaceae), *Phytotherapy Res*, 16(5): 445 – 448

Jones, M. L., Mark, P. J., Mori, T. A., Keelan, J. A., & Waddell, B. J. 2013. Maternal Dietary Omega Fatty Acid Supplementation Reduces Placental Oxidative Stress and Increase Fetal and Placental Growth in the Rat. Lippincot Williams Inc.. 88-37

Katabuchi D.K. 2012. Preeclampsia in pregnancy. Lippincot Williams Inc.

Keichii Matsubara. 2015. Metabolism Lipid in Preeclampsia. USA. 2015. PublicMedicine.

Kumar, Vinay, Abbas, K. Abul & Aster Jon C., 2013. Robbins Basic Pathology. Singapura. Elsevier SAUNDERS

Lubos, Handy & Loscalzo, 2008. Reactive Oxygen Species in Preeclampsia

Matsubara Keichii . 2015. Inflammation in Preeclampsia. USA. Lippincot Williams Inc.

Meera. 2010. Foam Cell in Preeclampsia USA. 2015. PublicMedicine.

Mulchandani P. Planca Medica Journal of Medicinal Plant Research. Physalin D A New 13,14- seco-16 24-cyclo Steroid From *Physalis Minima* 1979;37. in Tarannita, Citra, Permatasari, Nur & Sudiarto, 2009).

North, R. A., McCowan, L. M., Dekker, G. A., Poston, L., Chan, E. H., Stewart, A. W., et al. (2011). Clinical risk prediction for preeclampsia in

nulliparous women: development of model in international prospective cohort. BMJ342:d1875. doi: 10.1136/bmj.d1875

Phoulos, Thomas L. dan Li, Huiying, 2013. Structural Basis for Isoform-Selective Inhibition in Nitric Oxide Synthase. California. Departements of Molecular Biology & Biochemistry.

Prawirohardjo. 2013. Tatalaksana pada Preeklamsia di Pelayanan Primer. Jakarta. EGC

Redman, C. W., and Sargent, I. L. 2013. Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response- a review. *Placenta* 24(Suppl A), S21-S27. Doi; 10.1053/plac.2002.0930

Sarah & Robert. 2018. Metabolism lipid of pregnancy USA. 2015. PublicMedicine.

Sherwood, Lauralee. 2012. Introduction to Human Physiology. Cengage Learning

- Sunderland, N., Hennessy A. & Markis, A. 2011. Animal Models of Preeclampsia. *Am. J. Reprod. Immunol.* 65, 533-541
- Ukwubile, C.A. & Oise, I.E., 2016. Analgesic and Antiinflammatory Activity of *Physalis angulata* Linn. (Solanaceae) Leaf Methanolic Extract in Swiss Albino Mice. *International Biology Biomedicine Journal* 2(4), pp.25
- Walker, J. J. (2011). Preeclampsia. *Lancet* 356, 1260-1265. doi: 10.1016/S0140-6736(00)02800-2
- Yang X., Guo, L., Li H., Chen, X., and Tong, X. 2012. Analysis of The Original causes of Placental Oxidative Stress in Normal Pregnancy and Preeclampsia: a hypothesis. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 25, 884-888.
- Yiyenoflu, O. B., Ugur, M. G., Ozcan, H. S. C., Can, G., Ozturk, E., Balat, O., et al. 2013. Assessment of Oxidative Stress Markers in Recurrent Pregnancy Loss: prospective study. *Arch. Gynecol. Obstet.* 289, 1337-1340.

