

PENGARUH POLIFENOL BUAH TIN (*Ficus carica*) TERHADAP KADAR
LEPTIN SERUM TIKUS (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR YANG DIBERI
DIET ATEROGENIK

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh:

Muhammad Cholis Hidayat

NIM : 0910713053

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

2013

HALAMAN PENGESAHAN

PROPOSAL TUGAS AKHIR

PENGARUH POLIFENOL BUAH TIN (*Ficus carica*) TERHADAP KADAR
LEPTIN SERUM TIKUS (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR YANG DIBERI
DIET ATEROGENIK

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh:
Muhammad Cholis Hidayat
NIM: 0910713053

Menyetujui :

Pembimbing I

Pembimbing II

(Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc)
NIP. 19550201 198503 2 001

(Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, SpPK)
NIP. 19521225 198002 2 001



KATA PENGANTAR

Puji syukur diucapkan atas kehadiran 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 Leptin Serum Tikus Wistar Jantan Yang Diberi Diet Aterogenik”.

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 aterosklerosis, yang kini diyakini sebagai bentuk peradangan kronis pada pembuluh darah, dengan leptin sebagai salah satu parameter respon inflamasinya. Salah satu strategi terapi yang dapat dilakukan sebagai upaya prevensi aterosklerosis adalah konsumsi antioksidan. Buah Tin memiliki kandungan antioksidan (polifenol) yang tinggi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian polifenol buah Tin (*Ficus carica* Linn) terhadap kadar leptin serum tikus wistar jantan. Diharapkan, penelitian ini dapat menjadi inisiasi untuk membuktikan pengaruh polifenol buah Tin dalam menghambat peningkatan leptin serum.

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. Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono DTM& H, MSc, SpParK, Kajor Pendidikan Dokter atas bimbingannya selama ini.
3. 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 yang amat bermanfaat sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, SpPK sebagai pembimbing kedua atas segala kesabaran, arahan, ilmu, dan masukan yang solutif terhadap penulis selama menyusun Tugas Akhir ini.
5. Dr. rer. Nat. Tri Yudani M.R., M.App.Sc, PhD, yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji, terima kasih untuk uljian yang sangat mengesankan.
6. Dr. Ciptati, MS., M.Sc. dari FMIPA ITB, yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam proses ekstraksi polifenol buah tin.
7. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya atas bantuan dan kemudahan yang telah diberikan.
8. Seluruh tim analis serta karyawan Laboratorium Faal dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah banyak berkontribusi dalam penelitian ini.
9. Yang tercinta dan terkasih ibunda Wahyuning Puji Sejati dan ayahanda Triyono, serta adik-adikku Muhammad Febrianto Ramadhan dan Muhammad Fahlul Al-habsy atas segala kasih sayang, doa, serta dukungan lahir maupun batin yang tiada taranya.
10. Teman-temanku Ardine Cahya Pratiwi, Dea Florensia, Havri Bogi Pradana, Noorma Lukitasari, serta kakak-kakak Nurul Laili Nahlia,

Harnanik Puji Riswati, Dendri Kusuma, Nurdiana R., Prasetyo Bagus, Muizzatul Ihda, Izzati atas kerjasamanya dalam melaksanakan dan menyelesaikan penelitian ini.

11. 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, Januari 2013

Penulis



ABSTRAK

Hidayat, Muhammad Cholis. 2013. Pengaruh Polifenol Buah Tin (*Ficus carica* linn) Terhadap Kadar Leptin Serum Tikus Wistar Jantan yang Diberi Diet Aterogenik. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Pembimbing : (1) Dr. Retty Ratnawati, M.Sc, dr (2) Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, SpPK

Penyakit kardiovaskular, yang disebabkan utamanya karena aterosklerosis, merupakan penyebab utama kecacatan dan kematian dini di seluruh dunia. Salah satu strategi terbaru yang dilakukan sebagai pencegahan aterosklerosis adalah konsumsi antioksidan. Buah Tin (*Ficus carica*) merupakan salah satu natural antioksidan yang memiliki kemampuan antioksidan primer. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh pemberian polifenol buah Tin berbagai dosis terhadap penurunan kadar Leptin pada serum tikus *Rattus norvegicus* galur wistar jantan dengan diet aterogenik. Studi eksperimental menggunakan post test only control group design. Sampel dipilih dengan cara random sampling untuk dibagi dalam lima kelompok, yaitu kelompok Kontrol Negatif (diet normal) (n=5), kelompok Kontrol Positif (diet aterogenik) (n=5), kelompok Perlakuan A (diet aterogenik + polifenol 4.5 mg/hari) (n=5), kelompok Perlakuan B (diet aterogenik + polifenol 9 mg/hari) (n=5), dan kelompok Perlakuan C (diet aterogenik + polifenol 18 mg/ hari) (n=5). Variabel yang diukur pada penelitian ini adalah kadar Leptin serum yang berkaitan dengan respon inflamasi pada patogenesis aterosklerosis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kenaikan kadar Leptin serum pada tikus kontrol negatif dan kontrol positif terdapat perbedaan yang bermakna (ANOVA $p < 0.05$). Pada kelompok perlakuan tikus yang diberi diet aterogenik dan polifenol buah Tin dengan berbagai dosis, terdapat penurunan kadar leptin serum yang bermakna (ANOVA $p < 0.05$). Terdapat hubungan yang kuat antara polifenol buah Tin terhadap kadar Leptin serum (Uji korelasi $p < 0.05$ dan bernilai negatif). Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian polifenol buah Tin dapat menurunkan kadar Leptin serum tikus dengan diet aterogenik secara signifikan. Berdasarkan hasil penelitian ini, disarankan penentuan dosis efektif polifenol buah Tin, pemeriksaan polifenol dominan, dan pemeriksaan mediator intraseluler leptin.

Kata kunci : polifenol, *Ficus carica*, Leptin, aterosklerosis.

ABSTRACT

Hidayat, Muhammad Cholís. 2013. The Effect of Fig (*Ficus carica* linn) Polyphenol to Leptin Serum Level of Wistar Rats Fed with High-Fat Diet. Final Assignment, Medical Department, Faculty of Medicine Brawijaya University Malang. Supervisors : (1) Dr. Retty Ratnawati, M.Sc., dr (2) Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, SpPK

Cardiovascular disease which caused mostly by atherosclerosis plaque is the major cause of disability and death in the world. One of the newest strategy of preventing atherosclerosis is consumption of antioxidant. Figs fruit (*Ficus carica*) contains natural antioxidants and act as primary antioxidant. This research is aimed to prove that polyphenol in figs could decrease level of Leptin serum on male rats *Rattus norvegicus* strain Wistar given atherogenic diet. Experimental study using post test only control group design. The samples selected by random sampling to be divided into five groups, that is Negative Control (normal diet) (n=5), Positive Control (Diet-induced atherosclerosis) (n=5), Treatment A (diet-induced atherosclerosis + polyphenol 4.5mg/day) (n=5), Treatment B (Diet-induced atherosclerosis + polyphenol 9mg/day), (n=5), and Treatment C (Diet-induced atherosclerosis + polyphenol 18mg/day) (n=5). The variable measured is level of Leptin serum which is important on pathogenesis of atherosclerosis related to inflammation. Result of this research indicate that the increasing of Leptin serum level between control negative group and control positive group was significantly different (ANOVA $p < 0.05$). On the given figs polyphenol groups, the increasing of Leptin serum level was significantly different (ANOVA $p < 0.05$). There are strong correlation between figs polyphenol and Leptin serum level (correlation test negatif, $p < 0.05$). The conclusion is figs polyphenol decrease Leptin serum level significantly on the rat given atherogenic diet. There is a suggestion that the research should determinate the effective dose of figs polyphenol, examination of dominant polyphenol, and examination of intracellular mediator of leptin serum.

Keywords: polyphenol, *Ficus carica*, Leptin, atherosclerosis.

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	I
Halaman Persetujuan	li
Kata Pengantar	lii
Abstrak	Vi
Abstract	Vii
Daftar Isi	viii
Daftar Gambar	xli
Daftar Tabel	xii
Daftar Lampiran	xiii
 BAB 1 PENDAHULUAN	
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



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1	Aterosklerosis	6
2.1.1	Definisi Aterosklerosis	6
2.1.2	Morfologi Plak Aterosklerosis.....	6
2.1.3	Patogenesis Aterosklerosis	7
2.1.4	Perkembangan Lesi aterosklerosis	10
2.2	Lipid & Metabolisme Lipid	13
2.3	Hiperlipidemia dan Disfungsi Endotel	15
2.4	Radikal Bebas	18
2.4.1	Definisi	18
2.4.2	Keterlibatan Radikal Bebas pada Aterosklerosis.....	20
2.5	Leptin	21
2.5.1	Definis Leptin	21
2.5.2	Leptin Dan Ateroslerosis.....	22
2.6	Obesitas	25
2.7	Buah Tin (Ficus carica linn).....	27
2.7.1	Definisi	27
2.7.2	Klasifikasi Taksonomi Buah Tin	28
2.7.3	Kandungan Zat Bioaktif Buah Tin	29
2.7.4	Manfaat Buah Tin	30
2.7.5	Polifenol & Flavonoid Buah Tin	32
2.7.6	Polifenol Buah Tin Sebagai Antioksidan.....	36



BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konsep	37
3.2	Deskripsi Kerangka Konsep	38
3.3	Hipotesis Penelitian	38

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1	Rancangan Penelitian	39
4.2	Sampel dan Metode Pengambilan Sampel	40
4.2.1	Sampel Penelitian	40
4.2.2	Besar Sampel	40
4.3	Variabel Penelitian	41
4.3.1	Variabel Independen	42
4.3.2	Variabel Dependen	42
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	42
4.5	Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian	42
4.5.1	Alat Penelitian	42
4.5.2	Bahan Penelitian	43
4.6	Definisi Istilah / Operasional	43
4.7	Prosedur Penelitian / Pengumpulan Data	44
4.7.1	Pembuatan Pakan Tikus	45
4.7.2	Proses Perlakuan Pada Tikus Percobaan	45

4.7.3	Pengukuran Kadar Leptin Serum dengan Metode ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)	46	
4.7.4	Bagan Alur Penelitian	47	
4.8	Metode Analisis Data	48	
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA			
5.1	Hasil Penimbangan Berat Badan Tikus	49	
5.2	Hasil Pengukuran Kadar Leptin Serum	51	
5.3	Analisis Kadar Leptin Serum	53	
BAB 6 PEMBAHASAN			58
BAB 7 PENUTUP			
7.1	Kesimpulan	67	
7.2	Saran	67	
DAFTAR PUSTAKA		68	
LAMPIRAN		78	



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Diagram Skematik Patogenesis aterosklerosis	9
Gambar 2.2 Lesi Tipe 1 (inisial)	10
Gambar 2.3 Lesi Tipe 2 (Fatty Streak)	11
Gambar 2.4 Lesi tipe lanjut	12
Gambar 2.5 Progresifitas Kerusakan Vaskular Akibat Hiperkolesterolemia	18
Gambar 2.6 Mekanisme Regulasi Leptin dalam Aterosklerosis	24
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	37
Gambar 4.1 Bagan Alur Penelitian	47
Gambar 5.1 Perbandingan rata-rata Berat Badan antar masing-masing kelompok perlakuan	50
Gambar 5.2 Perbandingan rata-rata kadar Leptin serum antar masing-masing kelompok perlakuan	52



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi buah Tin	29
Tabel 5.1 Rata-rata Berat Badan Awal dan Akhir Tikus	35
Tabel 5.2 Data hasil Penelitian pada Masing-masing Kelompok Perlakuan	52
Tabel 5.3 Hasil Uji Post Hoc Tukey LSD terhadap Rerata Kadar Leptin Serum	53



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Perhitungan Dosis Polifenol Buah Tin (<i>Ficus carica</i> Linn).....	78
Lampiran 1.1 Tabel Perbandingan Luas Permukaan Hewan Coba ...	78
Lampiran 2 Diagram Alur Penelitian	79
Lampiran 3 Alur Pembuatan Diet Normal	80
Lampiran 4 Alur Pembuatan Diet Aterogenik	81
Lampiran 5 Dokumentasi Hewan Coba	82
Lampiran 6 Pengukuran Kadar Leptin Serum dengan Metode ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)	82
Lampiran 7 Hasil Pengukuran Kadar Leptin Serum	84
Lampiran 8 Hasil Analisis Data Kadar LEPTIN Serum	85
Lampiran 8.1 Uji Normalitas	85
Lampiran 8.2 Uji Homogenitas	85
Lampiran 8.3 Uji One-Way Anova	85
Lampiran 8.4 Uji Post Hoc Tukey HSD	86
Lampiran 8.5 Uji Korelasi Pearson	86
Lampiran 9 Rekap dan Grafik Berat Badan Tikus	87
Lampiran 9.1 Tabel Berat Badan Tikus Wistar Jantan	87
Lampiran 9.2 Tabel Berat Badan Tikus Wistar Jantan	88

Lampiran 10	Rekap dan Grafik Asupan Makanan Tikus	89
Lampiran 10.1	Tabel Asupan Makanan Tikus Wistar Jantan tanggal 15 - 28 Juni 2011	89
Lampiran 10.2	Tabel Asupan Makanan Tikus Wistar Jantan tanggal 29 Juni 2011 – 12 Juli 2011	90
Lampiran 10.3	Tabel Asupan Makanan Tikus Wistar Jantan tanggal 13 – 26 Juli 2011	91
Lampiran 10.4	Tabel Asupan Makanan Tikus Wistar Jantan tanggal 27 Juli – 09 Agustus 2011	92
Lampiran 10.5	Tabel Asupan Makanan Tikus Wistar Jantan tanggal 10 - 18 Agustus 2011	93
Lampiran 10.6	Grafik Asupan Makanan Tikus Wistar Jantan	94
Lampiran 10.7	Analisis Data Pengaruh Pemberian Polifenol Buah Tin terhadap Asupan Makanan Tikus	95
Lampiran 11	Pernyataan Keaslian Tulisan	98
Lampiran 12	Kelengkapan Permohonan Ethical Clearance	70



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Aterosklerosis merupakan salah satu penyakit kardiovaskuler yang menjadi masalah terbesar baik di negara maju maupun negara yang sedang berkembang termasuk Indonesia. Penyakit ini terkait erat dengan timbulnya berbagai masalah kesehatan seperti penyakit jantung koroner, angina pectoris, penyakit jantung iskemik, infark miokardial, stroke, ganggren, dan penyakit pembuluh darah lainnya. Menurut survey terakhir yang dilakukan oleh World Health Organization (WHO) pada tahun 2007, penyakit kardiovaskuler menempati peringkat pertama sebagai penyebab kematian terbesar di dunia dengan angka kematian sebesar 23,94 % dari seluruh penyebab kematian (WHO, 2007). Sebelum tahun 1900, penyakit karena infeksi dan malnutrisi merupakan penyebab kematian terbanyak di dunia, dan kematian karena penyakit kardiovaskular berkisar <10% dari seluruh kematian. Saat ini, jumlah kematian karena penyakit kardiovaskular mencapai 30% dari seluruh kematian di dunia. Hasil survey kesehatan nasional tahun 2007 (Riskesdas) menunjukkan bahwa penyakit kardiovaskular menempati peringkat pertama dari penyakit tidak menular di Indonesia (Depkes, 2009).

Aterosklerosis merupakan salah satu bentuk penyumbatan arteri (Anwar, 2004) yang disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain meningkatnya radikal bebas (Napoli dan Lerman, 2001), proses inflamasi kronis (Getz dan Reardon, 2007), dan disfungsi endotel (Napoli dan Lerman, 2001). Patogenesis aterosklerosis diawali oleh oksidasi lipoprotein LDL (Low Density Lipoprotein). Oksidasi LDL diperantarai oleh enzim-enzim serta radikal bebas yang ada di dalam lapisan intima pembuluh darah. LDL yang teroksidasi (Ox-LDL) inilah yang nantinya terperangkap di dalam makrofag, membentuk lipid droplet, mengalami

metabolisme dan berkembang menjadi foam cell. Peristiwa selanjutnya adalah infiltrasi sel-sel mononuklear di dinding arteri, yang dipicu oleh berbagai kemoatraktan seperti LDL teroksidasi (Ox-LDL), lipoprotein (a), beberapa sitokin [monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1), interleukin-1 (IL-1), dan tumor necrosis factor alpha (TNF- α), dan kolagen dan elastin yang terdegradasi (Ross, 1999). Selanjutnya, aktivasi sel foam di dalam jaringan akan menginduksi respon inflamasi (Kumar, 2010). Inflamasi inilah yang menyebabkan plak aterosklerosis semakin progresif.

Inflamasi adalah suatu rangkaian reaksi yang merupakan respon utama sistem kekebalan tubuh yang terjadi pada jaringan yang mengalami cedera. Leptin memiliki sifat dapat meregulasi sekresi sitokin inflamasi seperti interferon gamma (IFN- γ), interleukin-6 (IL-6), dan tumor necrose factor (TNF- α) di dalam monosit. Leptin juga dapat menstimulasi produksi sitokin pro-inflamasi dari kultur monosit dan meningkatkan produksi sitokin tipe Th1 (IL-2, IFN- γ , TNF- α , IL-18) dari limfosit yang terstimulasi (Werner dan Nickenig, 2004), menunjukkan bahwa leptin jelas merupakan pengatur penting sistem kekebalan tubuh (Mathieu, 2006). Kadar leptin meningkat biasanya selama infeksi dan proses peradangan. Peningkatan kadar leptin pada orang yang menderita obesitas mungkin dapat menjadi predisposisi terhadap inflamasi pada tingkat yang rendah. Obesitas merupakan faktor risiko untuk aterosklerosis melalui promosi faktor risiko lain termasuk dislipidemia, hipertensi dan hiperglikemia. Dalam pengertian ini, obesitas telah lama dikenal sebagai faktor risiko utama untuk aterosklerosis dan disfungsi kardiovaskular (Likuni, 2008).

Hingga saat ini terapi aterosklerosis meliputi agen penurun kolesterol, anti-platelet, anti-koagulan, anti-inflamasi, dan kortikosteroid. Akan tetapi, pemberian terapi tersebut seringkali terlambat karena proses perkembangan aterosklerosis dimulai sejak masa kanak-kanak dan seringkali tidak menunjukkan gejala

(McGill, 2000). Manifestasi klinis muncul pada saat dewasa ketika lesi telah berkembang dan terjadi komplikasi berupa penyakit jantung koroner, angina pectoris, penyakit jantung iskemik, infark miokardial, stroke dan penyakit pembuluh darah lainnya. Oleh karena itu, tindakan pencegahan memiliki potensi yang besar dalam menghambat perkembangan lesi dan munculnya gejala klinik dari aterosklerosis.

Salah satu strategi terbaru yang dilakukan sebagai prevensi aterosklerosis adalah penggunaan antioksidan. Berbagai antioksidan seperti vitamin C (ascorbic acid), vitamin E (α-tocopherol), dan PG (propyl gallate) berpotensi menghambat perkembangan lesi aterosklerosis (Hennig, 2002; Leborgne, 2005). Beberapa peneliti menyebutkan bahwa antioksidan bekerja dengan menghambat reaksi peroksidasi lipid (Nijveldt et al. 2001; Bleys, 2006). Namun, penelitian pada hewan coba menunjukkan hasil bahwa pemberian vitamin C dan vitamin E hanya memberikan efek yang signifikan pada penurunan kadar LDL tetapi tidak mempengaruhi perkembangan lesi aterosklerosis (Levy, 2004; Wibowo, 2003).

Salah satu natural antioksidan yang potensial adalah polifenol buah Tin (*Ficus carica*). Konsentrasi polifenol pada buah Tin memiliki nilai tertinggi yaitu, 1,090-1,110 mg/100 g buah segar, diantara makanan dan minuman yang biasa di konsumsi (Vinson, 1999). Telah diketahui bahwa kandungan fenol pada buah Tin yang dikeringkan dapat meningkatkan lipoprotein di plasma dan memproteksi terhadap oksidasi. Setelah mengkonsumsi 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, serta adanya keterkaitan antara fungsi polifenol sebagai antioksidan dengan aterosklerosis, maka diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh polifenol buah Tin sebagai agen anti-inflamasi melalui penghambatan Leptin pada serum tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus* Δ) jantan dengan diet aterogenik. Selain itu, diharapkan penelitian ini dapat memperkenalkan buah Tin sebagai obat herbal untuk mencegah aterosklerosis dan sebagai variasi konsumsi buah di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian polifenol buah Tin dengan berbagai dosis dapat menghambat peningkatan kadar Leptin pada serum tikus putih *Rattus norvegicus* L. galur wistar dengan diet aterogenik ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah :

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan polifenol buah Tin dapat menjadi terapi alternatif untuk pencegahan aterosklerosis.

1.3.2 Tujuan Khusus

Membuktikan pengaruh pemberian polifenol buah Tin dengan berbagai dosis terhadap penghambatan peningkatan kadar Leptin pada serum tikus putih galur wistar jantan dengan diet aterogenik.

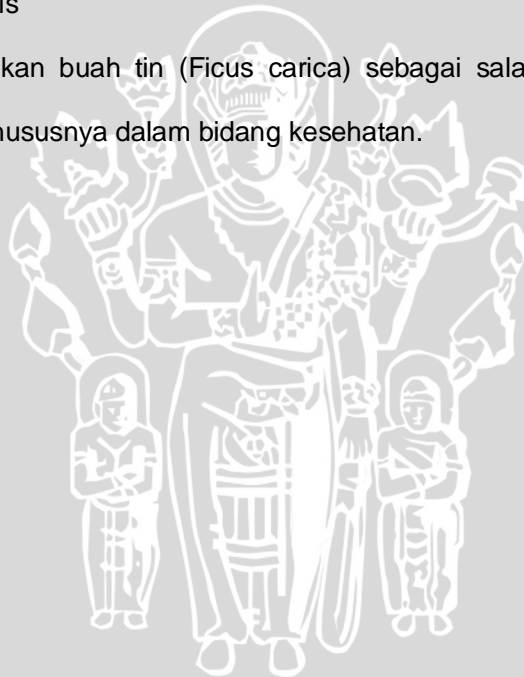
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Sebagai penelitian pendahuluan tentang pengaruh pemberian polifenol buah Tin terhadap kadar Leptin pada patogenesis aterosklerosis.
2. Menambah khasanah ilmu pengetahuan dalam pemanfaatan tanaman herbal khususnya polifenol buah Tin sebagai alternatif terapi preventif aterosklerosis.

1.4.2 Manfaat Praktis

Mengembangkan buah tin (*Ficus carica*) sebagai salah satu tanaman herbal di Indonesia khususnya dalam bidang kesehatan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Aterosklerosis

2.1.1 Definisi

Aterosklerosis merupakan penyakit kronis progresif dengan karakteristik berupa penebalan dan kekakuan dinding pembuluh darah akibat penumpukan lemak intraselular dan ekstraselular, serta akumulasi jaringan fibrosa di dalam arteri, yang akan menimbulkan respon inflamasi. Aterosklerosis dimulai sejak awal kehidupan fetus dan berkembang asimtomatik hingga dewasa dan kemudian, secara klinis banyak disebut sebagai sindrom koroner iskemik, stroke dan penyakit arteri perifer (Su, 2009). Plak aterosklerosis yang terbentuk akan berkembang menjadi lesi yang semakin progresif, merangsang terjadinya penyumbatan pembuluh darah, dan menyebabkan infark pada bagian organ yang disuplai arteri yang bersangkutan. Manifestasi klinis muncul dalam bentuk penyakit jantung iskemik, infark miokardium, stroke, dilatasi aneurismal, gangren, dan penyakit arteri perifer lainnya (Kumar, 2010).

2.1.2 Morfologi Plak Aterosklerosis

Plak aterosclerosis merupakan lesi focal yang berasal dari tunika intima pembuluh darah di arteri muskuler ukuran besar dan sedang, terdiri dari dua bagian, lipid core yaitu bagian tengah yang halus, kuning, berisi lemak terutama kolesterol, debris sel dan bagian fibrous cap yang terdiri dari sel otot polos, makrofag, sel foam, serat kolagen, elastin, proteoglikan, dan juga neovaskularisasi. Ukuran dari plak aterosclerosis bermacam-macam, mulai dari diameter 0,3 – 1,5 cm. Plak akan mengalami perubahan dan meluas secara progresif karena kematian sel dan degenerasi, sintesis dan degradasi atau

remodeling dari matriks ekstraselular, serta pembentukan thrombus karena erosi, ulkus, atau ruptur fibrous cap yang menyebabkan oklusi lumen pembuluh darah. Dilatasi aneurysmal dapat juga terjadi akibat tekanan atau ischemic atrophy pada tunika media, arteri kehilangan jaringan elastic nya, sehingga lemah dan berpotensi ruptur. Komplikasi lain pada penyakit tahap lanjut adalah kalsifikasi pada plak yang menyebabkan arteri menjadi kaku (Kumar, 2010) (McGill, 2000).

Karakteristik distribusi plak atherosclerosis pada manusia lebih sering pada pembuluh darah besar (elastic arteri), seperti aorta, aorta abdominalis bagian bawah, aorta thoracalis descendens. Plak juga sering terjadi di pembuluh darah sedang (muscular arteri) seperti arteri coronary, arteri popliteal, arteri carotis interna, dan sirkulus Willisii. Faktor hemodinamika, struktur, dan juga sifat metabolik pembuluh darah berperan penting pada kecenderungan perkembangan lesi (Kumar, 2010).

2.1.3 Patogenesis Aterosklerosis

Pentingnya penyebab klinis yang luar biasa dari aterosklerosis telah merangsang upaya yang sangat besar untuk memahaminya. Pandangan kontemporer dari aterosclerosis diungkapkan di dalam hipotesis "response-to-injury". Model ini memandang aterosklerosis sebagai inflamasi kronis pada dinding endotel arteri yang cedera. Perkembangan lesi terjadi melalui interaksi dari lipoprotein diubah, monosit-makrofag diturunkan, limfosit T, dan konstituen sel normal dari dinding arteri (Kumar, 2010).

Patogenesis aterosclerosis dapat dijelaskan melalui perkembangan lesi yang terjadi melalui interaksi antara lipoprotein termodifikasi, makrofag yang turunan dari monosit, limfosit T, dan unsur-unsur sel normal pada dinding pembuluh darah arteri. Patogenesis aterosklerosis diawali oleh disfungsi endotel pembuluh darah akibat hiperlipidemia, hipertensi, paparan radikal bebas, infeksi,

dan hiperkolesterolemia, yang akan menyebabkan peningkatan permeabilitas, adhesi leukosit dan thrombosis dari pembuluh darah.(Kumar, 2010). Proses ini akan menyebabkan akumulasi dari lipoprotein, yang lalu akan diikuti oleh oksidasi lipoprotein jenis LDL (Low Density Lipoprotein) di lapisan intima pembuluh darah. Mekanisme oksidasi LDL diperantarai oleh enzim-enzim NADPH oxidase, myeloperoxidase, cytochrome P450, mitochondrial electron transport chain, peroxynitrite, xanthine oxidase, caeruloplasmin, lipoxygenase, dan ROS (Reactive Oxygen Species) di dalam jaringan subendotel (Tsimikas, 2005).

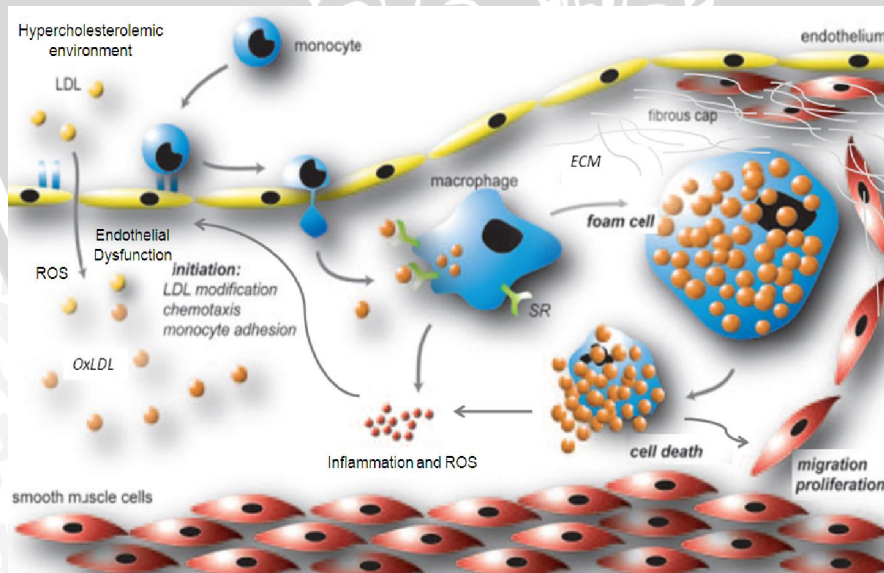
Trauma mikro yang disebabkan oleh peningkatan oksidasi LDL ini akan diikuti disfungsi endotel dan inflamasi yang disusul serentetan tahapan patofisiologi sebagai berikut (Indra, 2007)

1. Peradangan dan penurunan kemampuan sintesis antitrombotik dan vasodilator dalam jumlah normal.
2. Pengeluaran sejumlah sitokin-sitokin pro-inflamasi antara lain: TNF- α , Interferon- γ , IL-1, ROS (Reactive Oxygen Species), dan lain-lain.
3. Pengeluaran faktor pertumbuhan, antara lain: Angiotensin-II, Fibroblast Growth Factor (FGF), Platelet-Derived Growth Factor (PDGF), yang menstimulasi migrasi & proliferasi otot polos di pembuluh darah yang terpapar.
4. Penempelan monosit di endotel yang terpapar, yang dimediasi molekul adhesi, misalnya Vascular Cell Adhesion Molecule (VCAM-1). Adhesi dari monosit di endotel pembuluh darah yang selanjutnya akan bermigrasi ke dalam lapisan intima dan bertransformasi menjadi makrofag dan foam cells (Su, 2009).

LDL yang mengalami oksidasi (OxLDL), terfagositosis oleh makrofag, dan selanjutnya akan berkembang menjadi sel foam. Sel foam yang terbentuk ini memicu inflamasi lebih lanjut, stress oksidatif, produksi sitokin, kemokin, faktor pertumbuhan, yang mempengaruhi keseimbangan endotel yang menyebabkan disfungsi pembuluh darah lebih lanjut (Stapleton et al., 2010).

Selain itu, juga dihasilkan faktor pertumbuhan yang akan menginduksi proliferasi dari sel otot polos ke dalam tunika intima yang selanjutnya akan mensekresikan matriks ekstraselular berupa proteoglikan, kolagen, dan elastin yang akan memerangkap OxLDL dan sel makrofag sehingga terdeplesi di dalam jaringan. (Menno, 2005)

Secara ringkas, pathogenesis aterosklerosis dapat digambarkan dalam diagram skematik berikut (Lihat gambar 2.1)

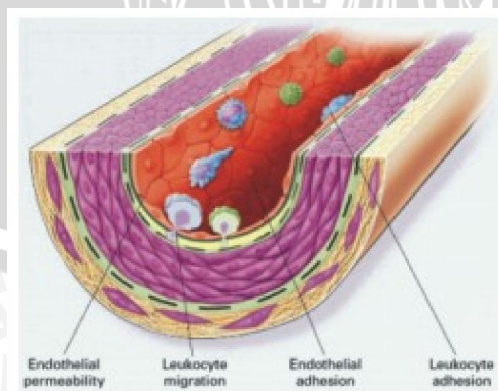


Gambar 2.1 Diagram Skematik Patogenesis aterosklerosis (Menno, 2005).

2.1.4 Perkembangan Lesi aterosklerosis

Lesi awal aterosklerosis dapat terjadi sejak anak-anak, semakin berkembang seiring dengan penambahan umur. Banyak faktor resiko yang dapat memicu terbentuknya plak aterosklerosis, antara lain hiperkolesterolemia, hipertensi, diabetes melitus, merokok, riwayat keluarga, jenis kelamin laki-laki, dan semakin bertambahnya usia. Faktor hemodinamika, struktur, dan juga sifat metabolik pembuluh darah berperan penting pada kecenderungan perkembangan lesi (Kumar, 2003). Klasifikasi perkembangan lesi aterosklerosis menurut The American Heart Association Committee on Vascular Lesion dibagi menjadi enam fase, yaitu lesi tipe I, II, III, IV, V, dan VI (McGill, 2000). Sistem klasifikasi ini mengkaitkan fase klinik evolusi plak dengan tipe lesi yang tampak secara patologi (Prasetyo dan Sadhana, 2006).

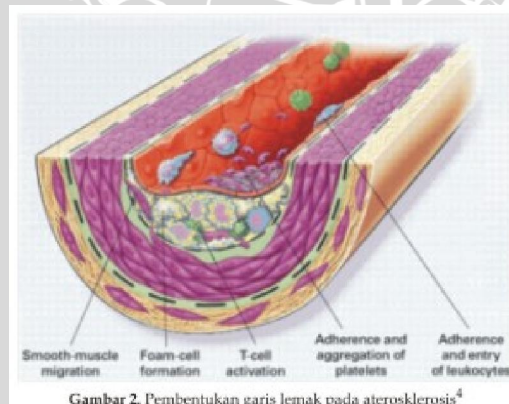
Lesi Tipe I (inisial) sering ditemukan pada bayi dan anak-anak usia < 3 tahun dan juga diidentifikasi pada orang dewasa pada arteri yang rentan terkena aterosklerosis (Prasetyo dan Sadhana, 2006). Lesi ini merupakan lesi yang pertama kali dapat terdeteksi secara mikroskopis dan kimiawi berupa bintik-bintik kuning, secara seluler ditandai dengan adanya sejumlah sel busa (foam cell) di tunika intima arteri dan penebalan adaptif tunika intima, terutama di regio yang mudah terkena (McGill, 2000) (Lihat gambar 2.2)



Gambar 1. Disfungsi endotel (lesi inisial) pada aterosklerosis⁴

Gambar 2.2 Lesi Tipe 1 (inisial) (Prasetyo dan Sadhana, 2000)

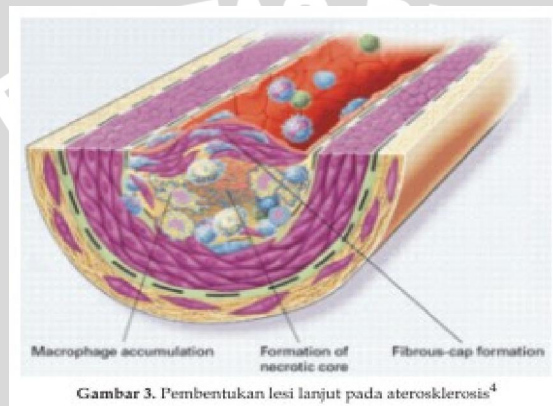
Lesi Tipe II disebut juga garis lemak (fatty streak) merupakan lesi yang terlihat berupa garis-garis atau bercak warna kuning di permukaan intima arteri. Gambaran mikroskopis terdiri atas sel busa berlapis, sel otot polos yang berisi butiran lemak, sejumlah besar makrofag tanpa butiran lemak, miosit berisi butiran lemak, sel limfosit T, dan sel mast yang disertai butiran heterogen lipid ekstrasel di tunika intima, yang disertai butiran heterogen lipid ekstrasel. Garis lemak mulanya terdiri atas makrofag, monosit, dan limfosit T yang mengandung sel busa yang bergabung dengan sejumlah sel miosit (Prasetyo dan Sadhana, 2006). Pada anak usia 5 sampai 15 tahun hampir 99% ditemukan lesi tipe II ini pada aorta abdominalis dan aorta thorakalis. Meskipun terus berkembang, lesi ini tidak selalu menjadi aterosklerosis, ada kalanya tidak menimbulkan gejala apapun hingga akhir hayat (McGill, 2000) (Lihat gambar 2.3)



Gambar 2. Pembentukan garis lemak pada aterosklerosis⁴
Gambar 2.3 Lesi Tipe 2 (Fatty Streak) (Prasetyo dan Sadhana, 2000)

Lesi Tipe III (intermedia, transisional, preateroma) merupakan lesi yang menghubungkan secara morfologis dan kimiawi antara lesi tipe II dan lesi tipe lanjut (tipe IV). Gambaran histopatologisnya khas ditandai dengan timbunan

butiran lipid ekstrasel disekitar lapisan sel otot polos dan partikel lipid ekstrasel yang identik dengan lesi tipe II, di sekitar lapisan miosit di era tertentu yang mengalami penebalan adaptif tunika intimanya. Timbunan lipid yang lebih banyak dan lebih tebal di bawah lapisan makrofag dan sel busa yang menggantikan matriks dan serabut proteoglikan antarsel, serta mendorong dan memisahkan sel otot polos. Lesi ini sering disebut dengan fibrous cap (McGill, 2000) (Lihat gambar 2.4)



Gambar 2.4 Lesi tipe lanjut (Prasetyo dan Sadhana, 2000)

Pada lesi lanjut yang terbagi menjadi tipe IV, V dan VI yang sering disebut ateroma, terjadi akumulasi lipid ekstrasel massif yang berhubungan dengan disorganisasi dan penebalan intima, deformitas dinding arteri dan sering disertai dengan komplikasi berupa fisura, hematoma, dan trombosis. Deposit lemak ekstrasel yang terjadi cukup besar dan dapat merusak intima, juga terjadi mekanisme trombotik yang lebih menonjol dalam mempercepat terjadinya aterosklerosis.. Pada stadium lanjut deposit lemak memodifikasi tunika media dan adventitia dibawahnya (McGill, 2000). Lesi fase ini cenderung membentuk sumbat fibrosa yang memisahkan lesi dengan lumen arteri. Sumbat fibrosa menutupi campuran lekosit, lipid dan debris yang membentuk inti nekrotik. Pinggiran lesi meluas akibat adesi dan masuknya lekosit yang terus berlangsung.

Faktor utama yang berhubungan dengan akumulasi makrofag meliputi; MCSF, MCP-1 dan LDL-oks. Inti nekrotik merupakan akibat terjadinya apoptosis dan nekrosis, peningkatan aktivitas proteolitik dan akumulasi lipid. Sumbat fibrosa terbentuk akibat meningkatnya aktivitas PDGF, TGF-, IL-1, TNF- dan osteopontin, serta berkurangnya degradasi jaringan ikat (Praseto dan Sadhana, 2010).

2.2 Lipid & Metabolisme Lipid

Lemak tidak bermuatan listrik sehingga berifat netral dan hidrofobik. Jika dicampur dengan air, lemak akan memisah. Enzim, sebaliknya bersifat hidrofilik, dapat bercampur dengan baik dengan air yang bersifat polar. Agar lemak dapat bercampur baik dengan air, dan enzim dapat bekerja untuk mencernakan lemak, lemak harus mengalami proses emulsifikasi terlebih dahulu (Almatsier, 2003).

Lipoprotein, salah satu faktor penentu dalam patogenesis terjadinya aterosklerosis, merupakan gabungan molekul gliserida dan protein yang disintesis di dalam hati. Seperempat sampai sepertiga bagian dari lipoprotein adalah protein dan selebihnya adalah lipid. Lipoprotein mempunyai fungsi mengangkut lipid di dalam plasma ke jaringan-jaringan yang membutuhkannya sebagai sumber energi sebagai komponen membran sel atau sebagai prekursor metabolit aktif. Lipoprotein diidentifikasi berdasarkan apolipoprotein yang tampak (apo A, apo B, apo C, apo D, dan apo E) dan diklasifikasikan menjadi lima kelompok yang bervariasi densitasnya, yaitu: kilomikron, VLDL (Very Low Density Lipoprotein), IDL (Intermediate Density Lipoprotein), LDL (Low Density Lipoprotein), dan HDL (High Density Lipoprotein). Tubuh mengatur kadar lipoprotein melalui beberapa cara, yaitu dengan mengurangi pembentukan lipoprotein dan mengurangi jumlah lipoprotein yang masuk ke dalam darah serta

meningkatkan atau menurunkan kecepatan pembuangan lipoprotein dari dalam darah (Webster-Gandy, Madden, dan Holdsworth, 2008).

Lipoprotein yang mengangkut lipid dari saluran cerna ke dalam tubuh adalah kilomikron. Kilomikron diabsorpsi melalui dinding usus halus ke dalam sistem limfe kemudian melalui ductus thoracicus, masuk ke vena besar dan seterusnya masuk ke aliran darah. Kilomikron merupakan tetesan besar lipid berupa trigliserida, kolesterol, dan fosfolipid dengan sedikit protein. Lipid yang diangkut oleh kilomikron sebagian besar adalah trigliserida. Bila trigliserida telah dipisahkan dari kilomikron, molekul sisanya yang berupa kolesterol dan protein dibawa ke hati dan mengalami metabolisme. Di dalam hati, lemak dipersiapkan untuk menjadi VLDL, lipoprotein dengan densitas sangat rendah yang sebagian besar terdiri dari trigliserida. Saat VLDL meninggalkan hati, lipoprotein lipase kembali bekerja dengan memecah trigliserida yang ada pada VLDL. VLDL lalu mengikat kolesterol yang ada pada lipoprotein lain dalam sirkulasi darah. Dengan berkurangnya trigliserida, VLDL bertambah berat dan berubah menjadi IDL, yang merupakan precursor terbentuknya LDL (Almatsier, 2003; Webster-Gandy, Madden, dan Holdsworth, 2008).

Sebagian besar LDL terdiri dari kolesterol dan kolesterol ester yang merupakan hasil akhir metabolisme VLDL. LDL mengangkut sekitar 70% kolesterol plasma dan diambil kembali oleh hati dan jaringan lain melalui reseptor LDL. Selain dibentuk dari VLDL, sebagian produksi LDL juga dilaksanakan langsung oleh hati. Reseptor LDL yang ada di hati akan mengeluarkan LDL dari sirkulasi. Di samping itu, dalam pembuluh darah terdapat sel-sel perusak yang dapat merusak LDL. Melalui jalur perusak ini (scavenger pathway) molekul LDL dioksidasi sehingga tidak dapat masuk kembali ke aliran darah. Kolesterol yang banyak terdapat dalam LDL akan menumpuk pada sel-sel perusak, dan apabila

hal ini berlangsung terus-menerus, plak aterosklerosis dapat terbentuk (Murray et al, 1999; Almatsier, 2003; Webster-Gandy, Madden, dan Holdsworth, 2008).

HDL disintesis dan disekresikan oleh hati maupun intestinum. Fungsi utama HDL adalah bertindak sebagai tempat penyimpanan untuk apo C dan E yang dibutuhkan dalam metabolisme kilomikron dan VLDL. HDL terlibat dalam transportasi balik kolesterol dari jaringan menuju hati untuk dimetabolisme kembali menjadi lipoprotein. Dalam transportasi balik kolesterol, HDL melekat pada reseptor A-I yang menyebabkan translokasi kolesterol ke membrane sel dan kolesterol tersebut diambil oleh HDL. Kolesterol mengalami esterifikasi dan bertumpuk dalam inti HDL. Ester kolesterol dalam HDL akan diambil oleh hati, baik secara langsung maupun sesudah dipindahkan ke VLDL, IDL, atau LDL melalui protein pemindah ester kolesterol (Murray et al, 1999; Webster-Gandy, Madden, dan Holdsworth, 2008).

Nilai LDL dan HDL mempunyai implikasi terhadap kesehatan kardiovaskular. Kenaikan kadar kolesterol yang terdapat dalam VLDL, IDL, atau LDL berkaitan dengan penyakit aterosklerosis. Sementara kadar HDL yang tinggi memberikan efek protektif terhadap penyakit kardiovaskular (Murray et al, 1999).

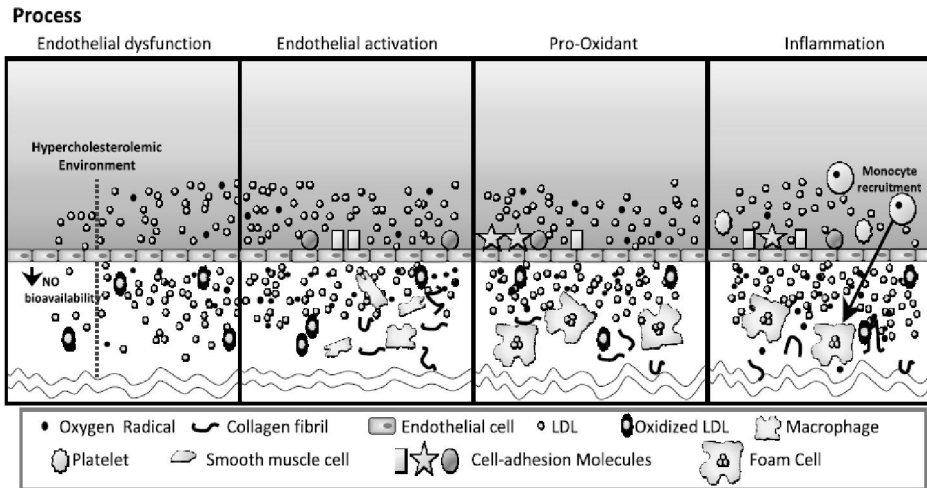
2.3 Hiperlipidemia dan Disfungsi Endotel

Hiperlipidemia merupakan kondisi dimana kadar kolesterol dalam plasma dalam jumlah yang tinggi atau lebih dari 200 mg/dl. Dalam patogenesis aterosklerosis, yang lebih berpengaruh adalah LDL. Penyebab hiperlipidemia antara lain faktor genetik seperti hiperkolesterolemia familial, dan juga bisa disebabkan karena diet tinggi kolesterol, kegemukan, kurang olahraga, serta penyakit lain seperti diabetes mellitus (Wibowo, 2003). Tingginya kadar lipid merupakan faktor resiko yang dapat memicu perkembangan penyakit jantung maupun penyakit pembuluh darah perifer. Hal ini dikarenakan keadaan

hiperlipidemia akan menyebabkan kerusakan sel endotel (Stapleton, et al., 2010).

Endotel pembuluh darah merupakan selapis sel tunggal yang melapisi permukaan bagian dalam pembuluh darah. Fungsi dari sel endotel ini antara lain mempertahankan permeabilitas pembuluh darah, menghasilkan molekul prokoagulan (vWF, tissue factor, plasminogen activator inhibitor) dan antikoagulan (prostacyclin, thrombomodulin, plasminogen activator, heparin-like molekul), modulasi aliran darah dan regulasi tonus pembuluh darah (endothelin, ACE, NO, prostacyclin), regulasi respon imun dan inflamasi (cytokine, adhesion molecule, histocompatibility antigen), serta regulasi pertumbuhan sel (PDGF, CSF, FGF, TGF-) (Kumar, 2010). Dalam keadaan normal, sel endotel mempertahankan tonus pembuluh darah melalui endothelium-derived relaxing factor, termasuk NO (nitric oxide). NO berperan sebagai regulator homeostasis pembuluh darah melalui relaksasi otot polos pembuluh darah, inhibisi agregasi platelet dan koagulasi, anti inflamasi, dan sebagai antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas. Pada fungsi NO yang juga sebagai antioksidan, maka bila kadar NO rendah, jumlah radikal bebas akan meningkat. Pada keadaan hiperkolesterolemia, bioavailabilitas NO berkurang, sehingga terjadi peningkatan tonus pembuluh darah dan aktivasi platelet (Stapleton et al., 2010; Cai dan Harrison, 2000). Penurunan bioavailabilitas NO tidak hanya menurunkan fungsi vasodilatasi pembuluh darah, namun juga mengaktifkan berbagai mekanisme penting pada patogenesis aterosklerosis. NO dan produknya, seperti reaktif nitrogen spesies (radikal bebas), dapat meningkatkan oksidasi membrane dan lipoprotein dan pembentukan sel busa (foam cell). Ketika produksi oksidan jaringan meningkat, oksidan turunan NO dapat menimbulkan efek pro-aterogenik (Napoli dan Lerman, 2001).

Hiperlipidemia akan meningkatkan transendotelial pinositosis, menurunkan potensial negatif lapisan polisakarida pada permukaan lumina endotel (glikokaliks), terbukanya hubungan antar endotel akan memacu masuknya komponen plasma ke dalam dinding arteri lebih dalam secara masif (ruang sub endotel). Hiperlipidemia yang berat akan menyebabkan sitotoksik pada endotel yang akan merangsang pergantian endotel. Deposit lemak pada dinding akan memberikan jejas pada sel otot polos dan menambah matriks ekstra sel hasil dari degradasi khususnya akibat dari stres oksidatif karena aktivitas endotel dan monosit, produk degradasi ini bersifat sebagai antigen asing yang akan merangsang reaksi autoimun yang akan nampak pada dinding arteri. Hiperlipidemia nampaknya juga memfasilitasi perpindahan monosit ke dalam dinding arteri dengan menginduksi permukaan endotel untuk membentuk molekul adhesi leukosit yang kemudian memacu perlekatan sel ini pada dinding sebagai tempat penembusan ke dalam sub endotel. Sel otot polos mengambil lipid selalu dari pool ekstra sel, ketika monosit maupun sel otot polos terisi oleh lipid dalam jangka lama akan mengalami disintegrasi dan melepaskan lipidnya sehingga akan menambah matriks ekstra sel. Proses injuri, eksudasi dan proliferasi sel otot polos mungkin mengawali deposisi lipid ketika belum terjadi hiperlipidemia sebagai penyebab jejas arteri. Ketiga proses ini dapat terjadi bersama-sama ketika agen injuri dan hiperlipidemia berada dalam keadaan simultan. Apabila hiperlipidemia terjadi dalam waktu yang lama secara tunggal, akan terjadi deposisi lipid yang mendahului jejas pada otot polos dan terjadi reaksi proliferasi (Wibowo, 2003). Secara ringkas, proses disfungsi endotel dapat dijelaskan sebagai berikut,



Gambar 2.5 Progresifitas Kerusakan Vaskular Akibat Hiperkolesterolemia (Stapleton et al., 2010)

2.4 Radikal Bebas

2.4.1 Definisi

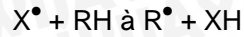
Radikal bebas merupakan sekelompok zat kimia yang sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas juga merupakan produk normal dari proses metabolisme. Selama makanan dioksidasi untuk menghasilkan energi, sejumlah radikal bebas juga terbentuk. Radikal bebas berfungsi untuk memberikan perlindungan tubuh terhadap serangan bakteri dan parasit, namun ia tidak menyerang sasaran spesifik, sehingga ia juga akan menyerang asam lemak tidak jenuh ganda dari membran sel, struktur sel, dan DNA. Radikal bebas adalah oksidan, tetapi tidak semua oksidan merupakan radikal bebas. Oksidan merupakan senyawa yang dapat menerima elektron dan radikal bebas merupakan atom atau gugus yang orbital luarnya memiliki elektron yang tidak berpasangan. Secara kimia radikal bebas mempunyai molekul yang tidak lengkap, sehingga cenderung menarik elektron atau partikel dari molekul lain, yang kemudian menimbulkan senyawa tidak

normal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh. Radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif yang diproduksi dalam jumlah yang normal, penting untuk fungsi biologi seperti sel darah putih yang menghasilkan H₂O₂ untuk membunuh beberapa jenis bakteri dan fungi serta pengaturan pertumbuhan sel atau sebagai substrat pembuatan hormon tiroid (Hariyatmi, 2004) (Murray et al. 2006).

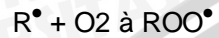
Beberapa oksidan yang kuat diproduksi pada proses metabolisme. Oksidan tersebut adalah superoksida (O₂⁻), hydrogen peroksida (H₂O₂), peroxy radicals (ROO[•]), dan hydroxyl radicals (OH[•]), semua disebut sebagai reactive oxygen species (ROS). Radikal bebas merupakan atom-atom yang memiliki electron bebas. 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[•] adalah radikal bebas dan O[•] adalah oksigen radikal bebas, sebagai berikut (Murray et.al., 2006):

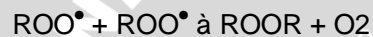
1. Inisiasi



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).

2.4.2 Keterlibatan Radikal Bebas pada Patogenesis Aterosklerosis

Peningkatan kadar lipid dalam darah meningkatkan inisiasi dan perkembangan aterogenesis pada dinding arteri karena modifikasi oksidatif dan uptake lipid tidak terkontrol sehingga menyebabkan uptake berlebihan. 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 (Nicotine adenine dinucleotide phosphate). 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).

Pada level molekular, reseptor scavenger pada permukaan makrofag memainkan peran penting dalam pembentukan foam sel. CD36 memediasi selular uptake LDL teroksidasi. Lipid bioaktif dari LDL teroksidasi yang memasuki makrofag melalui CD36 mengaktifkan reseptor nuklear seperti peroxisome proliferator-activated receptor untuk menginisiasi transkripsi up-regulate ekspresi CD36. CD36 menginisiasi sinyal cascade pada makrofag yang menyebabkan uptake ox-LDL lebih banyak dan menurunkan mobilitas makrofag, sehingga foam sel pada intima menjadi banyak (Curtiss, 2009).

2.5 Leptin

2.5.1 Definisi

Leptin (berasal dari bahasa Yunani 'Leptos' yang berarti kurus) adalah hormon peptida berukuran 16 kDa yang terutama diproduksi oleh sel adiposit yang dikodekan oleh gen Ob. Leptin mengatur nafsu makan dan merangsang termogenesis dengan bekerja pada hipotalamus (Dubey, 2006). Sirkulasi leptin secara aktif diangkut melalui sawar otak dan bekerja pada pusat kenyang hipotalamus untuk mengurangi asupan makanan dan memainkan regulasi

pengeluaran energi dan kontrol nafsu makan (Lang, 2009). Selain itu, leptin pun berikatan dengan nukleus basal medial pada hipotalamus yang dikenal dengan "satiety center". Ikatan leptin dengan nukleus inilah yang memberi sinyal bahwa tubuh telah tercukupi kebutuhan makanannya (Kenyang) (Williams, 2009).

Leptin bekerja melalui reseptor transmembran (OB-R), yang termasuk ke Kelompok Reseptor Sitokin kelas I, seperti reseptor Interleukin-2 (IL-2), IL-3, IL-4, IL-6, IL-11, IL-12, granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) atau Leukemia Inhibiting Factor (LIF). OB-R memiliki setidaknya enam macam bentuk isoform (a,b,c,d,e, dan f), yang biasa disebut OB-R(a-f), yang dihasilkan terutama oleh splicing alternatif dari gen ob. Mereka semua saling terikat dengan ikatan ligand ekstraselular ekstraseluler yang identik, tetapi berbeda pada C-terminal regions. Dua utama isoform reseptor leptin mendominasi: reseptor leptin isoform pendek (OB-Ra) dan reseptor leptin isoform panjang (OB-Rb). OB-Rb berisi domain lengkap panjang intraseluler dan diyakini menjadi sinyal reseptor leptin utama (Lang, 2009).

OB-Rb bertanggung jawab atas efek anoreksigenik yang disebabkan oleh leptin, dan terdapat melimpah di pusat hipotalamus dengan fungsinya untuk mengatur asupan makanan dan berat badan. OB-Rb juga dapat ditemukan pada sel-sel imunitas, termasuk sub-populasi sel T, sel B, sel dendritik, monosit, neutrofil, makrofag, dan pembunuh alami (NK) sel (Lang, 2009).

2.5.2 Leptin dan Aterosklerosis

Sejumlah gen yang diregulasi oleh Leptin terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung terlibat di dalam proses aterosklerosis. Leptin

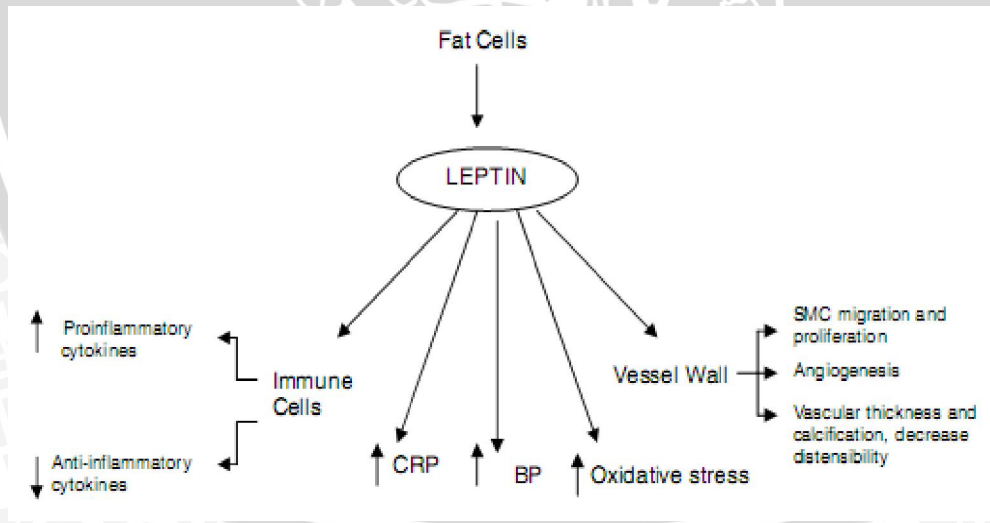
bertanggung jawab pada proses perkembangan lesi aterosklerosis melalui beberapa mekanisme, antara lain :

- Leptin dapat merangsang berbagai sel imunitas dan mengatur produksi sitokin pro-dan anti-inflamasi (IL-2, IL-6, IL-12 dan IL-18) , serta tumor nekrosis alfa (TNF-) dan interferon-gamma (IFN-), yang telah terbukti berpotensi menyebabkan proses aterogenik. Di sisi lain, sitokin seperti IL-10 dan IL-4 telah ditunjukkan untuk memainkan peran protektif terhadap pengembangan kejadian kardiovaskular (Dublely, 2007).
- Leptin meningkatkan sekresi lipase lipoprotein aterogenik (LPL) dengan meningkatkan stres oksidatif dan mengaktifkan protein kinase C. LPL mempromosikan retensi lipoprotein dalam ruang subendotelial dan membantu proses adhesi monosit pada endotel, serta merangsang transformasi makrofag ke dalam bentuk sel busa (Dublely , 2006).
- Leptin meningkatkan stres oksidatif melalui mekanisme berlipat. Leptin dapat meningkatkan produksi dan akumulasi ROS (Reactive Oxygen Species) dengan mengaktifkan jalur C-jun-amino-terminal kinase, AP-1 dan nuclear factor-kappa B (NF- B) (Dublely, 2007). Aktivasi Jalur NF-kB akan menyebabkan ekspresi faktor jaringan, sekresi ROS, sekresi sitokin proinflamasi, sekresi molekul adhesi, sekresi kemokin, yang akan menarik sel monosit sehingga lebih banyak sel radang yang terlibat di dalam jaringan. (Ludewig, 2004).
- Leptin secara tidak langsung berasosiasi dengan konsentrasi serum C-reactive Protein (CRP), yang bukan hanya menjadi inflamator potensial, tetapi terbukti juga dapat menjadi agen penyebab untuk perkembangan aterosklerosis. CRP memberikan kontribusi pada penyakit vaskular dengan cara merusak langsung endotelium yang berindependen dengan

fungsi vasodilatasi pada endotelium oleh oksida sintase ekspresi menghambat sintesis dari Nitrous Oxide (NO) dan bioaktivitas pada sel endotel arteri koroner manusia, dan juga memainkan peran penting dalam kemotaksis monosit dan pembentukan sel busa yang menyebabkan terjadinya plak aterosklerosis (Dubley, 2007).

- Aksi proaterogenik leptin yang kemungkinan disebabkan kombinasi efek pada berbagai jenis sel. Pada sel endotel, leptin menginduksi stres oksidatif, meningkatkan produksi MCP-1 (monosit chemoattractant protein-1) dan ET-1 dan mempotensiasi terjadinya proliferasi sel-sel endotel. Di dalam sel otot polos pembuluh darah, leptin menginduksi terjadinya proses migrasi, proliferasi, dan hipertrofi. Leptin juga membantu kalsifikasi sel-sel dinding pembuluh darah dan memfasilitasi trombosis dengan meningkatkan agregasi trombosit (Yang, 2007).

Secara ringkas mekanisme regulasi leptin dalam patogenesis aterosklerosis sebagai berikut,



Gambar 2.6 Mekanisme Regulasi Leptin dalam Aterosklerosis (Dubey, 2007)

Sel Lemak merupakan sumber utama penghasil leptin. Produksi leptin oleh lemak ini distimulasi oleh hormon glukokortikoid dan diinhibisi oleh Counter-

regulatory hormones. Sistem regulasi hormon ini diperankan oleh insulin yang meningkat apabila terdapat asupan makanan yang masuk, menyebabkan peningkatan produksi leptin (Makan => Insulin => Leptin), Sedangkan pada Counter-regulatory hormone disebabkan oleh asupan makanan yang berkurang (lapar atau puasa) yang akan menyebabkan kadar insulin yang turun, yang akan disertai oleh penurunan kadar leptin di dalam darah (Lapar/Puasa => Insulin => Leptin). Dengan adanya regulasi tersebut dapat dibuktikan bahwa leptin merupakan indikator keseimbangan energi yang penting di dalam tubuh. Penyebaran leptin di dalam tubuh sangatlah dipengaruhi oleh status nutrisi dan jumlah sel lemak di dalam tubuh (Myers, 2006).

2.6 Obesitas

Obesitas (Overweight) didefinisikan sebagai akumulasi lemak berlebihan atau abnormal yang membahayakan kesehatan (WHO, 2006). Secara sederhana obesitas berarti keadaan penumpukan lemak yang berlebihan di jaringan deposit. Keadaan ini timbul akibat pengaturan makan yang kurang baik, gaya hidup kurang gerak, dan faktor keturunan (genetik) (Pi-Sunyer, 2002). Peningkatan konsumsi makanan kalori tinggi dalam porsi besar, terutama fast food yang dikombinasikan dengan aktivitas yang sedikit dianggap sebagai pencetus obesitas yang paling utama (Motycka et al, 2004). Ketidakseimbangan antara energi yang masuk dan dengan yang digunakan tubuh membuat berat badan semakin bertambah. Selain itu, peranan genetik dalam kejadian obesitas telah terbukti dari adanya resiko obesitas sekitar 2-3 kali lebih tinggi pada individu dengan riwayat keluarga obesitas (Pi-Sunyer, 2002).

Pengaruh genetika terhadap obesitas mulai marak dibicarakan dan semakin gencar pula diteliti setelah ditemukannya hormon leptin, yang dikenal

sebagai pengontrol nafsu makan serta pengatur proses pembakaran lemak pada tubuh. Dua gen yang sudah diteliti oleh peneliti yang berasosiasi dengan obesitas, yaitu gen ob yang memproduksi leptin serta gen db yang berperan memproduksi reseptor leptin. Sejumlah penderita obesitas telah diteliti dan ternyata mengalami mutasi, baik gen yang memproduksi leptin maupun gen reseptor leptin. Terjadinya obesitas telah diketahui juga sebagai faktor resiko terjadinya penyakit-penyakit kronis, termasuk penyakit jantung, diabetes, hipertensi, stroke dan beberapa kanker (Pi-Sunyer, 2002).

Obesitas akan mengakibatkan terjadinya peningkatan volume darah sekitar 10-20%. Leptin mempunyai pengaruh rangkap terhadap regulasi tekanan darah, di mana efek yang akan ditimbulkan tergantung pada keseimbangan antara tindakan pressor melalui aktivasi sistem saraf simpatik dan mungkin natriuretik serta efek dari hormon vasorelaksan pada tubulus renal dan endotelium. Peningkatan tekanan darah dan volume darah merupakan beban tambahan bagi jantung, pada otot jantung akan mengalami perubahan struktur berupa hipertropi atau hiperplasia yang akan mengakibatkan terjadinya gangguan pompa jantung. Selain itu, obesitas juga dapat mempercepat terjadinya penyakit jantung koroner melalui beberapa mekanisme, diantaranya

1. Obesitas mengakibatkan terjadinya perubahan lipid darah, yaitu peningkatan kadar kolesterol darah dan LDL serta penurunan HDL.
2. Obesitas mengakibatkan terjadinya hipertensi (akibat penambahan volume darah, peningkatan kadar renin, peningkatan kadar aldosteron, meningkatnya tahanan pembuluh darah sistemik, serta terdapatnya penekanan mekanisme oleh lemak pada dinding pembuluh darah perifer
3. Obesitas juga merupakan salah satu pemicu terjadinya aterosklerosis. Akibat dari peningkatan ukuran plak akan menyebabkan penyempitan lumen pembuluh darah, sehingga akan merintangi aliran darah; atau plak

tersebut dapat terlepas ke dalam sirkulasi darah menjadi emboli dan menyumbat pembuluh-pembuluh darah yang lebih kecil. Hal ini dapat menyebabkan infark karena terhentinya suplai darah (Bravo, 2006)

2.7 Buah Tin (*Ficus carica*)

2.7.1 Definisi

Segala apa yang diciptakan dan dikaruniakan oleh Allah SWT mempunyai keistimewaan dan kelebihan tersendiri yang kadang kala kita sebagai manusia tidak tahu akan hikmahnya. Banyak diantara kita tidak mengetahui akan keistimewaan yang terdapat pada Buah Tin dan pentingnya untuk kesehatan, mungkin karena Buah Tin bukan berasal dari negara kita, tetapi dari negara Timur Tengah. Sampai di dalam Kitab Al-Qur'an juga terdapat surat khusus yang menyatakan tentang Buah Tin dan Zaitun, juga Gunung Tursina dan negeri Makkah yang aman (Al-Qur'an-Surat At-Tiin ayat 1-3). Jika direnungkan, pasti ada hikmah dibalik itu, mengapa Allah SWT telah berfirman dalam Al-Qur'an. Ini mungkin karena khasiat dan keistimewaannya yang tiada bandingnya dengan buah-buahan lainnya (Mushoffi, 2010).

Buah tin (*Ficus carica* linn) (Gambar 2.6) adalah sejenis buah-buahan yang dapat dimakan dan berasal dari Asia Barat. Nama ini diambil dari bahasa Arab, juga dikenal dengan nama buah ara, sedangkan dalam bahasa Inggris disebut fig. Buah Tin dapat ditemukan pada daerah dengan iklim tropis dan subtropis, sudah lama ditanam di daerah Timur Tengah dan 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 (Stover dan Aradhya, 2007)



Gambar 2.7 Buah Tin (*Ficus Carica*)

Saat ini, buah Tin masih merupakan buah-buahan langka di Indonesia. Dari penelusuran, pohon tin baru di tanam di beberapa daerah di Indonesia, terutama di Pulau 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).

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 berukuran panjang 3-5cm, berwarna hijau dan tumbuh sepanjang musim. Ketika matang memiliki kulit yang cukup keras, kulit dalamnya berwarna keputihan, dan bulir-bulir seperti agar-agar yang manis rasanya. Buah tin dapat dimakan segar, dikeringkan, atau dibuat selai (Stover dan Aradhya, 2007).

2.7.2 Klasifikasi Taksonomi Buah Tin

Klasifikasi botani Tin adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (tumbuhan)

- Subkingdom : Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
 Super Divisi : Spermatophyta (menghasilkan biji)
 Divisi : Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
 Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua atau dikotil)
 Sub Kelas : Dilleniidae
 Ordo : Urticales
 Famili : Moraceae (suku angka-nangkaan)
 Genus : Ficus
 Spesies : Ficus carica Linn

2.7.3 Kandungan zat bioaktif Buah Tin

Kandungan polifenol dari yang tertinggi antara lain rutin (28,7 mg/100 g FW), (+)-catechin (4,03 mg/100g FW), chlorogenic acid (1,71 mg/100 g FW), (-)-epicatechin (0,97 mg/100 g FW), gallic acid (0,38 mg/100 g FW), dan syringic acid (0,10 mg/100 g FW) (Veberic, 2008). *FW=fruit weight (Vinson, 2005)

Tabel 2.1 Komposisi buah Tin 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	1.090 – 1.110 mg

2.7.4 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 unsurperkumuhanair 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). Coumarins sendiri sudah lama digunakan sebagai terapi kanker prostat (Vinson, 1999).

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 tin 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)

2.7.5 Polifenol & Flavonoid 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 30.000 Da. Berdasarkan jumlah subunit fenol, senyawa fenol dapat diklasifikasikan ke dalam dua kelompok besar: fenol sederhana (simple phenol) dan polifenol. Kelompok fenol sederhana, disebut juga phenolic acids, yang 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. 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 (Manach et al, 2004).

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 et al., 2004)

Flavonoid merupakan bagian paling banyak pada diet polifenol, sehingga sering menjadi fokus studi ilmiah sebagai salah satu nutrisi yang paling penting dalam diet. Sejumlah penelitian menemukan bahwa konsumsi flavonoid berkebalikan dengan angka kejadian kematian yang disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler pada pria usia lanjut.

Saat ini, studi epidemiologi sangat menyarankan bahwa asupan flavonoid dari makanan sehari-hari sangat membantu dalam pencegahan aterosklerosis dan peristiwa yang terkait termasuk PJK (Terao, 2008). 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)

Kandungan polifenol dari buah Tin 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 et al, 2008).

Fungsi polifenol dalam tubuh salah satunya adalah menurunkan kadar LDL dalam plasma. Kemampuan menurunkan LDL dilakukan melalui mekanisme (Seigo,et.all., 2007) :

- Menghambat absorpsi kolesterol pada traktus digestif
- Menghambat biosintesis LDL dengan menurunkan aktivitas dan/atau ekspresi hydroxymethylglutaryl-CoA syntase, hydroxymethylglutaryl-CoA reduktase, acyl CoA:cholesterol acyltransferase, dan microsomal transfer protein pada hepar
- Mensupresi sekresi apolipoprotein B100 pada hepar
- Meningkatkan ekspresi reseptor LDL pada hepar
- Meningkatkan ekskresi kolesterol melalui feses

2.7.6 Polifenol Buah Tin 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, serta berperan sebagai inhibitor yang menghambat kerja oksidasi. Antioksidan alami misalnya vitamin E (tocopherol), urat, dan vitamin C. Beta-karoten juga merupakan antioksidan, pada tekanan O₂ yang rendah (Murray et al., 2006). Antioksidan terbagi menjadi antioksidan enzim dan vitamin. Antioksidan enzim meliputi Superoksida Dismutase (SOD) yang berperan melawan radikal bebas pada mitokondria, sitoplasma, bakteri aerob dengan mengurangi bentuk radikal bebas superoksida, sedangkan katalase dan glutathion peroksidase (GSH-prx) bekerja dengan

memecah H₂O₂ dan lipid peroksidase dibantu ion-ion logam transisi. Antioksidan vitamin mencakup alfa tokoferol, beta karoten dan asam askorbat. Alfa tokoferol dipercaya sebagai antioksidan yang bekerja mencegah lipid peroksidase dari asam lemak jenuh dalam membran sel (Saurisari, 2006).

Prinsip kerja antioksidan menurut Sies (1997) adalah prevensi (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 Fe³⁺ dan Cu²⁺. Pengikatan ion logam ini merupakan reaksi utama untuk mengontrol peroksidasi lemak dan fragmentasi DNA. Protein yang berperan antara lain ferritin, transferrin, caeruloplasmin, dan metallothionein (Sies, 1997).

Antioksidan non-enzimatik yang 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. Antioksidan enzimatik yang berperan sebagai antioksidan kuat adalah superoksida dismutase (SOD),

katalase, dan glutathione (GSH) peroksidase. Bentuk intersepsi chain breaking ini biasanya pada senyawa fenol, termasuk polifenol pada buah Tin. (Sies, 1997).

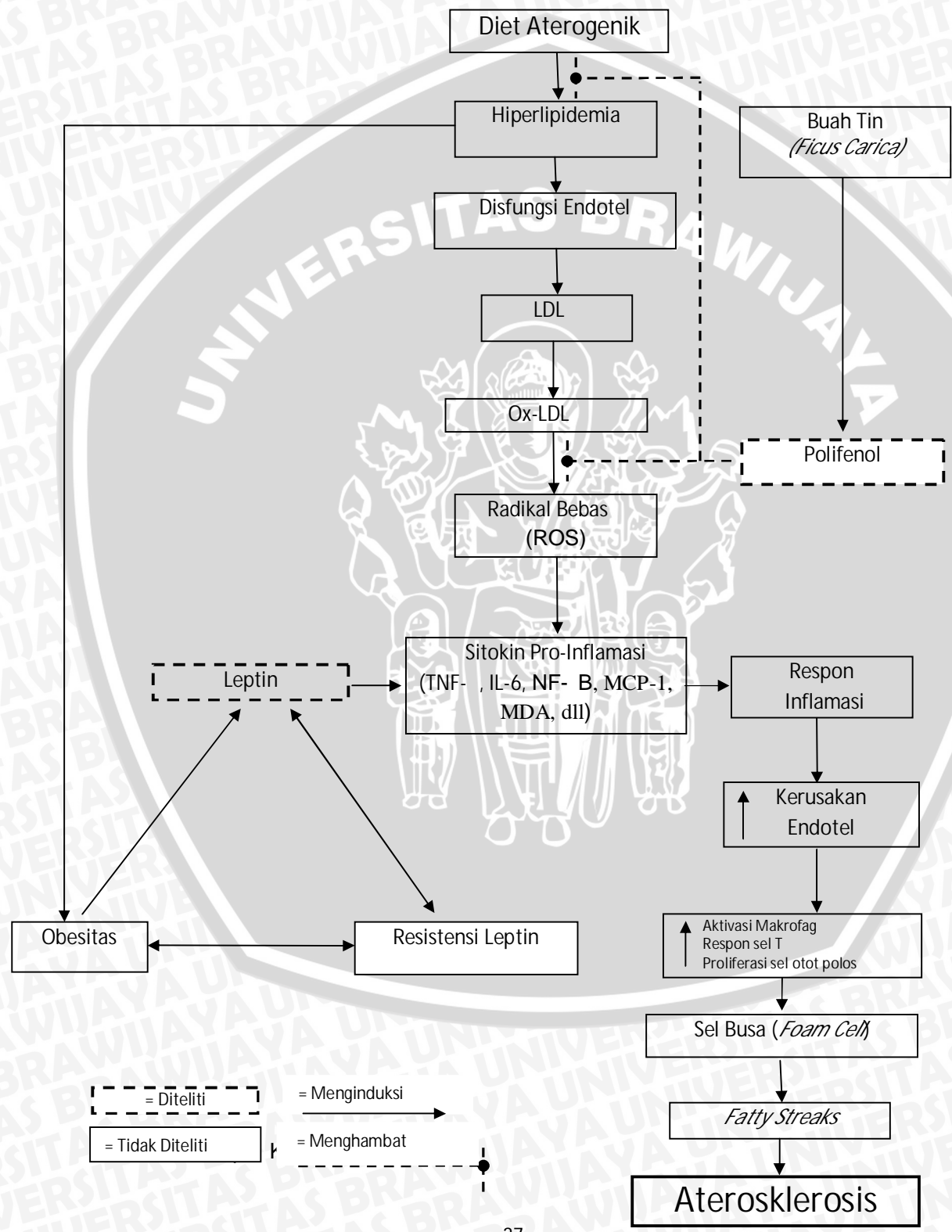
2.9 Diet Aterogenik

Diet aterogenik merupakan komposisi diet aterogenik dan tinggi kolesterol. Dari hasil penelitian menyebutkan bahwa komposisi pakan aterogenik 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 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)

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Konsumsi diet aterogenik menyebabkan peningkatan kadar lipid dan kolesterol dalam darah, yang selanjutnya dapat menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel meningkatkan permeabilitas endotel terhadap LDL meningkat, sehingga LDL terinfiltrasi ke dalam jaringan. LDL memiliki struktur tidak stabil sehingga rentan teroksidasi menjadi Ox-LDL, akan memicu produksi radikal bebas. Radikal bebas memicu sitokin pro-inflamasi untuk menyebabkan proses inflamasi, diikuti peningkatan aktifitas makrofag, peningkatan sel T dan proliferasi otot polos. Aktifitas fagosit dari makrofag menyebabkan timbulnya sel busa dan proliferasi otot polos di tunika intima, menambah tebal plak yang timbul pada proses aterosklerosis.

Obesitas timbul akibat penumpukan lemak pada sel tubuh. Obesitas yang tidak terkontrol menyebabkan peningkatan kadar leptin di dalam darah serta menyebabkan timbulnya resistansi leptin yang dapat meningkatkan kadar leptin. Leptin yang meningkat dapat meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi yang selanjutnya memperparah aterosklerosis. Obesitas merupakan salah satu faktor resiko terjadinya aterosklerosis.

. Polifenol buah tin sebagai antioksidan mempunyai mekanisme kerja mencegah oksidasi LDL serta mencegah timbulnya radikal bebas. Sehingga dapat menghambat proses terbentuknya aterosklerosis. Selain itu polifenol juga menghambat absorpsi kolesterol dan meningkatkan ekskresi keluar tubuh melalui feses, sehingga dapat mencegah timbulnya hiperlipidemia.

3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian polifenol buah tin (*Ficus carica*) dapat menurunkan kadar leptin serum pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diberi diet aterogenik.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorik karena terdapat perlakuan dan kelompok kontrol pada hewan coba tikus (*Rattus novergicus*) Wistar serta menggunakan randomisasi dengan menggunakan desain penelitian Control Group Post Test Design (Notoatmodjo, 2002). Pemilihan obyek 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 Pada rancangan penelitian ini digunakan pemberian lima perlakuan sederhana dimana subyek dibagi menjadi 5 kelompok secara random, yaitu:

- Kelompok 1 adalah tkus yang diberi diet normal saja (kontrol negatif). Pemberian diet pakan standart dilakukan selama 65 hari
- Kelompok 2 adalah tikus yang diberi diet aterogenik saja. Pemberian diet aterogenik dilakukan selama 65 hari
- Kelompok 3 dilakukan pemberian diet aterogenik + polifenol 4,5 mg/200gram/hari selama 65 hari
- Kelompok 4 dilakukan pemberian diet aterogenik + polifenol 9 mg/200gram/hari selama 65 hari
- Kelompok 5 dilakukan pemberian diet aterogenik + polifenol 18 mg/200gram/hari selama 65 hari

Kelompok 3 sampai 5 diberi diet aterogenik dan Polifenol buah Tin dengan berbagai dosis per oral dengan sonde setiap hari sekali. Kemudian diobservasi

dan dibandingkan pengaruh polifenol buah Tin terhadap kadar Leptin pada serum.

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 control group post test design yang dilakukan pada akhir perlakuan (tidak untuk menentukan data awal). Penelitian ini merupakan penelitian kelompok dengan variabel yang diambil adalah (1) kadar leptin pada serum, (2) kadar HDL kolesterol pada serum, (3), kadar Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) pada serum (4) kadar IL-6 pada serum, (5) kadar NF B pada serum, (6) kadar tumor necrosis factor alpha (TNF-) 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 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi target yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* strain wistar) dan populasi terjangkau yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* strain wistar) yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.2.2 Sampel

Sampel yang digunakan adalah tikus percobaan berjumlah 25 ekor yang 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

4.2.3 Metode Pemilihan Sampel

Metode pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan 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

(Hanafiah, 2005):

$$n = (15 + p) : p$$

$$n = (15 + 5) : 5$$

$$n = 4$$

Keterangan:

p = jumlah perlakuan

n = jumlah sampel

15 = nilai konstan

Untuk 5 macam perlakuan diperlukan jumlah sampel ulangan paling sedikit 4 kali tiap perlakuan. Namun, diperlukan penambahan pengulangan pada

setiap perlakuan sebagai cadangan dan ditetapkan sejumlah 1 kali pengulangan. 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 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 Leptin pada serum tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diberi diet atherogenik.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. 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 Leptin: 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 aterogenik 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 dosis 4,5 mg/hari, 9 mg/hari, 18 mg/hari.
- Bahan untuk pemeriksaan kadar Leptin: 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, kemudia 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 IC50 = 827 ppm (Dewi, 2010).

2. Tikus Wistar

Tikus yang digunakan adalag tikus yang berasal dari galur Wistar dengan jenis kelamin jantan, berumur \pm 2 bulan dengan berat badan \pm 200 gr, yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang.

3. Diet aterogenik

Diet aterogenik 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).

Paka ini diberikan selama 65 hari.

4. Kadar Leptin dalam serum

Kadar Leptin 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 aterogenik 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 yang diberikan adalah polifenol murni dalam bentuk ekstrak yang diperoleh dari hasilbuah Tin (*Ficus Carica*). 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 dibutuhkan 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:

- Kelompok 1: kelompok kontrol negatif, diberi diet (pakan) normal
- Kelompok 2: kelompok kontrol positif, diberi diet aterosklerosis
- Kelompok 3: kelompok yang diberi diet aterogenik dan polifenol 4,5 mg
- Kelompok 4: kelompok yang diberi diet aterogenik dan polifenol 9 mg
- Kelompok 5: kelompok yang diberi diet aterogenik 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 diadaptasikan 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.

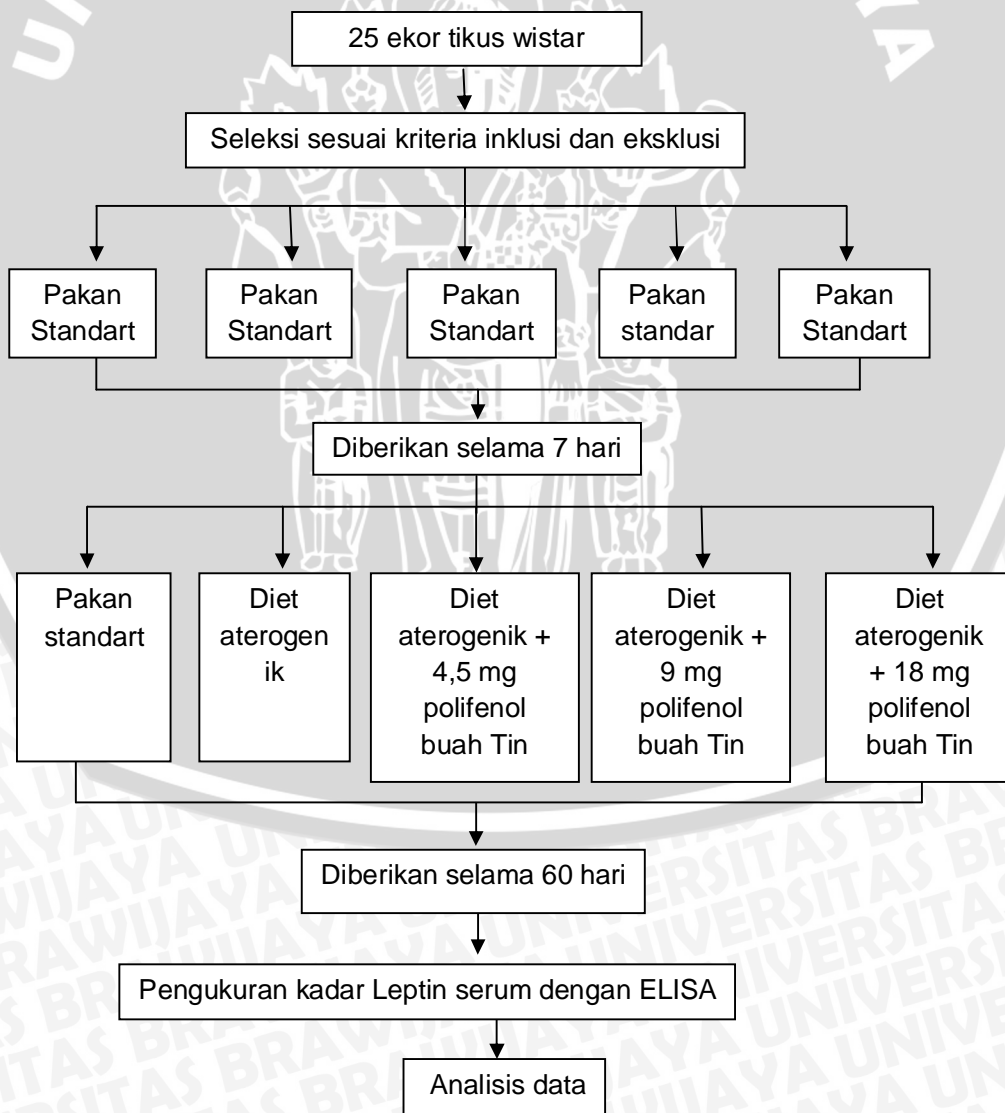
- E. Pada saat perlakuan, pakan dan minuman tikus diberikan secara oral. Pakan tikus ditimbang tiap hari. Polifenol buah Tin diberikan dengan menggunakan sonde dengan dosis 4,5 mg, 9 mg, dan 18 mg pada kelompok masing-masing. Pemberian pakan dilakukan selama 60 hari.
- F. Serum tikus diambil dan diperiksa kadar Leptin menggunakan metode ELISA.

4.7.3 Pengukuran Kadar Leptin dengan Metode ELISA

1. Pemberian Coating antigen pada piring mikrotubes dengan mencampur serum dengan Coating buffer 50 μ L dengan perbandingan 1:20
2. Inkubasi overnight dengan suhu 4^oC
3. Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50 μ 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 μ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
7. Pemberian Coating Antibodi primer dengan penambahan AntiLeptin+ PBS dengan perbandingan 1:500
8. Inkubasi 1 jam pada suhu ruang
9. Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50 μ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
10. Pemberian Coating Antibodi sekunder dengan penambahan Antirabbit IgG AP 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 μ 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 absorpsinya pada 450 nm dengan ELISA Reader

i. Bagan Alur Penelitian



4.8 Analisis Data

Data hasil perhitungan jumlah kadar Leptin masing-masing kelompok yang dilihat rata-ratanya disajikan dalam bentuk tabel dan grafik kemudian dianalisis secara deskriptif. Data jumlah ekspresi kadar Leptin yang telah dikumpulkan, diolah dengan cara tabulasi. Berdasarkan tabulasi tersebut, dilakukan uji statistic dengan menggunakan SPSS 15.0. Apabila dari uji One Way ANOVA terdapat hubungan, maka dapat dilanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui letak perbedaan dari perlakuan yang diberikan. Uji statistic dilakukan pada derajat kepercayaan 95% dengan $\alpha = 0,05$. Hasil uji statistik dinyatakan bermakna bila $p < 0,05$.



BAB V

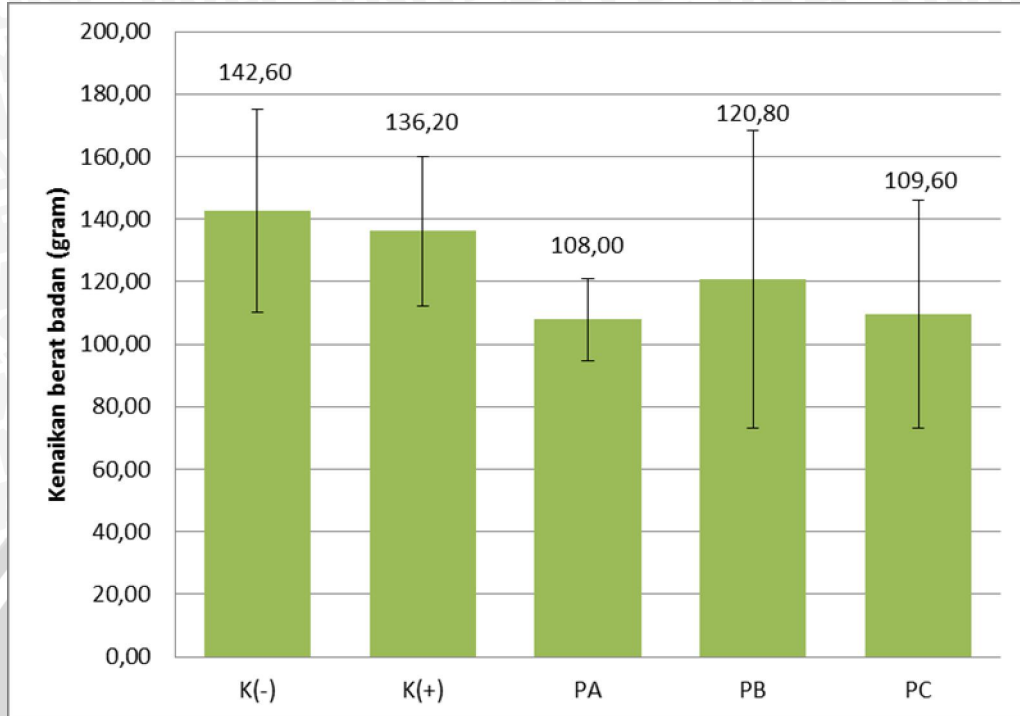
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penimbangan Berat Badan Tikus

Penelitian ini menggunakan hewan coba yang dibagi menjadi 5 Kelompok yang masing-masing terdiri atas 5 ekor tikus. Pengumpulan data dilakukan dengan pengukuran berat badan tikus tiap minggunya. Hasil yang diperoleh berupa berat badan masing-masing tikus. Pemberian diet aterogenik dengan dosis masing-masing kelompok sebesar 200 mg/hari, baik yang ditambah dengan polifenol buah Tin berbagai dosis perlakuan maupun yang tidak ditambah dengan ekstrak polifenol, hasilnya berpengaruh terhadap perkembangan berat badan tikus. Grafik berat badan awal dan akhir tikus adalah sebagai berikut

Tabel 5.1 Rata-rata Berat Badan Awal dan Akhir Tikus

Kelompok Perlakuan	Berat badan awal (gram)	Berat badan akhir (gram)	Nilai p (paired t test)	Selisih Kenaikan Berat Badan
K (-)	119.6 ± 3.20	262.2 ± 34.46	.001	142.6000 ± 32.48
K (+)	118.2 ± 7.20	254.4 ± 24.42	.000	136,2000 ± 23,78
PA	127.4 ± 1.51	235.4 ± 12.48	.000	108.0000 ± 13.13
PB	139.4 ± 10.11	260.2 ± 44.38	.005	120,8000 ± 47.67
PC	160.6 ± 9.52	270 ± 36.74	.003	109.6000 ± 35.63
ANOVA	P = 0.000	P = 0.541		P= 0.364



Gambar 5.1 Perbandingan rata-rata Berat Badan antar masing-masing kelompok perlakuan

K(-) : Kontrol (-) : kelompok tikus tanpa diberi diet atherogenik dan tanpa diberi ekstrak polifenol buah tin (*Ficus carica*) selama 65 hari

K(+): Kontrol (+) : kelompok tikus yang diberi diet atherogenik tanpa diberi ekstrak polifenol buah tin (*Ficus carica*) selama 65 hari

PA : Perlakuan 1 : kelompok tikus yang diberi diet atherogenik dan ekstrak polifenol buah tin (*Ficus carica*) dengan dosis 4,5 mg/200 gram/hari selama 65 hari

PB : Perlakuan 2 : kelompok tikus yang diberi diet atherogenik dan ekstrak polifenol buah tin (*Ficus carica*) dengan dosis 9 mg/200 gram/hari selama 65 hari

PC : Perlakuan 3 : kelompok tikus yang diberi diet atherogenik dan ekstrak polifenol buah tin (*Ficus carica*) dengan dosis 18mg/200 gram/hari selama 65 hari

Pada tabel 5.1 dapat dilihat hasil penimbangan berat badan tikus sebelum dan sesudah perlakuan didapatkan hasil bahwa berat badan tikus dalam penelitian ini terdapat perbedaan secara signifikan, hal ini dapat diketahui setelah dilakukan analisis menggunakan Oneway ANOVA yang menunjukkan hasil yang berbeda. Sedangkan, pada paired t test, hampir semua kelompok perlakuan tikus pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa terdapat kenaikan berat badan yang bermakna antara sebelum dan sesudah perlakuan ($p < 0,005$), pengecualian terdapat pada kelompok PB didapatkan hasil $p = 0,005$.

5.2 Hasil Pengukuran Kadar Leptin Serum

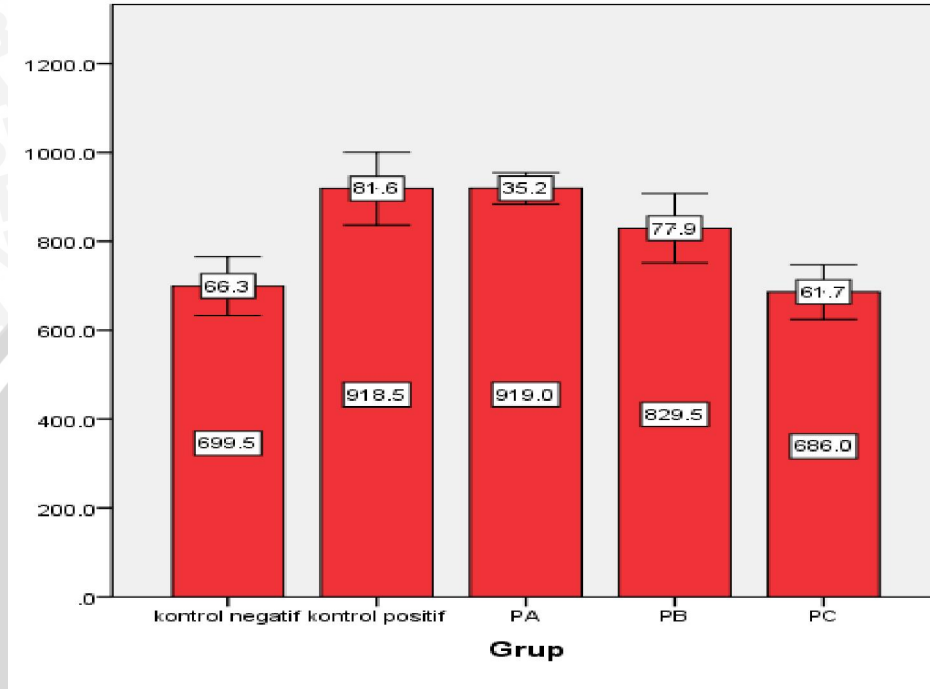
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik menggunakan post test only control group design yang bertujuan untuk mengetahui apakah polifenol buah Tin dapat menurunkan kadar Leptin serum tikus galur wistar jantan yang diberi diet aterogenik. Pada penelitian ini didapatkan data hasil penelitian pada masing-masing kelompok perlakuan seperti tercantum pada tabel 5.1.

Tabel 5.2 Data hasil Penelitian pada Masing-masing Kelompok Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kadar Leptin serum (pg/ml)
Kontrol negatif	699,500 ± 66,318
Kontrol Positif	918,500 ± 81,597
Dosis A	919,000 ± 35,249
Dosis B	829,500 ± 77,910
Dosis C	686,000 ± 61,659

Keterangan: Kontrol negatif (diet normal tanpa polifenol buah Tin); Kontrol positif (diet aterogenik tanpa polifenol buah Tin); dosis A (diet aterogenik + polifenol buah Tin 4,5 mg/hari); dosis B (diet aterogenik + polifenol buah Tin 9 mg/hari); Dosis C (diet aterogenik + polifenol buah Tin 18 mg/hari); Kadar Leptin ($\mu\text{g/mL}$).

Hasil penelitian rata-rata Leptin serum pada masing-masing kelompok perlakuan dengan diet lemak dan diet aterogenik dengan atau tanpa penambahan polifenol buah Tin disajikan pada gambar 5.1 di bawah in



Gambar 5.2 Perbandingan rata-rata kadar Leptin serum antar masing-masing kelompok perlakuan

Pada gambar 5.2 dapat dilihat rerata kadar Leptin pada kelompok perlakuan K(-), K(+), PA, PB, PC berturut-turut sebesar $699,500 \pm 66,318 \mu\text{g/mL}$, $918,500 \pm 81,597 \mu\text{g/mL}$, $919,000 \pm 35,249 \mu\text{g/mL}$, $829,500 \pm 77,910\mu\text{g/mL}$, $686,000 \pm 61,659\mu\text{g/mL}$. Data kadar Leptin masing-masing kelompok perlakuan selengkapnya dapat dilihat pada lampiran.

Gambar 5.2 memberikan gambaran bahwa perbedaan dosis polifenol buah Tin pada masing-masing kelompok perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kadar Leptin serum. Rata-rata leptin serum tikus tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan K(+), sedangkan leptin serum terendah terdapat pada kelompok perlakuan Dosis C (diet aterogenik + polifenol buah Tin

18 mg/hari). Secara kasar dapat disimpulkan dari gambar 5.1 bahwa kadar Leptin menurun seiring dengan meningkatnya dosis polifenol buah Tin.

5.3 Analisis Data Kadar Leptin serum

Penelitian ini menggunakan variabel numerik dengan satu faktor yang ingin diketahui yaitu perbedaan dari kadar leptin serum serum tikus galur wistar jantan yang diberi diet aterogenik berdasarkan faktor perlakuan yaitu pemberian polifenol buah tin. Hasil pemeriksaan kadar ini selanjutnya dianalisa dengan menggunakan analisa statistik. Proses analisis data dan pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program SPSS 17 for Windows. Analisis data kadar Leptin serum tikus wistar menggunakan uji komparatif One way Anova atau Kruskal Wallis, karena pada penelitian ini skala pengukuran variabel yang digunakan adalah numerik dengan lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan. Sebelum menganalisis data hasil penelitian dengan uji One way Anova, dilakukan uji normalitas, untuk menguji apakah data berdistribusi normal dan uji homogenitas untuk menguji apakah varian data sama (homogen atau diet aterogenik). Untuk menguji normalitas distribusi data digunakan uji Kolmogorov-Smirnov Test dan untuk menguji homogenitas varian digunakan Levene test.

Setelah dilakukan uji normalitas dan uji varians tanpa dilakukan transformasi data kadar Leptin, didapatkan hasil sebaran kelima kelompok data adalah normal ($p > 0,05$) dan varians data sama ($p > 0,05$), maka dapat diteruskan dengan uji One-way ANOVA. Hasil uji normalitas, uji homogenitas dan hasil analisa dapat dilihat di lembar lampiran.

Oneway ANOVA

Selanjutnya berdasarkan hasil penelitian berupa kadar leptin pada serum tikus yang mengalami aterosklerosis kemudian diolah dan dianalisis untuk

mengetahui adanya perbedaan pengaruh dari pemberian variasi dosis polifenol buah tin terhadap kadar leptin serum dengan menggunakan analisis Oneway ANOVA (Analysis of Variance). Uji One-way ANOVA digunakan untuk menganalisis apakah terdapat perbedaan rata-rata kadar Leptin serum yang bermakna antar masing-masing kelompok perlakuan dengan melihat nilai signifikansi (p). Hipotesis ditentukan melalui H_0 diterima bila nilai $p > 0,05$, sedangkan H_0 ditolak bila $p < 0,05$. H_0 pada penelitian ini adalah tidak terdapat pengaruh perbedaan perlakuan terhadap kadar Leptin serum yang berbeda secara bermakna. Sedangkan H_1 nya adalah terdapat pengaruh perbedaan perlakuan terhadap kadar Leptin serum secara bermakna.

Bila nilai yang diperoleh adalah $p < 0,05$ maka dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan kadar Leptin serum secara bermakna antara dua kelompok perlakuan. Sedangkan bila nilai yang diperoleh $p > 0,05$ maka dapat diambil kesimpulan bahwa tidak terdapat pengaruh perbedaan kadar Leptin serum secara bermakna antar masing-masing kelompok perlakuan. Hasil uji analisis One-way ANOVA kadar Leptin serum didapatkan nilai $p = 0,000$. Nilai tersebut $< 0,05$ yang artinya terdapat pengaruh perbedaan kadar Leptin secara bermakna antar masing-masing kelompok perlakuan, Sehingga H_0 ditolak dan dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan efek pemberian polifenol buah tin yang sangat signifikan antara setiap kelompok perlakuan terhadap rata-rata kadar Leptin serum yang bermakna pada minimal 2 kelompok perlakuan”.

Pengujian Berganda (Multiple Comparisons)

Langkah selanjutnya adalah mengolah data yang ada dengan menggunakan metode Post Hoc test sebagai uji perbandingan berganda (multiple comparisons) dengan uji Tukey (Tukey's Test) sebagai salah satu uji

pembandingan berganda yang mempunyai sensitivitas cukup tinggi dalam menguji adanya perbedaan antar perlakuan dalam multiple comparison. Dengan metode ini akan dilakukan pembandingan yang berganda terhadap kadar leptin pada serum tikus yang diberi diet aterogenik antara setiap kelompok perlakuan, sehingga untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh pemberian polifenol buah tin terhadap kadar leptin serum pada setiap dosis yang diberikan tersebut. Hasil uji Post Hoc Tukey ditampilkan dalam tabel 5.3.

Tabel 5.4 Hasil Uji Post Hoc Tukey LSD terhadap Rerata Kadar Leptin Serum

Nilai p	K(-)	K(+)	PA	PB	PC
K(-)	-	0.000	0.000	0.041	0.998
K(+)	0.000	-	1.000	0.253	0.000
PA	0.000	1.000	-	0.248	0.000
PB	0.041	0.253	0.248	-	0.021
PC	0.998	0.000	0.000	0.021	-

Keterangan :

Nilai $p > 0,05$ = tidak terdapat perbedaan bermakna antara dua kelompok

Nilai $p < 0,05$ = terdapat perbedaan bermakna antara dua kelompok

Kemudian dari hasil uji pembandingan berganda (Post Hoc Tukey's Test) antara setiap kelompok perlakuan menunjukkan bahwa terdapat penurunan kadar Leptin serum yang berbeda secara signifikan antara kelompok K(+) dengan PC (diet aterogenik 200 mg + polifenol dosis 18 mg/hari), yaitu $p=0,000$ ($p<0,05$). Hasil yang sama diperlihatkan juga oleh pembandingan antara PB (diet aterogenik 200 mg + polifenol dosis 9mg/hari) dengan PC (diet aterogenik 200 mg + polifenol dosis 18 mg/hari) sebesar $p=0,000$. Namun, tidak demikian pada PA (diet aterogenik 200 mg + polifenol dosis 4,5 mg/hari) dan PB (diet aterogenik

200 mg + polifenol dosis 9mg/hari), yang tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p>0,05$) dengan K(+) (secara berurutan $p=1,000$; $p=0,253$). Begitu pula komparasi K(+) terhadap K(-) yang tidak memperlihatkan perbedaan secara bermakna ($p>0,05$). Dari hasil uji didapatkan bahwa pemberian ekstrak polifenol buah tin Kelompok perlakuan PC (diet aterogenik 200 mg + polifenol dosis 18 mg/hari) dapat menyebabkan rata-rata kadar leptin serum yang paling rendah ($686,00 \pm 61,659$) atau yang paling efektif daripada PA (diet aterogenik 200 mg + polifenol dosis 4,5mg/hari) dan PB (diet aterogenik 200 mg + polifenol dosis 9 mg/hari), sehingga didapatkan penurunan kadar leptin serum terbesar terhadap Kelompok (+) dengan perbedaan rata-rata leptin serum sebesar 232.500 ± 19.938 pg/mL.

Uji Korelasi Pearson

Selanjutnya Untuk mengetahui seberapa besar korelasi antara polifenol buah Tin terhadap kadar Leptin serum, maka dilakukan uji analisis korelasi Pearson, sebagaimana uji korelasi yang dianjurkan pada uji statistik One-way ANOVA. Uji korelasi bertujuan untuk mengetahui hubungan antara dosis polifenol buah Tin terhadap kadar Leptin serum. Karena kedua variabel bersifat numerik dan memiliki distribusi yang normal, dilakukan uji korelasi Pearson. Interpretasi hasil uji Pearson dilihat dari kekuatan korelasi (correlation coefficient), angka signifikansi dan arah korelasi. Dari uji korelasi Pearson, tampak bahwa nilai $p = 0,000$ ($p<0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang bermakna antar kelompok. Nilai korelasi Pearson $r = -0,868$ menunjukkan korelasi negatif dengan kekuatan korelasi kuat. Artinya peningkatan perlakuan berupa penambahan dosis polifenol akan cenderung menurunkan kadar leptin serum. Hasil uji normalitas, uji homogenitas, One-way

Anova, uji Post-hoc Tukey , korelasi Pearson, dan uji regresi linier dicantumkan pada Lampiran.



BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak polifenol buah Tin (*Ficus carica* Linn) terhadap kadar Leptin serum tikus jantan strain Wistar yang diberi diet aterogenik sebesar 200 mg telah dilakukan. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan desain post test only control group dengan pembagian sebanyak 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok negatif K (-) (diet normal), kelompok positif K (+) (diet aterogenik 200 mg), PA (diet aterogenik 200 mg + polifenol 4,5mg/hari), PB (diet aterogenik 200 mg + polifenol 9mg/hari), PC (diet aterogenik + polifenol 18 mg/hari), yang mengarah pada keadaan aterosklerosis yang disebabkan oleh pemberian diet aterogenik dengan mekanisme inflamasi, yang ditunjukkan dengan peningkatan kadar Leptin serum.. Penelitian ini dilakukan selama 65 hari terhadap 25 ekor hewan coba tikus Wistar jantan yang dibagi dalam 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor. Penelitian ini dilakukan untuk Penelitian ini mempunyai tujuan untuk mengetahui apakah polifenol buah Tin dapat menurunkan kadar Leptin serum tikus galur Wistar jantan yang diberi diet aterogenik , serta untuk dapat mengetahui pengaruh beberapa dosis polifenol buah Tin terhadap kadar Leptin serum sebagai bahan anti inflamasi yang diharapkan dapat digunakan untuk mencegah aterosklerosis.

Penimbangan berat badan awal tikus dilakukan sebelum pemberian diet aterogenik 200 mg. diet aterogenik 200 mg diberikan bersamaan waktunya dengan pemberian polifenol buah tin yang berbeda dosis sesuai dengan kelompok perlakuannya. Rata-rata berat badan awal tikus secara berturut-turut adalah; Kelompok negatif (diet normal) 119.6 ± 3.20 , Kelompok Positif (diet aterogenik 200 mg) 118.2 ± 7.20 , Kelompok PA (diet aterogenik 200 mg + dosis

polifenol buah tin 4,5 mg hari) 127.4 ± 1.51 , Kelompok PB (diet aterogenik 200 mg + dosis polifenol buah tin 9 mg hari) 139.4 ± 10.11 , Kelompok PC (diet aterogenik 200 mg + dosis polifenol buah tin 18 mg hari) 160.6 ± 9.52 . Perbandingan rata-rata berat badan awal masing-masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.1.

Dari hasil uji statistik One-way ANOVA dan uji Post Hoc Tukey menunjukkan bahwa rata-rata berat badan awal tikus dari masing-masing kelompok perlakuan adalah tidak homogen ($p = 0,000$). Keadaan ini tidak sesuai dengan harapan penelitian yaitu semua sampel diharuskan berada dalam keadaan yang sama (homogen) baik itu berat badan awal, jenis kelamin, umur maupun kondisi fisik tikus wistar. Jika seandainya kondisi sampel tikus berbeda atau tidak homogen dikhawatirkan unsur subyektifitas lebih berperan dalam pemilihan sampel. Setiap subyek penelitian mempunyai kesempatan yang sama untuk terpilih atau tidak terpilih sebagai sampel (Sastroasmoro dan Ismail, 2000).

Dari hasil penimbangan berat badan akhir tikus (lihat tabel 5.1) dapat diketahui bahwa rata-rata berat badan tertinggi terdapat pada kelompok Negatif (diet normal tanpa polifenol buah Tin), sedangkan terendah terdapat pada kelompok Dosis C (diet aterogenik 200 mg + polifenol buah Tin 18 mg/hari). Dari hasil uji ANOVA berat badan akhir tikus, didapatkan tidak ada perbedaan berat badan akhir yang signifikan diantara kelompok perlakuan ($p = 0.541$). Ini berarti jenis diet (diet normal ataupun tinggi lemak) tidak berpengaruh terhadap rata-rata berat badan akhir tikus. Pemberian diet aterogenik dalam penelitian ini ternyata tidak mampu membuat tikus menjadi obesitas. Hal inilah yang diharapkan di dalam penelitian ini, karena diet aterogenik yang dikondisikan harapannya membuat tikus menjadi terkena aterosklerosis, bukan malah obesitas.

Uji Paired T test rerata berat badan tikus menunjukkan bahwa nilai p pada kontrol negatif (-) dan kontrol positif (+) dibawah 0.005. Ini berarti pemberian diet

standar maupun aterogenik memberikan perbedaan berat badan awal dan berat badan akhir yang bermakna. Dari hasil penelitian juga terlihat bahwa terdapat perbedaan berat badan awal dan berat badan akhir yang bermakna sebelum dan sesudah 65 hari pemberian diet aterogenik 200 mg ditambah dengan polifenol Buah Tin dosis 4,5 mg/hari dan 18 mg/hari, sedangkan pada kelompok diet aterogenik 200 mg + polifenol buah Tin 9 mg/hari tidak didapatkan perbedaan berat badan awal dan akhir yang signifikan.

Dari hasil pengukuran kadar leptin serum, dapat diketahui bahwa rata-rata kadar leptin tertinggi terdapat pada kelompok Dosis A (diet aterogenik 200 mg + polifenol buah Tin 4,5 mg/hari) dan terendah pada kelompok Dosis C (diet aterogenik 200 mg + polifenol buah Tin 18 mg/hari); Kadar Leptin ($\mu\text{g/mL}$). Hasil analisis dengan menggunakan Post Hoc Tukey's Test, terdapat perbedaan kadar leptin serum yang signifikan antara K(-) dan K(+). Ini berarti bahwa pemberian diet aterogenik 200 mg mampu menimbulkan kenaikan yang bermakna pada kadar serum leptin. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dubey & Hesong (2006) bahwa dengan paparan diet aterogenik yang kronis akan menyebabkan kenaikan kadar leptin.

Pada kelompok perlakuan, berdasarkan uji Post Hoc Tukey didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan PA (diet aterogenik 200 mg + polifenol buah Tin 4,5 mg/hari) dibandingkan dengan kelompok perlakuan PC (diet aterogenik 200 mg + polifenol buah Tin 18 mg/hari). Pada grafik rata-rata kadar leptin serum terlihat bahwa semakin tinggi dosis polifenol buah Tin yang diberikan maka semakin rendah kadar leptin serum. Ini menunjukkan efek Polifenol buah Tin yang dose-dependent terhadap kadar leptin serum (Vinson, 2005).

Selanjutnya untuk mengetahui seberapa besar hubungan antara polifenol buah Tin terhadap kadar leptin serum, maka dilakukan uji korelasi Pearson yang

menghasilkan koefisien korelasi bernilai negatif ($p = 0.000$, $r -0.868$), menunjukkan semakin tinggi konsentrasi maka semakin rendah kadar leptin. Selain itu, uji korelasi ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang sangat kuat antara peningkatan dosis polifenol buah Tin terhadap penurunan kadar leptin serum.

Dari diagram kadar leptin serum dapat dilihat bahwa secara keseluruhan terdapat perbedaan kadar leptin serum pada pemberian polifenol buah Tin yang berbeda dosisnya. Dari uji Post Hoc Tukey terlihat bahwa pemberian polifenol buah Tin sebesar 18 mg/hari tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan nilai kadar leptin serum perbedaan secara signifikan dibandingkan dengan Kontrol negatif dan sangat berbeda secara signifikan terhadap Kontrol positif. Bahkan kadar leptin serum pada Kelompok pemberian polifenol buah Tin sebesar 18 mg/hari mampu menunjukkan kadar leptin serum yang lebih kecil dibandingkan dengan Kontrol negatif. Sedangkan dosis 4,5 mg/hari dan 9 mg/hari belum memberikan hasil yang signifikan.

Mekanisme kerja polifenol buah Tin terhadap penurunan kadar leptin berkaitan dengan sifat antioksidan. Telah banyak penelitian yang membuktikan asupan polifenol tumbuhan mampu menurunkan kadar leptin secara signifikan, di antaranya adalah pada apel (Bendor, 2008) dan teh hijau (Li et al, 2009). Dari penelitian Granita (2010), tampak pola dose-dependent pada penurunan leptin oleh asupan Epigallocatechin Gallate (EGCC), salah satu polifenol utama dalam teh hijau. Diduga bahwa potensi antioksidan EGCC berbanding lurus dengan peningkatan dosis yang diberikan.

Pada penelitian ini, polifenol yang didapat dari Fakultas MIPA ITB merupakan fraksi flavonoid dari buah Tin. Polifenol termasuk dalam golongan molekul yang bersifat reaktif, ia akan segera bereaksi jika molekulnya bertemu dengan radikal bebas. Proses netralisir radikal bebas dilakukan dengan

menyumbangkan elektron atau atom hidrogen yang dimiliki polifenol untuk menangkap elektron tidak berpasangan yang dimiliki radikal, dikenal dengan scavenging activity. Hal ini akan menghambat pembentukan spesies aktif dan prekursor dari radikal bebas, yang kemudian menurunkan tingkat oksidasi (Tsao, 2010). Pada penelitian *in vitro*, diketahui bahwa polifenol teh hijau memiliki kemampuan menghambat peroksidasi lipid (Winarsi, 2007). Kemampuan antioksidan untuk menurunkan kadar leptin dalam serum ini diduga terjadi karena mekanisme kerja dari polifenol yang dapat menghambat absorpsi kolesterol dalam pencernaan dan meningkatkan ekskresi kolesterol keluar tubuh melalui feses. Kolesterol yang terbuang dari dalam tubuh menyebabkan biosintesis lemak adiposit tidak dapat terbentuk, sehingga sekresi dan fungsi ekspresi leptin dalam serum tidak dapat terjadi. (Hsu & Yen, 2007) (Seigo, et al., 2007).

Flavonoid merupakan fraksi senyawa fenol yang khas dan beraksi secara kuat sebagai metal chelator dan scavenger radikal bebas (Middleton et al, 2000). Flavonoid juga diketahui merupakan antioksidan chain-breaking yang kuat. Pembentukan radikal bebas menyebabkan lesi pada lapisan endotel, sehingga memicu pelepasan sitokin-sitokin pro-inflamasi (Seigo, et al., 2007). Flavonoid sendiri dalam peranannya untuk mempengaruhi sekresi leptin, berpotensi sebagai inhibitor dari proses diferensiasi sel-sel lemak di dalam tubuh, sehingga maturasi pembentukan lemak (adipogenesis) menjadi terhambat, dan otomatis akan ikut menurunkan sintesis leptin di dalam serum (Roth et al, 2008). Beberapa flavonoid juga berpotensi untuk menginduksi lipolisis di sel-sel adiposit. Flavonoid diketahui juga berperan sebagai natural antioksidan, yang potensial untuk menghambat pembentukan lemak yang berasal dari sel-sel lemak, sehingga mempengaruhi ekspresi leptin di dalam serum (Wardah et al, 2012)

Sargowo (1997) menyatakan bahwa peroksida lipid merupakan salah satu radikal bebas yang berpengaruh pada patogenesis aterosklerosis. Penumpukan peroksida lipid menginduksi terjadinya stres oksidatif dan menginisiasi runtutan proses inflamasi pada aterosklerosis. Di sisi lain, leptin merupakan pro-inflamator sitokin-sitokin yang disekresikan oleh sejumlah sel, termasuk fibroblas, adiposit, monosit, dan sel endotel (Dubey & Hesong, 2006). Paparan radikal bebas menimbulkan lesi pada endotel sehingga sel-sel yang bersangkutan (terutama sel endotel dan makrofag) melepaskan sitokin pro-inflamasi, termasuk diantaranya IL-2, IL-6, IL-12 dan IL-18), serta tumor nekrosis alfa (TNF-) dan interferon-gamma (IFN-) dan lain-lain.

Walaupun rata-rata berat badan tikus tidak berbeda secara signifikan, tetapi pada pengukuran kadar leptin serum didapatkan bahwa pemberian dosis polifenol buah Tin sebesar 18 mg/hari mampu menurunkan kadar leptin secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa polifenol buah Tin dapat mengurangi kadar leptin secara efektif. Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa polifenol buah Tin mampu menghambat adipogenesis (Wardah et al, 2012). Dengan proses adipogenesis yang terhambat, maka jumlah sel lemak akan menurun dan otomatis akan menyebabkan penurunan kadar leptin. Selain itu, polifenol buah Tin juga dapat menghambat beberapa mediator intraselular sekresi leptin, antara lain yaitu adenosine, kalsium, cAMP, ATP dan lain-lain (Szkudelski, 2007) (Wardah et al, 2012). Akibat dari penghambatan mediator intraselular sekresi leptin tadi, maka mekanisme inflamasi yang diakibatkan dari sekresi leptin dalam serum tidak terdapat terjadi. Leptin mempunyai efek pro-inflamator, yaitu mengatur sekresi sitokin-sitokin inflamasi yaitu TNF- , IL-6, dan IL-12 (Likuni, 2008). Leptin juga dapat merangsang berbagai sel imunitas dan mengatur produksi sitokin pro-dan anti-inflamasi (IL-2, IL-6, IL-12 dan IL-18), serta tumor nekrosis alfa (TNF-) dan interferon-gamma (IFN-), yang telah

terbukti berpotensi menyebabkan proses aterogenik. Leptin secara tidak langsung berasosiasi dengan konsentrasi serum C-reactive Protein (CRP), yang bukan hanya menjadi inflamator potensial, tetapi terbukti juga dapat menjadi agen penyebab untuk perkembangan aterosklerosis. CRP memberikan kontribusi pada penyakit vaskular dengan cara merusak langsung endotelium yang berindependen dengan fungsi vasodilatasi pada endotelium oleh oksida sintase ekspresi menghambat sintesis dari Nitrous Oxide (NO) dan bioaktivitas pada sel endotel arteri koroner manusia, dan juga memainkan peran penting dalam kemotaksis monosit dan pembentukan sel busa yang menyebabkan terjadinya plak aterosklerosis. Sehingga dapat disimpulkan, leptin berkontribusi dalam peningkatan tekanan darah dan secara tidak langsung memainkan peranan penting dalam inisiasi dan perkembangan aterosklerosis (Dubey & Hesong, 2006)

Dari hasil penelitian ini dapat dinyatakan bahwa polifenol buah Tin menurunkan kadar leptin dalam tubuh. Dapat dibuktikan bahwa semakin tinggi dosis polifenol buah Tin yang diberikan, akan diikuti dengan penurunan leptin yang semakin besar pula. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Liran Bendor dari Florida State University, yang menyatakan bahwa ekstrak polifenol, hanya saja dalam hal ini yang digunakan yaitu buah apel, dapat menghambat proliferasi pre-adiposit menjadi adiposit matur sehingga dengan sendirinya pertumbuhan dan diferensiasi adiposit pun akan terhambat. Hambatan ini otomatis akan mengurangi sekresi leptin oleh adiposit, sehingga leptin yang terbentuk tidak semakin banyak (Bendor, 2008).

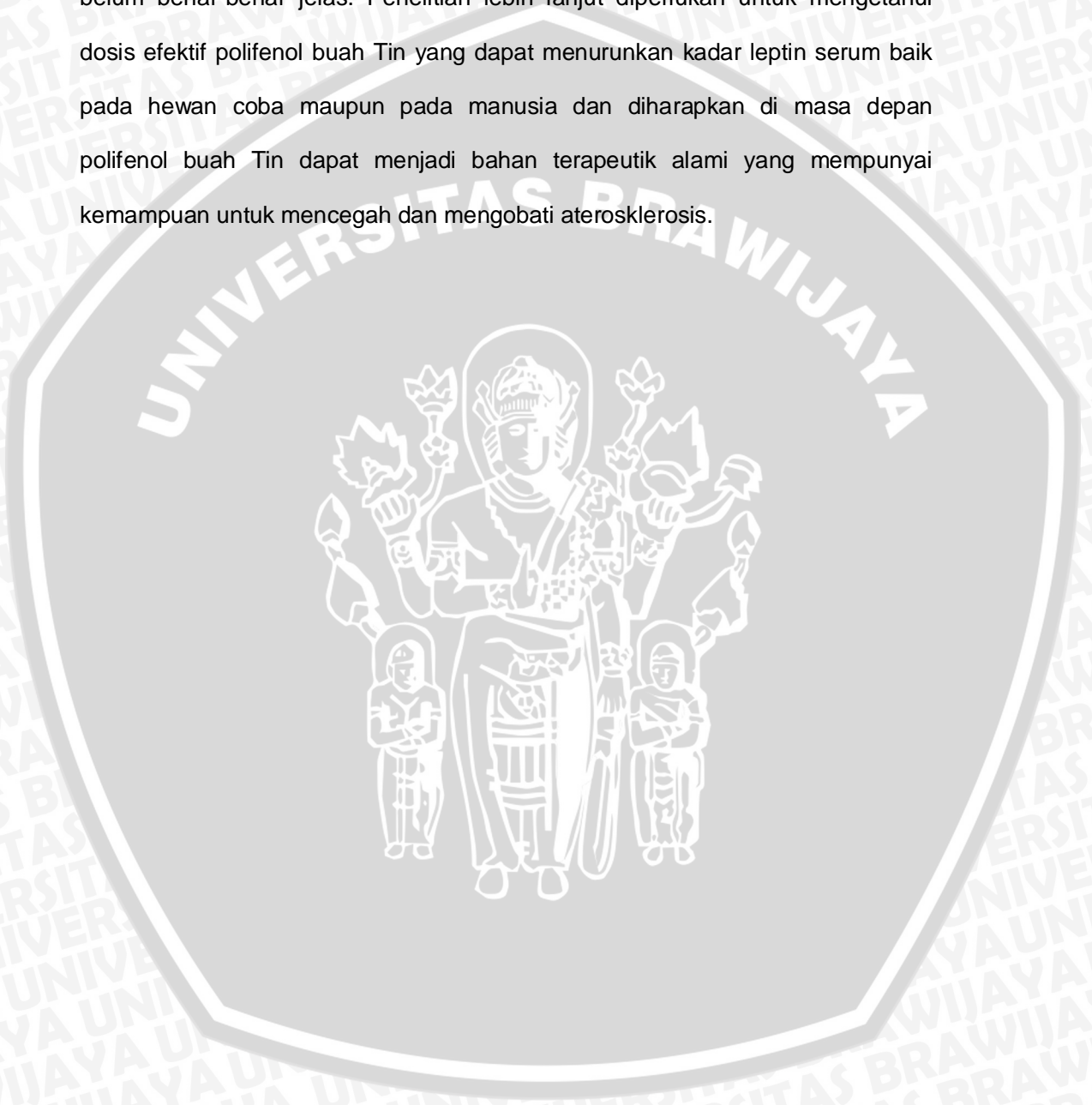
Penurunan kadar leptin dalam serum juga telah dapat dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan oleh Qing-zhao Li dari Department of Preventive Medicine & North China Coal Medical Collage, dapat membuktikan bahwa kandungan polifenol, yang berasal dari teh, mampu menurunkan kandungan

leptin dalam serum tubuh, level berat badan dan kandungan lemak di dalam tubuh. Berdasarkan analisis dari level berat badan dan kandungan leptin serum, dapat dibuktikan bahwa polifenol yang berasal dari teh dapat memperbaiki resistansi leptin, yang secara tidak langsung akan berpengaruh terhadap penurunan berat badan. Selain dapat menurunkan berat badan, kandungan polifenol dalam teh juga mampu membantu meregulasi hormon tersebut pada penderita aterosklerosis, dimana leptin dalam hal ini akan mempermudah semakin meningkatnya berat badan penderita aterosklerosis (Li, 2008). Hasil penelitian yang diperoleh oleh peneliti ini sejalan dengan studi yang dilakukan oleh Liran Bendor dan Qing-zhao Li, dimana ekstrak polifenol yang berasal dari buah Tin mampu menurunkan kadar leptin serum dalam tubuh, sehingga dapat dikatakan bahwa potensi buah Tin, apel dan teh dalam hal penurunan kadar leptin adalah sama.

Sampai sekarang, aktivitas antioksidan yang diperankan oleh polifenol sebagai zat anti inflamasi masih dalam perdebatan. Aksi senyawa antioksidan sebagai zat anti-inflamasi memerlukan jalur yang panjang dan tidak didapatkan hubungan secara langsung. Namun, terdapat kemungkinan bahwa antioksidan dapat menghambat peningkatan sitokin pro-inflamasi jika diadministrasikan sejak dini. Harapannya, aktivitas antioksidan polifenol dapat mengurangi jumlah radikal bebas sehingga mampu mencegah runtutan proses inflamasi yang mengikuti dalam proses aterogenesis, yang salah satunya ditandai dengan penurunan konsentrasi leptin serum.

Dalam penelitian ini hanya diukur leptin secara kuantitas, padahal pada keadaan aterosklerosis telah terjadi resistansi leptin. Jika yang diukur hanya kuantitas, maka tidak diketahui apakah dengan penurunan kadar leptin akan mampu mengembalikan sensitivitas leptin. Mekanisme penurunan leptin serum yang dilakukan oleh polifenol dalam hal ini juga masih menjadi pertanyaan.

Belum adanya penelitian lebih lanjut tentang efek polifenol buah Tin pada mediator intraseluler dari sekresi leptin menyebabkan mekanisme pasti penurunan kadar leptin serum dengan menggunakan polifenol buah Tin menjadi belum benar-benar jelas. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui dosis efektif polifenol buah Tin yang dapat menurunkan kadar leptin serum baik pada hewan coba maupun pada manusia dan diharapkan di masa depan polifenol buah Tin dapat menjadi bahan terapeutik alami yang mempunyai kemampuan untuk mencegah dan mengobati aterosklerosis.



BAB VII PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Pemberian polifenol buah Tin (*Ficus carica* L.) dosis 18 mg/hari selama 65 hari dapat menghambat peningkatan kadar Leptin serum tikus *Rattus norvegicus* jantan dengan diet aterogenik secara signifikan.

7.2 Saran

Beberapa hal yang perlu dilakukan sebagai tindak lanjut penelitian ini:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis polifenol buah tin (*Ficus carica* L.) pada variasi dosis lebih tinggi untuk mengetahui rentang dosis efektif dan dosis toksik ekstrak polifenol buah Tin dalam upaya prevensi peningkatan kadar Leptin serum pada tikus Wistar jantan dengan diet aterogenik.
2. Perlu dilakukan identifikasi jenis polifenol yang paling dominan dalam buah tin sehingga dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jenis polifenol yang lebih spesifik.
3. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai efek polifenol buah Tin pada mediator intraseluler dari sekresi leptin di dalam serum untuk mengetahui secara pasti mekanisme penurunan kadar leptin serum setelah pemberian polifenol buah Tin.

DAFTAR PUSTAKA

Almatsier, S. 2003. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. hal 66-64.

Anwar, TB. 2004. Dislipidemia sebagai Faktor Resiko Penyakit Jantung Koroner. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

Bendor, 2008. Leptin, Adiponectin, and Insulin in Women with PCOS and The Effects of Apple Polyphenols and Exercise. Florida State University. USA; 39-46

Bleys, J, Miller III ER, Pastor-Barriuso R, Appel LJ, Guallar E. 2006. Vitamin-mineral supplementation and the progression of atherosclerosis: a meta analysis of randomized controlled trials. American Journal Clinical Nutrition. Vol.84. USA; 880-887.

Bravo, PE, Morse S, Borne P, Aguilar EA, Reisin E. 2006. Leptin and Hypertension in Obesity. Vascular Health and Risk Management. Dove Medical Press Ltd.

Cai H, Harrison DG. 2000. Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Disease: The Role of Oxidant Stress. Circulation research Journal of The American Heart Association, 2000;87;840-844.

Cunningham, KS, Gotlieb, AI. 2005. The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis. Laboratory Investigation (2005) 85, 9–23.

Curtiss, LK. 2009. Reversing atherosclerosis. *N Engl J Med* 2009 360;11.

Departemen kesehatan Republik Indonesia. 2009. Profil Kesehatan Indonesia 2008. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Dewi LP, Ciptati, 2010. Isolasi Senyawa Antioksidan dari Buah Tin (*Ficus carica* linn).

Dubey L, Hesong Z, 2006. Role of leptin in atherogenesis. *Exp Clin Cardiol* 2006;11(4):269-275.

Duthie, GG, Duthie SJ, Kyle, JAM. Plant polyphenols in cancer as nutritional antioxidants. *Nutrition Research Reviews* (2000), 13, 79-106

Getz, GS., Reardon, CA. 2007. Nutrition and Cardiovascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:2499-2506.

Granita, Gandes Estu, 2011. Efek Pemberian ECGC (Epigallocatechin) the Hijau (Camellia Sintesis) Klon GMB4 Terhadap Kadar Leptin Serum Pada Tikus *Rattus Novergicus* Strain Wistar Betina Yang Diberi Diet aterogenik. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. 2011; 42-45

Hansson, G. K. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. 2005. *New England Journal of Medicine*, Vol. 352. 2005:1685-95.

Haris, M. 2010. Buah Surga.

[http://www.deptan.go.id/bpsdm/bbppetindan/index.php/artikel/145-buah-](http://www.deptan.go.id/bpsdm/bbppetindan/index.php/artikel/145-buah-surga)

[surga](#). Diakses tanggal 1 Oktober 2012.

Hsu Chin-Lin, and Yen Gow-Chin, 2007. Effects of Flavonoids and Phenolic Acids on the Inhibition of Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, 55 (21), 8404-8410

Hennig B and Boissonneault GA. 2002. The roles of vitamin E and oxidized lipids in atherosclerosis. *Clinical Nutrition Review*; 8: 134-139.

Indra, MR, 2007. *Fisiologi Kardiovaskular*. Penerbit Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang.

Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2010. *Atherosclerosis; Basic Pathology*, 8th Edition, WB Saunder. Philadelphia, USA. p326-337.

Lang K, Ratke J, 2009. Leptin and Adiponectin. 2009. *Cell Communication and Signaling* 2009, 7:27.

Levy AP, Friedenber P, Lotan R, Ouyang P, Triputti M. 2004. The Effect of Vitamin Therapy on the Progression of Coronary Artery Atherosclerosis Varies by Haptoglobin Type in Postmenopausal Women. *Diabetes Care*; 27: 4.

Li, 2008. Effects of Tea Polyphenols on Rat Body Weight and Relationship between It and Level of Rat Serum Lipid and Leptin. Department of Preventive Medicine, North China Coal Medical College. China; 2007;1-3.

Likuni N, Kwan QL, Lu L, Matarese G, and la Cava A. 2008. Leptin and Inflammation. *Curr Immunol Rev.* ; 4(2): 70–79.

Leborgne, L, Pakala R, Dilcher C, Hellinga D, Seabron R, Fermin O. Tio, Ron Waksman. 2005. Effect of Antioxidants on Atherosclerotic Plaque Formation in Balloon-Denuded and Irradiated Hypercholesterolemic Rabbits. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. Vol.46. Washington:4.

Ludewig R., Robert Salvayre, Anne Negre. 2004. Immunopathogenesis of Atherosclerosis. *Journal of Leucocyte Biology*, Vol. 76.

Manach, C, Scalbert, A, Morand, C, Rémésy, C, Jiménez, L. 2004. 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.

Mathieu P, Pibarot P, Després JP. 2006. Metabolic syndrome: the danger signal in atherosclerosis. *Vascular Health and Risk Management* 2006;2(3) 285–302.

McGill H., McMahan CA, Herderick EE, Malcom GT, Tracy RE, Jack P. 2000. Origin of atherosclerosis in childhood and adolescence. American Journal of Clinical Nutrition. Vol. 72. USA, 2000: 1307-1315.

Menno, PJ, de Winter, Kanters E, Kraal G, Hofker MH. Nuclear Factor B Signaling in Atherogenesis. 2005. Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology. No.25. Netherlands, 2005: 904-914.

Motycka, D et all. 2008. Definition of obesity. <http://www.obesity.org>. Diakses 10 Januari 2012.

Murray, RK., Granner, DK., Rodwell, VW. 2006. Harper's Illustrated Biochemistry 27th edition. McGraw-Hill Companies.

Mushoffi, F.Z. 2010. Buah Tin Sebagai Diversifikasi Obat Diabetes Melitus. <http://www.ipb.ac.id> . Diakses 10 Januari 2012.

Myers M, 2006. Leptin Communicates The Status Body energy Stores To Central Nervous System. Obesity Vol 14.

Napoli C, Lerman LO. 2001. Involvement of oxidation-sensitive mechanisms in the cardiovascular effects of hypercholesterolemia. Mayo Clin Proc. 2001;76:619-631.

Nijveldt, R.J. Nood, E, Hoorn, DEC, Boelens, PG., Norren, K, Leeuwen, PAM. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*;74:418–25.

Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT.Rineka Cipta, hal 165-167.

Paget GE, Barnes JM. 1964. Toxicity Test. In: LaurenceDR, Bachrach AL (ed.) *Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics* (p161). London: Academic Press.

Pi-Sunyer FX. 2002. The obesity epidemic: Pathophysiology and Consequences of Obesity. *Obes Res*.2002;10:97S–104S.

Prasetyo A, Sadhana U. 2007. Aspek seluler dan molekuler aterosklerosis. http://www.eprints.undip.ac.id/1488/1/artikel_terkini.html. Diakses 09 Januari 2012.

Qusti, SY, Ahmed A, Lahw, M. 2010. Screening of Antioxidant Activity and Phenolic Content of Selected Food Items Cited in The Holy Quran. *EJBS* 2 (1); 40-51

Roth, J.D., B.L. Roland, R.L. Cole, J.L. Trevaskis and C. Wayer et al, 2008. Leptin responsiveness restored by amilyn agonism in diet-induced obesity: Evidence from nonclinical and clinical studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105: 7257-7262

Ross R. 1999. Mechanisms of Disease: Atherosclerosis— An Inflammatory Disease. *N Engl J Med.* 1999;340: 115–126.

Sargowo, D. 1997. Peran Radikal Bebas dalam Patogenesis Aterosklerosis. *Jurnal Kardiologi Indonesia* vol XXII

Sastroasmoro, S et all. 1995. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis.* Jakarta: Binarupa Aksara

Seigo, B., Natsume, M., Yasuda, A., Nakamura, Y., Tamura, T., Osakabe, N., Kanegae, M., Kondo, K. 2007. Plasma LDL and HDL Cholesterol and Oxidized LDL Concentration Are Altered in Normo- and Hypercholesterolemic Humans after Intake of Different Levels of Cocoa Powder. 137:1436-1441

Sies, H. 1997. Physiological society symposium: Impaired endothelial and smooth muscle cell function in oxidative stress. *Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Experimental Physiology* (1997), 82, 291-295.

Stapleton, Phoebe, Adam G Goodwull, Milinda E James, Robert W Brock, Jefferson C Frisbee. Hypercholesterolemia and Microvascular Dysfunction: Interventional Strategies. *Journal of inflammation*, 2010;7:54.

Stover, E, Aradhya, M. 2007. The Fig: Overview of an Ancient Fruit. *HortScience* vol. 42(5) August 2007: 1083-7.

Su, Jun. 2009. Natural Antibodies Against Phosphorylcholine as Potential Protective Factors in Atherosclerosis, Cardiovascular Disease and Systemic Lupus Erythematosus. Karolinska Institutet. Stockholm.

Szkudelski, 2007. Intracellular Mediators in Regulation of Leptin Secretion from Adipocytes. *Physiol. Res.* 56: 503-512, 2007

Teresa SP, Moreno DA, Viguera CG. 2010. Flavanols and Anthocyanins in Cardiovascular Health: A Review of Current Evidence. *Int. J. Mol. Sci.* 11, 1679-1703;

Tsao, Rong. 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* vol 2, 1231-1246.

Tsimikas, et al. 2005. Oxidized Phospholipid, Lp(a) Lipoprotein, And Coronary Artery Disease. *New England Journal of Medicine*, Vol. 353:46-57.

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., 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.

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

Wardah, Soepandi T, E Bimo Aksono, dan Kusurningrum. 2012. Reduction of Intracellular Lipid accumulation, Serum Leptin and Cholesterol Levels in Broiler Fed Diet Supplemented with Powder Leaves of *Phyllanthus buxifolius*. *Asian Journal of Agricultural Research* 6 (3): 106-117, 2012

Webster-Gandy J, Madden A, Holdsworth M. 2006. *Handbook of Nutrition and Dietetics*. New York: Oxford University Press.

Werner N, Nickenig G. 2004. From Fat fighter to risk factor: The zigzag trek of leptin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*;24:7–9.

World Health Organization . 2007. *Prevention of cardiovascular disease: guideline for assessment and management of cardiovascular risk*.

Wibowo, JW. 2003. Pengaruh Pemberian Vitamin E dan Vitamin E Terhadap Profil Lipid dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis Tikus yang Mendapat Diet Tinggi Kolesterol. Thesis. Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro, Semarang.

Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Yogyakarta : Kanisius

Williams KW, Scott MM, Elmquist JK. 2009. From observation to experimentation: leptin action in the mediobasal hypothalamus. *Am. J. Clin. Nutr.* 89 (3): 985S–990S.

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 Nut.r*; 64:167–173.



Lampiran 1 Perhitungan Dosis Polifenol Buah Tin (*Ficus carica* Linn)

Tabel:Perbandingan Luas Permukaan Hewan Coba

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

Sumber: Paget and Barnes, 1971

Dosis polifenol buah Tin yang digunakan pada penelitian ini 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

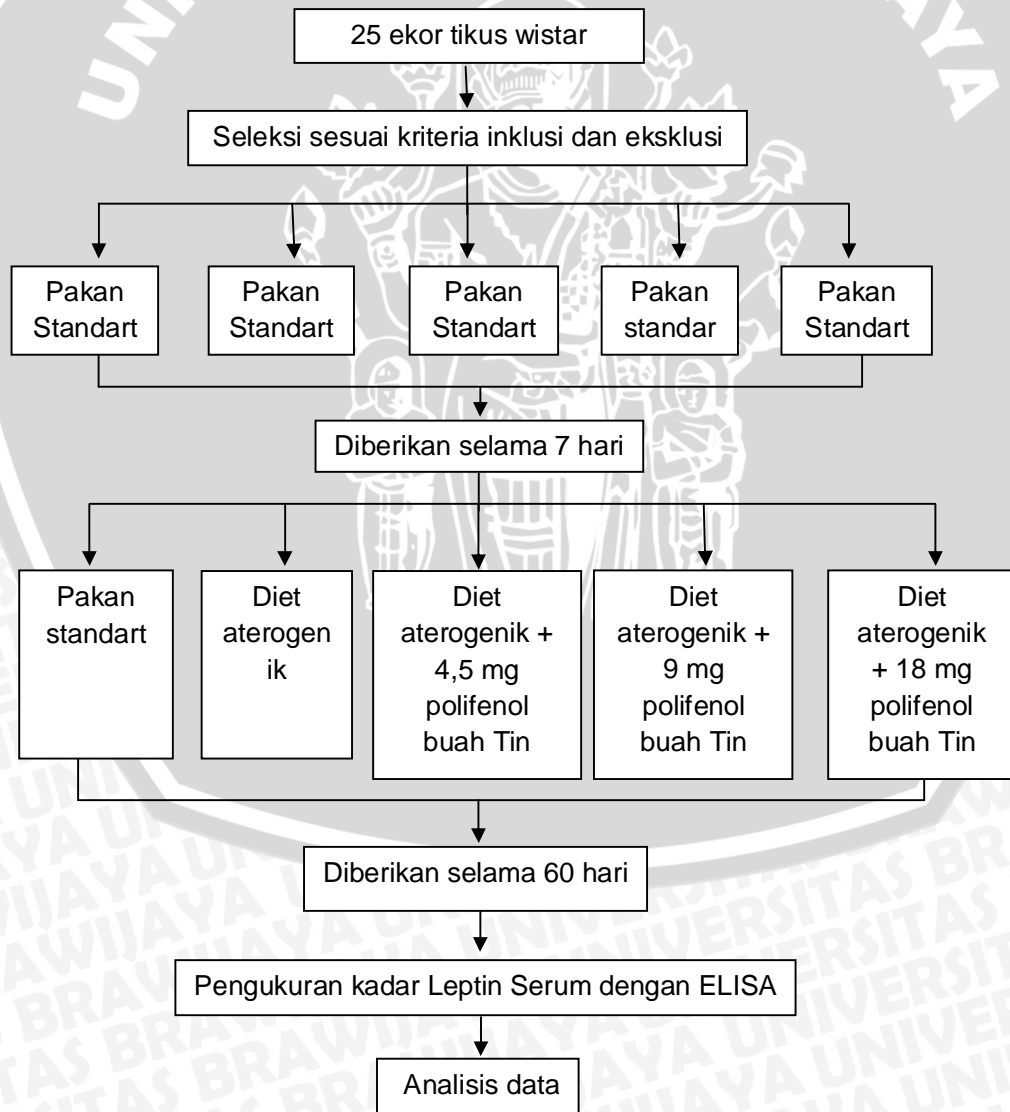
Variasi pemberian dosis didasarkan pada deret ukur $\frac{1}{2}n$, n , dan $2n$ adalah sebagai berikut:

- dosis 1 = 4,5 mg/hari

- dosis 2 = 9 mg/hari

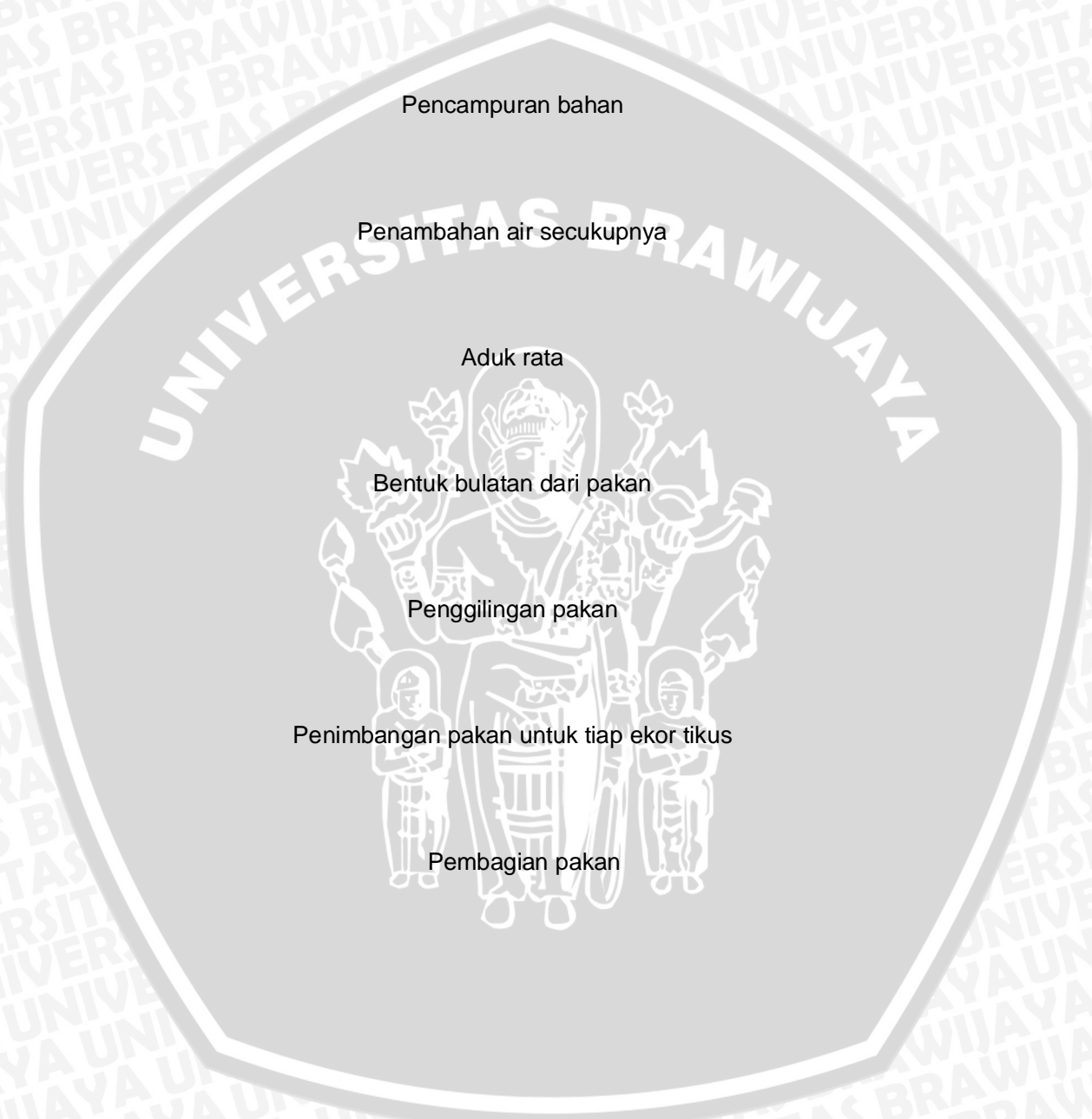
- dosis 3 = 18 mg/hari

Lampiran 2 Diagram Alur Penelitian



Lampiran 3 Alur Pembuatan Diet Normal

Penimbangan bahan PARS dan tepung terigu



Pencampuran bahan

Penambahan air secukupnya

Aduk rata

Bentuk bulatan dari pakan

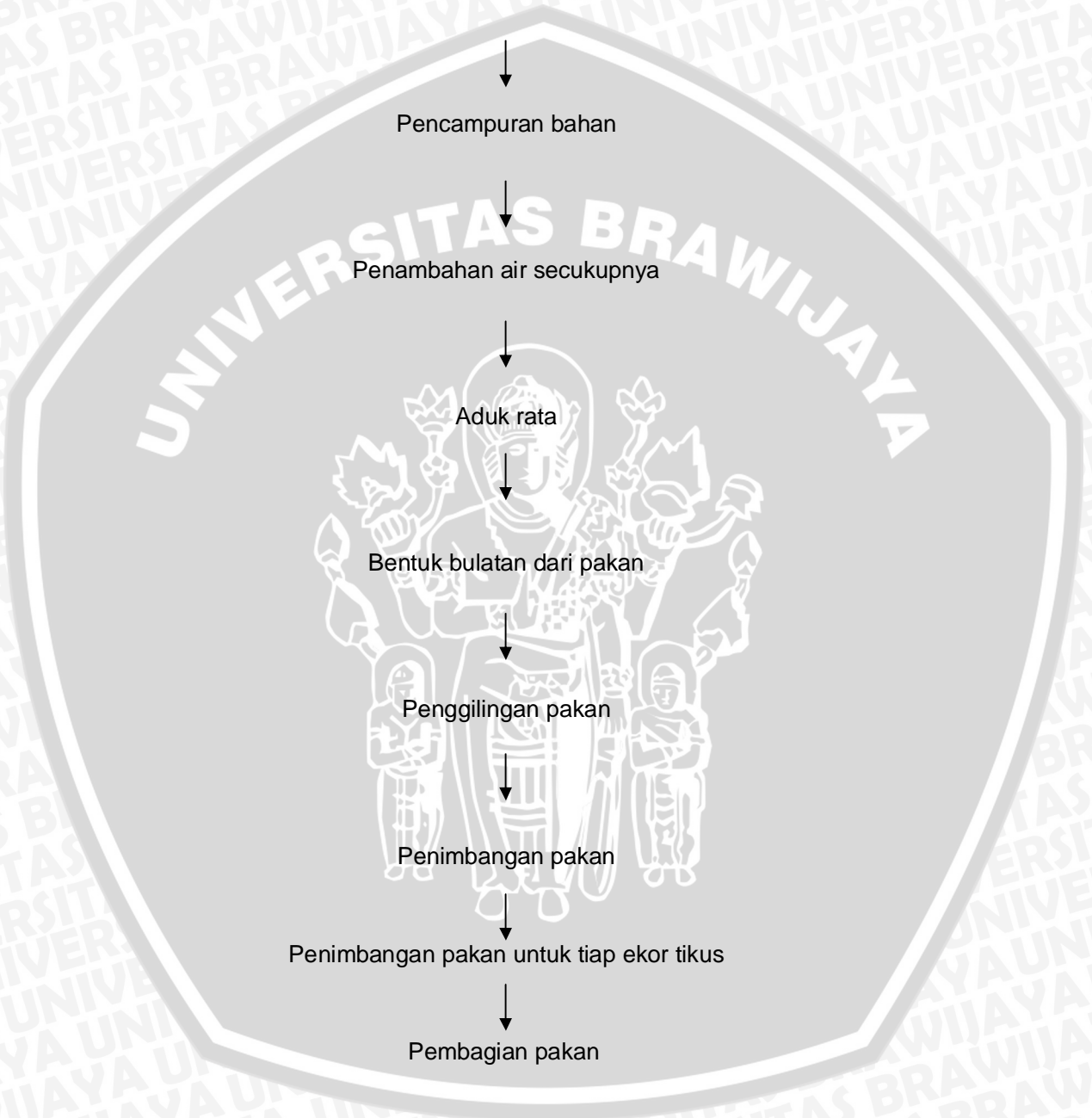
Penggilingan pakan

Penimbangan pakan untuk tiap ekor tikus

Pembagian pakan

Lampiran 4 Alur Pembuatan Diet Aterogenik

Penimbangan bahan (PARS, terigu, minyak babi, kolesterol dan asam kolat)



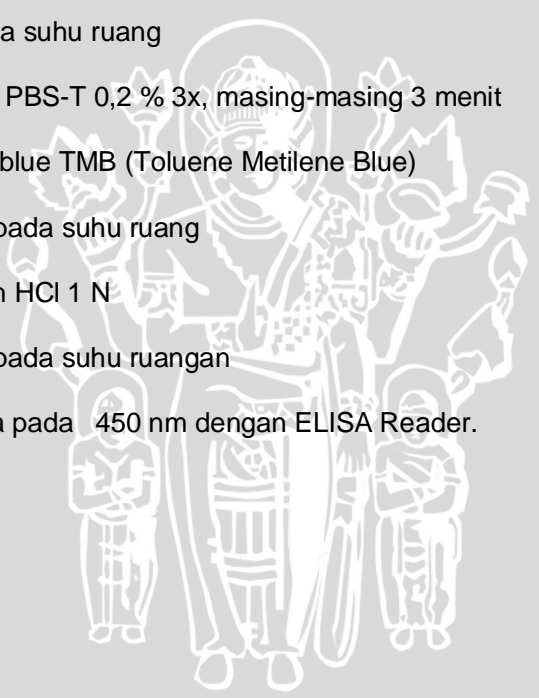
Lampiran 5 Dokumentasi Hewan Coba



Lampiran 6 Pengukuran Kadar Leptin Serum dengan Metode ELISA
(Enzyme-linked immunosorbent assay)

- Pemberian Coating antigen pada piring mikrotubes dengan mencampur serum dengan Coating buffer 50 μ L dengan perbandingan 1:20
- Inkubasi semalam dengan suhu 4°C
- Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50 μ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
- Pemberian blocking buffer (menambahkan BSA 1% dalam PBS)
- Inkubasi 1 jam pada suhu ruangan
- Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50 μ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
- Pemberian Coating Antibodi primer dengan penambahan Anti Leptin + PBS dengan perbandingan 1:500

- Inkubasi 1 jam pada suhu ruang
- Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50 μ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
- Pemberian Coating Antibodi sekunder dengan penambahan Anti Rabbit IgG AP Conjugated + PBS dengan perbandingan 1:1000
- Inkubasi 1 jam pada suhu ruang
- Pencucian dengan larutan PBS-T (PBS + Tween-20) 0,2% 50 μ L sebanyak 3X, masing-masing 3 menit
- Penambahan SA-HRP 1 : 1000
- Inkubasi 1 jam pada suhu ruang
- Pencucian dengan PBS-T 0,2 % 3x, masing-masing 3 menit
- Penambahan Sureblue TMB (Toluene Metilene Blue)
- Inkubasi 30 menit pada suhu ruang
- Stop reaksi dengan HCl 1 N
- Inkubasi 15 menit pada suhu ruangan
- Diukur absorpsinya pada 450 nm dengan ELISA Reader.

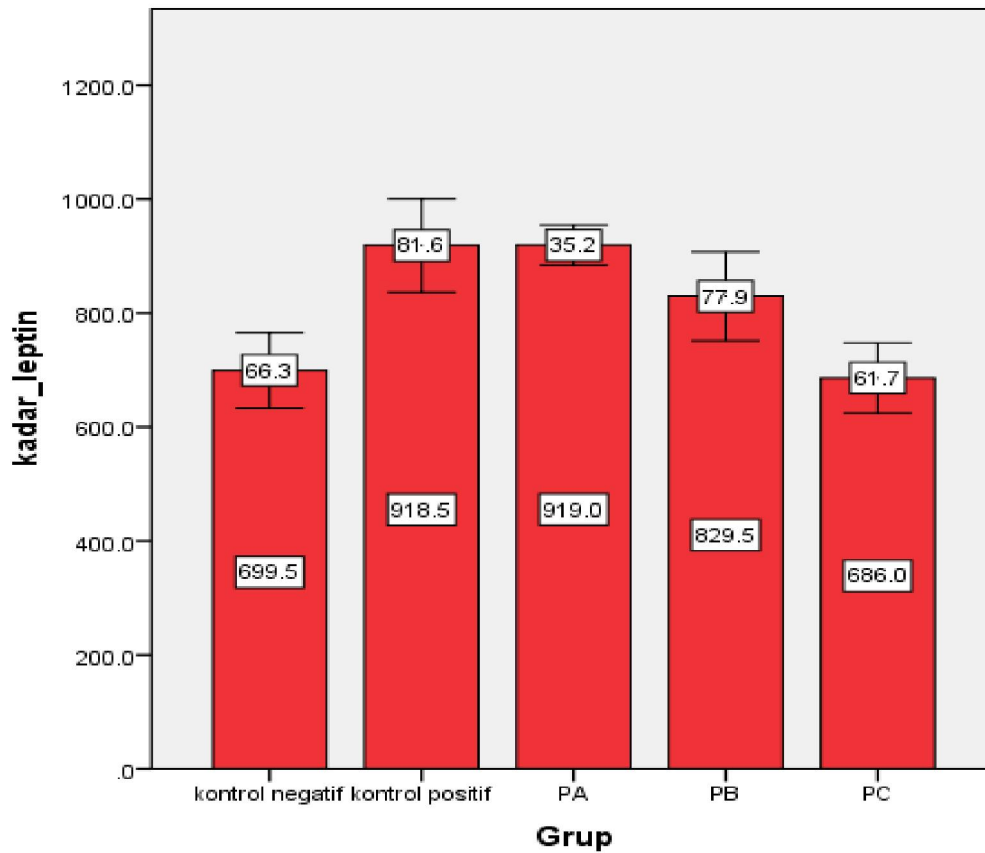


Lampiran 7 Hasil Pengukuran Kadar Leptin Serum

- Tabel Hasil Pengukuran Kadar Leptin Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kadar Leptin serum (pg/ml)
Kontrol negatif	699,500 ± 66,318
Kontrol Positif	918,500 ± 81,597
Dosis A	919,000 ± 35,249
Dosis B	829,500 ± 77,910
Dosis C	686,000 ± 61,659

Keterangan: Kontrol negatif (diet normal tanpa polifenol buah Tin); Kontrol positif (diet aterogenik tanpa polifenol buah Tin); dosis A (diet aterogenik + polifenol buah Tin 4,5 mg/hari); dosis B (diet aterogenik + polifenol buah Tin 9 mg/hari); Dosis C (diet aterogenik + polifenol buah Tin 18 mg/hari); Kadar Leptin (µg/mL).



Lampiran 8 Hasil Analisis Data Kadar Leptin Serum

- Uji Normalitas

Tests of Normality							
kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar	kontrol negatif	.264	5	.200*	.930	5	.597
Leptin	kontrol positif	.292	5	.188	.865	5	.246
serum (pg/mL)	PA	.205	5	.200*	.938	5	.649
	PB	.354	5	.040	.795	5	.074
	PC	.229	5	.200*	.929	5	.590

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

- Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Kadar Leptin serum (pg/mL)			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.092	4	20	.388

- One-way Anova

ANOVA					
Kadar Leptin serum (pg/mL)					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	258092.500	4	64523.125	14.551	.000
Within Groups	88682.500	20	4434.125		
Total	346775.000	24			

Multiple Comparisons

Kadar Leptin serum (pg/mL)

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	kontrol positif	-219.0000*	42.1147	.000	-345.023	-92.977
	PA	-219.5000*	42.1147	.000	-345.523	-93.477
	PB	-130.0000*	42.1147	.041	-256.023	-3.977
	PC	13.5000	42.1147	.998	-112.523	139.523
kontrol positif	kontrol negatif	219.0000*	42.1147	.000	92.977	345.023
	PA	-.5000	42.1147	1.000	-126.523	125.523
	PB	89.0000	42.1147	.253	-37.023	215.023
	PC	232.5000*	42.1147	.000	106.477	358.523
PA	kontrol negatif	219.5000*	42.1147	.000	93.477	345.523
	kontrol positif	-.5000	42.1147	1.000	-125.523	126.523
	PB	89.5000	42.1147	.248	-36.523	215.523
	PC	233.0000*	42.1147	.000	106.977	359.023
PB	kontrol negatif	130.0000*	42.1147	.041	3.977	256.023
	kontrol positif	-89.0000	42.1147	.253	-215.023	37.023
	PA	-89.5000	42.1147	.248	-215.523	36.523
	PC	143.5000*	42.1147	.021	17.477	269.523
PC	kontrol negatif	-13.5000	42.1147	.998	-139.523	112.523
	kontrol positif	-232.5000*	42.1147	.000	-358.523	-106.477
	PA	-233.0000*	42.1147	.000	-359.023	-106.977
	PB	-143.5000*	42.1147	.021	-269.523	-17.477

- Uji Post Hoc Tukey HSD

- Uji Korelasi Pearson

Correlations

		kelompok	Kadar Leptin serum (pg/mL)
kelompok	Pearson Correlation	1	-.868*
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	15	15
Kadar Leptin serum (pg/mL)	Pearson Correlation	-.868*	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	15	15

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 9 Rekap dan Grafik Berat Badan Tikus

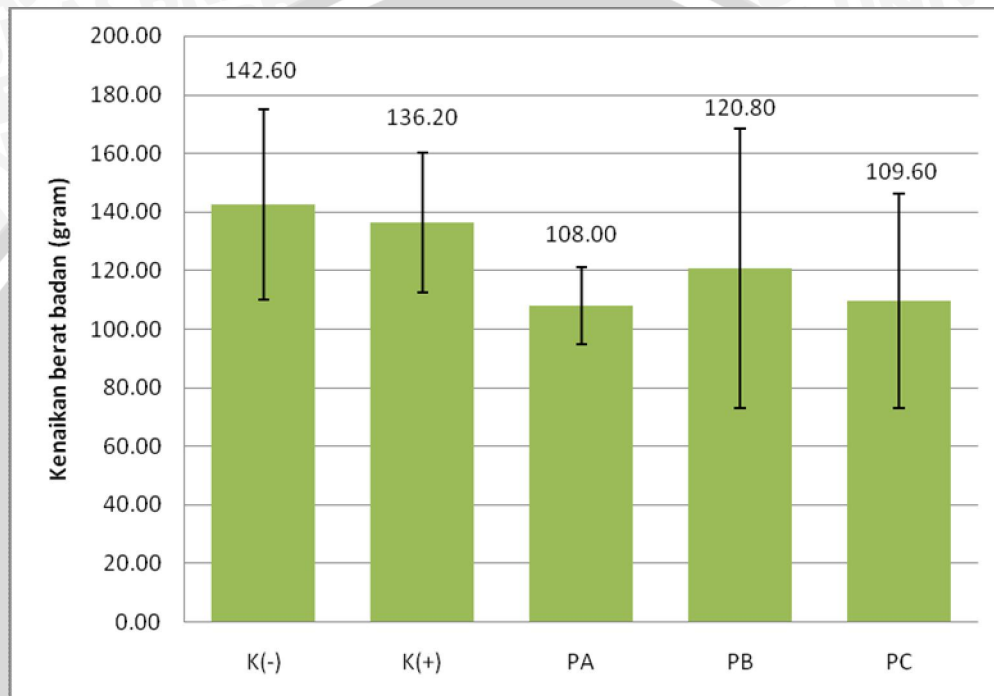
- Tabel Berat Badan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan

kelompok	Berat Badan (gr)										BB
	09-06 2011	14-06 2011	03-07 2011	12-07 2011	17-07 2011	24-07 2011	02-08 2011	07-08 2011	14-08 2011	18-08 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:

BB : kenaikan berat badan (gr)

- 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 10 Rekap dan Grafik Asupan Makanan Tikus

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

tanggal 15 - 28 Juni 2011

kelompok	Tanggal													
	15 06 2011	16 06 2011	17 06 2011	18 06 2011	19 06 2011	20 06 2011	21 06 2011	22 06 2011	23 06 2011	24 06 2011	25 06 2011	26 06 2011	27 06 2011	28 06 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)

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan
tanggal 29 Juni 2011 – 12 Juli 2011

kelompok	Tanggal													
	29 06 2011	30 06 2011	01 07 2011	02 07 2011	03 07 2011	04 07 2011	05 07 2011	06 07 2011	07 07 2011	08 07 2011	09 07 2011	10 07 2011	11 07 2011	12 07 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

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan
tanggal 13 – 26 Juli 2011

kelompok	Tanggal													
	13 07 2011	14 07 2011	15 07 2011	16 07 2011	17 07 2011	18 07 2011	19 07 2011	20 07 2011	21 07 2011	22 07 2011	23 07 2011	24 07 2011	25 07 2011	26 07 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)

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan
tanggal 27 Juli – 09 Agustus 2011

kelompok	Tanggal													
	27 07 2011	28 07 2011	29 07 2011	30 07 2011	31 07 2011	01 08 2011	02 08 2011	03 08 2011	04 08 2011	05 08 2011	06 08 2011	07 08 2011	08 08 2011	09 08 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)

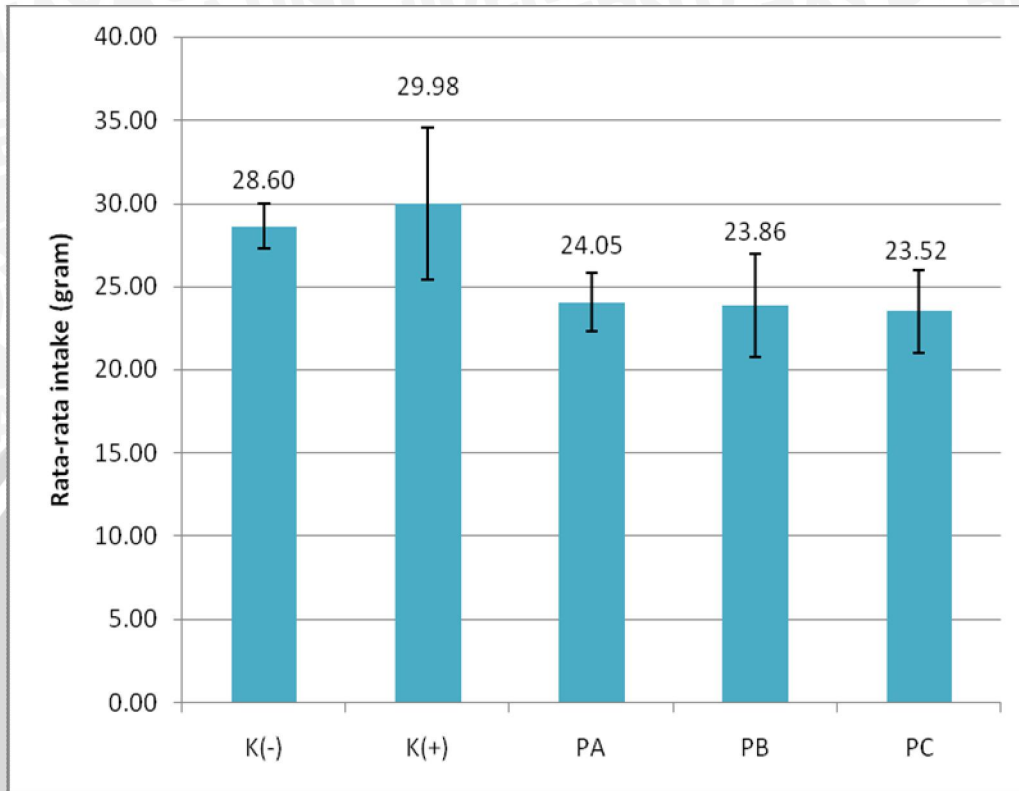
Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan
tanggal 10 - 18 Agustus 2011

kelompok	Tanggal								
	10 08 2011	11 08 2011	12 08 2011	13 08 2011	14 08 2011	15 08 2011	16 08 2011	17 08 2011	18 08 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)

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



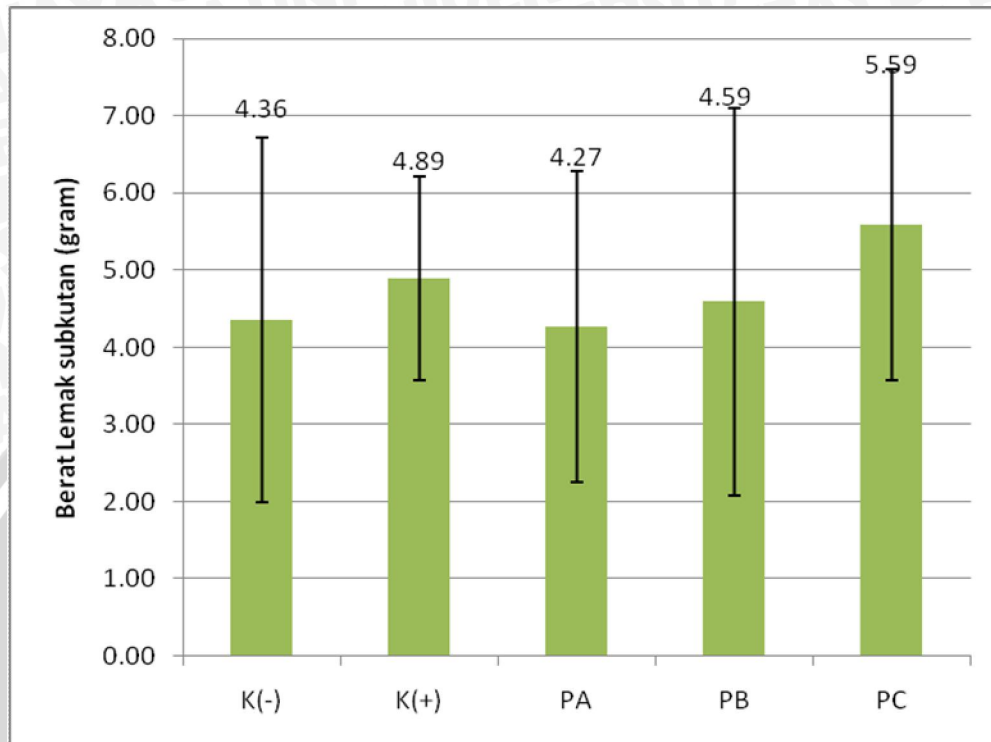
Asupan makanan tikus dihitung dengan mengurangkan jumlah pakan yang diberikan per hari dengan sisa pakan per hari. Pada Grafik Asupan Makanan Tikus diatas dapat dilihat rerata asupan makanan pada kelompok perlakuan K(-), K(+), PA, PB, PC berturut-turut sebesar $28,60 \pm 1,35$ gram/hari, $29,98 \pm 4,54$ 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 11 Data Lemak Viseral, Grafik, dan Analisis

- Tabel Berat Lemak viseral

kelompok	berat lemak viseral(gr)
K-1	8.21
K-2	2.85
K-3	2.12
K-4	4.60
K-5	4.03
K+1	6.28
K+2	5.16
K+3	4.70
K+4	5.53
K+5	2.77
PA1	3.42
PA2	7.85
PA3	3.27
PA4	3.61
PA5	3.18
PB1	3.50
PB2	7.36
PB3	6.04
PB4	5.20
PB5	0.86
PC1	4.95
PC2	7.00
PC3	2.65
PC4	5.46
PC5	7.87

- Grafik Berat Lemak visceral Tikus wistar



- Analisis Data Pengaruh Pemberian Polifenol Buah Tin terhadap Berat Lemak visceral Tikus

Uji Normalitas

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
visceral fat	1	5	.200	.897	5	.391
	2	5	.200	.924	5	.556
	3	5	.003	.628	5	.001
	4	5	.200	.964	5	.835
	5	5	.200	.967	5	.854

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
visceral fat 1	.260	5	.200	.897	5	.391
2	.243	5	.200	.924	5	.556
3	.428	5	.003	.628	5	.001
4	.196	5	.200	.964	5	.835
5	.176	5	.200	.967	5	.854

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances
visceral fat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.458	4	20	.766

Uji ANOVA

ANOVA

visceral fat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.635	4	1.409	.324	.858
Within Groups	86.899	20	4.345		
Total	92.535	24			

Dari uji Annova terlihat bahwa pemberian polifenol tidak mempengaruhi lemak viseral secara signifikan.

Lampiran 12

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Peneliti : Muhammad Cholis Hidayat

NIM : 0910713053

Judul : Pengaruh Polifenol Buah Tin (*Ficus Carica* linn) Terhadap Kadar Leptin Serum pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar Yang Diberi Diet Aterogenik

Unit / Lembaga : Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

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, Januari 2013

Muhammad Cholis Hidayat

NIM. 09107103053