

**KADAR TRIGLISERIDA DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
HEPAR HEWAN MODEL TIKUS (*Rattus norvegicus*)
HIPERKOLESTEROLEMIA YANG MENDAPAT
TERAPI EKSTRAK AIR DAUN SUKUN
(*Artocarpus altilis*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

RIA RESTU WARDHANI
105130101111004



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Studi Kadar Trigliserida Dan Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus
(*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia Yang Mendapat Terapi Ekstrak Air Daun
Sukun (*Artocarpus altilis*)

Oleh :

RIA RESTU WARDHANI

105130101111004

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
Pada tanggal 31 Oktober 2014
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 1898802 2 001

Dr. drh. Djoko Winarso, MS
NIP. 19530605 198403 1 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran Hewan

Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 1898802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Ria Restu Wardhani

NIM : 105130101111004

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Studi Kadar Trigliserida Dan Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia Yang Mendapat Terapi Ekstrak Air Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

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, 31 Oktober 2014
Yang Menyatakan,

Ria Restu Wardhani
NIM. 105130101111004

repository.ub.ac.id

Studi Kadar Trigliserida Dan Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia Yang Mendapat Terapi Ekstrak Air Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

ABSTRAK

Hiperkolesterolemia adalah suatu keadaan meningkatnya kadar kolesterol di dalam darah. Penyebab hiperkolesterolemia salah satunya adalah pemberian diet tinggi lemak yang menyebabkan peningkatan jumlah radikal bebas di dalam tubuh. Antioksidan endogen tidak mampu mengatasi radikal bebas yang berlebih sehingga diperlukan antioksidan yang berasal dari luar tubuh. Ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) mengandung senyawa bersifat antioksidan yaitu flavonoid yang berupa kuersetin, DS-6, artoindonesianin F, dan cycloaltilisin menurunkan kadar trigliserida dan mengurangi perlemakan pada hepar. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh ekstrak air daun sukun terhadap penurunan kadar trigliserida dan perbaikan histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus yang dikelompokkan menjadi 5 yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok terapi dengan dosis 500 mg/Kg BB, 1000 mg/Kg BB dan 2000 mg/Kg BB. Pengujian kadar trigliserida menggunakan metode GPO-PAP. Analisa data kadar trigliserida menggunakan one way ANOVA $\alpha=0,05$ dengan uji lanjutan uji Tukey, sedangkan histopatologi hepar secara kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan terapi ekstrak air daun sukun menurunkan kadar trigliserida secara signifikan ($p < 0,05$) antar perlakuan. Dosis terapi 2000 mg/kg BB efektif dalam menurunkan kadar trigliserida sebesar 32,89%. Disimpulkan bahwa ekstrak air daun sukun yang mengandung flavonoid dapat digunakan sebagai terapi hiperkolesterolemia berdasarkan penurunan kadar trigliserida dan perbaikan pada gambaran histopatologi hepar tikus.

Kata kunci : hiperkolesterolemia, daun sukun, trigliserida, histopatologi hepar

repository.ub.ac.id

**Study Of Effect Triglyceride Level And Hepar Histopathology In
Hypercholesterolemia Rats (*Rattus norvegicus*) With Therapy Of Breadfruit Leaf
(*Artocarpus altilis*) Water Extract**

ABSTRACT

Hypercholesterolemia is a condition where cholesterol level in blood serum increases. One of the causes of hypercholesterolemia is the consumption of high fatty diet which increases free radical substances in the body. Endogenous antioxidant in the body is not able to overcome excessive free radical substances, thus exogenous antioxidant is needed. Breadfruit leaf (*Artocarpus Altilis*) has antioxidant compound namely flavonoid in the form of kuersetin DS-6, artoindonesianin F, and cycloaltilisin which can lower triglyceride level and repairing histopathology liver. The purpose of this research is to know the effects of breadfruit leaf water extract for lowering triglyceride level and improving hepar histopathology of hypercholesterolemic rats. This research uses rats as the experimental animals. The rats were divided into 5 groups: negative control group, positive control group, and therapy group with dose of 500 mg/kg bw, 1000 mg/kg bw, and 2000 mg/kg bw. One-way ANOVA $\alpha=0,05$ with Tukey test is used in triglyceride level data analysis, whereas hepar histopathology is conducted with qualitative analysis. The result showed that breadfruit leaf water extract therapy lowers triglyceride level significantly ($p<0,05$) between groups. Therapeutic dose of 2000 mg/kg bw is the effective doses for lowering triglyceride level until 32,89%. In conclusion, breadfruit leaf water extract containing flavonoid can be used as a treatment of hypercholesterolemia based on the lowering of triglyceride level and improvement of hepar histopathology on rats.

Key word : hypercholesterolemia, breadfruit leaf, triglyceride, hepar histopathology

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat, karunia, dan hidayah-Nya, penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Studi Kadar Trigliserida Dan Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia Yang Mendapat Terapi Ekstrak Air Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)”.

Ketertarikan penulis mengangkat topik ini karena kasus hiperkolesterolemia pada hewan kurang mendapat sorotan seperti penyakit lainnya serta aplikasi tanaman sebagai pengobatan herbal perlu lebih dikembangkan. Selama menyusun skripsi, penulis banyak mendapat arahan, bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Hewan dan dosen pembimbing I yang telah membantu, mengarahkan, memberi bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
2. Dr. drh. Djoko Winarso, MS selaku dosen pembimbing II yang telah membantu, mengarahkan, memberi bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
3. drh. Herlina Pratiwi, M.Si dan drh. Tiara Widyaputri selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu, memberikan koreksi, masukan, kritik, saran, serta arahan kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
4. Dr. Agung Pramana Warih Mahendra, MS selaku Ketua Program Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan untuk kemajuan PKH UB.

5. Ayahanda dan Ibunda yang senantiasa memberikan dorongan, semangat, dan doa yang tiada henti.
6. Kakak tercinta Rizky dan Arief yang senantiasa memberikan dorongan, semangat, arahan, dan doa yang tiada henti.
7. Johan Dwiantoko yang selalu memberikan semangat saat senang maupun susah, bantuan, dan doa yang tiada henti.
8. Kelompok penelitian hikodasu yaitu Mugi, Johan, Mas Ismun, Ve, dan Brian yang selalu bersama-sama dengan kompak melaksanakan penelitian dan belajar bersama serta saling mendukung dan memberikan semangat.
9. Sahabat terbaikku Firda Nuri Hidayahwatie dan Nur Alifah Nuzuliah yang selalu memberikan dukungan dan semangat dalam penyelesaian skripsi ini.
10. Penghuni kos dinoyo permai kavling 9 yaitu Mbak Alya, Mbak Retno, Rima, Mbak Leli, Mbak Eka, dan Dini yang selalu memberikan dukungan dan semangat tiada henti dalam penyelesaian skripsi ini.
11. Teman – teman 2010 A yang selalu memberi dorongan dan semangat.
12. Kakak – kakak angkatan 2008 dan 2009 yang memberi masukan kepada penulis.
13. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan skripsi ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Malang, 23 Juli 2014

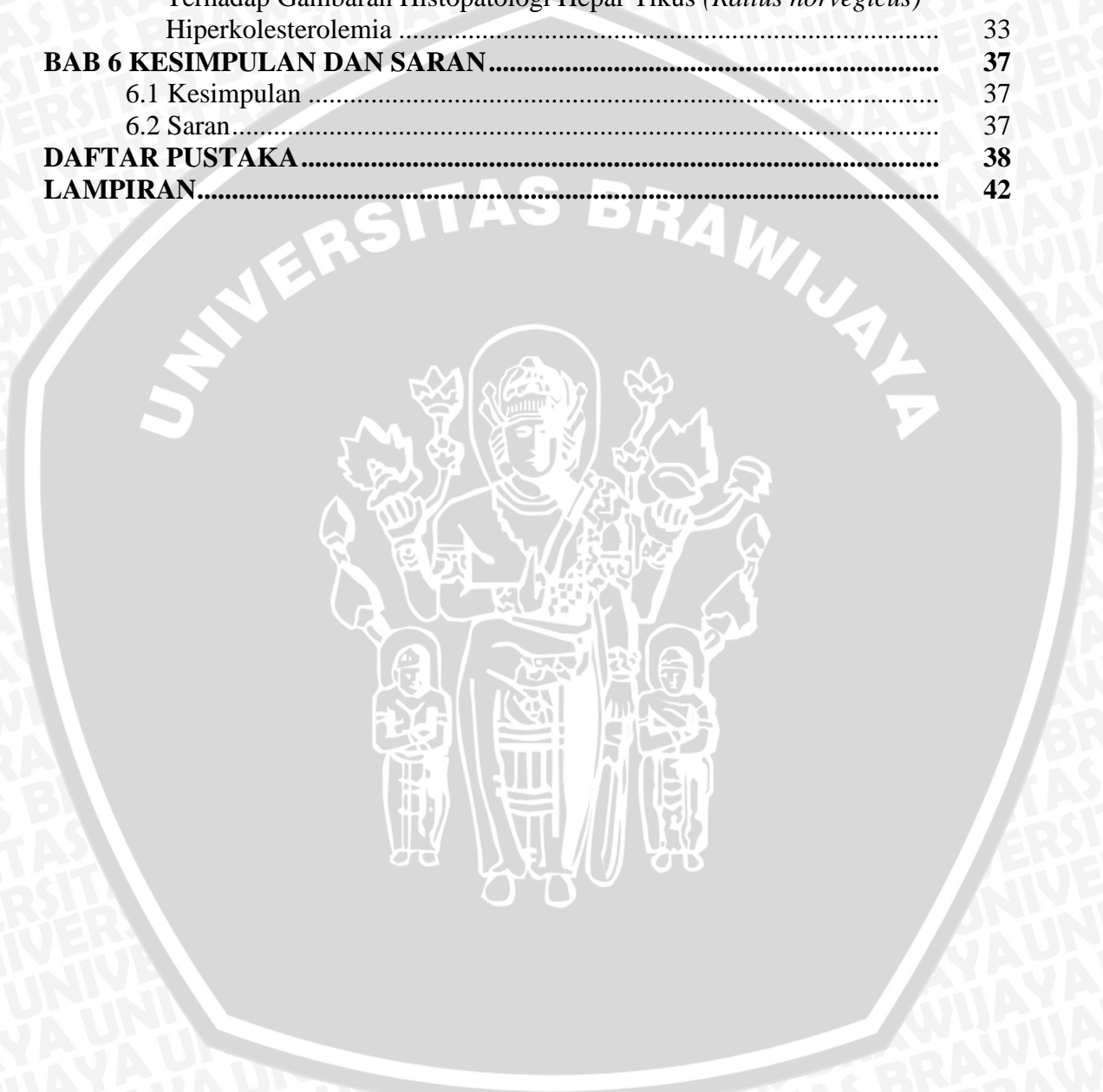
Penulis



DAFTAR ISI

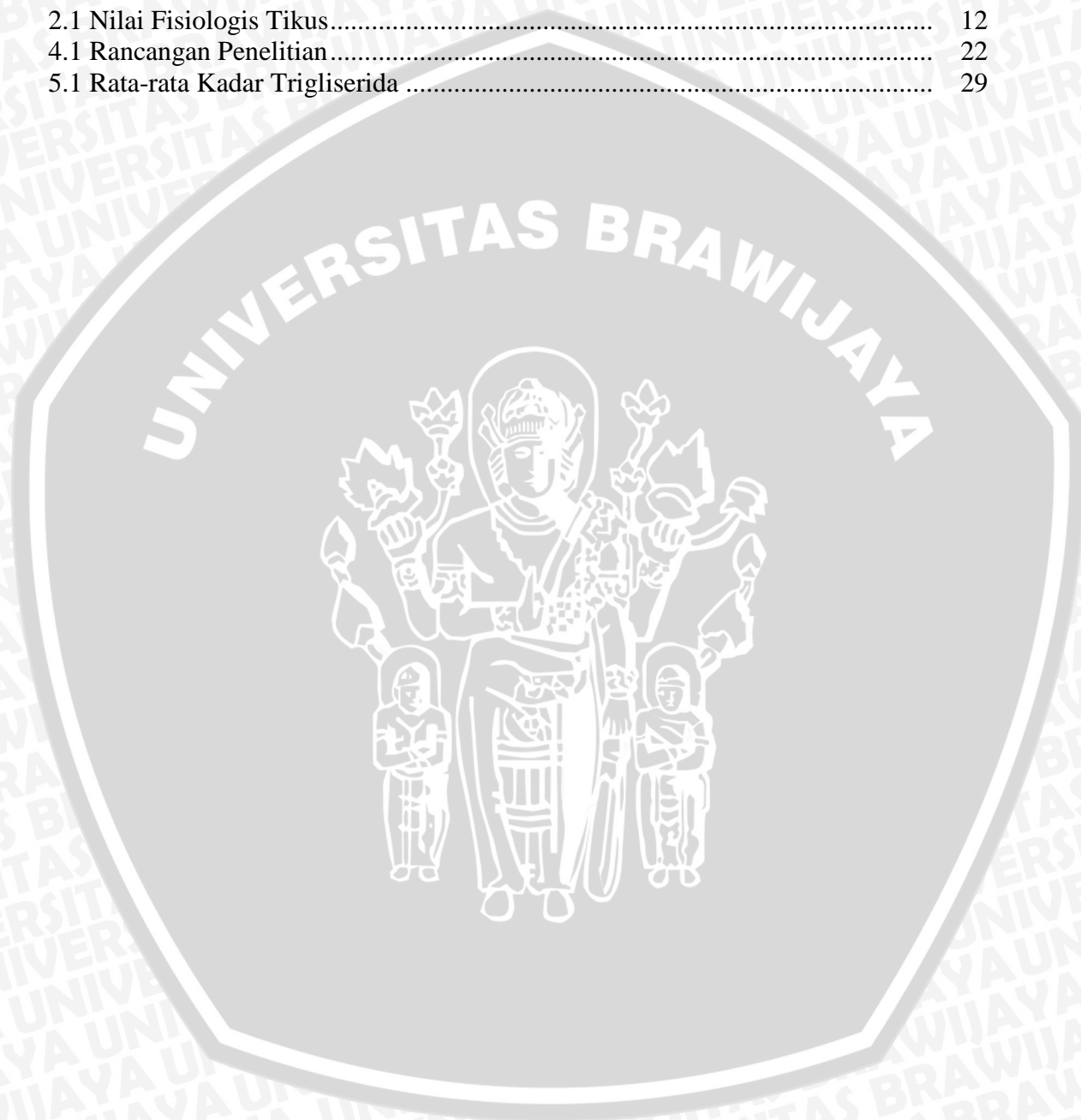
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Hubungan Trigliserida dengan Hiperkolesterolemia	7
2.2 Hubungan Histopatologi Hepar dengan Hiperkolesterolemia	8
2.3 Patomekanisme Hiperkolesterolemia	9
2.4 Hewan Model Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Hiperkolesterolemia.....	11
2.5 Bioaktif Daun Sukun.....	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 Penelitian	20
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	20
4.3 Tahapan Penelitian	21
4.4 Prosedur Kerja.....	21
4.4.1 Rancangan Penelitian dan Preparasi Hewan Coba Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	21
4.4.2 Penentuan Dosis Ekstrak Air Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)..	23
4.4.3 Pembuatan Ekstrak Air Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>).....	24
4.4.4 Preparasi Hewan Model Hiperkolesterolemia	24
4.4.5 Terapi Ekstrak Air Daun Sukun.....	25
4.4.6 Pengambilan Serum dan Hepar	25
4.4.7 Pengujian Kadar Trigliserida	25
4.4.8 Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar	26
4.4.9 Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)	27
4.4.10 Pengamatan Preparat Histopatologi	27
4.5 Analisis Data	28

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
5.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>) Terhadap Kadar Trigliserida Tikus (<i>Ratus norvegicus</i>) Hiperkolesterolemia	29
5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Hiperkolesterolemia	33
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
6.1 Kesimpulan	37
6.2 Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN.....	42



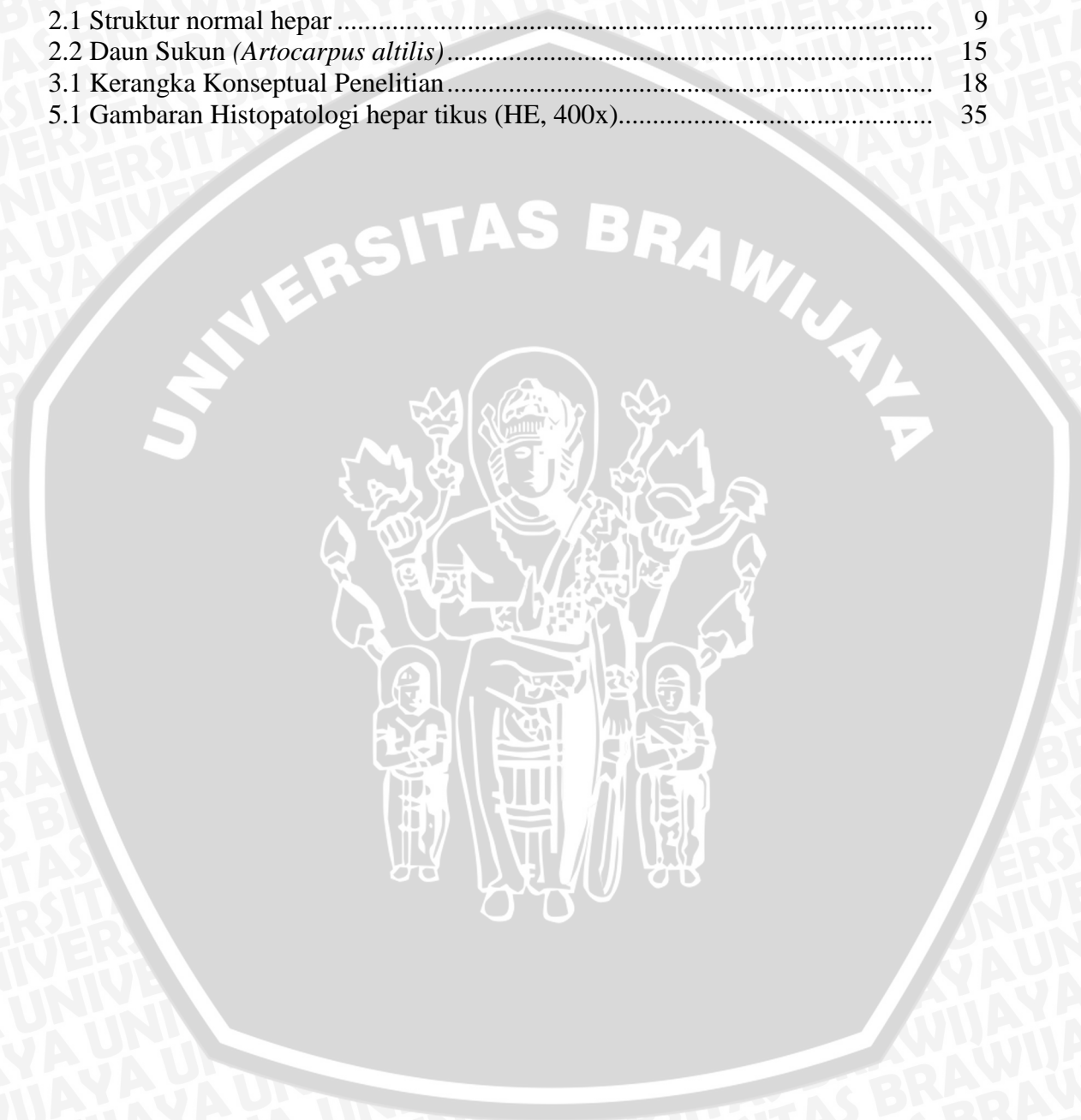
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Nilai Fisiologis Tikus.....	12
4.1 Rancangan Penelitian.....	22
5.1 Rata-rata Kadar Trigliserida	29



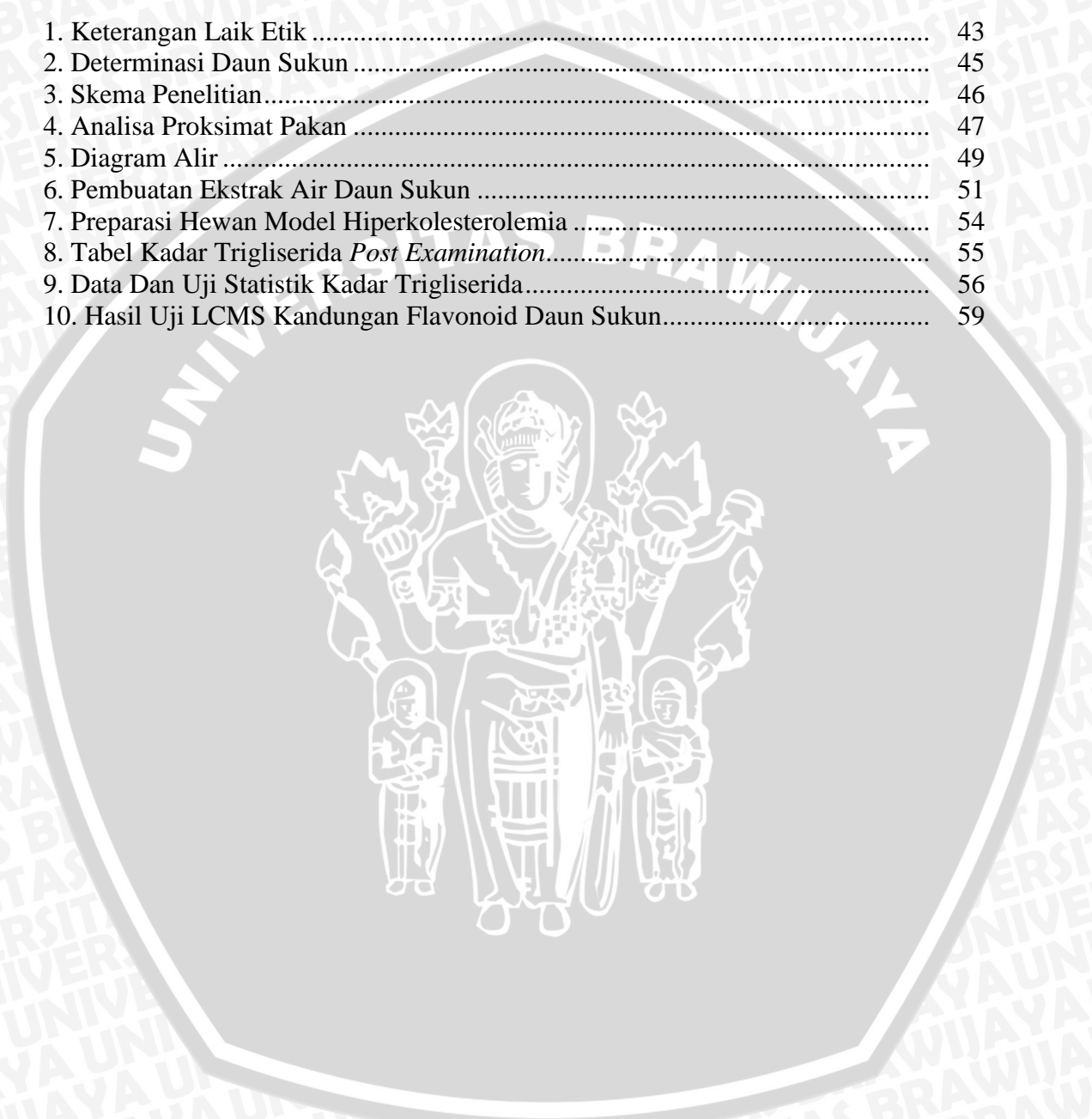
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur normal hepar	9
2.2 Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	15
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	18
5.1 Gambaran Histopatologi hepar tikus (HE, 400x).....	35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Keterangan Laik Etik	43
2. Determinasi Daun Sukun	45
3. Skema Penelitian.....	46
4. Analisa Proksimat Pakan	47
5. Diagram Alir	49
6. Pembuatan Ekstrak Air Daun Sukun	51
7. Preparasi Hewan Model Hiperkolesterolemia	54
8. Tabel Kadar Trigliserida <i>Post Examination</i>	55
9. Data Dan Uji Statistik Kadar Trigliserida.....	56
10. Hasil Uji LCMS Kandungan Flavonoid Daun Sukun.....	59



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Simbol/singkatan	Keterangan
ANOVA	: <i>Analysis Of Variant</i>
APOP	: <i>Association For Pet Obesity Prevention</i>
BB	: Berat badan
dL	: desiliter
DNA	: <i>Deoxyribonucleid Acid</i>
DPPH	: <i>Diphenylpicrylhydrazyl</i>
DS-6	: 1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-[8-hydroxyl-2-methyl-2-(4-methyl-3-pentenyl)-2H-1-benzopyran-5-y1]-1- propane
g	: gram
GPO-PAP	: <i>Glycerol 3 Phosphate Oxidasephenol Aminophenazone</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HE	: <i>hematoksilin eosin</i>
IDL	: <i>Intermediet Density Lipoprotein</i>
kg	: kilogram
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LPL	: <i>Lipoprotein Lipase</i>
mg	: miligram
ml	: mililiter
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenin Dinucleotide Phospat Hydrolase</i>
PFA	: Paraformaldehid
SD	: Standar deviasi
TG	: Trigliserida
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperkolesterolemia adalah suatu keadaan meningkatnya kadar kolesterol di dalam darah. Salah satu faktor yang menyebabkan peningkatan kadar kolesterol pada anjing yaitu hidup di lingkungan yang buruk, kurangnya aktivitas di luar kandang, dan mengkonsumsi pakan tinggi lemak. Gejala klinis hiperkolesterolemia pada anjing pada kasus ringan tidak menunjukkan gejala namun pada kasus parah dapat menyebabkan pankreatitis, gangguan penglihatan, dan kejang (Clarenburg, 2001; Klugger, *et al.*, 2010).

Hiperkolesterolemia dapat membahayakan kesehatan jantung hewan jika tidak mendapatkan penanganan. Hal ini terjadi karena adanya sumbatan akibat meningkatnya akumulasi kolesterol dan lipid pada dinding pembuluh darah. Salah satu penyebab hiperkolesterolemia pada *pet animal* di Amerika adalah obesitas. Kejadian obesitas pada tahun 2012 terus meningkat seperti yang dilaporkan *Association For Pet Obesity Prevention (APOPOP)* saat mengadakan survey pasien pada klinik dokter hewan. Ditemukan sebanyak 52,5% atau sekitar 36.700.000 pada anjing dan 58,3% atau sekitar 43.200.000 pada kucing mengalami obesitas (Karyadi, 2006; Ward and Mark, 2013).

Pemeriksaan kimia darah yang dapat dilakukan untuk mengetahui profil lipid adalah kolesterol total, *High Density Lipoprotein (HDL)*, *Low Density Lipoprotein (LDL)* dan trigliserida. Kolesterol berfungsi sebagai komponen dinding dan membran sel, dan sebagai prekursor untuk sintesa hormon steroid, vitamin D dan asam empedu. Keadaan hiperkolesterolemia terjadi apabila kadar kolesterol total

dalam darah melebihi batas normal akibat gangguan metabolisme lemak dalam darah, yaitu 70-200 mg/dL pada kucing, 150-300 mg/dL pada anjing, dan 40-130 mg/dL pada tikus putih. LDL berfungsi untuk mengangkut kolesterol menuju sel perifer di seluruh tubuh. HDL berfungsi mengangkut timbunan kolesterol dari jaringan kembali ke hepar untuk diproses kembali. Peningkatan trigliserida memberikan pengaruh terhadap *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) yang menimbulkan terbentuknya plak pada arteri dan dalam jangka waktu lama memicu terjadinya aterosklerosis (Miller, 2011; Setyaji, 2011).

Makanan yang mengandung lemak masuk ke dalam usus. Lemak diubah menjadi lipoprotein agar dapat diangkut dalam darah. Lipoprotein dalam darah adalah kilomikron, VLDL, IDL, LDL, dan HDL. Trigliserida yang terdapat pada kilomikron meninggalkan usus dan masuk ke darah lalu diuraikan oleh enzim LPL. Kilomikron masuk ke dalam hepar dan keluar dalam bentuk VLDL. Enzim LPL mengubah VLDL menjadi IDL. Gangguan pada enzim LPL menyebabkan perubahan VLDL menjadi IDL terhambat dan menyebabkan VLDL mengendap di dalam hepar. Hal tersebut mengakibatkan adanya akumulasi lemak pada sel hepar. Beberapa kelainan histopatologis hepar dengan keadaan hiperkolesterolemia menurut penelitian Wresdiyati *dkk.*, (2006) yaitu sinusoid hepar yang melebar dan beberapa sel mengalami degenerasi. Fungsi utama trigliserida adalah menyediakan energi untuk sel. Peningkatan kadar TG dapat disebabkan karena gangguan aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) karena adanya radikal bebas dan *abdominal obesity*. Radikal bebas di dalam tubuh berperan dalam komunikasi antar sel, aktivasi kupffer, dan apoptosis atau peristiwa matinya sel. Namun jika radikal bebas dalam tubuh berlebih dapat mengakibatkan dampak negatif. Dampak negatif tersebut

antara lain oksidasi terhadap berbagai komponen sel seperti protein dan DNA yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit seperti kanker dan penuaan sel (Hseu, 2008).

Antioksidan alami dari sel tidak mampu mengatasi radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh. Senyawa yang bersifat antioksidan dari luar diperlukan untuk melawan efek bahaya radikal bebas dan menurunkan kadar kolesterol yang tinggi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suryanto dan Frenedly (2009), pada uji ekstrak metanol, ekstrak etanol, dan ekstrak aseton, daun sukun (*Artocarpus altilis*) mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin yang signifikan. Penggunaan obat yang berasal dari alam merupakan penemuan di masa ini sangat gencar diteliti karena memiliki efek samping yang sedikit dan mampu mencegah serta mengobati penyakit. Sejumlah studi epidemiologi melaporkan bahwa tanaman memiliki senyawa fenolik yang efektif terhadap penyakit kronis yang fatal. Senyawa-senyawa tersebut bersifat antioksidan karena dapat melawan radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh (Ahmad and Beg, 2013).

Penelitian ini menggunakan ekstrak air daun sukun sebagai terapi hiperkolesterolemia. Beberapa literatur menyebutkan kandungan daun sukun salah satunya penelitian yang dilakukan Siddesha *et al.*, (2011), hasil analisis fitokimia menyebutkan adanya kandungan flavonoid, tanin, dan saponin. Banyaknya penelitian mengenai kandungan daun sukun tidak sebanding dengan keberadaan literatur mengenai potensi terapi yang menggunakan hewan model. Penyebaran tanaman sukun di Indonesia relatif merata yaitu di Sumatera, Jawa, Kalimantan, Nusa Tenggara, Sulawesi dan Papua sehingga tidak sulit menemukannya. Tanaman sukun di Indonesia jarang terserang hama dan penyakit yang membahayakan

sehingga dapat dikembangkan dan lebih dimanfaatkan. Indonesia sebagai negara megabiodiversitas turut memberikan kontribusi sebagai penelitian di luar negeri yaitu Ragone (2009), mengambil sampel daun sukun dari Indonesia, Filipina dan 16 *Pacific Island Groups* namun studi efektivitas daun sukun sebagai terapi penyakit masih terbatas sehingga perlu dikembangkan. Terapi hiperkolesterolemia yang dapat digunakan pada pet animal umumnya adalah statin, niacin, dan asam fibrin. Penggunaan bahan kimia sebagai terapi dapat menimbulkan lebih banyak efek samping sehingga perlu dikembangkan penggunaan obat herbal seperti ekstrak air daun sukun (Spector, 2014).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang akan dibahas sesuai dengan latar belakang tersebut adalah

1. Apakah terapi ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) menurunkan kadar trigliserida pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia?
2. Apakah terapi ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) memperbaiki 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 yang diperoleh dari UPHP Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dengan umur 10-12 minggu dan berat badan sekitar 150 gram. Penggunaan hewan coba

ini telah mendapat persetujuan Laik Etik dari KEP UB no 219-KEP-UB (**Lampiran 1**).

2. Pembuatan keadaan hiperkolesterolemia hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia dilakukan dengan cara pemberian diet tinggi lemak (Aulanni'am, 1993; Gani, 2013).
3. Simplisia daun sukun (*Artocarpus altilis*) didapat dari UPT Materia Medica dan telah mendapatkan surat keterangan identifikasi oleh Laboratorium Taksonomi dan Struktur Tumbuhan, UPT Materia Medica, Batu, Malang (**Lampiran 2**).
4. Dosis terapi pada hewan model hiperkolesterolemia yang digunakan dengan ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) yaitu dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB, dan dosis 2000 mg/kg BB selama 14 hari.
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

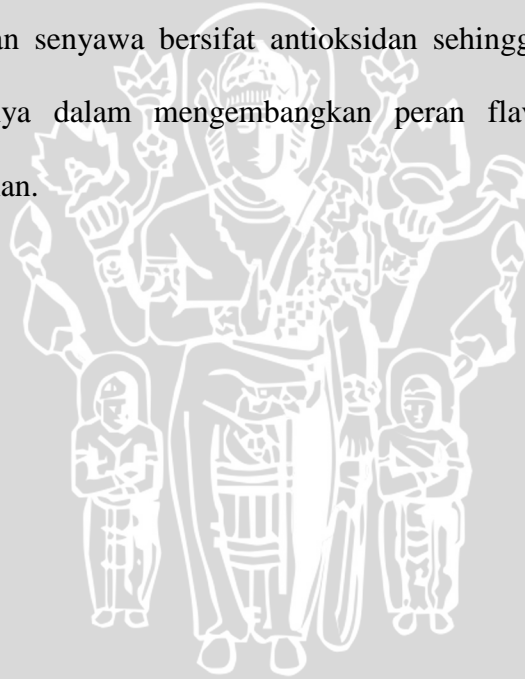
Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai terapi pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia berupa penurunan kadar trigliserida.

2. Mengetahui pengaruh ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai terapi pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia terhadap gambaran histopatologi hepar berupa penurunan akumulasi lemak.

1.5 Manfaat

1. Memberikan informasi peranan ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) dalam terapi hiperkolesterolemia berupa penurunan kadar trigliserida.
2. Sebagai bahan informasi dalam mempelajari patomekanisme hiperkolesterolemia yang diterapi dengan senyawa bersifat antioksidan sehingga dapat membantu penelitian selanjutnya dalam mengembangkan peran flavonoid, tanin, dan saponin dari tumbuhan.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hubungan Trigliserida dengan Hiperkolesterolemia

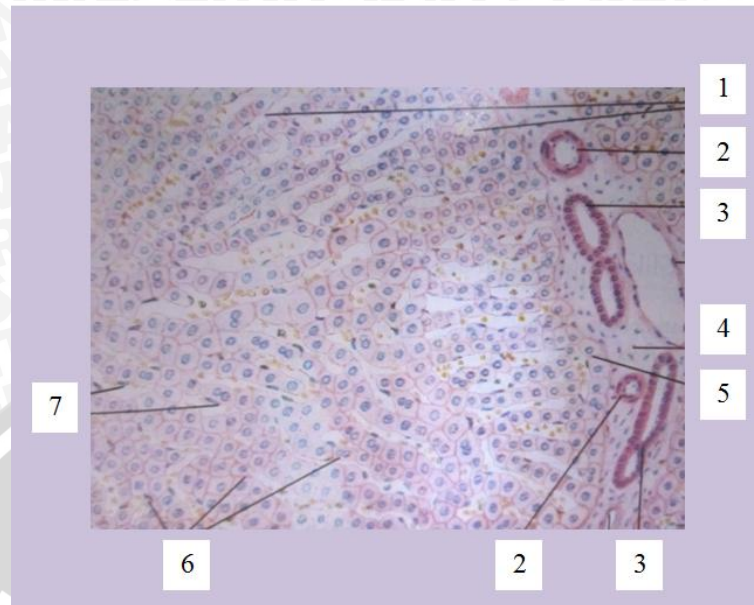
Pemeriksaan kimia darah berupa profil lipid yaitu peningkatan trigliserida dapat menandai hiperkolesterolemia. Peningkatan TG dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu asupan lemak yang berlebihan, obesitas, serta aktivitas fisik yang rendah. Trigliserida di dalam darah tidak beredar secara bebas namun berada dalam partikel-partikel lipoprotein. Lipoprotein terdiri dari kilomikron, VLDL, IDL, LDL, dan HDL. Kilomikron mengandung 96% trigliserida, VLDL mengandung 60% trigliserida, LDL mengandung 10% trigliserida, dan HDL mengandung 3% trigliserida (Cheng dan Hardi, 2004; Krummel, 2008).

Kilomikron bertugas mengangkut semua lipid dari makanan ke dalam sirkulasi. Trigliserida diangkut dalam bentuk kilomikron dari usus menuju hepar, kemudian mengalami metabolisme dan dalam jumlah besar sebagai VLDL. VLDL terdiri dari trigliserida, kolesterol, fosfolipid, dan apolipoprotein yang diproduksi oleh hepar. VLDL berfungsi mengangkut trigliserida dari hati ke jaringan ekstrahepatik. Pemberian diet tinggi lemak dapat meningkatkan konsentrasi VLDL dan trigliserida yang menunjukkan terjadinya penurunan konsentrasi kolesterol HDL. Rendahnya kadar HDL dalam serum darah menyebabkan kolesterol yang dimetabolisme menjadi sedikit sehingga banyak kolesterol yang tertimbun. Oleh karena itu kadar trigliserida yang tinggi cenderung juga disertai dengan LDL yang meningkat dari normal sehingga terjadi hiperkolesterolemia (Mahley and Bersot, 2007).

2.2 Hubungan Histopatologi Hepar dengan Hiperkolesterolemia

Produk pencernaan yang diserap pada hepar harus melalui kapiler-kapiler hepar yang disebut sinusoid. Sinusoid hepar adalah saluran darah yang berliku-liku dan melebar, dengan diameter tidak teratur, dilapisi sel endotel yang tidak utuh, dipisahkan dari hepatosit dibawahnya oleh ruang perisinusoidal. Zat makanan yang mengalir di dalam sinusoid yang berliku-liku, menembus dinding endotel yang tidak utuh dan berkontak langsung dengan hepatosit (Eroschenko, 2003).

Lemak yang diserap oleh usus akan menjadi trigliserida, fosfolipid, ester kolesteril dan kolesterol yang diangkut dalam bentuk lipoprotein yaitu kilomikron. Kilomikron masuk ke dalam hepar dan sebagian kolesterol akan dibuang bersama asam empedu. Sisanya dibuang bersama-sama trigliserida membentuk VLDL. Pada kondisi hiperkolesterolemia, tubuh akan memperbanyak sintesis asam empedu untuk mengeluarkan kelebihan kolesterol di dalam tubuh. Hal tersebut meningkatkan aktivitas sitokrom P-450 sehingga akan menghasilkan radikal bebas yang berlebihan. Peroksidasi lipid yang terjadi akibat radikal bebas menyebabkan aktivitas enzim LPL dalam memecah trigliserida dalam kilomikron menjadi asam lemak bebas, gliserol dan sisa-sisa kilomikron mengalami penurunan dan menyebabkan kadar trigliserida menjadi tinggi di dalam darah. Aktivitas enzim LPL yang turun akibat peroksidasi lipid akan menyebabkan VLDL tidak dapat menjadi IDL, sehingga VLDL akan terakumulasi di dalam hepar (Montilla, *et al.*, 2004; Muryati, 2008).



Gambar 2.1 Struktur normal hepar. pewarnaan: hematoksilin eosin (Eroschenko, 2003)

Keterangan gambar:

1= sinusoid; 2= cabang arteri hepatica; 3= duktus biliaris; 4= septum interlobular; 5= lempeng pembatas sel hepar; 6= lempeng-lempeng sel hepar; 7= nuklei sel endotel.

2.3 Patomekanisme Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia adalah meningkatnya kadar lemak di dalam darah yang ditandai dengan kenaikan kadar trigliserida, LDL, dan menurunnya kadar HDL. Hiperkolesterolemia pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) dapat dibuat melalui pemberian pakan tinggi lemak. Lemak yang masuk ke dalam usus dibawa ke aliran darah dalam bentuk lipoprotein agar dapat diproses menjadi asam lemak bebas, trigliserida, fosfolipid, dan kolesterol. Lipoprotein berupa kilomikron yang berasal dari usus masuk dalam aliran darah dan TG di dalam kilomikron dihidrolisa menjadi asam lemak dan gliserol oleh LPL. Sisa kilomikron tersebut dibawa menuju hepar. Sisa kilomikron di dalam hepar disintesa menjadi VLDL yang dibentuk di parenkim hepar. Pada kondisi hiperkolesterolemia terjadi peningkatan

konsentrasi VLDL yang menyebabkan penumpukan trigliserida sehingga menyebabkan perlemakan pada hepar. *Very Low Density Lipoprotein* bertugas sebagai transport trigliserida ke berbagai jaringan yang membutuhkan. Selanjutnya VLDL diubah menjadi IDL di dalam sirkulasi oleh enzim LPL dan kemudian menjadi LDL. LDL diserap oleh hepar melalui proses endositosis yang dibantu oleh reseptor. LDL merupakan lipoprotein yang memiliki kandungan kolesterol tertinggi dan bertugas mengedarkan kolesterol ke sel-sel jaringan melalui darah untuk digunakan dalam sel. Pada hewan dalam kondisi hiperkolesterolemia, sisa jumlah LDL yang tidak masuk ke dalam sel menjadi berlebih dalam darah. Kolesterol yang berlebih tidak mampu dibawa HDL menuju hepar untuk dimetabolisme karena kapasitas HDL kecil sehingga terjadi oksidasi LDL. Kolesterol masuk ke dalam aliran pembuluh darah jantung dan terjadi penimbunan sehingga timbul plak yang disebut aterosklerosis. Pada kondisi aterosklerosis terjadi peroksidasi lipid dan terjadi peningkatan radikal bebas. Pada kondisi ini dibutuhkan antioksidan untuk mengatasi radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh (Maryanto dan Fatimah, 2004).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dalam tubuh dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen merupakan antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh, berupa enzim yang dapat mengubah radikal bebas menjadi radikal bebas lain atau senyawa lainnya yang lebih tidak berbahaya bagi tubuh. Antioksidan eksogen adalah senyawa-senyawa yang memiliki daya antioksidan yang berasal dari luar tubuh (Ming, 2009).

Senyawa yang bersifat antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas yang berlebihan antara lain flavonoid, saponin, dan tanin. Flavonoid dapat mengurangi kadar kolesterol darah pada hewan coba yang mengalami hiperkolesterolemia dan mengurangi oksidasi LDL. Saponin dapat berikatan dengan asam empedu dan kolesterol yang berasal dari makanan membentuk misel yang juga tidak dapat diserap oleh usus. Sedangkan tanin di dalam tubuh akan berikatan dengan protein tubuh dan akan melapisi dinding usus, sehingga penyerapan lemak terhambat. Berdasarkan hal ini, diduga daun sukun (*Artocarpus altilis*) dapat bersifat sebagai antioksidan karena mengandung saponin, flavonoid, dan tanin (Siddesha *et al.*, 2011). Selain itu daun sukun (*Artocarpus altilis*) juga mengandung polifenol, asam hidrosianat, asetilkolin, riboflavin, dan fenol. Daun tanaman ini juga mengandung kuersetin, champorol dan artoindonesianin. Artoindonesianin dan kuersetin merupakan senyawa turunan dari flavonoid (Gustina, 2012).

2.4 Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia

Hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) pada penelitian hiperkolesterolemia menggunakan tikus jantan karena tikus jantan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil (Banarjee, *et al.*, 2006; Hostmark, *et al.*, 2013). Berikut klasifikasi tikus (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan percobaan menurut Hedrich (2004):

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

Hewan percobaan tikus memiliki beberapa keunggulan yaitu tikus jantan mempunyai kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis tubuh yang lebih stabil dibanding tikus betina, mudah dalam penanganan dan pemeliharaan, biaya yang dibutuhkan tidak mahal, umur relatif pendek, angka kelahiran tinggi dan relatif cocok untuk berbagai penelitian. Secara garis besar, data fisiologis tikus (*Rattus norvegicus*) dapat dilihat dalam tabel berikut

Tabel 2.1 Nilai Fisiologis Tikus

Kriteria	Nilai
Bobot badan dewasa Jantan	150-200 g
Suhu tubuh	35,9-37,5 °C
Konsumsi makanan	10mg /100g BB/hari
Konsumsi air minum	10-12ml/100g BB/hari
Kolesterol	40-130 mg/dL
Trigliserida	26-145 mg/dL

(Sumber: Meyer and Harvey, 2004; Sirois, 2005)

Tikus sebagai hewan percobaan relatif resisten terhadap infeksi. Aktifitasnya tidak terganggu oleh manusia disekitarnya. Perbedaan tikus (*Rattus norvegicus*) dengan tikus lainnya adalah tikus tidak dapat muntah. Hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) yang digunakan dalam penelitian diberi diet hiperkolesterol. Diet hiperkolesterol terdiri dari kuning telur puyuh rebus, minyak babi dan asam kholat. Pemberian diet hiperkolesterol selama 14 hari dapat mengganggu metabolisme kolesterol di dalam tubuh. Hal ini menyebabkan peningkatan kadar TG dan kolesterol serta menurunnya aktivitas LPL (Gani, 2013).

2.5 Bioaktif Daun Sukun

Tanaman sukun (*Artocarpus altilis*) memiliki batang yang besar, agak lunak dan bergetah. Daunnya lebar, menjari dan berbulu kasar, panjang kurang lebih 50-70 cm, lebar 25-50 cm, pertulangan menyirip, serta memiliki permukaan kasar hijau. Buah sukun berbentuk bulat atau sedikit bujur. Akar tanaman sukun mempunyai akar tunggang yang dalam dan akar samping yang dangkal. Tinggi pohon sukun mencapai 30 meter (Lans, 2006).

Sukun tergolong tanaman tropis karena dapat tumbuh dengan baik di dataran rendah yang panas dan di daerah basah. Tanaman ini juga dapat tumbuh di daerah yang kering asalkan terdapat air tanah dan aerasi tanah yang cukup. Daerah penyebaran tanaman sukun di Indonesia cukup merata terutama di Jawa Tengah dan Jawa Timur. Tanaman ini perlu dikembangkan dan dimanfaatkan sebagai herbal karena kandungannya yang telah banyak diteliti serta tanaman yang jarang terserang hama dan penyakit yang membahayakan. Taksonomi tanaman sukun (*Artocarpus altilis*) menurut Golden and Williams (2001):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Urticales
Famili	: Moraceae
Genus	: <i>Artocarpus</i>
Spesies	: <i>Artocarpus altilis</i> (Park.) Fosberg

Kandungan yang terdapat dalam daun sukun (*Artocarpus altilis*) telah banyak diteliti. Menurut penelitian yang dilakukan Suryanto dan Wehantouw (2009), ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) mengandung komponen fenolik, flavonoid dan tanin. Penelitian yang dilakukan oleh Novianti (2011), juga menunjukkan adanya kandungan senyawa golongan flavonoid, saponin, steroid/triterpenoida, tanin dan glikosida. Berdasarkan penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang ditambahkan maka aktivitas anti radikal bebas dan kandungan total antioksidan juga semakin besar aktivitasnya. Hal tersebut terjadi karena ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) mempunyai potensi besar sebagai penangkap radikal bebas DPPH.

Artoindonesianin dan kuersetin merupakan senyawa turunan dari flavonoid yang memiliki kemampuan pada penyakit diabetes tipe II. Kandungan flavonoid, tanin dan saponin dapat menurunkan kolesterol dalam darah karena bersifat sebagai antioksidan dengan cara meningkatkan sekresi asam empedu dan menekan terjadinya oksidasi LDL. Batas aman dalam terapi hewan coba perlu diperhatikan agar mengetahui dosis yang akan diberikan. Daun sukun (*Artocarpus altilis*) aman

terhadap fungsi hati dan ginjal pada dosis 2 gram/kg BB selama 14 hari berdasarkan penelitian uji toksisitas akut (Amiria 2008; Carjavall *et al.*, 2005; Griffiths *et al.*, 2002).



Gambar 2.2 Daun sukun (*Artocarpus altilis*) (Ragone, 2009)

Tanaman sukun (*Artocarpus altilis*) telah dikenal masyarakat luas karena manfaatnya yaitu sebagai sumber pangan, sumber pendapatan melalui buah dan kayu batang pohon, tanaman obat dan tanaman pelindung. Daun sukun (*Artocarpus altilis*) digunakan masyarakat di Trinidad dan Bahama sebagai penyembuh asma. Selain itu daun sukun (*Artocarpus altilis*) juga bisa digunakan sebagai bahan pencampur pakan ternak. Penelitian ilmiah perlu dilakukan untuk memastikan khasiat dan keamanan tanaman ini (Tuivavalagi and Samuelu, 2007; Wei, 2005; Zerega, *et al.*, 2004).

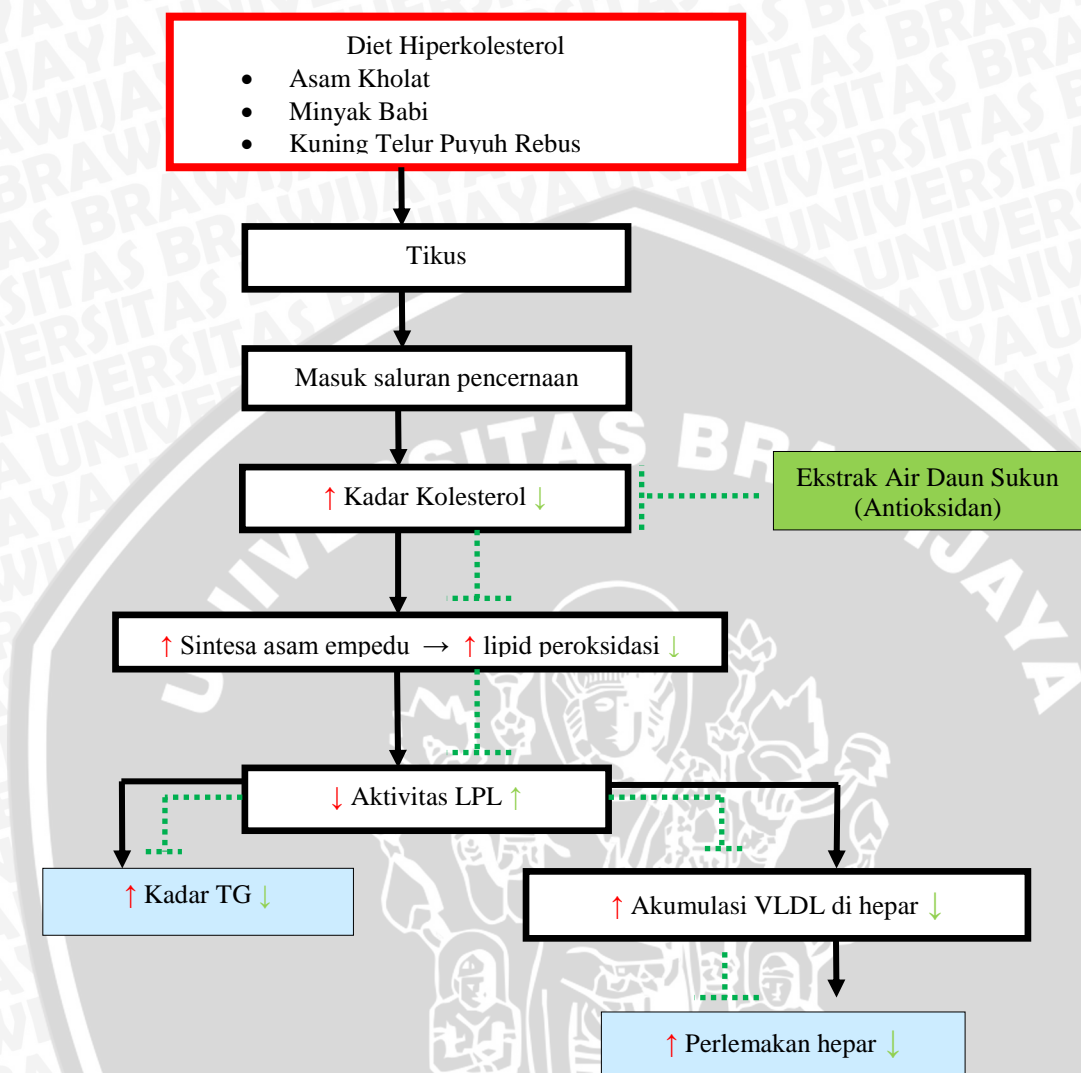
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

Lemak yang masuk ke dalam usus dibawa ke aliran darah dalam bentuk lipoprotein agar dapat diproses menjadi asam lemak bebas, trigliserida, fosfolipid, dan kolesterol. Penyerapan pertama kali dilakukan oleh kilomikron yang berasal dari usus. Trigliserida di dalam kilomikron akan dihidrolisis oleh enzim LPL yang berada di endotel menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Sisa pemecahan kilomikron dibawa menuju hepar dan dipilah-pilah menjadi kolesterol dan disintesa menjadi VLDL untuk transfer kolesterol di berbagai jaringan. Pengeluaran kolesterol dari dalam tubuh adalah melalui jalur sintesis asam empedu yang berlangsung di hepar. Trigliserida di dalam VLDL akan dihidrolisis oleh enzim LPL menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Proses sintesis asam empedu akan meningkatkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh sehingga terjadi peroksidasi. Peroksidasi mengakibatkan penurunan aktivitas enzim LPL dalam mengurai trigliserida pada kilomikron menjadi asam lemak bebas, gliserol, dan sisa-sisa kilomikron saat kondisi hiperkolesterolemia. Perusakan pada kofaktor enzim LPL akibat radikal bebas mempengaruhi aktivitas enzim LPL dalam menghidrolisis TG dan mengubah VLDL menjadi IDL kemudian LDL. Hal tersebut menyebabkan kadar trigliserida menjadi tinggi di dalam darah. 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 bertugas sebagai transport trigliserida ke berbagai jaringan yang

membutuhkan. Selanjutnya VLDL diubah menjadi IDL di dalam darah oleh enzim LPL dan kemudian menjadi LDL. Aktivitas enzim LPL yang turun akibat peroksidasi lipid akan menyebabkan VLDL tidak dapat diubah menjadi IDL sehingga VLDL akan terakumulasi di dalam hepar (Krummel, 2008).

Radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh mengakibatkan dampak negatif yaitu oksidasi. Meningkatnya oksidasi di dalam tubuh dipengaruhi oleh menurunnya aktivitas antioksidan di dalam tubuh yang disebabkan oleh diet hiperkolesterolemia. Senyawa flavonoid, tanin, dan saponin mempunyai sifat sebagai antioksidan yang dapat menangkal dampak negatif radikal bebas. Kandungan flavonoid berupa kuersetin, tanin dan saponin pada daun sukun (*Artocarpus altilis*) dapat menurunkan kolesterol dalam darah karena bersifat sebagai antioksidan dengan cara menekan radikal bebas yang diakibatkan oleh peningkatan peroksidasi lipid dan menekan terjadinya oksidasi LDL.



Gambar 3.1. Kerangka konseptual penelitian

Keterangan Gambar :

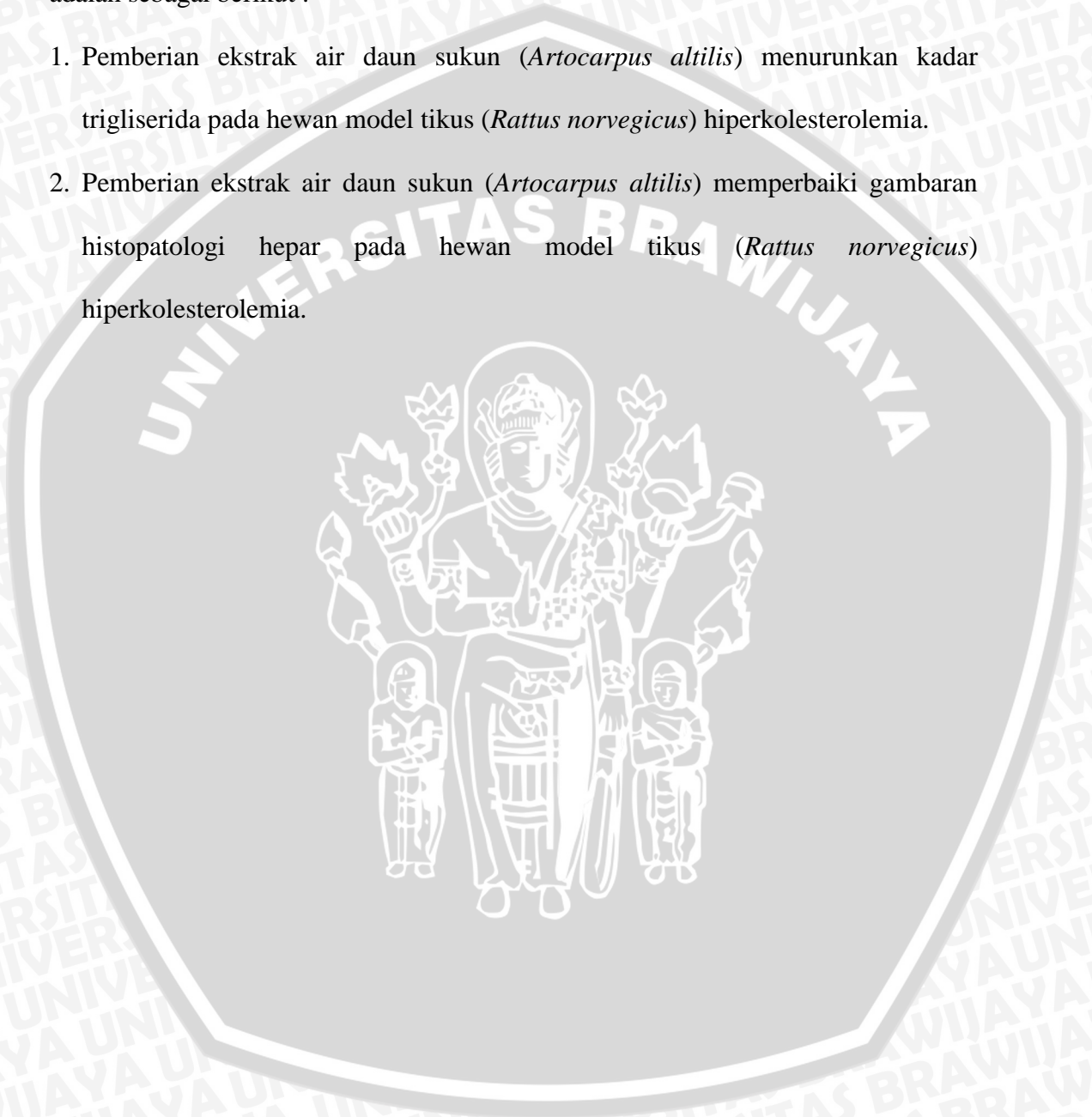
- | | | | |
|---|--|---|--|
| | : Variabel bebas | | : Variabel terikat |
| \longrightarrow | : Menstimulasi | \dashrightarrow | : Menghambat |
| \updownarrow | : Akibat pemberian diet hiperkolesterol, | \updownarrow | : Efek pemberian terapi air daun sukun (<i>Artocarpus altilis</i>) |
| \up | : Peningkatan | \up | : Peningkatan |
| \down | : Penurunan | \down | : Penurunan |



3.2 Hipotesis Penelitian

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

1. Pemberian ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) menurunkan kadar trigliserida pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia.
2. Pemberian ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) 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 Rumah Sakit dr. Soetomo Surabaya. Waktu penelitian yaitu pada bulan Agustus 2013 hingga bulan Maret 2014.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: penangas air, *beaker glass*, corong, timbangan digital, spuit, tabung *eppendorf*, kandang tikus, botol minum tikus, tempat makan tikus, penjepit (*block holder*), sentrifuse, tabung *pediatric*, spektrofotometer (biosystem type 15), *scalpel*, gunting, pinset, sarung tangan, pipet mikrohematocrit, mikrotom potong beku, inkubator, gelas objek, mikroskop cahaya (Olympus BX51).

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah hewan model tikus jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (umur 10-12 minggu, berat badan 150 gram dan daun sukun (*Artocarpus altilis*) diperoleh dari UPT Materia Medica kota Batu-Malang. Sedangkan bahan kimia yang digunakan yaitu: Asam Kholat, telur puyuh rebus, minyak babi, akuades, PFA, buffer PH, larutan emulsi, PP, NaoH, etanol, hematoksin, eosin, NaCl fisiologis 0.9 %, alkohol dan TG deteksi kit (Biosystem).

4.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian sebagai berikut:

1. Rancangan penelitian.
2. Preparasi hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*)
3. Preparasi hewan model hiperkolesterolemia
4. Perhitungan dosis ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*)
5. Preparasi ekstrak kering daun sukun (*Artocarpus altilis*)
6. Pembuatan ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*)
7. Terapi ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*)
8. Pengambilan serum darah tikus dan pengambilan hepar tikus (*Rattus norvegicus*)
9. Pengujian kadar trigliserida dengan metode GPO-PAP
10. Pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan hematoksin-eosin (HE).

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Rancangan Penelitian dan Preparasi Hewan Coba Tikus

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok A, B, C, D, dan E. Kelompok A merupakan tikus kontrol (sehat) tanpa perlakuan, kelompok B tikus hiperkolesterol tanpa terapi, kelompok C merupakan tikus hiperkolesterol dan diberi terapi dosis sebesar 500 mg per ekor, kelompok D merupakan tikus hiperkolesterol dan diberi terapi dengan dosis sebesar 1000 mg per ekor, kelompok E merupakan tikus hiperkolesterol dan diberi terapi dengan dosis sebesar 2000 mg

per ekor. Setiap perlakuan terdiri dari empat ekor tikus sebagai ulangan. Diagram alir skema penelitian dapat dilihat pada **Lampiran 3** dan rancangan penelitian terdapat pada Tabel 4.1. Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- Variabel bebas : Dosis ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) dan diet hiperkolesterol
- Variabel terikat : Kadar trigliserida dan gambaran histopatologi hepar
- Variabel kontrol : Jenis kelamin, umur, berat badan, *Rattus norvegicus* strain Wistar, suhu ruangan, kandang, minum, ruangan.

Tabel 4.1. Rancangan penelitian

Variabel yang Diamati	Ulangan				
Kadar Trigliserida dan Histopatologi Hepar	1	2	3	4	5
Kelompok A (kontrol)					
Kelompok B (hiperkolesterolemia)					
Kelompok C (terapi dosis 500 mg/kg BB)					
Kelompok D (terapi dosis 1000 mg/kg BB)					
Kelompok E (terapi dosis 2000 mg/kg BB)					

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah tikus sebagai hewan percobaan. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Rattus norvegicus* jantan galur wistar berumur 10-12 minggu. Berat badan tikus rata-rata 150 gram. Tikus diadaptasikan untuk menyesuaikan kondisi laboratorium selama 7 hari (Lamanepa, 2005). Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Montgomery and Kowalsky, 2011):

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan

P = jumlah kelompok (terdiri dari lima macam perlakuan)

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk hewan coba yang dibagi menjadi 5 kelompok diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 4 kali dalam setiap kelompok. Penggunaan hewan coba pada setiap perlakuan yang diuji menggunakan 5 kali dalam setiap kelompok. Tikus dikandangkan dalam kandang dari bak plastik yang dilengkapi penutup kawat, dengan ukuran kandang 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 Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Penentuan dosis ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) berdasarkan penelitian Amiria (2008), daun sukun (*Artocarpus altilis*) aman terhadap fungsi hati dan ginjal pada dosis 2 gram/kg BB selama 14 hari. Dosis terapi yang diberikan pada kelompok C 500 mg/kg bb/hari, pada kelompok D 1000 mg/kg bb/hari dan kelompok E 2000 mg/kg bb/hari. Berdasarkan dosis tersebut, maka pada kelompok C dosis yang diberikan 500mg/kg dengan berat tikus 150 gram diperoleh dosis 75mg/ekor/hari, pada kelompok D dosis yang diberikan 1000 mg/kg dengan berat tikus 150 gram dosis yang diberikan 150 mg/ekor/hari dan pada kelompok E dosis yang diberikan 2000 mg/kg dengan berat tikus 150 gram dosis yang diberikan 300mg/ekor/hari.

4.4.3 Pembuatan Ekstrak Air Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Berdasarkan perhitungan dosis, pembuatan dosis per kelompok perlakuan yaitu untuk kelompok C = 375 mg, kelompok D = 750 mg, dan kelompok E = 1500 mg dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* dengan menambahkan 50 ml akuades pada kelompok C, kelompok D dan kelompok E. Kemudian masing-masing direbus di penangas air pada temperatur 70 °C dengan dilakukan pengadukan hingga air rebusan menjadi 10 ml. Setelah itu, disaring menggunakan kertas saring sehingga didapatkan ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) dan didinginkan. Sediaan ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) untuk kelompok C (terapi dosis 500 mg/kg BB), D (terapi dosis 1000 mg/kg BB) dan E (terapi dosis 2000 mg/kg BB) disiapkan setiap hari.

4.4.4 Preparasi Hewan Model Hiperkolesterolemia

Berdasarkan metode pakan diet hiperkolesterol (Gani, 2013), susunan ransum pakan diet hiperkolesterol terdiri dari asam kholat 0,02 gram, minyak babi 2 gram, dan kuning telur puyuh rebus yang telah dipanaskan pada suhu 100 °C sebanyak 1 gram ditambah aquades hingga 2 ml yang diberikan dengan metode sonde lambung. Analisa proksimat pakan terdapat pada **Lampiran 4**.

Pemberian diet tinggi lemak pada kelompok B sebanyak 2 ml/ekor/hari dengan sonde lambung kemudian diberikan pakan standar sebanyak 16,98 g/ekor/hari 1 jam setelahnya selama 14 hari (Aulanni'am, 1993). Tikus kelompok C, D, dan E diberikan diet tinggi lemak sebanyak 2 ml/ekor/hari dengan sonde lambung kemudian diberikan pakan standar sebanyak 16,98 g/ekor/hari 1 jam setelahnya selama 14 hari. Kelompok A diberi pakan standar sebanyak 20

g/ekor/hari selama 28 hari. Diagram alir pembuatan pakan diet hiperkolesterol dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

4.4.5 Terapi Ekstrak Air Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Metode pemberian terapi per oral tiap ekor tikus sebanyak 2 ml pada kelompok tikus (C) terapi ekstrak air daun sukun dosis 500 mg/kg BB, (D) terapi ekstrak air daun sukun dosis 1000 mg/kg BB dan (E) ekstrak air daun sukun dosis 2000 mg/kg BB. Pemberian terapi dilakukan selama 14 hari dengan cara sonde lambung. Pembuatan ekstrak air daun sukun pada kelompok C, D, dan E dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

4.4.6 Pengambilan Serum dan Hepar

Pengambilan serum dilakukan pada hari ke 29 setelah perlakuan. Pembedahan dilakukan pada hari ke 29 untuk semua perlakuan diawali dengan cara dislokasi leher sebelum pembedahan. Setelah itu melakukan pengambilan darah jantung dengan cara menusukkan spuit 3 ml ke jantung. Kemudian darah tersebut dimasukkan dalam *vacutainer*, diletakkan posisi miring 45 °C dan dibiarkan mengendap pada suhu kamar. Selanjutnya serum tersebut diambil, dimasukkan dalam tabung eppendrof 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 % (Sirois, 2005).

4.4.7 Pengujian Kadar Trigliserida

Pada penetapan kadar trigliserida, digunakan metode GPO-PAP (*Enzymatic-spectrophotometric*). Prinsip metode ini adalah pengukuran trigliserida setelah mengalami pemecahan secara enzimatik oleh lipoproteinlipase. Serum dipipet sebanyak 500 µl kemudian dimasukkan ke cup sampel dan telah siap untuk

diperiksa. Reagen yang akan digunakan diencerkan di rak reagen. Reagen dan sampel dimasukkan di alat Automatic Analyzer Biosystem A15 dan kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm (Kusmiyati, 2000).

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 4% 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 ke dalam larutan 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, secara cross section/melintang. Irisan diletakkan pada poly-l-lysin slide. Potongan terpilih dikeringkan dan diletakkan di atas *hot plate* 38-40 °C sampai kering. Selanjutnya preparat disimpan dalam inkubator pada suhu 38-40 °C lalu siap diwarnai dengan pewarnaan Hematoksisilin-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 hematoksilin 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 kedalam 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 500 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 ditabulasi. Selanjutnya data dianalisis menggunakan *SPSS rev.22,0* dengan analisis ragam ANOVA (*Analysis of Variance*) dan 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.



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Kadar Trigliserida Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia

Ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) menurunkan kadar trigliserida (Tabel 5.1) pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia. Hasil penelitian pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia menunjukkan adanya penurunan kadar trigliserida (Tabel 5.1). Kadar normal trigliserida pada tikus (*Rattus norvegicus*) adalah 26 – 145 mg/dL (Meyer dan Harvey, 2004).

Tabel 5.1 Rata-rata kadar trigliserida

Kelompok	Rata-rata kadar TG ± SD (mg/dL)	(%) Kadar TG	
		Peningkatan	Penurunan
A (Kontrol negatif)	96.7960 ^a ± 2,37265	-	-
B (Kontrol positif)	193.5916 ^c ± 4,80092	99,99	-
C (Terapi dosis 500 mg/kg BB)	169.4058 ^d ± 4,57866	-	12,49
D (Terapi dosis 1000 mg/kg BB)	156.5890 ^c ± 2,23489	-	19,11
E (Terapi dosis 2000 mg/kg BB)	129.9226 ^b ± 4,36388	-	32,89

- Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antar perlakuan

Hasil analisa statistika menunjukkan bahwa terapi ekstrak air daun sukun menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$) antar perlakuan yang ditunjukkan dengan adanya notasi yang berbeda (data lengkap kadar trigliserida ada di **Lampiran 8**). Kadar trigliserida pada tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok B hiperkolesterolemia mengalami peningkatan sebesar 99,99% dibandingkan dengan

tikus normal. Hal ini membuktikan bahwa diet hiperkolesterolemia selama 14 hari dapat meningkatkan kadar trigliserida pada kelompok B. Kadar trigliserida tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok C hiperkolesterolemia yang diterapi ekstrak air daun sukun dosis 500 mg/kg BB mengalami penurunan sebesar 12,49%, tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok D hiperkolesterolemia yang diterapi ekstrak air daun sukun dosis 1000 mg/kg BB mengalami penurunan sebesar 19,11% dan tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok E hiperkolesterolemia yang diterapi ekstrak air daun sukun dosis 2000 mg/kg BB mengalami penurunan sebesar 32,89% (Tabel 5.1). Terapi ekstrak air daun sukun dapat menurunkan kadar trigliserida. Semakin tinggi dosis terapi semakin tinggi penurunan kadar trigliserida. Pada perlakuan terapi dengan dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB, dan 2000 mg/kg BB dapat menurunkan kadar TG sebesar 129,9226 dan 32,89% (Tabel 5.1). Kadar trigliserida pada kelompok C, D, dan E menunjukkan penurunan secara nyata ($p < 0,05$) setelah pemberian ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) dibandingkan dengan kelompok hiperkolesterolemia. Kadar trigliserida kelompok A, B, C, D, dan E terdapat pada **Lampiran 8**.

Pemberian diet hiperkolesterol berupa 5% kuning telur puyuh rebus, 10% minyak babi, dan 0,1 % asam kholat dari jumlah diet selama 14 hari memberikan pengaruh terhadap peningkatan kadar trigliserida pada kelompok B. Kadar trigliserida pada kelompok A masih dalam batas normal karena diet yang diberikan adalah pakan standar. Jika dibandingkan kelompok A dan kelompok B, kadar trigliserida kelompok B lebih tinggi daripada kelompok A. Pemberian diet hiperkolesterol dapat meningkatkan kadar trigliserida karena TG yang berasal dari makanan sumber lemak jenuh di dalam lambung tidak dapat diserap sehingga

diserap sebagai asam lemak bebas di dalam mukosa usus dan kemudian diubah lagi menjadi trigliserida. Sehingga tingginya lemak yang dikonsumsi akan berpengaruh pada peningkatan sintesa trigliserida di hepar dan kadar trigliserida di dalam darah (Botham *et al.*, 2006; Dwiloka, 2003).

Diet hiperkolesterol yang diberikan pada kelompok B meningkatkan aktivitas sintesa asam empedu untuk pengeluaran kolesterol yang berlangsung di hepar. Sintesa asam empedu menghasilkan efek samping berupa radikal bebas yang mengakibatkan terjadinya peroksidasi lipid. Tahap pertama pada proses pembentukan asam empedu adalah reaksi 7α -hidroksilasi. Reaksi 7α -hidroksilasi memerlukan oksigen, NADPH, serta sitokrom P-450 sebagai katalisator. Ikatan oksigen dan NADPH akan menghasilkan anion superoksida dan sitokrom P-450 sebagai katalisator akan mempercepat terbentuknya anion superoksida sehingga semakin banyak radikal bebas yang dihasilkan. Semakin meningkatnya sintesis asam empedu maka kebutuhan oksigen, NADPH, serta sitokrom P-450 akan semakin meningkat. Oksigen yang terikat pada sitokrom P-450 merupakan intermediet dalam pengaktifan oksigen ada berbagai reaksi hidroksilasi sehingga membuat radikal bebas yang terbentuk semakin banyak. Radikal bebas tersebut menimbulkan terjadinya peroksidasi lipid. Radikal bebas yang berlebih mengakibatkan adanya ikatan antara radikal bebas dengan kofaktor enzim LPL berupa Apo-CII yang terdapat pada lipoprotein. Kondisi ini mengakibatkan terjadinya penurunan aktivitas enzim LPL dalam hidrolisis TG yang terdapat di kilomokron dan di VLDL. *Very Low Density Lipoprotein* membutuhkan aktivitas enzim LPL untuk menghidrolisis TG menjadi asam lemak dan gliserol serta mengubah VLDL menjadi IDL dan IDL menjadi LDL sebagai transport kolesterol

ke berbagai jaringan yang membutuhkan. Penurunan aktivitas enzim LPL mengakibatkan VLDL akan terakumulasi di dalam hepar sehingga terjadi peningkatan kadar trigliserida dalam darah dan peningkatan akumulasi lemak di dalam hepar.

Hasil analisa uji tukey pada kelompok C, D, dan E menunjukkan bahwa ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) menurunkan kadar trigliserida serum darah secara nyata ($p < 0,05$). Kelompok E yang merupakan kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia yang diberi dosis terapi ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebesar 2000 mg/kg BB menunjukkan hasil penurunan kadar trigliserida yang paling efektif, dibandingkan kelompok C dengan dosis ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebesar 500 mg/kg BB dan kelompok D dengan dosis 1000 mg/kg BB yang disebabkan karena kadar antioksidan pada dosis 2000 mg/kg berat badan lebih tinggi dibandingkan pada dosis 500 mg/kg berat badan dan dosis 1000 mg/kg berat badan.

Penurunan kadar trigliserida terjadi akibat kandungan yang terdapat dalam ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) yaitu berupa flavonoid. Berdasarkan uji LCMS, flavonoid yang terdapat di dalam daun sukun (*Artocarpus altilis*) adalah kuersetin, DS 6, artoindosianin F, dan cycloaltilisin (**Lampiran 10**). Flavonoid memiliki kemampuan menangkal radikal bebas berlebih yang dihasilkan oleh sintesa asam empedu sehingga dapat meningkatkan aktivitas LPL karena terjadinya peroksidasi lipid dapat dihambat oleh flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan. Peningkatan aktivitas enzim LPL akan menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol serta dapat disimpan dalam jaringan adipose dan jaringan otot. Flavonoid efektif dalam penghilangan radikal hidroksil dan anion superoksida

yang dihasilkan dari sintesa asam empedu. Potensi antioksidan dalam senyawa flavonoid disebabkan oleh pelepasan atom hidrogen yang terdapat pada gugus hidroksil. Radikal bebas berikatan dengan atom hidrogen sehingga aktivasinya berkurang. Radikal bebas yang berikatan dengan antioksidan mempengaruhi perbaikan pada kofaktor LPL berupa Apo-CII yang terdapat didalam lipoprotein. Apo-CII yang terdapat di kilomikron dan VLDL dapat berikatan dengan LPL untuk menghidrolisa TG menjadi asam lemak dan gliserol yang dibawa ke jaringan adipose dan jaringan otot. Peningkatan aktivitas LPL berpengaruh terhadap kadar TG di dalam darah karena TG dalam lipoprotein dapat dihidrolisa ke jaringan adipose dan jaringan otot (Packer and Cadenas, 2002).

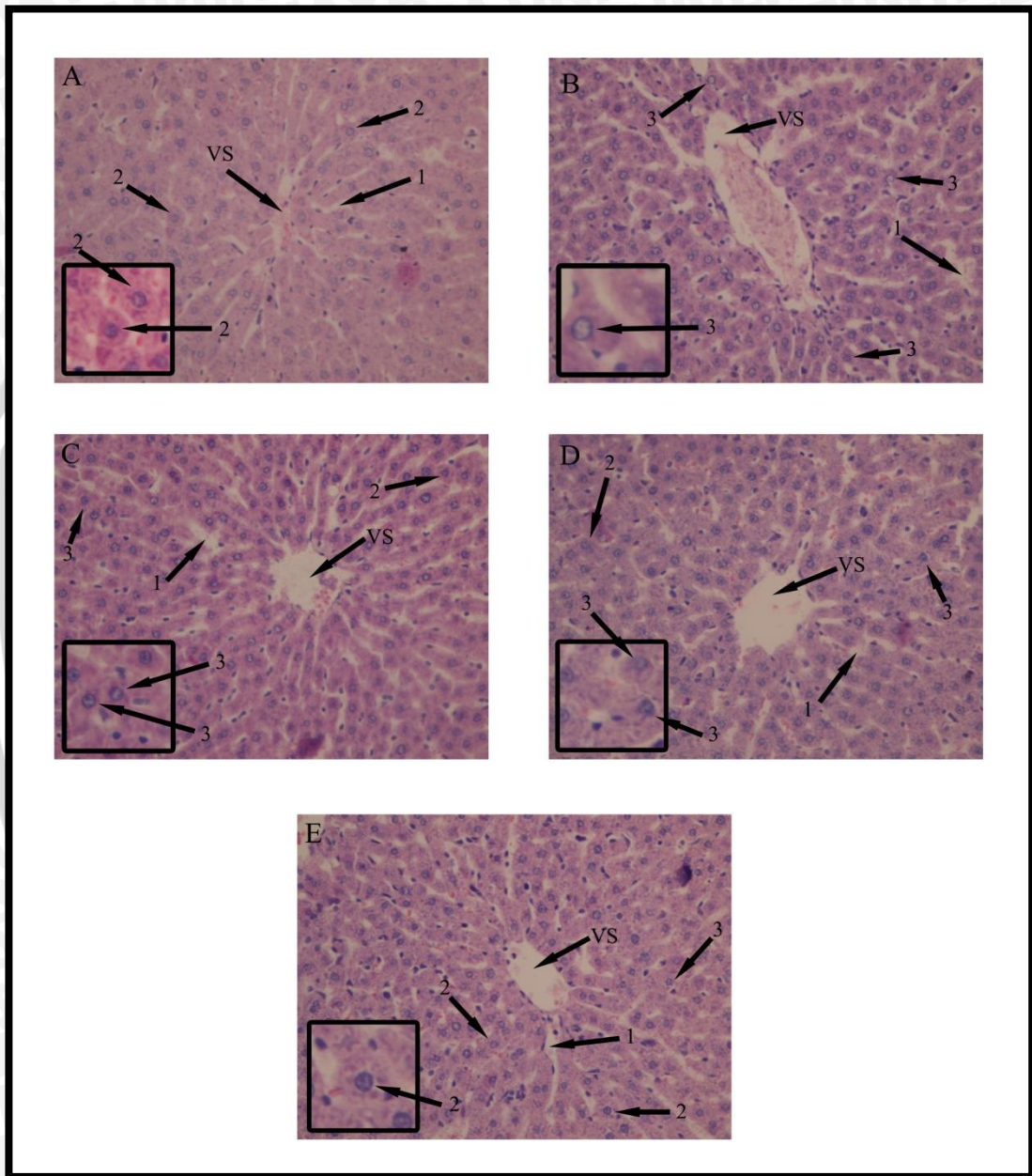
5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia

Pemberian diet hiperkolesterol dan terapi ekstrak air daun sukun memberikan pengaruh terhadap akumulasi lemak di dalam hepar. Perbedaan gambaran histopatologi kelompok A, B, C, D, dan E diamati secara mikroskopis dan diwarnai dengan Hematoksin-Eosin (Gambar 5.1). Setiap masing-masing kelompok perlakuan memperlihatkan adanya perbedaan pada bagian sinusoid dan sel hepar. Gambar histopatologi hepar pada kelompok tikus sehat (Gambar 5.1.A) menunjukkan inti sel hepar yang berada di tengah dan sinusoid tampak teratur. Gambar histopatologi hepar pada kelompok tikus hiperkolesterolemia (Gambar 5.1.B) terlihat banyaknya inti sel hepar yang bergeser ke tepi dan sinusoid tampak melebar. Gambar histopatologi hepar pada kelompok C (Gambar 5.1.C) mengalami perbaikan yang ditunjukkan adanya inti sel hepar yang berada di tengah namun

masih banyak inti sel yang tidak normal. Gambar histopatologi hepar pada kelompok D (Gambar 5.1.D) menunjukkan lebih banyak inti sel hepar yang berada di tengah namun masih terdapat inti sel yang berada di tepi. Gambar histopatologi hepar pada kelompok E (Gambar 5.1.E) menunjukkan hasil yang lebih membaik dibandingkan kelompok tikus yang lain karena banyaknya inti sel yang berada di tengah namun masih terdapat beberapa inti sel hepar yang berada di tepi. Akumulasi lemak menyebabkan pergeseran inti sel hepar ke tepi sehingga hal ini berpengaruh pada bentuk sinusoid.

Gambaran histopatologi hepar pada tikus sehat (Gambar 5.1.A) menunjukkan struktur yang normal karena sinusoid terbentuk seperti memancar dari vena sentralis dan inti sel hepar tidak mengalami pergeseran akibat akumulasi lemak. Gambaran histopatologis kelompok A sesuai dengan pernyataan Wresdiyati *et al.*, (2006), sinusoid tampak teratur dan tidak tampak adanya akumulasi lemak. Gambaran histopatologi hepar pada tikus hiperkolesterolemia (Gambar 5.1.B) menunjukkan sinusoid nampak tidak teratur dan berukuran lebih besar dibandingkan dengan kelompok A. Inti sel hepar mengalami pergeseran akibat peningkatan akumulasi lemak. Struktur sinusoid nampak tidak teratur dan tampak seperti adanya ruang kosong yang lebar. Degenerasi lemak sel menyebabkan terbentuknya ruang kosong saat pewarnaan HE karena lemak akan hilang akibat proses dehidrasi dengan alkohol sehingga sinusoid pada jaringan hati tampak melebar. Peningkatan akumulasi lemak pada hepar terjadi karena efek samping dari sintesa asam empedu akibat pemberian diet hiperkolesterol. Sintesa asam empedu mengakibatkan peningkatan peroksidasi lipid sehingga aktivitas enzim LPL dalam mengubah

VLDL menjadi IDL mengalami penurunan. VLDL akan mengendap di dalam hepar karena pengeluaran VLDL mengalami penurunan.



Gambar 5.1. Gambaran histopatologi hepar tikus (HE, 400x)

Keterangan gambar:

(A) = kontrol (sehat); (B) = hiperkolesterolemia; (C) = terapi dosis 500 mg/kg BB; (D) = terapi dosis 1000 mg/kg BB; (E) = terapi dosis 2000 mg/kg BB; 1 = sinusoid; 2 = sel hepar normal; 3 = sel hepar yang mengalami perlemakan; VS = vena sentralis

Gambaran histopatologi hepar pada tikus hiperkolesterolemia yang mendapat terapi ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) dosis 500 mg/kg BB (Gambar 5.1.C) menunjukkan adanya perbaikan pada inti sel hepar dan sinusoid mulai terlihat jelas jika dibandingkan dengan kelompok B. Penurunan akumulasi lemak berpengaruh pada struktur sel hepar. Pada dosis ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) 1000 mg/kg BB (Gambar 5.1.D) menunjukkan sel hepar yang mengalami perlemakan lebih sedikit dan sinusoid terlihat lebih jelas dibandingkan kelompok C. Sedangkan pada dosis 2000 mg/kg BB (Gambar 5.1.E) menunjukkan gambaran histopatologi mendekati kelompok tikus sehat (A). Sel hepar yang mengalami perlemakan sangat sedikit dan sinusoid mulai nampak teratur, memancar dari vena sentralis jika dibandingkan kelompok C, dan D.

Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi dosis yang diberikan, jumlah perlemakan pada sel hepar mengalami penurunan. Penurunan akumulasi lemak pada kelompok E lebih tinggi dibandingkan kelompok C, dan D. Hal tersebut terjadi karena kelompok E merupakan dosis tertinggi yang diberikan yaitu 2000 mg/kg BB. Peran flavonoid yang terdapat di dalam ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) mampu mengurangi akumulasi lemak dengan cara menangkal radikal bebas yang berasal dari peroksidasi lipid akibat sintesa asam empedu. Sehingga jalur endogen pengeluaran trigliserida di dalam tubuh tidak terganggu karena peningkatan aktivitas enzim LPL. Pelepasan trigliserida karena peningkatan aktivitas enzim LPL menyebabkan VLDL dapat diubah menjadi IDL sehingga akumulasi VLDL yang mengandung banyak TG di dalam hati dapat berkurang. Semakin banyak antioksidan yang dikonsumsi, akan mempengaruhi efektivitas perbaikan di dalam hepar.

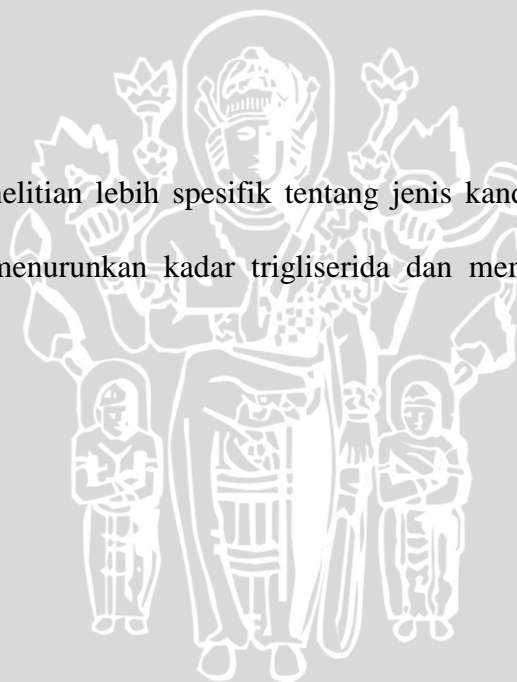
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak air daun sukun menurunkan kadar trigliserida tikus hiperkolesterolemia dan dosis efektif adalah 2000 mg/kg BB yang menurunkan kadar trigliserida sebesar 32,89%.
2. Pemberian ekstrak air daun sukun memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus hiperkolesterolemia.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih spesifik tentang jenis kandungan bioaktif dari daun sukun yang menurunkan kadar trigliserida dan memperbaiki gambaran histopatologi hepar.



DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, S., and Z. K. Beg. 2013. Elucidation of Mechanisms of Actions of Thymoquinone-Enriched Methanolic and Volatile Oil Extracts from *Nigella sativa* Against Cardiovascular Risk Parameters in Experimental Hyperlipidemia. <http://www.lipidworld.com/content/12/1/86>. (09 September 2013).
- Amiria, F. D. 2008. Uji Toksisitas Akut Bahan Obat Herbal "X" Ditinjau dari Nilai LD50 serta Fungsi Hati dan Ginjal Pada Mencit Putih. [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia.
- Aulanni'am. 1993. *Effect Des Fibres duriz Sur Le Profil Lipidique Du Rats Comparison Entre Le Riz Cargo Et Les Fibres du Son*. These USTL. Montpellier, France.
- Banarjee, A., R. Vaghasiya, N. Shrivastawa, H. Padh, and M. Nivsarkar. Anti-hyperlipidemic Effect Of *Carica papaya L.* in Sprague Dawley rats. 2006. *Nig J Nat Prof and Med India*; 10: 69-72.
- Botham, K. M., and P. A. Mayes. 2006. Metabolisme Asilgliserol dan Sfingolipid. In: Murray, R. K., D. K. Granner and V. W. Rodwell (ed). *Biokimia Harper*. EGC. Jakarta p217-37, 329-49.
- Carrjaval, O., S. M. Waliszewski, D. M. Barradas, Z. Orta, H. Jones., C. Nolasco, A. Guerrero., S. Rican., Infaso, and P. R. L. Trujillo. 2005. *The Consumption Of Hibiscus Sabdariffa Dried Calyx Ethanolic Extract Reduced Lipid Profile In Rats*. *Plant Foods for Human Nutrition*. 60: 153-159
- Clarenburg, R. 2001. *Lipid metabolisms, Physiological Chemistry of Domestic Animal*. Amerika: Mosby Year Book.
- Cheng, Z. J., and R. W. Hardy. 2004. Protein And Lipid Sources Affect Cholesterol Concentrations Of Juvenile Pacific White Shrimp, *Litopenaeus Vannamei* (Boone). *J. Anim. Sci.* 82 :1136–1145.
- Dwiloka, B. 2003. *Efek Kolesterolemik Berbagai Telur*. *Media Gizi dan Keluarga* Desember 2003, 27 (2) : 58-65
- Eroschenko, V. P. 2003. *Atlas Histologi di Fiore dengan Korelasi Fungsional*. EGC, Jakarta.
- Gani, N., L.I. Momuat., dan M.M. Pitoi. 2013. Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (*Abelmoschus manihot L.*). *Jurnal Mipa Unsrat 2 (1)*: 44-49.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LAMPIRAN



Lampiran 1. Keterangan Laik Etik

1.1. Keterangan Kelaikan Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK "ETHICAL CLEARENCE"

No: 219-KEP-UB

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

PENELITIAN BERJUDUL : STUDI TERAPI EKSTRAK AIR DAUN SUKUN
(*Artocarpus altilis*) TERHADAP KADAR
MALONDYALDEHIDE (MDA) DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI JEJUNUM PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) HIPERKOLESTEROLEMIA

PENELITI : WANDA ABRIANTO

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 26 Maret 2014
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



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

1.2. Daftar Anggota Kelompok



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



Judul Penelitian : Studi Terapi Ekstrak Air Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Kadar Malondyaldehide (MDA) Dan Gambaran Histopatologi Jejenum Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia.

Ketua Peneliti : Wanda Abrianto (105130101111008)

Anggota Peneliti :

Nurfidza Wafeta Abharina	(105130103111001)
Ismudiono	(105130100111013)
Mugi Paramita Kinasih	(105130100111004)
Johan Dwiantoko	(105130103111004)
Ria Restu Wardhani	(105130101111004)

Ketua


Komisi Etik Penelitian



Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 2. Determinasi Daun Sukun


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

Nomor : 074 / 0230 / 101.8 / 2013
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tumbuhan Sukun**

Memenuhi permohonan saudara :
 Nama : RIA RESTU WARDIANI (105130101111004)
 MU.GI PARAMITA KENASIH (105130100111004)
 WANDA ABRIANTU (105130101111008)
 JOHAN DWANTONO (105130103111001)
 NURFILDZA WAFETA ABHARINA (105130103111001)
 ISMUNDIONO (105130100111013)

Fakultas : Program Doktoran Hewan Universitas Brawijaya Malang

1. Perihal determinasi tumbuhan sukun
 Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
 Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
 Sub Kelas: Dilleniidae
 Ordo : Urticales
 Famili : Moraceae (suku nangka-nangkaan)
 Genus : Artocarpus
 Spesies : Artocarpus communis Forst.
 Sinonim : Artocarpus lacucha L. f.; A. utilis (Park.) Friesberg
 Sumatera Sukun (Aneh) Hatopul (Batak) Aunu (Melayu) Jawa Sukun (Jawa)
 Sakou (Madura) Bali Sukun (Bali) Nusa Tenggara Karara bima (Flores)
 Kunci determinasi : 1b - 2b - 3b-4b - 6b-7b-9b-10b-11b - 12b-13b 14b 15a - 100b
 - 119b - 120a - 121 b - 124 a-1b 2

2. **Morfologi** : Habitus Pohon, tinggi 10-25 m. Batang tegak, berkayu, bulat, percabangan simpodial, coklat. Daun tunggal, tersebar, panjang 40-60 cm, lebar 30-35 cm, tepi bertorek, ujung meruncing, pangkal membulat, pertulangan menjari, daging daun tebal, permukaan licin, tulang daun menonjol, permukaan atas berbulu, hijau, tangkai bulat, panjang 3-4 cm, hijau. Bunga Tunggal, di ketiak daun, tangkai silindris, panjang 2-3 cm, hijau muda, kelopak lonjong, permukaan bagian dalam licin, bagian luar herambur, kehijauan, mahkota lonjong, kuning kehijauan. Buah Buni, lonjong, diameter 6-10 cm, permukaan bergerigi tepul, teratar, bergetah, hijau. Biji Lonjong, pipit, coklat. Akar Tunggang, coklat.

3. **Nama Semplicia** : Artocarpi Foliola/ Daun Sukun


4. **Kandungan** : Daun dan kulit batang mengandung saponin dan polifenol. Daun mengandung : saponin, polifenol, asam hidrasiamat, kalium, phenol, tannin, aseticolin, flavonoid, beta sitosterol dan riboflavin. Buah : protein, lemak, karbohidrat, serat, kalsium, kalium, fosfor, zat besi, karoten, thiamin, riboflavin, niacin dan asam askorbat.

5. **Penggunaan** : Penelitian

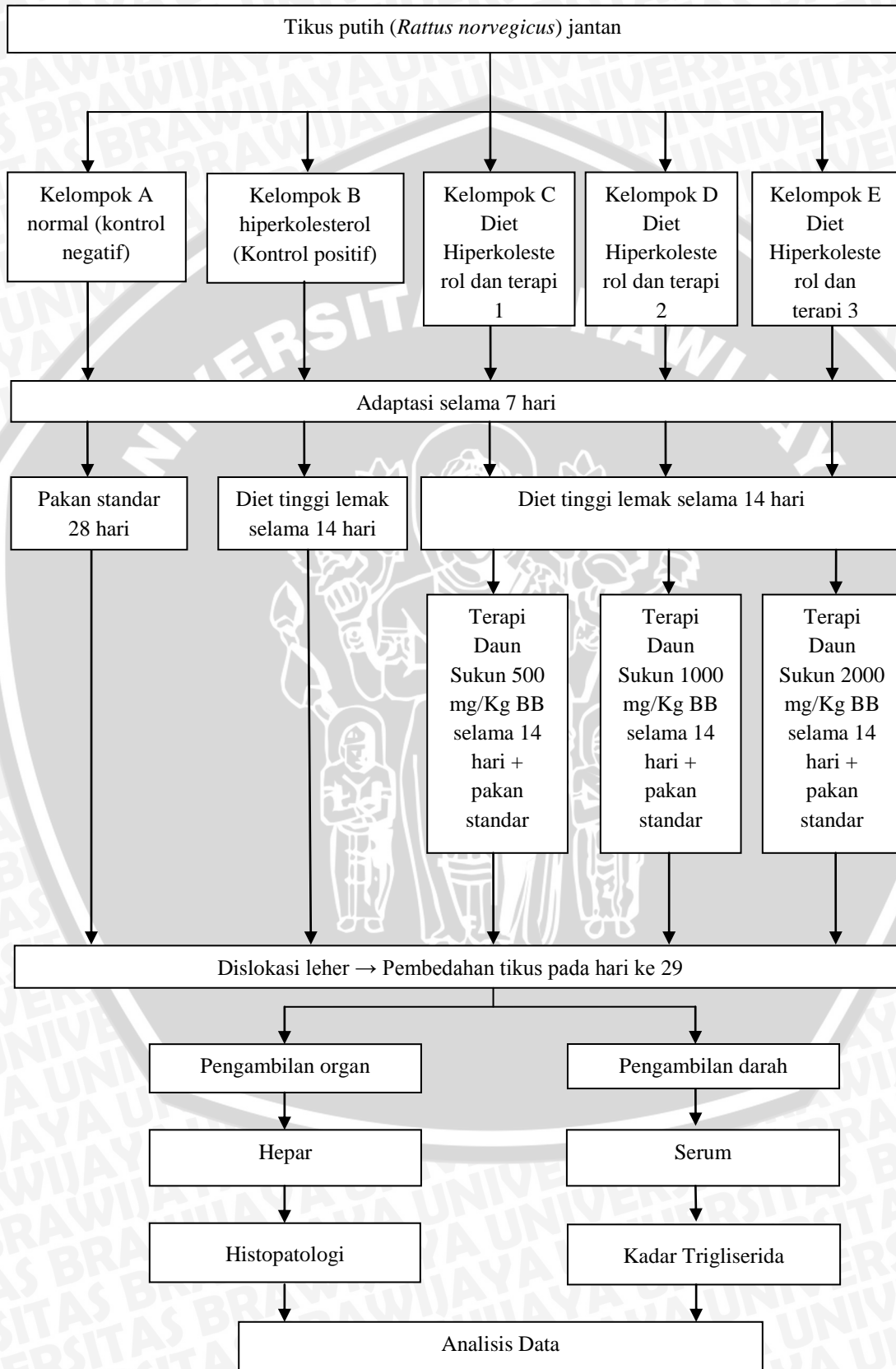
6. **Daftar Pustaka** :

- Anonim, <http://www.plantamor.co.id/sukun>, diakses tanggal 15 desember 2010
- Anonim, <http://www.warintek.ristek.go.id/sukun>, diakses tanggal 1 Desember 2010
- Anni Tarubuan, Lestiani, *Buah Roti Pencuci Darah*, tribus vol.495 february 2012/XLIII, hal 92-93
- Steenis,CGGJ Van Er, *FIJARA*, 2008, Pradya Paramita, Jakarta
- Syamsuhidayat, Sri sugati, Haryono, Jobay Rini.1991. *Inventaris Tumbuhan Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
- Nur Apriyanti ,Rosy, *Daun sukun vs ginjal, hepatitis dan.....*, tribus vol 509. April 2012/XLIII, hal 13-17.

Demikian determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 25 September 2013
 Kepala UPT Materia Medica Batu

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

Lampiran 3. Skema Penelitian



Lampiran 4. Analisa Proksimat Pakan

4.1. Kandungan Zat Makanan



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

Nomor : 450 /UN.10.5.52./Lab.-1/2013
 Perihal : Hasil Analisa

Yth. : Sdr. Ismundiono
 Mhs. PKH UB
 Malang

Hasil analisis Laboratorium

Tanggal Terima Sampel	No	Kode Bahan	Kandungan Zat Makanan				
			Bahan Kering (%)	Abu* (%)	Protein Kasar* (%)	Serat Kasar* (%)	Lemak Kasar* (%)
24-10-2013	1.	Pakan Normal	86,68	8,82	18,92	6,57	3,92
	2.	Pakan hiperkolesterol	82,99	6,89	17,12	5,45	15,51

*) Berdasarkan 100 % bahan kering

Mengetahui
 Ketua Bagian NMT

Dr.Ir. Osfar Sjojfan, MSc
 NIP 19600422 198811 1 001

Malang, 08 Nopember 2013

Ketua Lab. NMT

Heli Tistiana, S.Pt., MP
 NIP 19740826 200812 2 001

4.2. Analisa Kadar Kolesterol



LABORATORIUM BIOKIMIA NUTRISI
 BAGIAN NUTRISI DAN MAKANAN TERNAK
 FAKULTAS PETERNAKAN UGM

No : 135/HA/BIO/XI/2013
 Kepada Yth : Sdr. Ismudiyono
 Di Tempat

HASIL ANALISIS BAHAN

No	Nama Bahan	Kadar kolesterol (mg/100g)
	Cairan rumen dengan kode:	
1	Pakan normal	56,226
2	Pakan hipo-kolesterol	124,896

Yogyakarta, 20 November 2013

Analisis 1

Rina Ispitasari, AMAK

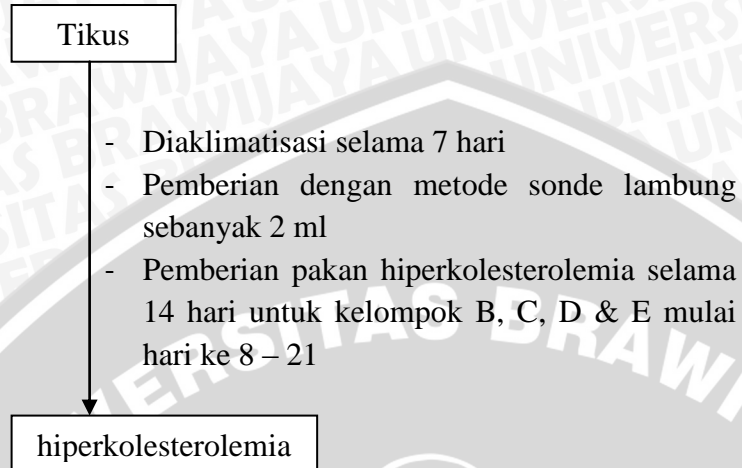
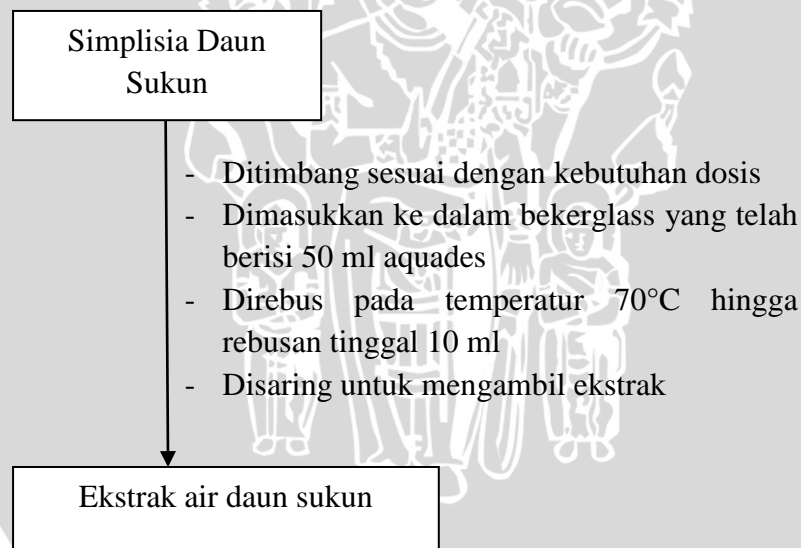
Analisis 2

Retno Setyawati, S.Pt

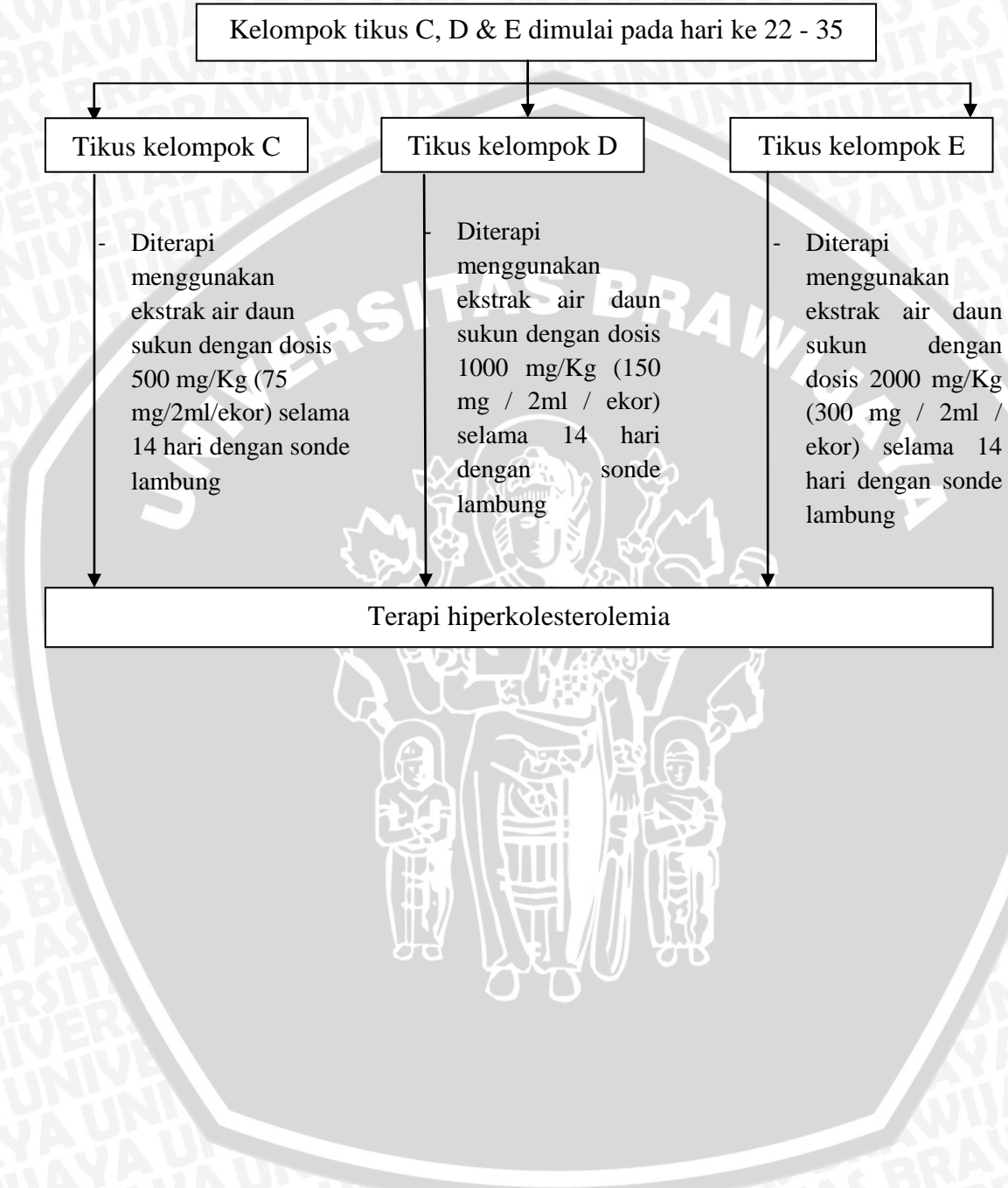
Mengertahui,
 Kepala Laboratorium Biokimia Nutrisi
 Fakultas Peternakan UGM

Dr. Ir. Suparmono, MS
 NTP: 19530806 1978 031002



Lampiran 5. Diagram Alir**a. Diet tinggi lemak (preparasi hewan model hiperkolesterolemia)****b. Preparasi Ekstrak Air Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)**

c. Terapi Ekstrak Air Daun Sukun (*Artocapus altilis*)



Lampiran 6. Pembuatan Ekstrak Air Daun Sukun

a. Kelompok C (Dosis terapi = 500 mg/kg)

Contoh:

BB 1 ekor tikus = 150 g

$$\text{Dosis Terapi} = \frac{500 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times \frac{C}{150 \text{ g}}$$

$$\frac{150 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 500 \text{ mg}$$

$$C = 75 \text{ mg}$$

Perhitungan volume (dalam 2 ml terdapat 75 mg):

- Untuk 1 kelompok = Daun Sukun kering \times jumlah tikus \rightarrow 50 ml
 - = 75 mg \times 5 \rightarrow 50 ml
 - = 375 mg \rightarrow 50 ml (direbus dengan waterbath)
 - = 375 mg \rightarrow 10 ml
 - = 75 mg \rightarrow 2 ml

Jadi berat kering daun sukun yang dibutuhkan untuk kelompok C

Dosis pemberian \times Jumlah tikus

$$= 75 \text{ mg/ekor} \times 5 \text{ ekor}$$

$$= 375 \text{ mg}$$

b. Kelompok D (Dosis terapi = 1000 mg/kg)

Contoh:

BB 1 ekor tikus = 150 g

$$\text{Dosis Terapi} = \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times \frac{D}{150 \text{ g}}$$

$$\frac{150 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 1000 \text{ mg}$$

$$D = 150 \text{ mg}$$

Perhitungan volume (dalam 2 ml terdapat 150 mg):

- Untuk 1 kelompok = Daun Sukun kering \times jumlah tikus \rightarrow 50 ml
 - = 150 mg \times 5 \rightarrow 50 ml
 - = 750 mg \rightarrow 50 ml (direbus dengan waterbath)
 - = 750 mg \rightarrow 10 ml
 - = 150 mg \rightarrow 2 ml

Jadi berat kering daun sukun yang dibutuhkan untuk kelompok D

Dosis pemberian \times Jumlah tikus

$$= 150 \text{ mg/ekor} \times 5 \text{ ekor}$$

$$= 750 \text{ mg}$$

c. Kelompok E (Dosis terapi = 2000 mg/kg)

Contoh:

$$\text{BB 1 ekor tikus} = 150 \text{ g}$$

$$\text{Dosis Terapi} = \frac{2000 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times \frac{E}{150 \text{ g}}$$

$$\frac{150 \text{ g}}{1000} \times 2000 \text{ mg}$$

$$E = 300 \text{ mg}$$

Perhitungan volume (dalam 2 ml terdapat 300 mg):

- Untuk 1 kelompok = Daun Sukun kering \times jumlah tikus \rightarrow 50 ml
 - = 300 mg \times 5 \rightarrow 50 ml

= 1500 mg → 50 ml (direbus dengan waterbath)

= 1500 mg → 10 ml

= 300 mg → 2 ml

Jadi berat kering daun sukun yang dibutuhkan untuk kelompok E

Dosis pemberian x Jumlah tikus

= 300 mg/ekor x 5 ekor

= 1500 mg



Lampiran 7. Preparasi Hewan Model Hiperkolesterolemia

Pemberian diet hiperkolesterolemia pada kelompok B, C, D, dan E dilakukan selama 14 hari. Komposisi pembuatan diet hiperkolesterolemia adalah asam kholat 0,1%, minyak babi 10%, kuning telur puyuh rebus 5% dan pakan standar 84,9% dari 20% total pakan per hari. Berikut komposisinya:

- Asam kholat = $0,1 \% \times 20 \text{ g} = 0,02 \text{ g}$
- Minyak babi = $10 \% \times 20 \text{ g} = 2 \text{ g}$
- Kuning telur puyuh rebus = $5\% \times 20 \text{ g} = 1 \text{ g}$
- Aquades
- Pakan standar = $84,9 \% \times 20 \text{ g} = 16,98 \text{ g}$

Pembuatan pakan diet hiperkolesterol dilakukan setiap hari agar pakan tidak tengik dan berjamur.

Diagam:

asam kholat 0,02 gam, minyak babi 2 g dan kuning telur puyuh 1 g.

- Dicampurkan hingga homogen
- Ditambahkan aquades hingga 2 ml
- Diet hiperkolesterol yang diberikan 3,02 g/2ml/ekor
- Disondekan kedalam lambung tikus
- Diberi pakan standar 16,98 g 1 jam setelah sonde lambung

Tikus
Hiperkolesterolemia

Lampiran 8. Tabel Kadar Trigliserida *Post Examination*

Kelompok	Kadar Trigliserida					Rata-rata	SD
Normal	96,899	94,315	98,450	94,574	99,742	96,7960	2,37265
Hiperkolesterol	188,630	195,866	193,798	190,181	199,483	193,5916	4,80092
Kelompok C (terapi dosis 500 mg/kg BB)	168,992	173,127	167,959	167,442	169,509	169,4058	4,57866
Kelompok D (terapi dosis 1000 mg/kg BB)	158,656	163,307	154,005	155,556	151,421	156,5890	2,23489
Kelompok E (terapi dosis 2000 mg/kg BB)	131,783	134,884	128,165	132,300	122,481	129,9226	4,36388

Lampiran 9. Data Dan Uji Statistik Kadar Trigliserida

9.1. Data Kadar Trigliserida

KELOMPOK	SAMPEL	KADAR TRIGLISERIDA (mg/dl)
1	1	96,899
1	2	94,315
1	3	98,450
1	4	94,574
1	5	99,742
2	6	188,630
2	7	195,866
2	8	193,798
2	9	190,181
2	10	199,483
3	11	168,992
3	12	173,127
3	13	167,959
3	14	167,442
3	15	169,509
3	16	158,656
4	17	163,307
4	18	154,005
4	19	155,556
4	20	151,421
5	21	131,783
5	22	134,884
5	23	128,165
5	24	132,300
5	25	122,481

Keterangan:

Kelompok A (Kontrol Negatif) = Sampel 1-5

Kelompok B (Kontrol Positif) = Sampel 6-10

Kelompok C (Terapi dosis 500 mg/kg BB) = Sampel 11-15

Kelompok D (Terapi dosis 1000 mg/kg BB) = Sampel 16-20

Kelompok E (Terapi dosis 2000 mg/kg BB) = Sampel 21-25

Tabel 9.1 Tabel Uji Normalitas Data Kadar Triglicerida

Tests of Normality							
	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai	1	,225	5	,200*	,916	5	,507
	2	,183	5	,200*	,968	5	,860
	3	,282	5	,200*	,863	5	,239
	4	,189	5	,200*	,971	5	,880
	5	,251	5	,200*	,926	5	,572

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

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 9.2 Uji ANOVA Kadar Triglicerida

ANOVA					
Nilai					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27756,323	4	6939,081	470,890	,000
Within Groups	294,722	20	14,736		
Total	28051,045	24			

Tabel 9.3 Uji Tukey Kadar Triglicerida

Nilai						
Tukey HSD ^a						
Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1,00	5	96,79600				
5,00	5		129,92260			
4,00	5			156,58900		
3,00	5				169,40580	
2,00	5					193,59160
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

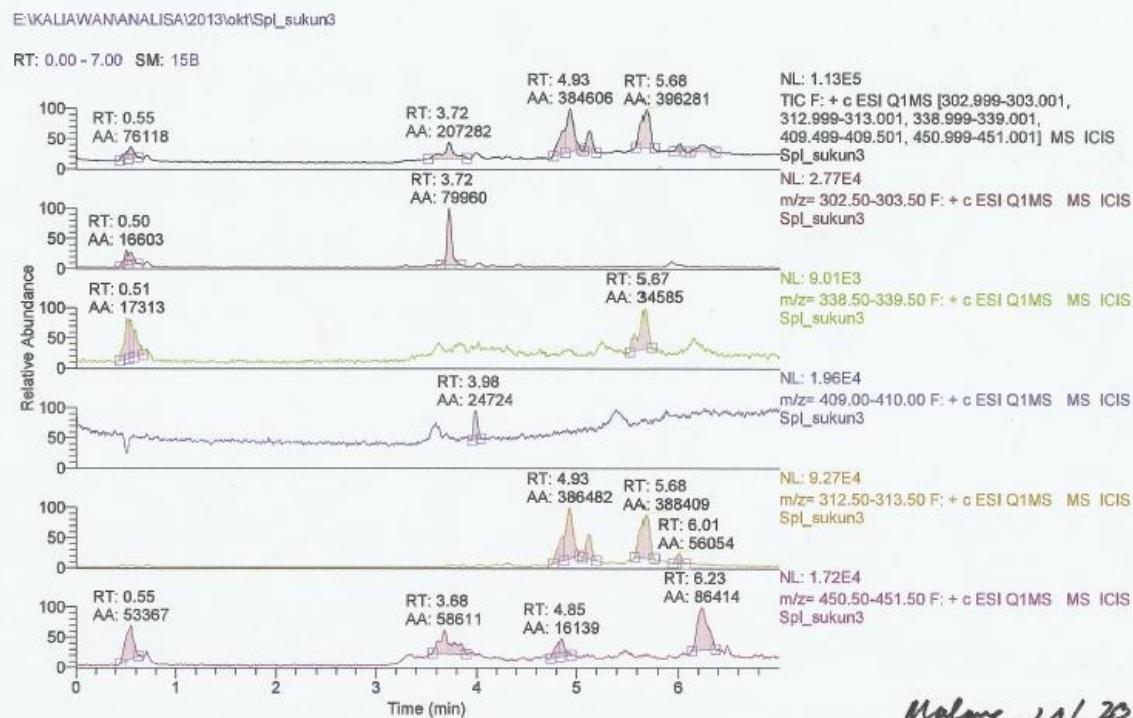
Tabel 9.4 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Nilai	Based on Mean	1,266	4	20	,316
	Based on Median	,665	4	20	,624
	Based on Median and with adjusted df	,665	4	13,363	,627
	Based on trimmed mean	1,233	4	20	,328



Lampiran 10. Hasil Uji LCMS Kandungan Flavonoid Daun Sukun



Keterangan:

BM Kuersetin

Dihydrate= 302,50

BM Kuersetin = 338,50

BM DS6 = 409

BM Artoindosianin F= 312,50

BM Cycloaltilisin= 450,50

*BM= Berat molekul

Malang, 7/10/2013
[Signature]
 Kaliawan