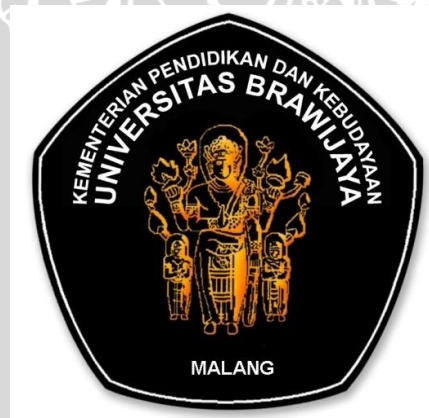


**STUDI KADAR TRIGLISERIDA DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
HEPAR HEWAN MODEL TIKUS (*Rattus norvegicus*)
HIPERKOLESTEROLEMIA DENGAN TERAPI
EKSTRAK AIR BENALU MANGGA
(*Dendrophthoe petandra*)**

SKRIPSI

Oleh:
YOSIA ARAUNA
0911310028



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

**STUDI KADAR TRIGLISERIDA DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
HEPAR HEWAN MODEL TIKUS (*Rattus norvegicus*)
HIPERKOLESTEROLEMIA DENGAN TERAPI
EKSTRAK AIR BENALU MANGGA
(*Dendrophthoe petandra*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
YOSIA ARAUNA
0911310028



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**STUDI KADAR TRIGLISERIDA DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
HEPAR HEWAN MODEL TIKUS (*Rattus norvegicus*)
HIPERKOLESTEROLEMIA DENGAN TERAPI
EKSTRAK AIR BENALU MANGGA
(*Dendrophthoe petandra*)**

Oleh :
Yosia Arauna
0911310028

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 2 September 2013
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

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

drh. Dyah Ayu Oktavianie, M.Biotech
NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,
Ketua Program Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Hewan
Program Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh., MS
NIP. 19480615 197702 2 001

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

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yosia Arauna
NIM : 0911310028
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul : Studi Kadar Trigliserida Dan Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus (*Rattus Norvegicus*) Hiperkolesterolemia Dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrophthoe Petandra*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

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

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 16 September 2013
Yang menyatakan,

(Yosia Arauna)
NIM. 0911310046

Studi Kadar Triglisericida dan Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia yang diterapi Dengan Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*)

ABSTRAK

Hiperkolesterolemia adalah kondisi tingginya konsentrasi kolesterol darah. Salah satu penyebabnya adalah konsumsi diet tinggi lemak. Kondisi tersebut menyebabkan perlemakan pada hepar. Pengendalian hiperkolesterol dalam tubuh dapat dibantu dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung antioksidan. Ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) memiliki kandungan antioksidan seperti flavanoid kuersetin, tanin dan saponin yang diyakini menurunkan kadar triglisericida dan mengurangi perlemakan hepar. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh terapi ekstrak air benalu mangga dalam menurunkan kadar triglisericida dan memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus yang dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok hiperkolesterolemia, kelompok hiperkolesterolemia yang mendapat terapi ekstrak air benalu mangga 400 mg/Kg BB dan 800 mg/Kg BB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi ekstrak air benalu mangga dapat menurunkan kadar triglisericida secara signifikan ($P < 0,05$). Pengamatan histopatologi menunjukkan bahwa bioaktif dalam benalu mangga dapat menurunkan perlemakan pada gambaran histopatologi hepar. Dosis 800 mg/Kg BB menunjukkan dosis terbaik dalam menurunkan kadar triglisericida dan dapat mengurangi perlemakan hepar. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak air benalu mangga dapat menurunkan kadar triglisericida dan memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus hiperkolesterolemia.

Kata kunci : hiperkolesterolemia, benalu mangga, triglisericida, histopatologi hepar

Study of Triglyceride Level and Hepar Histopathology In Rat Hypercholesterolemia Model (*Rattus norvegicus*) With Therapy Of Mango Mistletoes (*Dendrophthoe pentandra*) Water Extract

ABSTRACT

Hypercholesterolemia is an increasing of cholesterol level in blood serum. One of the causative agent is consumption of high fatty diet. It caused a fatty liver accumulation. Mango mistletoe (*Dendrophthoe pentandra*) water extract contains quercetine flavonoids, tannins and saponins which can lowering triglyceride level and decreasing fatty liver accumulation. The purpose of this research was to study the role of mango mistletoe water extract in lowering triglyceride levels and repairing hepar histopathology. In this study, rats as experimental animals grouped into 4 the groups, namely control group, hypercholesterolemia group, hypercholesterolemia group that received therapy 400 mg / kg BW and 800 mg / kg BW of mango mistletoe water extract. The results showed that therapy mango mistletoe water extract could be decreasing triglyceride levels significantly ($P < 0,05$). Histopathology observation shown that bioactive in mango mistletoe successfully reduce the fatty liver accumulation. Therapeutic dose of 800 mg / kg BW showed an effective dose for lowering triglyceride levels and reducing fatty liver accumulation. It can be concluded that therapy of mango mistletoe extract water can be lowering triglyceride levels and reduce fatty liver in rat hypercholesterolemic.

Keywords : hypercholesterolemia, mango mistletoe, triglyceride, hepar histopathology

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan berkat dan anugerah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “ Studi Kadar Trigliserida Dan Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus (*Rattus Norvegicus*) Hiperkolesterolemia Dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrophthoe Petandra*)” ini dapat terselesaikan.

Ketertarikan penulis mengangkat topik ini karena penyakit hiperkolesterolemia kurang mendapat sorotan dalam penanganannya. Disisi lain, pemanfaatan benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) untuk terapi hiperkolesterolemia belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan mampu menjadi informasi dalam kajian ilmiah tentang manfaat dari potensi benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) sebagai terapi hiperkolesterolemia. Penelitian ini merupakan payung dari penelitian yang diketuai oleh Prof.Dr.Aulanni'am,drh.,DES. Selama menyusun proposal skripsi, penulis banyak mendapatkan arahan, bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku dosen pembimbing I yang telah membantu penulis dalam mengarahkan dan memberi bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan serta dukungan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan skripsi ini
2. drh. Dyah Ayu Oktaviane, M.Biotech selaku dosen pembimbing II yang telah membantu penulis dalam mengarahkan dan memberi bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan serta dukungan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan skripsi ini.
3. Dr. Dra. Herawati, MP selaku penguji I yang telah meluangkan waktu dan memberikan masukan serta arahan kepada penulis dalam penyempurnaan proposal skripsi ini.

4. drh. Handayu Untari penguji II yang telah meluangkan waktu dan memberikan masukan serta arahan kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
5. Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh, MS selaku Ketua Program Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan PKH UB tercinta.
6. Bapak dan Ibu serta saudara tercinta yang senantiasa memberikan dorongan, semangat, dan doa yang tiada henti demi keberhasilan penulis.
7. Teman sejawat dalam pelaksanaan penelitian ini “Deshinta, Inggil, Fanny Debin dan Diajeng yang bekerjasama dengan baik.
8. Teman-teman Kedokteran Hewan 2009 yang selalu memberikan dorongan semangat, inspirasi dan keceriaan.
9. Seluruh staf serta asisten Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Laboratorium Patologi Klinik RS Dr Soetomo Surabaya, UPT Meteria Medica yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan karya tulis ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Tuhan membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan hasil dari penelitian ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

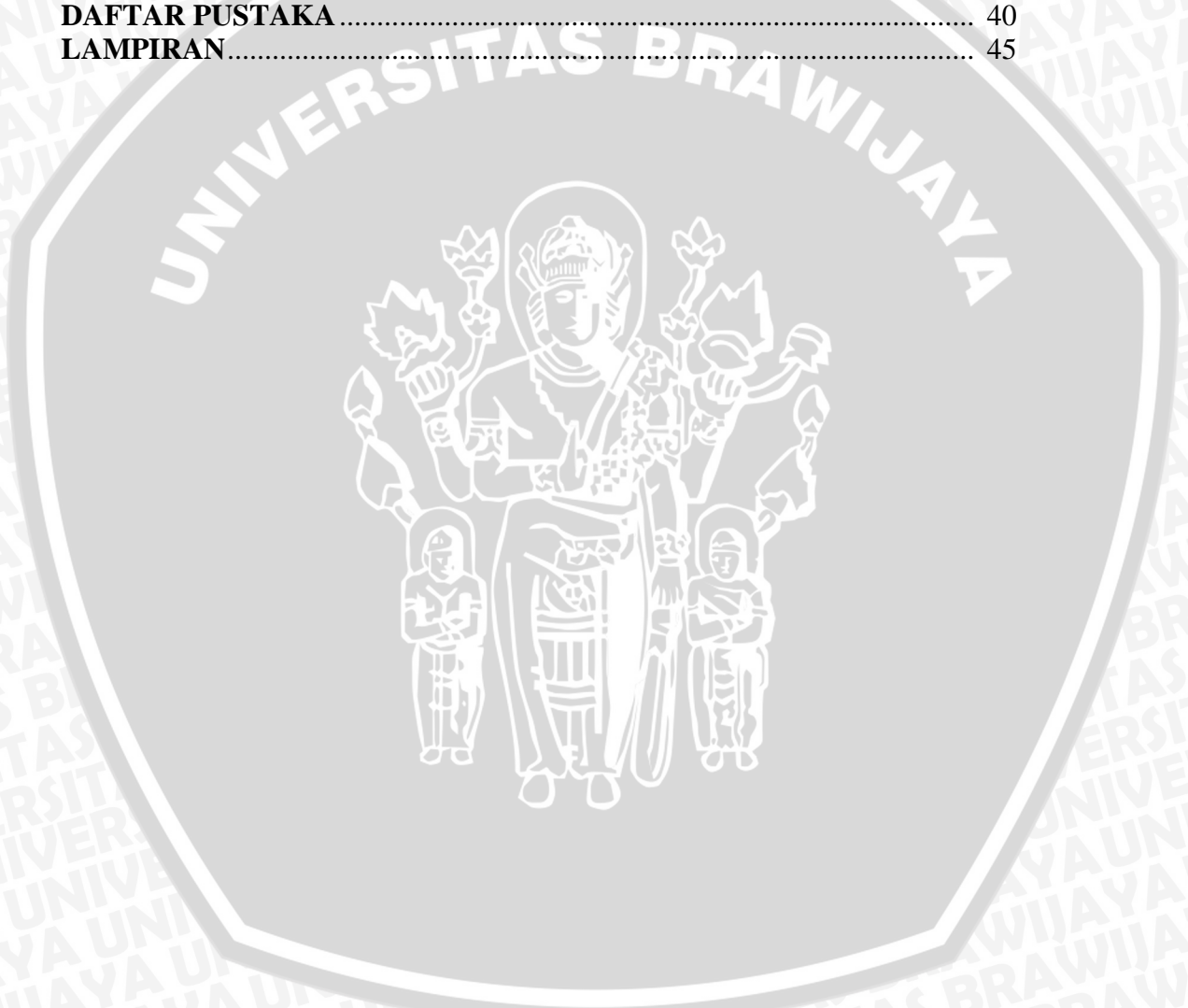
Malang, 16 September 2013

Penulis

DAFTAR ISI

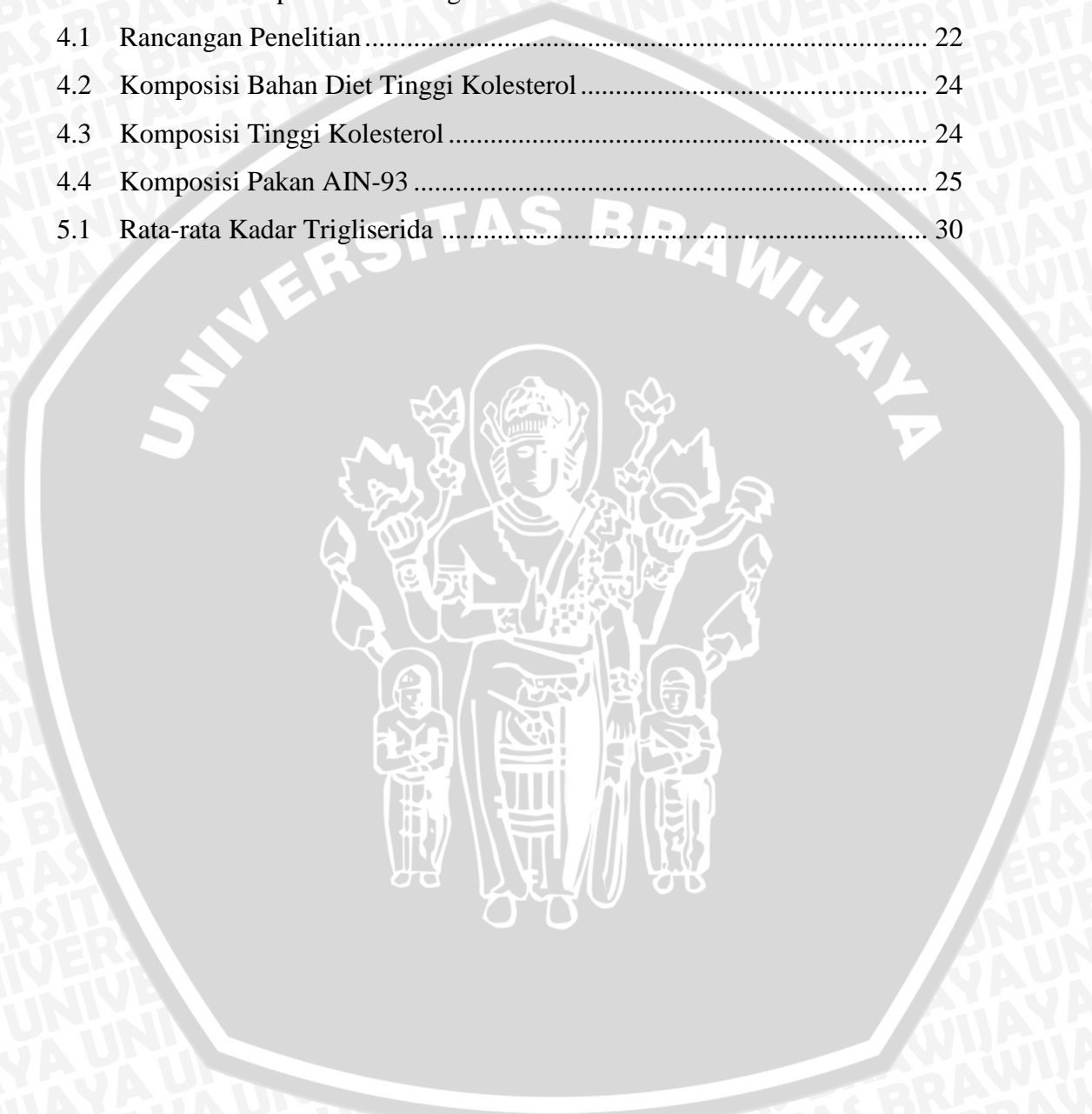
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan	4
1.5 Manfaat	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kolesterol	6
2.2 Patomekanisme Hiperkolesterolemia	8
2.3 Hewan Model Tikus Hiperkolesterolemia	10
2.4 Nilai Profil Lipid Pada Berbagai Hewan	12
2.5 Benalu Mangga (<i>Dendrophthoe petandra</i>)	13
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	16
3.1 Kerangka Konseptual	16
3.2 Hipotesis Penelitian	19
BAB 4 METODE PENELITIAN	20
4.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan Kegiatan	20
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	20
4.2.1 Alat	20
4.2.2 Bahan	20
4.3 Tahapan Penelitian	21
4.4 Prosedur kerja	21
4.4.1 Rancangan Penelitian dan Preparasi Hewan Coba Tikus	21
4.4.2 Penentuan Dosis	23
4.4.3 Pembuatan Ekstrak Air Benalu mangga	23
4.4.4 Preparasi Hewan Model Hiperkolesterolemia	24
4.4.4.1 Ransum Pakan Standar	25
4.4.5 Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga	25
4.4.6 Pengambilan Serum dan Organ Hepar	25
4.4.7 Pengujian Kadar Trigliserida	26
4.4.8 Pembuatan Preparat Histopatologi	27

4.4.9	Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE).....	28
4.4.10	Pengamatan Preparat Histopatologi.....	28
4.5	Analisa Data	29
BAB 5	HASIL DAN PEMBAHASAN	30
5.1	Pengaruh Ekstrak Air Benalu Mangga Terhadap Kadar Trigliserida Hewan Model Tikus Hiperkolesterolemia.....	30
5.2	Pengaruh Ekstrak Air Benalu Mangga Terhadap Gambaran Histopatologi Organ Hepar Hewan Model Tikus Hiperkolesterolemia	35
BAB 6	KESIMPULAN DAN SARAN	39
	DAFTAR PUSTAKA	40
	LAMPIRAN	45



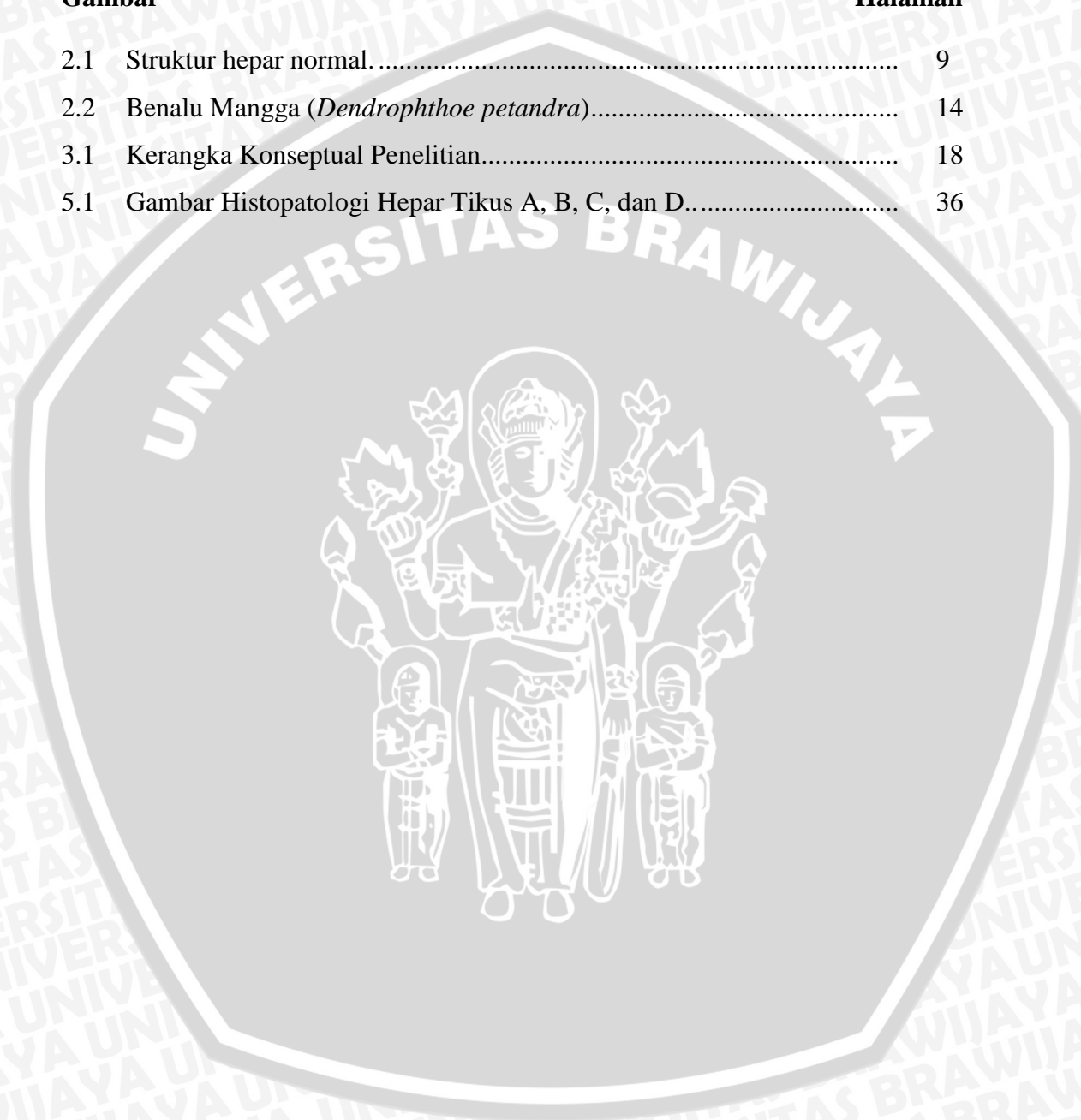
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Nilai Profil Lipid Pada Berbagai Hewan	12
4.1 Rancangan Penelitian	22
4.2 Komposisi Bahan Diet Tinggi Kolesterol	24
4.3 Komposisi Tinggi Kolesterol	24
4.4 Komposisi Pakan AIN-93	25
5.1 Rata-rata Kadar Trigliserida	30



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur hepar normal.....	9
2.2 Benalu Mangga (<i>Dendrophthoe petandra</i>).....	14
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	18
5.1 Gambar Histopatologi Hepar Tikus A, B, C, dan D.....	36



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Persetujuan Laik Etik KEP UB.....	45
2. Skema Penelitian.....	47
3. Diagram Alir	48
4. Penentuan Dosis.....	50
5. Hasil Pemeriksaan Trigliserida	51
6. Hasil Uji Statistika dengan SPSS rev 20,0.....	52
7. Hasil Analisa Pakan Standard an Hiperkolesterol	54
8. Determinasi Benalu Mangga.....	55



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

TG	: Trigliserida
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>
IDL	: <i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LPL	: <i>Lipoprotein Lipase</i>
GPO-PAP	: Glycerol-3-phosphate oxidase – phenol aminophenazone
g	: Gram
BB	: Berat Badan
Kg	: Kilogram
mg	: Miligram
cm	: Centimeter
nm	: Nanometer
LD50	: <i>Letal dose 50%</i>
IC50	: <i>Inhibition Concentrati</i>
°C	: Derajat celcius
ml	: Mililiter
µl	: Mikroliter
dl	: Desi liter
PFA	: Paraformaldehid
pH	: Power of Hidrogen
NaCl	: Natrium Clorida
NADPH	: Nicotinamide adenin dinucleotide phospat hydrolase

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

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

Keadaan hiperkolesterolemia pada hewan terjadi jika kadar kolesterol total dalam darah melebihi normal, yaitu 120-250 mg/dL untuk anjing, 70-200 mg/dL untuk kucing, dan 100-140 mg/dL untuk tikus (Ford, 2010). Hiperkolesterolemia dapat berkembang menjadi aterosklerosis, berupa penyempitan pembuluh darah, terutama di jantung, otak, ginjal, dan mata. Pada otak, aterosklerosis menyebabkan stroke, sedangkan pada jantung menyebabkan penyakit jantung koroner (Vodjani, 2003). Pada hewan, kejadian penyakit ini sekitar 13 % pada kucing (Tapan, 2005). Sebuah studi terbaru menunjukkan bahwa hiperkolesterolemia pada anjing di Amerika Serikat ditemukan pada 32,8% dari 192 ekor yang diselidiki (Xenoulis, 2007).

Hewan dengan hiperkolesterolemia akan mengalami gangguan metabolisme lemak yang disertai dengan adanya peningkatan kadar trigliserida (TG) dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) (Wresdiyati, 2006). Peningkatan trigliserida dapat diakibatkan karena adanya penumpukan *visceral fat* atau *abdominal obesity* dan gangguan aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL)

yang dipicu oleh karena adanya lipid peroksidasi. Gangguan aktivitas enzim LPL berupa penurunan aktivitas enzim akan mengganggu metabolisme lipoprotein terhadap hidrolisis trigliserida, sehingga kadar trigliserida meningkat (Goldberg, 2001). Penurunan aktivitas enzim LPL juga akan menyebabkan perubahan VLDL menjadi IDL menjadi terhambat, sehingga VLDL akan mengendap di dalam hepar. Kondisi ini akan menyebabkan perlemakan hepar berupa akumulasi lemak pada sinusoid dan sekitar sel-sel hepar.

Pengendalian hiperkolesterol dalam tubuh dapat dibantu dengan mengkonsumsi makanan yang dapat meningkatkan produksi antioksidan, baik dari sumber alami maupun sintetik untuk membantu dalam proses pengendalian radikal bebas dalam tubuh (Wresdiyati, *et al.* 2006).

Beberapa jenis sumber antioksidan alami dapat ditemukan pada beberapa jenis sayuran, buah-buahan segar, dan rempah-rempah. Salah satu bahan alami yang dapat sebagai sumber antioksidan adalah Benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*). Tanaman benalu mangga secara umum mengandung senyawa polifenol seperti flavonoid kuersetin, saponin, dan tanin (Ikawati, 2008). Artanti, (2003) menyatakan bahwa benalu mangga memberikan hasil aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dengan IC₅₀ sebesar 23,9 ppm, senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas antioksidan adalah kuersetin. Dari hasil penelitian lain, diketahui bahwa benalu mangga mengandung golongan steroid (β -sitosterol) dan flavonoid (kuersetin) (Ikawati, 2008). Flavonoid meningkatkan aktivitas lipoprotein lipase sehingga berpengaruh terhadap kadar trigliserida (Lamson, 2000).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan berikut:

1. Bagaimana potensi terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) terhadap kadar trigliserida pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia.
2. Bagaimana potensi terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia?

1.3 Batasan Masalah

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

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar, umur 10-12 minggu dan berat badan sekitar 130-180 gram yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM Yogyakarta telah mendapatkan persetujuan laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya, No: 129-KEP-UB seperti pada Lampiran 1.
2. Pembuatan keadaan hiperkolesterolemia hewan model tikus hiperkolesterolemia dilakukan dengan cara pemberian diet tinggi kolesterol (Gani, 2013).
3. Simplisia benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) didapat dari UPT Meteria Medica dan telah mendapatkan surat keterangan identifikasi oleh

Laboratorium Taksonomi dan Struktur Tumbuhan, UPT Meteria Medica,
Batu, Malang.

4. Dosis terapi pada hewan model hiperkolesterolemia yang digunakan dengan ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) yaitu dosis 400 mg/kg BB dan dosis 800 mg/kg BB selama 2 minggu (Khakim, 2000).
5. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar trigliserida diukur menggunakan metode GPO-PAP dengan kit Biosystem Trigliserida A15 serta gambaran histopatologi organ hepar berupa perlemakan yang diamati secara kualitatif menggunakan mikroskop Olympus BX51.

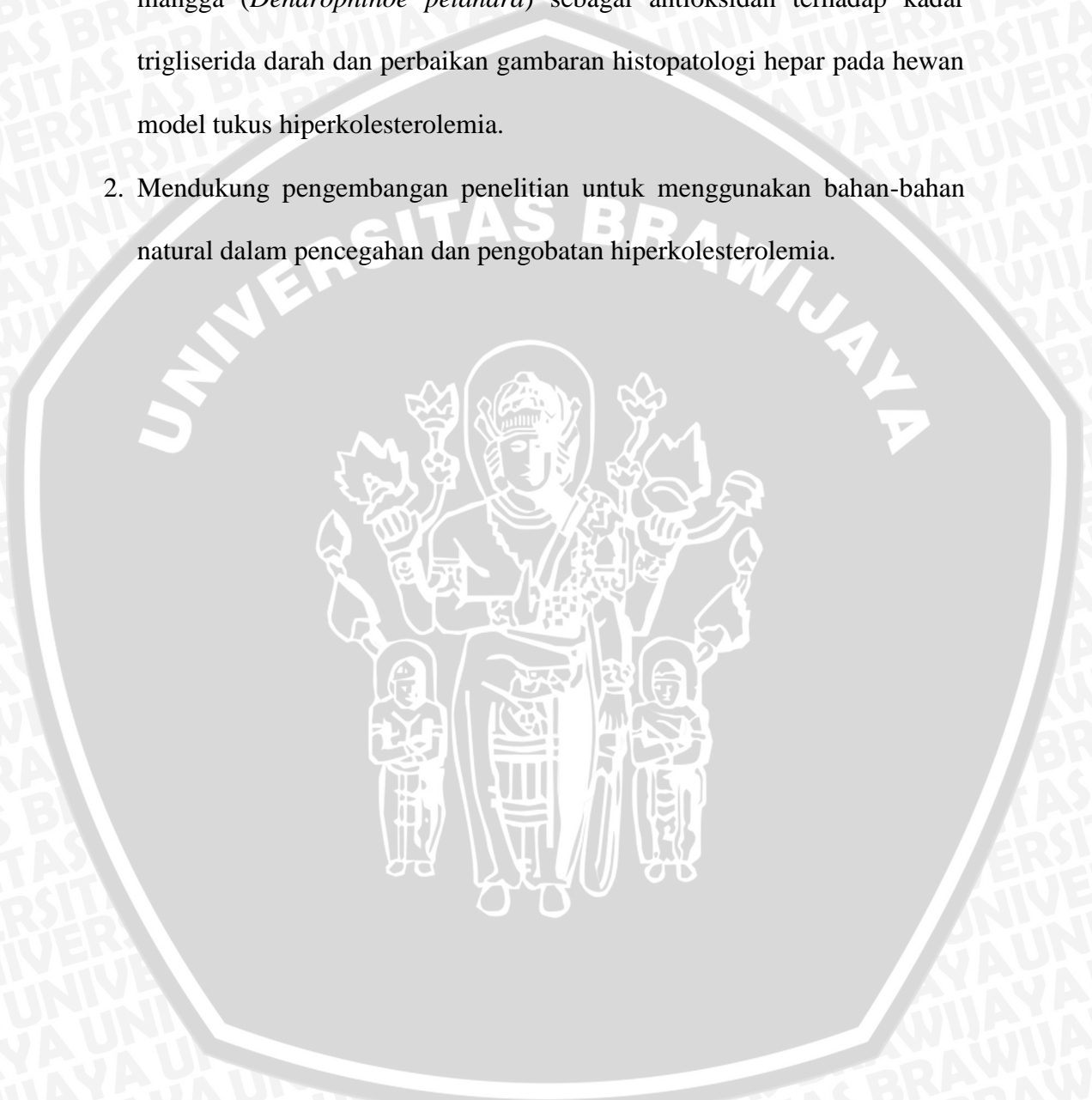
1.4 Tujuan

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui potensi terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) terhadap kadar trigliserida pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia.
2. Mengetahui potensi terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia berupa berkurangnya akumulasi lemak.

1.5 Manfaat

1. Dengan adanya penelitian ini dapat diketahui pengaruh ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) sebagai antioksidan terhadap kadar trigliserida darah dan perbaikan gambaran histopatologi hepar pada hewan model tikus hiperkolesterolemia.
2. Mendukung pengembangan penelitian untuk menggunakan bahan-bahan natural dalam pencegahan dan pengobatan hiperkolesterolemia.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kolesterol

Kolesterol merupakan suatu bahan berlemak yang pembentukannya secara alamiah di dalam tubuh manusia maupun hewan. Komponen ini terdapat di dalam jaringan dan lipoprotein plasma, bisa dalam bentuk kolesterol bebas atau gabungan dengan asam lemak rantai panjang sebagai ester kolesteril. Kolesterol memiliki beberapa manfaat bagi tubuh, namun jika jumlahnya melebihi batas akan menyebabkan beberapa kelainan atau penyakit. Manfaat kolesterol adalah sebagai prekursor semua senyawa steroid, seperti kortikosteroid, hormon seks (progesteron, testosteron, estradiol), adrenal, membentuk dinding sel, asam empedu dan vitamin D (Dalimartha, 2002).

Trigliserida adalah suatu ester gliserol yang terbentuk dari 3 asam lemak dan gliserol. Apabila terdapat satu asam lemak dalam ikatan dengan gliserol maka dinamakan monogliserida. Fungsi utama trigliserida adalah sebagai zat energi tubuh. Lemak disimpan di dalam tubuh dalam bentuk trigliserida. Apabila sel membutuhkan energi, enzim lipase dalam sel lemak akan memecah trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak serta melepaskannya ke dalam pembuluh darah.

Pengangkutan asam lemak dan kolesterol dapat dibedakan menjadi 2 jalur. Tahap pertama, pengangkutan asam lemak dan kolesterol dari usus ke hati dalam bentuk kilomikron (eksogenus). Dalam sirkulasi darah, TG yang terdapat dalam kilomikron dihidrolisis menjadi asam lemak (FFA) dan gliserol oleh enzim lipase yang dihasilkan oleh permukaan endotel pembuluh darah. Namun demikian, tidak

semua TG dapat dihidrolisis secara sempurna. Asam lemak bebas (FFA) yang dihasilkan kemudian dibawa ke dalam jaringan lemak (*adipose tissue*) selanjutnya mengalami reesterifikasi menjadi TG, atau FFA tetap berada di plasma berikatan dengan albumin. Selain itu, FFA juga diambil oleh sel hati, sel otot rangka, dan sel otot jantung. Di jaringan tersebut, FFA digunakan sebagai sumber energi, atau disimpan dalam bentuk lemak netral (trigliserida) (Bangun, 2003).

Tahap kedua, pengangkutan asam lemak dan kolesterol dari hati ke seluruh tubuh dalam bentuk lipoprotein (endogenus). Di hati, asam lemak disintesis menjadi TG yang kemudian bergabung dengan kolesterol, posfolipid, dan protein menjadi *very low density lipoprotein* (VLDL). Fungsi VLDL adalah untuk mengangkut (transpor) TG dari hati ke seluruh jaringan tubuh. Selain dalam bentuk VLDL, TG juga diedarkan ke seluruh tubuh dalam bentuk *intermedier density lipoprotein* (IDL), *low density lipoprotein* (LDL), dan *high density lipoprotein* (HDL). Pembebasan asam lemak dari VLDL dengan cara hidrolisis oleh enzim lipase memerlukan heparin (sebagai kofaktor). VLDL yang telah kehilangan FFA berubah menjadi IDL. IDL setelah dihidrolisis oleh lipase akan kehilangan asam lemak kemudian berubah menjadi LDL. LDL memberikan kolesterol ke jaringan untuk sintesis membran sel dan hormon steroid. IDL memberikan posfolipid melalui enzim *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT) mengambil kolesterol ester yang dibentuk dari kolesterol di HDL (Marrinetti, 1990).

2.2 Patomekanisme Hiperkolesterolemia

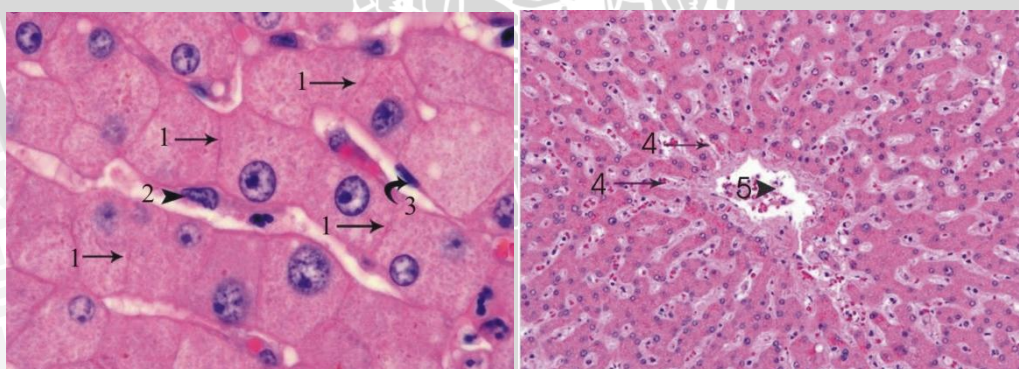
Hiperkolesterolemia adalah suatu keadaan yang ditandai oleh peningkatan kadar lipid atau lemak darah meliputi peningkatan salah satu atau lebih dari kadar normal kolesterol, kolesterol ester, fosfolipid atau trigliserida. Hiperkolesterolemia pada hewan coba dapat dibuat dengan menambahkan lemak dan kolesterol dalam pakan tinggi lemak (Devanita, 2008).

Pakan tinggi lemak dapat menekan pembentukan reseptor *Low Density Lipoprotein* (LDL), sehingga meningkatkan jumlah kolesterol yang beredar di dalam darah, keadaan ini dapat memicu terjadinya kondisi hiperkolesterolemia. Selain itu, hiperkolesterolemia juga dapat terjadi karena beberapa faktor, seperti bobot badan, usia, kurang olahraga, stres emosional, gangguan metabolisme, dan kelainan genetik (Grundy, 1991).

Lemak yang berasal makanan akan mengalami proses pencernaan di dalam usus menjadi asam lemak bebas, trigliserida, fosfolipid dan kolesterol yang diserap ke dalam bentuk kilomikron. Sisa pemecahan kilomikron menuju ke hepar dan dipilah-pilah menjadi kolesterol. Sebagian kolesterol ini dibuang bersama asam empedu dan sebagian lagi bersama-sama dengan trigliserida membentuk *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) (Muryati, 2008). Dalam kondisi hiperkolesterolemia, tubuh akan berusaha untuk mengeluarkan kelebihan kolesterol di dalam tubuh. Jalur utama pengeluaran kolesterol dari dalam tubuh adalah melalui jalur sintesis asam empedu yang berlangsung di hepar. Proses sintesis asam empedu akan meningkatkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh

sehingga terjadinya lipid peroksidasi. Peningkatan radikal bebas juga diakibatkan karena antioksidan dalam tubuh tidak dapat bekerja optimal (Devanita. L, 2008).

Terjadinya peroksidasi pada proses sintesa empedu mengakibatkan aktivitas enzim LPL dalam mengurai trigliserida dalam kilomikron menjadi asam lemak bebas dan sisa-sisa kilomikron mengalami penurunan saat kondisi hiperkolesterolemia dan menyebabkan kadar trigliserida menjadi tinggi. Sisa-sisa kilomikron akan dimetabolisme dalam hepar dan menghasilkan kolesterol bebas dan trigliserida. Kolesterol atau trigliserida yang dihasilkan oleh hepar akan diangkut ke jaringan adiposa melalui jalur endogen. Lipoprotein yang berperan dalam jalur ini adalah VLDL yang selanjutnya terhidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase menjadi IDL. Aktivitas enzim LPL yang turun akibat peroksidasi lipid akan menyebabkan VLDL tidak dapat menjadi IDL, sehingga VLDL akan terakumulasi di dalam hepar.



Gambar 2.1 Struktur hepar normal (gambar kiri = 400x, kanan = 100x) (Suriawinata, 2011).

Keterangan: 1 = canaliculi, 2 = sel kuffer, 3 = fenestrated endothelial layeri, 4 = sinusoid, 5 = vena sentralis.

Degenerasi lemak sering disebut dengan lipidosi. Akumulasi lemak dalam sel hepar biasanya terjadi bila terlalu banyak asupan asam lemak bebas ke dalam

sel hepar, peningkatan pembentukan lipid di dalam sel hepar akibat toksin yang merusak jalur metabolisme lemak, hipoksia kronis yang menghambat kerja enzim pada metabolisme lemak dan kondisi-kondisi tertentu yang menyebabkan peningkatan mobilisasi lemak dari jaringan adiposa seperti pada saat kelaparan dan diabetes mellitus. Dalam beberapa sel, inti dipertahankan walaupun ada yang tergeser ke pinggir sitoplasma vakuola lemak (Maronpot, 1999).

2.3 Hewan Model Tikus Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia adalah kondisi kadar kolesterol di dalam darah melebihi batas normal. Diet yang kaya akan kolesterol dan lemak jenuh dapat menekan pembentukan reseptor LDL sehingga meningkatkan jumlah kolesterol yang beredar di dalam darah, keadaan ini dapat memicu terjadinya kondisi hiperkolesterolemia (Chandana, 2008)

Hewan coba merupakan hewan yang dikembangbiakkan untuk digunakan sebagai hewan coba. Tikus sering digunakan pada berbagai macam penelitian medis selama bertahun-tahun, hal ini dikarenakan tikus memiliki karakteristik genetik yang mudah berkembang biak, murah serta mudah untuk mendapatkannya. Tikus merupakan hewan yang melakukan aktivitasnya pada malam hari (*nocturnal*).

Klasifikasi tikus putih menurut Myres & Armitage (2004).

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Sub-Famili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Sebagai hewan percobaan, tikus memiliki beberapa keunggulan, yaitu pemeliharaan dan penanganan mudah, kemampuan reproduksi tinggi dan masa kebuntingan singkat. Selain itu, tikus tidak dapat muntah karena struktur anatomi tidak lazim pada tempat bermuara esofagus ke dalam lambung sehingga mempermudah proses pencekakan perlakuan menggunakan sonde lambung, dan tidak mempunyai kandung empedu. Umur dewasa tikus ini mulai 40-60 hari dengan berat badan rata-rata 150-250 g. Variasi berat badan ini tergantung pada galur (Smith dan Mangkoewidjojo, 1987 dikutip oleh Adnan, 2007).

Pemberian diet hiperkolesterol merupakan salah satu model hewan coba standar yang digunakan untuk menjelaskan patomekanisme hiperkolesterolemia (Aulanni'am, 1993). Preparasi hewan coba hiperkolesterolemia pada *Rattus norvegicus* melalui pemberian diet hiperkolesterol. Diet hiperkolesterol merupakan komposisi ransum pakan yang terdiri dari kolesterol, kuning telur

puyuh rebus, minyak babi dan asam kholat. Pemberian diet tinggi kolesterol selama 14 hari akan menyebabkan terganggunya metabolisme kolesterol dalam tubuh. Hal ini menyebabkan dalam tubuh tikus kadar TG dan kolesterol tinggi yang menyebabkan aktivitas enzim lipoprotein lipase menurun sehingga terjadinya hiperkolesterolemia (Aulanni'am, 1993).

2.4 Nilai Profil Lipid Pada Berbagai Hewan

Nilai profil lipid pada beberapa hewan memiliki perbedaan menurut spesies, umur, ataupun menurut diet yang dikonsumsi. Terdapat beberapa nilai normal kadar kolesterol dan trigliserida pada beberapa hewan menurut Meyer dan Harvey (2004) seperti terlihat pada Tabel 2.1.

Nilai profil lipid yang diketahui menurut Meyer dan Harvey 2004, terlihat berbeda menurut spesies, hal ini dapat disebabkan beragam faktor diantaranya perbedaan dalam hal pakan yang dikonsumsi, aktifitas tubuh, dan respon individu terhadap seluruh metabolisme lipid di dalam tubuhnya.

Tabel 2.1 Nilai Profil Lipid Pada Berbagai Hewan

Spesies	Kadar Kolesterol (mg/dL)	Kadar Trigliserida (mg/dL)
Anjing	110-266	20-112
Kucing	38-186	10-114
Kuda	50-143	4-44
Sapi	87-254	0-14
Babi	36-54	-
Kambing/domba	50-140	-
Tikus	30-140	26-145

Keterangan: Meyer dan Harvey (2004)

2.5 Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*)

Benalu adalah sekelompok tumbuhan parasit yang hidup dan tumbuh pada batang atau dahan pohon tumbuhan lain (Gambar 1). Salah satu spesies benalu dari keluarga *Loranthaceae* adalah *Dendrophthoe petandra*. Klasifikasi tanaman ini menurut Van Steenis (1975) dapat dijelaskan sebagai berikut:

Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Euphyllophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Bangsa	: Santalales
Keluarga	: Loranthaceae
Genus	: <i>Dendrophthoe</i>
Spesies	: <i>Dendrophthoe petandra</i>

Benalu mangga pada umumnya digunakan dalam pengobatan tradisional, sebagai obat campak dan ramuan obat untuk penyakit amandel. Air rebusan herbal benalu mangga dapat digunakan sebagai antihipertensi dan obat batuk (PT. EISAI Indonesia, 1995). Selain itu, benalu mangga juga digunakan sebagai obat kanker (Purnomo, 2000). Sedangkan untuk penggunaan topikal, daun benalu mangga yang telah dihaluskan dapat digunakan untuk mengobati luka pedih, bernanah, dan infeksi pada kulit.

Benalu mangga secara umum mengandung flavonoid, kuersetin, tanin, saponin (Ikawati, 2008). Dari hasil penelitian, diketahui bahwa isolat benalu mangga mengandung golongan steroid (β -sitosterol) dan flavonoid, kuersetin.

Benalu mangga memberikan hasil aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dengan IC_{50} sebesar 23.9 ppm (Artanti, 2003). Uji ketoksikan akut pada benalu mangga tidak diperoleh dosis yang menyebabkan kematian hewan uji, sehingga hanya ditemukan LD_{50} semu untuk mencit sebesar 16,0962 g/kg BB (Khakim, 2000).



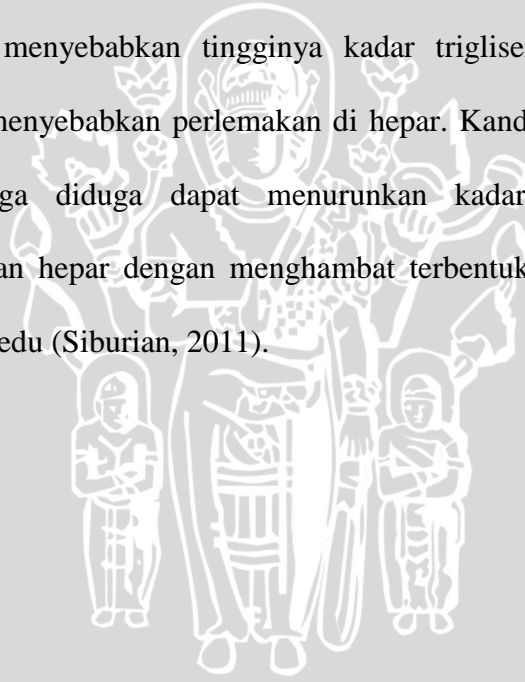
Gambar 2.2 Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*) (Chandra, 2011)

Uji farmakologis isolat flavonoid menunjukkan bahwa benalu mangga memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan kanker pada mencit dengan dosis 12,2 mg/ml (Sukardirman, 1999). Dalam benalu mangga, senyawa aktif yang menyebabkan aktivitas antioksidan adalah kuersetin. Kuersetin merupakan kandungan utama dari flavonoid benalu. Kadar kuersetin yang teridentifikasi dari benalu mangga sebesar 39,8 mg/g (Rosidah, 1999). Kuersetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degeneratif dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak.

Saponin adalah senyawa aktif yang menimbulkan busa jika busuk. Saponin ini bersifat pahit dan dapat menyebabkan iritasi terhadap selaput lendir. Saponin memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antiinflamasi dan antibakteri. Tanin

merupakan salah satu senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol yang terdapat di dalam tumbuhan (Robinson, 1995).

Potensi benalu mangga sebagai terapi alternatif dalam menurunkan hiperkolesterolemia cukup tinggi. Hal ini karena benalu mangga mengandung kandungan antioksidan yang berfungsi sebagai penghambat pembentukan radikal bebas. Saat terjadi hiperkolesterolemia, tubuh akan berusaha mengeluarkan kelebihan kolesterol dengan sintesis asam empedu. Kelebihan kolesterol yang disintesis menjadi asam empedu akan menyebabkan peningkatan radikal bebas yang nantinya akan menyebabkan tingginya kadar trigliserida dalam darah meningkat dan akan menyebabkan perlemakan di hepar. Kandungan antioksidan dalam benalu mangga diduga dapat menurunkan kadar trigliserida dan mengurangi perlemakan hepar dengan menghambat terbentuknya radikal bebas saat sintesis asam empedu (Siburian, 2011).



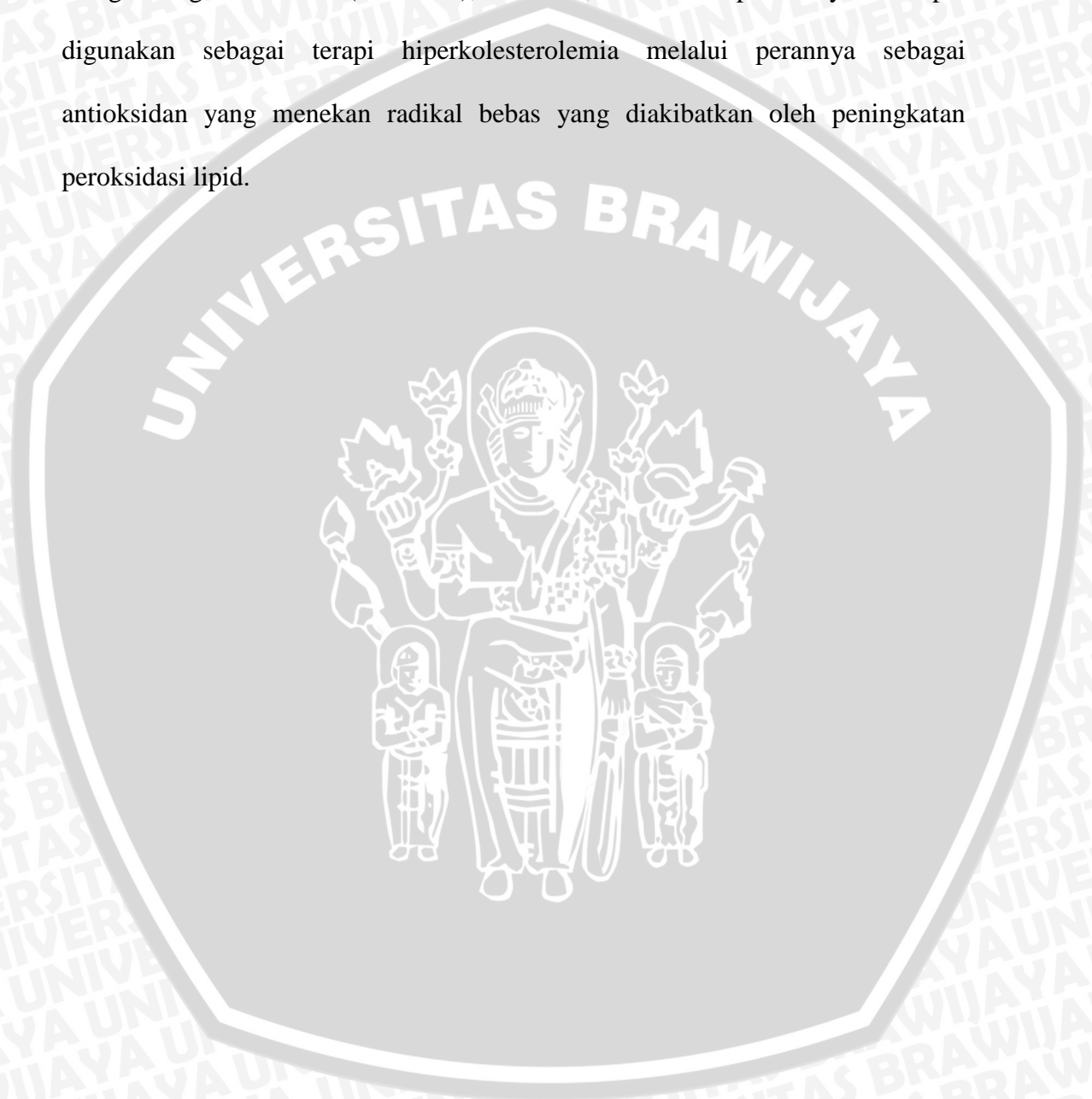
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

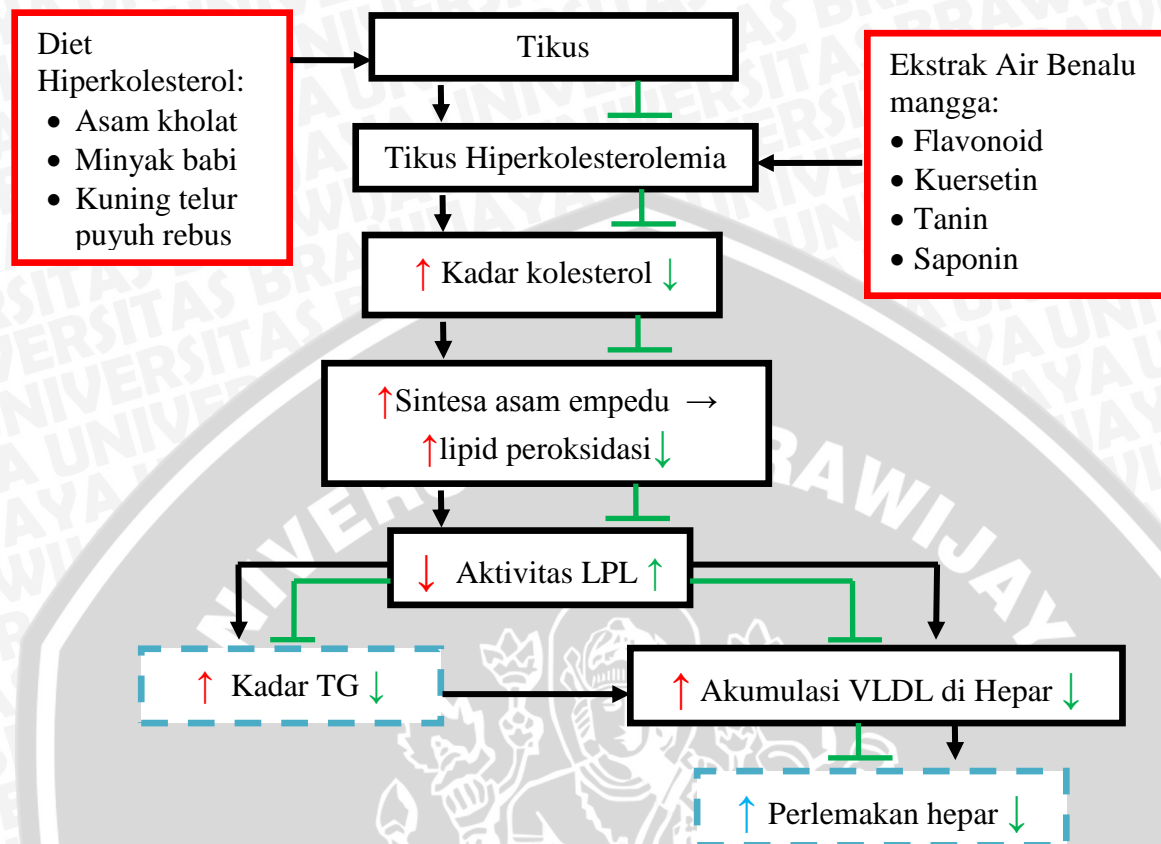
3.1 Kerangka Konseptual

Makanan mengandung kolesterol masuk ke dalam usus halus dalam bentuk kilomikron. Dalam sirkulasi darah, kilomikron kemudian akan dipecah oleh enzim lipoprotein lipase menjadi sisa-sisa kilomikron dan asam lemak bebas. Kilomikron merupakan susunan dari trigliserida dan beberapa kolesterol. Sisa-sisa kilomikron akan menuju ke hati untuk dibuang melalui sintesis empedu. Dari hati kolesterol dan trigliserida akan berada dalam VLDL. VLDL akan diubah menjadi IDL oleh enzim lipoprotein lipase. Pada kondisi hiperkolesterolemia akan terbentuk peroksidasi lipid akibat meningkatnya proses sintesis empedu. Peningkatan ini diakibatkan oleh banyaknya kolesterol yang masuk ke dalam tubuh. Terbentuknya peroksidasi lipid akan mengakibatkan penurunan aktivitas enzim lipoprotein lipase yang menyebabkan kilomikron tidak dapat diubah, sehingga trigliserida dalam darah meningkat. Penurunan aktivitas enzim lipoprotein juga menyebabkan VLDL tidak dapat diubah menjadi IDL, sehingga VLDL terakumulasi dalam hepar.

Salah satu upaya yang diperlukan untuk terapi hiperkolesterolemia adalah mengurangi kadar kolesterol dalam darah melalui penurunan peroksidasi lipid dengan pemberian antioksidan. Kandungan senyawa aktif benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) adalah antioksidan (flavonoid), kuersetin, tanin dan saponin dapat menurunkan kadar kolesterol darah dengan cara meningkatkan ekskresi asam empedu dan pengendapan lemak. Flavonoid, saponin dan tanin

berperan sebagai antioksidan yang dapat mencegah peroksidasi lipid dan sebagai anti inflamasi (Lamanepa, 2005 ; Kasolo, 2010). Benalu mangga yang mengandung antioksidan (flavonoid), kuersetin, tanin dan saponin diyakini dapat digunakan sebagai terapi hiperkolesterolemia melalui perannya sebagai antioksidan yang menekan radikal bebas yang diakibatkan oleh peningkatan peroksidasi lipid.





Gambar 3.1. Kerangka Konseptual Penelitian

Keterangan Gambar :



: Variabel bebas



: Variabel yang diamati



: Menstimulasi



: Menghambat



: Akibat efek pemberian diet hiperkolesterol



: Efek terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*)

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah sebagai berikut :

1. Terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) dapat menurunkan kadar trigliserida pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia.
2. Terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) dapat memperbaiki gambaran histopatologi hepar pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya dan Laboratorium Patologi Klinik R.S. dr. Soetomo Surabaya. Waktu penelitian yaitu pada bulan Februari hingga bulan Mei 2013.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: kandang tikus, botol minum tikus, penjepit (*block holder*), sonde lambung, spuit, timbangan, gelas ukur, gelas kimia, spuit, tabung eppendorf, pipet mikrohematokrit, alat titrasi, *scapel*, gunting, pinset, sarung tangan, kertas saring, gelas objek, mikroskop cahaya Olympus BX51, alat otomatis Biosystem.

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (umur 10-12 minggu, berat badan 130-180 gram) diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM Yogyakarta dan Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*) diperoleh dari UPT Meteria Medica kota Batu-Malang. Sedangkan bahan kimia yang digunakan yaitu: Asam Kholat (Sigma, nomer katalog: M5M5306), lemak kasar, telur puyuh rebus, minyak babi, akuades, PFA 4%, formalin buffer 10%, alkohol bertingkat 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, alkohol absolute, alkohol xylol, larutan

xylol murni, parafin cair, polyelisin, pewarna hematoksilin eosin (HE), *Pipes buffer*, *magnesium chloride*, *4-chlorophenol*, *lipase*, *glycerol kinase*, *glycerol-3-phosphate oxidase*, *peroxidase*, *4-aminoantipyrine*, ATP.

4.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian sebagai berikut:

1. Preparasi hewan coba tikus.
2. Preparasi hewan model hiperkolesterolemia hasil diet kolesterol.
3. Penentuan dosis ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*).
4. Preparasi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*).
5. Terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*).
6. Euthanasia / pembedahan tikus.
7. Pengambilan serum dan hepar
8. Pengujian kadar trigliserida
9. Pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE) dan pengamatan histopatologi.
10. Analisa data

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Rancangan Penelitian dan Preparasi Hewan Coba Tikus

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan *pre-post test design* dan rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol, sakit (hiperkolesterolemia), terapi dosis 400 mg/kg BB, dan terapi dosis 800 mg/kg BB dilihat pada Tabel 4.1.

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

Variabel bebas : Dosis ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*)

Variabel yang diamati : Kadar trigliserida dan gambaran histopatologi hepar

Variabel kontrol : Jenis kelamin, umur, berat badan, *Rattus norvegicus* strain Wistar dan diet tinggi kolesterol.

Tabel 4.1. Rancangan penelitian

Variabel yang Diamati	Ulangan				
	1	2	3	4	5
Kadar Trigliserida dan Histopatologi hepar					
Kelompok A (kontrol)					
Kelompok B (hiperkolesterolemia)					
Kelompok C (terapi dosis 400 mg/kg BB)					
Kelompok D (terapi dosis 800 mg/kg BB)					

Sampel penelitian menggunakan tikus sebagai hewan percobaan. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Rattus norvegicus* jantan strain Wistar berumur 10-12 minggu. Berat badan tikus antara 130-180 gram.

Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Montgomery and Kowalsky, 2011):

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

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 15$$

$$n \geq 4.75$$

$$n \geq 5$$

Keterangan

P = jumlah kelompok (terdiri dari empat macam perlakuan)

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk hewan menjadi 4 kelompok diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 5 kali dalam setiap kelompok sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba.

Tikus diadaptasikan untuk menyesuaikan kondisi laboratorium selama 7 hari (Lamanepa, 2005). Tikus dikandangan dalam kandang dengan ukuran 17,5 x 23,75 x 17,5 cm, berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut dan terjaga dari asap industri serta polutan lainnya. Lantai kandang mudah dibersihkan dan disanitasi.

4.4.2 Penentuan Dosis Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*)

Penentuan dosis ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) berdasarkan penelitian Khakim (2000) yaitu: dosis sebanyak 400 mg/kg BB dan dosis sebanyak 800 mg/kg BB. Perhitungan dosis ekstrak air benalu mangga dapat dilihat pada Lampiran 4.

4.4.3 Pembuatan Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*)

Metode pembuatan ekstrak air benalu mangga berdasarkan Khakim (2000) menggunakan *Dendrophthoe petandra* yang sudah kering. Berdasarkan perhitungan dosis pada Lampiran 4, pembuatan dosis per kelompok perlakuan yaitu untuk kelompok C = 300 mg dan kelompok D = 600 mg dan dimasukkan ke dalam gelas kimia dengan menambahkan 50 ml akuades pada kelompok C dan kelompok D. Kemudian masing-masing direbus di atas *hot plate* pada temperatur 70 °C dengan dilakukan pengadukan hingga air rebusan menjadi 10 mL. Setelah itu, disaring menggunakan kertas saring sehingga didapatkan ekstrak air benalu mangga dan didinginkan. Sediaan ekstrak air benalu mangga untuk kelompok C

(terapi dosis 400 mg/kg BB) dan D (terapi dosis 800 mg/kg BB) disiapkan setiap hari. Diagram alir pembuatan ekstrak air benalu mangga dapat dilihat pada Lampiran 3.

4.4.4 Preparasi Hewan Model Hiperkolesterolemia

Metode pakan diet hiperkolesterol (Gani, 2013), susunan ransum pakan diet hiperkolesterolemia dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Komposisi bahan diet tinggi kolesterol

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

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

Tabel. 4.3 Komposisi diet tinggi kolesterol

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

Pemberian diet tinggi kolesterol pada kelompok (B), kelompok (C) dan kelompok (D) selama 14 hari, selanjutnya akan menimbulkan gangguan metabolisme kolesterol dalam tubuh. Diagram alir preparasi hewan model hiperkolesterolemia dapat dilihat pada Lampiran 3.

4.4.4.1 Ransum pakan standar

Tabel. 4.4 Komposisi pakan AIN-93

AIN-93	%
Bahan kering	87,82
Kadar abu	7,51
Lemak kasar	4,76
Protein kasar	18,60
Serat kasar	6,68

Menurut Permana (2010), pakan ideal untuk harus memenuhi kebutuhan zat makanan antara lain protein 12%, lemak 5%, dan serat kasar kira-kira 5%, sehingga pakan yang diberikan sudah mencukupi kebutuhan tikus (*Rattus norvegicus*).

4.4.5 Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrothoe petandra*)

Metode terapi per oral tiap ekor tikus sebanyak 2 mL pada kelompok tikus (C) terapi ekstrak air benalu mangga dosis 400 mg/kg BB dan (D) ekstrak air benalu mangga dosis 800 mg/kg BB diterapi pada hari ke-21 dengan ekstrak air benalu mangga selama 2 minggu. Diagram alir terapi ekstrak air benalu mangga dapat dilihat pada Lampiran 3.

4.4.6 Pengambilan Serum dan Hepar

Metode pengambilan serum dan hepar berdasarkan Sirois (2005). Tikus terlebih dahulu dibuat tidak sadar dengan cara dislokasi leher, selanjutnya dilakukan pembedahan (pada hari ke-35 untuk semua perlakuan) dengan melakukan pengambilan darah jantung dengan cara menusukkan spuit 3 ml ke

jantung. Kemudian darah tersebut dimasukkan dalam *vacutainer*, diletakkan posisi miring 45 ° dan dibiarkan mengendap pada suhu kamar. Selanjutnya serum tersebut diambil, dimasukkan dalam tabung eppendorf dan disimpan di *refrigator*. Selain itu juga dilakukan pengambilan hepar. Organ yang diambil kemudian dicuci dengan NaCl fisiologis 0.9 % dan direndam larutan Paraformaldehid (PFA) 4 %.

4.4.7 Pengujian Kadar Triglicerida

Pada penetapan kadar triglicerida, digunakan metode GPO-PAP (*Enzymatic-spectrophotometric*). Pemeriksaan kadar triglicerida terdiri dari pembuatan reagensia, pengukuran absorpsi larutan blanko dengan spektrofotometer, dan pengukuran nilai absorbansi triglicerida serum darah yang dilakukan secara otomatis dengan alat Biosystem tipe A15. Pembuatan reagensia dilakukan dengan cara mencampur *Pipes buffer* 45 mmol/L, *magnesium chloride* 5 mmol/L, *4-chlorophenol* 6 mmol/L, *lipase* > 100 U/mL, *glycerol kinase* > 1.5 U/mL, *glycerol-3-phosphate oxidase* > 4 U/mL, *peroxidase* > 0.8 U/mL, *4-aminoantipyrine* 0.75 mmol/L, ATP 0.9 mmol/L. Pengukuran larutan blanko dilakukan dengan mengukur absorbansi 300 µl reagensia menggunakan spektrofotometer pada λ 505 nm selama 312 detik. Pengukuran nilai absorbansi triglicerida serum dilakukan dengan mencampurkan 300 µl reagensi dengan 3 µl sampel dan dicuci dengan *washing buffer* 12 µl, kemudian diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer pada λ 505 nm selama 312 detik dengan larutan blanko sebagai titik nolnya.

4.4.8 Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar

Langkah-langkah dalam proses pembuatan preparat histopatologi berdasarkan Lemanepa (2005), yaitu:

a. Fiksasi

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

b. Dehidrasi

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

c. Penjernihan (*Clearing*)

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

d. *Embedding*

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

e. Pemotongan (*Sectioning*) dan Penempelan pada Gelas Objek

Jaringan dipotong dengan blok parafin dengan mikrotom setebal 4 mikron, Irisan diletakkan pada *poly-l-lysine slide*. Potongan terpilih dikeringkan dan

diletakkan di atas *hot plate* 38-40^o C sampai kering dan siap diwarnai dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE).

4.4.9 Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

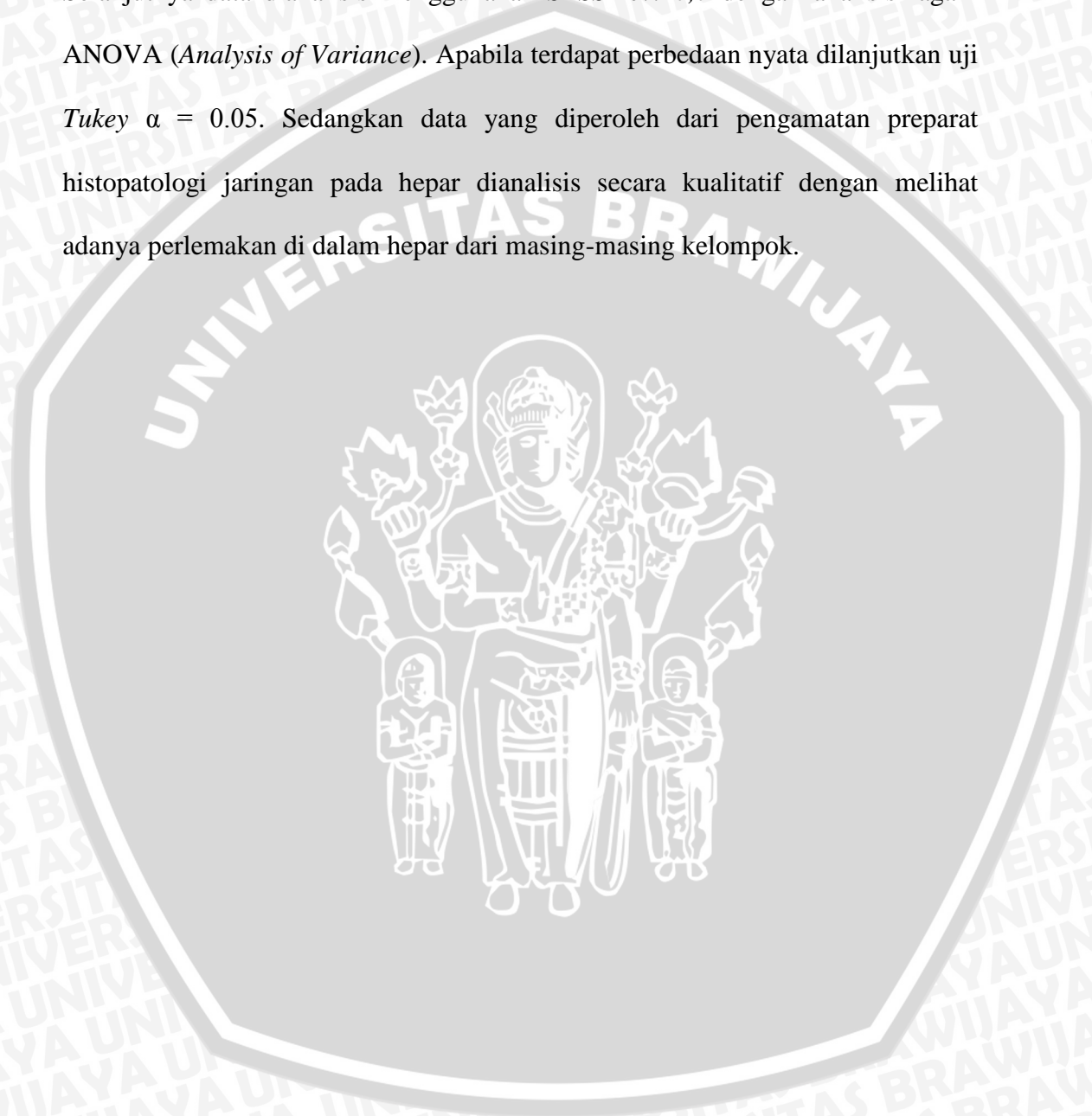
Pewarnaan HE ini terdiri dari zat warna yaitu hematoxylin dan eosin. Preparat dimasukkan dalam larutan xylol 1 dan 2 selama 5 menit, kemudian dimasukkan dalam etanol bertingkat yang dimulai dari etanol absolut, 95 %, 90 %, 80 %, dan 70 % selama 5 menit. Jaringan kemudian direndam dalam aquades selama 5 menit. Preparat selanjutnya diwarnai dengan pewarna hematoksin selama 10 menit kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan dibilas aquades selama 5 menit. Setelah itu, preparat diwarnai dengan pewarna eosin selama 5 menit dan dicuci kembali dengan air mengalir selama 10 menit dan dibilas aquades selama 5 menit. Setelah preparat diwarnai, preparat dimasukkan pada alkohol dari 80 %, 90 %, dan 95 % hingga alkohol absolut. Selanjutnya preparat dimasukkan ke dalam larutan xylol 1-3 selama 3 menit dan dikering anginkan. Terakhir, dilakukan perekatan menggunakan entelan serta ditutup menggunakan *coverglass*.

4.4.10 Pengamatan Preparat Histopatologi

Hasil pembuatan preparat histopatologi hepar menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX51 perbesaran 100 kali dilanjutkan perbesaran 400 kali untuk melihat adanya akumulasi lemak yang menyebabkan bergesernya inti sel oleh lemak yang akan diamati secara kualitatif.

4.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran kadar trigliserida akan ditabulasi. Selanjutnya data dianalisis menggunakan *SPSS rev.20,0* dengan analisis ragam ANOVA (*Analysis of Variance*). Apabila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan uji *Tukey* $\alpha = 0.05$. Sedangkan data yang diperoleh dari pengamatan preparat histopatologi jaringan pada hepar dianalisis secara kualitatif dengan melihat adanya perlemakan di dalam hepar dari masing-masing kelompok.



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN.

5.1 Pengaruh Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrothoe petandra*) Terhadap Kadar Trigliserida Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia.

Pengujian kadar trigliserida dilakukan untuk mengetahui pengaruh terapi ekstrak air benalu mangga terhadap tikus hiperkolesterolemia. Dari data kadar trigliserida pre-perlakuan menunjukkan bahwa kadar trigliserida tikus yang digunakan untuk penelitian ini berada dalam batas normal. Data pre-perlakuan dan pre-terapi dapat dilihat pada Lampiran 5. Batas normal kadar trigliserida tikus yaitu antara 26-145 mg/dL (Meyer dan Harvey, 2004).

Tabel 5.1. Rata-rata kadar trigliserida

Kelompok	Kadar trigliserida (mg/dL)
A (kontrol)	101,4±4,67 ^a
B (hiperkolesterolemia)	195,6±2,31 ^d
C (terapi dosis 400 mg/Kg BB)	161,8±5,36 ^c
D (terapi dosis 800 mg/Kg BB)	136,5±3,77 ^b

Keterangan: notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan (P<0,05).

Berdasarkan Tabel 5.1, kelompok A sebagai kontrol negatif didapatkan kadar trigliserida 101,4 ± 4,67 mg/dL yang masih berada pada kadar normal trigliserida. Kelompok B yang diberikan perlakuan berupa pemberian diet tinggi kolesterol didapatkan kadar trigliserida 195,6 ± 2,31 mg/dL yang sudah berada melebihi batas normal kadar trigliserida tikus.

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian diet tinggi kolesterol dengan komposisi pakan, 5% kuning telur puyuh rebus, 10% minyak babi, dan 1 % asam kolat dari jumlah diet yang mengandung 240 mg/100 gram pakan yang dapat meningkatkan secara nyata kadar trigliserida. Peningkatan kadar trigliserida dipengaruhi kandungan kolesterol dan asam lemak jenuh dalam telur puyuh dan minyak babi. Pada setiap 100 gram telur puyuh terkandung 2139,17 mg/dl kolesterol, sedangkan pada 100 gram minyak babi mengandung lemak jenuh 28,4 gram dan kolesterol 95 gram (Dwiloka, 2003 dan Almatsir, 2002). Sesuai dengan Sudrajat (2008), yang mengungkapkan bahwa naik turunnya kadar trigliserida darah dipengaruhi oleh jumlah lemak yang dikonsumsi.

Pemberian diet tinggi kolesterol pada kelompok B dapat menginduksi terjadinya peningkatan kilomikron dalam plasma. Pada kondisi normal, lemak yang berasal dari makanan akan mengalami proses pencernaan di dalam usus menjadi asam lemak bebas, trigliserida, fosfolipid dan kolesterol yang diserap ke dalam bentuk kilomikron. Kilomikron akan membawa trigliserida dan kolesterol ke dalam aliran darah. Kemudian trigliserida dalam kilomikron mengalami penguraian oleh enzim lipoprotein lipase sehingga terbentuk asam lemak bebas dan sisa-sisa kilomikron. Sisa-sisa kilomikron akan dimetabolisme dalam hati sehingga menghasilkan kolesterol bebas. Pengeluaran kolesterol dari dalam tubuh adalah melalui jalur sintesis asam empedu yang berlangsung di hepar. Semakin banyak kolesterol yang akan dikeluarkan maka produksi asam empedu juga akan meningkat (Murray, 2006).

Kolesterol dieliminasi dari tubuh setelah terlebih dahulu diubah menjadi asam empedu. Reaksi 7α -hidroksilasi merupakan tahap pertama yang wajib pada biosintesis asam empedu, sekaligus membatasi laju reaksi tersebut. Reaksi tersebut dikatalisis oleh 7α -hidroksilase, suatu enzim mikrosomal. Reaksi ini merupakan perubahan kolesterol ditambah NADPH, oksigen dan sitokrom P-450 menjadi asam empedu. Reaksi 7α -hidroksilasi ini memerlukan oksigen, NADPH, serta sitokrom P-450 oksidase (Mayes 1996). Di dalam reaksi hidroksilasi kolesterol ini, oksigen mudah tereduksi menjadi radikal bebas anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$). Efek kimiawi $O_2^{\cdot-}$ dalam jaringan diperkuat oleh sifatnya yang menimbulkan reaksi rantai radikal bebas. Dikemukakan bahwa $O_2^{\cdot-}$ yang terikat pada sitokrom P-450 merupakan intermediet dalam pengaktifan oksigen pada berbagai reaksi hidroksilasi (Mayes, 1996). Dengan demikian, adanya peningkatan aktivitas sitokrom P-450 dalam memperantarai reaksi hidroksilasi membuat radikal bebas yang terbentuk semakin banyak. Produksi radikal bebas yang terbentuk akan membuat Apo-C2 terganggu. Apo-C2 ini merupakan kofaktor untuk enzim lipoprotein lipase. Apo-C2 yang terganggu akan membuat fungsi enzim lipoprotein lipase juga terganggu, maka Kilomikron yang terdiri dari trigliserida akan terakumulasi di dalam serum (Halliwell & Gutteridge 1999).

Kelompok C dan D merupakan kelompok tikus hiperkolesterolemia yang diberi terapi ekstrak air benalu mangga, didapatkan adanya penurunan kadar trigliserida seperti pada Tabel 5.1. Kelompok C (terapi dosis 400 mg/KgBB), didapatkan penurunan kadar trigliserida dibandingkan dengan kelompok B (kontrol positif) yaitu $161,8 \pm 5,36$ mg/dL, namun kadar trigliserida pada kelompok

C masih melebihi kadar normal trigliserida. Pada kelompok D (terapi dosis 800mg/kgBB), didapatkan kadar trigliserida mengalami penurunan setelah terapi ekstrak air benalu mangga yang dibandingkan dengan kelompok B yaitu $136,5 \pm 3,77$ mg/dL dan sudah berada pada batas normal.

Berdasarkan uji yang dilakukan sebelum terapi pada kelompok C dan kelompok D (Lampiran 5), dapat dilihat adanya penurunan kadar trigliserida. Kelompok C kadar trigliserida sebelum terapi sebesar 186,0 mg/dL dan setelah diterapi didapatkan kadar trigliserida yaitu 161,8 mg/dL. Kelompok D juga terjadi penurunan dari kadar trgliserida 190,9 mg/dL menjadi 136,5 mg/dL.

Terapi ekstrak air benalu mangga dapat memperbaiki kadar trigliserida, hal ini terlihat dari kelompok tikus yang diberi ekstrak air benalu mangga menunjukkan penurunan kadar trigliserida. Perubahan ini terkait dengan bioaktif yang terdapat dalam ekstrak air benalu mangga yaitu flavonoid, kuersetin, tanin dan saponin yang memiliki kemampuan dalam mencegah oksidasi. Seperti dilaporkan pada penelitian sebelumnya pada ekstrak methanol bunga cengkeh yang berperan sebagai antioksidan dan beberapa senyawa di antaranya tanin dan saponin diduga banyak berperan dalam menurunkan kolesterol darah (Artanti, 2003).

Flavonoid, saponin dan tanin dari ekstrak air benalu mangga adalah kandungan utama dalam menurunkan trigliserida dengan meningkatkan aktivitas enzim LPL yang berfungsi sebagai antioksidan (Khakim, 2000). Aktivitas enzim LPL yang meningkat akan menyebabkan trigliserida dalam kilomikron dapat di

hidrolisis menjadi asam lemak bebas dan disimpan dalam jaringan adiposa (Wahyudi, 2009).

Menurut Amic, (2003) flavonoid berperan sebagai *scavenger* radikal bebas memiliki gugus hidroksil (OH^-) pada cincin aromatik serta menghentikan reaksi berantai peroksidasi lipid dengan melindungi sel dan bahan kimia dalam tubuh. Mekanisme kerja antioksidan seperti flavonoid menurut Yokozawa (2002) dapat menurunkan kadar kolesterol plasma dengan cara menghambat absorpsi kolesterol dalam usus dan meningkatkan reaksi pembentukan asam empedu dari kolesterol untuk kemudian diekskresikan melalui feses.

Saponin mampu menurunkan konsentrasi kolesterol darah dengan mengikat dan mencegah absorpsi kolesterol karena interaksi saponin dan kolesterol merupakan kompleks yang tidak larut. Absorpsi kolesterol yang rendah menurunkan konsentrasi kolesterol darah dan meningkatkan metabolisme kolesterol dalam hepar. Saponin juga dapat mengurangi kolesterol darah dengan membatasi penyerapan kembali dan meningkatkan ekskresi kolesterol. Sedangkan tanin, (Ping, 2010), memiliki ikatan glikosida yang dapat dihidrolisis oleh asam membantu untuk menghentikan reaksi berantai peroksidasi lipid dalam menstabilkan fraksi lipid. Oleh karena itu, senyawa bioaktif tersebut dapat berperan sebagai antioksidan yang dapat mengurangi jumlah radikal bebas dan mencegah peroksidasi lipid. Penurunan radikal bebas mengakibatkan aktivitas enzim LPL meningkat dan dapat mengurai trigliserida dalam kilomikron menjadi asam lemak bebas dan nantinya akan disimpan dalam otot dan diubah menjadi trigliserida sebagai cadangan energi.

Dari hasil uji statistik data kadar trigliserida *post*-terapi, menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terapi ekstrak air benalu mangga dapat menurunkan kadar trigliserida pada tikus hiperkolesterolemia. Data statistik dapat dilihat pada Lampiran 6.

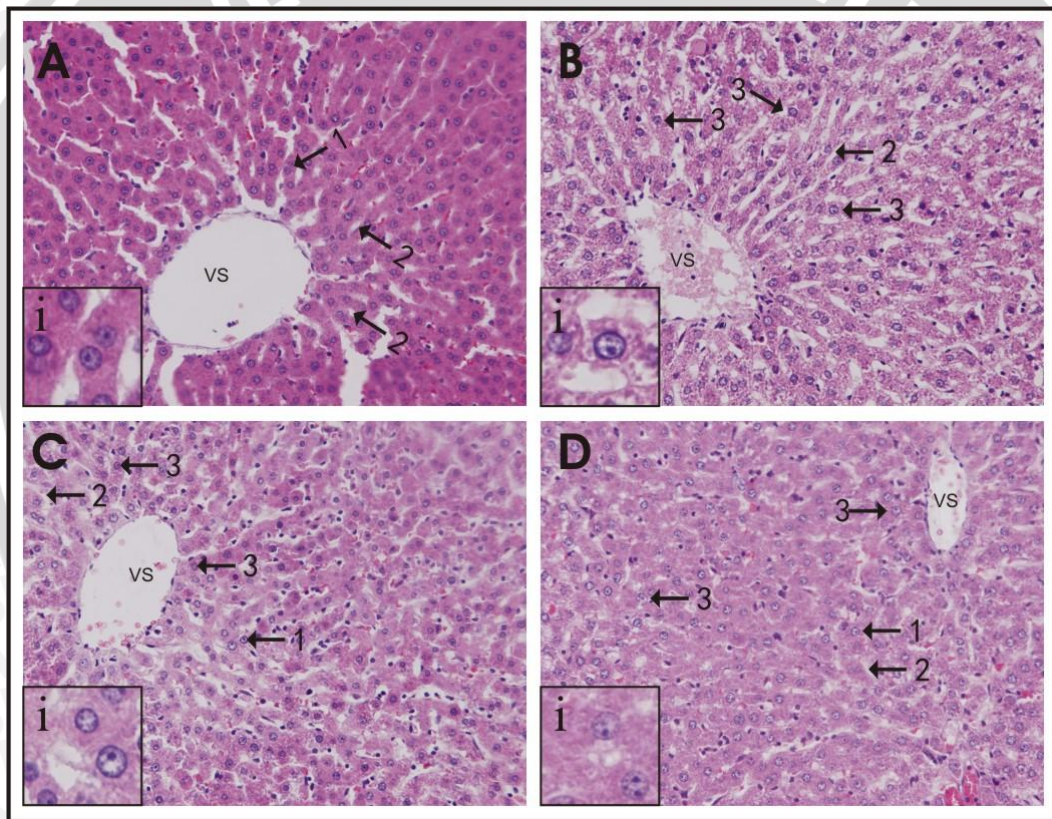
Hasil analisa uji *Tukey* menunjukkan bahwa ekstrak air benalu mangga dapat menurunkan secara nyata kadar trigliserida serum darah tikus hiperkolesterolemia (Lampiran 6). Kadar trigliserida menunjukkan bahwa dosis ekstrak air benalu mangga sebesar 800mg/kg BB merupakan kelompok dengan dosis terapi yang efektif menurunkan kadar trigliserida, dibandingkan dengan dosis ekstrak air benalu mangga sebesar 400 mg/Kg BB yang disebabkan oleh kadar antioksidan pada dosis 800 mg/kg BB lebih tinggi dibanding pada dosis 400 mg/kg BB.

5.2 Pengaruh Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrothoe petandra*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia

Perlemakan hepar pada tikus (*Rattus norvegicus*) akibat diet hiperkolesterol dapat diketahui melalui pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE). Dari hasil pengamatan histopatologi adanya perlemakan pada hepar terjadi pada kelompok kontrol positif (B) maupun kelompok perlakuan C dan D. Perbedaan antara tiga kelompok ditunjukkan oleh derajat perlemakan pada sel hepar, seperti pada Gambar 5.1.

Jaringan hepar tikus (pewarnaan HE) pada kelompok kontrol negatif (A) yang menunjukkan gambaran histologi normal, terlihat beberapa sel hepar yang dekat dengan vena sentralis (angka 1) dengan gambaran normal dan gambaran sinusoid nampak jelas (Muliawan, 2012). Jaringan hepar tikus pada kelompok kontrol

positif (B), terlihat di sekitar sel hepar yang dekat dengan vena sentralis mengalami perlemakan dengan pergeseran inti sel (angka 2) dan sinusoid tidak nampak teratur. Perlemakan pada kelompok B, C dan D ditunjukkan pada *insert* (i), dari gambar tersebut dapat dilihat sekitar sel hepar mengalami perlemakan. Perlemakan, ditandai dengan adanya akumulasi trigliserida dan metabolit lemak lainnya pada sitoplasma, berupa vakuola jernih dalam sitoplasma (Sudiono, 2003).



Gambar 5.1. Gambaran histopatologi hepar tikus dengan pewarnaan HE (perbesaran 400 kali); (a) kontrol (sehat); (b) hiperkolesterolemia, (c) terapi dosis 400 mg/kg BB; dan (d) terapi dosis 800 mg/kg BB.

Keterangan gambar : 1 = sel hepar normal, 2 = sinusoid, 3 = sel hepar megalami perlemakan, VS = vena sentralis, huruf i (insert) menunjukkan perlemakan pada sekitar sel hepar yang diperbesar.

Munculnya radikal bebas pada proses sintesa empedu mengakibatkan penurunan aktivitas enzim LPL. Penurunan aktivitas LPL dalam sintesis lemak oleh hati (endogen) menyebabkan perubahan VLDL menjadi IDL menjadi terhambat, sehingga VLDL yang kaya akan trigliserida akan mengendap dalam hepar. Penurunan pengeluaran VLDL adalah salah satu penyebab akumulasi lemak pada hepar (Wahyudi, 2009).

Akumulasi lemak umumnya dimulai dari daerah portal yang meluas menuju vena sentralis. Hal ini disebabkan karena suplai darah dari usus menuju ke hati melalui vena porta. Jika darah yang berasal dari usus mengandung toksin maka kerusakan awal akan ditemukan pada hepatosit daerah vena porta (Paderi, 2007).

Selanjutnya aliran darah akan melewati sinusoid menuju vena sentralis. Terdapat beberapa zat toksin akan dimetabolisme oleh hati. Hasil metabolisme akan dibawa oleh aliran darah sinusoid menuju vena sentralis. Dalam hal ini maka, kerusakan hepatosit berupa perlemakan akan banyak dijumpai pada daerah vena sentralis (Paderi, 2007.)

Setelah terapi ekstrak air benalu mangga kelompok C (dosis 400 mg/Kg) menunjukkan adanya penurunan perlemakan pada sel hepar dan sinusoid mulai nampak jelas dibandingkan dengan kelompok B. Sedangkan kelompok D (dosis 800 mg/Kg) dapat dilihat bahwa semakin sedikit sel hepar yang mengalami perlemakan dan sinusoid semakin jelas jika dibandingkan dengan kelompok C. Gambaran histopatologi masing-masing perlakuan disajikan pada Gambar 5.1.

Terapi ekstrak air benalu mangga menyebabkan penurunan radikal bebas dengan adanya senyawa aktif benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) yaitu

antioksidan (flavonoid), kuersetin, tanin dan saponin dapat menurunkan kadar trigliserida darah dengan cara meningkatkan aktivitas enzim LPL dengan mengurangi radikal bebas (Lamanepa, 2005 ; Kasolo, 2010). Mekanisme penurunan perlemakan pada hepar melalui jalur endogen, yaitu dengan meningkatkan kerja aktivitas enzim LPL yang berfungsi untuk mengubah VLDL menjadi IDL sehingga akumulasi VLDL di dalam hepar dapat berkurang (Xenoulis, 2007).

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak air benalu mangga mampu menurunkan akumulasi lemak pada sel hepar yang mengalami perlemakan. Penurunan jumlah perlemakan lebih banyak terjadi pada tikus yang diberikan dosis ekstrak air benalu mangga 800mg/Kg BB dibandingkan dengan kelompok yang diberikan dosis ekstrak air 400mg/Kg BB, sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan, terjadi penurunan perlemakan

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Terapi ekstrak air benalu mangga pada tikus hiperkolesterolemia dengan dosis 400mg/Kg BB dan 800mg/Kg BB selama 2 minggu dapat menurunkan kadar trigliserida.
2. Terapi ekstrak air benalu mangga pada tikus hiperkolesterolemia dapat memperbaiki gambaran histopatologi hepar yang ditunjukkan dengan penurunan perlemakan pada hepar.

6.2 Saran

Diperlukan penelitian lanjutan terhadap variasi dosis terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophloe petandra*) untuk mengetahui dosis yang lebih optimal untuk terapi hiperkolesterolemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, N.F., 2007. *Tampilan Anak Tikus (Rattus norvegicus) Dari Induk Yang Diberi Bovine Somatotropin (BST) Pada Awal Kebuntingan*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Amic D and D Beslo. 2003. *Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids*. CCACCA 76(1):55-61
- Arif, Sjamsul. 2007. *Radikal Bebas*. Surabaya: FK.UNAIR.
- Artanti, N ; A, Darmawan; H, Muhammad ; Kardono, L. 2003. *Evaluasi Aktivitas Antioksidan Berbagai Ekstrak Daun Benalu (Dendrophthoe Pentandra (L.) Miq.) Yang Tumbuh Pada Inang Belimbing Dan Mangga*. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Hal. 277 – 285.
- Aulanni'am. 1993. *effect des fibres duriz sur le profil lipidique du ret comparasion entre le riz cargo et les fibres du son*. [Thesis]. USTL. Montpellier. France.
- Chandana, Alex, Navin, Sandrasegaran. 2008. *Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Hepatobiliary Imaging-Review*. American Roentgen Ray Society.
- Chandra L. 2011. *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Herba Benalu Mangga (Dendrophthoe Petandra L. Miq.) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Atcc 6538 Dan Escherichia Coli Atcc 11229 Secara Invitro* [Skripsi]. Fakultas kedokteran. Universitas Muhamadiyah Surakarta.
- Chen, H.C. 2006. *Enhancing energy and glucose metabolism by disrupting trig synthesis : Lessons from mice lacking DGAT-1*. J. Nutr. Metab. 3 : 10.
- Devanita L. 2008. *Kajian Patologi Hati Kelinci Hiperlipidemia: Dengan dan Tanpa Pemberian Antihiperlipidemia*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Dugi, K.A., I. Feuerstein, H. Hill and Joana. 1997. *Lipoprotein Lipase (LPL) corralates positively and Hepatic Lipase Inversely With Calcific Atherosclerosis in Homozygous Familial Hypercholesterolemia*. American Heart Association, Inc.
- Gani, N. et al., 2013. *Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (Abelmoschus manihot L.)*. <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmou>. Manado. Jurusan Kimia FMIPA Unsrat.
- Grundy SM. 1991. *Multifactorial of hypercholesterolemia: implication for prevention of coronary heart disease*. Arterioscl Thromb 11: 1619-1635.

- Halliwel B, Gutteridge JMC. 1999. *Free Radicals in Biology an Medicine*. 1999. Ed ke-3. New York: Oxford University.
- Ikawati M., E. Andy., S. Navista., dan A. Rosta. 2008. *Pemanfaatan Benalu Sebagai Agen AntiKanker*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Jayanti, D.P. 2011. *Pengaruh Perbedaan Lama Pemberian Diet Kolesterol Terhadap Perlemakan Hati (Fatty Liver) pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang
- Khakim. 2000. *Ketoksikan akut ekstrak air daun benalu (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq. dan Dendrophthoe falcata (L.f). Ertingsh) pada mencit jantan dan uji kandungan kimia, [skripsi]*. Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Kusmiyati, D.K., 2000. *Pengaruh pemberian vitamin E terhadap fraksi lipid serum tikus hiperkolesterolemik [Thesis]*. Semarang : Program Magister Ilmu Biomedik Program Paska Sarjana Universitas Diponegoro.
- Lamanepa. M.E.L., 2005. *Perbandingan Profil Lipid dan Perkembangan Lesi Aterosklerosis pada Tikus Wistar yang Diberi Diet Perasan Pare Dengan Diet Perasan Pare dan Statin*. Magister Ilmu Biomedik. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro, Semarang.
- Lamson, Davis W, MS, ND, and Brignall, Matthew S. ND. 2000. *Antioxidants and cancerIII: Quercetin*. Alternative Medicine Review Volume 5 Number 3
- Lichtenstein AH. 2006. *Diet and lifestyle recommendations revisition 2006: A scientific statement from the American heart association nutrition committee*. Circulation 114: 82-96.
- Lu FC. 1995. *Toksikologi Dasar Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*. Ed ke-2. Nugroho E, penerjemah. Jakarta : UI Press.
- Marinetti GV. 1990. *Disorders of lipid metabolism*. Plenum Press. New York.
- Maronpot RR.. 1999. *Pathology of Mouse*. USA: Cache River Press. Hal: 119-117.
- Montgomery, D., and S. Kowalsky. 2011. *Design and Analysis of Experiment*. John Willey and Sains Inc. ISBN 978-0-470-16990-2.
- Meyer, D.J., and J.W. Harvey. 2004. *Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis*. Philadelphia: Saunders.
- Muliawan, A. I. 2012. *Efek Pemberian Isolat Epigallocatechin Gallate (Egcg) Teh Hijau Secara In Vivo Pada Tikus Putih Yang Dipapar Diet Tinggi Lemak*

Dengan Fatty Liver (Tikus Putih Rattus Novergicus Strain Wistar Jantan). Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya. Malang.

Muryati, 2008. *Hubungan Konsumsi Lemak Dengan Kejadian Hiperkolesterolemia Pada Pasien Rawat Jalan Di Poliklinik Jantung Rumah Sakit Umum Daerah Kraton Kabupaten Pekalongan.* Universitas Muhammadiyah Semarang

Myers, P. 2003. *Interrelationship between Carbohydrate and lipid Metabolism* Biological Chemistry. California State University.

Paderi A.Z. 2007. *Kajian Perubahan Jaringan Uji Khasiat Buah Merah (Pandanus conoideus) sebagai Bahan Penghambat Kerusakan Hati.* Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

Permana, Z. 2010. *Konsumsi, Kecernaan dan Performa Tikus Putih (Rattus norvegicus) yang Disuplementasi Biomineral Cairan Rumen dalam Ransum.* Skripsi. Program Studi Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

Ping, H., Zhang, G., Ren, G. 2010. *Antidiabetic effects of cinnamon oil in diabetic KK-Ay mice.* Food and Chemical Toxicology. 48:2344-2349.

PT. EISAI Indonesia. 1995. *Indeks Tumbuh-tumbuhan obat di Indonesia* (Edisi Kedua).

Purnomo, B., 2000. *Uji Ketoksikan Akut Fraksi Etanol Daun Benalu (Dendrothae Sp) Pada Mencit Jantan Dan Uji Kandungan Kimia,* [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Putri., H. Harwita., Pudjadi, dan H. Kartikawati., 2010. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Bawang Merah (Allium ascalonicum) terhadap Kadar Kolesterol HDL Serum Tikus Wistar Hiperlipidemia.* Jurnal FK Undip.

Priambodo, S. 1995. *Pengendalian Tikus Terpadu.* Seri PHT. Penebar Swadaya. Jakarta.

Ravnskov, U. 2004. *The benefits of high cholesterol.* <http://westonaprice.org.htm> [18 Januari 2008].

Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi.* Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata, Bandung: ITB.

Rosidah, S., Yulinah., S. Elin, dan Gana. 1999. *Uji Aktivitas Antiradang pada Tikus Galur Wistar dan Telaah Fitokimia Ekstrak Daun Babadotan dan Ekstrak Rimpang Jahe.* <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>. [15 Februari 2013]

Sheir, Butler, and H. Lewis. 2004. *Human Anatomy 10th edition McGraw Hill,* Boston.

- Siburian, M. 2011. *Aktivitas Antioksidan Superoksida Dismutase pada Hati Tikus Hiperkolesterolemia yang Diberi Ekstrak Kulit Mahoni (Swietenia macrophylla)*. Departemen Biokimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Sirois, M. 2005. *Laboratory Animal Medicine*. United of State America: Mosby. Inc. Hlm 87-115.
- Soeharto, I., 2004, *Serangan Jantung dan Stroke*, Gramedia Pustaka Umum, Jakarta, 78,144-153, 157-165, 279, 287-290.
- Sudiono, J. B., Kurniadhi, Hendrawan, A., dan Djinantoro, B. 2003. *Ilmu Patologi*. Penerbit EGC. Jakarta.
- Sudrajat J. 2008. *Profil Lemak, Kolesterol Darah, Dan Respon Fisiologi Tikus Wistar Yang Diberi Ransum Mengandung Gulai Daging Sapi Lean* [skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sukardiman. 1999. *Efek Antikanker Isolat Flavonoid dari Herba Benalu Mangga (Dendrophthoe petandra)*. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suriawinata, A. A. and S. N. Thung. 2011. *Liver Pathology: An Atlas and Concise Guide*. Demos Medical.
- Tapan , E. 2005. *Penyakit Degeneratif*. Alex Media Komputindo. Jakarta
- Wahyudi, A. 2009. *Metabolisme Kolesterol Hati: Khasiat Ramuan Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk.) dalam Mengatur Konsentrasi Kolesterol Selular*. Program Studi Biokimia. Fakultas MIPA. Institut Pertanian Bagor.
- Watanabe, T. *Nateglinide reduces carotid intima media thickening in type 2 diabetic patients under good glycemic control*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:2456-62.
- Wresdiyati, T., M. Astawan, dan Y.H. Lusia., 2006. *Profil imunohistokimia Super Oksida Dismutase (SOD) pada jaringan hati tikus dengan kondisi hiperkolesterolemia*. *Hayati J Biosci* 13: 85-89.
- Van Steenis, C. G. G. J., 1975. *Flora Voor de Scholen in Indonesie*, diterjemahkan oleh Sorjowinoto.
- Vodjani, A. 2003. *How Probiotics Help Lower Cholesterol*. www.natren.com.
- Xenoulis P. G. and J. M. Steiner. 2008. *Lipid Metabolism and Hyperlipidemia In Dogs*. Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Texas A&M University, College Station, TX 77843-4474, USA

Yokozawa, T., T. Nakagawa dan K. Kitani. 2002. *Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50:3549-35.

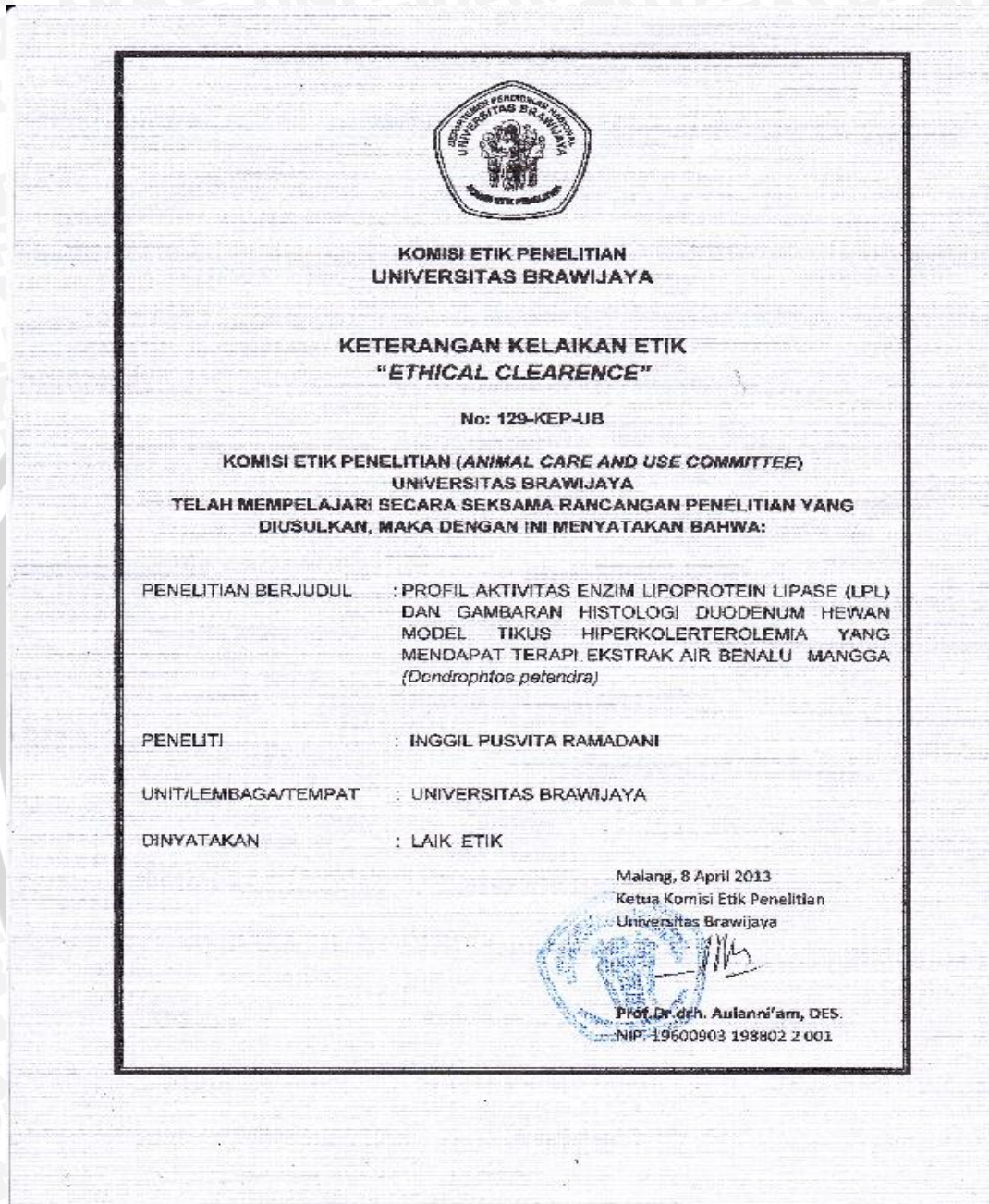


UNIVERSITAS BRAWIJAYA



LAMPIRAN

Lampiran 1. Persetujuan Laik Etik KEP UB





**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**
Jl. Veteran Malang 65145
Telp/Fax (0341) 559054, 575836
E-mail : bloetikub@ub.ac.id



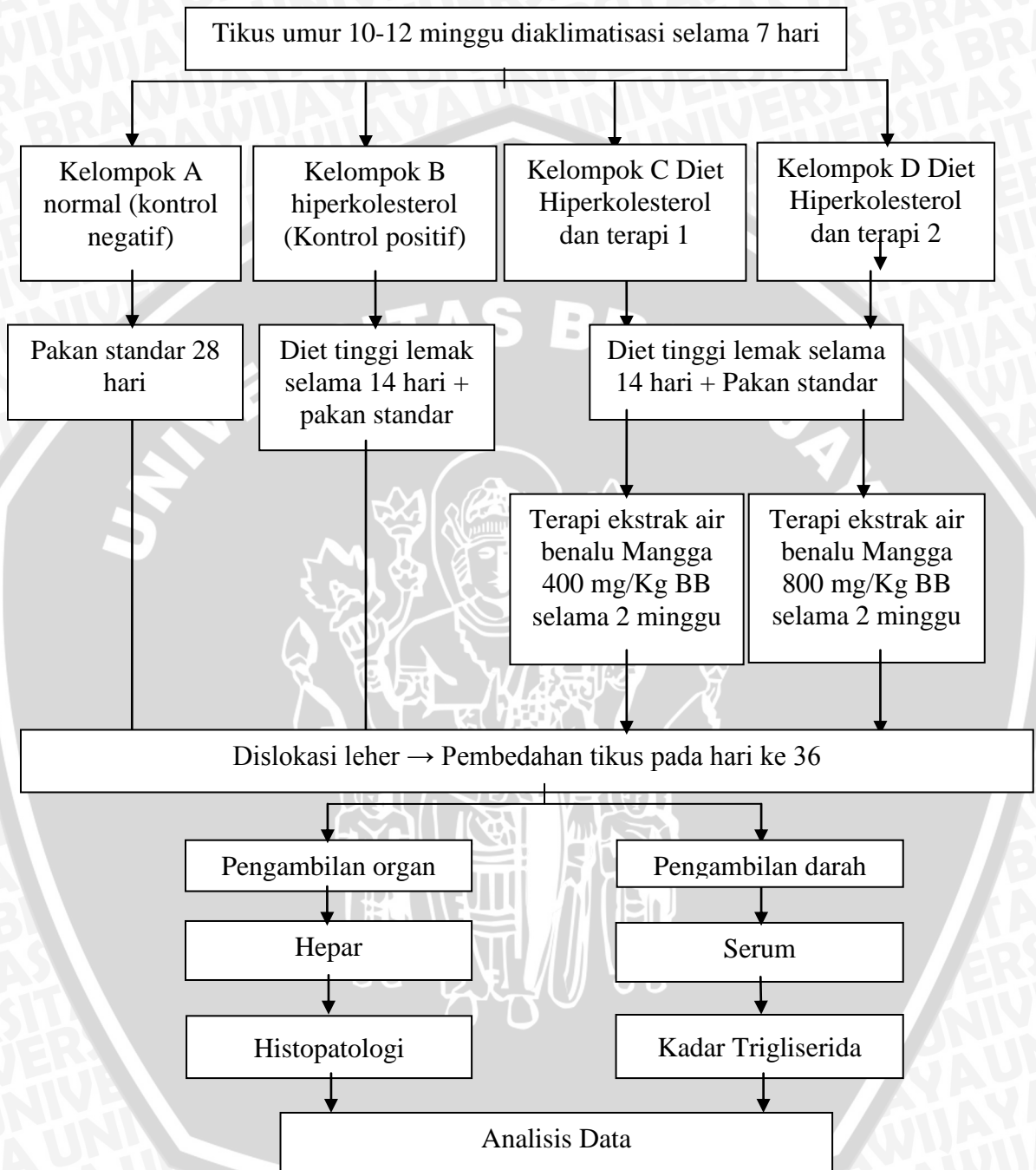
Judul Penelitian : Profil Aktivitas Enzim Lipoprotein Lipase (LPL) dan Gambaran Histologi Duodenum Hewan Model Tikus Hiperkolesterolemia yang Mendapat Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrothoe petandra*)

Ketua Peneliti : Inggil Pusvita Rahmadani (2009)
Anggota Peneliti : Fanny Rufeida (2009)
Diajeng Galuh Riasanti (2009)
Yosia Arauna (2009)
Debin Yuniar Wulandari (2009)
Deshinta Rizky Pramudenti (2009)

Ketua
Komisi Etik Penelitian

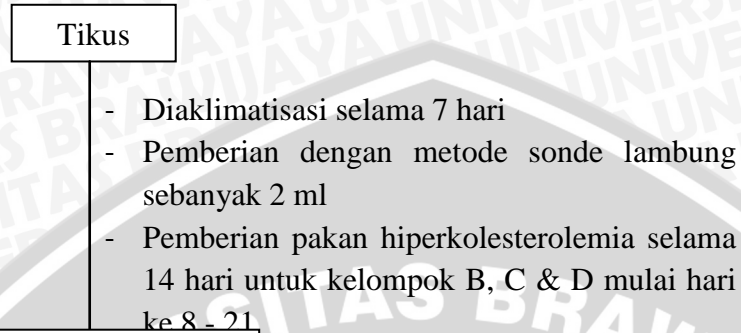
Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001



Lampiran 2. Skema Penelitian

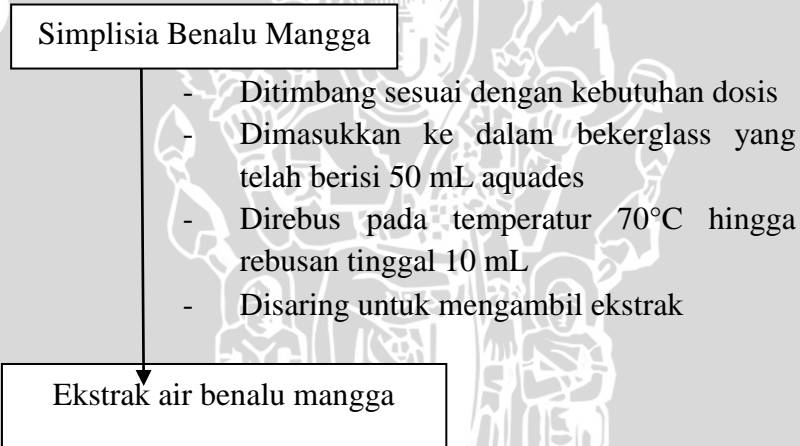
Lampiran 3. Diagram Alir

a. Diet tinggi lemak (preparasi model hiperkolesterolemia)

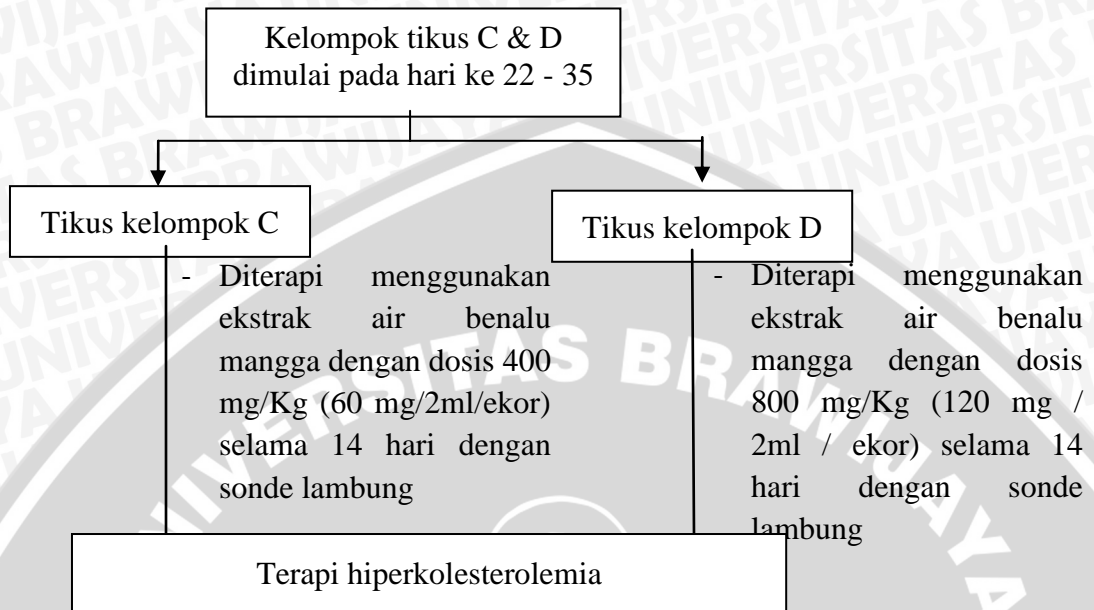


hiperkolesterolemia

b. Preparasi Ekstrak Air Benalu Mangga



c. Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga



Lampiran 4. Penentuan Dosis

a. Kelompok C (Dosis terapi = 400 mg/Kg)

Contoh:

BB 1 ekor tikus = 150 gr

$$\begin{aligned} \text{Dosis Terapi} &= \frac{150 \text{ gr}}{1000} \times 400 \text{ mg} \\ &= 60 \text{ mg} \end{aligned}$$

Perhitungan volume (dalam 2 ml terdapat 60 mg):

- Untuk 1 kelompok = Benalu mangga kering \times jumlah tikus \rightarrow 50 ml
 - = 60 mg \times 5 \rightarrow 50 ml
 - = 300 mg \rightarrow 50 ml (direbus dengan waterbath)
 - = 300 mg \rightarrow 10ml
 - = 60 mg \rightarrow 2ml

b. Kelompok D (Dosis terapi = 800 mg/Kg)

Contoh:

BB 1 ekor tikus = 150 gr

$$\begin{aligned} \text{Dosis Terapi} &= \frac{150 \text{ gr}}{1000} \times 800 \text{ mg} \\ &= 120 \text{ mg} \end{aligned}$$

Perhitungan volume (dalam 2 ml terdapat 120 mg):

- Untuk 1 kelompok = Benalu mangga kering \times jumlah tikus \rightarrow 50 ml
 - = 120 mg \times 5 \rightarrow 50 ml
 - = 600 mg \rightarrow 50 ml (direbus dengan waterbath)
 - = 600 mg \rightarrow 10ml
 - = 120 mg \rightarrow 2ml

Lampiran 5. Hasil pemeriksaan trigliserida

Data uji kadar trigliserida

Kelompok	Kadar Trigliserida		
	Pre-perlakuan (hari 8)	Pre-terapi (hari 22)	Post-terapi (hari 36)
Kelompok A T1	67	85,078	94,057
Kelompok A T2	68	94,128	104,910
Kelompok A T3	74	89,098	101,292
Kelompok A T4	68	101,785	105,943
Kelompok A T5	70	97,276	100,775
Kelompok B T1	76	192,765	-
Kelompok B T2	76	195,736	-
Kelompok B T3	75	194,315	-
Kelompok B T4	74	198,966	-
Kelompok B T5	72	196,154	-
Kelompok C T1	65	173,782	156,589
Kelompok C T2	68	174,022	156,072
Kelompok C T3	71	181,312	163,824
Kelompok C T4	68	183,455	164,341
Kelompok C T5	72	197,213	168,475
Kelompok D T1	64	183,425	132,300
Kelompok D T2	68	188,721	136,434
Kelompok D T3	65	186,915	133,333
Kelompok D T4	67	197,021	140,568
Kelompok D T5	70	198,885	140,052

Lampiran 6. Hasil Uji Statistika dengan SPSS rev 20,0

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
normal	,247	5	,200 [*]	,907	5	,450
Trigliserida hiperkolesterol	,203	5	,200 [*]	,977	5	,915
Terapi dosis 400mg/kg bb	,243	5	,200 [*]	,889	5	,353
Terapi dosis 800mg/kg bb	,224	5	,200 [*]	,891	5	,363

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

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

Trigliserida

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
Normal	5	101,39540000	4,671209190	2,089028257
hiperkolesterol	5	195,58720000	2,309924176	1,033029496
Terapi dosis 400mg/kg bb	5	161,86020000	5,363190907	2,398491889
Terapi dosis 800mg/kg bb	5	136,53740000	3,769369284	1,685713190
Total	20	148,84505000	35,590036213	7,958174029

Descriptives

Trigliserida

	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
	Lower Bound	Upper Bound		
Normal	95,59532772	107,19547228	94,057000	105,943000
hiperkolesterol	192,71905031	198,45534969	192,765000	198,966000
Terapi dosis 400mg/kg bb	155,20091894	168,51948106	156,072000	168,475000
Terapi dosis 800mg/kg bb	131,85710986	141,21769014	132,300000	140,568000
Total	132,18840033	165,50169967	94,057000	198,966000

Test of Homogeneity of Variances

Trigliserida

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,454	3	16	,264

ANOVA

Triglicerida

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23785,851	3	7928,617	452,237	,000
Within Groups	280,512	16	17,532		
Total	24066,363	19			

Homogeneous Subsets

Triglicerida					
kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
normal	5	101,39540000			
Terapi dosis 800mg/kg bb	5		136,53740000		
Tukey HSD ^a Terapi dosis 400mg/kg bb	5			161,86020000	
hiperkolesterol	5				195,58720000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.



Lampiran 7. Hasil Analisa Pakan Standard dan Hiperkolesterol



UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PETERNAKAN
BAGIAN NUTRISI DAN MAKANAN TERNAK
 Jalan Veteran Malang 65145 Telp (0341) 575853
 E-mail : bagnutrfapct@ub.ac.id

Nomor : 082.47N.10.5.52/Lab.-1/2013
 Perihal : Hasil Analisa

Yth : Sdr. Iggit
 Mhs. S1 PKH UB
 Malang

Hasil analisis Laboratorium

Tanggal Terima Sampel	No	Kode Bahan	Kandungan Zat Makanan					Gross Energy* (Kkal/kg)
			Bahan Kering (%)	Abu* (%)	Protein Kasar* (%)	Serat Kasar* (%)	Lemak Kasar* (%)	
21-2-2013	1.	M	86,66	7,59	18,61	6,56	10,21	4074,82
	2.	N	87,82	7,51	18,60	6,68	4,76	3888,86

*) Berdasarkan 100 % bahan kering

Malang, 01 Maret 2013



Bagian NMT

Sjarif Sjoftan, MSc
 No. 19600422 198811 1 001



Lampiran 8. Determinasi Benalu Mangga



DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA
 Jalan Labor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
KOTA BATU

Nomor : 074 / 043 / A / 101.8 / 2013
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Benalu Mangga**

Memenuhi permohonan saudara :
 Nama : INGGIL PUSVITAR
 N I M : 0911310046
 Fakultas : Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang

1. Perihal determinasi tanaman Benalu mangga :

Divisi : Spermatophyta
 Sub divisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledonae
 Bangsa : Santalales
 Suku : Loranthaceae
 Marga : Dendrothoe
 Jenis : *Dendrothoe pentandra* (L) Miq.
 Sinonim : -

Pasilan, mangandeh, kemadcan, komladcan

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243a-1b-2b-3a

2. Morfologi

: Semak bercabang, sebagai parasit obligat, tinggi sampai 1 m. Daun tersebar bertangkai pendek, berbentuk lanset atau buket memanjang, tebal dan rapuh. Karangan bunga dalam ketiak atau terkumpul lebih dari satu ruas, bunga 2-20, tangkai pendek. Bentuk tabung kelopak silindris sampai bentuk mangkuk, mahkota persegi 5 warna kuning sampai oranye. Kepala putik bentuk tombol tumpul. Bush bentuk telur panjang sampai 1 cm warna kuning oranye.

3. Nama Simplisia : *Dendrothoe pentandrae* Folium / Daun benalu mangga

4. Kandungan kimia : benalu mangga mengandung senyawa tersebut adalah flavonoid, yaitu kuersetin, meso-inositol, rutin, dan tanin. Ranting dan daunnya mengandung glucoside quercitrin dan melissyl alcohol

5. Penggunaan : Penelitian

6. Daftar Pustaka :

- Anonim, <http://www.warintek.ristek.go.id/komladcan>, diakses tanggal 3 Mei 2007
- Steenis, CGGJ Van Dr., *FLORA*, 2008, Pradnya Paramita, Jakarta.
- Syamsuhidayat, Sri sugati, Hutapea, Johny Ria. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia* Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
- Anonim, <http://khasiat-obatherbal.blogspot.com/2012/06/manfaat-obat-benalu-mangga.html>, diakses 16 Februari 2011
- Anonim, <http://biologisoreh.blogspot.com/2011/04/manfaat-benalu-bagi-kehidupan-manusia.html>, diakses 16 Feb 2012

Demikian determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 18 Februari 2013
 Kepala UPT. Materia Medica Batu

Drs. Inesa RM, Apt, MKes.
 NIP.196411021991031003