

**PENGARUH POLIFENOL BUAH TIN ( *Ficus carica* Linn) TERHADAP  
KADAR MCP-1 ( *Monocyte Chemoattractant Protein-1*) PADA TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR JANTAN YANG DIBERI DIET TINGGI  
LEMAK**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



**Oleh :  
Noorma Lukitasari  
0910710100**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2012**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH POLIFENOL BUAH TIN ( *Ficus carica* Linn) TERHADAP KADAR  
MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein - 1) PADA TIKUS (*Rattus  
norvegicus*) GALUR WISTAR JANTAN YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK**

Oleh :

Noorma Lukitasari  
NIM : 0910710100

Telah diuji pada

Hari : Jumat

Tanggal : 14 Desember 2012

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

Dr. dr. Setyawati Soeharto, MKes

Penguji II/Pembimbing I

Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc

Penguji III/Pembimbing II

Dra. Diana Lyrawati, Apt, MS, PhD

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kedokteran

Prof..Dr.dr.Teguh W. Sardjono DTM& H, MSc, SpParK

19520410 198002 1 001

## KATA PENGANTAR

Puji syukur dipanjatkan kehadirat Allah SWT dan Rasulullah SAW. Berkat rahmat, berkah, kasih sayang, petunjuk dan hidayah Allah SWT yang melimpah, penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh Polifenol Buah Tin (*Ficus carica Linn*) terhadap Kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein - 1*) pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Jantan yang Diberi Diet Tinggi Lemak”.

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa penyakit kardiovaskuler menduduki peringkat pertama penyebab kecacatan dan kematian dini di dunia saat ini. Keadaan yang mendasari penyakit tersebut adalah adanya proses aterosklerosis, bentuk peradangan kronis pada pembuluh darah, dengan MCP-1 sebagai salah satu petanda respon inflamasinya. Salah satu strategi terapi yang dapat dilakukan sebagai upaya prevensi aterosklerosis adalah konsumsi anti-oksidan. Buah Tin diyakini memiliki kandungan anti-oksidan (polifenol) yang tinggi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian polifenol buah Tin (*Ficus carica Linn*) berbagai dosis terhadap kadar MCP-1 serum tikus Wistar jantan. Diharapkan, penelitian ini dapat menjadi inisiasi untuk membuktikan pengaruh polifenol buah Tin dalam menghambat peningkatan kadar MCP-1.

Teramat banyak pihak yang membantu dalam penulisan tugas akhir sehingga dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Karyono S. Mintaroem, Sp.PA, dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberi penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.



2. Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc. sebagai pembimbing pertama yang telah memberi bantuan reagens, dengan sabar meluangkan waktu untuk selalu memberikan bimbingan, ilmu, motivasi dan nasihat serta pelajaran moral yang amat bermanfaat sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. Dra. Diana Lyrawati, Apt, MS, PhD. sebagai pembimbing kedua atas segala kesabaran, arahan, ilmu, nasihat, dan masukan yang solutif terhadap penulis selama menyusun Tugas Akhir ini.
4. Dr. dr. Setyawati Soeharto, MKes, yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji dan memberi kritik yang membangun
5. Dr. Ciptati, MS., M.Sc. dari FMIPA ITB, yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam proses ekstraksi polifenol buah tin.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya atas bantuan dan kemudahan yang telah diberikan.
7. Seluruh tim analis serta karyawan Laboratorium Farmakologi (Bu Fer, Mas Memet, dan segenap staf) Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah banyak berkontribusi membantu penulis dalam penelitian ini.
8. Seluruh tim analis serta karyawan Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (Mas Budi, Mas Haris, Mas Didin, Mbak Umi, Mbak Kiki) yang tak kalah banyak kontribusinya kepada penulis untuk menyelesaikan Tugas Akhir ini.
9. Seluruh tim di bagian Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (Mbak Dili, Pak Sumariyono dan staf lain) atas kontribusinya dalam perijinan penelitian ini di bidang etik.

10. Mama, Nur Hidayati dan Papa, Soedirman untuk kasih sayang, cinta, dan doa yang tak pernah putus, serta dukungan lahir maupun batin yang tiada terhingga.
11. Kakak, Dian Pratiwi, dan Adik, Laily Ira Fauziyyah serta keluarga besar lainnya yang senantiasa menyemangati penulis untuk terus berjuang menyelesaikan Tugas Akhir ini.
12. Tim seperjuangan buah tin : Ardine Cahya Pratiwi, Dea Florensia, Havri Bogi, M. Cholis, serta kakak tingkat 2008 dalam penelitian ini untuk kerja keras dan semangatnya yang luar biasa.
13. Keluarga Heries : Ines, Sakinah, Ditaris, Fika, Annis Astika, Dedy, Desty, Vivi, Adys, Cendy, Ratih, Nying, Ersyad, Bogi, Oriza, dan Erlangga atas tawa, dorongan, semangat, dan semua hal yang telah dilalui bersama, sebagai sahabat terbaik dan keluarga kedua bagi penulis.
14. Keluarga Lakesma FKUB, *Medical's Choir*, MSCIA, grupo Senzala Capoeira Malang, om dan tante warga SSCI robek dan robek gadungan, terima kasih atas kebersamaan dan dorongan serta doanya.
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah aktif memberi bantuan dan motivasi selama penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat diperlukan.

Akhir kata, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi setiap pembaca.

Malang, Desember 2012

Penulis

## ABSTRAK

Lukitasari, Noorma. 2012. ***Pengaruh Polifenol Buah Tin (*Ficus carica* Linn) Terhadap Kadar MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1) pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar Jantan yang Diberi Diet Tinggi Lemak.*** Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Pembimbing : (1) Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc. (2) Dra. Diana Lyrawati, Apt, MS, PhD.

Beberapa patogenesis yang mendasari terjadinya aterosklerosis antara lain: (1) kondisi hiperlipidemia, (2) stres oksidatif akibat ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan, dan (3) respon terhadap inflamasi kronis. Buah Tin (*Ficus carica* Linn) mengandung polifenol yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian polifenol Buah Tin dalam berbagai dosis dapat mencegah aterosklerosis dengan menghambat peningkatan kadar MCP-1 serum. Studi eksperimental ini menggunakan desain penelitian *post-test only control group* pada tikus galur Wistar jantan dan dilakukan selama 65 hari. Dua puluh lima ekor sampel dibagi secara acak menjadi 5 kelompok yang terdiri atas 5 ekor tikus, yaitu kelompok kontrol negatif (diet normal), kontrol positif (diet tinggi lemak), dosis A (diet tinggi lemak + polifenol buah Tin 4,5 mg/hari), dosis B (diet tinggi lemak + polifenol buah Tin 9 mg/hari), dan dosis C (diet tinggi lemak + polifenol buah Tin 18 mg/hari). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar MCP-1 serum pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak meningkat sebesar 21.36% dibanding kelompok dengan diet normal. Pemberian polifenol Buah Tin pada dosis 9 mg/hari menurunkan kadar MCP-1 sebesar 12% dibanding dengan kelompok yang diberi diet tinggi lemak, dan pada dosis 18 mg/hari kadar MCP-1 sudah kembali normal. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa pemberian polifenol buah Tin mampu menghambat peningkatan kadar MCP-1 serum tikus Wistar yang diberi diet tinggi lemak secara signifikan, dengan hasil maksimal pada dosis 18 mg/hari.

Kata kunci : polifenol, *Ficus carica*, aterosklerosis, MCP-1 serum

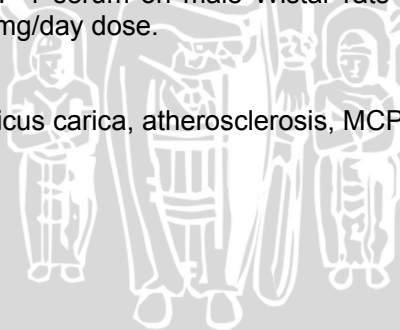


## ABSTRACT

Lukitasari, Noorma. 2012. ***The Effect of Fig (*Ficus carica* Linn) Polyphenol to MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1) serum Level of Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) Fed with High Fat Diet.*** Final Assignment, Medical Department, Faculty of Medicine Brawijaya University Malang. Supervisors : (1) Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc. (2) Dra. Diana Lyrwati, Apt, MS, PhD.

Some of the underlying pathogenesis of atherosclerosis, are (1) hyperlipidemia, (2) oxidative stress caused by an imbalance of oxidants and antioxidants, and (3) chronic inflammation. Tin Fruits (*Ficus carica* Linn) contains polyphenols that can act as antioxidants. This study aimed to determine whether the Tin fruits (Fig) polyphenols in different doses may prevent atherosclerosis by inhibit the elevation of MCP-1 serum level. This experimental study used post-test control group only research design and were performed for 65 days. Twenty-five Wistar rats were assigned randomly into 5 groups of 5 mice, i.e: the negative control group (normal diet), positive control (high fat diet), dose A group (high fat diet + Fig polyphenols 4.5 mg / day) , dose B group (high fat diet + Fig polyphenols 9 mg / day), and dose C group (high fat diet + Fig polyphenols 18 mg / day). The results showed that levels of MCP-1 serum in the group fed with high fat diet was higher by 21.36% than normal diet group. Fig polyphenols at a dose 9 mg/day lowered the levels of MCP-1 serum by 12% compared to group given high fat diet, and at a dose of 18 mg/day the level of MCP-1 serum had returned to normal. It can be concluded that Fig polyphenol could significantly inhibit the increase of MCP-1 serum on male Wistar rats fed with high fat diet, with maximum effect at 18mg/day dose.

Keywords : polyphenols, *Ficus carica*, atherosclerosis, MCP-1 serum



## DAFTAR ISI

|                                                                 | Halaman |
|-----------------------------------------------------------------|---------|
| Judul .....                                                     | i       |
| Halaman Persetujuan .....                                       | ii      |
| Kata Pengantar .....                                            | iii     |
| Abstrak .....                                                   | vi      |
| Abstract .....                                                  | vii     |
| Daftar Isi .....                                                | viii    |
| Daftar Tabel .....                                              | xi      |
| Daftar Gambar.....                                              | xii     |
| Daftar Lampiran .....                                           | xiii    |
| <br><b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>                                    |         |
| 1.1 Latar Belakang Masalah .....                                | 1       |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                                       | 4       |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                                     | 5       |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....                                    | 5       |
| 1.4.1 Manfaat Akademik .....                                    | 5       |
| 1.4.2 Manfaat Praktis .....                                     | 5       |
| <br><b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>                               |         |
| 2.1 Aterosklerosis .....                                        | 6       |
| 2.1.1 Etiologi, Patogenesis, dan Komplikasi Aterosklerosis..... | 7       |
| 2.1.2 Faktor Resiko Aterosklerosis .....                        | 13      |
| 2.2 Diet Atherogenik.....                                       | 14      |
| 2.3 Monocyte Chemoattractant Protein-1.....                     | 16      |
| 2.3.1 Produksi MCP-1.....                                       | 17      |
| 2.3.2 Mekanisme Tertariknya Monosit oleh MCP-1.....             | 18      |
| 2.3.3 MCP-1 dalam Aterosklerosis.....                           | 18      |
| 2.4 Radikal Bebas .....                                         | 20      |
| 2.5 Polifenol sebagai Antioksidan .....                         | 22      |
| 2.6 Buah Tin ( <i>Ficus carica</i> Linn) .....                  | 23      |



|       |                                |    |
|-------|--------------------------------|----|
| 2.6.1 | Ekstrak Buah Tin .....         | 25 |
| 2.6.2 | Dosis Polifenol Buah Tin ..... | 25 |
| 2.6.3 | Manfaat Buah Tin .....         | 25 |
| 2.7   | Polifenol Buah Tin.....        | 27 |

### **BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

|     |                                  |    |
|-----|----------------------------------|----|
| 3.1 | Kerangka Konsep .....            | 30 |
| 3.2 | Penjelasan Kerangka Konsep ..... | 31 |
| 3.3 | Hipotesis Penelitian .....       | 32 |

### **BAB 4 METODE PENELITIAN**

|       |                                                                                                                                             |    |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1   | Rancangan Penelitian .....                                                                                                                  | 33 |
| 4.2   | Sampel .....                                                                                                                                | 34 |
| 4.2.1 | Metode Pemilihan Sampel .....                                                                                                               | 35 |
| 4.3   | Variabel Penelitian .....                                                                                                                   | 35 |
| 4.3.1 | Variabel Independen .....                                                                                                                   | 35 |
| 4.3.2 | Variabel Dependen .....                                                                                                                     | 36 |
| 4.4   | Lokasi dan Waktu Penelitian .....                                                                                                           | 36 |
| 4.5   | Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian .....                                                                                                   | 36 |
| 4.5.1 | Alat Penelitian .....                                                                                                                       | 36 |
| 4.5.2 | Bahan Penelitian .....                                                                                                                      | 36 |
| 4.6   | Definisi Istilah / Operasional .....                                                                                                        | 37 |
| 4.7   | Prosedur Penelitian / Pengumpulan Data .....                                                                                                | 38 |
| 4.7.1 | Pembuatan Pakan Tikus.....                                                                                                                  | 38 |
| 4.7.2 | Proses Perlakuan Pada Tikus Percobaan .....                                                                                                 | 39 |
| 4.7.3 | Pengukuran Kadar MCP-1 ( <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i> ) dengan Metode ELISA ( <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> ) ..... | 40 |
| 4.7.4 | Bagan Alur Penelitian .....                                                                                                                 | 42 |
| 4.8   | Analisis Data .....                                                                                                                         | 42 |

### **BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA**

|     |                        |    |
|-----|------------------------|----|
| 5.1 | Hasil Penelitian ..... | 44 |
|-----|------------------------|----|

|                               |                     |           |
|-------------------------------|---------------------|-----------|
| 5.2                           | Analisis Data ..... | 47        |
| <b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b> |                     | <b>50</b> |
| <b>BAB 7 PENUTUP .....</b>    |                     |           |
| 7.1                           | Kesimpulan .....    | 57        |
| 7.2                           | Saran.....          | 57        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>   |                     | <b>58</b> |
| <b>LAMPIRAN .....</b>         |                     | <b>62</b> |



## DAFTAR TABEL

|                                                                                                                                                | Halaman |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Tabel 2.1      Komposisi Buah Tin Kering .....                                                                                                 | 28      |
| Tabel 5.1      Data Hasil Penelitian dan statistik ANOVA ( <i>Analysis of</i><br><i>Variance</i> ) pada Masing-masing Kelompok Perlakuan ..... | 45      |
| Tabel 5.2      Hasil Uji LSD Kadar MCP-1 .....                                                                                                 | 49      |

UNIVERSITAS BRAWIJAYA





## DAFTAR GAMBAR

|                                                                                        | Halaman |
|----------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Gambar 2.1 Patogenesis Aterosklerosis .....                                            | 11      |
| Gambar 2.2 Komplikasi Ateroma .....                                                    | 12      |
| Gambar 2.3 Metabolisme Lemak .....                                                     | 15      |
| Gambar 2.4 Buah Tin Kering .....                                                       | 24      |
| Grafik 5.1 Perbandingan Rata-Rata Kadar MCP-1 Antar Masing<br>Kelompok Perlakuan ..... | 46      |



## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                                                                                                                                         | Halaman |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Lampiran 1    Pernyataan Keaslian Tulisan .....                                                                                                                         | 62      |
| Lampiran 2    Alur Pembuatan Pakan Diet Normal .....                                                                                                                    | 63      |
| Lampiran 3    Alur Pembuatan Pakan Diet Tinggi Lemak.....                                                                                                               | 64      |
| Lampiran 4    Diagram Alur Ekstraksi Polifenol Buah Tin Oleh FMIPA Institut<br>Teknologi Bandung .....                                                                  | 65      |
| Lampiran 5    Pemeriksaan kadar MCP-1 ( <i>Monocyte Chemoattractant<br/>Protein-1</i> ) menggunakan metode ELISA ( <i>Enzyme-linked<br/>immunosorbent assay</i> ) ..... | 66      |
| Lampiran 6    Penentuan Dosis Polifenol Buah Tin ( <i>Ficus Carica Linn.</i> ).....                                                                                     | 68      |
| Lampiran 7    Gambar Dokumentasi Tikus .....                                                                                                                            | 69      |
| Lampiran 8    Rekap dan Grafik Berat Badan Tikus .....                                                                                                                  | 70      |
| Lampiran 9    Rekap dan Grafik Asupan Makanan Tikus .....                                                                                                               | 72      |
| Lampiran 10   Hasil Kasar Pengukuran Kadar MCP-1 Serum.....                                                                                                             | 78      |
| Lampiran 11   Hasil Analisis Statistik Kadar MCP-1 .....                                                                                                                | 79      |

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Penyakit kardiovaskular (*Cardiovascular disease*) merupakan penyebab utama kecacatan dan kematian dini (*premature death*) di seluruh dunia (WHO, 2007). Berdasarkan survey kesehatan rumah tangga 2001 oleh depkes R.I, penyakit jantung telah meningkat dari urutan 2 (1972) menjadi ke 3 (1986) dan urutan ke 1 pada tahun 1992 (16%), 1995 (18,9%), dan 2001 (26,4%) sebagai penyebab kematian di seluruh dunia. Selain itu, dengan melihat kondisi saat ini diperkirakan bahwa pada tahun 2020, penyakit kardiovaskular, terutama aterosklerosis, akan menjadi penyebab global utama dari total beban penyakit (Fauci *et al.*, 2008). Menurut WHO (2007), penyebab utama penyakit kardiovaskuler adalah aterosklerosis, yang berkembang selama beberapa tahun, dan terus berlanjut lalu muncul, biasanya pada usia setengah tua (*middle age*) atau pria dan wanita tua.

Aterosklerosis merupakan salah satu bentuk penyumbatan pada arteri (Anwar, 2004) yang dapat disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain meningkatnya radikal bebas (Napoli dan Lerman, 2001), dan proses inflamasi kronis (Getz dan Riardon, 2007), serta disfungsi endotel (Napoli dan Lerman, 2001), dimana patogenesisnya melibatkan kolesterol, bahan lipoid, dan lipofag. Hiperkolesterolemia seringkali mengawali pathogenesis aterosklerosis, yang dapat terjadi perlahan-lahan mulai usia 10 tahun (Anwar, 2004). Selanjutnya yang akan terjadi adalah melekatnya sel-sel mononuklear di dinding arteri, yang dipicu oleh berbagai kemoatraktan antara lain LDL teroksidasi, lipoprotein (a),



sitokin [*Tumor Necrosizing Factor-alpha* (TNF- $\alpha$ ), *interleukin-1* (IL-1), dan MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*)], dan kolagen serta elastin yang terdegradasi (Ross, 1999), hingga pada tahap kronis dapat menyebabkan timbunan plak aterosklerosis di dinding pembuluh darah (Anwar, 2008).

MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) adalah anggota dari sekelompok kemokin grup, *chemokine* (C-C motif) *ligand 2* atau juga biasa disebut CCL2, yang dihasilkan oleh berbagai macam sel termasuk diantaranya monosit, limfosit, sel-sel endotel dan fibroblas setelah distimulasi oleh berbagai mediator inflamasi. MCP-1 berperan sebagai kemoatraktan yang poten dan diyakini berperan penting dalam respon inflamasi pada monosit darah, makrofag jaringan, dan sel-sel pembunuh alami (*natural killer cell/NK cell*). Gu, L. et al. (1999) menyatakan bahwa menghambat aktivitas MCP-1 dapat menekan proses inflamasi pada artritis karena inflamasi, sedangkan ekspresi berlebihannya dapat meningkatkan *recruitment* monosit dan limfosit secara *in vivo*. Sebaliknya, studi menunjukkan bahwa tikus yang mengalami defisiensi MCP-1 menunjukkan penekanan inflamasi yang berhubungan dengan makrofag, monosit, *NK cells*, dan infiltrasi sel T pada beberapa konteks yang berbeda seperti pada penyakit infeksi paru, *stroke*, *blood vessel injury*, penyakit autoimun dan penyakit lain.

Hingga saat ini, terapi untuk aterosklerosis bertujuan untuk memperlambat, menghentikan, dan bahkan menghilangkan bentukan ateroma agar resiko timbulnya komplikasi penyakit lain juga menurun, baik aterosklerosis sebagai penyebab maupun sebagai faktor resiko. Semua ini dilakukan dengan cara modifikasi gaya hidup (NHLBI, 2009). Tindakan operasi cukup menjanjikan perbaikan fungsi sistem sirkulasi, tapi harganya mahal, sehingga lebih

diutamakan untuk kondisi berat. Sedangkan medikasi cenderung digunakan untuk menghindari efek lanjutan aterosklerosis.

Selain proses inflamasi, meningkatnya radikal bebas juga turut berperan pada patogenesis aterosklerosis. Meningkatnya radikal bebas pada jaringan endotel seringkali disebabkan oleh ketidakseimbangan aktivitas oksidasi dan antioksidan yang diakibatkan oleh hiperlipidemia. Peningkatan radikal bebas ini dapat menimbulkan kerusakan jaringan, yang dapat menginduksi sitokin-sitokin pro-inflamasi (Napoli dan Lerman, 2001).

Seiring dengan meningkatnya radikal bebas pada jaringan, maka kebutuhan akan antioksidan juga meningkat. Salah satu senyawa yang bersifat sebagai antioksidan yang terdapat pada buah-buahan adalah senyawa fenol. Banyak bukti mengenai efek menguntungkan dari antioksidan fenol (termasuk diantaranya monofenol dan polifenol) terhadap penyakit jantung dan kanker (Vinson, 2005). Banyak penelitian yang menghubungkan antara polifenol pada tumbuhan terhadap patogenesis aterosklerosis. Curtiss (2009) menyatakan bahwa antioksidan dapat menjadi strategi terapi untuk pengobatan aterosklerosis dengan mengurangi adhesi *macrophage foam-cell* dan penyebarannya di intima.

Antioksidan terdapat dalam bermacam tumbuhan, salah satunya pada buah tin (*Ficus carica Linn*). Buah tin (*Ficus carica Linn*) memiliki konsentrasi polifenol tertinggi, yaitu sebesar 1,090-1,110 mg/100 g buah segar (Vinson, 1999), diantara makanan dan minuman yang biasa di konsumsi. Saat ini, buah tin masih merupakan buah-buahan langka di Indonesia. Dari penelusuran, pohon tin baru ditanam di beberapa daerah di Indonesia, terutama di P. Jawa dan sebatas di lingkungan penggemar. Di antara varietas yang berhasil dikembangkan adalah Red Indonesia, Red Israel, Brown Turkey, tin ungu dan tin hijau (Haris, 2010).

Telah diketahui bahwa kandungan fenol pada buah tin yang dikeringkan dapat meningkatkan lipoprotein di plasma dan memproteksi terhadap oksidasi. Setelah mengonsumsi buah tin yang dikeringkan, kapasitas antioksidan pada plasma meningkat secara signifikan (Vinson, 2005). Ekstrak basah dari buah tin (*dried fruit*) dapat digunakan sebagai penghambat radikal bebas dan sebagai antioksidan yang utama. PS (*crude hot water-soluble polysaccharide of Ficus carica fruit*) dapat digunakan sebagai skavenger superoksida (Yang *et al*, 2009). Pada penelitian lain diungkapkan bahwa buah tin memiliki kemampuan antioksidan primer ketika dibandingkan dengan bawang, labu, dan timun (Qusti *et al*, 2010).

Melihat banyaknya manfaat buah tin (*Ficus carica Linn*), serta adanya keterkaitan antara fungsi polifenol sebagai antioksidan dengan aterosklerosis, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh spesifik polifenol buah tin terhadap peran MCP-1 dalam patogenesis aterosklerosis. Oleh karena itu, penelitian ini dirancang untuk mengetahui pengaruh polifenol pada buah tin (*Ficus carica Linn*) terhadap kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) pada serum tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus L*) yang diberi diet tinggi lemak. Diharapkan penelitian ini dapat memperkenalkan buah tin sebagai alternatif obat herbal untuk mencegah aterosklerosis, juga sebagai variasi konsumsi buah di Indonesia.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian polifenol buah tin (*Ficus carica Linn*) dengan berbagai dosis dapat menghambat peningkatan kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant*



*Protein-1*) pada tikus putih *Rattus norvegicus* L. galur Wistar yang diberi diet tinggi lemak?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Membuktikan bahwa pemberian polifenol buah tin (*Ficus carica* Linn) dengan berbagai dosis dapat menghambat peningkatan kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) pada tikus putih *Rattus norvegicus* galur Wistar yang diberi diet tinggi lemak.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Manfaat Akademik

1. Menambah khasanah ilmu pengetahuan dalam pemanfaatan tanaman herbal khususnya buah tin (*Ficus carica* Linn) dalam bentuk polifenol sebagai alternatif terapi preventif aterosklerosis.
2. Memberikan informasi mengenai efektivitas ekstrak polifenol buah tin (*Ficus carica* Linn) terhadap kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) pada pathogenesis aterosklerosis.

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

Menjadi dasar teori untuk pemanfaatan polifenol buah tin (*Ficus carica* Linn) sebagai tanaman herbal dari asia tengah yang memiliki potensi berkembang sangat baik di Indonesia, juga memiliki banyak manfaat terhadap kesehatan, salah satunya dapat dipakai sebagai alternatif untuk pencegahan aterosklerosis.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Aterosklerosis

Istilah aterosklerosis berasal dari bahasa Yunani yang memiliki arti penebalan dan pengerasan (*sclerosis*) dinding arteri akibat penumpukan lipid (*athere*) (Price and Wilson, 2006). Kondisi ini ditandai dengan terbentuknya lesi pada lapisan intima pembuluh darah yang disebut ateroma. Komposisi sel dan jaringan yang dapat ditemukan dalam ateroma sangat beragam, tergantung pada tahapan mana lesi tersebut telah terbentuk. Secara umum, dapat ditemukan adanya akumulasi lipid, kolesterol, debris selular, dan penumpukan zat lain (Chumark *dkk*, 2007; Mach, 2007).

Aterosklerosis terjadi pada dinding arteri yang berperan menyuplai darah dari jantung ke jaringan untuk memenuhi kebutuhan tiap-tiap organ tubuh (Guyton and Hall, 2006). Tapi tidak terjadi pada semua arteri. Aterosklerosis adalah istilah untuk kondisi arteriosklerosis, pengerasan dinding arteri, yang terjadi pada arteri elastis, yaitu arteri yang diklasifikasikan sebagai arteri besar dan sedang, termasuk disini adalah aorta dan cabang-cabang besarnya. Ciri klasifikasi arteri elastis yaitu dimulai dari lapisan terdalam, merupakan lapisan subendotel yang tebal pada tunika intima (pada kondisi aterosklerosis merupakan lokasi lesi), lamina elastika internanya tidak begitu jelas karena menyerupai susunan lamina elastika perforata pada tunika medianya, serta tunika adventisiannya relatif kurang berkembang. Namun demikian, tidak ada kriteria mutlak yang membedakan arteri ini dari jenis arteri yang lebih kecil, arteri muskular, karena pembuluh darah merupakan satu kesatuan sistem yang utuh sehingga pasti ada peralihan antar golongannya. Begitu pula antara arteri

muskular dan arteriol yang lebih kecil lagi. Golongan arteri lainnya ini memiliki kondisi dan istilah tersendiri untuk arteriosklerosis pada dindingnya (Junqueira *dkk*, 1995).

Meskipun dapat terjadi pada arteri besar manapun dalam tubuh, aterosklerosis mempunyai beberapa area predisposisi, area sering terjadi lesi, antara lain arteri koronaria sinistra anterior bagian proximal (memiliki kecenderungan mengalami oklusi aterosklerotik), bagian proximal arteri renalis, dan pada bifurkasio karotid. Aterosklerosis sering terjadi pada titik-titik percabangan arteri yaitu area dengan gangguan aliran darah (Libby, 2005a).

Selain memiliki area predisposisi, aterosklerosis juga mempunyai ciri khas jika dilihat dari segi waktunya. Aterogenesis, proses pembentukan dan perkembangan ateroma, terjadi dalam rentang waktu yang sangat lama. Plak ateroma tidak terbentuk dalam pola waktu yang teratur, cenderung terputus-putus dan tidak menentu, sesuai dengan kondisi tubuh penderita. Manifestasi klinis yang timbul akibat aterosklerosispun beragam, dapat berupa penyakit kronis yang dialami penderita, kondisi akut seperti pada kasus-kasus serangan jantung, atau bahkan tanpa gejala dimana lesi aterosklerosis justru ditemukan pada pemeriksaan postmortem (Libby, 2005a).

#### **2.1.1. Etiologi, Patogenesis, dan Komplikasi Aterosklerosis**

Patogenesis aterosklerosis merupakan suatu proses kompleks yang hingga saat ini masih belum dimengerti sepenuhnya (Price and Wilson, 2006). Namun, telah diketahui bahwa proses awal aterosklerosis terjadi karena adanya kerusakan endotel vaskular (Guyton and Hall, 2006). Kerusakan ini dapat terjadi karena paparan berbagai jenis iritan terhadap endotel dalam kehidupan sehari-



hari. Diantara hal-hal yang dapat menyebabkan iritasi ini adalah kondisi hipertensi, hiperlipidemia, mikroorganisme yang menyerang dinding pembuluh darah, toksin, dan radikal bebas (Price and Wilson, 2006; Boyle, 2005). Selanjutnya kerusakan lapisan terdalam dinding vaskular ini menstimulasi peningkatan regulasi (*up regulation*) molekul adhesi endotel, seperti ICAM-1, VCAM, dan ELAM, melalui serangkaian kaskade yang melibatkan sitokin-sitokin inflamasi dan juga menurunkan sekresi zat-zat yang mencegah perlekatan pada endotel (Boyle, 2005; Guyton and Hall, 2006). Abnormalitas pembuluh juga akan menstimulasi pelepasan zat-zat kemoatraktan, terutama MCP-1, untuk kemudian menarik monosit yang beredar dalam darah menuju lokasi lesi (Maus dkk, 2002). Penarikan monosit menuju ke jaringan sudah terjadi pada area pre lesi, yaitu area yang plak ateromanya belum dapat terlihat, baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Peristiwa ini meningkat pada kondisi hiperlipidemia yang diinduksi oleh diet, meskipun induksi dietnya hanya dalam waktu singkat. Perubahan yang terjadi pada area pre lesi ini antara lain adalah peningkatan permeabilitas endotel terhadap protein plasma, termasuk diantaranya yaitu albumin, fibrinogen, dan LDL, serta adanya akumulasi zat-zat ini dalam intima. Sel-sel endotel pada area ini juga mengalami perubahan menjadi lebih polihedral dibanding endotel normal. Glikokaliks pada permukaan sel-sel ini juga menjadi lebih tipis 2-5 kali lipat dibanding normal (Schwartz, 1991).

Dengan adanya kerusakan pelindung (*barrier*) dinding pembuluh, lipid (yang utamanya berupa lipoprotein berdensitas rendah – LDL) masuk ke dalam intima dinding pembuluh pada daerah subendotel, dan bertahan lama di lapisan ini karena adanya ikatan antara LDL dan proteoglikan dalam matriks ekstraselular dinding arteri. Inilah yang terlihat sebagai lesi awal aterosklerosis

berupa *fatty streak* atau perlemakan. Timbunan LDL di intima ini dapat mengalami perubahan. Perubahan yang menjadi topik bahasan dan penelitian yang cukup menarik minat para ilmuwan adalah perubahan akibat oksidasi LDL (membentuk LDL teroksidasi – *oxidized LDL*) dan glikasi non enzimatis apolipoproteinnya (dapat terjadi pada penderita diabetes dengan hiperglikemia kronis). Perubahan ini semakin menstimulasi tertariknya monosit melalui endotel ke dalam lapisan intima dinding pembuluh. Monosit kemudian akan berdiferensiasi menjadi makrofag jaringan, yang selanjutnya memfagosit dan mengoksidasi tumpukan lipoprotein. Penampilan makrofag yang telah melalui tahap ini menyerupai busa dan dikenal sebagai bentukan *foam cell*. Tidak sampai disini, makrofag yang dipenuhi lipid ini juga akan terus melepas sinyal-sinyal yang akan menarik semakin banyak sel-sel radang menuju lokasi lesi, bagian dari perkembangan ateroma (Libby, 2005a).

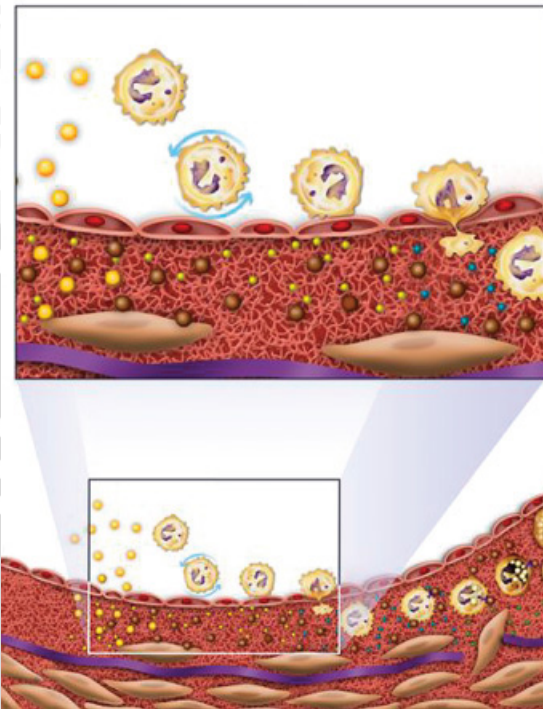
Pada tahap selanjutnya, sel-sel endotel dan sel-sel radang mulai melepaskan sitokin-sitokin dan faktor-faktor pertumbuhan yang menyebabkan migrasi dan proliferasi sel-sel otot polos pada area lesi, yang kemudian akan melepas substansi-substansi penyusun matriks ekstraselular lesi. Keterlibatan sel-sel otot polos dan jaringan fibrosa yang disekresikannya ini menandai perkembangan ateroma menjadi lesi yang lebih kompleks. Jaringan fibrosis juga terbentuk melalui mekanisme trombosis setelah trombosit menempel pada jaringan kolagen di bawah endotel yang sudah tidak intak. Jaringan ini akan menumpuk dan membentuk struktur berlapis endotel yang membatasi lesi dari lumen pembuluh, yang disebut dengan *fibrous cap*. Penimbunan lipid yang disertai proliferasi sel akan membentuk plak aterosklerotik yang sangat besar hingga menonjol ke dalam lumen arteri dan sangat berpotensi mengurangi aliran

darah, bahkan terkadang sampai menyumbat pembuluh darah secara total. Meskipun tidak selalu menyumbat aliran darah, lesi aterosklerotik fibroblas, sebagaimana namanya, menjadi sangat besar dan semakin lama akan menyebabkan sklerosis arteri, sehingga arteri akan menjadi kaku dan tidak lentur. Ditambah lagi dengan adanya garam kalsium sering kali mengendap bersama dengan kolesterol dan lipid dalam plak, yang menimbulkan kalsifikasi arteri hingga sekeras tulang, berakibat pada bentukan arteri yang seperti saluran kaku (Libby, 2005a; Guyton and Hall, 2006).

Telah disebutkan sebelumnya bahwa sel-sel otot polos mengalami proliferasi dalam lesi ateroma yang kompleks. Namun beberapa penelitian akhir-akhir ini menunjukkan bahwa setelah mengalami fase proliferasi dan migrasi, sel-sel otot polos justru akan menurun jumlahnya pada ateroma yang lebih lanjut lagi. Hal inilah yang menjadikan kemungkinan rupturnya arteri semakin tinggi karena sel-sel otot polos, dibalik kegawatan lesi yang direpresentasikannya, ternyata justru menstabilkan lesi dengan cara mensekresi protein matriks, terutama kolagen dan elastin, yang dapat memperkuat *fibrous cap* dan 'memperbaiki' kondisi dinding pembuluh. Maksud dari pernyataan ini adalah, semakin berkurangnya jumlah sel-sel otot polos berarti semakin melemahkan struktur lesi, sehingga nantinya plak akan menjadi mudah robek. Menurunnya jumlah sel-sel otot polos ini dikatakan sebagai akibat dari gangguan proliferasi sel-sel otot polos oleh sitokin yang dilepas sel-sel radang, pelepasan zat-zat oleh sel radang yang bersifat sitotoksik terhadap sel-sel otot polos, kematian terprogram atau apoptosis sel-sel otot polos yang mengalami kontak langsung dengan sel radang — berkaitan dengan ekspresi Fas-L pada permukaan



makrofag. Sel-sel inflamasi juga dapat melemahkan plak dengan mendegradasi matriks pada *fibrous cap* seperti gambar 2.1. (Libby, 2005a; Boyle, 2005).



Source: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Edition: <http://www.accessmedicine.com>  
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

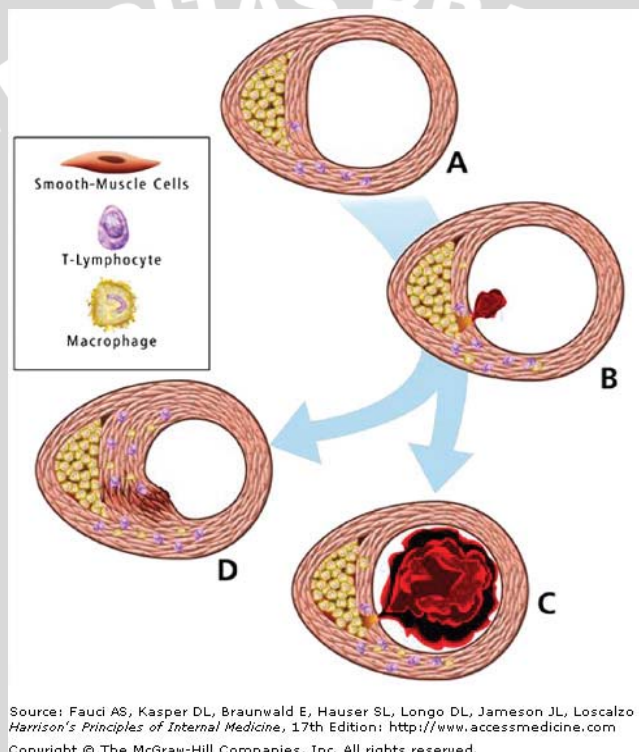
### Gambar 2.1 : Patogenesis Aterosklerosis (Libby, 2005a)

Potongan melintang arteri, dari kiri ke kanan menggambarkan progresi ateroma, gambar atas merupakan perbesaran kotak gambar bawah.

Selapis sel endotel membatasi intima pembuluh dari darah intravaskular. Hiperkolesterolemia menyebabkan akumulasi partikel LDL (bulatan kuning) di dalam intima, sehingga membentuk *fatty streak*. Sekuestrasi LDL dalam intima memisahkannya dari antioksidan plasma, sehingga memudahkan terjadinya oksidasi partikel ini. LDL teroksidasi (bulatan coklat) dapat memicu respon inflamasi. Leukosit tertarik ke area lesi oleh sitokin kemoatraktan (termasuk MCP-1 yang dilepas oleh dinding vaskular) dan bermigrasi ke dalam intima. Leukosit di dalam intima memfagosit lipid yang terakumulasi, membentuk *foam cell* yang sitoplasmanya dipenuhi lipid. Lesi menjadi semakin kompleks, sel-sel otot polos dari lamina media dinding pembuluh bermigrasi ke dalam intima, melepaskan matriks ekstraselular yang membentuk sebagian besar massa lesi kompleks.

Lesi aterosklerosis umumnya tidak menimbulkan gejala sebelum mencapai fase lanjutan yang kompleks. Lesi yang kompleks, sebagaimana telah disebutkan sebelumnya, mempunyai kemungkinan yang sangat besar akan terjadinya ruptur. Ruptur dinding arteri akan mengeskpos kolagen dibawahnya terhadap paparan trombosit, sehingga terbentuklah trombus. Jika mekanisme

fibrinolisis tidak dapat mengkompensasi trombus yang terbentuk, maka arteri akan mengalami oklusi. Penonjolan plak ke dalam aliran darah dengan permukaan yang kasar juga dapat menyebabkan terbentuknya bekuan darah. Selain langsung berakibat pada oklusi arteri, trombus juga dapat membentuk emboli dan menyumbat aliran darah meskipun tidak pada lokasi lesi itu sendiri (Libby, 2005a; Guyton and Hall, 2006).



**Gambar 2.2 : Komplikasi Ateroma (Libby, 2005a)**

A. Pertumbuhan plak menonjol ke luar; B. Plak mengalami ruptur; C. Trombosis dalam lumen pembuluh; D. Healing dengan pembentukan jaringan fibrosis, semakin menyebabkan stenosis arteri

Arteri juga dapat mengalami kondisi patologis lain selain penyumbatan, salah satunya berupa aneurisma. Aneurisma merupakan kelainan struktur arteri yang digambarkan sebagai balon (balooning) dan mengganggu aliran darah karena turbulensi yang diciptakannya. Ini dapat terjadi ketika tunika adventisia arteri mampu melimitasi rupturnya. Akibatnya, kelainan ini umumnya baru



terdeteksi beberapa bulan, bahkan tahun setelahnya. Kondisi ini sering terjadi di aorta dan biasanya dikaitkan dengan predisposisi genetik individu. Penyakit yang menjadi komplikasi mayor aterosklerosis, melalui mekanisme-mekanisme seperti yang telah disebutkan diatas adalah angina pectoris, infark miokardium, dan stroke (Libby, 2005a; Society Vascular Nursing, 2008).

### 2.1.2 Faktor Resiko Aterosklerosis

Dari penelitian dan survei populasi yang telah dilakukan sejak awal abad ke-20, telah diketahui beberapa faktor resiko berkaitan dengan angka kejadian penyakit kardiovaskular, antara lain kondisi hiperkolesterolemia dan hipertensi. Banyak pula data yang menunjukkan hubungan antara kebiasaan diet dan resiko kardiovaskular. Dalam prakteknya, faktor resiko penyakit kardiovaskular dapat digolongkan menjadi dua jenis, yaitu :

1. Faktor-faktor yang dapat dimodifikasi dengan perubahan gaya hidup dan/atau terapi farmakologis

Contohnya : kebiasaan merokok, kondisi hipertensi (tekanan darah  $\geq 140/90$  mmHg), pemakaian obat-obat anti hipertensi, diabetes mellitus, obesitas, ketidakaktifan secara fisik, dan diet tinggi lemak.

2. Faktor-faktor yang tidak dapat dimodifikasi

Contohnya : riwayat keluarga dengan penyakit kardiovaskular, usia ( $\geq 45$  tahun untuk laki-laki,  $\geq 55$  tahun untuk perempuan )

Sedangkan abnormalitas apolipoprotein dalam plasma dan gangguan metabolisme lipid merupakan faktor resiko aterosklerosis yang paling dipahami saat ini. Mekanisme pengaruhnya telah disampaikan dalam penjelasan mengenai patogenesis aterosklerosis (Libby, 2005b).

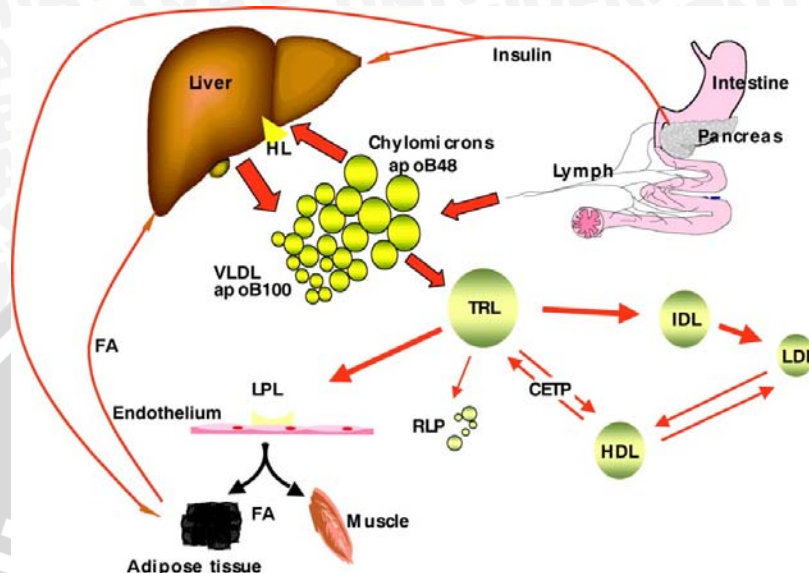


Selain faktor-faktor yang telah tertera sebelumnya, ada beberapa faktor resiko yang relatif baru diketahui, yaitu peningkatan level homosistein dalam sirkulasi darah sebagai salah satu metabolit asam amino, kadar partikel lipoprotein, dan beberapa marker inflamasi, termasuk C-Reactive Protein (CRP). Deteksi awal zat-zat ini diharapkan dapat menjadi alarm peringatan bagi penderita agar lebih memperhatikan pola hidupnya (Chumark, 2005).

## 2.2 Diet Tinggi Lemak

Diet tinggi lemak komposisinya berupa diet tinggi lemak dan tinggi kolesterol. Lemak memang berperan sangat penting bagi kelangsungan hidup, antara lain sebagai sumber dan cadangan energi, sumber asam lemak esensial, pelarut vitamin A-D-E-K, pemberi tekstur yang khas pada makanan, pelambat waktu pengosongan lambung, dan sebagai pembentuk lapisan lemak tubuh dalam kondisi dingin. Tetapi segala sesuatu yang berlebih tidak akan berefek baik untuk tubuh, termasuk lemak (Linder, 1992).

Lemak dalam makanan masuk ke dalam tubuh dalam bentuk kilomikron, lipoprotein kaya trigliserol (gambar 2.3) yang akan dilipolisis oleh lipoprotein lipase dan membentuk sisa kilomikron (*chylomicron remnants* – CMR). Pada kondisi normal, CMR akan langsung dinetralisir. Tetapi kenyataannya, pada kondisi-kondisi penyimpangan genetis dan metabolis, CMR akan menumpuk dan menyebabkan kondisi hiperlipidemia, yaitu kadar lipid dalam darah yang diatas normal. Ini adalah salah satu pemicu terjadinya aterogenesis (Bentley dkk., 2007).



**Gambar 2.3 Metabolisme lemak (Tushuizen et al., 2005)**

CMR dapat berinteraksi langsung dengan dinding vaskular. Jika hal ini terjadi, sinyal-sinyal pro inflamasi lokal maupun sistemik akan terinduksi, termasuk peningkatan ekspresi molekul adhesi pada endotel, seperti VCAM, ICAM, dan selektin, serta sekresi kemokin endotel yang bersifat atraktif terhadap leukosit, contohnya MCP-1 dan IL-8. Selain itu, CMR juga dapat menghambat ekspresi normal endotel yang dengan kata lain berarti menyebabkan disfungsi endotel. Sedangkan untuk efek sistemiknya, inflamasi akan terjadi tidak hanya pada area aterosklerosis, melainkan juga terjadi pada jaringan lain, contohnya jaringan adiposa visceral dan periadventisia, jaringan di hepar, serta pankreas (Bentley dkk., 2007; Lohman dkk., 2009).

Penyimpangan lain yang disebabkan oleh kondisi hiperlipidemia adalah berkaitannya CMR dengan monosit yang bersirkulasi dalam darah menyebabkan

peningkatan induksi radikal bebas berupa *reactive oxygen species* (ROS), suatu zat toksik bagi tubuh yang menyebabkan oksidasi (Bentley dkk., 2007).

Dari hasil penelitian menyebutkan bahwa komposisi pakan tinggi lemak untuk tikus putih (*Ratus novergicus strain Wistar*) adalah pakan yang ditambah kolesterol 1%, asam kolat 0,1% dan minyak babi 2,5%. Hasil penelitian menyebutkan dalam 8 minggu dapat meningkatkan kadar kolesterol darah dari tikus dengan diet normal 60,62 mg/dl dan mencapai 186,78 mg/dl pada tikus dengan diet tinggi lemak yang bersifat aterogenik dan menginduksi terbentuknya sel busa. Penelitian ini menggunakan PARS 50 %, tepung terigu 25 %, pemakaian kolesterol 0,1 %, minyak babi 2,5 % dan asam kolat 0,1 % yang bertujuan menginduksi peningkatan LDL kolesterol darah dan menurunkan kadar HDL kolesterol. Sedangkan fungsi dari asam kolat adalah untuk meningkatkan kadar kolesterol dan terbentuknya sel busa selama 8 minggu secara bermakna (Murwani, dkk, 2005).

### 2.3 Monocyte Chemoattractant Protein-1

MCP-1, atau monocyte chemoattractant protein-1, adalah protein dengan berat molekul 13 kDa dengan kandungan 76 asam amino. Zat ini dikode oleh gen JE pada kromosom 17q11.2. MCP-1 memegang peranan penting dalam respon inflamasi yang melibatkan monosit darah dan makrofag jaringan (Deshmane dkk, 2008). MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) adalah anggota dari sekelompok kemokin grup, *chemokine* (*C-C motif*) *ligand 2* atau juga biasa disebut CCL2 yang dihasilkan oleh berbagai macam sel termasuk diantaranya monosit, limfosit, sel-sel endotel dan fibroblas setelah distimulasi oleh berbagai mediator inflamasi. MCP-1 berperan sebagai kemoatraktan yang poten dan



diyakini berperan penting dalam respon inflamasi pada monosit darah, makrofag jaringan, dan sel-sel pembunuh alami (*natural killer cell/NK cell*) (Gu, L. *et al.*, 1997). Reseptornya adalah reseptor CCR-2. Telah diketahui bahwa zat ini dapat bereaksi silang antar spesies (bersifat *cross-reactive*).

MCP-1 bersifat kemoatraktif terhadap monosit dan tidak terhadap neutrofil. Dikatakan bahwa migrasi monosit dapat terinduksi maksimal pada konsentrasi 10 ng/mL. Kemokin ini dapat mengaktivasi sifat tumorisida pada monosit dan makrofag, dengan meregulasi ekspresi antigen permukaan dan sitokin yang dilepas oleh sel targetnya. MCP-1 juga merupakan aktivator poten basofil serta proliferator dan aktivator sel pembunuh (*killer cells*) yang disebut dengan CHAK (*CC-Chemokine-Activated Killer*) (Ibelgauffs, 1996).

### 2.3.1 Produksi MCP-1

MCP-1 diproduksi oleh berbagai jenis sel, baik secara terus menerus, maupun setelah diinduksi oleh stres oksidatif, sitokin, atau *growth factor*. Sel-sel yang memproduksi kemokin ini antara lain adalah sel-sel endotel vaskular, epitel, fibroblas, sel-sel otot polos, mesangial glomerular, dan sel astrosit. Namun sumber utama MCP-1 adalah sel-sel monosit dan makrofag yang telah ditarik oleh MCP-1 itu sendiri (Deshmane dkk, 2008). mRNA MCP-1 pada sel radang mononuklear darah perifer diinduksi oleh fitohemaglutinin, lipopolisakarida bakteri, dan IL-1. Pada sel mesangial, sintesis dan sekresinya distimulasi oleh kompleks IgG, namun tidak oleh monomer maupun fragmen  $F_{ab}$ nya. Selain yang telah disebutkan diatas, sel-sel kondrosit artikular juga mensintesis MCP-1, diinduksi oleh IL-1, TNF- $\alpha$ , PDGF, dan TGF- $\beta$ . MCP-1 yang dilepas disini

diperkirakan memiliki peran penting dalam inisiasi dan progresivitas penyakit-penyakit inflamasi sendi (Ibelgaufits, 1996).

### **2.3.2 Mekanisme Tertariknya Monosit oleh MCP-1**

Sebelum menembus dinding epitel dan masuk ke area subendotel, monosit terlebih dulu bergulir di permukaan endotel (gambar 2.1). Sebuah penelitian yang difokuskan pada interaksi monosit dan dinding endotel arteri pulmonal manusia oleh Maus dkk., menunjukkan bahwa MCP-1, setelah diekskresikan dan berikatan dengan reseptornya, yaitu reseptor CCR-2 pada permukaan monosit, akan meningkatkan adhesi monosit pada dinding endotel. Hal ini dimediasi melalui peningkatan aktivitas molekul adhesi integrin  $\beta_2$  pada monosit, sedangkan aktivitas integrin  $\beta_1$  tidak menunjukkan adanya pengaruh dari deplesi MCP-1. Penelitian ini juga menunjukkan adanya kemampuan kemokin dengan berat molekul yang rendah, termasuk MCP-1, menembus barrier sel biologis, contohnya endotel dan epitel, setelah sebelumnya kemokin ini terakumulasi dalam lumen vaskular. Kemampuan ini memungkinkan terciptanya gradien konsentrasi kemokin yang lebih tinggi pada area ekstrasvaskular sehingga pada akhirnya akan menarik monosit keluar dari lumen menuju area ini (Maus dkk, 2002).

### **2.3.3 MCP-1 dalam Aterosklerosis**

Plak aterosklerosis memiliki beberapa ciri khas jika ditinjau dari segi jenis sel-sel radang yang dapat ditemukan didalamnya. Infiltrat yang sering ditemukan pada area lesi aterosklerotik adalah monosit, makrofag, *foam cells*, dan limfosit T. Sel-sel radang lain yang seringkali ditemukan pada lesi-lesi inflamasi kronis

seperti neutrofil dan limfosit B justru jarang ditemukan. Penarikan leukosit dari darah menuju lokasi lesi utamanya dimediasi oleh dua hal, yaitu ekspresi molekul adhesi inflamasi endotel untuk leukosit dan adanya sitokin penarik leukosit darah menuju area lesi. Molekul adhesi yang dimaksud antara lain : ICAM, VCAM, ELAM, P-selectin, dan E-selectin yang diekspresinya dimediasi oleh mekanisme kompleks dengan melibatkan berbagai sitokin inflamasi. Ekspresi ini ditingkatkan oleh faktor-faktor resiko aterosklerosis yang dapat berinteraksi langsung dengan dinding endotel, contohnya LDL yang teroksidasi, zat aktif rokok, hipertensi, dan diabetes mellitus. Sementara itu, sitokin penarik leukosit juga dapat dilepaskan oleh dinding endotel lesi, MCP-1 adalah salah satunya (Weissberg, 2000; Boyle, 2005).

Peran MCP-1 dalam menarik monosit menuju lesi aterosklerotik sangat dibutuhkan sejak tahapan-tahapan awal dan masih tetap berperan hingga tahapan plak yang lebih kompleks. Hal ini dibuktikan oleh penelitian Okada dkk., di tahun 1998 yang direview oleh J.J.Boyle dan dipublikasikan di tahun 2005, dimana pembuluh tikus yang tidak memiliki MCP-1 dalam darahnya, maka lesi aterosklerotiknya sangat minimal. Sementara itu, terapi gen dengan anti MCP-1 mampu menimbulkan regresi pertumbuhan ateroma kompleks yang membuktikan peranan MCP-1 pada lesi aterosklerotik yang lebih lanjut (Weissberg, 2000; Boyle, 2005). MCP-1 sebenarnya juga disintesis dan disekresikan secara terus menerus oleh sel-sel otot polos dan endotel. Produksi ini sudah meningkat dengan adanya LDL yang teroksidasi ringan, seperti dalam tahapan awal aterosklerosis (Schwartz dkk., 1991). Sementara itu prosedur hipolipidemik dapat menurunkan kadar MCP-1 secara signifikan, sehingga



mempunyai kemungkinan besar dapat dijadikan marker proses aterosklerosis dan terapinya (Blaha dkk., 2004).

Kemampuan kemotaktik MCP-1 merupakan bagian penting dalam patogenesis aterosklerosis. Akan tetapi, menurut Michael D. Gun dkk., dari penelitiannya, kemampuan ini tidak disertai oleh kemampuan aktivasi sel-sel yang tertarik menuju lokasi lesi. Aktivasi respon inflamasi ini membutuhkan stimulus tambahan. Meskipun demikian, Gun dkk., juga mencatat adanya peningkatan respon inflamasi monosit ketika diberi stimulus inflamatoris tambahan yang menunjukkan adanya peningkatan sensitivitas sel-sel inaktif ini terhadap stimulus inflamatoris tambahan.

#### 2.4 Radikal Bebas

Beberapa oksidan kuat diproduksi pada proses metabolisme. Oksidan tersebut adalah superoksida ( $O_2^-$ ), hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), *peroxyl radicals* ( $ROO^\bullet$ ), dan *hydroxyl radicals* ( $OH^\bullet$ ), semua disebut sebagai reactive oxygen species (ROS). Radikal bebas merupakan atom-atom yang memiliki electron bebas. Substansi dan reaksi kimia yang dapat menghasilkan oksigen yang berpotensi toksik disebut pro-oksidan. Sebaliknya, substansi dan reaksi kimia yang membuang, menangkap (*scavenge*), mensupresi pembentukan, atau melawan oksigen yang berpotensi toksik tersebut, disebut antioksidan. Pada sel normal, terdapat keseimbangan antara pro-oksidan:antioksidan (Murray *et.al.*, 2006).

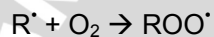
Peroksidasi (auto-oksidasi) lemak pada paparan oksigen dapat menjadi penyebab kanker, penyakit inflamasi, aterosklerosis, dan penuaan. Efek yang mengganggu ini disebabkan oleh radikal bebas yang diproduksi selama proses

pembentukan peroksida dari asam lemak, misalnya *polyunsaturated fatty acids* (asam lemak tak jenuh rantai panjang). Peroksidasi lemak merupakan rangkaian reaksi yang menghasilkan radikal bebas secara terus menerus. Proses seluruhnya, dimana  $R^{\bullet}$  adalah radikal bebas dan  $O^{\bullet}$  adalah oksigen radikal bebas, sebagai berikut (Murray *et.al.*, 2006):

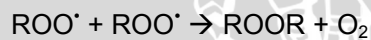
1. Inisiasi



2. Propagasi



3. Terminasi



Karena molekul prekursor untuk proses inisiasi adalah hidroperoksida  $ROOH$ , peroksidasi lemak merupakan rangkaian reaksi yang memiliki efek merusak (*devastating effect*). Untuk mengontrol dan mengurangi peroksidasi lemak, manusia dan alam melibatkan antioksidan (Murray *et al.*, 2006).

Pembentukan radikal bebas menyebabkan lesi pada lapisan endotel, menyebabkan meningkatnya perlekatan, permeabilitas, dan substansi prokoagulasi (Napoli dan Lerman, 2001).

Produksi radikal bebas terjadi pada banyak sel di dinding pembuluh darah seperti sel endotel, sel otot polos pembuluh darah, fibroblast, dan makrofag. Paling tidak terdapat lima sistem enzim yang berperan pada oksidasi dinding

pembuluh darah: lysyl oksidase (LOX), berperan pada *covalent cross-linking* kolagen dan elastin, xantin oksidase (XO), ROS dari monosit, eNOS, dan NADPH. Radikal bebas meningkatkan perlekatan leukosit, stimulasi proliferasi dan migrasi sel otot polos pembuluh darah, oksidasi lipid, up-regulasi aktivitas matriks metalloproteinase, dan penurunan vasomotor (Cunningham dan Gotlieb, 2005).

## 2.5 Polifenol sebagai Antioksidan

Senyawa dan reaksi kimia yang menyebabkan hilangnya Reaktif Oxygen Species (ROS), mensupresi pembentukannya, atau melawan aktivitasnya, disebut antioksidan. Antioksidan diperlukan untuk mengontrol dan mengurangi peroksidasi (auto-oksidasi) lemak. Antioksidan alami misalnya vitamin E (tocopherol), urat, dan vitamin C. Beta-karoten juga merupakan antioksidan, pada tekanan  $O_2$  yang rendah (Murray *et al.*, 2006).

Prinsip kerja antioksidan menurut Sies (1997) adalah pencegahan (pencegahan), intersepsi, dan perbaikan (*repair*). Prinsip pencegahan berfungsi sebagai pertahanan terhadap pembentukan ROS. Prinsip intersepsi berfungsi mencegah radikal bebas yang telah terbentuk untuk bereaksi lebih lanjut, sehingga mencegah kerusakan jaringan; dengan deaktivasi atau transfer radikal ke tempat yang kurang sensitif terhadap kerusakan jaringan.

Beberapa reaksi enzimatik menyebabkan terbentuknya radikal bebas. Sitokrom oksidase, yang memperantarai kebanyakan reduksi oksigen sel, tidak melepaskan superoksida atau radikal bebas lain. Glutathione S-transferase mengkatalisa reaksi yang dapat menghilangkan oksidan. Pencegahan pada tahap reaksi inisiasi adalah pengikatan terhadap ion logam (*metal chelation*),



terutama  $\text{Fe}^{3+}$  dan  $\text{Cu}^{2+}$ . Pengikatan ion logam ini merupakan reaksi utama untuk mengontrol peroksidasi lemak dan fragmentasi DNA. Protein yang berperan antara lain ferritin, transferrin, caeruloplasmin, dan metallothionein.

Antioksidan non-enzimatis berperan pada prinsip intersepsi bekerja dengan cara menonaktifkan pembentukan radikal bebas, sehingga hasil akhirnya adalah produk non-radikal dan non-reaktif. Selain itu, juga dengan mentransfer pengoksidasi dari bentuk hidrofobik ke bentuk cair, misalnya dari membrane ke sitosol atau dari lipoprotein ke cairan plasma. Bentuk intersepsi chain breaking ini biasanya terdapat pada senyawa fenol. Antioksidan enzimatis yang berperan sebagai antioksidan kuat adalah superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione (GSH) peroksidase.

## 2.6 Buah Tin (*Ficus carica* Linn)

Buah Tin (gambar 2.4) sudah lama ditanam di daerah Mediterania dan diperkirakan sebagai buah pertama yang dibudidayakan di selatan arabia. Buah Tin banyak ditanam di halaman rumah di daerah Mediterania (dan yang memiliki iklim serupa), dan beradaptasi dengan baik pada cuaca kering dan temperature tinggi. Turki, Mesir, Iran, Yunani, Algeria, dan Moroko merupakan enam Negara penghasil buah tin terbesar, yang bila digabung menyediakan 70% produksi buah tin di dunia.

Pohon tin merupakan tumbuhan yang tumbuh dengan cepat. Batangnya tidak berkayu sehingga mudah patah. Tingginya berkisar antara tiga sampai sepuluh meter, dan mudah dikreasikan karena memiliki sifat plastisitas yang cukup tinggi. Buahnya tumbuh sepanjang musim, ketika matang memiliki kulit

yang cukup keras, kulit dalamnya berwarna keputihan, dan bulir-bulir seperti agar-agar yang manis rasanya (Stover dan Aradhy, 2007).



**Gambar 2.4 Buah Tin kering (Embun Media dan Florist, 2011)**

Klasifikasi botani tin (*Ficus carica* Linn) adalah sebagai berikut:

|              |                                                     |
|--------------|-----------------------------------------------------|
| Kingdom      | : <i>Plantae</i> (tumbuhan)                         |
| Subkingdom   | : <i>Tracheobionta</i> (tumbuhan berpembuluh)       |
| Super Divisi | : <i>Spermatophyta</i> (menghasilkan biji)          |
| Divisi       | : <i>Magnoliophyta</i> (tumbuhan berbunga)          |
| Kelas        | : <i>Magnoliopsida</i> (berkeping dua atau dikotil) |
| Sub Kelas    | : <i>Dilleniidae</i>                                |
| Ordo         | : <i>Urticales</i>                                  |
| Famili       | : <i>Moraceae</i> (suku nangka-nangkaan)            |
| Genus        | : <i>Ficus</i>                                      |
| Spesies      | : <i>Ficus carica</i> Linn                          |

Kandungan polifenol dari yang tertinggi antara lain rutin (28,7 mg/100 g berat buah), (+)-catechin (4,03 mg/100g berat buah), *chlorogenic acid* (1,71 mg/100 g berat buah), (-)-epicatechin (0,97 mg/100 g berat buah), *gallic acid* (0,38 mg/100 g berat buah), dan *syringic acid* (0,10 mg/100 g berat buah) (Veberic dkk, 2008). Komposisi buah tin dijelaskan pada tabel 2.1.

### **2.6.1 Ekstrak Buah Tin**

Ekstrak buah tin, mengandung bahan alami yang berasal dari buah tin alami. Sedangkan buah tin mengandung banyak zat yang dapat berguna dalam pengobatan dan dapat dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari. Ekstrak buah tin memiliki bahan aktif yaitu polifenol yang berperan sebagai antioksidan yang berperan dalam aktivitas metabolisme dalam tubuh.

### **2.6.2 Dosis Polifenol Buah Tin**

Menurut Dietary Reference Intake, dosis polifenol harian pada manusia adalah >500mg/hari. (Williamson, 2008)

### **2.6.3 Manfaat Buah Tin**

Buah tin mempunyai khasiat yang berbeda dengan buah-buahan lain dan juga lezat serta mempunyai nilai kesehatan yang tinggi. Selain dari itu, juga bermanfaat sebagai bahan pelancar (laxative), penahan sakit dan unsur perkumuhan air kencing (diuretik) (Saskia, 2010). Buah tin mengandung khasiat yang tinggi jika dibandingkan dengan buah-buahan yang lain. Buah tin tidak mengandung garam, lemak dan kolesterol, tetapi mengandung lebih tinggi kalium, serat dan zat besi. Hasil penelitian dalam 100 gram buah tin, mengandung 20% daripada kebutuhan zat serat harian tubuh disamping kadar Vitamin C yang lebih tinggi dari buah Apel. Dari jumlah tersebut, lebih 28% adalah jenis serat terlarut. Penelitian menunjukkan, bahwa serat terlarut bisa membantu gula dalam darah dan mengurangi kolesterol dalam darah dengan mengikatnya di dalam saluran pencernaan, manakala serat tidak larut, dapat melindungi dan mencegah kanker usus besar (koion). Makanan yang kaya akan



serat mampu mengurangi berat badan, oleh karena itu buah tin juga sangat sesuai mengatasi masalah berat badan. (Vinson, 2005)

Buah tin yang manis terbukti antidiabetes mellitus. Buah tin disebut oleh pakar-pakar makanan pada saat ini sebagai makanan nutraseutikal (functional food), karena buah tin bukan sekedar mengandung zat-zat yang berkhasiat, bahkan lebih dari itu dan bermanfaat sebagai penjaga tubuh dan mampu mencegah serangan penyakit-penyakit tertentu. Disamping itu, Lembaga Penasehat Buah Tin di California (California Fig Advisory Board) telah mengatakan buah tin sebagai "Nature's most nearly perfect fruit", yaitu buah yang hampir mencapai tahap kesempurnaan secara keseluruhan. (Mushoffi, 2010)

Buah tin mempunyai bahan yang dapat melawan kanker. Di dalam buah tin mengandung polifenol yang tinggi berfungsi sebagai antioksidan yang penting bagi tubuh karena dapat berfungsi sebagai radikal bebas dalam tubuh yang menyebabkan kanker. Disamping itu, buah tin juga mengandung unsur lain yang menjadi bahan anti kanker, yaitu "benzaldehyde" dan "coumarins". Benzaldehyde telah terbukti mampu bertindak sebagai bahan antitumor dan "coumarins" untuk merawat kulit dan kanker prostat. (Mushoffi, 2010)

Disamping itu, keberadaan serat, kalium dan magnesium di dalam buah tin dapat mengurangi serangan angin dan mampu mengontrol tekanan darah tinggi. Bagi pengidap penyakit darah tinggi memakan buah tin dijadikan pencegah penyakit tersebut. Untuk penyakit kencing manis, serat yang terdapat di dalam buah tin ini dapat memperlambat proses penyerapan glukosa di usus kecil. Gabungan zat yang terkandung dalam buah tin yaitu serat yang tinggi dan

karbohidrat dalam bentuk yang ringkas, yaitu glukosa dan fruktosa mampu mengontrol kadar gula darah seseorang. (Mushoffi, 2010)

Hasil Riset Universitas Rutgers di New Jersey lain lagi. Penelitian Rutgers membuktikan kalau buah tiin mengandung antioksidan yang dapat mengikat senyawa karsinogen penyebab kanker. Tiin juga mengandung asam lemak tak jenuh yang dibutuhkan bagi kesehatan, diantaranya omega-3 dan omega-6. Lemak ini terbukti berperan dalam pencegahan penyakit jantung koroner. Kelebihan yang lain, buah tiin rendah lemak, rendah sodium, rendah kalori dan bebas kolesterol sehingga sangat cocok dikonsumsi para penderita diabetes mellitus.

Keistimewaan buah ini tidak berhenti sampai di sini. Beragam vitamin dan mineral bermanfaat terkandung di dalamnya. Setiap 100g buah tiin mengandung vitamin A sebanyak 9.76 IU, vitamin C, 0.68 mg, kalsium, 133.0 mg dan zat besi, 3.07mg. Vitamin dan mineral ini sangat diperlukan tubuh untuk menjaga dan memelihara kesehatan organ tubuh. (Mushoffi, 2010)

## **2.7 Polifenol Buah Tin**

Fenol merupakan metabolit sekunder yang melimpah pada tumbuhan. Fenol terdiri dari sekelompok besar bahan biologis aktif (lebih dari 8000 senyawa) - dari molekul fenol yang sederhana hingga struktur polimer dengan berat molekul lebih dari 30.000Da. Berdasarkan jumlah subunit fenol, senyawa fenol diklasifikasikan dalam dua kelompok besar: fenol sederhana (simple phenol) dan polifenol. Kelompok fenol sederhana, disebut juga *phenolic acids*, terdiri dari fenol dengan gugus karboksil yang menunjukkan fungsi spesifiknya. Polifenol terdiri dari minimal dua cincin fenol. Flavonoid termasuk dalam

kelompok ini (Marinova, 2005). Polifenol dapat dibagi menjadi setidaknya sepuluh kelas berbeda, tergantung pada basis struktur kimianya.

**Tabel 2.1 Komposisi buah tin (*Ficus carica* Linn) kering (Vinson, 1999)**

| Komponen          | Jumlah per 100 g        |
|-------------------|-------------------------|
| Kalori total      | 283                     |
| Kalori dari lemak | 4,7                     |
| Lemak total       | 0,52 g                  |
| Lemak jenuh       | 0,0 mg                  |
| Kolesterol        | 0,0 mg                  |
| Sodium            | 12,26 mg                |
| Potassium         | 609 mg                  |
| Karbohidrat total | 66,16 g                 |
| Serat tidak larut | 8,74 g                  |
| Serat larut       | 3,47 g                  |
| Gula              | 49 g                    |
| Protein           | 3,14 g                  |
| Vitamin A         | 9,76 IU                 |
| Vitamin C         | 0,68 mg                 |
| Kalsium           | 133 mg                  |
| Besi              | 3,07 mg                 |
| Total polifenol   | <b>1.090 – 1.110 mg</b> |

Metabolisme polifenol terjadi melalui jalur umum (*common pathway*).

Aglikon dapat diserap melalui usus halus. Walaupun begitu, kebanyakan



polifenol pada makanan terdapat dalam bentuk ester, glikosida, atau polimer, yang tidak dapat diserap dalam bentuk aslinya. Substansi-substansi ini harus dihidrolisis dulu oleh enzim intestinal atau oleh mikroflora kolon sebelum dapat diabsorpsi. Eliminasi polifenol dan turunannya terutama dari urin dan empedu.

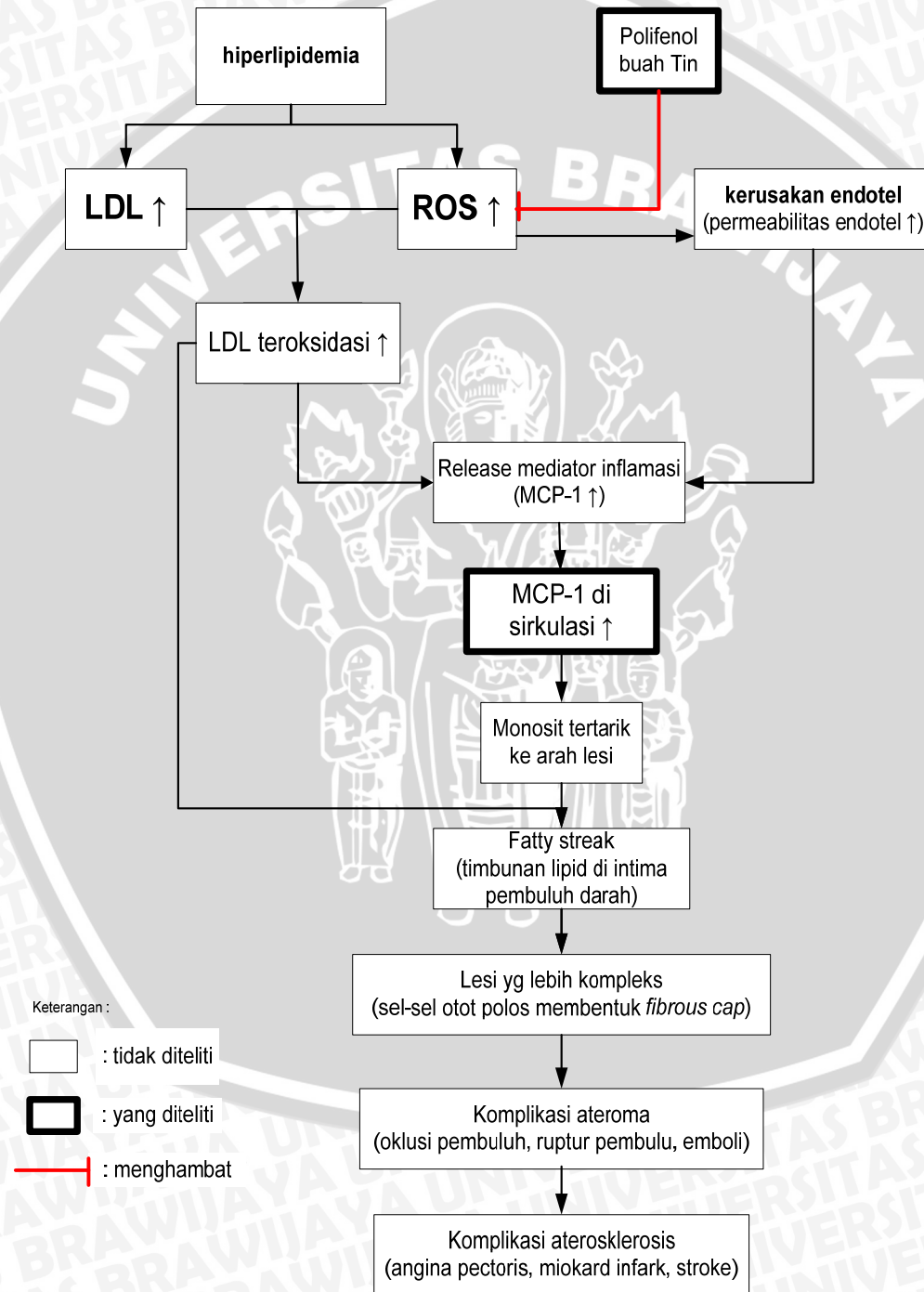
Pada pH fisiologis, kebanyakan polifenol berinteraksi dengan grup polar dari fosfolipid pada permukaan membran sel melalui pembentukan ikatan hidrogen yang melibatkan grup hidroksil pada polifenol. Jumlah grup hidroksil polifenol yang banyak dan peningkatan pH, menyebabkan deprotonasi grup hidroksil yang meningkatkan interaksi antara polifenol dan permukaan membran sel. Adsorpsi polifenol ini membatasi akses oksidant terlarut terhadap permukaan membran sel dan serangan langsungnya pada permukaan tersebut. (Manach dkk., 2004).

Flavonoid merupakan bagian paling banyak pada diet polifenol, sehingga sering menjadi fokus studi ilmiah sebagai salah satu nutrisi yang paling penting dalam diet. Flavonoid ditemukan pada buah-buahan, sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian, rempah-rempah, batang, bunga. Flavonoid terdiri dari beberapa subkelas: flavanol (misalnya catechin, epicatechin), flavanone (misalnya naringenin, hesperetin), flavone (misalnya apigenin, luteolin), isoflavone (misalnya daidzein, genistein), flavonol (misalnya quercetin), dan anthocyanin (misalnya cyanidin). (Teresa, 2010).

## BAB 3

### KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konsep



### 3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Pemberian diet tinggi lemak akan meningkatkan kadar lipid dalam darah sehingga akan menyebabkan kondisi hiperlipidemia (Bentley *et al*, 2007). Setelah terjadi peningkatan kadar lipid, maka LDL akan meningkat. LDL yang berinteraksi dengan ROS akan menjadi LDL teroksidasi yang kemudian membentuk lesi aterosklerosis di dalam intima pembuluh darah yang disebut dengan *fatty streak*. Selain itu, tingginya kadar lipid dalam darah juga akan menyebabkan terjadinya kerusakan endotel sehingga akan terjadi kebocoran yang timbul akibat meningkatnya permeabilitas dinding pembuluh darah tersebut. Hal ini meningkatkan kemungkinan terjadinya akumulasi LDL di dalam intima pembuluh. LDL yang tertimbun ini mudah mengalami oksidasi karena terpisah dari antioksidan plasma darah, sehingga nantinya akan memicu respon inflamasi yang juga dapat terjadi akibat kerusakan endotel. Akibatnya, dinding pembuluh darah akan semakin mengekspresikan zat-zat adhesinya dan semakin banyak melepas zat-zat kemoatraktan untuk sel radang. MCP-1 merupakan kemoatraktan bagi monosit, yang sejak awal terjadinya kerusakan pembuluh sudah diekspresikan dan disekresikan (Libby, 2005a).

MCP-1 dapat dijadikan sebagai marker proses peradangan kronis, termasuk disini adalah aterosklerosis (Blaha *et al*, 2004). Monosit yang sudah ditarik oleh MCP-1 dan kemokin lainnya akan menembus endotel dan masuk ke dalam intima pembuluh darah. Di dalam intima, monosit berdiferensiasi menjadi makrofag dan memfagosit LDL teroksidasi, menjadi bagian dari lesi lanjutan aterosklerosis. Selanjutnya, plak ateroma akan menjadi semakin kompleks dimana ateroma ini juga akan melibatkan sel-sel otot polos dan jaringan fibrosa. Makrofag dan sel-sel otot polos juga akan mensekresikan MCP-1. Lalu, seiring



dengan bertambah parahnya lesi, kemungkinan terjadi komplikasi ateroma seperti oklusi dan ruptur pembuluh, emboli, serta pembentukan aneurisma akan semakin tinggi pula. Akhirnya lesi ini akan menimbulkan komplikasi aterosklerosis yang dapat bermanifestasi antara lain berupa penyakit angina pectoris, infark miokard, dan juga stroke (Libby, 2005; Boyle, 2005).

Untuk memutus rantai dan siklus penyebab utama morbiditas dan mortalitas di Indonesia ini, maka ekstrak polifenol dari buah Tin, yang diketahui mempunyai manfaat antioksidan karena kandungan-kandungan yang terdapat di dalamnya perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui dosis dan pengaruhnya terhadap kadar MCP-1.

### 3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian polifenol buah tin (*Ficus carica* Linn) dapat menghambat peningkatan kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) serum pada tikus jantan (*Rattus novergicus*) galur Wistar yang diberi diet tinggi lemak.

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik karena terdapat perlakuan (intervensi) dan kelompok kontrol pada hewan coba tikus Wistar serta menggunakan randomisasi dengan menggunakan desain penelitian *Post Test Control Group Design* (Notoatmodjo, 2002). Pemilihan subyek penelitian untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), hal ini dikarenakan hewan coba, tempat percobaan dan bahan penelitian lainnya bersifat homogen.

Rancangan eksperimental yang digunakan adalah rancangan eksperimen sederhana dimana subyek dibagi menjadi 5 kelompok secara random. Tiap kelompok terdiri dari 5 tikus. Kelompok 1 adalah tikus diberi diet normal saja (kontrol negatif), kelompok 2 adalah tikus diberi diet tinggi lemak saja (kontrol positif), sedangkan kelompok 3 sampai 5 diberi diet tinggi lemak dan Polifenol buah tin (*Ficus carica Linn*) dengan berbagai dosis per oral dengan cara disonde sekali setiap hari. Kemudian diobservasi dan dibandingkan pengaruh polifenol buah tin terhadap kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) pada serum di akhir penelitian.

Dengan rancangan ini memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan kelompok kontrol positif. Tetapi rancangan ini tidak memungkinkan peneliti untuk menentukan sejauh mana atau seberapa besar perubahan itu terjadi, sebab penelitian ini hanya menggunakan *post test control group design* yang dilakukan pada akhir

perlakuan (tidak untuk menentukan data awal). Penelitian ini merupakan penelitian kelompok dengan variabel yang diambil adalah (1) kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) pada serum, (2) kadar HDL kolesterol pada serum, (3) kadar leptin pada serum, (4) kadar IL-6 pada serum, (5) kadar NFkB pada aorta, (6) kadar *tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) pada serum, (7) kadar LDL kolesterol pada serum, (8) jumlah foam cell pada aorta, (9) ketebalan dinding aorta, dan (10) kadar malondialdehid (MDA).

#### 4.2 Sampel

Sampel yang digunakan adalah tikus percobaan yang berjumlah 25 ekor dan diambil secara Random Sampling sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

Kriteria inklusi:

- Tikus jenis *Rattus norvegicus* strain Wistar
- Jenis kelamin jantan
- Umur 6-8 minggu
- Berat 150-200 gram
- Warna bulu putih
- Tikus aktif

Kriteria eksklusi:

- Tikus yang tidak mau makan
- Tikus yang mengalami penurunan keadaan fisik atau mati



#### 4.2.1 Metode Pemilihan Sampel

Metode pengambilan sampel dilakukan dengan estimasi besar subjek penelitian. Dalam penelitian ini estimasi besar subjek penelitian yang digunakan adalah 5 kelompok perlakuan. Jumlah sampel untuk masing-masing perlakuan ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Supranto, 2007):

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

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

$$4r-4 \geq 15$$

$$r \geq 4,75$$

Keterangan:

t = jumlah perlakuan

r = jumlah pengulangan pada tiap perlakuan

15 = nilai konstan

Untuk 5 macam perlakuan diperlukan jumlah sampel ulangan paling sedikit 4,75 kali tiap perlakuan. Pada penelitian ini digunakan 5 sampel untuk setiap perlakuan. Dengan demikian, jumlah total sampel yang dibutuhkan adalah 25 ekor tikus dengan rincian 5 ekor untuk masing-masing perlakuan.

#### 4.3 Variabel Penelitian

##### 4.3.1 Variabel Independen

Pemberian polifenol buah tin (*Ficus carica Linn*) berupa serbuk dengan dosis 4,5 mg, 9 mg, dan 18 mg. Pemberian per oral dengan sonde dilakukan selama 60 hari.

##### 4.3.2 Variabel Dependen

Kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) pada serum tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diberi diet tinggi lemak.

#### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Penelitian dan pengambilan sampel dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Pengukuran kadar MCP-1 serum dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Juni-Agustus 2011.

#### 4.5 Bahan dan Alat/ Instrumen Penelitian

##### 4.5.1 Alat Penelitian

- Alat pemeliharaan binatang coba: kandang dari anyaman kawat, tempat pakan, dan botol air diletakkan dalam kandang dari kotak plastik.
- Alat untuk pembuatan ransum pakan tikus: timbangan, neraca analitik, waskom, pengaduk, gelas ukur, penggilingan pakan, dan nampan.
- Alat untuk pengambilan sampel : spuit 5 ml, seperangkat tabung reaksi, kapas
- Alat untuk pengukuran kadar MCP-1 : ELISA reader

##### 4.5.2 Bahan Penelitian

- Bahan pakan normal yang terdiri dari Comfeed PARS 66,67% (dengan kandungan air 12%, protein 11%, lemak 4%, serat 7%, abu 8%, Ca 1,1 %, Fosfor 0,9%, antibiotic coccidiostat 53%) dan air 33,33%.
- Diet tinggi lemak yang terdiri dari pakan babi 50%, tepung terigu 25%, kolesterol 2%, asam kolat 0,2%, minyak babi 5%, dan air 17,8% (Murwani dkk, 2005).

- Polifenol buah tin (*Ficus carica* Lynn) dosis 4,5 mg/hari, 9 mg/hari, 18 mg/hari.
- Bahan untuk pemeriksaan kadar MCP-1 : ELISA kit

#### 4.6 Definisi Istilah / Operasional

##### 1. Polifenol buah tin

Polifenol yang digunakan adalah polifenol buah tin yang merupakan hasil ekstraksi di Laboratorium MIPA ITB Bandung. Polifenol yang digunakan adalah senyawa fraksi butanol hasil ekstraksi dari buah Tin kering yang didapat dari Libya. Buah Tin kering ini disonikasi dengan pelarut methanol, kemudian diekstraksi dengan n-heksana, etil asetat, dan n-butanol sehingga didapatkan ekstrak butanol yang dapat larut dalam air. Ekstrak butanol memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> = 827 ppm (Dewi dan Ciptati, 2010).

##### 2. Tikus Wistar

Tikus yang digunakan adalah tikus yang berasal dari galur Wistar dengan jenis kelamin jantan, berumur  $\pm$  2 bulan dengan berat badan  $\pm$  200 gr, yang diperoleh dari Laboratorium Fisiologi Universitas Brawijaya Malang. Tikus berjumlah 25 ekor, lalu dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok pertama diberikan pakan normal, kelompok kedua sampai kelompok kelima diberikan pakan berupa diet tinggi lemak. Untuk polifenol diberikan ke kelompok ketiga sampai kelima dengan dosis secara berurutan  $\frac{1}{2}n$ ,  $n$ , dan  $2n$ .



### 3. Diet tinggi lemak

Diet tinggi lemak adalah pakan tinggi kolesterol yang dimodifikasi dengan formulasi khusus untuk menimbulkan keadaan aterosklerosis pada hewan coba tikus yang terdiri dari pakan babi 50%, tepung terigu 25%, kolesterol 2%, asam kolat 0,2%, minyak babi 5%, dan air 17,8% (Murwani dkk, 2005). Pakan ini diberikan selama 65 hari.

### 4. Kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) dalam serum

Kadar MCP-1 diperoleh dari serum tikus dalam penelitian ini yang diukur menggunakan metode ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) dengan satuan ng/ml pada setiap kelompok perlakuan.

## 4.7 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan Data

### 4.7.1 Pembuatan Pakan Tikus

Pakan tikus diberikan secara oral sedangkan polifenol buah tin diberikan dengan menggunakan sonde.

- Pakan standar terdiri dari Comfeed PARS 66,67% (dengan kandungan air 12%, protein 11%, lemak 4%, serat 7%, abu 8%, kalsium 1,1%, fosfor 0,9%, antibiotic coccidiostat 53%) dan air 33,33%.
- Diet tinggi lemak terdiri dari pakan babi 50%, tepung terigu 25%, kolesterol 2%, asam kolat 0,2%, minyak babi 5%, dan air 17,8% (Murwani dkk, 2005).
- Polifenol buah tin yang dibutuhkan:

Konsumsi total fenol yang dianjurkan pada manusia adalah >500 mg/hari (Williamson, 2008). Berdasarkan Tabel Perbandingan Luas Permukaan

Hewan Coba, konversi dosis polifenol tikus terhadap manusia adalah sebagai berikut (Paget dan Barnes, 1971):

Dosis manusia (70 kg bb) = 500 mg/hari (Williamson, 2008)

Dosis polifenol yang diberikan ke tikus (200 g bb)  
= 500 mg/hari x 0,018

= 9 mg/hari

Variasi pemberian dosis didasarkan pada deret ukur  $\frac{1}{2}n$ ,  $n$ , dan  $2n$  adalah sebagai berikut:

- dosis 1 = 4,5 mg/hari
- dosis 2 = 9 mg/hari
- dosis 3 = 18 mg/hari

#### 4.7.2 Proses Perlakuan Pada Tikus Percobaan

- a. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu:
  - o Kelompok 1: kelompok kontrol negatif, diberi diet (pakan) normal
  - o Kelompok 2: kelompok kontrol positif, diberi diet aterosklerosis
  - o Kelompok 3: kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan polifenol 4,5 mg
  - o Kelompok 4: kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan polifenol 9 mg
  - o Kelompok 5: kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan polifenol 18 mg
- b. Semua tikus dilihat umur dan ditimbang berat badannya. Dilakukan randomisasi dengan metode RAL agar setiap tikus mempunyai peluang yang sama untuk mendapatkan perlakuan.
- c. Tikus ditempatkan dalam kandang terpisah (1 ekor per kandang).

- d. Sebelum perlakuan, semua kelompok tikus percobaan diaklimatisasikan pada kondisi laboratorium tempat percobaan, kandang, waktu makan dan eksplorasi terhadap pakan tikus selama 7 hari. Tiap tikus diberikan pakan standar sejumlah 30 gram secara ad libitum.
- e. Pada saat perlakuan, pakan dan minuman tikus diberikan secara oral. Pakan tikus ditimbang tiap hari. Selisih antara berat makanan sebelum dan sesudah dimakan dinyatakan sebagai intake harian.
- f. Polifenol buah tin diberikan dengan menggunakan sonde dengan dosis 4,5 mg, 9 mg, dan 18 mg pada kelompok masing-masing. Pemberian pakan dilakukan selama 65 hari.
- g. Pada akhir hari ke-65 dilakukan proses pembedahan. Sebelumnya tikus dieuthanasia dengan ether lalu sample darah diambil dari jantung.
- h. Serum tikus diperiksa kadar MCP-1 nya menggunakan metode ELISA.

#### **4.7.3 Pengukuran Kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) dengan Metode ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*)**

Pemeriksaan kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) dilakukan menggunakan metode ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) (RayBio, 2012). Pengambilan darah dilakukan dari jantung tikus (*Rattus novergicus*) strain Wistar pada akhir hari ke-65.

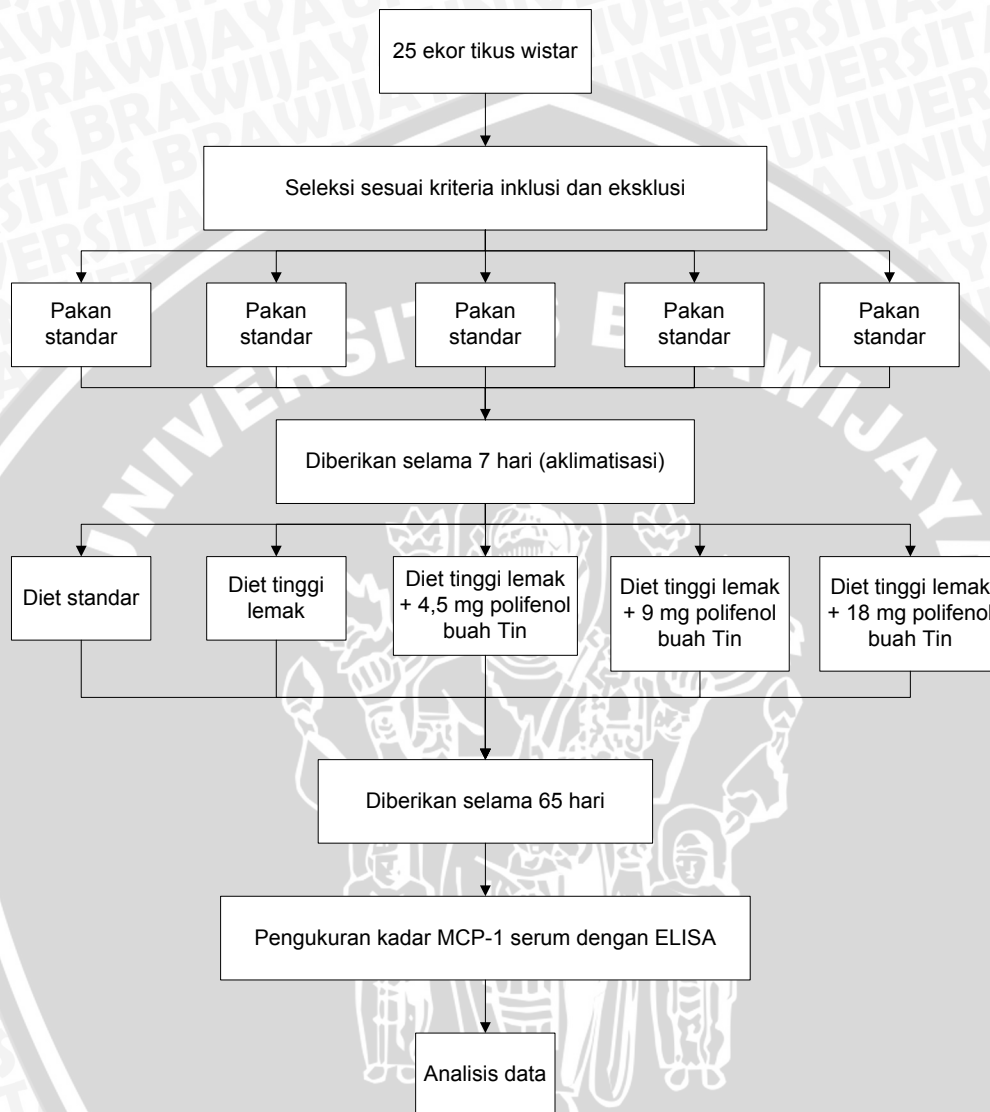
Prosedur ELISA :

1. Pemberian Coating antigen pada piring mikrotubes dengan mencampur serum dengan Coating buffer 50  $\mu$ L dengan perbandingan 1:20
2. Inkubasi overnight dengan suhu 4<sup>o</sup>C



3. Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50  $\mu$ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
4. Pemberian *blocking buffer* (BSA 1% dalam PBS)
5. Inkubasi 1 jam pada suhu ruang
6. Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50  $\mu$ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
7. Pemberian Coating Antibodi primer dengan penambahan Anti MCP-1 + PBS dengan perbandingan 1:500
8. Inkubasi 1 jam pada suhu ruang
9. Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50  $\mu$ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
10. Pemberian Coating Antibodi sekunder dengan penambahan Antirabbit IgG Biotin Conjugated + PBS dengan perbandingan 1:1000
11. Inkubasi 1 jam pada suhu ruang
12. Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50  $\mu$ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
13. Penambahan SA-HRP 1 : 1000
14. Inkubasi 1 jam pada suhu ruang
15. Pencucian dengan PBS-T 0,2 % 3x, masing-masing 3 menit
16. Penambahan Sureblue TMB
17. Inkubasi 30 menit pada suhu ruang
18. Stop reaksi dengan HCl 1 N
19. Inkubasi 15 menit
20. Diukur absorbsinya pada 450 nm dengan ELISA Reader.

#### 4.7.4 Bagan Alur Penelitian



#### 4.8 Analisis Data

Data hasil perhitungan jumlah kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) masing-masing kelompok yang dilihat rata-ratanya disajikan dalam bentuk tabel dan grafik kemudian dianalisis secara deskriptif. Data jumlah ekspresi kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) yang telah

dikumpulkan, diolah dengan cara tabulasi. Berdasarkan tabulasi tersebut, dilakukan uji statistic dengan mengguna-kan SPSS 17.0. Apabila dari uji *One Way ANOVA* terdapat hubungan, maka dapat dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* untuk mengetahui letak perbedaan dari per-lakuan yang diberikan. Uji statistic dilakukan pada derajat kepercayaan 95% dengan  $\alpha = 0,05$ . Hasil uji statistik dinyatakan bermakna bila  $p < 0,05$ .

UNIVERSITAS BRAWIJAYA





## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

#### 5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik. Penelitian ini menggunakan *post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak polifenol dari buah Tin dapat menghambat peningkatan kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein – 1*) pada serum tikus galur Wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak.

Dalam penelitian ini, hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol (tikus sehat, diberi pakan normal), sedangkan kelompok 2 sampai 5 merupakan kelompok tikus yang diberi diet tinggi lemak. Kelompok 3, 4, dan 5 merupakan kelompok yang diberi ekstrak polifenol, dengan dosis masing-masing sebesar 4,5 mg/hari, 9 mg/hari, dan 18 mg/hari. Setelah dilakukan perlakuan selama 65 hari pada tiap kelompok, tikus dibedah, lalu diambil darahnya dari aorta. Setelah itu pada darah dilakukan sentrifugasi sehingga didapatkan serum yang selanjutnya diukur kadar MCP-1 nya menggunakan metode ELISA. Hasil pengukuran kadar MCP-1 tercantum dalam tabel 5.1

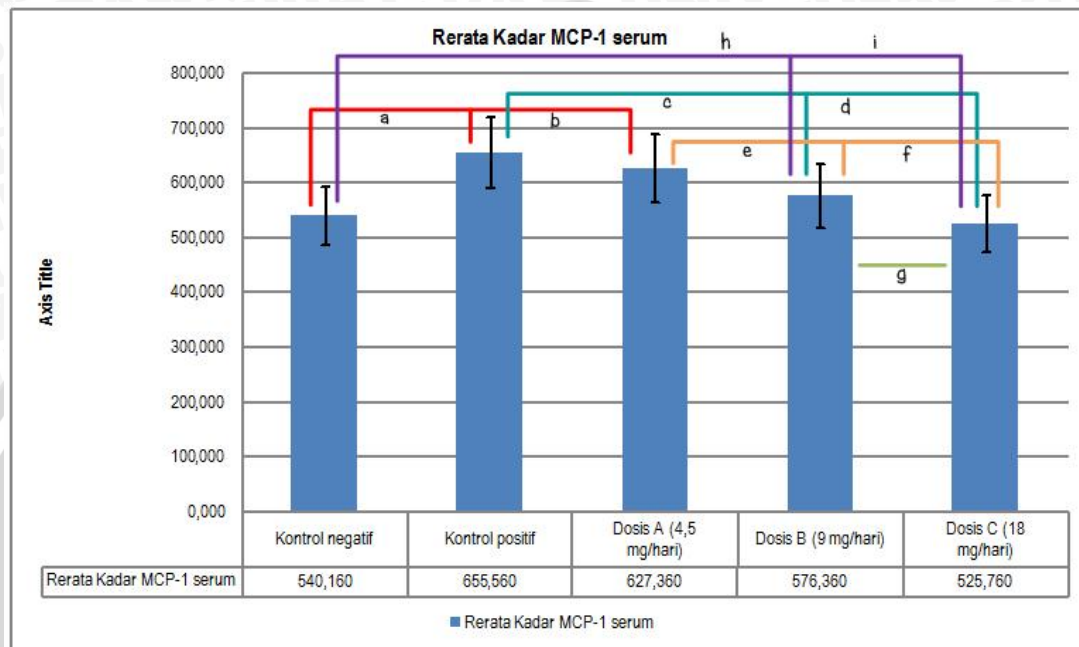
**Tabel 5.1 Data Hasil Penelitian dan statistik ANOVA (*Analysis of Variance*) pada Masing-masing Kelompok Perlakuan**

| Kelompok perlakuan    | n | Rerata Kadar MCP-1 serum (ng/mL) | Standar Deviasi (SD) | p (signifikansi) |
|-----------------------|---|----------------------------------|----------------------|------------------|
| Kontrol negatif       | 5 | 540,160                          | ± 39,748             | 0,000            |
| Kontrol positif       | 5 | 655,560                          | ± 47,434             |                  |
| Dosis A (4,5 mg/hari) | 5 | 627,360                          | ± 34,496             |                  |
| Dosis B (9 mg/hari)   | 5 | 576,360                          | ± 25,907             |                  |
| Dosis C (18 mg/hari)  | 5 | 525,760                          | ± 37,516             |                  |

Keterangan: Kontrol negatif (diet normal tanpa polifenol buah Tin); Kontrol positif (diet tinggi lemak tanpa polifenol buah Tin); dosis A (diet tinggi lemak + polifenol buah Tin 4,5 mg/hari); dosis B (diet tinggi lemak + polifenol buah Tin 9 mg/hari); Dosis C (diet tinggi lemak + polifenol buah Tin 18 mg/hari); Kadar MCP-1 (ng/mL).

Pada pemberian polifenol dengan berbagai konsentrasi menunjukkan adanya perbedaan pada kadar MCP-1 serum. Hasil pada tabel 5.1 menunjukkan bahwa rerata kadar MCP-1 serum pada tikus yang diberi diet tinggi lemak tanpa penambahan polifenol (Kontrol Positif) merupakan yang paling tinggi (655,560 ng/mL) diantara kelompok perlakuan lain. Kadar ini menurun pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak dengan penambahan polifenol berbagai dosis. Secara berurutan, rerata kadar MCP-1 menurun seiring dengan meningkatnya dosis yang diberikan pada kelompok perlakuan, yaitu 627,360 ng/mL pada kelompok dengan dosis terkecil (Dosis A 4,5 mg/hari), 576,360 ng/mL pada kelompok dosis kedua (Dosis B 9 mg/hari), dan yang paling rendah yaitu 525,760 ng/mL pada kelompok dosis terbesar (Dosis C 18 mg/hari). Rerata kadar MCP-1 pada kelompok Dosis C bahkan lebih rendah dari kelompok yang diberi diet normal (rerata kadar MCP-1 540,160 ng/mL). Hasil penelitian rata-rata MCP-1 serum pada masing-masing kelompok perlakuan dengan diet lemak dan diet

tinggi lemak dengan atau tanpa penambahan polifenol buah Tin disajikan pada grafik 5.1



**Grafik 5.1 Perbandingan rata-rata kadar MCP-1 antar masing-masing kelompok perlakuan**

Keterangan :

- a : signifikan antara K- dan K+ ( $p=0,000$ )
- b : signifikan antara K- dan Dosis A ( $p=0,002$ )
- c : signifikan antara K+ dan Dosis B ( $p=0,003$ )
- d : signifikan antara K+ dan Dosis C ( $p=0,000$ )
- e : signifikan antara Dosis A dan Dosis B ( $p=0,045$ )
- f : signifikan antara Dosis A dan Dosis C ( $p=0,000$ )
- g : signifikan antara Dosis B dan Dosis C ( $p=0,046$ )
- h : tidak signifikan antara K- dan Dosis B ( $p=0,144$ )
- i : tidak signifikan antara K- dan Dosis C ( $p=0,552$ )

Pada grafik 5.1 dapat dilihat rerata kadar MCP-1 pada kelompok perlakuan Kontrol Negatif, Kontrol Positif, Dosis A (4,5 mg/hari), Dosis B (9 mg/hari), dan Dosis C (18 mg/hari)  $\pm$  Standar Deviasinya berturut-turut sebesar 540,160  $\pm$  39,748; 655,560  $\pm$  47,434; 627,360  $\pm$  34,496; 576,360  $\pm$  25,907; dan 525,760  $\pm$  37,516.



Grafik 5.1 memberikan gambaran bahwa perbedaan dosis polifenol buah Tin pada masing-masing kelompok perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kadar MCP-1 serum. Secara kasar dapat disimpulkan dari gambar 5.1 bahwa kadar MCP-1 menurun seiring dengan meningkatnya dosis polifenol buah Tin.

## 5.2 Analisis Data

Proses analisis data hasil penelitian “Pengaruh Ekstrak Polifenol Buah Tin (*Ficus carica* Linn) Terhadap kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein – 1*) pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Jantan yang Diberi Diet Tinggi lemak” dilakukan dengan bantuan program *SPSS 17.0 for Windows*. Variabel penelitian merupakan skala numerik dengan sampel tidak berpasangan dan terdiri atas lebih dari 2 kelompok. Bila data memiliki distribusi normal dan varians homogen, analisis dapat dilanjutkan dengan uji komparatif parametrik *One Way Anova*. Jika terjadi sebaliknya, maka analisis beralih ke uji alternatif non-parametrik *Kruskal Wallis*.

### ▪ Uji Normalitas

Untuk mengetahui distribusi data, dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov test*. Tampak  $p > 0,05$  ( $p = 0,551$ ) yang menunjukkan bahwa distribusi data normal.

### ▪ Uji Homogenitas

Setelah dilakukan uji homogenitas varians, didapatkan nilai  $p = 0,440$  yang menunjukkan bahwa data memiliki varians homogen ( $p > 0,05$ ).

Karena data memiliki distribusi yang normal dan varians homogen, analisis dilanjutkan dengan uji komparatif parametrik *One-way Anova*.

- **One-way Anova (Analysis of Variance)**

Uji *One-way Anova* bertujuan untuk mengevaluasi apakah terdapat perbedaan rata-rata kadar MCP-1 secara bermakna antar kelompok perlakuan. Hipotesis nol ( $H_0$ ) diterima bila  $p > 0,05$  dan sebaliknya,  $H_0$  ditolak bila  $p < 0,05$ . Pada uji anova ini,  $H_0$  yang diajukan adalah “Tidak terdapat perbedaan rata-rata kadar MCP-1 serum secara bermakna pada masing-masing kelompok”. Dari uji *One-way Anova* ditemukan bahwa  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ) sehingga  $H_0$  ditolak dan disimpulkan bahwa “Terdapat perbedaan rata-rata kadar MCP-1 serum yang bermakna pada minimal 2 kelompok perlakuan”. Untuk mengetahui kelompok manakah yang berbeda secara signifikan, analisis dilanjutkan dengan *Post-hoc Test*.

- **Tingkat Signifikansi Hasil Analisis dengan Uji *Post-hoc***

Setelah diketahui adanya perbedaan yang signifikan di antara kelima kelompok perlakuan, permasalahan yang selanjutnya dibahas adalah kelompok mana saja yang berbeda secara bermakna. Hal ini dapat diketahui melalui analisis LSD (*Least Significant Difference*) dalam uji *Post-hoc*. Pada hasil uji *Post-hoc*, tampak bahwa terdapat peningkatan kadar MCP-1 yang berbeda secara signifikan antara kelompok K+ dengan K- dengan nilai  $p = 0,000$  (syarat  $p < 0,05$ ). Ini menandakan bahwa kadar rata-rata MCP-1 pada kelompok K+ mengalami peningkatan yang dihasilkan oleh perlakuan yang dilakukan oleh peneliti selama penelitian berlangsung. Hasil uji signifikansi dengan mudah dapat dilihat pada output yang telah ada (Tabel 5.2) dengan ada tidaknya tanda (\*) pada kolom mean difference. Jika terdapat tanda (\*) di angka mean difference maka perbedaan tersebut nyata atau signifikan.

Tabel 5.2 Hasil Uji LSD Kadar MCP-1

|                             | K-     | K+     | Dosis A<br>(4,5<br>mg/hari) | Dosis B<br>(9<br>mg/hari) | Dosis C<br>(18<br>mg/hari) |
|-----------------------------|--------|--------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| K-                          | -      | 0,000* | 0,002*                      | 0,144                     | 0,552                      |
| K+                          | 0,000* | -      | 0,251                       | 0,003*                    | 0,000*                     |
| Dosis A<br>(4,5<br>mg/hari) | 0,002* | 0,251  | -                           | 0,045*                    | 0,000*                     |
| Dosis B (9<br>mg/hari)      | 0,144  | 0,003* | 0,045*                      | -                         | 0,046*                     |
| Dosis C<br>(18<br>mg/hari)  | 0,552  | 0,000* | 0,000*                      | 0,046*                    | -                          |

Keterangan :  $p < 0.05$  adalah signifikan, ditandai dengan tanda (\*)

Pada tabel 5.2 terdapat  $p=0,144$  dan  $p=0,552$  untuk kadar MCP-1 dari kelompok K- (kelompok normal) terhadap berturut-turut Dosis B (9 mg/hari) dan Dosis C (18 mg/hari), yang dapat diartikan bahwa kedua kelompok ini tidak signifikan atau tidak terdapat perbedaan yang nyata terhadap kelompok K-. Hal ini dapat terjadi, mungkin karena kadar MCP-1 di kedua kelompok ini sudah kembali normal, atau sudah setara dengan kadar MCP-1 pada kelompok K- (kelompok Kontrol Negatif / kelompok diet normal).



**BAB 6****PEMBAHASAN**

Penelitian mengenai pengaruh pemberian polifenol pada buah tin (*Ficus carica* Linn) terhadap kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) pada serum tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus* L) yang diberi diet tinggi lemak merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang menggunakan desain penelitian *post-test control group only*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian polifenol buah tin terhadap kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) pada serum tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus* L) yang diberi diet tinggi lemak. Setelah dilakukan perlakuan selama 65 hari pada tiap kelompok, kemudian dilakukan pembedahan pada tikus, lalu diambil sampel darahnya dari jantung tikus untuk selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap kadar MCP-1. Untuk mempermudah dalam menganalisa kadar MCP-1, data yang ada dimasukkan dalam perhitungan statistik.

Dari data hasil pengukuran kadar MCP-1 pada serum tikus, dapat diketahui bahwa rata-rata kadar MCP-1 serum yang tertinggi terdapat pada kelompok kontrol Positif (K+), dan yang terendah terdapat pada kelompok Dosis C. Penurunan kadar MCP-1 terjadi seiring dengan meningkatnya dosis polifenol yang diberikan pada tikus. Kadar MCP-1 serum paling tinggi terdapat pada kelompok Kontrol Positif (K+), yaitu kelompok yang diberi diet tinggi lemak tanpa dosis polifenol Buah Tin. Hal ini dapat terjadi karena adanya peningkatan jumlah kolesterol akibat komposisi dari makanannya yaitu diet tinggi lemak. Pada diet tinggi lemak ini mengandung banyak asam lemak jenuh yang menyebabkan terbentuknya kolesterol relatif lebih banyak serta digunakan oleh jaringan

ekstrahepatik secara lebih lambat daripada partikel yang lebih besar (Murray, 2009). Menurut Murwani (2006), model aterosklerosis dapat dirancang dengan pemberian diet tinggi lemak dan tinggi kolesterol (diet tinggi lemak) pada tikus Wistar jantan selama 8 minggu. Pernyataan tersebut didukung dengan ditemukannya peningkatan jumlah *foam cell* secara signifikan pada kelompok kontrol positif penelitian polifenol buah tin ini yang menandai berlangsungnya proses aterogenesis.

Gu, L. *et al.* (1999) melaporkan dalam penelitiannya bahwa MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) merupakan anggota dari sekelompok kemokin grup, *chemokine (C-C motif) ligand 2* atau juga biasa disebut CCL2, yang dihasilkan oleh berbagai macam sel termasuk diantaranya monosit, limfosit, sel-sel endotel dan fibroblas setelah distimulasi oleh berbagai mediator inflamasi. MCP-1 berperan sebagai kemoatraktan yang poten dan diyakini berperan penting dalam respon inflamasi pada monosit darah, makrofag jaringan, dan sel-sel pembunuh alami (*natural killer cell/NK cell*). Diyakini bahwa fungsi utama MCP-1 berhubungan dengan penarikan monosit untuk meninggalkan sirkulasi untuk selanjutnya menjadi makrofag, dimana ini merupakan inisiasi atau proses awal terjadinya inflamasi. Pada penelitiannya, Aiello *et al.*, 1999 menyatakan bahwa peningkatan kadar MCP-1 terdeteksi pada arteri dengan lesi plak aterosklerosis, tetapi tidak pada arteri normal. Hal ini menunjukkan bahwa peran potensial MCP-1 dalam penarikan monosit dan kemajuannya dalam proses aterosklerosis.

Pada penelitian ini diteliti pula beberapa variabel, antara lain jumlah *foam cell*, yang dapat membuktikan bahwa perlakuan yang dilakukan pada penelitian ini sudah menyebabkan terjadinya proses aterogenesis pada kelompok kontrol

(K+). Pada kelompok kontrol positif (K+) didapatkan jumlah rata-rata *foam cell* sebanyak  $32,6 \pm 2,793$  sel, sedangkan pada kelompok kontrol negatif (K-) berjumlah  $2,4 \pm 0,894$  sel ( $p=0,000$ ) (Purborisanti, 2012).

Pada hasil pengukuran kadar MCP-1, didapatkan data yang menunjukkan bahwa rerata kadar MCP-1 serum pada tikus yang diberi diet tinggi lemak tanpa penambahan polifenol (Kontrol Positif) merupakan yang paling tinggi diantara kelompok perlakuan lain yaitu sebesar 655,560 ng/mL. Kadar ini menurun pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak dengan penambahan polifenol berbagai dosis. Secara berurutan, rerata kadar MCP-1 menurun seiring dengan meningkatnya dosis yang diberikan pada kelompok perlakuan, yaitu 627,360 ng/mL pada kelompok dengan dosis terkecil (Dosis A 4,5 mg/hari), 576,360 ng/mL pada kelompok dosis kedua (Dosis B 9 mg/hari), dan yang paling rendah yaitu 525,760 ng/mL pada kelompok dosis terbesar (Dosis C 18 mg/hari). Rerata kadar MCP-1 pada kelompok Dosis C bahkan lebih rendah dari kelompok yang diberi diet normal (rerata kadar MCP-1 540,160 ng/mL).

Patogenesis aterosklerosis merupakan suatu proses kompleks yang hingga saat ini masih belum dimengerti sepenuhnya (Price and Wilson, 2006). Namun, telah diketahui bahwa proses awal aterosklerosis terjadi karena adanya kerusakan endotel vaskular (Guyton and Hall, 2006). Kerusakan ini dapat terjadi karena pajanan berbagai jenis iritan terhadap endotel dalam kehidupan sehari-hari. Diantara hal-hal yang dapat menyebabkan iritasi ini adalah kondisi hipertensi, hiperlipidemia, mikroorganisme yang menyerang dinding pembuluh darah, toksin, dan radikal bebas (Price and Wilson, 2006; Boyle, 2005). Selanjutnya kerusakan lapisan terdalam dinding vaskular ini menstimulasi peningkatan regulasi (*up regulation*) molekul adhesi endotel, seperti ICAM-1,



VCAM, dan ELAM, melalui serangkaian kaskade yang melibatkan sitokin-sitokin inflamasi dan juga menurunkan sekresi zat-zat yang mencegah perlekatan pada endotel (Boyle, 2005; Guyton and Hall, 2006). Abnormalitas pembuluh juga akan menstimulasi pelepasan zat-zat kemoatraktan, terutama MCP-1, untuk kemudian menarik monosit yang beredar dalam darah menuju lokasi lesi (Maus dkk, 2002). Penarikan monosit menuju ke jaringan sudah terjadi pada area pre lesi, yaitu area yang plak ateromanya belum dapat terlihat, baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Peristiwa ini meningkat pada kondisi hiperlipidemia yang diinduksi oleh diet, meskipun induksi dietnya hanya dalam waktu singkat.

Peran MCP-1 dalam proses terjadinya aterosklerosis adalah ikatannya dengan reseptornya, CCR-2 (*CC Receptor-2*), akan menginisiasi terbentuknya plak ateroma, dimana plak ini adalah lesi awal dari proses aterosklerosis. Sebuah penelitian yang difokuskan pada interaksi monosit dan dinding endotel arteri pulmonal manusia oleh Maus dkk. (2002), menunjukkan bahwa MCP-1, setelah diekskresikan dan berikatan dengan reseptornya, yaitu reseptor CCR-2 pada permukaan monosit, akan meningkatkan adhesi monosit pada dinding endotel.

Diet tinggi lemak yang diberikan akan membuat kondisi hiperlipidemia dan selanjutnya akan terjadi peroksidasi (auto-oksidasi) lemak pada paparan oksigen sehingga dapat menjadi penyebab kanker, penyakit inflamasi, aterosklerosis, dan penuaan. Efek yang mengganggu ini disebabkan oleh radikal bebas yang diproduksi selama proses pembentukan peroksida dari asam lemak, misalnya *polyunsaturated fatty acids* (asam lemak tak jenuh rantai panjang). Peroksidasi lemak merupakan rangkaian reaksi yang menghasilkan radikal bebas secara terus menerus. Peroksidasi lemak merupakan rangkaian reaksi yang memiliki efek merusak (*devastating effect*). Untuk mengontrol dan mengurangi peroksidasi

lemak, manusia dan alam melibatkan antioksidan (Murray *et al.*, 2009). Pembentukan radikal bebas menyebabkan lesi pada lapisan endotel, menyebabkan meningkatnya perlekatan, permeabilitas, dan substansi prokoagulasi (Napoli dan Lerman, 2001). Produksi radikal bebas terjadi pada banyak sel di dinding pembuluh darah seperti sel endotel, sel otot polos pembuluh darah, fibroblast, dan makrofag.

Ekstrak buah tin memiliki bahan aktif yaitu polifenol yang berperan sebagai antioksidan yang berperan dalam aktivitas metabolisme dalam tubuh. Di dalam buah tin mengandung polifenol yang tinggi berfungsi sebagai antioksidan yang penting bagi tubuh karena dapat berfungsi sebagai radikal bebas dalam tubuh (Mushofi, 2010). Penghitungan dosis polifenol didasarkan pada kebutuhan polifenol pada manusia per hari, yaitu sebesar >500mg/hari (Williamson, 2008). Kemudian dikonversikan terhadap kadar tikus dengan menggunakan tabel konversi (Paget and Barnes, 1971) dan didapatkan dosis 9mg/hari. Pada penelitian ini, dosis yang dipakai adalah n (9 mg/hari),  $\frac{1}{2}$ n (4,5 mg/hari) dan 2n (18 mg/hari).

Pada hasil uji *Post-hoc*, terdapat peningkatan kadar MCP-1 yang berbeda secara signifikan antara kelompok K+ dengan K- dengan nilai probabilitas  $p=0,000$  (syarat  $p<0,05$ ). Ini menandakan bahwa kadar rata-rata MCP-1 pada kelompok K+ mengalami peningkatan yang dihasilkan oleh perlakuan yang dilakukan oleh peneliti selama penelitian berlangsung.

Pada uji *Post-hoc* pula didapatkan bahwa antara kelompok K+ dan kelompok B terdapat perbedaan yang bermakna ( $p=0,003$ ), yang artinya adalah pada Dosis B (9 mg/hari) sudah dapat menghambat peningkatan kadar MCP-1, dimana pada Dosis A (4,5 mg/hari) tidak terdapat perbedaan yang bermakna

( $p=0,251$ ) yang artinya adalah pada Dosis A belum bisa menghambat peningkatan kadar MCP-1. Antara K+ dan Dosis C (18 mg/hari) juga terdapat perbedaan yang bermakna ( $p=0,000$ ) yang berarti bahwa kadar polifenol Buah Tin pada Dosis C ini sudah bisa menghambat peningkatan kadar MCP-1.

Antara K- dan Dosis B maupun Dosis C tidak terdapat perbedaan secara signifikan ( $p=0,144$  dan  $p=0,552$ ) yang dapat diartikan bahwa kedua kelompok ini tidak signifikan atau tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap kelompok K-. Maksud dari pernyataan ini adalah kadar MCP-1 yang terdapat pada kelompok Dosis B dan Dosis C sudah dapat dianggap sama dengan normal walaupun secara angka masih terdapat perbedaan diantara ketiganya. Kadar MCP-1 serum pada K- = 540,160, pada Dosis B (9mg/hari) = 576,360, dan pada Dosis C (18mg/hari) = 525,760. Dari angka-angka ini, bisa ditarik kesimpulan bahwa kadar MCP-1 pada Dosis B masih diatas dari kadar MCP-1 pada K-, tapi untuk Dosis B sudah bisa dipakai untuk menghambat peningkatan kadar MCP-1 karena perbedaan angka ini tidak berbeda secara bermakna. Sedangkan untuk Dosis C, kadar MCP-1 nya sudah berada dibawah kadar MCP-1 pada K- yang berarti bahwa dengan Dosis C sudah dapat menurunkan kadar MCP-1 sampai dibawah kadar normal.

Mekanisme polifenol buah Tin dalam menghambat peningkatan kadar MCP-1 diperkirakan melalui efek antioksidannya. Antioksidan yang terkandung dalam polifenol buah Tin dapat menghambat terjadinya peroksidasi lemak, sehingga radikal bebas yang terbentuk akan berkurang. Proses ini akan mengakibatkan lesi endotel juga makin berkurang jumlahnya, sehingga MCP-1 tidak terstimulasi, maka tidak akan terbentuk plak ateroma yang merupakan inisiasi terjadinya aterosklerosis. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa



polifenol yang terkandung dalam buah tin dapat menghambat peningkatan kadar MCP-1 pada tikus yang diberi diet tinggi lemak.

Buah Tin yang dipakai dalam penelitian ini adalah buah Tin yang sudah dikeringkan, lalu dilakukan ekstraksi. Dalam penelitian yang dilakukan Vinson (1999), didapatkan data bahwa total polifenol dalam buah Tin merupakan yang paling tinggi yaitu sebesar 1,090 – 1,110 mg/100g *fresh matter (fm)*, dibandingkan dengan buah-buahan lain yang diteliti, seperti anggur (50-490 mg/100 g fm), apel (27-298 mg/100 g fm), dan jeruk (50-100 mg/100 g fm). Dikatakan pula dalam penelitian tersebut, bahwa penyajian buah Tin sebesar 40 g saja sudah mengandung sekitar 444 mg fenol, sedangkan rata-rata konsumsi fenol setiap hari dari sayuran hanya sebesar 218 mg/hari.

Dikatakan sebelumnya bahwa dosis polifenol yang dianjurkan untuk konsumsi manusia sehari-hari >500 mg/hari, setara 9 mg/hari untuk tikus. Dosis 9 mg/hari ini sudah dapat menghambat peningkatan kadar MCP-1 serum pada tikus yang diberi diet tinggi lemak. Ketika dosis polifenol ditambah, hasilnya adalah semakin turunnya kadar MCP-1.

Penelitian ini hanya menggunakan tiga variasi dosis, sehingga belum diketahui secara pasti dosis toksik dari ekstrak polifenol buah tin. Selain itu, penelitian hanya dilakukan selama 65 hari, sehingga dapat dikatakan lesi atherosklerosis belum berkembang secara progresif. Jenis ataupun struktur polifenol spesifik yang mempunyai aktivitas antioksidan paling dominan dalam buah tin juga perlu diketahui, sehingga senyawa polifenol tersebut dapat diproduksi secara massal dengan metode rekayasa kimiawi untuk selanjutnya dipakai sebagai salah satu alternatif pencegahan aterosklerosis.

## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 KESIMPULAN

Berdasarkan pada hasil penelitian mengenai pengaruh polifenol buah tin (*Ficus carica* Linn.) terhadap kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) pada tikus putih *Rattus norvegicus* galur Wistar yang diberi diet tinggi lemak, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian diet tinggi lemak selama 65 hari dapat meningkatkan kadar MCP-1 serum pada tikus wistar secara signifikan.
2. Pemberian polifenol buah tin mampu menghambat peningkatan kadar MCP-1 serum pada tikus wistar yang diberi diet atherogenik secara signifikan mulai dosis 9 mg/hari pada tikus, setara dengan 500 mg/hari untuk manusia.

#### 7.2 SARAN

Beberapa hal yang perlu dilakukan sebagai tindak lanjut penelitian ini:

1. Perlu dilakukan penelitian yang sama dengan variasi dosis yang lebih beragam ataupun rentang waktu penelitian yang lebih lama untuk melihat lebih jauh efek preventif dari polifenol pada buah tin berdasarkan parameter lain termasuk dosis toksiknnya.
2. Perlu dilakukan penelitian yang sama untuk mengetahui efek samping penggunaan buah Tin sebagai alternatif pencegahan aterosklerosis.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jenis polifenol yang lebih spesifik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anwar TB. 2004. *Dislipidemia sebagai Faktor Resiko Penyakit Jantung Koroner*. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan, hal. 79-80
- Bentley C, Bejta F, De Pascale C, Avella M, Wheeler-Jones C P D, Botham K M, Lawson C. 2007. Dietary Fats Induce Human Monocyte Activation in vitro. *Biochemical Society Transactions*, 35 (3) : 464-465.
- Blaha M, Krejsek J, Blaha V, Andrys C, Vokurkova D, Maly J, Blazek M, Skorepova M. 2004. Selectins and Monocyte Chemotactic Peptide as the Markers of Atherosclerotic Activity. *Physiological Research* 53 : 273-278
- Boyle, J J. 2005. Macrophage Activation in Atherosclerosis: Pathogenesis and Pharmacology of Plaque Rupture. *Current Vascular Pharmacology* 3: 63-68
- Chumark P. 2007. *Antiatherosclerotic Activities of Water Extract of Moringa oleifera Lam. Leaves*. Mahidol University.
- Cunningham, KS, Gotlieb, AI. 2005. The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis. *Laboratory Investigation* 85: 9-23.
- Curtiss LK. 2009. *Reversing atherosclerosis?* N Engl J Med 360;11, NEJM.org, diakses Maret 2011.
- Deshmane S L, Kremlev S, Amini S, Saway B E. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) : An Overview. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 2009; 29 (6): 313-326.
- Dewi LP, Ciptati. 2010. *Isolasi Senyawa Antioksidan dari Buah Tin (Ficus carica Linn)*
- Embun Media dan Florist. 2011. <http://pohontin.wordpress.com/2011/02/11/buah-tin-pohon-tin/>. Diakses Januari 2012
- Fauci. 2008. *The Pathogenesis, Prevention, and Treatment of Atherosclerosis*. In : Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL (Eds), *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16<sup>th</sup> Ed. The McGraw Hill Companies, USA. p. 1429
- Getz, GS., Reardon, CA. Nutrition and Cardiovascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007; 27: 2499-2506.
- Guyton AC and Hall JE. 2006. *Textbook of Medical Physiology*, 11<sup>th</sup> Ed, Elsevier Inc, Philadelphia, p. 840-851
- Haris M. 2010. *Buah Surga*. <http://diperta.jabarprov.go.id/index.php/subMenu/informasi/berita/detailberita/157>. Diakses tanggal 15 Desember 2011



Ibelgafts. 1996. *Monocyte Chemoattractant Protein-1*. Cytokines & Cell Online Pathfinder Encyclopedia. <http://www.copewithcytokines.de>. Diakses Januari 2012.

Junqueira, dkk. 1995. *Histologi Dasar*. Edis 8. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Purborisanti D K. 2012. *Pengaruh Polifenol Buah Tin (Ficus Carica Linn.) terhadap Pembentukan Foam Cell Pada Aorta Tikus (Rattus Norvegicus L.) Dengan Diet Aterogenik*. Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

L Gu, et al. Absence of Monocyte Chemoattractant Protein-1 Reduces Atherosclerosis in Low Density Lipoprotein Receptor–Deficient Mice. In *Molecular Cell*; 1999; 2: 275-281

Libby P. 2005a. *The pathogenesis of Atherosclerosis*. Harrison's Principle of Internal Medicine 6th Edition : 1425-1430.

Libby P. 2005b. *Prevention and Treatment of Atherosclerosis*. Harrison's Principle of Internal Medicine 6th Edition : 1430-1432.

Linder M C. 1992. *Biokimia Nutrisi dan Nutrisi dengan Pemakaian secara Klinis*. Jakarta : UI Press.

Mach F. 2007. *Inflammation is a Crucial Feature of Atherosclerosis and A Potential Target to Reduce Cardiovascular Events*. Diakses Desember 2011.

Manach, C, Scalbert, A, Morand, C, Rémésy, C, Jiménez, L. *Polyphenols: food sources and bioavailability*. Am J Clin Nutr 2004;79:727–47.

Marinova, D, Ribarova, F, Atanassova, M. 2005. *Total Phenolics and Total Flavonoids in Bulgarian Fruits and Vegetables*. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy, 40, 3, 2005, 255-260.

Maus U, Henning S, Wenschuh H, Mayer K, Seeger W, Lohmeyer J. 2002. Role of Endothelial MCP-1 in Monocyte Adhesion of Inflamed Human Endothelium Under Physiological Flow. *Am J Physiol Heart J Physiol* 283 : 2584-2591.

Murray RK., Granner DK., Rodwell VW. 2009. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 27<sup>th</sup> Ed., McGraw-Hill Companies, ch.15.

Murwani S, Mulyohadi A, Muliarta K. 2005. Diet Atherogenik pada Tikus Putih sebagai Model Hewan Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 22(1) : 6-9

Mushoffi, F.Z. 2010. <http://www.ipb.ac.id> . Diakses 10 Januari 2011

Myltenyi Biotech. 2008. *Human MCP-1*. <http://www.miltenyibiotech.com>. Diakses Januari 2012.

- Napoli C and Lerman LO. 2001. Involvement of Oxidation-Sensitive Mechanisms in the Cardiovascular Effects of Hypercholesterolemia. *Mayo Clin Proc.*, 76: 619-631.
- National Heart Blood Lung Institute. 2009. *Who Is At Risk For Atherosclerosis*. <http://www.nhlbi.nih.gov>. Diakses Januari 2012.
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT.Rineka Cipta, hal 165-167.
- Price S A and Wilson. 2006. *Pathophysiology : Clinical Concepts of Disease Processess*. 6th Edition. Diterjemahkan oleh Tim Penerjemah EGC. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Qusti, SY, Ahmed, Abo-khatwa, A., Lahw, M. 2010. *Screening of Antioxidant Activity and Phenolic Content of Selected Food Items Cited in The Holy Quran*. *EJBS* 2 (1), Jan-March 2010; 40-51.
- RayBio. 2012. Rat MCP-1 ELISA Kit. User Manual (Revised Mar 1, 2012). *RayBio\_ Rat MCP-1 ELISA Kit Protocol (Cat#: ELR-MCP1-001)*. [www.raybiotech.com](http://www.raybiotech.com) . Diakses 10 Oktober 2012
- Robert J Aiello, Patricia-Ann K Bourassa, Saralyn Lindsey, Weifan Weng, Edward Natoli, Barrett J Rollins, Patrice M Milos. 1999. *Monocyte Chemoattractant Protein-1 Accelerates Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice*. <http://atvb.ahajournals.org/>. Diakses 27 November 2012.
- Ross, R. *Atherosclerosis-an inflammatory disease*. *N Engl J. Med.* 1999; 340: 115-126
- Saskia. 2010. <http://pohontin.blogspot.com>. Diakses 10 januari 2011
- Schwartz C J, Valente A J, Sprague E A, Kelley J L, Nerem R M. 1991. *The pathogenesis of Atherosclerosis: An Overview*. *Clinical Cardiology* 14 : 1-16
- Society Vascular Nursing. 2008. *Atherosclerosis*. <http://www.svnet.org>. Diakses Januari 2012.
- Stover, E, Aradhya, M. 2007. *The Fig: Overview of an Ancient Fruit*. *HortScience* vol. 42(5) August 2007: 1083-7.
- Teresa, SP, Moreno, DA, Viguera, CG. 2010. *Flavanols and Anthocyanins in Cardiovascular Health: A Review of Current Evidence*. *Int. J. Mol. Sci.* 2010, 11, 1679-1703; doi:10.3390/ijms11041679.
- Tushuizen, ME, Diamant, M, Heine, RJ. 2005. *Postprandial dysmetabolism and cardiovascular disease in type 2 diabetes*. *Postgrad Med J* 2005;81:1-6 doi:10.1136/pgmj.2004.020511



Veberic, R, Colaric, M, Stampar, F. 2008. *Phenolic acids and flavonoids of fig fruit (Ficus carica L.) in the northern Mediterranean region*. [Food Chemistry Volume 106, Issue 1](#), 1 January 2008, Pages 153-157.

Vinson, JA. 1999. *The Functional Food Properties of Figs*. American Association of Cereal Chemist, Inc, February 1999, vol. 44 No. 2.

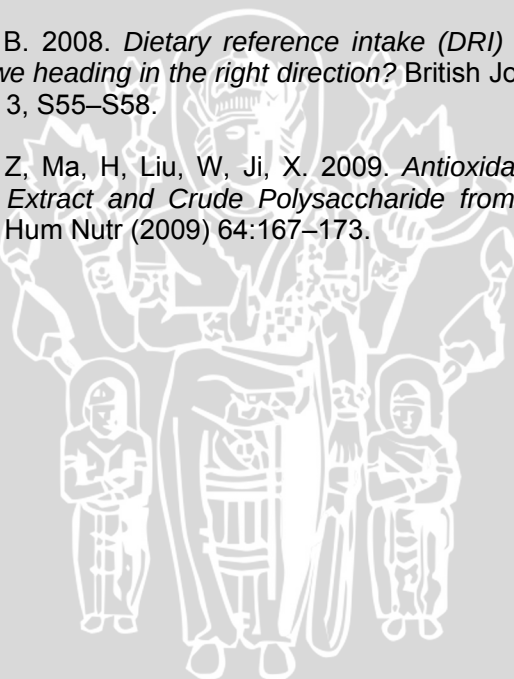
Vinson, JA., Zubik, Ligia, Bose, Pratima, Samman, Najwa, Proch, John. 2005. *Dried Fruits: Excellent in Vitro and in Vivo Antioxidants*. Journal of the American College of Nutrition, Vol. 24, No. 1, 44–50.

Weissberg P L. 2000. *Atherogenesis: current Understanding of the Causes of Atheroma*. Heart 83 : 247-252.

WHO. 2007. *Prevention of cardiovascular disease: guideline for assessment and management of cardiovascular risk*.

Williamson, G, Holst, B. 2008. *Dietary reference intake (DRI) value for dietary polyphenols: are we heading in the right direction?* British Journal of Nutrition (2008), 99, Suppl. 3, S55–S58.

Yang, X, Yu, W, Ou, Z, Ma, H, Liu, W, Ji, X. 2009. *Antioxidant and Immunity Activity of Water Extract and Crude Polysaccharide from Ficus carica L. Fruit*. Plant Foods Hum Nutr (2009) 64:167–173.





**Lampiran 1****PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Noorma Lukitasari

NIM : 0910710100

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

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

Malang, 26 Desember 2012

( Noorma Lukitasari )  
NIM. 0910710100

## Lampiran 2

### ALUR PEMBUATAN PAKAN DIET NORMAL

Penimbangan bahan PARS dan tepung terigu



Pencampuran bahan



Penambahan air secukupnya



Aduk rata



Bentuk bulatan dari pakan



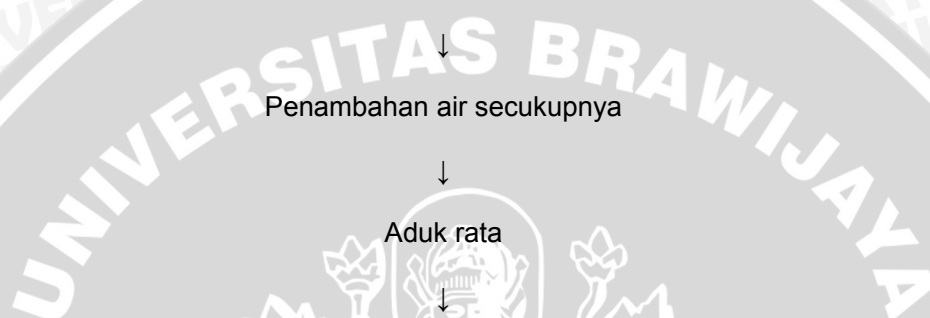
Penggilingan pakan



Penimbangan pakan untuk tiap ekor tikus



Pembagian pakan



### Lampiran 3

### ALUR PEMBUATAN PAKAN DIET TINGGI LEMAK

Penimbangan bahan PARS, tepung terigu, minyak babi, minyak kambing, kuning

telur, dan asam kolat



Pencampuran bahan



Penambahan air secukupnya



Aduk rata



Bentuk bulatan dari pakan



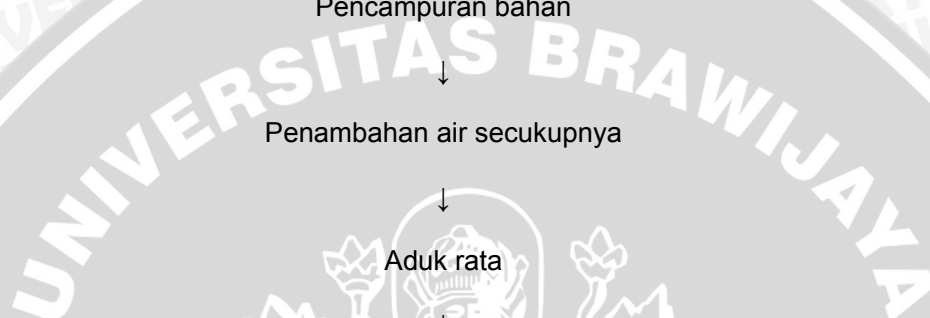
Penggilingan pakan



Penimbangan pakan untuk tiap ekor tikus

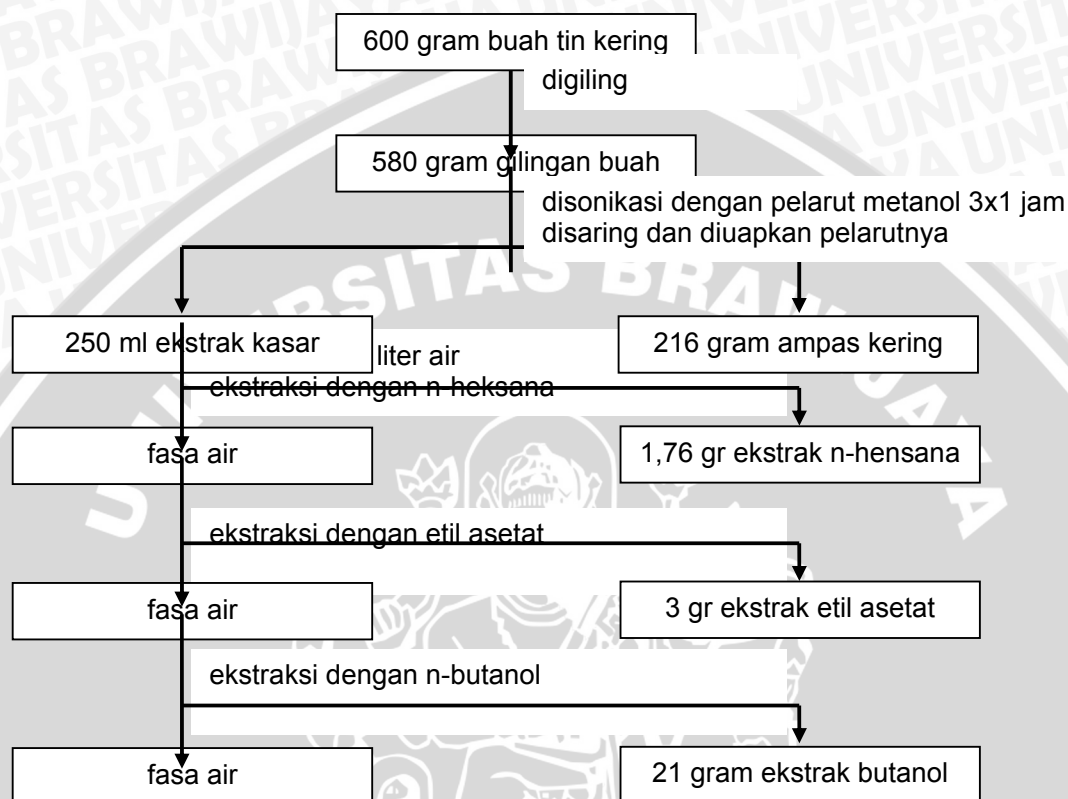


Pembagian pakan





## Lampiran 4

**DIAGRAM ALUR EKSTRAKSI POLIFENOL BUAH TIN OLEH FMIPA  
INSTITUT TEKNOLOGI BANDUNG**

(Dewi dan Ciptati, 2010)

**Lampiran 5****Pemeriksaan kadar MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*)****menggunakan metode ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*)**

## Prosedur ELISA :

21. Pemberian Coating antigen pada piring mikrotubes dengan mencampur serum dengan Coating buffer 50  $\mu$ L dengan perbandingan 1:20
22. Inkubasi overnight dengan suhu 4<sup>0</sup>C
23. Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50  $\mu$ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
24. Pemberian *blocking buffer* (BSA 1% dalam PBS)
25. Inkubasi 1 jam pada suhu ruang
26. Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50  $\mu$ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
27. Pemberian Coating Antibodi primer dengan penambahan Anti MCP-1 + PBS dengan perbandingan 1:500
28. Inkubasi 1 jam pada suhu ruang
29. Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50  $\mu$ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
30. Pemberian Coating Antibodi sekunder dengan penambahan Antirabbit IgG Biotin Conjugated + PBS dengan perbandingan 1:1000
31. Inkubasi 1 jam pada suhu ruang
32. Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50  $\mu$ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
33. Penambahan SA-HRP 1 : 1000
34. Inkubasi 1 jam pada suhu ruang
35. Pencucian dengan PBS-T 0,2 % 3x, masing-masing 3 menit

36. Penambahan Sureblue TMB
37. Inkubasi 30 menit pada suhu ruang
38. Stop reaksi dengan HCl 1 N
39. Inkubasi 15 menit
40. Diukur absorbsinya pada  $\lambda 450$  nm dengan ELISA Reader.

(BioRay, 2012)

UNIVERSITAS BRAWIJAYA





## Lampiran 6

PENENTUAN DOSIS POLIFENOL BUAH TIN (*Ficus carica* Linn.)Tabel Perbandingan Luas Permukaan Hewan Coba  
(Paget and Barnes, 1971)

| Konversi          | 20 g<br>mencit | 200 g<br>tikus | 400 g<br>marmut | 1,5 kg<br>kelinci | 2 kg<br>kucing | 4 kg<br>kera | 12 kg<br>anjing | 70 kg<br>manusia |
|-------------------|----------------|----------------|-----------------|-------------------|----------------|--------------|-----------------|------------------|
| 20 gr<br>Mencit   | 1,0            | 7,0            | 12,29           | 27,8              | 29,7           | 64,1         | 124,2           | 387,9            |
| 200 gr<br>Tikus   | 0,14           | 1,0            | 1,74            | 3,3               | 3,3            | 9,2          | 17,8            | 56,0             |
| 400 gr<br>Marmot  | 0,08           | 0,57           | 1,0             | 2,25              | 2,25           | 5,2          | 10,2            | 31,5             |
| 1,5 kg<br>Kelinci | 0,04           | 0,25           | 0,44            | 1,0               | 1,0            | 2,4          | 4,5             | 14,2             |
| 2 kg<br>Kucing    | 0,03           | 0,23           | 0,41            | 0,92              | 0,92           | 2,2          | 4,1             | 13,0             |
| 4 kg<br>Kera      | 0,016          | 0,11           | 0,19            | 0,42              | 0,42           | 1,0          | 1,9             | 6,1              |
| 12 kg<br>Anjing   | 0,008          | 0,06           | 0,10            | 0,22              | 0,22           | 0,52         | 1,0             | 3,1              |
| 70 kg<br>manusia  | 0,0026         | <b>0,018</b>   | 0,031           | 0,07              | 0,07           | 0,16         | 0,32            | 1,0              |

Dosis polifenol buah tin (*Ficus carica* Linn.) yang digunakan pada penelitian ini ditentukan berdasarkan rujukan dari Williamson (2008) yang menyatakan bahwa konsumsi total fenol yang dianjurkan pada manusia adalah > 500 mg/hari. Berdasarkan Tabel Perbandingan Luas Permukaan Hewan Coba (Paget dan Barnes, 1971), konversi dosis polifenol tikus terhadap manusia adalah sebagai berikut:

Dosis manusia (70 kg bb) = 500 mg/hari (Williamson, 2008)

Dosis tikus (200 g bb) = 500 mg/hari x 0,018

= 9 mg/hari

Variasi pemberian dosis didasarkan pada deret ukur  $\frac{1}{2}n$ ,  $n$ , dan  $2n$  adalah sebagai berikut:

- dosis 1 = 4,5 mg/hari

- dosis 2 = 9 mg/hari

- dosis 3 = 18 mg/hari

## Lampiran 7

GAMBAR DOKUMENTASI TIKUS



# Lampiran 8 REKAP DAN GRAFIK BERAT BADAN TIKUS

- Tabel Berat Badan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan

| kelompok | Berat Badan (gr) |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ΣBB |
|----------|------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----|
|          | 09-06<br>2011    | 14-06<br>2011 | 03-07<br>2011 | 12-07<br>2011 | 17-07<br>2011 | 24-07<br>2011 | 02-08<br>2011 | 07-08<br>2011 | 14-08<br>2011 | 18-08<br>2011 |     |
| K-1      | 122              | 112           | 191           | 227           | 244           | 264           | 239           | 267           | 289           | 293           | 171 |
| K-2      | 123              | 137           | 187           | 205           | 214           | 221           | 232           | 239           | 240           | 251           | 128 |
| K-3      | 118              | 155           | 197           | 217           | 219           | 236           | 239           | 246           | 259           | 264           | 146 |
| K-4      | 120              | 126           | 188           | 207           | 217           | 231           | 252           | 268           | 280           | 293           | 173 |
| K-5      | 115              | 130           | 166           | 179           | 183           | 190           | 199           | 201           | 209           | 210           | 95  |
| K+1      | 122              | 136           | 199           | 231           | 236           | 250           | 261           | 271           | 287           | 296           | 174 |
| K+2      | 116              | 127           | 168           | 184           | 191           | 200           | 210           | 218           | 227           | 236           | 120 |
| K+3      | 116              | 124           | 168           | 180           | 188           | 200           | 214           | 225           | 223           | 242           | 126 |
| K+4      | 120              | 130           | 180           | 200           | 204           | 207           | 229           | 251           | 257           | 265           | 145 |
| K+5      | 117              | 122           | 170           | 190           | 196           | 197           | 205           | 215           | 224           | 233           | 116 |
| PA1      | 125              | 130           | 172           | 190           | 200           | 212           | 187           | 203           | 224           | 237           | 112 |
| PA2      | 128              | 112           | 183           | 207           | 220           | 224           | 226           | 221           | 235           | 246           | 118 |
| PA3      | 127              | 134           | 173           | 190           | 198           | 206           | 214           | 224           | 231           | 238           | 111 |
| PA4      | 128              | 139           | 174           | 191           | 200           | 210           | 217           | 227           | 231           | 242           | 114 |
| PA5      | 129              | 139           | 172           | 188           | 201           | 216           | 214           | 219           | 225           | 214           | 85  |
| PB1      | 139              | 152           | 193           | 220           | 231           | 247           | 241           | 257           | 269           | 280           | 141 |
| PB2      | 155              | 167           | 217           | 239           | 250           | 253           | 261           | 261           | 265           | 273           | 118 |
| PB3      | 130              | 149           | 185           | 217           | 230           | 249           | 264           | 280           | 293           | 301           | 171 |
| PB4      | 131              | 146           | 193           | 210           | 211           | 221           | 226           | 240           | 250           | 262           | 131 |
| PB5      | 142              | 130           | 129           | 142           | 149           | 154           | 160           | 164           | 276           | 185           | 43  |
| PC1      | 159              | 168           | 203           | 236           | 245           | 252           | 250           | 262           | 283           | 294           | 135 |
| PC2      | 159              | 158           | 196           | 216           | 222           | 228           | 238           | 245           | 255           | 266           | 107 |
| PC3      | 153              | 148           | 152           | 170           | 172           | 180           | 195           | 199           | 202           | 212           | 59  |
| PC4      | 155              | 166           | 205           | 227           | 235           | 250           | 269           | 281           | 291           | 308           | 153 |
| PC5      | 177              | 186           | 221           | 235           | 242           | 247           | 256           | 260           | 265           | 271           | 94  |

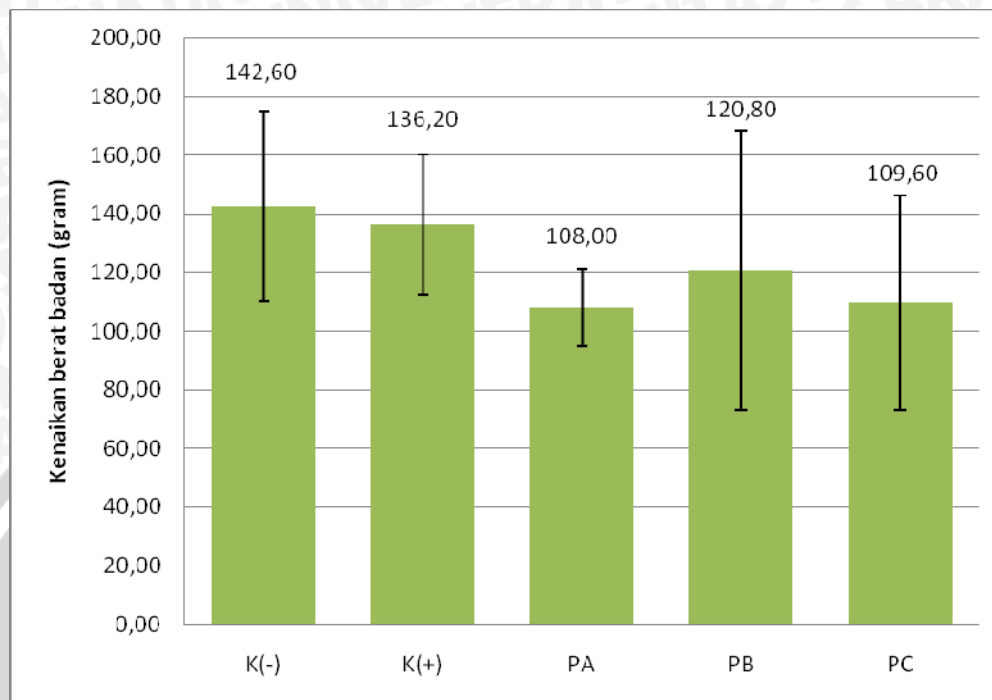
Keterangan:

ΣBB : kenaikan berat badan (gr)

## Lampiran 8 (lanjutan)

Grafik Berat Badan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan





Kenaikan berat badan dihitung dengan mengurangkan berat badan akhir dengan berat badan awal. Pada Grafik Berat Badan Tikus diatas, dapat dilihat rerata kenaikan berat badan pada kelompok perlakuan K(-), K(+), PA, PB, PC berturut-turut sebesar  $142,60 \pm 32,49$  gram,  $136,20 \pm 23,88$  gram,  $108,00 \pm 13,13$  gram,  $120,80 \pm 47,68$  gram,  $109,60 \pm 36,53$  gram. Dari grafik tersebut juga terlihat bahwa rata-rata kenaikan berat badan tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan K(-) yaitu  $142,60 \pm 32,49$  gram dan terendah terdapat pada PA yaitu  $108,00 \pm 13,13$  gram.

# Lampiran 9 REKAP DAN GRAFIK ASUPAN MAKANAN TIKUS

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan

tanggal 15 - 28 Juni 2011

| kelom<br>pok | Tanggal          |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|--------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|              | 15<br>06<br>2011 | 16<br>06<br>2011 | 17<br>06<br>2011 | 18<br>06<br>2011 | 19<br>06<br>2011 | 20<br>06<br>2011 | 21<br>06<br>2011 | 22<br>06<br>2011 | 23<br>06<br>2011 | 24<br>06<br>2011 | 25<br>06<br>2011 | 26<br>06<br>2011 | 27<br>06<br>2011 | 28<br>06<br>2011 |
| K-1          | 15               | 12               | 24               | 15               | 25               | 32               | 33               | 19               | 25               | 30               | 27               | 32               | 37               | 36               |
| K-2          | 12               | 20               | 23               | 19               | 26               | 28               | 24               | 22               | 30               | 24               | 28               | 31               | 30               | 31               |
| K-3          | 3                | 31               | 28               | 24               | 23               | 27               | 26               | 18               | 29               | 32               | 30               | 33               | 25               | 32               |
| K-4          | 27               | 41               | 26               | 16               | 26               | 30               | 42               | 20               | 25               | 27.5             | 34               | 33               | 30               | 26               |
| K-5          | 25               | 20               | 24               | 18               | 24               | 23               | 24               | 22               | 29               | 27.5             | 24               | 23               | 30               | 27               |
| K+1          | 42               | 48               | 48.5             | 48.5             | 48.5             | 49               | 46               | 47               | 46.5             | 45               | 48               | 48               | 48               | 48               |
| K+2          | 15               | 31               | 46.5             | 48.5             | 48.5             | 49               | 45               | 32               | 46.5             | 43               | 48               | 48               | 30               | 48               |
| K+3          | 9.5              | 15               | 16.5             | 13.5             | 17.5             | 21               | 16               | 16               | 14.5             | 9.5              | 21               | 14               | 39               | 18               |
| K+4          | 13               | 22               | 17.5             | 18.5             | 23.5             | 29               | 23               | 21               | 20.5             | 29.5             | 24               | 46               | 35               | 26               |
| K+5          | 22               | 21               | 22.5             | 18.5             | 23.5             | 27               | 25               | 19               | 17.5             | 28               | 29               | 44               | 25               | 27               |
| PA1          | 18.5             | 21               | 18.5             | 12.5             | 21.5             | 20               | 31               | 16               | 19.5             | 19               | 26               | 19               | 19               | 21               |
| PA2          | 15               | 29               | 23.5             | 15.5             | 28.5             | 32               | 28               | 18               | 31.5             | 23               | 30               | 18               | 27               | 22               |
| PA3          | 16.5             | 24               | 23.5             | 18.5             | 21.5             | 24               | 21               | 17               | 25.5             | 20               | 28               | 37               | 25               | 23               |
| PA4          | 16.5             | 25               | 29.5             | 21.5             | 19.5             | 27               | 34               | 21               | 18.5             | 30               | 37               | 32               | 32               | 25               |
| PA5          | 16               | 26               | 23.5             | 14.5             | 20.5             | 19               | 20               | 19               | 23.5             | 17               | 29               | 19               | 33               | 23               |
| PB1          | 31               | 30               | 39.5             | 48.5             | 47.5             | 48               | 46               | 35               | 34.5             | 42               | 46               | 44               | 27               | 47               |
| PB2          | 25.5             | 39               | 33.5             | 44.5             | 18.5             | 42               | 23               | 26               | 29.5             | 27               | 29               | 27               | 36               | 26               |
| PB3          | 8.5              | 20               | 18.5             | 16.5             | 20.5             | 20               | 19               | 14               | 16.5             | 15               | 21               | 23               | 26               | 23               |
| PB4          | 25               | 27               | 21.5             | 23.5             | 20.5             | 23               | 23               | 18               | 19.5             | 23               | 28               | 28               | 26               | 44               |
| PB5          | 9                | 8                | 3.5              | 10.5             | 20.5             | 13               | 8                | 11               | 4.5              | 15               | 16               | 15               | 17               | 14               |
| PC1          | 19               | 25               | 23.5             | 18.5             | 22.5             | 25               | 24               | 21               | 16.5             | 19               | 21               | 21               | 31               | 26               |
| PC2          | 14               | 24               | 20.5             | 18.5             | 19.5             | 20               | 18               | 15               | 16.5             | 18               | 20               | 21               | 22               | 24               |
| PC3          | 8                | 15               | 14.5             | 9.5              | 10.5             | 11               | 13               | 13               | 6.5              | 11.5             | 12               | 19               | 23               | 15               |
| PC4          | 19               | 24               | 26.5             | 23.5             | 35.5             | 25               | 29               | 29               | 33.5             | 20               | 29               | 31               | 18               | 28               |
| PC5          | 16.5             | 25               | 28.5             | 29.5             | 24.5             | 25               | 28               | 18               | 36.5             | 16.5             | 26               | 23               | 40               | 28               |

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)

## Lampiran 9 (lanjutan)

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan

tanggal 29 Juni 2011 – 12 Juli 2011

| kelom<br>pok | Tanggal          |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|--------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|              | 29<br>06<br>2011 | 30<br>06<br>2011 | 01<br>07<br>2011 | 02<br>07<br>2011 | 03<br>07<br>2011 | 04<br>07<br>2011 | 05<br>07<br>2011 | 06<br>07<br>2011 | 07<br>07<br>2011 | 08<br>07<br>2011 | 09<br>07<br>2011 | 10<br>07<br>2011 | 11<br>07<br>2011 | 12<br>07<br>2011 |
| K-1          | 47               | 35               | 35               | 20               | 32               | 33               | 32               | 27               | 36               | 40               | 53               | 46               | 36               | 36               |
| K-2          | 32               | 35               | 26               | 13               | 25               | 27               | 27               | 26               | 18               | 33               | 38               | 31               | 34               | 27               |
| K-3          | 34               | 34               | 28               | 19               | 50*              | 20               | 24               | 24               | 32               | 30               | 40               | 30               | 34               | 30               |
| K-4          | 30               | 41               | 30               | 11               | 22               | 23               | 21               | 21               | 26               | 29               | 40               | 33               | 34               | 32               |
| K-5          | 26               | 29               | 25               | 17               | 17               | 18               | 18               | 19               | 28               | 26               | 29               | 27               | 24               | 24               |
| K+1          | 48               | 47               | 45               | 44               | 50               | 50               | 48               | 48               | 48               | 50               | 43               | 51               | 50               | 50               |
| K+2          | 47               | 40               | 45               | 27               | 47.5             | 50               | 48               | 36               | 48               | 49               | 33               | 52               | 50               | 48               |
| K+3          | 18               | 22               | 17               | 13               | 16               | 18               | 18               | 11               | 17               | 22               | 15               | 20               | 24               | 24               |
| K+4          | 30               | 26               | 24               | 17               | 30               | 35               | 39               | 26               | 20               | 28               | 23               | 26               | 8                | 22               |
| K+5          | 27               | 23               | 26               | 15               | 21               | 30               | 29               | 29               | 24               | 26               | 23               | 30               | 26               | 23               |
| PA1          | 20               | 23               | 18               | 15               | 19.5             | 23               | 24               | 21               | 22               | 24               | 21               | 25               | 23               | 25               |
| PA2          | 21               | 16               | 18               | 15               | 17               | 20               | 24               | 19               | 24               | 24               | 19               | 26               | 20               | 21               |
| PA3          | 25               | 29               | 23               | 31               | 38               | 30               | 38               | 30               | 35               | 43               | 32               | 40               | 40               | 34               |
| PA4          | 32               | 29               | 28               | 28               | 29               | 33               | 38               | 28               | 27               | 49               | 28               | 32               | 36               | 38               |
| PA5          | 21               | 21               | 20               | 22               | 17               | 23               | 23               | 25               | 24               | 25               | 21               | 26               | 24               | 21               |
| PB1          | 48               | 24               | 40               | 23               | 50*              | 36               | 38               | 28               | 48               | 46               | 43               | 42               | 47               | 22               |
| PB2          | 25               | 23               | 20               | 17               | 23               | 23               | 27               | 19               | 35               | 23               | 23               | 27               | 31               | 26               |
| PB3          | 23               | 23               | 16               | 10               | 17               | 41               | 28               | 22               | 25               | 26               | 20               | 25               | 26               | 23               |
| PB4          | 39               | 23               | 22               | 29               | 19               | 20               | 19               | 25               | 23               | 26               | 20               | 20               | 27               | 22               |
| PB5          | 16               | 11               | 13               | 9                | 10               | 12               | 12               | 13               | 13               | 13               | 12               | 15               | 14               | 15               |
| PC1          | 24               | 25               | 24               | 18               | 21               | 21               | 18               | 28               | 30               | 25               | 25               | 24               | 26               | 24               |
| PC2          | 19               | 18               | 16               | 15               | 29               | 20               | 24               | 24               | 21               | 28               | 20               | 23               | 26               | 24               |
| PC3          | 13               | 12               | 15               | 14               | 17               | 12               | 16               | 15               | 20               | 24               | 20               | 21               | 19               | 27               |
| PC4          | 39               | 21               | 35               | 23               | 34               | 30               | 35               | 46               | 48               | 43               | 39               | 43               | 45               | 37               |
| PC5          | 23               | 23               | 23               | 17               | 17               | 20               | 23               | 21               | 24               | 23               | 22               | 23               | 23               | 23               |

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)

\* sisa pakan hilang



## Lampiran 9 (lanjutan)

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan

tanggal 13 – 26 Juli 2011

| kelom<br>pok | Tanggal          |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|--------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|              | 13<br>07<br>2011 | 14<br>07<br>2011 | 15<br>07<br>2011 | 16<br>07<br>2011 | 17<br>07<br>2011 | 18<br>07<br>2011 | 19<br>07<br>2011 | 20<br>07<br>2011 | 21<br>07<br>2011 | 22<br>07<br>2011 | 23<br>07<br>2011 | 24<br>07<br>2011 | 25<br>07<br>2011 | 26<br>07<br>2011 |
| K-1          | 24               | 41               | 38               | 35               | 35               | 41               | 38               | 34               | 31               | 37               | 32               | 37               | 30               | 30               |
| K-2          | 17               | 27               | 28               | 28               | 28               | 32               | 33               | 25               | 34               | 30               | 26               | 28               | 27               | 33               |
| K-3          | 24               | 30               | 30               | 30               | 29               | 34               | 35               | 29               | 29               | 38               | 26               | 31               | 27               | 31               |
| K-4          | 20               | 28               | 30               | 31               | 31               | 29               | 40               | 25               | 19               | 35               | 27               | 34               | 30               | 34               |
| K-5          | 24               | 24               | 23               | 30               | 25               | 27               | 25               | 26               | 21               | 30               | 22               | 26               | 23               | 27               |
| K+1          | 34               | 50               | 33               | 47               | 51               | 52               | 50               | 43               | 45               | 37               | 47               | 50               | 31               | 48               |
| K+2          | 19               | 33               | 42               | 37               | 50               | 50               | 43               | 35               | 45               | 28               | 44               | 48               | 24               | 46               |
| K+3          | 11               | 19               | 16               | 15               | 24               | 29               | 30               | 40               | 25               | 21               | 21               | 20               | 20               | 25               |
| K+4          | 11               | 13               | 22               | 21               | 29               | 22               | 30               | 22               | 19               | 13               | 13               | 10               | 14               | 23               |
| K+5          | 15               | 27               | 22               | 22               | 28               | 15               | 20               | 19               | 20               | 17               | 24               | 15               | 14               | 18               |
| PA1          | 12               | 16               | 20               | 20               | 22               | 21               | 25               | 24               | 23               | 20               | 22               | 20               | 22               | 22               |
| PA2          | 15               | 20               | 22               | 21               | 22               | 20               | 23               | 19               | 20               | 16               | 20               | 20               | 15               | 23               |
| PA3          | 23               | 35               | 18               | 27               | 32               | 34               | 30               | 34               | 30               | 28               | 26               | 30               | 22               | 25               |
| PA4          | 14               | 26               | 28               | 30               | 33               | 32               | 36               | 37               | 31               | 29               | 32               | 28               | 13               | 32               |
| PA5          | 14               | 23               | 20               | 19               | 25               | 23               | 22               | 20               | 19               | 17               | 18               | 19               | 18               | 25               |
| PB1          | 20               | 31               | 36               | 31               | 35               | 36               | 37               | 40               | 41               | 31               | 43               | 30               | 12               | 13               |
| PB2          | 17               | 26               | 24               | 25               | 24               | 20               | 24               | 24               | 21               | 24               | 24               | 26               | 22               | 26               |
| PB3          | 18               | 20               | 18               | 23               | 27               | 22               | 24               | 23               | 21               | 21               | 23               | 25               | 20               | 22               |
| PB4          | 23               | 17               | 17               | 24               | 21               | 20               | 18               | 25               | 19               | 19               | 21               | 20               | 18               | 18               |
| PB5          | 13               | 10               | 10               | 14               | 16               | 14               | 14               | 17               | 14               | 12               | 12               | 15               | 13               | 13               |
| PC1          | 19               | 25               | 23               | 26               | 25               | 23               | 28               | 21               | 22               | 20               | 26               | 25               | 22               | 26               |
| PC2          | 19               | 21               | 18               | 22               | 20               | 17               | 20               | 19               | 19               | 15               | 22               | 20               | 14               | 20               |
| PC3          | 6                | 14               | 13               | 15               | 20               | 17               | 17               | 16               | 15               | 14               | 15               | 18               | 17               | 21               |
| PC4          | 38               | 36               | 21               | 36               | 47               | 22               | 40               | 31               | 41               | 34               | 36               | 46               | 30               | 31               |
| PC5          | 16               | 21               | 25               | 21               | 21               | 20               | 19               | 22               | 16               | 20               | 22               | 23               | 17               | 21               |

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)

## Lampiran 9 (lanjutan)

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan

tanggal 27 Juli – 09 Agustus 2011

| kelom<br>pok | Tanggal          |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|--------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|              | 27<br>07<br>2011 | 28<br>07<br>2011 | 29<br>07<br>2011 | 30<br>07<br>2011 | 31<br>07<br>2011 | 01<br>08<br>2011 | 02<br>08<br>2011 | 03<br>08<br>2011 | 04<br>08<br>2011 | 05<br>08<br>2011 | 06<br>08<br>2011 | 07<br>08<br>2011 | 08<br>08<br>2011 | 09<br>08<br>2011 |
| K-1          | 32               | 28               | 10               | 11               | 52.5             | 21               | 22               | 22               | 34.5             | 29               | 31               | 49               | 35               | 41               |
| K-2          | 32               | 33               | 29.5             | 31               | 39.5             | 30               | 33               | 15               | 25               | 25               | 30               | 27               | 29               | 28               |
| K-3          | 34               | 27               | 29               | 33               | 33.5             | 32               | 31               | 20               | 24               | 28               | 36               | 36               | 29               | 33               |
| K-4          | 33               | 29               | 32               | 30               | 37.5             | 37               | 33               | 24               | 30               | 29               | 26               | 36               | 31               | 35               |
| K-5          | 33               | 24               | 22               | 22               | 26.5             | 21               | 26               | 22               | 25               | 22               | 26               | 28               | 25               | 27               |
| K+1          | 41               | 43               | 31               | 49               | 46               | 41               | 39               | 34               | 33               | 40               | 39               | 33               | 50               | 25               |
| K+2          | 42               | 47               | 26               | 34               | 26.5             | 34               | 27               | 30               | 22.5             | 26               | 26               | 32               | 26               | 21               |
| K+3          | 19               | 21               | 23               | 22               | 23               | 42               | 17               | 16               | 32               | 17               | 21               | 23               | 20               | 20               |
| K+4          | 16               | 22               | 28               | 34               | 28               | 35               | 27               | 23               | 31               | 22               | 29               | 28               | 31               | 21               |
| K+5          | 16               | 18               | 20               | 22               | 21               | 26               | 16               | 12               | 18.5             | 18               | 19.5             | 28               | 20               | 45               |
| PA1          | 21               | 19               | 20               | 19               | 21               | 4                | 5                | 7                | 14               | 15               | 20               | 20               | 22               | 23               |
| PA2          | 16               | 17               | 17               | 20               | 22               | 21               | 20               | 18               | 29               | 19               | 19               | 15               | 18               | 18               |
| PA3          | 29               | 20               | 18               | 30               | 27               | 24               | 21               | 22               | 29               | 26               | 29               | 38               | 19.5             | 22               |
| PA4          | 25               | 28               | 28               | 44               | 24               | 34               | 20               | 24               | 25               | 26               | 25.5             | 26               | 22               | 26               |
| PA5          | 17               | 20               | 19               | 26               | 25               | 21               | 23               | 22               | 29               | 20               | 24.5             | 23.5             | 21               | 19               |
| PB1          | 11               | 13               | 17               | 30               | 27               | 29               | 20               | 29               | 22.5             | 25               | 26               | 33               | 28               | 27               |
| PB2          | 24               | 26               | 24               | 24               | 22.5             | 30               | 24               | 16               | 25               | 24               | 26               | 26               | 22.5             | 24               |
| PB3          | 20               | 20               | 18               | 26               | 26               | 25               | 22               | 20               | 27               | 26               | 28.5             | 17               | 25               | 22               |
| PB4          | 21               | 18               | 19               | 24               | 27               | 27               | 18               | 15               | 26               | 21               | 24               | 21               | 24               | 16               |
| PB5          | 1                | 13               | 14               | 19               | 23.5             | 18               | 18               | 16               | 21               | 14               | 20               | 19               | 11               | 24               |
| PC1          | 22               | 21               | 21               | 22               | 15               | 8                | 14               | 21               | 27               | 23               | 32               | 29               | 23               | 24               |
| PC2          | 28               | 18               | 19               | 26               | 28.5             | 22               | 24               | 22               | 24               | 22               | 29               | 26               | 22               | 19               |
| PC3          | 20               | 20               | 20               | 23               | 18.5             | 23               | 18               | 18               | 20               | 18               | 23               | 18               | 19               | 16               |
| PC4          | 35               | 31               | 32               | 30               | 36               | 39               | 35               | 32               | 36               | 30               | 28               | 30               | 31               | 29               |
| PC5          | 19               | 23               | 19               | 46               | 17               | 31               | 16               | 19               | 27               | 20               | 23               | 25.5             | 19               | 16               |

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)

## Lampiran 9 (lanjutan)

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan

tanggal 10 - 18 Agustus 2011

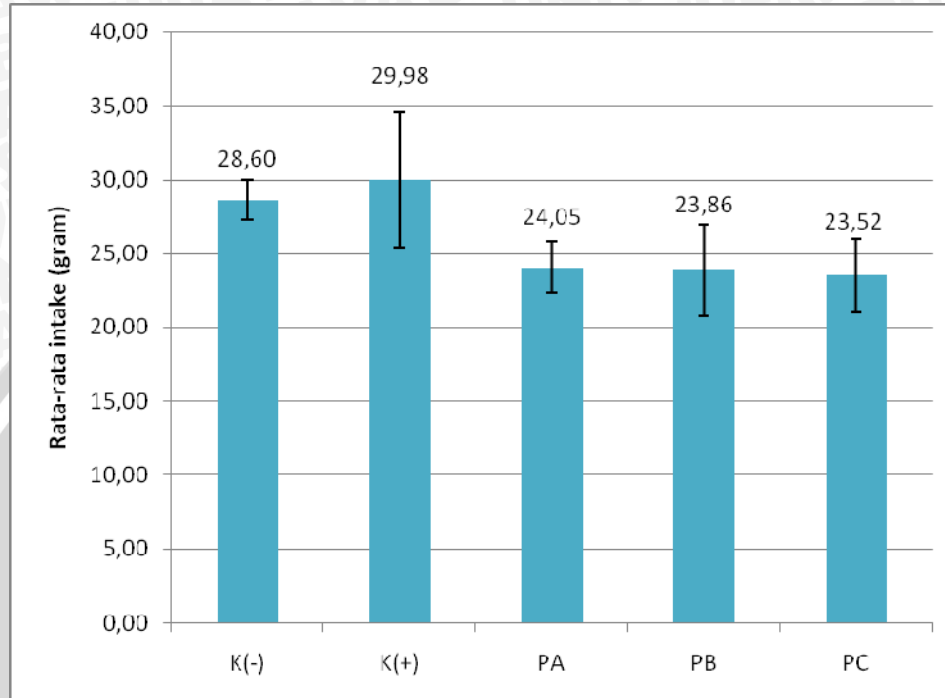
| kelompok | Tanggal          |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|----------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|          | 10<br>08<br>2011 | 11<br>08<br>2011 | 12<br>08<br>2011 | 13<br>08<br>2011 | 14<br>08<br>2011 | 15<br>08<br>2011 | 16<br>08<br>2011 | 17<br>08<br>2011 | 18<br>08<br>2011 |
| K-1      | 34               | 38               | 41               | 35               | 37               | 35               | 32               | 34               | 30               |
| K-2      | 27               | 24               | 30               | 30               | 25               | 28               | 24               | 29               | 15               |
| K-3      | 31               | 31               | 30               | 34               | 29               | 26               | 30               | 23               | 28               |
| K-4      | 33               | 32               | 38               | 35               | 37               | 36               | 33               | 34               | 31               |
| K-5      | 24               | 24               | 25               | 23               | 24               | 19               | 20               | 23               | 19               |
| K+1      | 38.5             | 40               | 44               | 53               | 47               | 47               | 33               | 34               | 41               |
| K+2      | 25.5             | 28               | 46               | 26               | 30               | 26               | 30               | 20               | 20               |
| K+3      | 22.5             | 24               | 26               | 33               | 21               | 24               | 43               | 24               | 21               |
| K+4      | 26.5             | 35               | 29               | 39               | 26               | 28               | 29               | 28               | 23               |
| K+5      | 24.5             | 21               | 25               | 30               | 20               | 22               | 29               | 19               | 18               |
| PA1      | 26               | 24.5             | 32               | 31               | 23               | 26               | 27               | 22               | 19               |
| PA2      | 24               | 24.5             | 28               | 40               | 19               | 25               | 24               | 20               | 17               |
| PA3      | 28               | 30.5             | 32               | 29               | 26               | 43               | 26               | 51               | 28               |
| PA4      | 24               | 26.5             | 25               | 26               | 17               | 42               | 32.5             | 26               | 20               |
| PA5      | 27               | 22.5             | 23               | 26               | 18               | 25               | 24               | 19               | 20               |
| PB1      | 27               | 45.5             | 34               | 40               | 32               | 38               | 46               | 30               | 26               |
| PB2      | 27               | 18.5             | 20               | 33               | 23               | 27               | 32               | 19               | 26               |
| PB3      | 30               | 24.5             | 26               | 58               | 22               | 29               | 26               | 24               | 22               |
| PB4      | 20               | 21.5             | 30               | 35               | 21               | 33               | 12               | 30               | 18               |
| PB5      | 19               | 20.5             | 21               | 27               | 14               | 18               | 22               | 18               | 18               |
| PC1      | 30               | 24.5             | 30               | 31               | 24               | 29               | 30               | 26               | 21               |
| PC2      | 28               | 23.5             | 27               | 30               | 21               | 27               | 33               | 20               | 22               |
| PC3      | 22               | 21.5             | 25               | 25               | 19               | 20               | 26               | 23               | 18               |
| PC4      | 30               | 38.5             | 22               | 37               | 29               | 29               | 28               | 32               | 27               |
| PC5      | 23               | 23.5             | 24               | 30               | 24               | 33               | 19               | 21               | 18               |

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)



## Lampiran 9 (lanjutan)

Grafik Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan

Asupan makanan tikus dihitung dengan mengurangi jumlah pakan yang diberikan per hari dengan sisa pakan per hari. Pada Grafik Asupan Makanan Tikus diatas dapat dilihat rerata asupan makanan pada kelompok perlakuan K(-), K(+), PA, PB, PC berturut-turut sebesar  $28,60 \pm 1,35$  gram/hari,  $29,98 \pm 4,54$  gram/hari,  $24,05 \pm 1,74$  gram/hari,  $23,86 \pm 3,09$  gram/hari, dan  $23,52 \pm 2,47$  gram/hari. Dari grafik tersebut juga terlihat bahwa rata-rata asupan makanan tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan K(+) yaitu  $29,98 \pm 4,54$  gram/hari dan terendah terdapat pada PC yaitu  $23,52 \pm 2,47$  gram/hari.

## Lampiran 10 HASIL KASAR PENGUKURAN KADAR MCP-1 SERUM

| Nama      | Absorbansi | Kadar (ng/ml) |
|-----------|------------|---------------|
| K - 1     | 0,562      | 557,600       |
| K - 2     | 0,487      | 482,600       |
| K - 3     | 0,520      | 515,600       |
| K - 4     | 0,575      | 570,600       |
| K - 5     | 0,570      | 574,400       |
| rata-rata |            | 540,160       |
| SD        |            | 39,748        |

| Nama      | Absorbansi | Kadar (ng/ml) |
|-----------|------------|---------------|
| PB 1      | 0,570      | 565,600       |
| PB 2      | 0,547      | 542,600       |
| PB 3      | 0,608      | 603,600       |
| PB 4      | 0,573      | 568,600       |
| PB 5      | 0,597      | 601,400       |
| rata-rata |            | 576,360       |
| SD        |            | 25,907        |

| Nama      | Absorbansi | Kadar (ng/ml) |
|-----------|------------|---------------|
| K + 1     | 0,678      | 673,600       |
| K + 2     | 0,694      | 689,600       |
| K + 3     | 0,600      | 595,600       |
| K + 4     | 0,708      | 703,600       |
| K + 5     | 0,611      | 615,400       |
| rata-rata |            | 655,560       |
| SD        |            | 47,434        |

| Nama      | Absorbansi | Kadar (ng/ml) |
|-----------|------------|---------------|
| PC 1      | 0,595      | 590,600       |
| PC 2      | 0,508      | 503,600       |
| PC 3      | 0,530      | 525,600       |
| PC 4      | 0,505      | 500,600       |
| PC 5      | 0,504      | 508,400       |
| rata-rata |            | 525,760       |
| SD        |            | 37,516        |

| Nama      | Absorbansi | Kadar (ng/ml) |
|-----------|------------|---------------|
| PA 1      | 0,590      | 585,600       |
| PA 2      | 0,665      | 660,600       |
| PA 3      | 0,615      | 610,600       |
| PA 4      | 0,670      | 665,600       |
| PA 5      | 0,610      | 614,400       |
| rata-rata |            | 627,360       |
| SD        |            | 34,496        |

| Nama | rata-rata | SD     |
|------|-----------|--------|
| K -  | 540,160   | 39,748 |
| K +  | 655,560   | 47,434 |
| PA   | 627,360   | 34,496 |
| PB   | 576,360   | 25,907 |
| PC   | 525,760   | 37,516 |

## Lampiran 11

## HASIL ANALISIS STATISTIK KADAR MCP-1

## Uji Normalitas

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

|                                  |                | kadar_MCP1 |
|----------------------------------|----------------|------------|
| N                                |                | 25         |
| Normal Parameters <sup>a,b</sup> | Mean           | 585.04000  |
|                                  | Std. Deviation | 61.316311  |
| Most Extreme Differences         | Absolute       | .110       |
|                                  | Positive       | .110       |
|                                  | Negative       | -.091      |
| Kolmogorov-Smirnov Z             |                | .551       |
| Asymp. Sig. (2-tailed)           |                | .922       |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## Oneway

## Descriptives

kadar\_MCP1

|                 | N  | Mean      | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|-----------------|----|-----------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                 |    |           |                |            | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol Negatif | 5  | 540.16000 | 39.747553      | 17.775646  | 490.80689                        | 589.51311   | 482.600 | 574.400 |
| Kontrol Positif | 5  | 655.56000 | 47.434249      | 21.213241  | 596.66260                        | 714.45740   | 595.600 | 703.600 |
| dosis A         | 5  | 627.36000 | 34.496203      | 15.427171  | 584.52731                        | 670.19269   | 585.600 | 665.600 |
| dosis B         | 5  | 576.36000 | 25.907296      | 11.586095  | 544.19184                        | 608.52816   | 542.600 | 603.600 |
| dosis C         | 5  | 525.76000 | 37.515703      | 16.777533  | 479.17810                        | 572.34190   | 500.600 | 590.600 |
| Total           | 25 | 585.04000 | 61.316311      | 12.263262  | 559.72987                        | 610.35013   | 482.600 | 703.600 |

## Test of Homogeneity of Variances

kadar\_MCP1

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| .981             | 4   | 20  | .440 |

## Lampiran 11 (lanjutan)



## ANOVA

kadar\_MCP1

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 61838.640      | 4  | 15459.660   | 10.889 | .000 |
| Within Groups  | 28393.920      | 20 | 1419.696    |        |      |
| Total          | 90232.560      | 24 |             |        |      |

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: kadar\_MCP1

LSD

| (I) kelompok    | (J) kelompok    | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|-----------------|-----------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|                 |                 |                       |            |      | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol Negatif | Kontrol Positif | -115.40000*           | 23.830199  | .000 | -165.10892              | -65.69108   |
|                 | dosis A         | -87.200000*           | 23.830199  | .002 | -136.90892              | -37.49108   |
|                 | dosis B         | -36.200000            | 23.830199  | .144 | -85.90892               | 13.50892    |
|                 | dosis C         | 14.400000             | 23.830199  | .552 | -35.30892               | 64.10892    |
| Kontrol Positif | Kontrol Negatif | 115.400000*           | 23.830199  | .000 | 65.69108                | 165.10892   |
|                 | dosis A         | 28.200000             | 23.830199  | .251 | -21.50892               | 77.90892    |
|                 | dosis B         | 79.200000*            | 23.830199  | .003 | 29.49108                | 128.90892   |
|                 | dosis C         | 129.800000*           | 23.830199  | .000 | 80.09108                | 179.50892   |
| dosis A         | Kontrol Negatif | 87.200000*            | 23.830199  | .002 | 37.49108                | 136.90892   |
|                 | Kontrol Positif | -28.200000            | 23.830199  | .251 | -77.90892               | 21.50892    |
|                 | dosis B         | 51.000000*            | 23.830199  | .045 | 1.29108                 | 100.70892   |
|                 | dosis C         | 101.600000*           | 23.830199  | .000 | 51.89108                | 151.30892   |
| dosis B         | Kontrol Negatif | 36.200000             | 23.830199  | .144 | -13.50892               | 85.90892    |
|                 | Kontrol Positif | -79.200000*           | 23.830199  | .003 | -128.90892              | -29.49108   |
|                 | dosis A         | -51.000000*           | 23.830199  | .045 | -100.70892              | -1.29108    |
|                 | dosis C         | 50.600000*            | 23.830199  | .046 | .89108                  | 100.30892   |
| dosis C         | Kontrol Negatif | -14.400000            | 23.830199  | .552 | -64.10892               | 35.30892    |
|                 | Kontrol Positif | -129.800000*          | 23.830199  | .000 | -179.50892              | -80.09108   |
|                 | dosis A         | -101.600000*          | 23.830199  | .000 | -151.30892              | -51.89108   |
|                 | dosis B         | -50.600000*           | 23.830199  | .046 | -100.30892              | -.89108     |

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

## Lampiran 11 (lanjutan)

## Interactive Graph

