

repository.ub.ac.id

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SUKUN
(*Artocarpus altilis*) TERHADAP PROFIL PITA
PROTEIN DAN HISTOPATOLOGI JEJUNUM
TIKUS PUTIH MODEL *INFLAMMATORY
BOWEL DISEASE* (IBD) INDUKSI
INDOMETASIN**

SKRIPSI

Oleh:

SYASYA YUSRINA HAIDAPUTRI

155130107111004



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SUKUN
(*Artocarpus altilis*) TERHADAP PROFIL PITA
PROTEIN DAN HISTOPATOLOGI JEJUNUM
TIKUS PUTIH MODEL *INFLAMMATORY
BOWEL DISEASE* (IBD) INDUKSI
INDOMETASIN**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

**SYASYA YUSRINA HAIDAPUTRI
155130107111004**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*)
TERHADAP PROFIL PITA PROTEIN DAN HISTOPATOLOGI
JEJUNUM TIKUS PUTIH MODEL *INFLAMMATORY
BOWEL DISEASE* (IBD) INDUKSI INDOMETASIN**

Oleh:

SYASYA YUSRINA HAIDAPUTRI

NIM. 155130107111004

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 6 Agustus 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I



Pembimbing II

Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D

NIP. 19810504 200501 1 001

drh. Viski Fitri Hendrawan, M. Vet.

NIP. 19880518 201504 1 003

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc

NIP. 19631216 198803 1 002



LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Syasya Yusrina Haidaputri

NIM : 155130107111004

Program Studi : Pendidikan Kedokteran Hewan

Penulisan Skripsi Berjudul :

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Profil Pita Protein dan Histopatologi Jejunum Tikus Putih Model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Induksi Indometasin

Dengan ini menyatakan bahwa:

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

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 6 Agustus 2019

Yang menyatakan,

(Syasya Yusrina Haidaputri)

NIM.155130107111004

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap
Profil Pita protein dan Histopatologi Jejunum Tikus Putih Model
Inflammatory Bowel Disease (IBD) Induksi Indometasin**

ABSTRAK

Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan penyakit peradangan pada bagian saluran pencernaan. Salah satu yang dapat menyebabkan IBD adalah pemberian *Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAID)* seperti indometasin yang dapat menyebabkan inflamasi pada jejunum. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dalam memperbaiki kerusakan pada histopatologi jejunum dan mengetahui perbedaan gambaran profil pita protein jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) hasil induksi indometasin dengan yang mendapatkan terapi ekstrak daun sukun. Penelitian ini menggunakan tikus jantan dengan umur 8-12 minggu dan berat badan 150-200 gram. Tikus dibagi menjadi lima kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok terapi dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB. Tikus model IBD diperoleh dengan menginduksi indometasin dosis 15 mg/kg BB per oral diberikan satu kali. Terapi ekstrak daun sukun diberikan selama 14 hari. Variabel yang diamati adalah profil pita protein dengan menggunakan metode SDS-PAGE. Sedangkan pengamatan histopatologi jejunum dengan metode pewarnaan *Hematoksin-Eosin* menggunakan mikroskop. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dengan dosis 400 mg/kg BB mampu menekan inflamasi pada jejunum yang ditandai dengan hilangnya protein dengan berat molekul 60 kDa, 72 kDa, dan 92 kDa, sedangkan pada dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB berat molekul tersebut masih terekspresi. Pemberian ekstrak daun sukun mampu memperbaiki sel-sel epitel jejunum yang rusak akibat inflamasi.

Kata Kunci: IBD, Indometasin, Histopatologi, Profil Pita Protein

repository.ub.ac.id

The Effect of Breadfruit Leaf Extract (*Artocarpus altilis*) against Protein Profile Bands and Histopathology of Jejunum on White Rats Inflammatory Bowel Disease (IBD) Model Induced by Indomethacin

ABSTRACT

Inflammatory Bowel Disease (IBD) is an inflammatory disease in the digestive tract. One that can cause IBD is the provision of Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) such as indomethacin which can cause inflammation in the jejunum. This study aims to determine the effect of breadfruit leaf extract (*Artocarpus altilis*) in repairing damage to jejunal histopathology and to know the difference in profile profile of rat jejunal protein (*Rattus norvegicus*) results from indomethacin induction with those receiving breadfruit leaf extract. This study used mice with a age of 8-12 weeks and a body weight of 150-200 grams. Rats were divided into five groups: negative control group, positive control group, therapy group dose 100 mg/kg body weight, 200 mg/kg body weight and 400 mg/kg body weight. IBD models were obtained by inducing indomethacin at a dose of 15 mg/kg per oral given once. Breadfruit leaf extract therapy is given for 14 days. The variables observed were protein profile bands using the SDS-PAGE method. Whereas jejunal histopathology with Hematoxilin-Eosin staining method using a microscope. The results showed that research on breadfruit leaf extract (*artocarpus altilis*) at dose of 400 mg/kg body weight was able to prevent inflammation of the jejunum combined with proteins with molecular weights of 60 kDa, 72 kDa, and 92 kDa, at a dose of 100 mg/kg and 200 mg/kg body weight of molecular weight is still expressed. Giving breadfruit leaf extract cam improve jejunum epithelial cells damaged by inflammation.

Keywords: IBD, Indomethacin, Histopathology, Protein Profile Bands

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa atas rahmat dan anugerah-Nya, penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Profil Pita protein dan Histopatologi Jejunum Tikus Putih Model *Inflammatory Bowel Disease (IBD)* Induksi Indometasin”**.

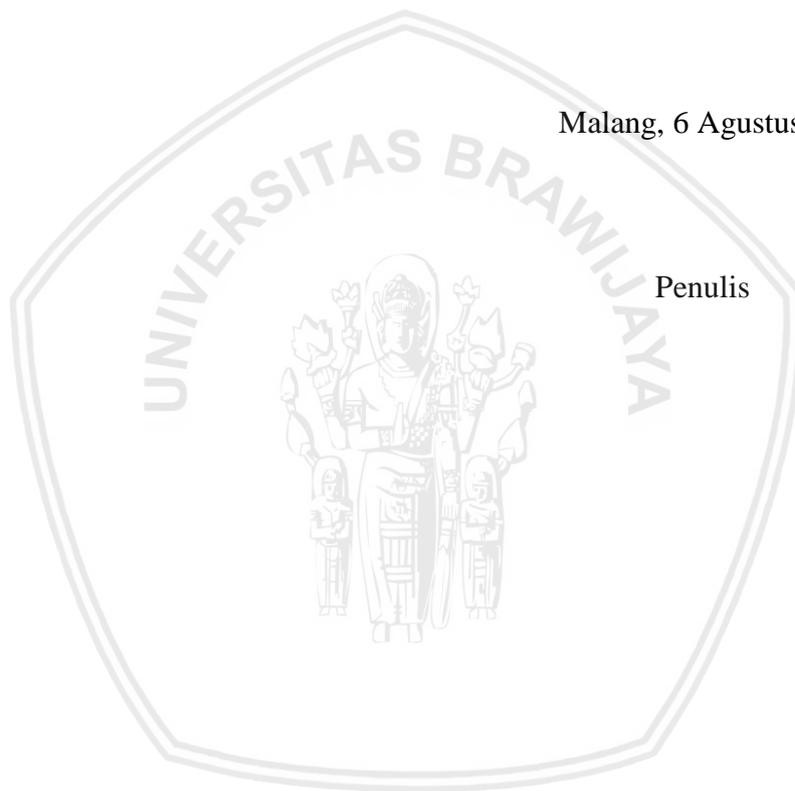
Pada kesempatan kali ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Laporan ini :

1. Edwin Widodo, S.Si.,M.Sc., Ph.D selaku dosen pembimbing I yang telah mengarahkan, memberi bimbingan, kesabaran, kritik, saran, dan waktu. Sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini dengan baik.
2. drh. Viski Fitri Hendrawan, M. Vet. selaku dosen pembimbing II yang telah mengarahkan, memberi bimbingan, kesabaran, kritik, saran dan waktu. Sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini dengan baik.
3. drh. Ani Setianingrum, M. Sc. selaku penguji I dan drh. Dodik Prasetyo, M. Vet selaku penguji II atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan kepada penulis.
4. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB).
5. Ayahanda Hadi Sukoco, Ibunda Aida Ernawati, dan Adik Afiq Fathurrahman yang selalu memberikan dukungan, doa, materil dan juga moril.
6. Kelompok Daun Sukun, Anris Alfani Purba, Nathania Aryani, Ratih Amelia dan Siti Marwaa.
7. Teman-teman Selow ae, Nurfitriyana Firsty, Olfivesen Purba, Anris Alfani Purba, Aulia Fadil Pamungkas, Tiara Anggraeni, Rahmi Elfira yang selalu mengingatkan dan memberi semangat dalam menyelesaikan laporan ini dengan baik.

8. Teman Kos Chantique yang selalu mengingatkan dan memberi semangat dalam menyelesaikan laporan ini dengan baik.
9. Teman- teman DNA dan Kabinet Asique atas semangat dan doa.

Penulis menyadari bahwa laporan ini jauh dari sempurna. Untuk itu saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan.

Malang, 6 Agustus 2019



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Inflammatory Bowel Disease (IBD)</i>	5
2.2 Indometasin	6
2.3 Tikus	7
2.4 Daun Sukun	8
2.5 Histopatologi Jejunum	10
2.6 Protein	11
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	14
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	14
3.2 Hipotesis Penelitian	17
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	18
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	18
4.2 Sampel Penelitian	18
4.3 Alat dan Bahan	19
4.3.1 Alat	19
4.3.2 Bahan	19
4.4 Rancangan Penelitian	20
4.5 Variabel Penelitian	20
4.6 Prosedur Penelitian	20
4.6.1 Persiapan Hewan Coba	20
4.6.2 Persiapan Indometasin	21
4.6.3 Pembuatan Ekstrak Daun Sukun	21
4.6.4 Isolasi Protein Jejunum	22



4.7 Elektroforesis SDS-PAGE.....	23
4.7.1 Persiapan Gel.....	23
4.7.2 Injeksi Sampel dan <i>Running</i>	23
4.7.3 Pewarnaan Gel.....	24
4.8 Pembuatan Preparat Histopatologi	24
4.8.1 Fiksasi.....	24
4.8.2 Dehidrasi dan Infiltrasi	25
4.8.3 Penjernihan (<i>Clearing</i>).....	25
4.8.4 Infiltrasi Parafin.....	25
4.8.5 Penanaman Jaringan (<i>Embedding</i>).....	25
4.8.6 Pewarnaan <i>Hematoxylin- Eosin</i>	26
4.9 Analisis Data.....	26
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	27
5.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>) Terhadap Profil Pita Protein Jejunum Tikus Putih Model <i>Inflammatory Bowel Disease</i> (IBD Induksi Indometasin).....	27
5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>) Terhadap gambaran Histopatologi Jejunum Tikus Putih Model <i>Inflammatory Bowel Disease</i> (IBD) Induksi Indometasin.....	33
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
6.1 Kesimpulan.....	42
6.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	48



DAFTAR GAMBAR

2.1 Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	8
2.2 Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	9
2.3 Jejunum normal dan jejunum yang diinduksi indometasin	11
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	14
5.1 Profil Pita Protein Jejunum	28
5.2 Histologi Jejunum Kelompok Kontrol Negatif (K-) dengan Pewarnaan HE	34
5.3 Histopatologi Jejunum Kelompok Kontrol Positif (K+) dengan Pewarnaan HE	35
5.4 Perubahan Histologi Jejunum Kelompok Terapi Ekstrak Daun Sukun 100 mg/kg BB (K1) dengan Pewarnaan HE	36
5.5 Perubahan Histologi Jejunum Kelompok Terapi Ekstrak Daun Sukun 200 mg/kg BB (K2) dengan Pewarnaan HE	37
5.6 Perubahan Histologi Jejunum Kelompok Terapi Ekstrak Daun Sukun 400 mg/kg BB (K3) dengan Pewarnaan HE	38

DAFTAR LAMPIRAN

1. Kerangka operasional Penelitian	45
2. Laik Etik Penelitian	46
3. Determinasi Daun Sukun	47
4. Analisa Kualitatif	48
5. Pembuatan Ekstrak Daun Sukun	50
6. Perhitungan Ekstrak Daun Sukun	51
7. Isolasi Protein	52
8. Profil Pita Protein Teknik SDS-PAGE	53
9. Pembuatan Preparat Histopatologi Jejunum	55
10. Dokumentasi Penelitian	57



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

%	: persen
°C	: derajat celcius
µL	: mikroliter
BB	: Berat Badan
BM	: Berat Molekul
CD	: <i>Crohn's Disease</i>
cm	: centimeter
COX-1	: <i>cyclooxygenase-1</i>
COX-2	: <i>cyclooxygenase-2</i>
HE	: <i>Hematoksin-Eosin</i>
IBD	: <i>Inflammatory Bowel Disease</i>
kg	: kilogram
mg	: miligram
mL	: mililiter
NSAID	: <i>Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs</i>
PGE-2	: prostaglandin
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SDS-PAGE	: <i>Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Elektroforesis</i>
Th-1	: sel helper 1
Th-2	: sel helper 2
UC	: <i>Ulcerative colitis</i>



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan suatu kondisi inflamasi kronik pada saluran pencernaan. IBD dibedakan menjadi dua yaitu, *crohn's disease* (CD) dan *ulcerative colitis* (UC). Secara umum gejala pada IBD yaitu meliputi nyeri abdominal, penurunan berat badan, diare kronik berdarah dan berlendir. Penyakit IBD dapat disebabkan oleh kegagalan regulasi sistem imun, kerentanan genetik, rangsangan flora normal pada saluran pencernaan dan karena pemakaian NSAID (Gunawan, 2011). *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) biasanya dikatakan penyebab paling umum terhadap penyakit pada intestinal yang kronik pada anjing dan kucing (Hall, 2009).

Penyakit IBD dapat di akibatkan karena pemakaian *Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs* (NSAID) seperti indometasin. Indometasin berperan dalam pembentukan prostaglandin pada jejunum yang bekerja dengan cara menghambat COX-1 (*cyclooxygenase-1*), hal ini dapat menyebabkan perlindungan terhadap barrier mukosa jejunum berkurang (Sholichah dkk, 2012). Hewan model IBD pada penelitian yang dilakukan adalah dengan menginduksi indometasin dosis 15 mg/kg BB (Aulanni'am *et al.*, 2012).

Indometasin banyak digunakan sebagai analgesik dan antiinflamasi (Kumar *et al.*, 2013). Indometasin bekerja dengan menghambat prostaglandin dan dapat diabsorpsi dengan baik dengan pemberian secara per oral. Dosis indometasin untuk antiinflamasi yang dianjurkan adalah 50-70 mg selama tiga

kali sehari, jika dosis yang diberikan berlebihan dapat menyebabkan terjadinya IBD (Campbell *et al*, 2006). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa tanaman obat bagus untuk digunakan sebagai terapi. Beberapa senyawa dari tanaman telah digunakan sebagai pengobatan dengan tanpa menimbulkan efek samping. Tumbuhan dapat bermanfaat untuk mendapatkan obat baru, karena tumbuhan dapat menghasilkan senyawa-senyawa yang bermanfaat. Indonesia memiliki sekitar 30.000 jenis tumbuhan, 7000 diantaranya telah diketahui memiliki khasiat sebagai obat. Sehingga tanaman ini perlu diteliti lebih lanjut dan dikembangkan untuk dimanfaatkan sebagai terapi untuk meningkatkan kesehatan (Hastuti, 2014). Salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai obat adalah daun sukun. Daun sukun telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk penyembuhan sariawan, gatal-gatal, sakit gigi, nyeri pada sendi, sakit mata, asam urat, asma, asam urat, diare, sakit perut, mencegah dan menyembuhkan kanker, membantu pencernaan dan metabolisme (Nazira, 2018).

Sukun (*Artocarpus altilis*) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia dan telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Secara tradisional daun sukun digunakan sebagai pengobatan berbagai macam penyakit. Daun sukun efektif dalam mengobati penyakit seperti pembesaran limpa, hepatitis, diare, jantung, ginjal, tekanan darah tinggi dan diabetes (Pamungkas, 2015). Salah satu kandungan yang terdapat pada daun sukun yaitu flavonoid yang mempunyai aktivitas sebagai antiinflamasi dan antikanker (Hastuti, 2014).

Oleh karena itu, penelitian tentang ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai terapi untuk penyakit IBD yang ditinjau dari profil pita protein dan histopatologi jejunum pada model hewan tikus putih (*Rattus norvegicus*) IBD induksi indometasin.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, maka dapat dirumuskan beberapa masalah yaitu sebagai berikut:

1. Apakah terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) berpengaruh terhadap gambaran profil pita protein jejunum tikus IBD hasil induksi indometasin?
2. Apakah terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dapat memperbaiki gambaran histopatologi jejunum tikus IBD hasil induksi indometasin?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan pada sub bab sebelumnya, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar dengan umur 8-12 minggu dan berat badan 150-200 gram.
2. Ekstrak daun sukun didapatkan dari Materia Medica Batu Malang, diberikan sekali perhari selama 14 hari dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB.
3. Dosis pemberian indometasin yaitu 15 mg/kg BB diberikan satu kali pada hari ke delapan secara per oral.

4. Variabel yang diamati berupa profil pita protein jejunum dengan metode SDS-PAGE dan histopatologi jejunum dengan pewarnaan HE.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan pada sub bab sebelumnya, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap gambaran profil pita protein jejunum tikus IBD hasil induksi indometasin.
2. Mengetahui kemampuan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dalam memperbaiki gambaran histopatologi jejunum tikus IBD hasil induksi indometasin.

1.5 Manfaat Penelitian

Melalui penelitian ini dapat memberikan informasi tentang kemampuan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai terapi *inflammatory bowel disease* (IBD) pada jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) hasil induksi indometasin, sehingga ekstrak daun sukun dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan herbal untuk inflamasi yang terjadi pada pencernaan.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Inflammatory Bowel Disease (IBD)*

Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan penyakit inflamasi yang terjadi pada saluran gastrointestinal. Jenis IBD dibagi menjadi dua yaitu, *crohn's disease (CD)* dan *ulcerative colitis (UC)*. *Ulcerative colitis (UC)* terbatas pada colon (usus besar), sedangkan *crohn's disease (CD)* meliputi bagian mulai dari mulut, saluran gastrointestinal hingga rektum, tetapi CD ini paling sering mempengaruhi usus kecil. Gejala yang terjadi akibat penyakit IBD ini adalah diare, perdarahan anus, tenesmus, sakit perut, vomit, penurunan berat badan, dan demam. IBD dapat diakibatkan karena penggunaan obat-obatan *Non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)* (Alex *et al*, 2018). NSAIDs bekerja dengan cara menghambat *cyclooxygenase-1 (COX)* yang dikaitkan dengan terjadinya IBD. Penghambatan COX-1 dan COX-2 dapat menyebabkan penghambatan *prostaglandin (PGE2)* yang berfungsi sebagai pelindung pada usus. Barrier mukosa yang terganggu menyebabkan permeabilitas usus meningkat, sehingga invasi bakteri patogen pada permukaan usus menjadi mudah (Kaser *et al*, 2010).

Patofisiologi pada penyakit IBD adalah terdapat inflamasi pada mukosa intestinal yang ditandai dengan adanya ulserasi, edema, perdarahan, hilangnya air, dan hilangnya elektrolit. Mediator-mediator inflamasi yang telah diidentifikasi pada IBD memiliki peranan penting pada patologi dan karakteristik klinik penyakit ini. Sitokin akan dikeluarkan oleh makrofag

karena adanya respon terhadap berbagai rangsangan antigenik, kemudian akan berikatan dengan reseptor yang berbeda-beda dan menghasilkan efek autokrin, parakrin, dan endokrin. Sitokin mendiferensiasikan limfosit yang menjadi sel T. CD berhubungan dengan sel *helper 1* (Th1), UC berhubungan dengan sel *helper 2* (Th2). Hal ini akan menyebabkan terjadinya kerusakan mukosa intestinal dan inflamasi kronis pada IBD (Danastri dkk, 2011).

Crohn Disease menyebabkan tiga pola penyakit yaitu inflamasi, fistula dan struktur. CD melibatkan segmen-segmen karena terjadinya proses inflamasi granuloma nonspesifik. Tanda patologi pada CD adalah transmural yaitu seluruh lapisan pada usus. CD juga memiliki *skip area* atau area normal pada usus yang diselingi oleh area yang terkena penyakit. Sedangkan inflamasi pada UC dimulai dari rektum hingga meluas sampai kolon bagian proksimal dan tidak ada *skip area*. Jika UC menjadi kronik, maka kolon akan menjadi kaku. CD dan UC ini ditandai dengan meningkatnya rekrutmen dan retensi makrofag efektor, neutrofil dan sel T ke intestinal yang terinflamasi. Hal tersebut akan diaktivasi dan dikeluarkan oleh sitokin proinflamasi. Akumulasi sel efektor ini dikarenakan rekrutmen meningkat dan apoptosis seluler menurun (Danastri dkk, 2011).

2.2 Indometasin

Indometasin adalah salah satu obat yang termasuk dalam golongan *Non steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID), dan banyak digunakan sebagai analgesik dan antiinflamasi. NSAID ini menghasilkan efek terapeutik melalui penghambatan sintesis prostaglandin (Abatan *et al*, 2006). Efek

samping dari indometasin adalah terjadinya muntah, anoreksia, diare, gastrointestinal ulser dan perforasi (Kumar *et al*, 2013).

Indometasin menghambat *cyclooxygenase-1* (COX-1), sehingga menyebabkan penurunan terhadap prostaglandin dan invasi bakteri patogen menjadi mudah. Invasi ini menyebabkan pengaktifan neutrofil yang berfungsi untuk fagositosis perusakan mikroorganisme, kemudian didegradasi oleh *reactive oxygen species* (ROS) dan menyebabkan terjadinya inflamasi dan kerusakan jaringan. Kerusakan mukosa usus terjadi akibat pelepasan ROS seperti O₂ dan OH, serta pengaktifan sel imun dan sel inflamasi. Indometasin akan menghasilkan metabolit immunokuinon yang relatif di dalam metabolisme. Terjadinya peningkatan immunokuinon ini akan menyebabkan stress oksidatif (Sholichah dkk, 2012).

2.3 Tikus

Tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar*. Ciri-ciri tikus putih galur *Wistar* adalah mempunyai tubuh yang panjang, kepala lebih kecil, mempunyai telinga yang pendek serta tebal, dan mata berwarna merah. Tikus putih dapat bertahan hidup sekitar 4-5 tahun. Umumnya berat badan pada tikus jantan berkisar antara 267-500 gram, sedangkan betina 225-325 gram (Swari, 2017).



Gambar 2.1 Tikus (*Rattus norvegicus*) (Husaeni, 2017)

Taksonomi tikus putih menurut Husaeni (2017) sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Divisi	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

2.4 Daun Sukun

Sukun adalah jenis tumbuhan yang dapat tumbuh pada daerah beriklim basah tropis. Sukun mempunyai pohon dengan tinggi yang dapat mencapai sekitar 30 meter. Batang pohon tegak, berkayu lunak, bergetah, serat kasar, bercabang melebar ke samping, sedangkan warna kulit batangnya

hijau kecoklatan. Daun dari sukun ini berbentuk oval lonjong dengan panjang 20-60 cm, lebar 20-40 cm (Adinugraha dkk, 2014).



Gambar 2.2 Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)
(Adinugraha dkk, 2014)

Taksonomi tanaman sukun adalah sebagai berikut (Agustin dkk, 2015):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Rosales
Famili	: Moraceae
Genus	: <i>Artocarpus</i>
Spesies	: <i>Artocarpus altilis</i>

Daun sukun mempunyai kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, fenol, riboflavin, saponin, asam hidrosianat, polifenol, tannin, dan asetilkolin (Adinugraha dkk, 2014). Flavonoid merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antiinflamasi. Mekanisme flavonoid sebagai antiinflamasi yaitu

dengan menghambat aktivitas enzim siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase, menghambat akumulasi leukosit, menghambat pelepasan histamin, dan menghambat degranulasi neutrofil (Riansyah dkk, 2015). Flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan sehingga dapat menghambat pembentukan radikal bebas dengan menurunkan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Polifenol berperan sebagai antioksidan, menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron dan menghambat reaksi pembentukan radikal bebas. Tanin mempunyai sifat sebagai *astringent* yaitu dapat menyebabkan perapatan dan pengecilan lapisan sel sehingga dapat menghambat sekresi (Tandi dkk, 2017).

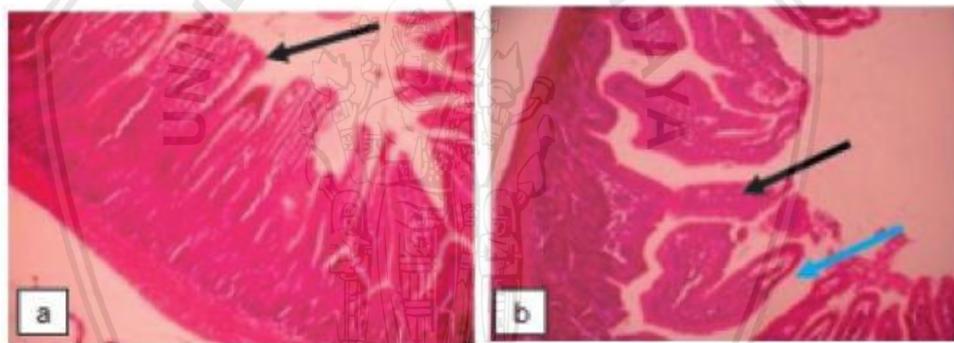
2.5 Histopatologi Jejunum

Usus halus merupakan sebagian besar tempat penyerapan dan pencernaan yang berlangsung. Epitel pada usus halus berfungsi sebagai penyerapan produk dari hasil pencernaan. Penyerapan ini sebagian besar terjadi pada bagian jejunum. Sedangkan penyerapan dapat terjadi dengan cepat pada usus halus karena terdapat plika sirkularis, vili, dan mikrovili (Hartanto, 2017).

Usus halus merupakan saluran pencernaan yang terpanjang dan berkelok-kelok. Usus halus secara anatomis dibagi menjadi tiga yaitu, duodenum, jejunum, dan ileum. Duodenum memiliki vili yang banyak, lebar, tinggi, sedikit sel goblet pada epitel. Jejunum memiliki vili lebih sedikit dari duodenum, sempit, pendek, lebih banyak sel goblet dari duodenum.

Sedangkan ileum mempunyai vili pendek, sempit, dan lebih banyak sel goblet daripada duodenum dan jejunum (Theodore, 2017).

Karakteristik dari jejunum adalah memiliki vili dengan bentuk seperti jari tangan. Pada lapisan submukosa tidak terdapat glandula brunner. Terdapat sedikit plaque peyeri pada lamina propria. Serta pada jejunum dapat ditemukan sel paneth di dasar kripte lieberkuhn (Hartanto, 2017). Histologi jejunum normal memiliki struktur vili yang panjang dan rapat, sedangkan pada tikus yang di induksi indometasin yaitu vili menjadi pendek, lebar dan terdapat rongga (Aulanni'am dkk, 2011).



Gambar 2.3 Jejunum normal (A) dan jejunum yang di induksi indometasin (B) (Aulanni'am dkk, 2011).

Keterangan : (↙) vili (↘) rongga antar vili.

2.6 Protein

Protein berasal dari bahasa Yunani yaitu *proteios*. *Proteios* memiliki arti yang paling utama atau yang pertama. Protein mempunyai peranan yang sangat penting pada organisme yaitu dalam fungsi, struktur dan reproduksi. Protein merupakan suatu polipeptida yang mempunyai bobot molekul dan sifat yang bervariasi. Protein dapat dipisahkan berdasarkan ukuran, kelarutan, afinitas ikatan dan muatan. Berdasarkan struktur, protein dibagi menjadi

empat, yaitu struktur primer dibentuk oleh ikatan peptida antar asam amino, struktur sekunder dibentuk oleh ikatan hidrogen intramolekular antara oksigen karbonil dan nitrogen amida pada peptida, struktur tersier adalah rangkaian molekular yang menggambarkan bentuk keseluruhan protein, dan struktur kuartener dibentuk oleh beberapa polipeptida yang berikatan satu sama lain tidak secara kovalen. Protein mempunyai peranan yang sangat penting pada proses biologi yaitu sebagai katalis enzimatik, transport dan penyimpanan, koordinasi gerak, penunjang mekanik, protein imun, membangkitkan dan menghantar impuls saraf, pengatur pertumbuhan dan diferensiasi. Protein yang terdapat dalam jaringan usus antara lain berupa protein-protein penyusun sel pada jaringan usus dan protein-protein sitokin sebagai sinyal molekular pada komunikasi sel (Dewi, 2013).

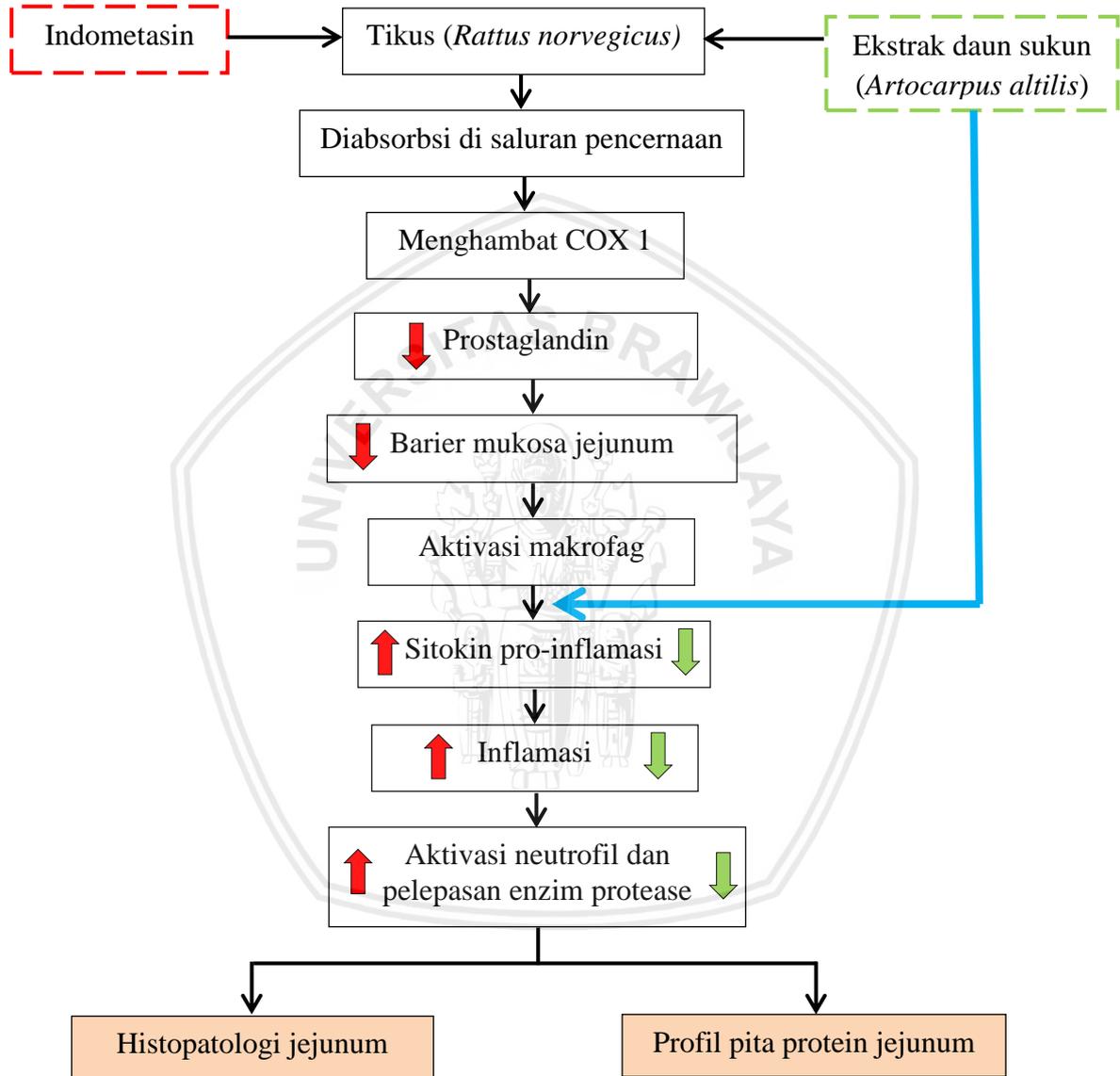
Marker protein merupakan campuran dari marker protein murni yang digabungkan secara kovalen dengan pewarna biru yang diuraikan menjadi 8 pita saat dilakukannya elektroforesis. Pada tiap intensitas, konsentrasi protein diseimbangkan dengan hati-hati. Kopleng kovalen dari pewarna untuk protein mempengaruhi sifat elektroforesis atau pemisahan dalam gel SDS-PAGE pada tiap protein. Kemudian pita marker protein tersebut digunakan sebagai pembanding utama dari protein yang akan dianalisa (Mustollah, 2016). Salah satu cara untuk melihat profil pita protein adalah dengan menggunakan SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Elektroforesis*) (Dewi, 2013).

Elektroforesis merupakan suatu cara untuk memisahkan fraksi-fraksi pada suatu campuran berdasarkan pergerakan partikel koloid yang bermuatan dibawah pengaruh medan listrik. Elektroforesis digunakan untuk menganalisa virus, molekul-molekul organik, enzim, asam nukelat, dan protein lainnya. SDS-PAGE adalah teknik untuk memisahkan rantai polipeptida pada protein berdasarkan kemampuannya untuk bergerak dalam arus listrik (Saputra, 2014).



BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:

 : Induksi indometasin

 :Terapi ekstrak daun sukun

 : Parameter yang diteliti

↑ :Efek induksi indometasin

↓ : Efek pemberian ekstrak daun sukun

↓ : Pemberian terapi

Indometasin dengan dosis 15 mg/kg BB diberikan pada tikus (*Rattus norvegicus*) secara peroral dengan menggunakan sonde lambung. Indometasin akan diabsorpsi di saluran pencernaan. Indometasin bekerja dengan cara menghambat enzim *cyclooxygenase-1* (COX-1) yang berperan dalam pembentukan prostaglandin (PGE₂). Enzim COX-1 ini berperan penting dalam jalur metabolisme asam arakhidonat, yaitu untuk mengkatalis perubahan asam arakhidonat menjadi prostaglandin dan tromboksan. Prostaglandin ini berfungsi untuk proteksi mukosa gastrointestinal, sehingga menyebabkan berkurangnya perlindungan terhadap barrier mukosa jejunum. Hal tersebut menyebabkan mudahnya mikroorganisme masuk ke dalam jejunum (Kusuma dkk, 2012). Mikroorganisme seperti bakteri yang berhasil menembus jaringan epitel akan bertemu dengan molekul pertahanan tubuh dan juga sel-sel yang berperan dalam imunitas. Makrofag sebagai sel fagosit akan mengenali bakteri dengan reseptor yang berada di permukaan sel. Reseptor akan mengenali konstituen yang ada di permukaan sel bakteri. Molekul yang ada di permukaan bakteri berikatan dengan reseptor pada makrofag dan merangsang makrofag untuk memfagositosis bakteri tersebut. Makrofag yang telah teraktifkan mampu mensekresikan sitokin dan protein yang dikenal dengan kemokin. Kemokin memiliki kemampuan untuk merekrut sel-sel lain yang memiliki reseptor kemokin seperti neutrofil dan monosit dari aliran darah. Sitokin dan kemokin yang dihasilkan makrofag ini sebagai respon terhadap molekul yang terdapat pada bakteri akan mengawali proses inflamasi. Makrofag akan mensekresikan sitokin pro-inflamasi seperti

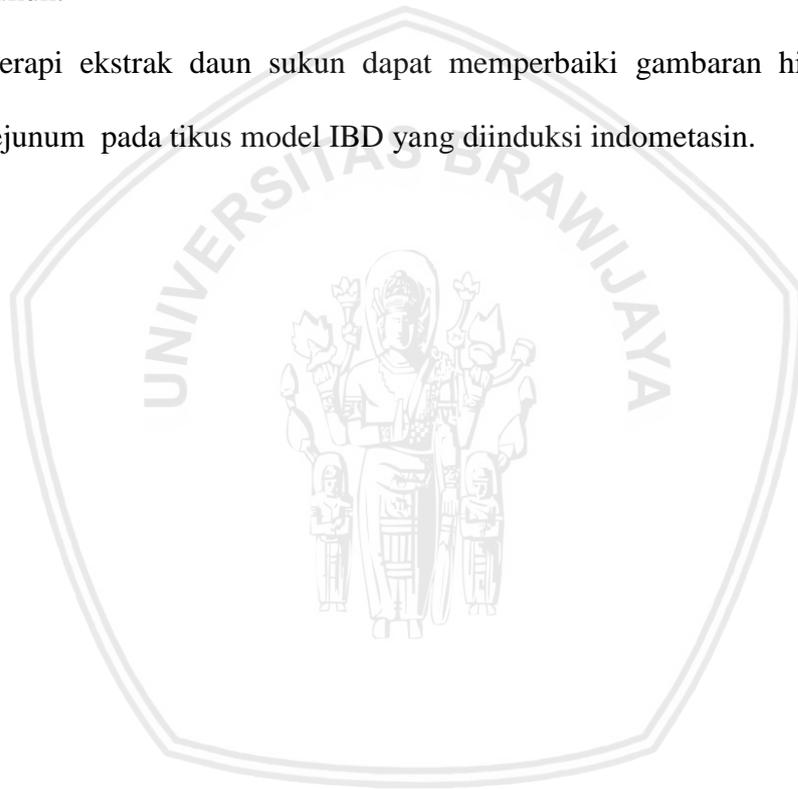
TNF- α (*Tumor Necrosis Factor- α*), TGF- β (*Tumor Growth Factor- β*), IL-1 (*Interleukin-1*) karena adanya respon terhadap berbagai rangsangan antigenik (Gunawan, 2011). Sitokin pro-inflamasi membantu sel untuk menghancurkan mikroorganisme yang menginfeksi. Produksi sitokin pro-inflamasi yang berlebih dalam sel akan menyebabkan inflamasi. Inflamasi akan meningkatkan aktivasi neutrofil serta pelepasan enzim protease yang akan menyebabkan peningkatan protein, sehingga dapat diamati melalui profil pita protein. (Primadina dkk, 2019). Protein akan mengikat mikroorganisme, kemudian terjadi aktivasi komplemen melalui jalur klasik yang akan menyebabkan lisis mikroorganisme. Aktivasi neutrofil merupakan proses terpenting dalam awal terjadinya inflamasi dan yang paling cepat menuju daerah inflamasi, sehingga inflamasi dapat terlihat dari histopatologi jejunum. Neutrofil memiliki reseptor yang berada di permukaan yang mampu mengenali molekul pada permukaan sel bakteri dan komplemen. Neutrofil mampu menelan dan menghancurkan mikroorganisme penginfeksi (Munasir, 2001).

Ekstrak daun sukun yang diberikan pada tikus memiliki kandungan sebagai antiinflamasi. Pemberian ekstrak daun sukun sebagai bahan alami untuk antiinflamasi dapat menghambat terbentuknya sitokin pro-inflamasi yang berlebih. Proses inflamasi akan menurun, serta aktivasi neutrofil dan pelepasan enzim protease akan menurun. Sehingga ekstrak daun sukun dapat memperbaiki profil pita protein dan gambaran histopatologi jejunum (Wahjuni, 2015).

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dijelaskan, maka dapat disusun hipotesis penelitian sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan gambaran hasil profil pita protein jejunum pada tikus model IBD induksi indometasin dengan yang diberikan terapi ekstrak daun sukun.
2. Terapi ekstrak daun sukun dapat memperbaiki gambaran histopatologi jejunum pada tikus model IBD yang diinduksi indometasin.



BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2018 – Januari 2019. Perawatan dan perlakuan hewan coba dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pengujian profil pita protein jejunum dilakukan di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pembuatan preparat histopatologi jejunum dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, sedangkan pengamatan preparat histopatologi jejunum dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini menggunakan hewan coba yang berupa tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar, dengan berat badan tikus antara 150-200 gram. Hewan coba dilakukan adaptasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan kondisi di laboratorium. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus Federer (Salim, 2013):

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$N \geq 4$$

Keterangan:

t : jumlah kelompok

n : jumlah kelompok ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk perlakuan sejumlah 5 kelompok maka minimal dilakukan ulangan adalah 4 kali, sehingga diperlukan 20 ekor tikus.

4.3 Alat dan Bahan

4.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah bak untuk pemeliharaan hewan coba, gelas objek, gelas kimia, seperangkat alat bedah, mortar, mikropipet, mikrotip, *stirer*, *microtube*, tabung propilen, lemari pendingin, pH meter digital, seperangkat alat sentrifus, plastik klip, sarung tangan, cover glass, mikroskop, seperangkat alat elektroforesis, *rotary evaporator*, *waterbath*.

4.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sukun (*artocarpus altilis*), tikus jantan strain *wistar*, indometasin, minyak jagung, *PBS-Tween*, larutan PMSF, *comassie brilliant blue*, larutan NaCl fisiologi, aquades, etanol absolut, larutan *Tris-HCl*, *Formaldehyde*, PFA 4%, parafin, xylol, etanol 70%, etanol 80%, etanol 90%, etanol 95%, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 95%, alkohol 100% pewarna *Hematoxyline- Eosin*, *reducing rampel buffer* (RSB), *sodium dodecyl sulfata* (SDS).

4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, yakni kelompok 1 adalah kelompok kontrol negatif, kelompok 2 adalah kelompok kontrol positif, kelompok 3 adalah kelompok terapi ekstrak daun sukun 100 mg/kg BB, kelompok 4 adalah kelompok terapi ekstrak daun sukun 200 mg/kg BB, dan kelompok 5 adalah kelompok terapi ekstrak daun sukun 400 mg/kg BB.

4.5 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

Variabel bebas	: Induksi Indometasin dan ekstrak daun sukun
Variabel terikat	: Profil pita protein dan histopatologi jejunum
Variabel kontrol	: Umur, berat badan, tikus jantan strain wistar, pakan dan minum.

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Tikus yang akan digunakan untuk penelitian diadaptasikan selama 7 hari untuk menyesuaikan kondisi di laboratorium. Hewan coba ini dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, sedangkan tiap kelompok terdiri dari 4 tikus. Tikus diletakkan pada kandang berukuran 17,5 x 23,75 x 17,5 cm. Jumlah tikus pada tiap kandang disesuaikan dengan ukuran kandang yang tersedia. Lantai kandang mudah disanitasi dan

dibersihkan. Kandang tikus diletakkan pada tempat yang bebas dari kebisingan dan polutan.

4.6.2 Persiapan Indometasin

Dosis indometasin yang digunakan untuk menginduksi IBD adalah 15 mg/kg BB tikus (Aulanni'am *et al.*, 2012). Kondisi IBD ini dibuktikan dengan terjadinya diare, penurunan nafsu makan, dan penurunan berat badan (Kaser *et al.*, 2010). Menurut Bures *et al.* (2011), indometasin dilarutkan dengan menggunakan minyak jagung. Berat rata-rata tikus yang digunakan adalah 150-200 gram. Larutan stok indometasin dibuat dengan cara 45 mg indometasin dilarutkan dalam 4 mL pelarut minyak jagung. Sedangkan banyaknya larutan untuk pemberian peroral adalah:

Kebutuhan indometasin = 15 mg/kg BB x 0,2 kg = 3 mg/0,2 kg tikus

Pengenceran indometasin = $\frac{3 \text{ mg}}{45 \text{ mg}} \times 4 \text{ mL} = 0,27 \text{ mL/tikus}$

4.6.3 Pembuatan Ekstrak Daun Sukun

Proses pembuatan ekstrak daun sukun dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Daun sukun yang telah menjadi serbuk ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 3 liter selama 3 hari. Selama perendaman, ekstrak harus diaduk setiap hari. Kemudian ekstrak disaring menggunakan kertas saring, sehingga larutan akan terpisah dari ampas. Dilakukan remaserasi selama 2 hari dengan pelarut etanol 96% dan hasil disaring kembali menggunakan kertas saring.

Filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C, diuapkan diatas *waterbath* suhu 60°C untuk menghilangkan sisa pelarut yang masih terdapat pada ekstrak. Hasil ekstrak yang diperoleh berupa hasil ekstrak kental (Tandi, 2017). Ekstrak daun sukun diberikan pada tikus dengan dosis 100 mg/kg BB untuk kelompok perlakuan 1 (K1), dosis 200 mg/kg BB untuk kelompok perlakuan 2 (K2), dan dosis 400 mg/kg BB untuk kelompok perlakuan 3 (K3). Ekstrak daun sukun tersebut diberikan pada hari ke-9 sampai hari ke-22.

4.6.4 Isolasi Protein Jejunum

Isolasi protein dilakukan setelah hewan dilakukan nekropsi. Tikus di nekropsi pada hari ke-23 untuk kelompok negatif (K-), kelompok perlakuan 1 (K1), kelompok perlakuan 2 (K2), dan kelompok perlakuan 3 (K3). Sedangkan nekropsi pada kelompok kontrol positif (K+) dilakukan pada hari ke-9 setelah 24 jam induksi indometasin. Setelah dilakukan nekropsi, organ jejunum tikus dipotong kecil-kecil seberat 0,5 gram, ditambahkan dengan larutan PBS-Tween: PMSF (9:1) sebanyak 1 mL dan digerus dengan mortar dingin yang diletakkan diatas balok es. Kemudian dimasukkan ke dalam *microtube*, dan disentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Supernatan diambil dan ditambahkan dengan etanol absolut dingin dengan perbandingan 1:1, dibiarkan selama semalam hingga terbentuk endapan. Selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit, diambil endapannya dan dikeringkan sampai bau etanol hilang. Setelah

itu ditambahkan dengan larutan 0,02 M Tris-HCl pH 6,5 dingin dengan perbandingan volume 1:1 dan dilakukan homogenasi. Isolat protein yang didapatkan akan mengendap pada bagian bawah tabung polipropilen (Pratiwi dkk, 2013).

4.7 Elektroforesis SDS-PAGE

4.7.1 Persiapan Gel

Dua plat kaca dirangkai dengan jarak antar plat yaitu kurang lebih 1 mm untuk membuat plat gel. Pembuatan gel sebanyak dua lapis yaitu gel sebagai tempat sampel (*Stacking gel*) dan gel untuk media pemisahan protein (*Separating gel*). *Separating gel* dimasukkan ke dalam plate tempat lapisan gel dengan menggunakan mikropipet, dibiarkan 10-30 menit hingga terbentuk gel. *Stacking gel* dituangkan di atas *separating gel* yang sudah memadat dengan mikropipet, dipasang sisir hingga gel memadat dan terbentuk sumuran. Setelah gel memadat, sisir diangkat dan plate dipasang pada alat elektroforesis. Larutan *running buffer* dituangkan pada alat elektroforesis (Mughtarohmah dkk, 2012).

4.7.2 Injeksi Sampel dan *Running*

Ekstrak kasar dari protein diambil sebanyak 10 μ L, ditambahkan dengan 10 μ L larutan Tris-HCl, ditambahkan 20 μ L larutan RSB (*Reducing Sample Buffer*) kemudian dimasukkan ke *microtube* dan dimasukkan kedalam penangas dengan suhu 100°C selama 10 menit, lalu didinginkan sampel tersebut. Sampel dimasukkan kedalam sumuran

gel dengan volume tiap sumuran 30 μ L. Sebelum dipakai untuk memasukkan sampel pada sumuran berikutnya mikrotip di bilas tiga kali dengan air atau running buffer. Salah satu sumuran gel diisi dengan protein standar dengan perlakuan yang sama sebagai marker. Dilakukan *running* dan dihentikan setelah warna biru dari penanda mencapai ketinggian \pm 0,5 cm dari batas bawah plate gel. Gel dari plate diambil dan diletakkan pada wadah bersih (Muchtarohmah dkk, 2012).

4.7.3 Pewarnaan Gel

Gel dilakukan pewarnaan dengan cara merendam gel pada larutan *staining* 20 mL dalam wadah bersih dan steril selama 20 menit sambil dikocok menggunakan *shaker*. Pewarnaan gel ini menggunakan *Comassie Brilliant Blue*. Kemudian larutan *staining* dibuang dan dituangkan larutan *destaining* 50 mL dalam wadah berisi gel sambil dikocok dengan *shaker* hingga pita pada gel tampak jelas. Penentuan berat molekul (BM) protein pada profil protein yang berbeda, ditentukan berdasarkan marker (Muchtarohmah dkk, 2012).

4.8 Pembuatan Preparat Histopatologi

4.8.1 Fiksasi

Fiksasi dilakukan dengan membilas organ jejunum dengan menggunakan NaCl-fisiologis 0,9% dingin. Lalu organ dimasukkan ke larutan *paraformaldehid* 4% (PFA) (Mulyono dkk, 2012).

4.8.2 Dehidrasi dan Infiltrasi

Sampel jejunum didehidrasi dalam larutan etanol dengan konsentrasi bertingkat makin pekat dari 80% hingga absolut. Jaringan dalam larutan etanol sekitar 10-30 menit. Tujuan dilakukannya dehidrasi adalah untuk mengeluarkan air dalam jaringan. Proses infiltrasi menggunakan perbandingan larutan *etanol absolut* dan *propylene oxide* secara bertingkat hingga larutan *propylene* murni, dilakukan selama 30 menit untuk tiap tahapan (Mulyono dkk, 2012).

4.8.3 Penjernihan (*Clearing*)

Proses penjernihan dilakukan dengan menggunakan *xylol I* (1 jam), *xylol II* (1 jam) dan *xylol III* (30 menit pada suhu kamar dan 30 menit pada inkubator). Penjernihan ini berfungsi untuk menggantikan etanol dalam jaringan (Mulyono dkk, 2012).

4.8.4 Infiltrasi Parafin

Proses infiltrasi parafin dilakukan dengan cara jaringan dimasukkan dalam parafin cair I, parafin cair II, dan parafin cair III masing-masing selama 1 jam di dalam oven. Proses infiltrasi parafin ini bertujuan untuk menggantikan dehidran dan bahan penjernih dalam jaringan dengan parafin cair (Mulyono dkk, 2012).

4.8.5 Penanaman Jaringan (*Embedding*)

Embedding dilakukan menggunakan cetakan yang diisi dengan parafin cair. Blok parafin yang telah membeku dipasang pada mikrotom

dan diatur posisinya agar sejajar dengan pisau. Kemudian blok parafin dipotong dengan ketebalan 4 μm (Mulyono dkk, 2012).

4.8.6 Pewarnaan *Hematoksin-Eosin*

Pewarnaan *hematoksin-eosin* dilakukan dengan deparafinasi menggunakan *xylol*. Kemudian proses rehidrasi menggunakan alkohol absolut I, II dan III masing-masing selama 5 menit, alkohol 95%, 90%, 80% dan 70% masing-masing selama 5 menit. Lalu dilakukan pewarnaan dengan pewarna *hematoksin* selama 10 menit, dan dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan aquades selama 5 menit. Setelah pewarnaan dengan pewarna *hematoksin*, sediaan diwarnai dengan pewarna *eosin* selama 5 menit dan aquades selama 5 menit. Kemudian dilakukan dehidrasi dengan menggunakan alkohol 70%, 80%, 90% dan 95% dan dengan alkohol 100% I, II, III masing-masing selama 2 menit. Tahapan terakhir adalah *clearing* dengan *xylol* I, II, III selama 3 menit. Sediaan ditetaskan dengan entelan dan ditutup dengan cover glass (Mulyono dkk, 2012).

4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil yaitu profil pita protein diamati secara kualitatif dengan metode SDS-PAGE dan gambaran histopatologi jejunum diamati secara kualitatif dengan deskripsi.

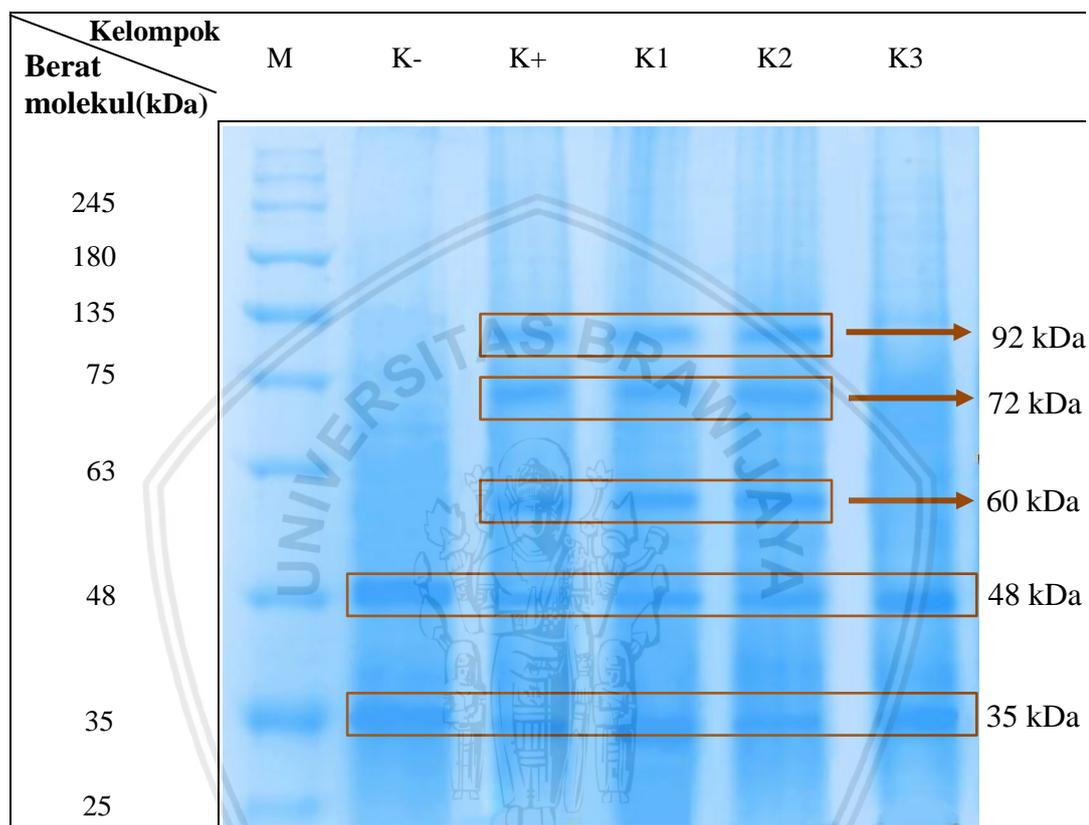
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Profil Pita Protein Jejunum Tikus Putih Model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Induksi Indometasin

Profil pita protein pada jejunum merupakan salah satu parameter untuk mengukur keberhasilan dari pemberian ekstrak daun sukun pada tikus putih model IBD induksi indometasin. Pengamatan profil pita protein menggunakan metode SDS-PAGE dengan hasil berupa pita-pita protein yang digunakan sebagai indikator untuk menentukan berat molekul. Berat molekul yang terekspresi pada tiap kelompok terdapat perbedaan. Pada kelompok kontrol negatif (K-) berat molekul yang terekspresi yaitu 48 kDa dan 35 kDa. Kelompok kontrol positif (K+) berat molekul yang terekspresi yaitu 92 kDa, 72 kDa, 60 kDa, 48 kDa, dan 35 kDa. Berat molekul pada kelompok terapi ekstrak daun sukun dengan dosis 100 mg/kg BB (K1) yaitu 92 kDa, 72 kDa, 60 kDa, 48 kDa, dan 35 kDa. Berat molekul pada kelompok terapi ekstrak daun sukun dengan dosis 200 mg/kg BB (K2) yaitu 92 kDa, 72 kDa, 60 kDa, 48 kDa, dan 35 kDa. Sedangkan pada kelompok terapi ekstrak daun sukun dengan dosis 400 mg/kg BB (K3) yaitu 48 kDa dan 35 kDa. Perbedaan berat molekul pita protein terdapat pada 92 kDa, 72 kDa, dan 60 kDa terekspresi pada kelompok K+, K1, dan K2. Sedangkan pada kelompok K- dan K3 berat molekul tersebut tidak terekspresi.

Hasil profil pita protein hasil SDS PAGE menunjukkan adanya perbedaan profil pita protein antar perlakuan yang ditunjukkan pada **Gambar**

5.1



Gambar 5.1 Profil Pita Protein Jejunum

Keterangan:

M : Marker

K- : Kontrol negatif

K+ : Kontrol positif

K1: Terapi 100 mg/kg BB

K2: Terapi 200 mg/kg BB

K3: Terapi 400 mg/kg BB

Perbedaan pita protein yang muncul pada masing-masing perlakuan tikus dijelaskan pada **Tabel 5.1**

Tabel 5.1 Perbedaan Berat Molekul (BM) Profil Pita Protein

	Berat Molekul (BM) Protein (kDa)				
	92	72	60	48	35
Kontrol negatif (K-)	-	-	-	√	√
Kontrol positif (K+)	√	√	√	√	√
Terapi 100 mg/kg BB (K1)	√	√	√	√	√
Terapi 200 mg/kg BB (K2)	√	√	√	√	√
Terapi 400 mg/kg BB (K3)	-	-	-	√	√

Keterangan: (√) pita protein terekspresikan, (-) pita protein tidak terekspresikan

Berat molekul 92 kDa dan 72 kDa diduga termasuk *Heat Shock Protein* (HSP) yang muncul pada K+, K1, dan K2. Berat molekul 92 kDa termasuk dalam protein *family* HSP90 (85-92 kDa), sedangkan berat molekul 72 kDa termasuk dalam protein *family* HSP70 (68-73 kDa) (Tkáčová dan Mária, 2012). Protein HSP70 merupakan elemen dalam patofisiologi IBD, karena ekspresi 72 kDa akan meningkat ketika terjadi kerusakan pada sel, termasuk karena adanya proses inflamasi. Protein HSP70 ini memberikan efek untuk perlindungan mukosa (Samborski dan Marian, 2015). *Heat Shock Protein* (HSP) merupakan suatu bentuk dari respon imun tubuh terhadap tekanan dari lingkungan atau shock dan adanya proses inflamasi (Barbatis dan Tsopanomichalou, 2009). *Heat Shock Protein* (HSP) adalah suatu protein yang dihasilkan pada saat adanya *heat shock respon*. *Heat shock respon*

merupakan suatu respon berbasis genetik untuk menginduksi gen-gen yang menginduksi *molecular chaperone*, protease dan protein-protein lain yang penting dalam mekanisme pertahanan dan pemulihan yang berhubungan dengan terjadinya *misfolded protein*. *Heat shock respon* merupakan suatu tanggapan sel terhadap berbagai macam gangguan, baik yang bersifat fisiologis maupun yang berasal dari lingkungan (Widjaja dkk, 2009). *Molecular chaperone* merupakan protein yang berfungsi pada pembentukan struktur protein. Saat sel mengalami stress, maka HSP akan mengalami peningkatan ekspresi karena HSP tersebut berusaha untuk melindungi sel agar tidak terjadi perubahan pembentukan struktur protein (Budhy dan Istiati, 2006). Selain itu peningkatan HSP dapat terjadi karena stress oksidatif, paparan agen kimia, agen biologi (infeksi virus) atau agen fisik (radiasi UV), suplai darah yang terganggu atau karena nutrisi yang tidak tercukupi (Samborski and Marian, 2015). Kebutuhan HSP akan meningkat setelah terjadi kerusakan pada jaringan.

Berat molekul 60 kDa merupakan jenis protein *Vasoactive Intestinal Polypeptide* (VIP) yang memiliki berat molekul 60-62 kDa. *Vasoactive Intestinal Polypeptide* (VIP) berperan dalam sekresi elektrolit pada saluran intestinal sehingga akan memicu terjadinya diare. Protein VIP tersebut akan menghambat produksi sitokin pro inflamasi dan memproduksi antiinflamasi (Igarashi et al, 2011). *Vasoactive Intestinal Polypeptide* (VIP) bekerja dengan cara menghilangkan gejala dari IBD, memulihkan berat badan tikus yang hilang, mencegah inflamasi, dan memulihkan kerusakan jaringan pada

mukosa dan submukosa jejunum (Arranz *et al*, 2008). Berat molekul 60 kDa terekspresikan pada kelompok K+, K1 dan K2, hal tersebut dikarenakan pada kelompok tersebut masih terjadi inflamasi.

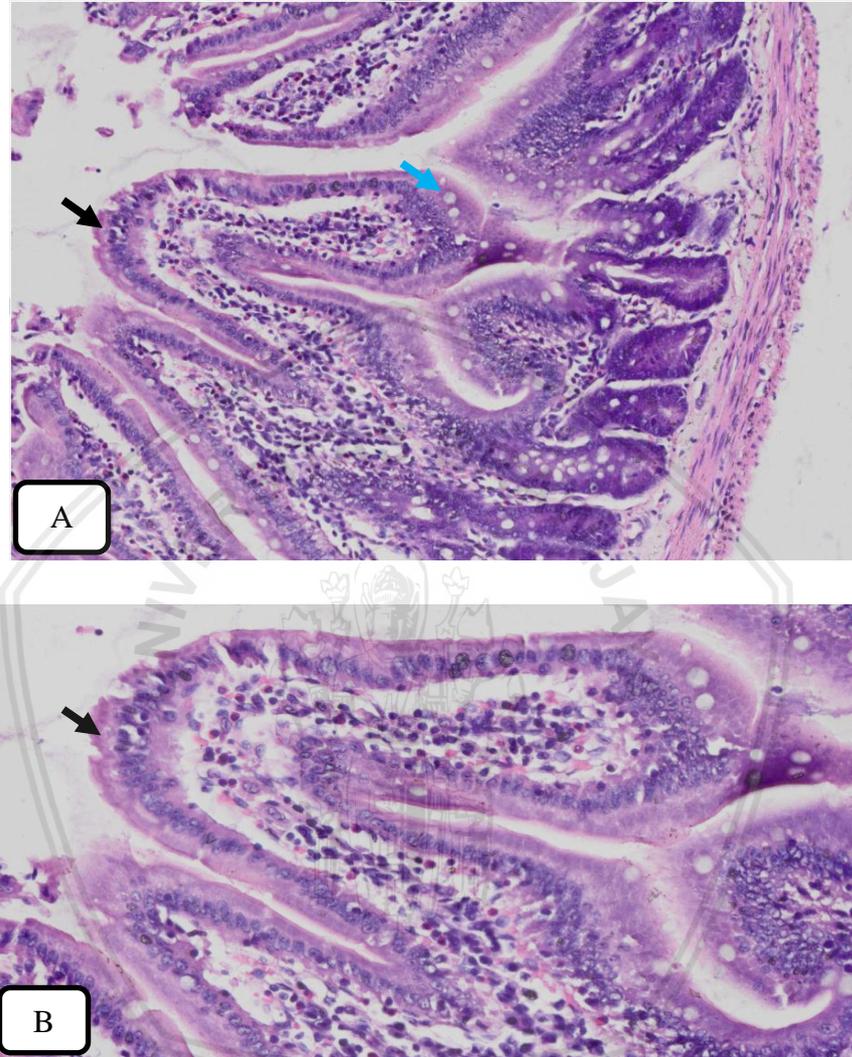
Berat molekul 48 kDa dan 35 kDa merupakan SHSP. *Small Heat Shock protein* (SHSP) memiliki berat molekul yaitu 12-48 kDa (Sun and MacRae, 2005), Berat molekul 35 kDa dan 48 kDa muncul pada semua kelompok. *Small Heat Shock Protein* (SHSP) merupakan protein normal yang berada pada di mukosa intestinal. Protein ini bekerja dengan cara mempertahankan homeostasis pada usus. *Small Heat Shock Protein* (SHSP) dapat diekspresikan pada saat normal dan saat dalam keadaan stres (Barbatis and Tsopanomichalou, 2009).

Kelompok Kontrol positif (K+), kelompok terapi 1 (K1), dan kelompok terapi 2 (K2) menunjukkan adanya HSP dan VIP. HSP (*Heat Shock Protein*) menekan ekspresi gen inflamasi dan menghambat sitokin pro-inflamasi melalui penghambatan NF-kappaB dan mengaktifkan sitokin antiinflamasi untuk menghambat terjadinya inflamasi (Barbatis and Tsopanomichalou, 2009). VIP (*Vasoactive Intestinal Polypeptide*) bekerja dengan cara menghambat produksi sitokin pro inflamasi dan menghasilkan sitokin anti inflamasi (Igarashi *et al*, 2011). Sehingga dapat diketahui bahwa pada kelompok K1, dan K2 masih terdapat inflamasi, karena makrofag masih aktif menghasilkan sitokin pro inflamasi.

Kelompok terapi 3 dengan pemberian terapi ekstrak daun sukun dosis 400 mg/kg BB (K3) tidak terekspresi protein berat molekul 92 kDa, 72 kDa, dan 60 kDa. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian terapi ekstrak daun sukun dosis 400 mg/kg BB dapat menekan terjadinya inflamasi pada jejunum. Ekstrak daun sukun memiliki kandungan flavonoid dapat berfungsi sebagai antiinflamasi. Kandungan yang berfungsi sebagai antiinflamasi bekerja dengan cara menghambat terbentuknya sitokin pro-inflamasi, sehingga proses inflamasi akan menurun (Wahjuni, 2015). Sehingga HSP (berat molekul 92 kDa dan 72 kDa) dan VIP (berat molekul 60 kDa) sebagai indikator terdapatnya inflamasi tidak terekspresikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok K3 sudah tidak terjadi inflamasi. Inflamasi tersebut yang akan menyebabkan terjadinya peningkatan ekspresi HSP, karena HSP berfungsi untuk melindungi perubahan pembentukan struktur protein. Ekstrak daun sukun juga memiliki kandungan tanin yang berfungsi sebagai astringent, mekanisme tanin tersebut adalah dengan menciutkan permukaan usus atau zat yang bersifat proteksi terhadap mukosa usus dan dapat menggumpalkan protein, oleh karena itu tanin dapat membantu menghentikan diare (Nurhalimah dkk, 2015).

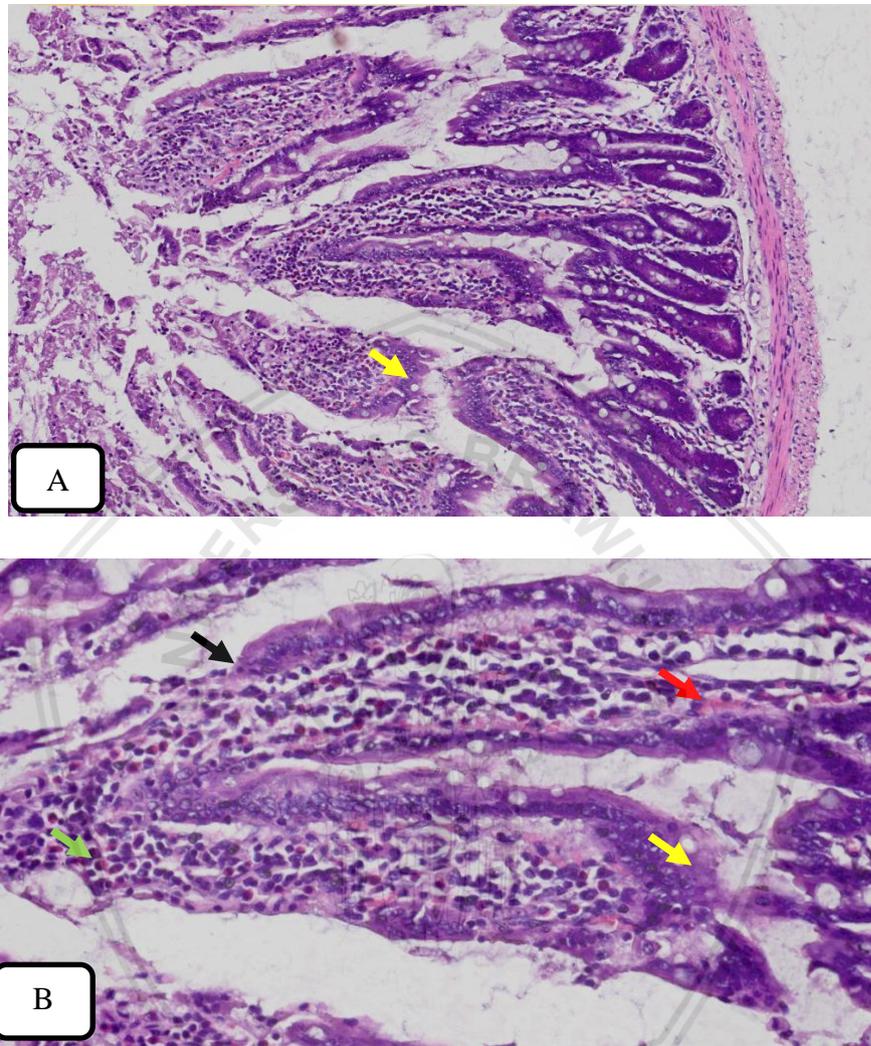
5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Gambaran Histopatologi Jejunum Tikus Putih Model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Induksi Indometasin

Histopatologi jaringan merupakan salah satu parameter untuk mengukur keberhasilan dari pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*). Pengamatan dilakukan pada semua kelompok perlakuan untuk melihat adanya perubahan histopatologi jejunum. Pada penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok 1 adalah kelompok kontrol negatif (K-), kelompok 2 adalah kelompok kontrol positif (K+), kelompok 3 adalah kelompok terapi ekstrak daun sukun 100 mg/kg BB (K1), kelompok 4 adalah kelompok terapi ekstrak daun sukun 200 mg/kg BB (K2), dan kelompok 5 adalah kelompok ekstrak daun sukun 400 mg/kg BB (K3). Setelah tikus dieuthanasi, organ jejunum di preparasi dengan menggunakan pewarnaan HE, untuk diamati gambaran histopatologi jejunum. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dapat memperbaiki histopatologi jejunum tikus putih model IBD induksi indometasin yang ditunjukkan pada gambar-gambar dan tabel berikut ini.

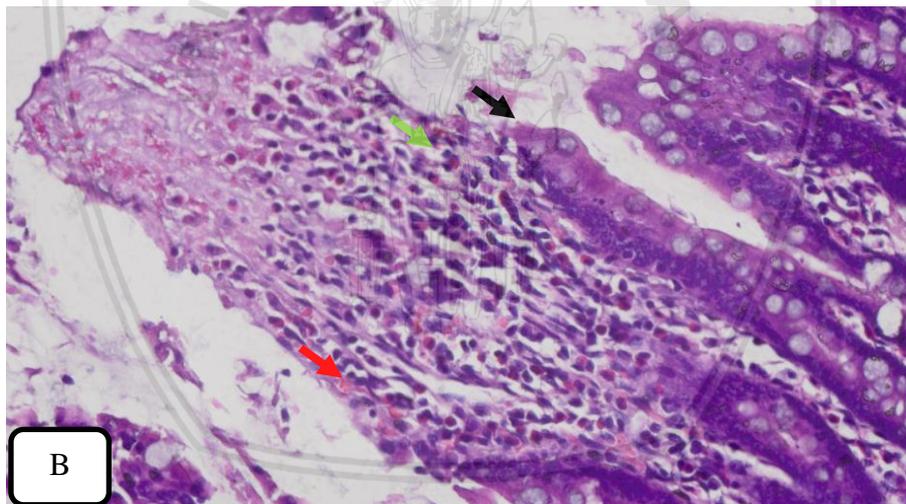
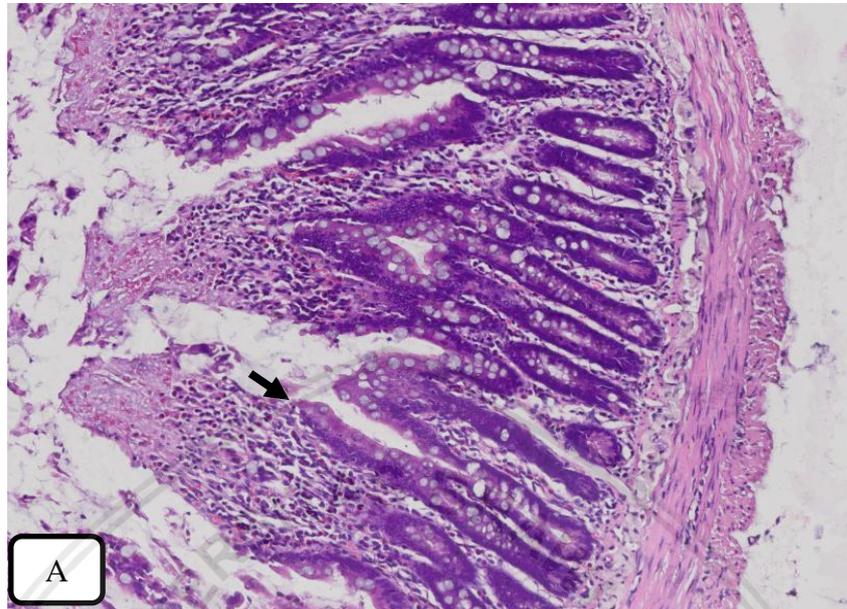


Gambar 5.2 Histologi jejunum kelompok kontrol negatif (K-) dengan pewarnaan HE perbesaran 100x (A) dan 400x (B)

Keterangan: (↑) sel epitel, (↑) sel goblet

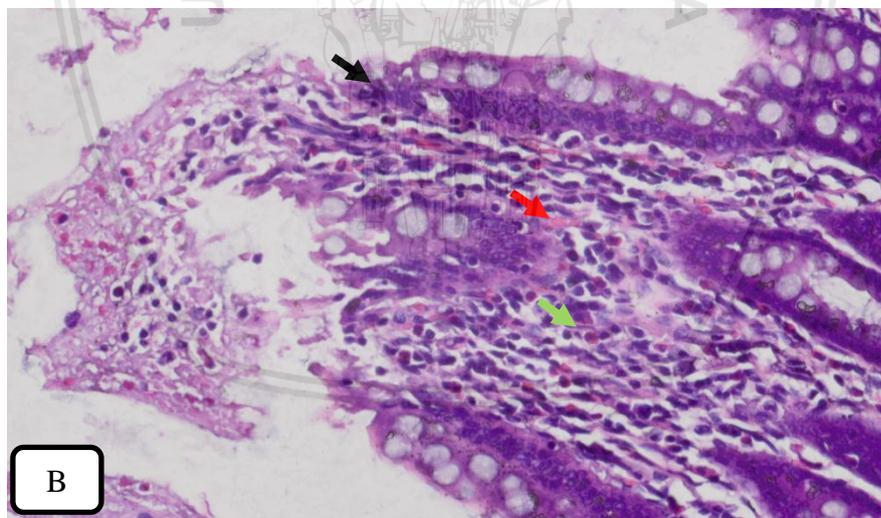
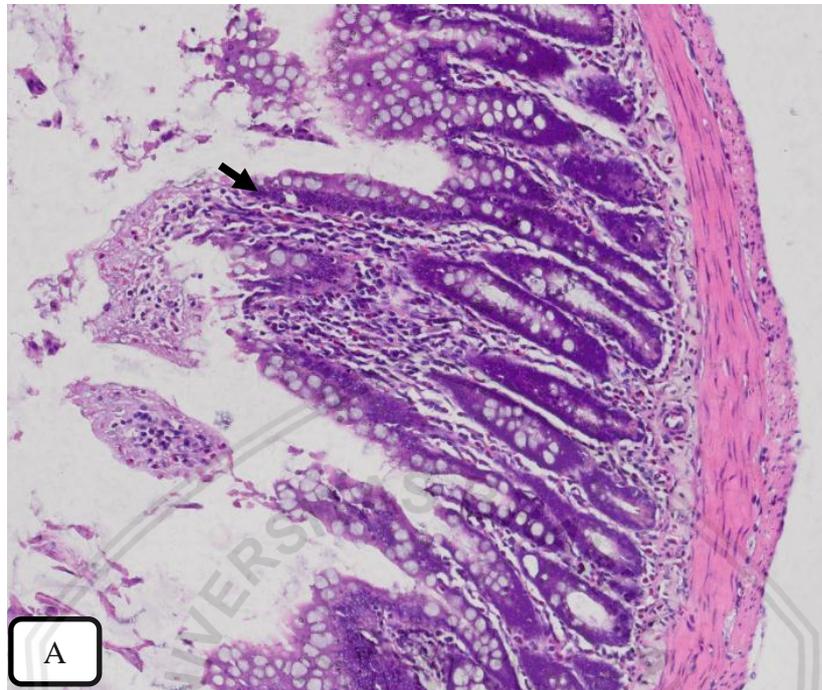


Gambar 5.3 Histopatologi jejunum kelompok kontrol positif (K+) dengan pewarnaan HE perbesaran 100x (A) dan 400x (B)
Keterangan: (↑) sel epitel, (↑) sel radang, (↑) hemoragi, (↑) ruptur vili



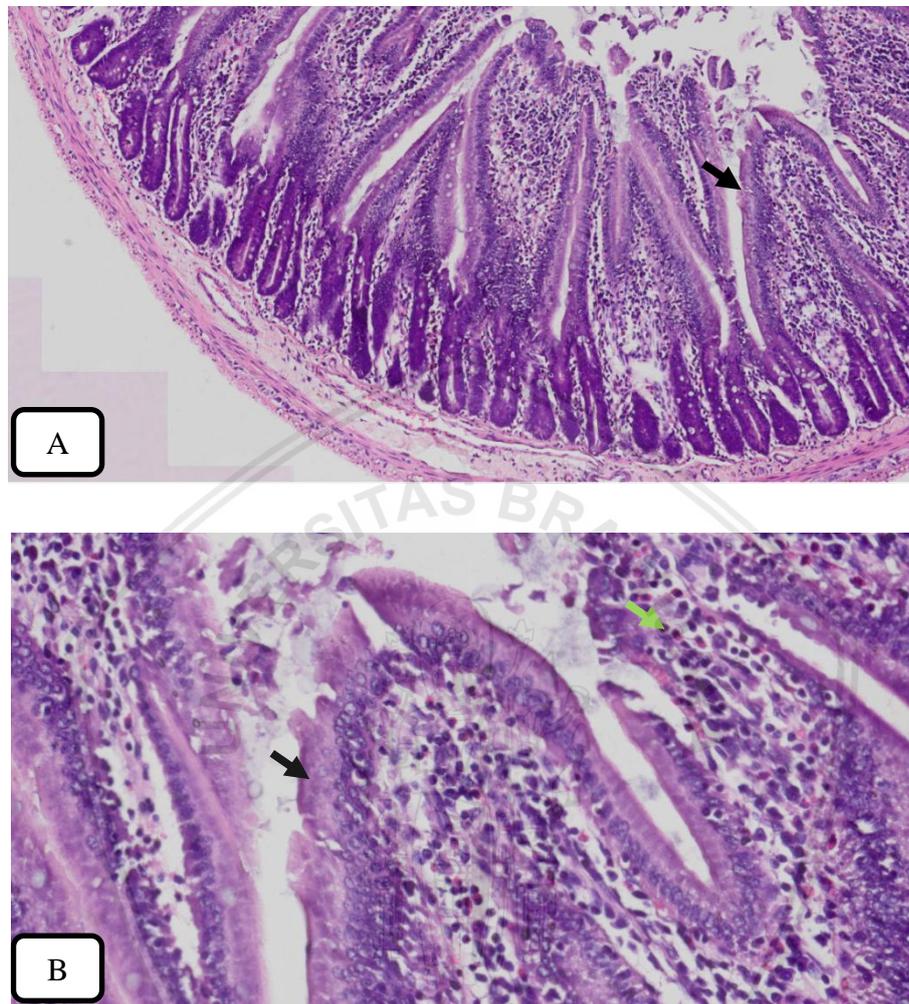
Gambar 5.4 Perubahan histologi jejunum kelompok terapi ekstrak daun sukun 100 mg/kg BB (K1) perbesaran 100x (A) dan 400x (B)

Keterangan: (↑) sel epitel, (↑) sel radang, (↑) hemoragi



Gambar 5.5 Perubahan histologi jejunum kelompok terapi ekstrak daun sukun 200 mg/kg BB (K2) perbesaran 100x (A) dan 400x (B)

Keterangan: (↑) sel epitel, (↑) sel radang, (↑) hemoragi



Gambar 5.6 Perubahan histologi jejunum kelompok terapi ekstrak daun sukun 400 mg/kg BB (K3) perbesaran 100x (A) dan 400x (B)

Keterangan: (↑) sel epitel, (↑) sel radang

Berikut ini merupakan tabel hasil pengamatan histopatologi jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) (Widyaputri, 2018).

Tabel 5.2 Hasil Pengamatan Histopatologi Jejunum Tikus (*Rattus norvegicus*)

Kelompok perlakuan	Sel radang	Hemoragi	Erosi epitel	Ruptur vili
K-	+	-	-	-
K+	+++	+++	+++	++
K1	++	++	++	-
K2	++	+	-	-
K3	+	-	-	-

Keterangan: (-) tidak ada, (+) sedikit, (++) sedang, (+++) banyak

Histopatologi jejunum pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan pewarnaan HE kelompok negatif (K-) memiliki vili yang panjang dan rapat, sel goblet tertata rapi diantara epitel. Menurut Aulanni'am dkk (2011), histologi jejunum normal pada tikus yaitu memiliki struktur vili yang panjang dan rapat. Jejunum normal memiliki mukosa dengan susunan vili yang rapat, sel epitel kolumnar, lapisan submukosa, lapisan muscular dan lapisan serosa (Galdeano, 2006).

Histopatologi jejunum pada kelompok kontrol positif (K+) (**Gambar 5.2 B** dan **Tabel 5.2**) ditemukan erosi epitel, ruptur vili, sel radang, dan hemoragi. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya inflamasi akibat pemberian indometasin. Indometasin merupakan obat golongan NSAID yang bekerja dengan cara menghambat enzim *cyclooxygenase-1* (COX-1) yang berperan dalam pembentukan prostaglandin (PGE₂). Prostaglandin berfungsi sebagai barrier mukosa usus. Sehingga apabila produksi prostaglandin

dihambat maka akan mengakibatkan terjadi kerusakan pada vili jejunum dan mengalami inflamasi, karena berkurangnya barrier mukosa usus. Prostaglandin (PGE2) merupakan mediator inflamasi. Inflamasi akan memicu peningkatan vasodilatasi pembuluh darah yang menyebabkan sitokin pro-inflamasi masuk ke dalam jaringan jejunum. Semakin banyaknya sitokin pro-inflamasi yang berada di daerah inflamasi menunjukkan bahwa jumlah radikal bebas yang mampu merusak jaringan jejunum juga semakin banyak (Tanaka *et al*, 2001).

Pada **Gambar 5.2 C** merupakan histopatologi jejunum kelompok terapi ekstrak daun sukun 100 mg/kg BB (K1) terlihat terdapat erosi epitel, sel radang, dan hemoragi. Berdasarkan histopatologi tersebut ekstrak daun sukun dosis 100 mg/kg BB (K1) belum menunjukkan hasil terapi yang baik.

Histopatologi jejunum kelompok terapi ekstrak daun sukun dosis 200 mg/kg BB (K2) pada **Gambar 5.2 D** terlihat mulai terlihat adanya perbaikan epitel pada vili dan infiltrasi sel radang mulai berkurang dibandingkan dengan kelompok terapi ekstrak daun sukun dosis 100 mg/kg BB (K1).

Pada kelompok terapi ekstrak daun sukun dosis 400 mg/kg BB (K3) pada **Gambar 5.2 E** terlihat perbaikan epitel sudah penuh mengelilingi vili. Vili tampak panjang dan rapat, sel goblet tertata rapi diantara epitel. Gambaran histologi pada **Gambar 5.2 E** sudah mulai kembali pada kondisi normal dibandingkan dengan histopatologi jejunum kelompok terapi ekstrak daun sukun dosis 100 mg/kg BB (K1) dan kelompok terapi ekstrak daun sukun dosis 200 mg/kg BB (K2), hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian

ekstrak daun sukun dengan dosis 400 mg/kg BB lebih mampu memperbaiki kerusakan pada jaringan jejunum.

Ekstrak daun sukun memiliki kandungan flavonoid, polifenol, dan tanin yang dapat berfungsi sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Flavonoid berperan sebagai stimulus enzim *cyclooxygenase*. Hal tersebut menyebabkan produksi prostaglandin akan meningkat. Jika produksi prostaglandin meningkat, maka akan terjadinya peningkatan produksi mukus yang berfungsi untuk proteksi mukosa usus dari bakteri yang dapat menyebabkan inflamasi dan kerusakan jaringan pada jejunum. Mukosa jejunum akan terlindungi kembali dan sel-sel pada jejunum dapat melakukan regenerasi, sehingga terjadi perbaikan gambaran histologi jejunum yang mengalami kerusakan (Nazira, 2018).

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Terapi ekstrak daun sukun mempunyai pengaruh pada profil pita protein, pada dosis 400 mg/kg BB mampu menekan inflamasi pada jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD induksi indometasin yang ditandai hilangnya protein dengan berat molekul 60 kDa, 72 kDa, dan 92 kDa pada tikus yang di induksi indometasin.
2. Terapi ekstrak daun sukun mampu memperbaiki gambaran histopatologi jejunum dengan dosis 400 mg/kg BB pada tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD induksi indometasin yang ditandai dengan perbaikan sel-sel epitel jejunum.

6.2 Saran

1. Pada penelitian selanjutnya sebaiknya perlu ditingkatkan dosis ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*).
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui batas toksisitas ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*).

DAFTAR PUSTAKA

- Abatan, M., Lateef, I., and Taiwo, V. 2006. Toxic Effects of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Agents in Rats. *African Journal of Biomedical Research*, Vol. 9: 219-223.
- Adinugraha, H., Noor, K., Dedi, S., dan Prastyono. 2014. *Pengembangan Teknik Budidaya Sukun (Artocarpus altilis) Untuk Ketahanan Pangan*. Bogor: IPB Press.
- Agustin, L., Lanny, M., Ratu, C. 2015. Uji Aktivitas Antihiperqlikemia Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus Altilis* (Parkinson Ex F.A.Zorn) Fosberg) pada Mencit Swiss Webster Jantan dengan Metode Uji Toleransi Glukosa. *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*. ISSN 2460-6472.
- Alex, G., Jane, M., Sally, B., Susan, C., Gregory, M., Mark, W., and Daniel, V. 2018. Clinical Update for General Practitioners and Physicians: Inflammatory Bowel Disease. *Melbourne: The Gastroenterological Society of Australia (GESA)*.
- Arranz, A., C. Abad., Y. Juarranz., J. Leceta., C. Martinez., R. P. Gomariz. 2008. Vasoactive Intestinal Peptide as a Healing Mediator in Crohn's Disease. *Neuroimmunomodulation* 46-53.
- Aulanni'am, Anna, R., and Nur, L. 2012. The Potency of *sargassum duplicatum bory* Extract on *Inflammatory Bowel Disease* Therapy in *Rattus norvegicus*. *Journal of Live Sciences* 6:144-154.
- Aulanni'am., Anna, R., dan Nur, L. 2011. Potensi Fraksi Etanol dan Etil Asetat Rumput Laut Coklat (*Sargassum duplicatum Bory*) Terhadap Penurunan Kadar Malondialdehid dan Perbaikan Gambaran Histologis Jejunum Usus Halus Tikus IBD (Inflammatory Bowel Disease). *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan Vol. 4, No. 1*.
- Barbatis, C., dan M. Tsopanomichalou. 2009. Heat Shock Proteins in Inflammatory Bowel Disease. *Annals of Gastroenterology* 22 (4): 244-247.
- Budhy, T., Istiati, K. Dan Soehardjo. 2006. Peran Heat Shock Protein (HSP) Terhadap Penyakit Rongga Mulut. *IJD Edisi Khusus KPPIKG XIV*.
- Bures, J., J. Pejchal, J. Kvetina, A. Tichy, S. Rejchrt, M. Kunes, and M. Kopacova. 2011. Morphometric analysis of the porcine gastrointestinal tract in a 10 day high dose indomethacin administration with or without

probiotic bacteria *Escherichia coli* Nissle 1917. *Human and Experimental Toxicology* 30 (12) 1955-1962.

Campbell, K., and Perkins, N. 2006. *Regulation of NF-kappaB Function*. *Biochem Soc Symp.* 73: 165-180.

Danastri, I., dan Ida, B. 2011. *Inflammatory Bowel Disease*. Denpasar: Universitas Udayana.

Dewi, Nia Y. 2013. Penetapan Kadar dan Analisis Profil Protein dan Asam Amino Ekstrak Ampas Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* Linn.) dengan Metode SDS-PAGE dan KCKT [Skripsi]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.

Galdeano, M. C. and G. Perdigon. 2006. The Probiotic *Bacterium lactobacillus casei* Induces Activation of The Gut Mucosal Immune System through Innate Immunity. *Clin Vac Immun*, 219-226.

Gunawan, E. 2011. Efek Kuratif Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) Terhadap Gambaran Histopatologis Kolon Pada Mencit Model Kolitis Ulserativa [Skripsi]. Bandung: Universitas Kristen Maranatha.

Hall, E. J. 2009. *Inflammatory Bowel Disease in Dogs and Cats*. Inggris: Hill's Pet Nutrition, Inc.

Hartanto, N. 2017. Gambaran Histopatologi Usus Halus Tikus Wistar Akibat Luka Bakar Termal Seluas 30% *Total Body Surface Area (TBSA)* Pada Fase Intravital, Perimortem dan Postmortem [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Hastuti, S. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkins.) Fosberg) Terhadap Aktivitas Analgetik dan Antiinflamasi Pada Mencit Serta Ekspresi COX-2 [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.

Husaeni, R. 2017. Efek Ekstrak Air Buah Tin (*Ficus carica* L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus* L.) yang Diinduksi Aloksan Monohidrat [Skripsi]. Institut Teknologi Bandung.

Igarashi, H., Nao, F., Tetsuhide, I., Taichi, N., Takamasa, O., Kazuhiko, N., Koichi, S., Robert. T. J., and Ryoichi, T. 2011. Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) and VIP Receptors-Elucidation of Structure and Function for Therapeutic Applications. *International Journal of Clinical Medicine* 2 500-508.

- Kaser, A., S. Zeissig., and R. S. Blumberg. 2010. Inflammatory Bowel Disease. *Annu Rev Immunol*; 28: 573-621.
- Kumar, V., Manisha, G. and Jethani. 2013. Effect of Indomethacin on Colon of Albino Rat Histopathological Study. *International Journal of Biomedical And Advance Research*.
- Kusuma, A. N., Aulanni'am., dan Dyah, K. W. 2012. *Studi Terapi Perasan Buah Labu Siam (Sechium edule) Terhadap Aktivitas Protease dan Profil Protein Ileum Tikus (Rattus norvegicus) Inflammatory Bowel Disease (IBD) Hasil Induksi Indometasin*. Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
- Muchtarohmah, B., Sutiman, B., Soemarno., dan Trini, S. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Protein 100kDa dari Membran kepala Spermatozoa Kambing. *J.Exp.Life Sci Vol. 2 No. 1*.
- Mulyono, A., Ristiyanto., dan Noor, S. 2012. Karakteristik Histopatologi Hepar Tikus Got Rattus norvegicus Infektif Leptospira sp. *Jurnal Vektora Vol. 1 No. 2*.
- Munasir, K. 2001. Respon Imun Terhadap Infeksi Bakteri. *Sari Pediatri, Vol. 2, No. 4: 193-197*.
- Mustollah, H. 2016. Analisa Profil Protein Gelatin Sapi dan Gelatin Babi Gummy Vitamin C Menggunakan Metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis*) [Skripsi]. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Nazira. 2018. Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus alitis (park.) Fosbeg*) pada Mencit (*Mus musculus*) [Skripsi]. Universitas Sumatera Utara.
- Nurhalimah, H., Novita, W., Tri Dewanti, W. 2015. Efek Antidiare Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica L.*) Terhadap Mencit Jantan yang Diinduksi Bakteri *Salmonella Thypimurium*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 3 No 3 p. 1083-1094*.
- Pamungkas, T. 2015. Efek Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). [skripsi] Universitas Muhammadiyah Malang.
- Pratiwi, A., Aulani'am., dan Sutrisno. 2013. Aktivitas Protease dan Profil Protein Pada hepar Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Pasca Induksi Cylosporine-A. *Kimia Student Journal, VI 1, No. 1*.

- Primadina, N., Achmad, B., dan David, S. P. 2019. Proses Penyembuhan Luka Ditinjau Dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. *Qanun Medika Vol. 3 No. 1*.
- Riansyah, Y., Lanny, M., dan Ratu, C. 2015. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas (L.) Lamk*) terhadap Tikus Wistar Jantan. *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba* ISSN 2460-6472.
- Salim, A. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang Diberi Beban Glukosa [Thesis]. Universitas Diponegoro.
- Samborski, P., dan Marian, G. 2015. The Role of HSP70 Heat Shock Proteins in the Pathogenesis and Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Wroclaw Medical University* ISSN 1899-5276.
- Saputra, Fahrur R. 2014. Aplikasi Metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis*) Untuk Mengidentifikasi Sumber Gelatin Pada Kapsul Keras. [Skripsi] Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Sholichah, N., Aulanni'am., dan Chanif, M. 2012. Efek Terapi Ekstrak Air Daun Kedondong (*Lannea coromandelica*) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Aktivitas Protease pada Ileum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Inflammatory Bowel Disease (IBD) Akibat Paparan Indometasin. *Veterinaria Medika Vol. 5 No. 3*.
- Sun, Y., and T. H. Macrae. 2005. Small Heat Shock Proteins: Molecular Structure and Chaperone Function. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2460-2476.
- Swari, Maharani O. 2017. *Pengaruh Pemberian gel Biji Jintan Hitam (Nigella Sativa) Pada Proses Penyembuhan Luka Gingiva*. Yogyakarta: Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Tanaka, A., H. Araki., Y. Komoike., S. Hase., and K. Takeuchi. 2001. Inhibition of Both COX-1 and COX-2 is Required for Development of Gastric Damage in Response to *Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs*. *Journal of Physiology* 95: 21-27.
- Tandi, J., M. Rizky, R. Mariani, dan F. Alan. 2017. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Kolesterol Total, dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan Hiperkolesterolemia Diabetes. *Jurnal Sains dan Kesehatan. Vol. No. 8*

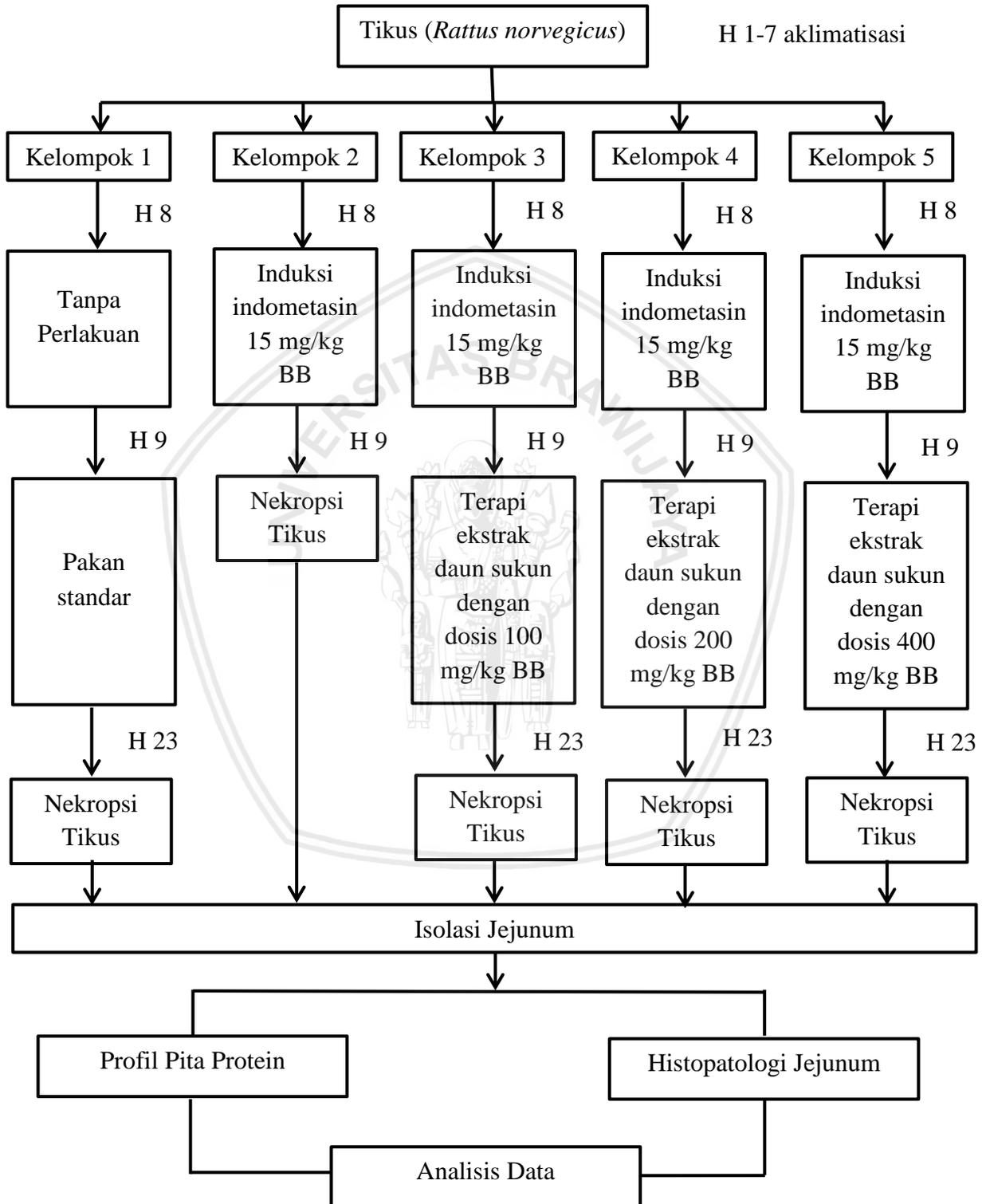
- Theodore, V., Sunny, W., dan Sonny, J. 2017. Gambaran Histologik Usus Halus pada Hewan Coba Selama 24 Jam Postmortem. *Jurnal e-Biomedik Volume 5 Nomor 1*.
- Tkáčová, J. dan Mária, Angelovičová. 2012. Heat Shock Proteins (HSPs): a Review. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*.
- Wahjuni, S. 2015. *Superoksida Dismutase (SOD) Sebagai Prekursor Antioksidan Endogen Pada Stress Oksidatif*. Udayana University Press.
- Widjaja, F., Lucyana, A. S. dan Sarwono, W. 2009. Peran *Heat Shock protein* Terhadap Resistensi Insulin. *Majalah kedokteran Indonesia Volum: 59, Nomor: 3*.
- Widyaputri, T. 2018. Kajian Terapi *Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* (BMMSC) Pada Ginjal Tikus Model Hipertensi [Thesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Zahra, A. dan Novita, C. 2017. Obat Anti-inflamasi Non-steroid (OAINS): Gastroprotektif vs Kardiotoxik. *Majority Volume 6 Nomor 3*.





LAMPIRAN

Lampiran 1. Kerangka Operasional Penelitian



Lampiran 2. Laik Etik Penelitian



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 1044-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**
 TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
 DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH PEMBERIAN EKSRAK DAUN SUKUN
(Lartocarpus altilis) TERHADAP KADAR
 MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN HISTOLOGY
 LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) MODEL
 IBD INDUKSI INDOMETASIN

PENELITI : SITI MARWA MAULIDA

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 8 Januari 2019
 Ketua Komisi Etik Penelitian
 Universitas Brawijaya



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

NB: Nama yang tercantum pada sertifikat ini merupakan anggota peneliti

Lampiran 3. Determinasi Daun Sukun



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/379A/102.7/2018
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Sukun**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM	: RATIH AMELIA	/ 155130107111011
	: SITI MARWAA MAULIDA	/ 155130101111004
	: NATHANIA ARYANI	/ 155130107111012
	: SYASYA YUSRINA HAIDAPUTRI	/ 155130107111004
	: ANRIS ALFANI PURBA	/ 155130107111006
Fakultas	: FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN, UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG	

1. Perihal determinasi tanaman sukun

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Urticales
Famili	: Moraceae (suku nangka-nangkaan)
Genus	: Artocarpus
Spesies	: <i>Artocarpus communis</i> Forst
Sinonim	: <i>Artocarpus incisa</i> L. f. ; <i>A. altitis</i> (Park.) Fosberg
Nama Daerah	: Sukun (Aceh), hatupul (Batak), amu (Meteyu), sukun (Jawa), sakon (Madura), sukun (Bali), karara bima (Flores)

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15a-109b-119b-120a-121b-124a-1b-2.

2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi 10-25 m. Batang: Tegak, berkayu, bulat, percabangan simpodial, coklat. Daun: Tunggal, tersebar, panjang 40-60 cm, lebar 30-35 cm, tepi bertoreh, ujung meruncing, pangkal membulat, pertulangan menjari, daging daun tebal, permukaan licin, tulang daun menonjol, permukaan atas berbulu, hijau, tangkai bulat, panjang 3-4 cm, hijau. Bunga: Tunggal, di ketiak daun, tangkai silindris, panjang 2-3 cm, hijau muda, kelopak lonjong, permukaan bagian dalam licin, bagian luar berambut, kehijauan, mahkota lonjong, kuning kehijauan. Buah: Buni, lonjong, diameter 6-10 cm, permukaan bergerigi tumpul, teratur, bergetah, hijau. Biji: Lonjong, pipih, coklat. Akar: Tunggang, coklat.
3. Nama Simplisia : Artocarpi Folium/ Daun Sukun.
4. Kandungan : Daun dan kulit batang mengandung saponin dan polifenol. Daun mengandung saponin, polifenol, asam hidrosianat, kalium, phenol, tannin, asetilcolin, flavonoid, beta sitosterol dan riboflavin. Buah mengandung protein, lemak, karbohidrat, serat, kalsium, kalium, fosfor, zat besi, karoten, thiamin, riboflavin, niacin dan asam askorbat.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/sukun>, diakses tanggal 1 Desember 2010.
- Nur Apriyanti, Rosy. 2012. *Daun sukun vs ginjal, hepatitis*. Trubus vol. 509, XLIII: Hal 13-17.
- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 18 Desember 2018
 Kepala UPT Materia Medica Batu



Lampiran 4. Analisa Kualitatif

		Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu KOTA BATU		65313	
Nomor	: 074 / 135D / 102.7 / 2018				
Sifat	: Biasa				
Perihal	: Surat Keterangan Analisa Kualitatif				
Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :					
1. Identitas Pemohon					
Nama	NIM	Fakultas			
Ratih Amelia	155130107111011	Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya			
Siti Marwaa Maulida	155130101111004				
Nathania Aryani	155130107111012				
Syasya Yusrina Haida Putri	155130107111004				
Anris Alfani Purba	155130107111006				
2. Identitas Sampel					
Nama daerah sampel	: Sukun				
Nama latin	: <i>Artocarpus altilis</i>				
Bagian sampel	: Daun				
Bentuk sampel	: Ekstrak				
Pelarut	: Etanol 96%				
Asal sampel	:				
Tanggal penerimaan	: 11 Desember 2018				
Tanggal pemeriksaan	: 11 Desember 2018				
3. Hasil					
No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil		
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Positif		
2.	Alkaloid				
	Meyer	Endapan Putih	Negatif		
	Dragendrof	Endapan Jingga	Negatif		
	Bouchardat	Endapan Cokelat	Positif		
3.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif		
4.	Terpenoid				
	Steroid	Hijau Kebiruan	Negatif		
	Triterpenoid	Orange, Jingga Kecokelatan	Positif		
5.	Saponin	Busa Permanen	Positif		
6.	Polifenol	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif		
7.	Vitamin C	Hijau Kekuningan sampai Merah	Negatif		
4. Lampiran					
Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid			
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat	
Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)					
Nama Sampel	Tanin	Terpenoid	Saponin	Polifenol	Vitamin C
Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)					



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

5. Pustaka

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978. "Materia Medika Indonesia", Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

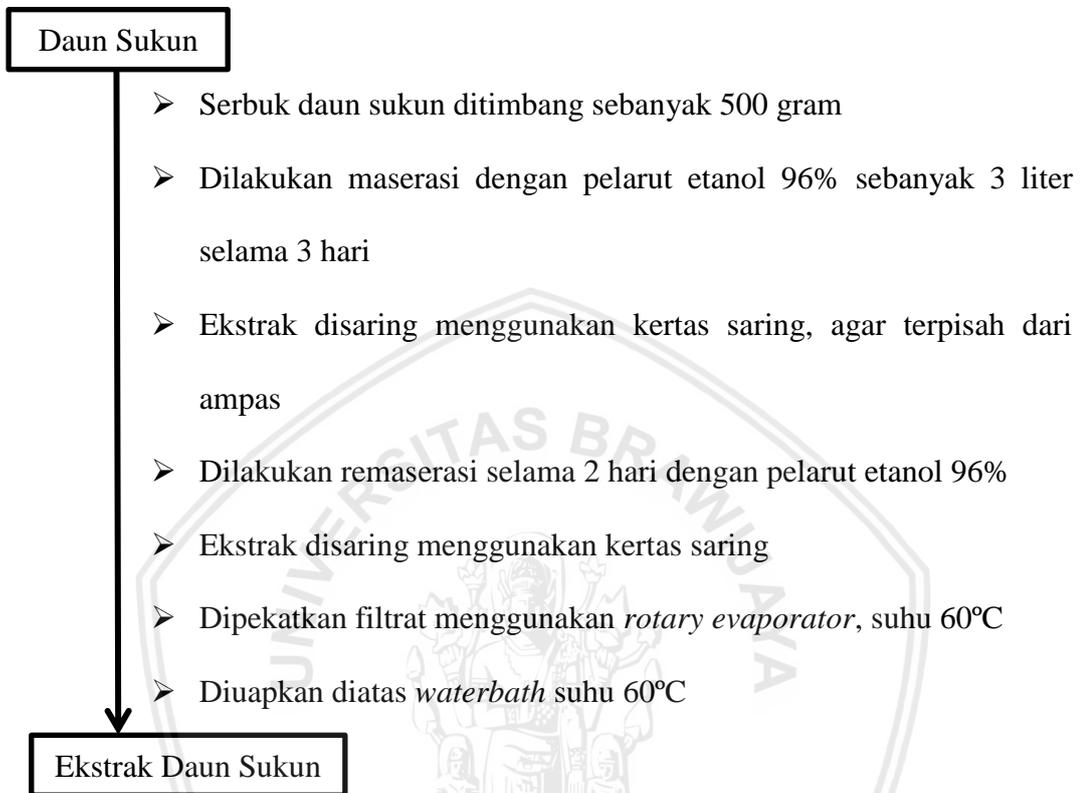


Batu, 12 Desember 2018
Kepala UPT Materia Medica Batu

Mallalena
Dr. Husin RM, Drs., Apt., MKes.
NIP.19611102 199103 1 003



Lampiran 5. Pembuatan Ekstrak Daun Sukun



Lampiran 6. Penentuan Dosis Ekstrak Daun Sukun

Dosis ekstrak daun sukun kelompok perlakuan 1

Dosis = (dosis terapi x berat badan) : konsentrasi

$$= \frac{100 \text{ mg/kg}}{1200 \text{ mg/ml}} \times 0,2 \text{ kg}$$

$$= 0,16 \text{ ml/tikus}$$

Dosis ekstrak daun sukun kelompok perlakuan 2

Dosis = (dosis terapi x berat badan) : konsentrasi

$$= \frac{200 \text{ mg/kg}}{1200 \text{ mg/ml}} \times 0,2 \text{ kg}$$

$$= 0,03 \text{ ml/tikus}$$

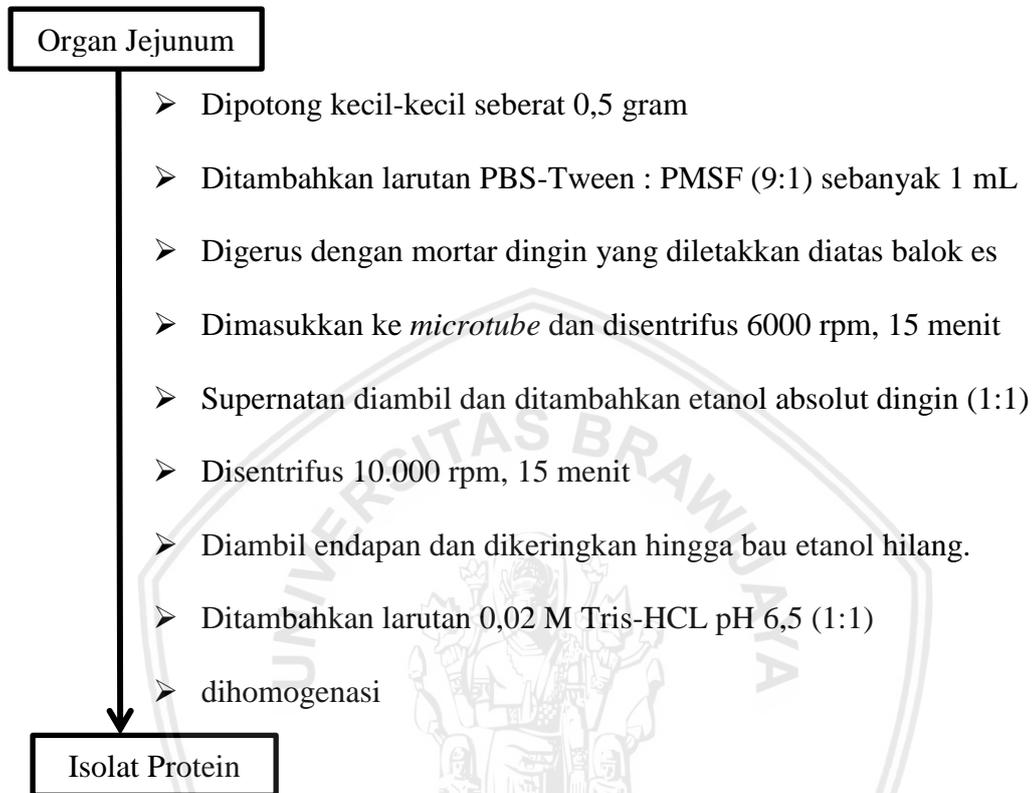
Dosis ekstrak daun sukun kelompok perlakuan 3

Dosis = (dosis terapi x berat badan) : konsentrasi

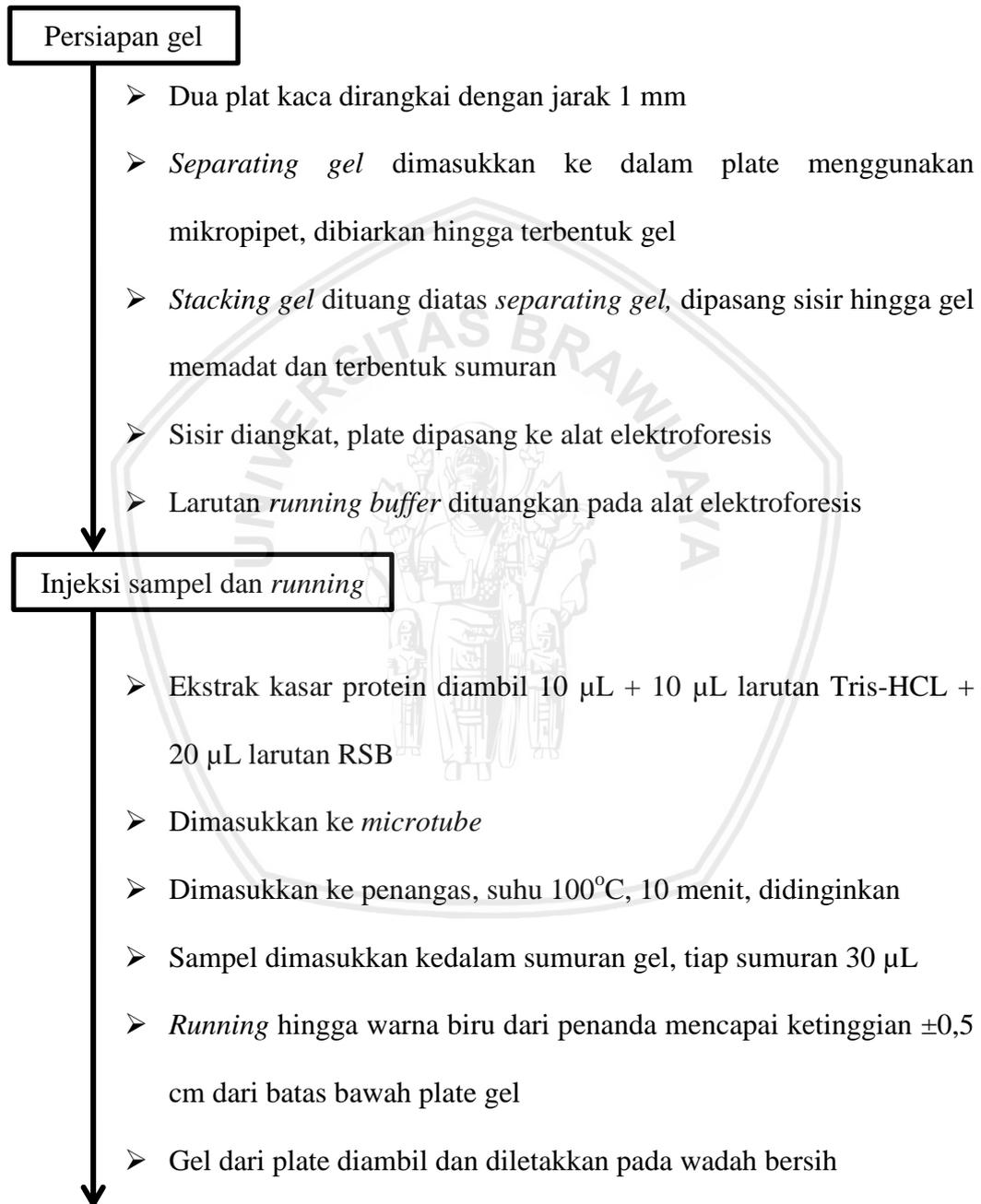
$$= \frac{400 \text{ mg/kg}}{1200 \text{ mg/ml}} \times 0,2 \text{ kg}$$

$$= 0,06 \text{ ml/tikus}$$

Lampiran 7. Isolasi protein



Lampiran 8. Profil Pita Protein dengan Teknik SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*)



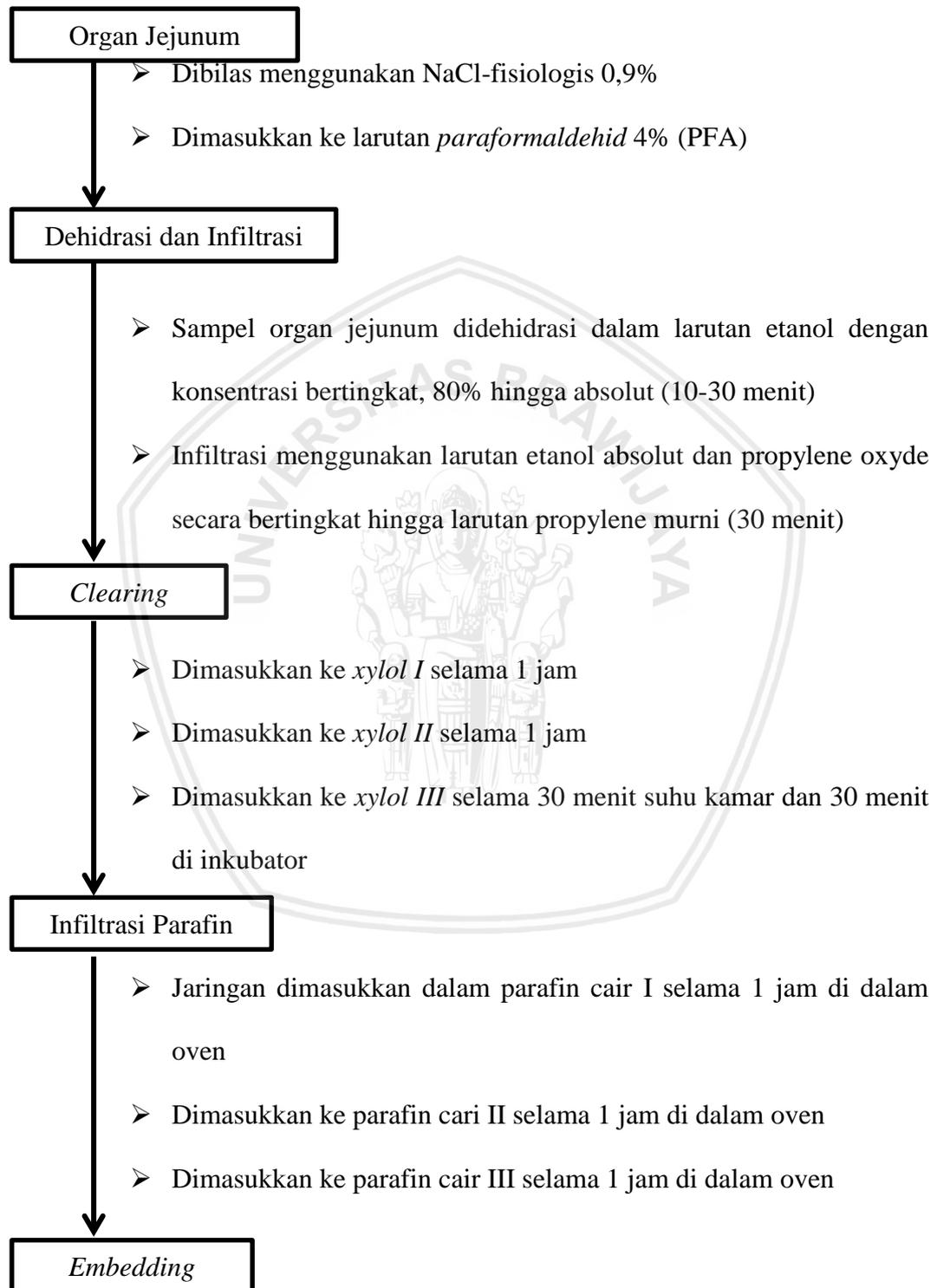
Injeksi sampel dan *running*

- Gel direndam pada larutan *staining* (*Comassie brilliant blue*) 20 mL dalam wadah bersih dan steril, 20 menit, sambil dikocok dengan *shaker*
- Larutan *staining* dibuang dan dituang larutan *destaining* 50 mL, dikocok dengan *shaker* hingga pita pada gel terlihat jelas

Profil Pita Protein



Lampiran 9. Pembuatan Preparat Histopatologi Jejunum



Embedding

- Blok parafin yang telah membeku dipasang pada mikrotom
- Dipotong dengan ketebalan 4 μm
- Deparafinasi menggunakan *xylol*
- Rehidrasi menggunakan alkohol absolut I, II dan III (masing-masing 5 menit)
- Dimasukkan ke alkohol 95%, 90%, 80%, dan 70% (masing-masing 5 menit)
- Dimasukkan ke pewarna *hematoksilin* selama 10 menit
- Dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan aquades selama 5 menit
- Diwarnai dengan pewarna eosin selama 5 menit
- Dimasukkan ke aquades selama 5 menit
- Dehidrasi menggunakan alkohol 70%, 80%, 90% dan 95% dan alkohol 100% I, II, II masing-masing 2 menit
- Dimasukkan kedalam *xylol* I, II, III selama 3 menit
- Ditutup dengan cover glass

Preparat Histopatologi Jejunum

Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian

Keterangan	Gambar
<p>Pencampuran indometasin dan minyak jagung</p>	
<p>Ekstrak daun sukun</p>	
<p>Penyondean tikus</p>	

<p>Metode SDS-PAGE</p>	
<p>Menggunakan Pembacaan hasil profil pita protein dengan gel doc</p>	
<p>Feses diare</p>	
<p>Feses normal</p>	
<p>Feses melena</p>	