

**STUDI KADAR ALBUMIN DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS (*Rattus
norvegicus*) HIPERKOLESTEROLEMIA DENGAN
TERAPI EKSTRAK DAUN SUKUN
(*Artocarpus altilis*)**

SKRIPSI

Oleh :

ISMUNDIONO

105130100111013



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

**STUDI KADAR ALBUMIN DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS (*Rattus
norvegicus*) HIPERKOLESTEROLEMIA DENGAN
TERAPI EKSTRAK DAUN SUKUN
(*Artocarpus altilis*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

ISMUNDIONO

105130100111013



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

LEMBAR PENGESAHAN

Studi Kadar Albumin dan Gambaran Histopatologi Tikus (*Rattus norvegicus*) Hipercolesterolemia dengan Terapi Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Oleh :
ISMUNDIONO
105130100111013

Setelah dipertahankan di depan Majelis Pengaji
pada tanggal
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

Dr. Agung Pramana W M, M.Si
NIP.19650616 199111 1 001

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

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

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ismundiono

NIM : 105130100111013

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis skripsi berjudul:

STUDI KADAR ALBUMIN DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGIS GINJAL PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)
HIPERKOLESTEROLEMIA DENGAN TERAPI EKSTRAK 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 tercantum 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 risiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 1 Desember 2014

Ismundiono

NIM : 105130100111013

Studi Kadar Albumin dan Gambaran Histopatologi Ginjal pada
Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia dengan
Terapi Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

ABSTRAK

Hiperkolesterolemia merupakan kondisi peningkatan kadar kolesterol darah. Hiperkoesterolemia dapat berkembang menjadi inflamasi dan kerusakan endotel ginjal yang menyebabkan albuminuria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sukun dalam menaikkan kadar albumin darah dan memperbaiki gambaran histopatologi ginjal tikus hiperkolesterolemia. Hewan coba yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dan dibagi 5 kelompok perlakuan. Kelompok A kontrol negatif, kelompok B kontrol positif, kelompok C, D dan E kelompok terapi dengan dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB. Diet hiperkolesterol diberikan selama 14 hari dan terapi diberikan selama 14 hari berikutnya. Variabel yang diamati adalah kadar albumin darah dan gambaran histopatologi ginjal. Kadar albumin darah dianalisa secara kuantitatif dengan ragam analisa ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *Tukey* ($\alpha=0,05$). Hasil penelitian menunjukkan terapi ekstrak daun sukun menaikkan kadar albumin darah secara signifikan ($p < 0,05$). Dosis terapi 2000 mg/kg BB meningkatkan kadar albumin darah tertinggi yaitu sebesar 31,95 %. Gambaran histopatologi ginjal kelompok A menunjukkan gambaran normal dan kelompok B ditemukan edema dan inflamasi. Pada kelompok C, D dan E terjadi penurunan inflamasi dan tidak terjadi edema. Kesimpulan dari penelitian ini adalah terapi ekstrak daun sukun meningkatkan kadar albumin darah dan memperbaiki gambaran histopatologi ginjal tikus hiperkolesterolemia.

Kata kunci : Hiperkolesterolemia, Albumin, Ginjal, *Artocarpus altilis*, *Rattus norvegicus*

Study of Albumin Levels and Renal Histopathology Preview on Hypercholesterolemia Rat (*Rattus norvegicus*) with Therapy of Breadfruit Leaf (*Artocarpus altilis*) Extract

ABSTRACT

Hypercholesterolemia is a condition of increased blood cholesterol level. Hypercholesterolemia evolve into kidney inflammation and endothelial damage which causes albuminuria. That research aimed to determine that the breadfruit leaf extract to increase blood albumin levels and improve renal histopathology hypercholesterolemic rats. Experimental animals used male rats (*Rattus norvegicus*) which divided into 5 groups, were negative control (A), positive control (B), group C, D and E as treatment groups with dose of 500 mg/kg BW, 1000 mg/kg BW and 2000 mg/kg BW, respectively. Hypercholesterol diet were given during fourteen days and the treatment given during the next fourteen days. The variables measured were blood albumin levels and renal histopathology. Blood albumin levels were analyzed with ANOVA followed by Tukey's test ($\alpha = 0.05$). The results showed breadfruit leaf extract therapy significantly increased the blood albumin levels ($p < 0.05$). The dose of 2000 mg/kg BW is maximum dose that increased blood albumin level of 31.95%. Renal histopathology representation of Group A showed a normal and found edema and inflammation in group B. There were inflammation reduced and edema did not appear in group C, D and E. It can be concluded that breadfruit leaf extract therapy increased blood albumin levels and improved renal histopathology representation of hypercholesterolemic rats.

Keywords : Hyperkolesterolemia, Albumin, Renal, *Artocarpus altilis*, *Rattus norvegicus*



KATA PENGANTAR

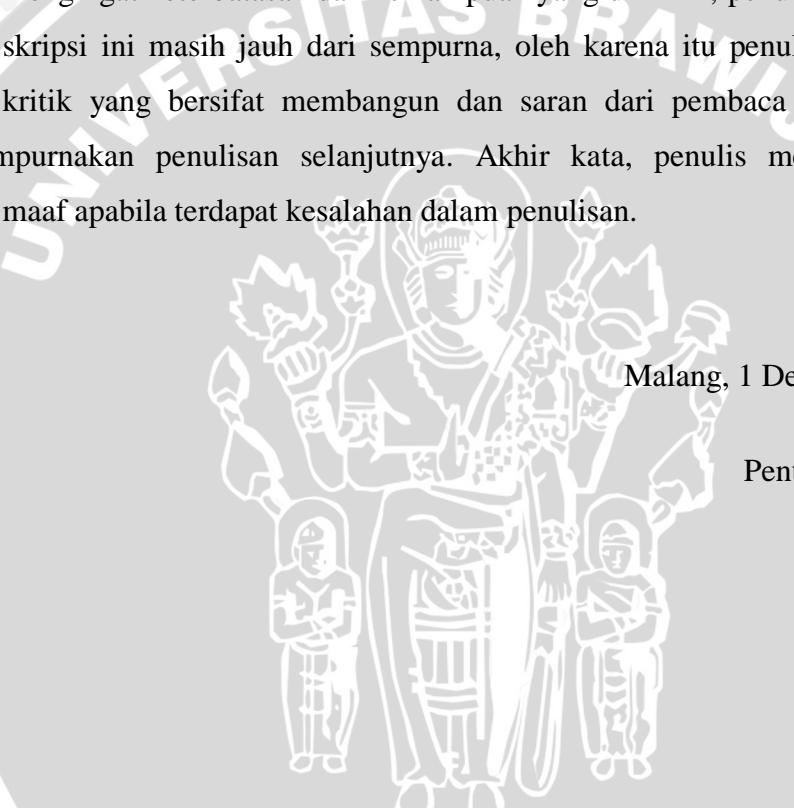
Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat Rahmat dan Anugrah-Nya sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Studi Kadar Albumin dan Gambaran Histopatologi Ginjal pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia dengan Terapi Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)”. Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr Aulanni'am, drh., DES. selaku dosen pembimbing I dan Ketua Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya yang selalu membantu penulis dalam menaungi, mengarahkan, memberi bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu yang telah diberikan serta dukungan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan skripsi ini.
2. Dr. Agung Pramana W M, M.Si selaku dosen pembimbing II dan Ketua Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya yang selalu mengarahkan, memberi bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan serta dukungan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan skripsi ini.
3. Dyah Kinasih Wuragil, S.Si., MP., M.Si. selaku penguji I yang memberikan masukan serta arahan kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
4. Drh., Herlina Pratiwi, M.Si. selaku penguji II yang memberikan masukan serta arahan kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
5. Seluruh staf dan petugas Laboratorium Fisiologi Hewan dan Laboratorium Biokimia fakultas MIPA Universitas Brawijaya yang telah membantu pelaksanaan penelitian.
6. Seluruh staf dan petugas Laboratorium Patologi RS Dr Soetomo yang telah membantu pelaksanaan penelitian.
7. Ria Restu Wardani, Mugi Paramita K., Wanda Abrianto, Johan Dwiantoko dan Nurfieldza Wafeta A atas kerja sama, diskusi dan dukungannya serta Fanny R atas bimbingannya.
8. Bapak, Ibu serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan doa, kasih sayang, dan dukungan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.



9. Lita Indri Dian Lestari atas masukan, diskusi, dukungan semangat dan dorongan hingga penulis menyelesaikan skripsi ini.
10. Kolega Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, Khususnya angkatan 2010 dan rekan-rekan asisten praktikum anatomi yang selalu memberikan dorongan, semangat, inspirasi dan keceriaan.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Mengingat keterbatasan dan kemampuan yang dimiliki, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis menerima segala kritik yang bersifat membangun dan saran dari pembaca untuk dapat menyempurnakan penulisan selanjutnya. Akhir kata, penulis menyampaikan mohon maaf apabila terdapat kesalahan dalam penulisan.



Malang, 1 Desember 2014

Penulis



	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kolesterol	5
2.2 Transport Kolesterol	5
2.3 LDL Teroksidasi	6
2.4 Mekanisme Hiperkolesterol	7
2.5 Mekanisme Proteinuria	8
2.6 Hipoalbumenia	9
2.7 Histopatologi Ginjal Pada Hiperkolesterol	9
2.8 Hewan Model Hiperkolesterol	11
2.9 Daun Sukun.....	12
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	14
3.1 Kerangka Konseptual	14
3.2 Hipotesis Penelitian	17
BAB 4. METODE PENELITIAN	18
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	18
4.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	18
4.3 Tahapan Penelitian.....	19
4.4 Prosedur Kerja	19
4.5 Analisa Data.....	26
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
BAB 6. PENUTUP	35
6.1 Kesimpulan	35
6.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN.....	40



Daftar Tabel

DAFTAR TABEL

Halaman	
29	4.1 Rancangan Penelitian
28	5.1 Rata-rata kadar albumin darah



DAFTAR GAMBAR

Gambar

Halaman

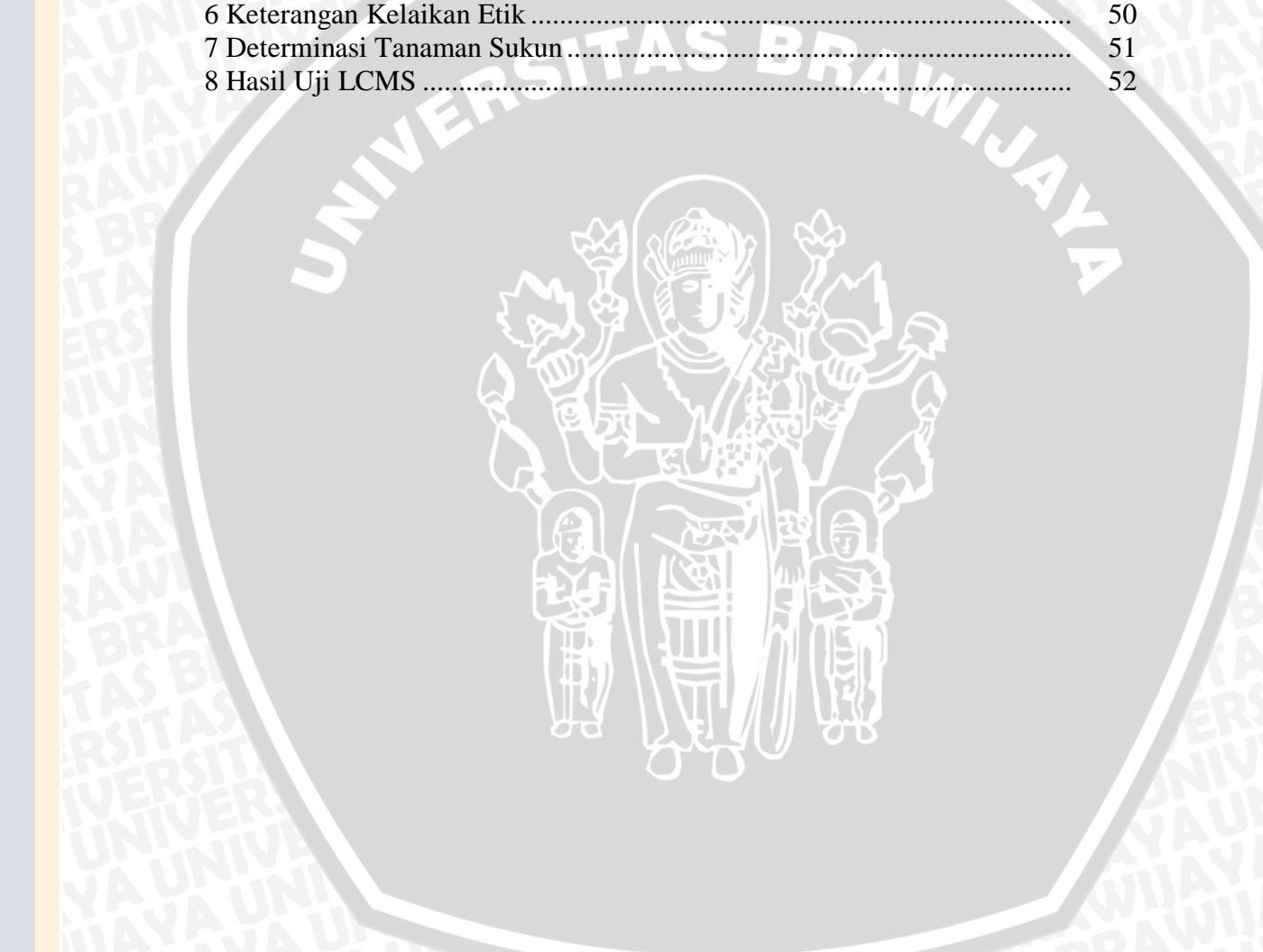
2.1 Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus	10
2.2 Tanaman Sukun.....	13
3.1 Kerangka Konseptual	16
5.1 Hitopatologi Ginjal Tikus	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

	Halaman
1 Alur Penelitian	41
2 Preparasi Hewan Model Hiperkolesterolemia	42
3 Hasil Uji Kolesterol Pakan.....	49
4 Pembuatan Ekstrak Daun Sukun.....	43
5 Hasil Uji statistika dengan SPSS ver. 22.0	46
6 Keterangan Kelaikan Etik	50
7 Determinasi Tanaman Sukun	51
8 Hasil Uji LCMS	52



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Simbol/singkatan	Keterangan
μL	mikroliter
ANOVA	<i>analisis of varian</i>
BB	Berat Badan
BCG	<i>Bromcresol Green</i>
C	<i>Celcius</i>
dL	desiliter
g	gram
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
HE	<i>hematoksilin eosin</i>
ICAM-1	<i>Inter Cellular Adhesion Molecule -1</i>
IDL	<i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
IL	<i>Interleukin</i>
kg	kilogram
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LPL	<i>Lipoprotein Lipase</i>
mg	miligram
mL	mililiter
NaCl	Natrium Chlorida
nm	nanometer
NO	Nitrit Oxide
PFA	<i>Paraformaldehyde</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
rpm	<i>Rotation per Minute</i>
SPSS	<i>Statistical Product and Service Solutions</i>
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
VCAM-1	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule -1</i>
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Survei terhadap 100 anjing dan kucing dewasa yang dilakukan pada tahun 2003 menyebutkan 1 dari 3 anjing dan kucing mengalami obesitas. Prevalensi obesitas yang lebih tinggi ditunjukkan oleh anjing setengah baya. Hampir 50% anjing dan kucing yang berusia antara 5 hingga 10 tahun mengalami obesitas (Laflamme, 2012). Penderita obesitas memiliki resiko tiga kali lebih besar untuk menderita hiperkolesterolemia dibanding hewan dengan berat badan ideal. Hiperkolesterolemia merupakan suatu kondisi dimana kadar kolesterol dalam darah berada di atas batas normal (Groff *et al.*, 1995). Nilai normal kolesterol dalam darah yaitu 120-250 mg/dL untuk anjing, 70-200 mg/dL untuk kucing, dan 100-140 mg/dL untuk tikus (Smith, 1998). Kucing atau anjing dapat mengalami hiperkolesterolemia, namun anjing lebih rentan terhadap hiperkolesterolemia (Thomason *et al.*, 2007).

Hiperkolesterolemia dapat berkembang menjadi kerusakan pada pembuluh arteri. Pada kondisi hiperkolesterolemia, *low density lipoprotein* (LDL) berada di atas normal dan mudah masuk ke dalam intima pembuluh darah. LDL yang masuk ke dalam intima akan menarik monosit memasuki intima dan berdeferensiasi menjadi makrofag. Masuknya monosit ke dalam intima pembuluh darah mengakibatkan kerusakan endotel pembuluh dadah yang dapat berkembang menjadi aterosklerosis. Aterosklerosis pada arteri ginjal menyebabkan naiknya permeabilitas ginjal (Vodjani, 2003). Pada kondisi normal albumin tidak dapat

bebas melewati ginjal, namun pada kondisi hiperkolesterolemia albumin dapat melewati endotel ginjal (Littman *et al.*, 2000).

Salah satu obat yang banyak digunakan sebagai penurun kolesterol adalah statin. Statin bekerja dengan melebarkan pembuluh darah dan menurunkan kadar kolesterol, namun penggunaan statin dalam jangka panjang dapat menyebabkan takikardi, gangguan fungsi hepar dan kegagalan ginjal. Cara lain mengendalikan hiperkolesterolemia adalah dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung antioksidan. Antioksidan dapat mengikat radikal bebas dalam tubuh dan mencegah terjadinya oksidasi LDL (Wresdiyati dkk., 2007).

Sukun (*Artocarpus altilis*) adalah tumbuhan dari famili moraceae yang banyak tumbuh di Indonesia. Buah dan kayu tanaman ini memiliki nilai ekonomi, sementara daun sukun masih kurang dimanfaatkan. Penyebaran tanaman ini hampir merata di seluruh Indonesia, terutama Jawa Tengah dan Jawa Timur. Meratanya penyebaran sukun di sebagian besar kepulauan Indonesia, serta minimnya serangan hama dan penyakit yang membahayakan pada tanaman ini, memungkinkan sukun untuk dikembangkan (Ramdhani, 2009).

Sukun (*Artocarpus altilis*) memiliki beberapa kandungan kimia yang berkhasiat sehingga dapat digunakan sebagai obat alami. Kandungan-kandungan tersebut diantaranya saponin, polifenol, asam hidrosianat, asetilkolin, tanin, riboflavin, fenol. Daun tanaman ini juga mengandung kuersetin, champorol dan artoindonesianin. Artoindonesianin dan kuersetin merupakan senyawa turunan dari flavonoid (Dukacinaova *et al.*, 2008).

Kandungan flavonoid, saponin dan tanin diyakini dapat menurunkan kadar kolesterol total dan LDL dalam darah melalui peningkatan ekskresi asam empedu karena memiliki efek antioksidan untuk mencegah terjadinya oksidasi LDL dan reaksi inflamasi (Lamanepa, 2005). Dalam penelitian ini akan dipelajari pengaruh lanjut ekstrak daun sukun pada tikus hiperkolesterolemia dalam kaitannya dengan proses inflamasi yang terjadi pada ginjal dan kadar albumin dalam darah.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) menaikkan kadar albumin darah tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia?
2. Apakah terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) memperbaiki gambaran histopatologi ginjal 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 dengan umur 8-12 minggu yang didapat dari UPHP Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dengan berat antara 130 – 180 gram. Penggunaan hewan coba telah mendapat surat keterangan Laik Etik dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Brawijaya Nomor 219-KEP-UB (**Lampiran 6**).
- 2) Pembuatan keadaan hiperkolesterolemia pada hewan model tikus dilakukan dengan cara induksi diet hiperkolesterol yang dilakukan selama 14 hari (Gani, 2013).



- 3) Daun sukun diperoleh dari Balai Materia Medica Kota Batu yang telah di determinasi (**Lampiran 7**).
- 4) Dosis terapi ekstrak daun sukun adalah 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB selama 14 hari.
- 5) Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar albumin darah dengan uji spektrofotometri dan gambaran histopatologi ginjal menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).

1.4 Tujuan Penelitian

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

1. Mengetahui bahwa terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) menaikkan albumin darah tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia.
2. Mengetahui bahwa terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) memperbaiki gambaran histopatologi ginjal tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan pengetahuan tentang obat herbal di Indonesia serta sebagai referensi terhadap perkembangan pengetahuan obat herbal selanjutnya.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kolesterol

Kolesterol adalah suatu zat lemak yang secara alami terdapat pada hewan.

Kolesterol digunakan untuk membentuk membran sel, memproduksi hormon seks dan membentuk asam empedu yang diperlukan untuk mencerna lemak. Namun bila kadar kolesterol di dalam darah terlalu tinggi akan terjadi aterosklerosis pada arteri (Vella *et al.*, 2001). Hiperkolesterolemia dilaporkan terjadi sekitar 25% sampai 44% pada anjing di negara-negara barat (Jeusette *et al.*, 2006).

Kolesterol digolongkan dalam dua kelompok, eksogen dan endogen. Kolesterol endogen merupakan kolesterol yang dibentuk dalam sel tubuh. Kolesterol eksogen merupakan kolesterol yang diabsorbsi dari *intestine* (Guyton and Hall, 2006).

2.2 Transport Kolesterol

Lipid yang diserap pada *intestine* diangkut ke berbagai jaringan dalam bentuk lipoprotein. Terdapat empat kelompok utama lipoprotein, yaitu: kilomikron, *very low density lipoprotein* (VLDL), *low density lipoprotein* (LDL) dan *high density lipoprotein* (HDL). Kilomikron merupakan lipoprotein yang mengangkut lipid dari penyerapan dalam *intestine*; VLDL mengangkut triasilglicerol dari hati; LDL menyalurkan kolesterol ke jaringan, dan HDL membawa kolesterol dari jaringan dan mengembalikannya ke hati untuk diekskresikan dalam proses yang dikenal sebagai transpor kolesterol terbalik (*reverse cholesterol transport*). Terdapat 2 mekanisme dalam transport kolesterol, yaitu transport endogen dan eksogen (Murray *et al.*, 2003).



2.2.1 Transport Endogen

Lipid yang dibiosintesis dalam hati dirakit dalam bentuk VLDL dan dibawa aliran darah. Pada aliran darah, triasilglicerol dalam VLDL akan terhidrolisis oleh *lipoprotein lipase* (LPL) menghasilkan asam lemak dan gliserol. Asam lemak berdifusi memasuki jaringan, sendangkan gliserol dan sebagian kecil asam lemak terus beredar bersama darah. Hidrolisis mengakibatkan VLDL menyusut dan menjadi IDL yang kemudian mengalami hidrolisis lanjut sehingga trigliserolnya semakin berkurang dan menyusut hingga menjadi LDL (Mayes *et al.*, 1995).

2.2.2 Transport Eksogen

Triasilglicerol, kolesterol ester, fosfolipid dan kolesterol yang diserap dalam intestine akan dirakit menjadi kilomikron dan masuk dalam sistem sirkulasi. Kilomikron akan dibawa ke hati melalui *vena porta hepatica*. Kilomikron akan terhidrolisis dan membentuk VLDL yang kemudian dibawa sistem sirkulasi menuju jaringan. Pada kapiler, triasilglicerol dalam VLDL dihidrolisis oleh LPL menghasilkan asam lemak dan gliserol. Sisa VLDL biasa disebut IDL dan akan mengalami hidrolisis lanjut hingga menjadi LDL (Mayes *et al.*, 1995).

2.3 LDL Teroksidasi

Low density lipoprotein (LDL) teroksidasi adalah istilah yang digunakan untuk mengidentifikasi LDL yang telah mengalami modifikasi melalui reaksi oksidasi hingga tidak dapat dikenali oleh LDL reseptor di hepar. Oksidasi LDL terjadi karena adanya *reactive oxygen spesies* (ROS), yaitu golongan radikal bebas berupa oksigen yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal bebas dapat berasal dari endogen berupa hasil metabolisme sel normal atau berasal

dari sumber eksogen (Fukai *et al.*, 2002). Oksidasi LDL dapat terjadi melalui dua jalan, yaitu oksidasi lipid dan oksidasi apoprotein. Oksidasi lipid meliputi oksidasi asam lemak dan oksidasi kolesterol. Oksidasi asam lemak diinisiasi oleh radikal bebas hidroksil yang memisahkan hidrogen pada gugus metilen asam lemak yang dekat dengan ikatan rangkap. Oksidasi asam lemak juga dapat terjadi pada asam lemak pada rantai fosfolipid. Oksidasi asam lemak menghasilkan radikal lipid. Radikal lipid dapat bereaksi dengan hidrogen pada gugus metilen asam lemak di sekitarnya dan memicu reaksi berantai (Javitt, 2008). Oksidasi pada kolesterol akan menghasilkan oxysterol. Oksidasi kolesterol dapat terjadi karena ROS memisahkan hidrogen dan mengganti dengan gugus OH membentuk gugus hidroxy (Navab *et al.*, 2001). Oksidasi pada komponen protein dapat terjadi dengan oksidasi protein Apo B. Apo B berperan dalam pengikatan LDL oleh reseptor LDL hepar. Perubahan struktur Apo B mengakibatkan LDL tidak dikenali oleh hepar (Jairam *et al.*, 2012).

2.4 Mekanisme Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia merupakan suatu kondisi dimana kadar kolesterol dalam darah berada di atas batas normal (Groff, 1995). Nilai normal kolesterol pada hewan yaitu 120-250 mg/dL untuk anjing, 70-200 mg/dL untuk kucing, dan 100-140 mg/dL untuk tikus. Kucing atau anjing dapat mengalami hiperkolesterolemia, namun anjing lebih rentan terhadap hiperkolesterolemia (Laflamme, 2012).

Sisa LDL dalam darah akan dibawa kembali menuju hepar untuk disintesa menjadi asam empedu. Tingginya *intake* kolesterol menyebabkan terdapat banyak sisa kolesterol dalam LDL. Sisa kolesterol yang terlalu banyak tidak mampu dibawa



kembali ke hepar oleh HDL. Apabila terpapar radikal bebas LDL akan teroksidasi. dan memicu respons inflamasi. Respon inflamasi terlihat dari aktivasi sel endothel, leukosit, dan monosit. Leukosit akan muncul di sepanjang lumen dan dinding sel pembuluh darah sehingga meningkatkan permeabilitas pembuluh darah (Lowery, 2005).

2.5 Mekanisme Proteinuria

Hiperkolesterolemia dapat berkembang menjadi aterosklerosis. Arterosklerosis merupakan penyempitan pembuluh darah. Arterosklerosis dapat terjadi pada seluruh pembuluh darah, terutama di jantung, otak, ginjal, dan mata. Aterosklerosis menyebabkan stroke bila terjadi pada otak, menyebabkan penyakit jantung koroner bila terjadi pada jantung dan menyebabkan proteinuria bila terjadi pada ginjal (Vodjani, 2003).

Proses aterosclerosis pada ginjal diawali dengan terjadinya reaksi inflamasi pada kapiler ginjal. Reaksi inflamasi dipicu oleh adanya LDL yang mudah menempel dan menumpuk pada pembuluh darah. Penumpukan LDL teroksidasi mengakibatkan pengaktifan sel monosit. Sel monosit akan memasuki intima kapiler dan menempel pada endotel. Penempelan endotel ini diperantara oleh beberapa molekul *adhesi* pada permukaan sel endotel, yaitu *Inter Cellular Adhesion Molecule 1* (ICAM-1), *Vascular Cell Adhesion Molecule 1* (VCAM-1) dan Selectin kemudian monosit berdiferensiasi menjadi makrofag. Peningkatan makrofag menyebabkan munculnya protein proinflamasi dan marker inflamasi terutama *interleukin-6* (IL-6) dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF). *Tumor Necrosis Factor α* (TNF- α) berpengaruh pada sel endotel menyebabkan perubahan susunan sel dan

abnormalitas struktur sel endotel (Getz and Reardon, 2006). Makrofag berfungsi menangkap LDL teroksidasi melalui reseptor scavenger (*scavenger cell*) (Junaidi, 2000). Proses masuknya makrofag memicu pelepasan O₂ reaktif dan menginaktifkan Nitrit Oxide (NO) sehingga terjadi kerusakan sel endotel. Kerusakan pada endotelial kapiler ginjal menyebabkan meningkatnya permeabilitas dan terjadi albuminuria. Hilangnya albumin bersama urin menyebabkan turunnya kadar albumin dalam darah (Brown and Goldstein, 1991).

2.6 Hipoalbumenia

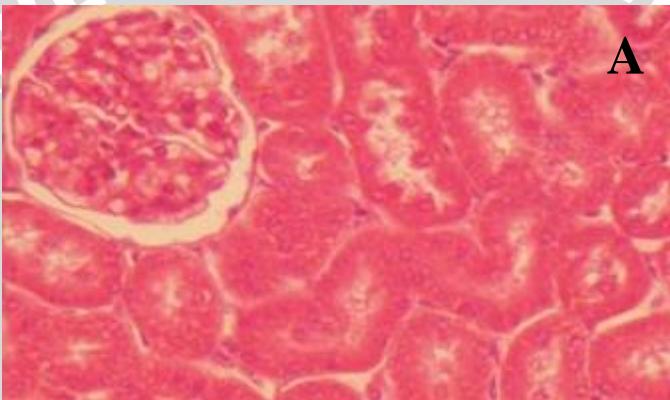
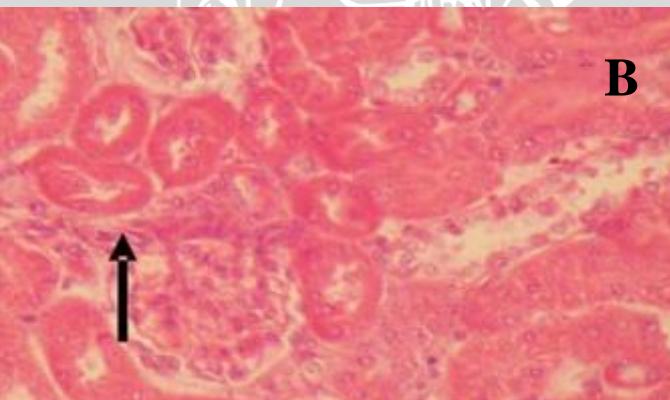
Albumin merupakan protein pengangkut utama dalam tubuh yang disintesa hepar. Albumin berfungsi menjaga tekanan osmotik cairan intravaskuler dan jaringan. Kerusakan endotelial ginjal mengakibatkan albuminuria dan berujung pada hipoalbuminea (Guyton and Hall, 2006).

Hipoalbumenia adalah suatu kondisi dimana kadar albumin dalam darah berada di bawah batas normal. Secara normal albumin tidak dapat melewati gromelurus. Pada kondisi hiperkolesterolemia terjadi peningkatan permeabilitas kapiler ginjal sehingga albumin dapat terekskresi bersama urin (albuminuria). Nilai albumin normal pada *Rattus norvegicus* adalah 5 g/dL hingga 5,8 g/dL (Ambali *et al.*, 2011).

2.7 Histopatologi Ginjal Pada Hiperkolesterol

Ginjal merupakan organ tubuh yang berfungsi mengekskresikan sisa metabolisme tubuh. Pada ginjal terjadi filtrasi, dimana dipisahkan antara zat yang berbahaya dan yang masih dapat dimanfaatkan. Kerusakan ginjal dapat terjadi karena proses metabolismik atau toksik (Wilson, 2001).

Ginjal tersusun atas korteks dan medula. Medula merupakan bagian ginjal yang mengelilingi pelvis renalis. Medula tampak bergaris-garis karena adanya tubulus-tubulus yang tersusun secara radial. Unit fungsional ginjal tersusun atas nefron. Tiap nefron terdiri atas glomerulus, capsula bowmen dan tubulus renalis. Tubulus renalis terdiri atas 3 bagian yaitu tubulus proximal, *ansa henle* (descendens dan ascendens) serta tubulus distal (Yustika *et al.*, 2013).

**A****B**

Gambar 2.1 Gambaran histopatologi ginjal tikus hiperkolesterolemia (Wresdiyati *et al.*, 2011).

Keterangan: A=sehat; B= mengalami inflamasi; tanda panah menunjukkan inflamasi perbesaran 400; pewarnaan HE

Perbandingan kondisi ginjal tikus sehat dan tikus yang mengalami inflamasi karena hiperkolesterolemia menunjukkan bahwa pada tikus sehat jaringan ginjal terlihat rapat dan teratur. Pada jaringan yang mengalami inflamasi terdapat rongga-rongga yang merupakan visualisasi dari kerusakan akibat inflamasi (Gambar 2.1). Kerusakan yang mengakibatkan naiknya permeabilitas juga dapat menyebabkan terjadi edema pada jaringan ginjal. Edema terjadi karena cairan intravaskuler keluar ke jaringan (Wresdiyati *et al.*, 2011).

2.8 Hewan Model Tikus Hiperkolesterolemia

Hewan coba adalah hewan yang sengaja dipelihara dan dikembangbiakkan untuk kepentingan laboratorium. Hewan coba digunakan untuk mempelajari dan mengembangkan berbagai bidang ilmu dalam skala penelitian. Hewan model adalah objek hewan sebagai tiruan manusia atau spesies lain, yang digunakan untuk menyelidiki fenomena biologis atau patologis. Hewan yang sering digunakan sebagai hewan model adalah tikus, guinea pig dan kelinci (Hau and Hoosier, 2003).

Tikus sering digunakan sebagai hewan coba pada berbagai macam penelitian medis. Hal ini dikarenakan tikus memiliki karakteristik genetik yang unik, mudah berkembang biak, murah serta mudah untuk mendapatkannya. Tikus juga mudah dipelihara dan tidak terganggu dengan keberadaan manusia (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998).

Tikus digolongkan ke dalam Ordo Rodentia (hewan penggerat), Famili Muridae dari kelompok mamalia (hewan menyusui). Ordo Rodentia merupakan ordo terbesar dari kelas mamalia karena memiliki jumlah spesies (40%) dari 5.000



spesies di seluruh mamalia Tikus yang digunakan dalam percobaan ini diklasifikasikan dalam:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Sub-Famili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>
Strain	: Wistar (Myers <i>et al.</i> , 2013)

Preparasi hewan coba hiperkolesterolemia pada *Rattus norvegicus* melalui pemberian diet hiperkolesterol. Diet hiperkolesterol merupakan komposisi pakan yang terdiri dari kuning telur puyuh rebus, minyak babi dan asam kolat. Pemberian induksi diet hiperkolesterol akan menyebabkan terjadinya gangguan metabolisme LDL dan peningkatan konsentrasi LDL plasma (Aulanni'am, 1993).

2.9 Daun Sukun

Sukun (*Artocarpus altilis*) adalah tumbuhan dari genus *Artocarpus* dalam famili Moraceae yang banyak terdapat di kawasan tropik seperti Malaysia dan Indonesia. Di pulau Jawa tanaman ini dijadikan tanaman budidaya oleh masyarakat. Buahnya terbentuk dari keseluruhan kelopak bunganya, berbentuk bulat atau sedikit bujur dan digunakan sebagai bahan makanan alternatif (Hendalastuti, 2006).



Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Urticales
Famili	: moraceae
Genus	: <i>Artocarpus</i>
Spesies	: <i>Artocarpus altilis</i> (Hendalastuti dan Rojidin, 2006)



Gambar 2.2 Tanaman Sukun (Hendalastuti dan Rojidin, 2006)

Daun sukun memiliki kandungan untuk menjaga kesehatan masyarakat di Indonesia. Daun tanaman sukun mengandung beberapa zat berkhasiat seperti saponin, polifenol, asam hidrosianat, asetilcolin, tanin, riboflavin, phenol. Daun tanaman ini juga mengandung kuercetin, champorol dan artoindonesianin. Dimana artoindonesianin dan kuercetin adalah kelompok senyawa dari flavonoid. Flavonoid dapat menurunkan kadar kolesterol darah melalui aktivitas antioksidan yang dapat menekan terjadinya oksidasi LDL (Carvajal *et al.*, 2009). Flavonoid yang diisolasi dari daun sukun memiliki aktifitas dalam menurunkan dampak negatif inflamasi (Wei, 2005).

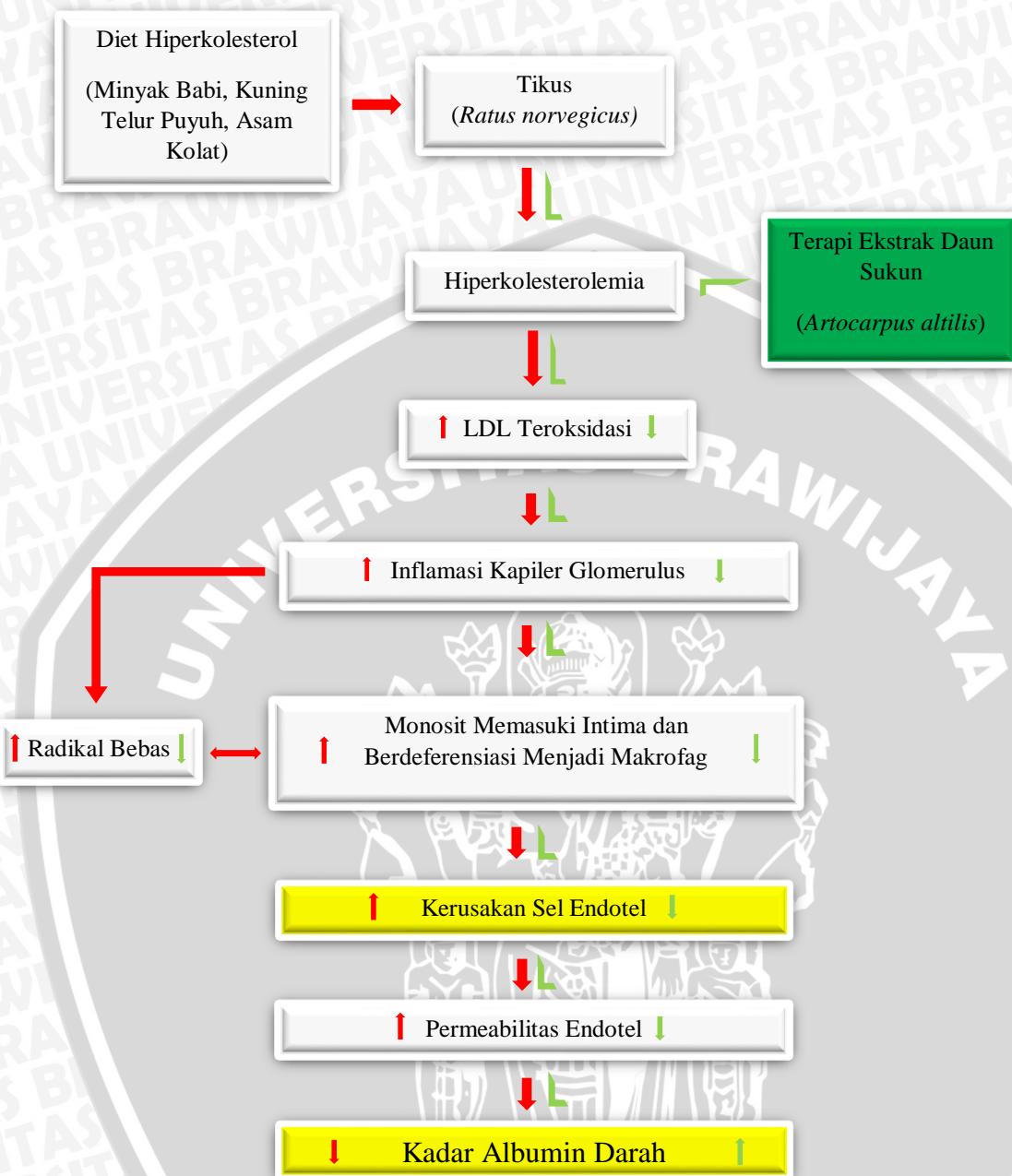
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

Hiperkolesterolemia adalah suatu keadaan abnormal dimana kadar kolesterol darah di atas normal. Hiperkolesterolemia dapat menyebabkan beberapa abnormalitas pada pembuluh darah, jantung, hepar atau ginjal (Lowery, 2005). Diet hiperkolesterol akan diserap dalam *intestine* dan disirkulasi dalam bentuk lipoprotein. Pada kondisi hiperkolesterolemia, sisa LDL berlebih tidak dapat dibawa kembali ke hati dan teroksidasi oleh radikal bebas. Apabila teroksidasi LDL dapat memicu reaksi inflamasi. Reaksi inflamasi menghasilkan patikel radikal bebas karena terjadi peroksidasi lipid. Respon inflamasi ditandai dengan aktivasi sel endotelial dan monosit. Monosit memasuki intima pembuluh darah dan berdeferensiasi menjadi makrofag. Akumulasi makrofag menyebabkan kerusakan jaringan endotel. Kerusakan endotel ginjal akan menyebabkan peningkatan permeabilitas ginjal dan terjadi albuminuria yang berujung pada hipoalbuminea (Brown and Goldstein, 1991).

Peningkatan permeabilitas membran menyebabkan albumin keluar bersama urin. Peningkatan kadar albumin dalam urin menaikkan jumlah senyawa terlarut, meningkatkan konsentrasi cairan ekstravaskuler dan menyebabkan air keluar dari vaskuler. Peningkatan cairan ekstravaskuler menyebabkan edema jaringan yang ditandai pembengkakan sel, penyempitan lumen tubulus dan penyempitan jarak glomerulus dan capsula Bowman (Okada *et al.*, 2000).

Salah satu upaya yang diperlukan untuk terapi hiperkolesterolemia yang disertai adanya LDL-teroksidasi adalah dengan terapi antioksidan. Flavanoid dalam daun sukun merupakan salah satu sumber antioksidan yang dapat mengikat radikal bebas dengan mendonorkan elektronnya (Lamanepa, 2005). Pengikatan terhadap radikal bebas mengakibatkan penurunan stres oksidatif dan mengurangi dampak inflamasi yang kemudian berlanjut pada perbaikan jaringan endotel dan menurunkan permeabilitas membran. Penurunan permeabilitas endotel mengakibatkan protein tidak keluar bersama urin sehingga mengembalikan keseimbangan tekanan osmotik vaskuler dan ekstravaskuler sehingga mengurangi edema. (Lamanepa, 2005)

**Gambar 3.1** Kerangka Konseptual.

Keterangan:

[Green Box] Variabel Bebas

[Yellow Box] Variabel Tergantung

[Green Line] Efek Terapi

[Red Arrow] Efek Diet Hiperkolesterol

3.2 Hipotesis Penelitian

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

1. Pemberian ekstrak daun sukun pada tikus hiperkolesterolemia menaikkan kadar albumin.
2. Pemberian ekstrak daun sukun pada tikus hiperkolesterolemia memberikan perbaikan terhadap gambaran histopatologi ginjal.



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 dari bulan September 2013 hingga Juni 2014.

4.2. Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang dipergunakan dalam penelitian ini, antara lain kandang tikus, botol minum tikus, tempat pakan tikus, sonde, sputit 5 mL, *beaker glass*, gelas ukur, batang pengaduk, corong, penangas air, termometer, statif, timbangan digital, kertas saring, labu ukur, gelas ukur, pipet tetes, stirrer, *dissecting set*, tabung *ependorf*, sarung tangan, *vacum tube*, *sentrifuse*, *micropipet*, *yellow tip*, spektrofotometer (biosystem type 15), penjepit (*block holder*), mikrotom potong beku, gelas objek, *cover glass*, mikroskop (Olympus BX51).

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini, antara lain tikus jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (umur 8-12 minggu, berat badan 130-180 gram), daun sukun (*Artocarpus atilis*) yang telah dideterminasi, pakan standar AIN-93M, minyak babi, kuning telur puyuh, asam kolat, *aquades*, PFA 4%, NaCl fisiologis, formalin buffer 10%, alkohol bertingkat 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, alkohol absolute, alkohol xylol, larutan xylol murni, parafin cair, polyelisin, pewarna *hematoksilin eosin* (HE), reagen *Bromcresol Green* (BCG).

4.3. Tahapan Penelitian

1. Rancangan Penelitian dan Persiapan Hewan Coba.
2. Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Sukun.
3. Preparasi Simplisia Daun Sukun.
4. Preparasi Hewan Model Hiperkolesterolemia dengan Diet Hiperkolesterol.
5. Pengambilan Sampel Serum dan Pengukuran Albumin.
6. Pembuatan Ekstrak Daun Sukun dan Terapi.
7. Pengambilan Sampel Serum dan Pengambilan Ginjal Hewan Model Hiperkolesterolemia.
8. Pengukuran Kadar Albumin dengan Spektfotometri.
9. Pembuatan Preparat Histologi Ginjal dengan pewarnaan HE.
10. Analisa Data

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Rancangan Penelitian dan Preparasi Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*)

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Tikus dibagi menjadi lima kelompok yaitu kelompok A merupakan tikus kontrol negatif (tanpa perlakuan), kelompok B tikus kontrol positif (hiperkolesterol, tanpa pemberian terapi), kelompok C merupakan tikus hiperkolesterol dan diberi terapi dengan dosis 500 mg/Kg BB, kelompok D merupakan tikus hiperkolesterol dan diberi terapi dengan dosis 1000 mg/Kg BB

dan kelompok E merupakan tikus hiperkolesterol dan diberi terapi dengan dosis 2000 mg/Kg BB. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari lima ekor tikus sebagai ulangan. Pengukuran kadar albumin darah dilakukan secara *pre examination* dan *post examination*. *Pre examination* dilakukan untuk mengetahui kadar albumin sebelum diberi terapi. *Post examination* dilakukan untuk mengetahui hasil terapi. Adapun variabel yang diamati adalah :

- Variabel bebas : Dosis terapi daun sukun dan diet hiperkolesterol.
- Variabel tergantung : Kadar albumin darah dan gambaran histopatologis ginjal.
- Variabel kendali : Umur, *strain*, jenis kelamin, berat badan, kandang, lingkungan kandang.

Tabel 4.1. Rancangan penelitian

Variabel yang diamati	Ulangan
Kadar albumin darah, gambaran histopatologi ginjal	1 2 3 4 5
Kelompok A (kontrol negatif)	
Kelompok B (kontrol positif)	
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 pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, jantan dengan berat 130-180 gram dan berumur 8-12 minggu. Tikus yang digunakan adalah tikus sehat yang ditandai dengan nafsu



makan baik dan perilaku normal. Tikus diadaptasikan untuk menyesuaikan kondisi laboratorium selama 7 hari (Lamanepa, 2005). Jumlah sampel yang digunakan berdasarkan rumus perhitungan sebagai berikut:

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

P = perlakuan

t = jumlah kelompok

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk lima jenis perlakuan yang diberikan digunakan lima ekor tikus sebagai ulangan. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang digunakan dalam penelitian ini diadaptasikan selama tujuh hari dengan pakan standar dan dikandangkan dalam lima kandang kelompok A, B, C, D dan E dengan jumlah masing-masing kelompok lima ekor. Tikus dikandangkan dalam kandang berukuran 17,5 x 23,75 x 17,5 cm. Kandang terbuat dari bak plastik yang dilengkapi penutup kawat, berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut dan terjaga dari asap industri serta polutan lainnya (**Lampiran 1**).

4.4.2 Penentuan Dosis Ekstrak Daun Sukun

Terapi ekstrak daun sukun dilakukan pada kelompok C, D dan E. Dosis daun sukun (*Artocarpus altilis*) dalam bentuk simplisia kering yang yang diberikan hingga dosis 1600 g/Kg masih aman diberikan dan tidak menunjukkan gejala tonsik, sehingga dosis terapi yang diberikan pada kelompok C 500 mg/Kg BB/hari, pada kelompok D 1000 mg/Kg BB/hari dan pada kelompok E 2000 mg/ Kg



BB/hari. Berdasarkan dosis tersebut, maka dosis harian dihitung dengan rumus perhitungan:

$$\text{Dosis Pemberian} = \frac{\text{Berat Badan}}{1000} \times \text{Dosis Terapi}$$

4.4.3 Preparasi Simplisia Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Preparasi simplisia daun sukun (*Artocarpus altilis*) dilakukan dengan membersihkan daun sukun (*Artocarpus altilis*) dari kotoran yang menempel. Daun sukun yang telah bersih dikeringkan dengan bantuan sinar matahari sampai kering. Daun sukun yang telah kering diperkecil ukurannya dengan dipotong.

4.4.4 Pembuatan Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Metode pembuatan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dilakukan dengan menggunakan pelarut air. Daun sukun yang telah kering kemudian ditimbang sesuai hasil perhitungan dosis terapi. Daun sukun kemudian dimasukan kedalam masing-masing *beaker glass* yang berisi aquades 50 mL. Kemudian direbus pada temperatur 70°C hingga air rebusan tinggal 10 mL dan disaring menggunakan kertas saring sehingga di dapatkan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*). Sedian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dipersiapkan setiap hari (Lampiran 4).

4.4.5 Pembuatan Hewan Model Hiperkolesterolemia dengan Diet Hiperkolesterol

Hewan hiperkolesterolemia dibuat dengan pemberian diet hiperkolesterol yang diberikan secara sonde lambung. Komposisi diet hiperkolesterol dibuat dengan komposisi: minyak babi sebanyak 2 gram, asam kolat 0,02 gram, dan



kuning telur puyuh yang telah dipanaskan pada suhu 100°C sebanyak sebanyak 1 gram dicampurkan dengan aquades hingga 2 mL (Gani, 2003). Diet hiperkolesterol memiliki kandungan kolesterol sebesar 124,895 mg/100 g (**Lampiran 3**)

Tikus kelompok A diberikan pakan standar sebanyak 20 g/ekor/hari selama 14 hari. Tikus kelompok B diberikan diet hiperkolesterol sebanyak 2mL/ekor/hari dengan sonde kemudian diberikan pakan standar sebanyak 16,78 g/ekor/hari 1 jam setelahnya selama 14 hari. Tikus kelompok C, D dan E diberikan diet hiperkolesterol sebanyak 2 mL/ekor/hari dengan sonde kemudian diberikan pakan standar sebanyak 16,98 g/ekor/hari 1 jam setelahnya selama 14 hari (**Lampiran 2**).

4.4.6 Terapi Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Metode pemberian terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dilakukan dengan cara per oral. Tikus pada kelompok yang telah diberi diet hiperkolesterol selama 14 hari, diterapi dengan dosis 500 mg/Kg pada kelompok C, 1000 mg/Kg pada kelompok D dan 2000 mg/Kg pada kelompok E selama 14 hari. Pemberian dilakukan dengan cara sonde lambung. Ekstrak yang diberikan sebanyak 2 mL/hari dengan konsentrasi sesuai hasil perhitungan berat badan. Pemberian terapi dilakukan selama 14 hari.

4.4.7 Pengambilan Sampel Serum dan Ginjal

4.4.7.1 Pengambilan Sampel Serum *Pre Examination*

Serum darah yang digunakan untuk pengukuran kadar albumin sebelum terapi diambil dari *arteri coccigea lateral* dengan cara menggunting kurang lebih 1 mm dari ujung ekor. Darah dimasukkan dalam *eppendorf* dan dibiarkan mengendap



dalam suhu kamar kurang lebih selama 3,5 jam dan disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam refrigerator.

4.4.7.2 Pengambilan Sampel Serum dan Organ Ginjal Post Examination

Serum yang digunakan untuk pengukuran diambil pada hari ke 29 setelah pemberian perlakuan awal. Darah diambil dari jantung. Sebelum dilakukan pengambilan darah, hewan coba didislokasi pada *vertebrae cervicalis*. Tikus diletakkan dalam posisi *dorsoventral* kemudian dilakukan pembedahan pada *hypogastrium* hingga mencapai *thorax*. Insisi kulit, muskulus dan *costae*. Darah diambil dari jantung dengan menggunakan *spuit* 5 mL kemudian dimasukkan dalam *vacum tube*. *Vacum tube* diletakkan dalam posisi miring 45° dan darah dibiarkan mengendap pada suhu kamar selama kurang lebih 3,5 jam. Kemudian darah disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum diambil dan disimpan dalam *refrigerator*.

Ginjal digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi. Ginjal diperoleh dengan mengeluarkan seluruh organ visera pada cavum abdomen. Digunakan baik ginjal sinister maupun dexter. Ginjal diambil dari abdomen dan dimasukkan dalam larutan paraformaldehyde (PFA) (Hau *et al.*, 2003).

4.4.8 Pengukuran Kadar Albumin Darah

Pengukuran kadar albumin dilakukan dengan menggunakan reagen BCG. Reagen BCG terdiri atas *acetate buffer* 100 mmol/L dan *bromcresol green* 0,27 mmol/L. Reaksi albumin dan BCG pada kondisi asam akan menghasilkan kompleks warna yang dapat diukur secara spektfotometri. Pengukuran dilakukan



dengan mencampurkan 1 mL reagen BCG dengan 10 μl serum dan mengamati perubahan warna yang terjadi dengan spektfotometer pada panjang gelombang 630 nm.

4.4.9 Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal

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

a. Fiksasi

Fiksasi dilakukan dengan merendam jaringan pada PFA selama 18-24 jam. Fiksasi bertujuan mempertahankan bentuk jaringan. Larutan PFA digunakan untuk fiksasi karena dapat menghentikan proses enzimatik dan mengkoagulasi protein jaringan sehingga mencegah autolisis.

b. Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan dengan memasukkan jaringan ke dalam alkohol bertingkat 30%, 50%, 70%, 80%, 90% sampai alkohol absolute. Dehidrasi bertujuan untuk menarik molekul air yang terdapat dalam jaringan. Waktu yang diperlukan untuk dehidrasi organ ginjal tikus adalah 2 jam.

c. Penjernihan (*Clearing*)

Jaringan dimasukkan ke dalam larutan alkohol xylol selama 1 jam, larutan xylol murni selama 2 x 2 jam, parafin cair 2 x 2 jam. *Clearing* bertujuan untuk membuat jaringan jernih dan transparan.



Xylol digunakan untuk *clearing* karena dapat menjadi perantara masuknya parafin ke dalam jaringan.

d. *Embedding*

Jaringan ginjal dicelupkan ke dalam parafin cair yang telah dituang ke dalam wadah hingga parafin memadat. Tujuan *embedding* adalah untuk mengisi jaringan dengan parafin. Parafin dapat mengikat jaringan sehingga bentuk dan strukturnya tidak berubah.

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

Jaringan dipotong dengan mikrotom setebal 4 mikron. Irisan diletakkan pada polilisin 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

f. Pewarnaan *Hematoksilin – Eosin* (HE)

Preparat dimasukkan dalam larutan xilol bertingkat 1-3 selama 5 menit, kemudian dimasukkan dalam etanol bertingkat yang dimulai dari etanol absolut 1-3, 95 %, 90 %, 80 %, dan 70 % masing-masing 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 1-3. Selanjutnya preparat dimasukkan kedalam larutan xylol 1-2 selama 3 menit dan dikering anginkan. Terakhir, dilakukan perekatan serta ditutup menggunakan *cover glass*.

4.4.10 Pengamatan Preparat Histologi

Hasil pembuatan preparat histologi ginjal diamati dengan mikroskop perbesaran 400 kali untuk melihat adanya perubahan jaringan.

4.5 Analisa Data

Perubahan pada histopatologi jaringan ginjal diamati secara kualitatif deskriptif. Hasil pengukuran kadar albumin ditabulasi menggunakan *Microsoft Office Excel 2013*. Selanjutnya data dialisa secara kualitatif dengan ragam analisa ANOVA (*Analysis of Variance*) menggunakan *SPSS versi 22.0*. Bila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan *uji Tukey* ($\alpha = 0,05$).



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Kadar Albumin Darah Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia

Uji kadar albumin darah dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia terhadap fungsi fisiologi ginjal. Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan kadar albumin darah (Tabel 5.1).

Tabel 5.1. Rata-rata kadar albumin darah

Kelompok	Kadar Albumin (Rata – rata g/dL)	Penurunan (%)	Peningkatan (%)
Kelompok A (Kontrol Negatif)	$6,1564 \pm 0,097^e$	-	-
Kelompok B (Kontrol Positif)	$4,0972 \pm 0,075^a$	33,44	-
Kelompok C (500 mg/Kg BB)	$4,7296 \pm 0,079^b$	-	15,43
Kelompok D (1000 mg/Kg BB)	$5,1380 \pm 0,051^c$	-	25,40
Kelompok E (2000 mg/Kg BB)	$5,4064 \pm 0,083^d$	-	31,95

Keterangan : Notasi a, b, c, d dan e menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antar perlakuan

Hasil perhitungan menggunakan ANOVA yang dilanjutkan uji Tukey ($\alpha = 0,05$) menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada setiap kelompok perlakuan (**Lampiran 5**). Kadar albumin darah rata-rata pada kelompok A

memiliki nilai paling tinggi dan kelompok B memiliki nilai rata-rata kadar albumin darah paling rendah. Kelompok terapi menunjukkan perbedaan kadar albumin darah yang signifikan terhadap kelompok kontrol. Kelompok E merupakan kelompok terapi dengan nilai kadar albumin darah paling mendekati normal. Peningkatan kadar albumin disebabkan penurunan permeabilitas endotel pembuluh darah ginjal sehingga albumin tidak terekskresi bersama urin.

Kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) sehat memiliki kadar albumin darah paling tinggi ($6,3164 \pm 0,097$ g/dL) sedangkan kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) hipercolesterolemia memiliki kadar albumin darah paling rendah ($4,0972 \pm 0,075$ g/dL). Kelompok tikus hipercolesterolemia menunjukkan penurunan kadar albumin sebesar 33,44 %. Penurunan kadar albumin darah disebabkan adanya albumin yang ikut terekskresi bersama urin. Albumin terekskresi bersama urin karena terjadi kerusakan pada jaringan endotel glomerulus. Kerusakan endotel glomerulus terjadi karena pemberian diet hipercolesterol yang terdiri dari minyak babi 10%, asam kolat 0,1% dan kuning telur puyuh 5% menyebabkan peningkatan kadar LDL. Lemak babi memiliki kandungan kolesterol 20 mg/g dan kuning telur puyuh memiliki kandungan kolesterol 364 mg/g. Diet hipercolesterol memiliki kadar kolesterol total 1,24892 mg/g (**Lampiran 3**). Asam kolat berfungsi untuk mengemulsikan lemak dalam usus agar dapat diserap secara maksimal. Kolesterol dalam pakan akan dirangkai dengan asam lemak, fosfolipid, kolesterol ester, triglycerol dan apoprotein menjadi kilomikron. Kilomikron akan diedarkan dalam sirkulasi.

Selama dalam sirkulasi lipid dalam kilomikron akan terhidrolisis sehingga membentuk VLDL dan selanjutnya LDL. Karena tingginya diet kolesterol, kadar LDL dalam darah di atas batas normal sehingga tidak semua LDL dapat dibawa ke hepar.

Low Density Lipoprotein tersusun atas protein dan lipid yang dapat teroksidasi oleh radikal bebas. *Low Density Lipoprotein* yang tidak dapat dibawa kembali ke hepar akan teroksidasi sehingga tidak dapat dikenali oleh LDLR dan masuk ke subendotel. *Low Density Lipoprotein* dalam subendotel menstimulasi sel endotel mengeluarkan molekul penarik monosit. Monosit akan keluar dari pembuluh darah, memasuki subendotel dan berkembang menjadi makrofag. Reseptor *scavenger* akan mengikat LDL teroksidasi sehingga dapat difagosit makrofag. Infiltrasi monosit dalam subendotel mengakibatkan permeabilitas endotel meningkat dan albumin dapat keluar bersama urin (Junaidi, 2000).

Terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) menaikkan kadar albumin darah. Peningkatan kadar albumin darah terjadi karena ekstrak daun sukun mengandung senyawa flavonoid. Hasil LCMS menunjukkan dalam daun sukun terdapat kandungan kuersetin dan artoindonesianin yang merupakan golongan senyawa flavonoid (**Lampiran 8**). Flavonoid berperan sebagai antioksidan yang memiliki kemampuan mengikat radikal bebas. Pengikatan radikal bebas mengurangi inflamasi dengan menghentikan reaksi lanjut peroksidase senyawa lipid sehingga mengurangi LDL teroksidasi (Wei, 2001).

Low Density Lipoprotein yang tidak teroksidasi dapat dibawa ke hepar untuk



disintesa menjadi asam empedu. Pada jaringan yang telah mengalami inflamasi, antioksidan mengikat radikal bebas hasil proses inflamasi sehingga menghentikan kerusakan lanjut dan jaringan dapat melakukan perbaikan. Perbaikan pada jaringan endotel menghambat albumin keluar bersama urin dan menaikkan kadar albumin darah.

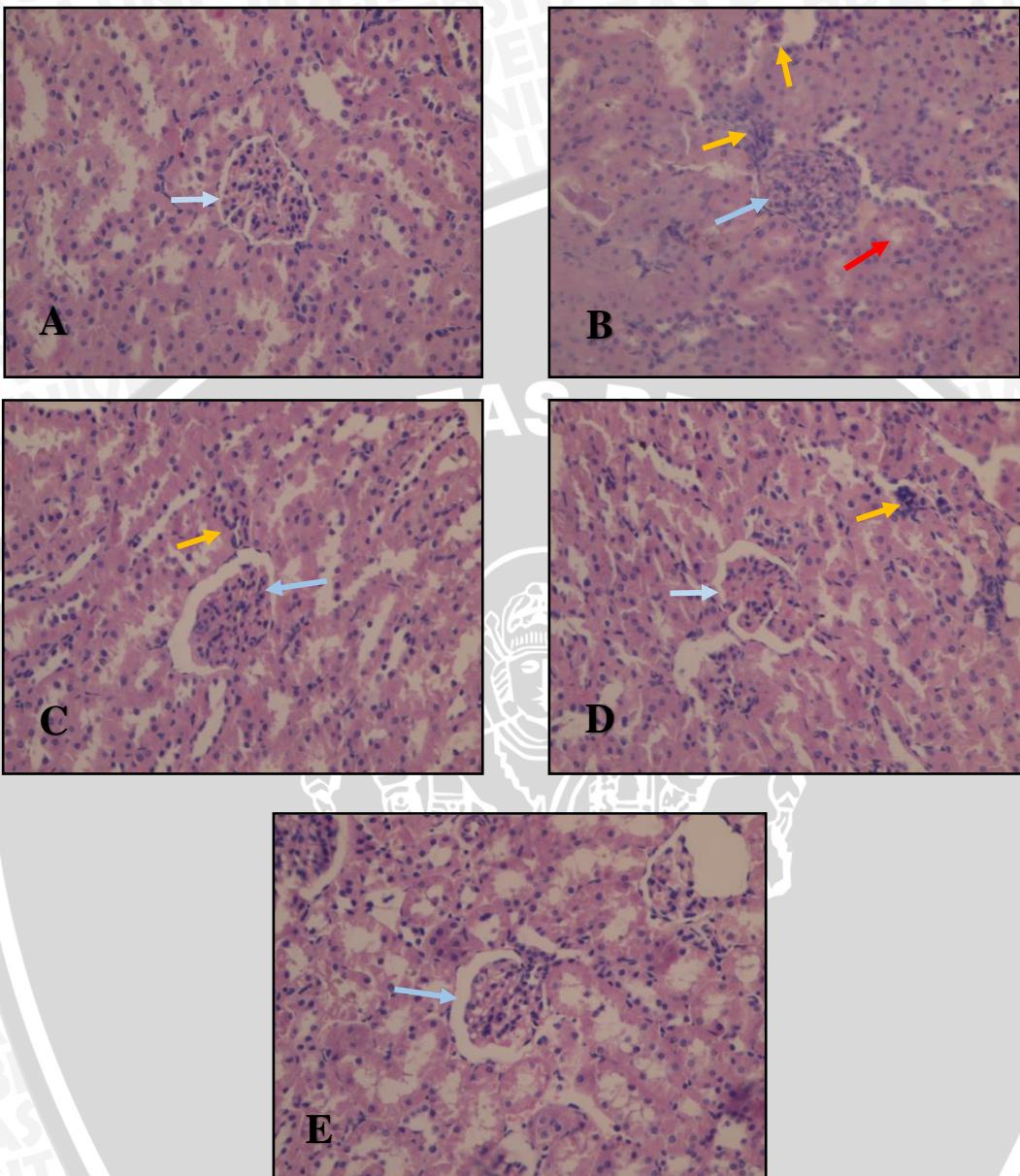
Peningkatan dosis menaikkan kadar albumin darah. Kelompok terapi dengan dosis 500 mg/Kg BB memiliki kadar albumin darah $4,7296 \pm 0,079$ g/dL atau naik 15,43 % dibandingkan dengan kelompok tikus hiperkolesterolemia. Kelompok terapi dengan dosis 1000 mg/Kg BB memiliki kadar albumin $5,1380 \pm 0,051$ atau naik 25,40 % dan kelompok terapi dengan dosis 2000 mg/Kg BB memiliki kadar albumin $5,4064 \pm 0,083$ atau naik 31,95 % dibandingkan dengan kelompok tikus hiperkolesterolemia. Hasil analisa dengan ANOVA dan dilanjutkan Tukey ($\alpha = 0,05$) menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada setiap kelompok perlakuan. Kelompok terapi 2000 mg/kg BB menunjukan peningkatan kadar albumin darah paling tinggi, tetapi masih menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kelompok tikus sehat sehingga masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis efektif terapi ekstrak daun sukun dalam meningkatkan kadar albumin darah pada kondisi hiperkolesterolemia.

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

Kerusakan yang terjadi pada organ ginjal tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia dapat dilihat melalui pewarnaan Hematoksilin-Eosin

(HE). Hasil pewarnaan menunjukkan adanya perbedaan gambaran histopatologi pada glomerulus ginjal. Pewarnaan jaringan ginjal dengan HE dengan perbesaran 400x disajikan pada Gambar 5.1. Pada masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan adanya perbedaan pada bagian gomerulus dan tubulus ginjal.

Pada ginjal tikus normal terlihat jelas lumen tubulus serta jarak antara glomerulus dan kapsula Bowmen (**Gambar 5.1 A**), sementara pada ginjal tikus hiperkolesterolemia terjadi edema dan terlihat jaringan inflamasi (**Gambar 5.1 B**). Edema pada jaringan ginjal tikus hiperkolesterolemia terjadi karena gangguan fungsi filtrasi ginjal. Unit fungsional ginjal terdiri atas glomerulus, tubulus proksimal, lengkung Hanle, tubulus distal dan tubulus kolektifus. Pada glomerulus terjadi filtrasi air, urea, asam amino dan molekul kecil lain yang akan keluar dari pembuluh darah dan menuju tubuluh proksimal (Noer, 2010). Pada kondisi normal makromolekul seperti albumin tidak dapat melewati endotel glomerulus, tetapi pada kondisi hiperkolesterolemia permeabilitas endotel glomerulus meningkat sehingga albumin dapat keluar pembuluh darah dan menuju tubulus. Albumin berfungsi untuk menjaga tekanan osmotik cairan intravaskuler. Tingginya albumin dalam tubulus mengakibatkan tekanan osmotik cairan dalam tubulus naik. Naiknya tekanan osmotik mengakibatkan air akan keluar dari vaskuler dan menyebabkan edema. Tingginya kadar albumin dalam tubulus juga menyebabkan makromolekul terlarut seperti nitrogen dan nitrogen oksalat berdifusi dari ekstrasel menuju intrasel (Okada *et al.*, 2000).



Gambar 5.1. Histopatologi ginjal tikus dengan pewarnaan HE dan perbesaran 400x.

Keterangan: (A) sehat; (B) hipercolesterolemia; (C) terapi dosis 500 mg/Kg BB; (D) terapi dosis 1000 mg/Kg BB; (E) terapi dosis 2000 mg/Kg BB; tanda panah biru menunjukkan glomerulus; tanda panah kuning menunjukkan inflamasi; tanda panah merah menunjukkan edema.

Perbaikan gambaran histopatologi ginjal pada kelompok tikus terapi ditandai dengan terlihatnya lumen tubulus dan jarak antara glomerulus dan capsula Bowmen. Pada dosis terapi 500 mg/Kg BB dan 1000 mg/Kg BB edema sudah tidak ditemukan dan jaringan inflamasi berkurang (**Gambar 5.1 C** dan **Gambar 5.1 D**). Pada dosis terapi 2000 mg/Kg BB edema dan jaringan yang mengalami inflamasi tidak ditemukan (**Gambar 5.1 E**). Perbaikan gambaran histopatologi ginjal terjadi karena artoindonesianin dan kuercetin dalam daun sukun. Artoindonesianin dan kuercetin adalah golongan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Mekanisme antioksidan terjadi dengan mendonorkan elektron terluar sehingga menyebabkan elektron terluar radikal bebas berpasangan. Molekul dengan elektron terluar yang berpasangan tidak bersifat radikal dan stabil. Aktivitas antioksidan flavonoid mencegah kerusakan lanjut oleh inflamasi sehingga permeabilitas endotel glomerulus menurun. Penurunan permeabilitas endotel glomerulus menyebabkan albumin tidak dapat melewati glomerulus sehingga terjadi keseimbangan tekanan osmotik antara cairan intravaskuler dan cairan ekstravaskuler dan mengurangi edema jaringan (Noer, 2010).

Peningkatan kadar albumin dalam darah menyebabkan tekanan osmotik vaskuler lebih rendah dibandingkan ekstravaskuler. Perbedaan tekanan osmotik menyebabkan osmosis cairan ekstravaskuler menuju intravaskuler dan menurunkan jumlah cairan ekstravaskuler. Penurunan cairan ekstravaskuler ditandai berkurangnya edema, terlihatnya lumen dan ukuran sel yang semakin kecil (Noer, 2010).

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) menaikkan kadar albumin darah pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia dan dosis 2000 mg/Kg BB menunjukkan nilai tertinggi dalam peningkatan kadar albumin darah.
2. Terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) memperbaiki gambaran histopatologi tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia dan dosis terapi 2000 mg/Kg BB menunjukkan perbaikan gambaran histopatologi paling mendekati normal.

6.2 Saran

1. Perlu dikaji lebih lanjut dosis optimum ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang dapat menaikkan kadar albumin darah pada penderita hiperkolesterolemia.
2. Perlu dikaji lebih lanjut tentang senyawa bioaktif dalam ekstrak daun sukun yang dapat digunakan sebagai terapi hiperkolesterolemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambali S.F., D.O. Akanbi, O.O. Oladipo, L.S. Yaqub and M.U. Kawu. 2011. *Subchronic chlorpyrifosInduced clinical, haematological and biochemical changes in swiss albino mice: protective effect of vitamin E.* Int. J. Biol. Med. Res. 2 (2): 497–503.
- Aulanni'am. 1993. Effect *Des Fibres duriz Sur Le Profil Lipidique Du Rat Comparison Entre Le Riz Cargo Et Les Fibres du Son.* These USTL. Montpellier, France.
- Brown, M.S. and J.L. Goldstein. 1991. *Drugs Used in the Treatment of Hiperlipoproteinemia; Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th edition.* New York: Mc.Graw Hill Book.
- Carvajal, O Z., P. M. Jones, F. Hayward, H. Orta, C. Hipolito, D. Nolasco., D.M.U. Barradas, M.G. Anguilar and M.F.P. Hernandez. 2009. *Effect of Artocarpus altilis Dried Calyx Ethanol Extract on Fat Absorption-Excretion, and Body Weight Implication in Rats.* J Biomed Biotechnol.: 394592.
- Dukacinova, J., R. Mojzis, J. Benacka, T. Keller, P. Maguth, L. Kurila, O. Vasko, Racz, and F. Nistiar. 2008. *Preventive effects of flavonoids on alloxan-induced diabetes mellitus in rats.* ACTA VET BRNO (77): 175-182
- Fukai, T., R. J. Folz, U. Landmesser and D. G. Harrison. 2002 *Extracellular superoxide dismutase and cardiovascular disease.* Cardiovasc. California State University Long Beach, USA. 239249
- 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
- Getz, G.S and C.A. Reardon. 2006. *Diet and murine atherosclerosis.* Arteriosclerosis, Thrombosis Vascular, 26: 242-249 ATV.0000201071 .49029.17.
- Groff, G., S. Gropper. and S. Hunt. 1995. *Advanced Nutrition and Human Metabolism.* West Publishing Company, Minneapolis. 124-146.
- Guyton, A.C. and J.E. Hall. 2006. *Textbook of medical physiology.* Department of Physiology & Biophysics Associate Vice Chancellor for Research University of Mississippi Medical Center Jackson, MS
- Hau, J. and G. L. Hoosier Jr. 2003. *Handbook of Laboratory Animal Science Second Edition.* Boca Raton: CRC Press.

- Hendalastuti, H.R dan A. Rojidin. 2006. *Karakteristik Budidaya dan Pengolahan Buah Sukun: Studi Kasus di Solok dan Kampar*. Seminar Hasil Litbang Hasil Hutan, Jakarta,
- Jairam, Vikram. K. Uchida and V. Narayanaswami. 2012. *Pathophysiology of Lipoprotein Oxidation*. Nagoya University. Japan. ISBN 978-953-51-0773-6
- Javitt, N. B. 2008. *Oxysterols: novel biologic roles for the 21st Century*. California State University . 149157
- Jeusette, I., M. Compagnucci, V. Romano, L. Vilaseca, J. Crusafont, J.M. Sole, E. Castell and C. Torre. 2006. *Effects of high protein bor high carbohydrate diets on weight loss in obese dogs*. Comp. Cont. Ed. Vet. 28(Suppl 4A):69.
- Junaidi. 2000. *Pencegahan dan Pengobatan Stroke*. Buana Ilmu Populer. Jakarta.
- Laflamme, D.P. 2012. *Companion Animals Symposium:Obesity in dogs and cats*. Nestle Purina PetCare Research, Checkerboard Square–2S, St. Louis, MO 63164
- Lamanepa, M. 2005. *Perbandingan Profil Lipid dan Perkembangan Lesi Aterosklerosis pada Tikus Wistar yang Diberi Diet Perasan Pare dan Statin*. Tesis Magister Ilmu Biomedik UNNDIP
- Littman, M.P., D.M. Dambach, S.L. Vaden and U. Giger. 2000. *Familial protein-losing enteropathy and protein-losing nephropathy in Soft Coated Wheaten Terriers: 222 cases (1983–1997)*. Journal of Veterinary Internal Medicine
- Lowery, L.M. 2005. *Dietary Fat and Sports Nutrition: a Primer*. Nutrition, Exercise and Wellness Associates, Cuyahoga Falls, OH, USA
- Mayes, P.A., R.K. Murray, D.K. Garner, and V.W. Rodwell. 1995. *Harper's Biochemistry*. 22th ed. Printice Hall International Inc. New Jersey. USA. 316,555
- Murray, L. and P.J. Cooper. 2003. *The impact of postpartum depression on child development. In Aetiological Mechanisms in Developmental Psychopathology* (ed. I. Goodyer). Oxford: Oxford University Press.
- Myers, P., R. Espinosa, C.S. Parr, T. Jones, G.S. Hammond, and T.A. Dewey. 2013. *The Animal Diversity Web* (online). Accessed at <http://animaldiversity.org> [16 Oktober 2013]



- Navab, M., J. A. Berliner, G. Subbanagounder, S. Hama, A. J. Lusis, L. W. Castellani, S. Reddy, D. Shih, W. Shi, A. D. Watson, B. J. Van Lenten, D. Vora and A. M. Fogelman. 2001. *HDL and the inflammatory response induced by LDL-derived oxidized phospholipids*. Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol., 481488
- Noer, M.S. 2010. *Evaluasi Fungsi Ginjal secara Laboratorik (Laboratoric Evaluation on Renal Function)*,Lab-SMF Ilmu Kesehatan Anak FK Unair. Surabaya
- Ramdhani, A.N. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus altilis) terhadap Larva Artemia salin Leach dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Okada, H., Moriwaki, K., Kalluri, R., Takenaka, T., Imai, H., Ban, S., Takahama, M., and H. Suzuki. 2000. *Osteopontin expressed by renal tubular epithelium mediates interstitial monocyte infiltration in rats*. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 278, F110-F121.
- Smith, J.B. dan S. Mangkoewidjojo. 1998. *Pemeliharaan, Pembibitan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta. Universitas Indonesia
- Thomason, Justin D. B Flatland and C A. Calvert. 2007. *Hyperlipidemia in dogs and cats*. Department of Small Animal Medicine and Surgery, College of Veterinary Medicine University of Georgia Athens, GA 30602
- Vella, G., I. Rushforth, E. Mason, A. Hough, R. England, P. Styles, T. Holt and P. Thorne. 2001. *Assessment of the effects of noise and vibration from offshore wind farms on Maine wildlife*. ETSU W/13/00566/REP, University of Liverpool, Liverpool
- Vojdani, A. 2003. *A Look at Infectious Agents as a Possible Causative Factor in Cardiovascular Disease: Part II*. Lab Med 34(5):24-31.,
- Wei L. 2005. *Antiinflammatory Flavonoids from Artocarpus heterophyllus and Artocarpus communis*. In: Journal of Agricultural and Food Chemistry (American Chemistry Society) 53(10): 3867-3871.
- Wilson, K.G. 2001. *Some notes on theoretical constructs: Types and validation from a contextual-behavioral perspective*. International Journal of Psychology and Psychological Therapy, 1.
- Wresdiyati, Tuti., M. Astawan, D. Muchtadi, and Y Nurdiana. 2011. *Antioxidant activity of ginger Zingiber officinale oleoresin on the profile of superoxide*

dismutase SOD in the kidney of rats under stress conditions. Jurnal teknologi dan industri pangan, IPB vol. 18, no. 2.

Yustika, A.R., Aulanni'am dan S. Prasetyawan. 2013. *Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histopatologi pada Ginjal Tikus Putih (Rattus norvegicus) Pasca Induksi Cylosporin-A.* Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya.

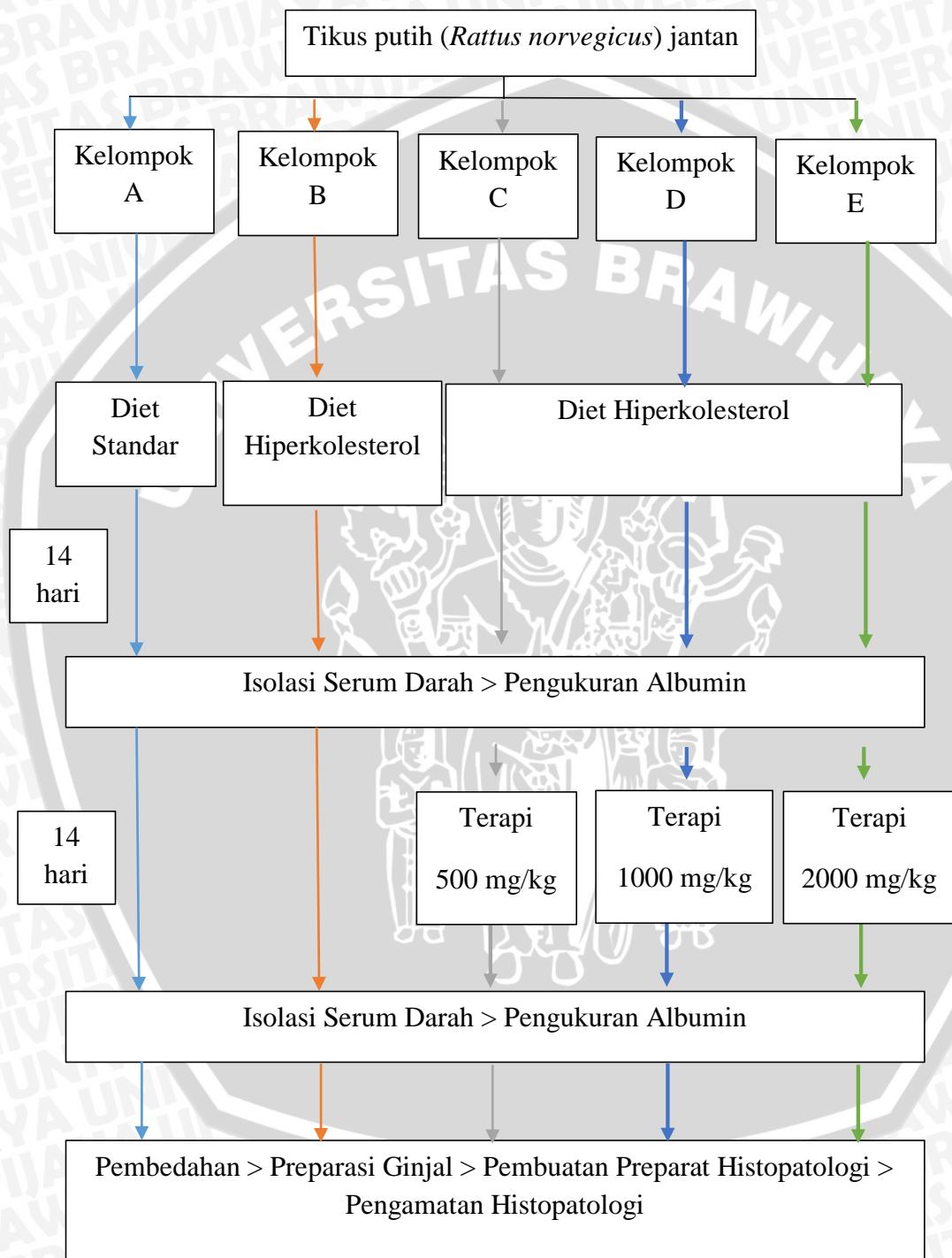


UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LAMPIRAN



Lampiran 1 Alur Penelitian



Lampiran 2 Preparasi Hewan Model Hiperkolesterolemia

Preparasi hewan model hiperkolesterolemia dilakukan dengan pemberian diet hiperkolesterol. Komposisi dalam pembuatan diet hiperkolesterol antara lain asam kholat 0,1 %, minyak babi 10 %, kuning telur puyuh 5 % dan pakan standar 83,9 % dari 20 mg total pakan per hari sehingga diperlukan komposisi sebagai berikut:

- Asam kholat = 0,1 % x 20 g = 0,02 g
- Minyak babi = 10 % x 20 g = 2 g
- Kuning telur puyuh direbus pada suhu 100°C = 5% x 20 g = 1 g
- Aquades
- Pakan standar = 83,9 % x 20 g = 16,78 g

Diagram:

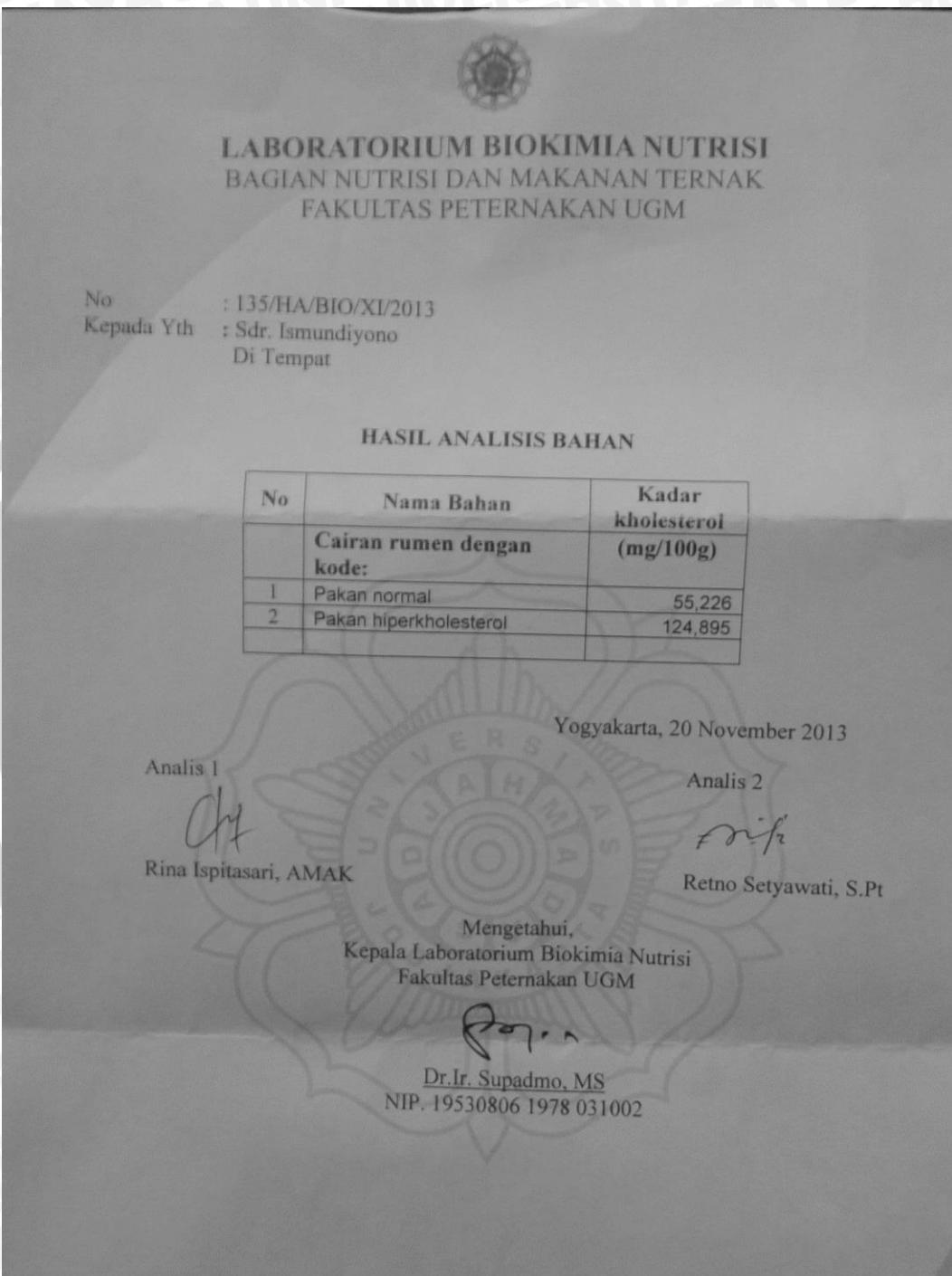
asam kholat 0,02 gram, minyak babi 2 gram, dan kuning telur puyuh 1 gram.

- Dicampurkan hingga homogen
- Dimasukkan kedalam aquades hingga 2 mL
- Disondekan kedalam lambung tikus
- Diberi pakan standar 16,98 g 1 jam setelah sonde lambung

Tikus
Hiperkolesterolemia



Lampiran 3. Hasil Uji Kolesterol Pakan



Lampiran 4 Ekstrak Daun Sukun

Pembuatan Ekstrak Daun Sukun

Dosis Daun Sukun kelompok C = dosis terapi x berat badan

$$= 500 \text{ mg/kg berat badan} \times 150 \text{ g}$$

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

$$= 75 \text{ mg/ekor tikus dengan berat 150 gram}$$

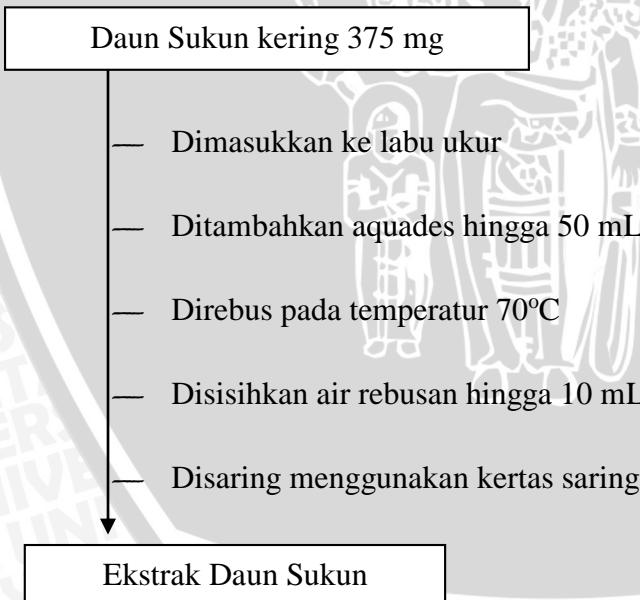
Berat kering Daun Sukun yang dibutuhkan untuk kelompok C

$$= \text{Dosis pemberian} \times \text{Jumlah tikus}$$

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

$$= 375 \text{ mg}$$

Diagram :



Dosis Daun Sukun kelompok D = dosis terapi x berat badan

$$= 1000 \text{ mg/kg berat badan} \times 150 \text{ g}$$

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

= 150 mg/ekor tikus dengan berat

150 gram

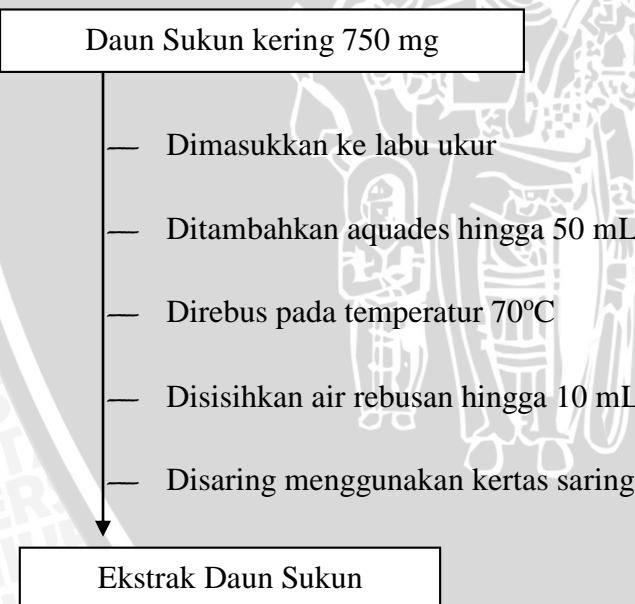
Berat kering daun sukun yang dibutuhkan untuk kelompok D

= Dosis pemberian x Jumlah tikus

= 150 mg/ekor x 5 ekor

= 750 mg

Diagram :



Dosis Daun Sukun kelompok D = dosis terapi x berat badan

$$= 2000 \text{ mg/kg berat badan} \times 150 \text{ g}$$

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

$$= 300 \text{ mg/ekor tikus dengan berat 150 gram}$$

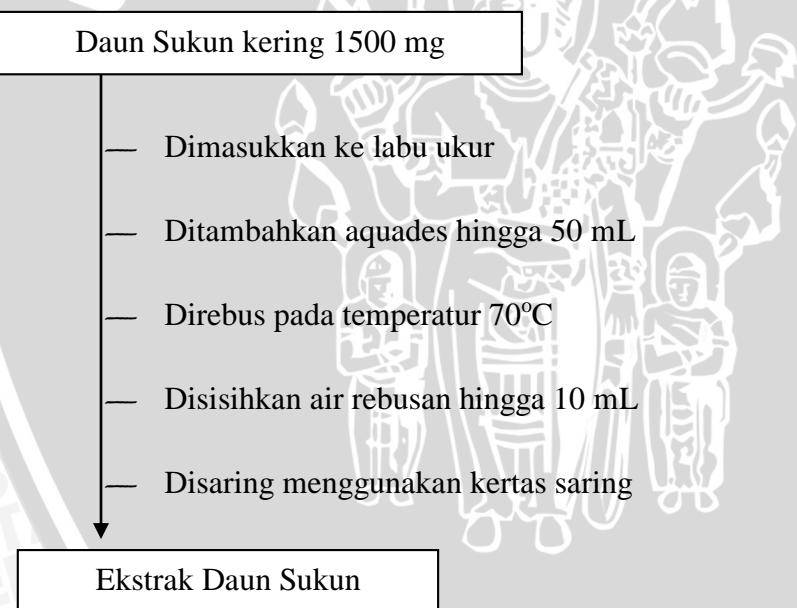
Berat kering Daun Sukun yang dibutuhkan untuk kelompok C

$$= \text{Dosis pemberian} \times \text{Jumlah tikus}$$

$$= 300 \text{ mg/ekor} \times 5 \text{ ekor}$$

$$= 1500 \text{ mg}$$

Diagram :



Lampiran 5. Hasil Uji statistika dengan SPSS ver. 22.0

Data uji kadar albumin darah

Kelompok	Ulangan	Kadar Albumin
A	1	6,281
A	2	6,109
A	3	6,029
A	4	6,217
A	5	6,146
B	1	4,134
B	2	4,196
B	3	4,002
B	4	4,046
B	5	4,108
C	1	4,611
C	2	4,700
C	3	4,753
C	4	4,761
C	5	4,823
D	1	5,168
D	2	5,133
D	3	5,053
D	4	5,150
D	5	5,186
E	1	5,318
E	2	5,415
E	3	5,327
E	4	5,468
E	5	5,504



Diskriptif

Kelompok Perlakuan	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error of Mean	Minimum	Maximum
A	6,15640	5	,097190	,043464	6,029	6,281
B	4,09720	5	,075691	,033850	4,002	4,196
C	4,72960	5	,079371	,035496	4,611	4,823
D	5,13800	5	,051473	,023020	5,053	5,186
E	5,40640	5	,082936	,037090	5,318	5,504
Total	5,10552	25	,703971	,140794	4,002	6,281

Uji Normalitas

	Kelompok Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Albumin	A	,143	5	,200*	,992	5	,985
	B	,157	5	,200*	,984	5	,956
	C	,216	5	,200*	,961	5	,816
	D	,261	5	,200*	,885	5	,332
	E	,231	5	,200*	,903	5	,429

Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,626	4	20	,649

Uji ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11,770	4	2,942	474,548	,000
Within Groups	,124	20	,006		
Total	11,894	24			



Uji Tukey

Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
B	5	4,09720				
C	5		4,72960			
D	5			5,13800		
E	5				5,40640	
A	5					6,15640
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000



Lampiran 6. 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 BAWAH:

PENELITIAN BERJUDUL : STUDI TERAPI EKSTRAK AIR DAUN SUKUN (*Artocarpus akulis*) TERHADAP KADAR MALONDYLALDEHIDE (MDA) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI 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. Aulann'i'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001



Lampiran 7. Determinasi Tanaman Sukun

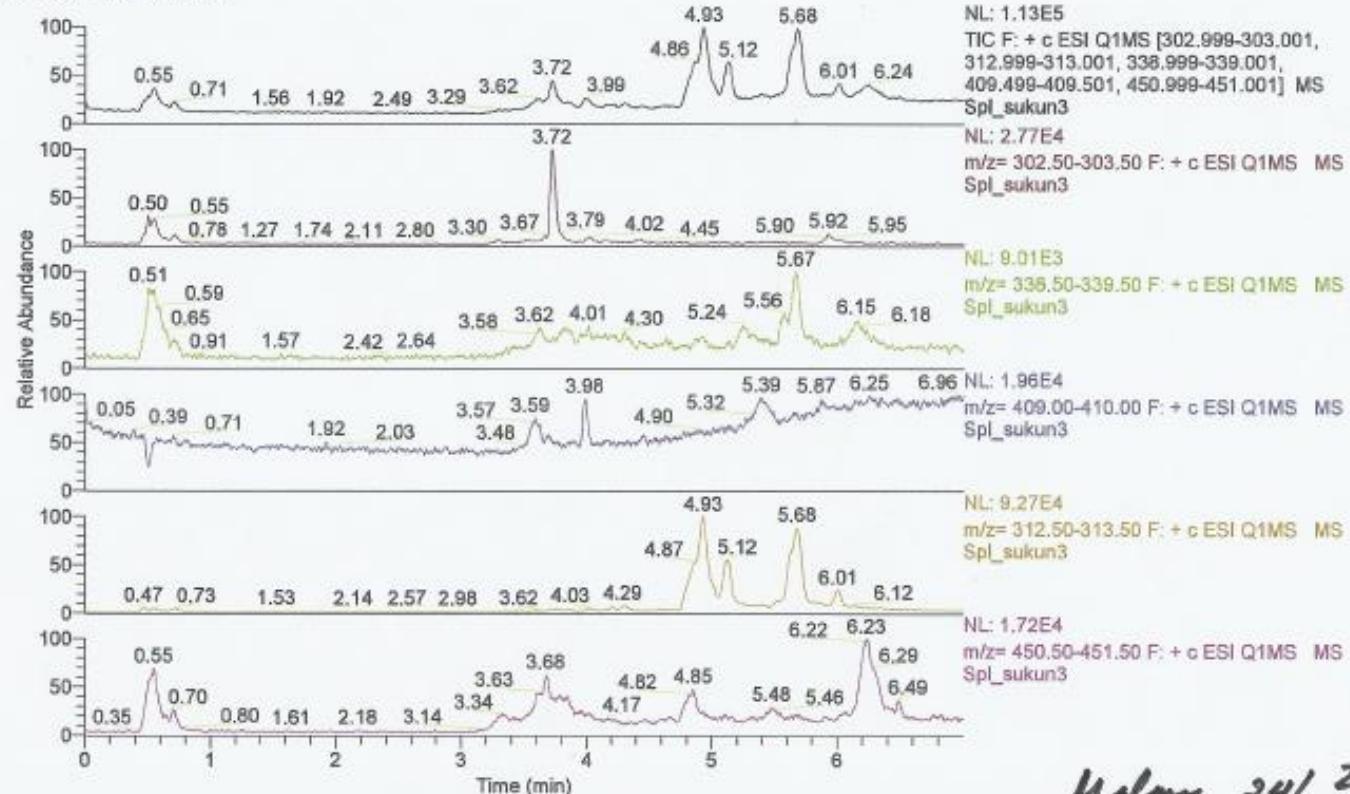
 <p>DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR UPT MATERIA MEDICA Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313) KOTA BATU</p>
<p>Nomor : 074 / 0230/ 101.8 / 2013 Sifat : Biasa Perihal : <u>Determinasi Tanaman Sukun</u></p> <p>Nama : Memenuhi permohonan saudara : RIA RESTU WARDHANI (105130101111004) MUGI PARAMITA KINASIH (105130100111004) WANDA ABRIANTO (105130101111008) JOHAN DWIANTOKO (105130103111004) NURFILDAZ WAFETA ABHARINA (105130103111001) ISMUNDIONO (105130100111013)</p> <p>Fakultas : Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang</p> <p>1. Perihal determinasi tanaman sukun Kingdom : Plantae (Tumbuhan) Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh) Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji) Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga) Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil) Sub Kelas: Dilleniidae Ordo : Urticales Famili : Moraceae (suku nangka-nangkaan) Genus : Artocarpus Spesies : <i>Artocarpus communis</i> Forst Sinonim : <i>Artocarpus incisa</i> L. f.; <i>A. altilis</i> (Park.) Fosberg Sumatera Sukun (Ach) Hatopul (Batak) Amu (Meteyu) . Jawa Sukun (Jawa) Sakon (Madura) . Bali Sukun (Bali) . Nusa tenggara Karara bima (Flores) Kunci determinasi : 1b - 2b - 3b- 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14b - 15 a - 109b - 119b - 120a - 121 b - 124 a-1b-2</p> <p>2. Morfologi : Habitus Pohon, tinggi 10-25 m. Batang Tegak,berkayu, bulat, percabangan simpopodial, coklat. DaunTunggal, tersebar, panjang 40-60 cm, lebar 30-35 cm, tepi bertoreh, ujung meruncing, pangkal membulat, pertulangan menjari, daging daun tebal, permukaan licin, tulang daun menonjol, permukaan atas berbulu, hijau, tangkai bulat, panjang 3-4 cm, hijau . Bunga Tunggal, di ketiak daun, tangkai silindris, panjang 2-3 cm, hijau muda, kelopak lonjong, permukaan bagian dalam licin, bagian luar berambut, kehijauan, mahkota lonjong,kuning kehijauan. Buah Buni, lonjong, diameter 6-10 cm, permukaan bergerigi turmpul, teratur, bergetah, hijau. Biji Lonjong, pipih, coklat. Akar Tungggang, coklat.</p> <p>3. Nama Simplicia : Artocarpi Folium/ Daun Sukun</p> <p>4. Kandungan : Daun dan kulit batang mengandung saponin dan polifenol. Daun mengandung : saponin, polifenol, asam hidrosianat, kalium, phenol, tannin, asetilcolin, flavonoid , beta sitosterol dan riboflavin. Buah : protein, lemak, karbohidrat, serat, kalsium, kalium, fosfor, zat besi, karoten, thiamin, riboflavin, niacin dan asam askorbat.</p> <p>5. Penggunaan : Penelitian</p> <p>6. Daftar Pustaka :</p> <ul style="list-style-type: none"> • 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 Tambunan, Lastioro, Buah Roti Pencuci Darah, tribus vol.495 februari 2012/XLIII, hal 92-93 • Steenis,CGGG Van Dr , FLORA, 2008, Pradnya Paramita , Jakarta • Syamsuhidayat, Sri sugati, Hutapea, Johny Ria.1991, Inventaris Tanaman 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.



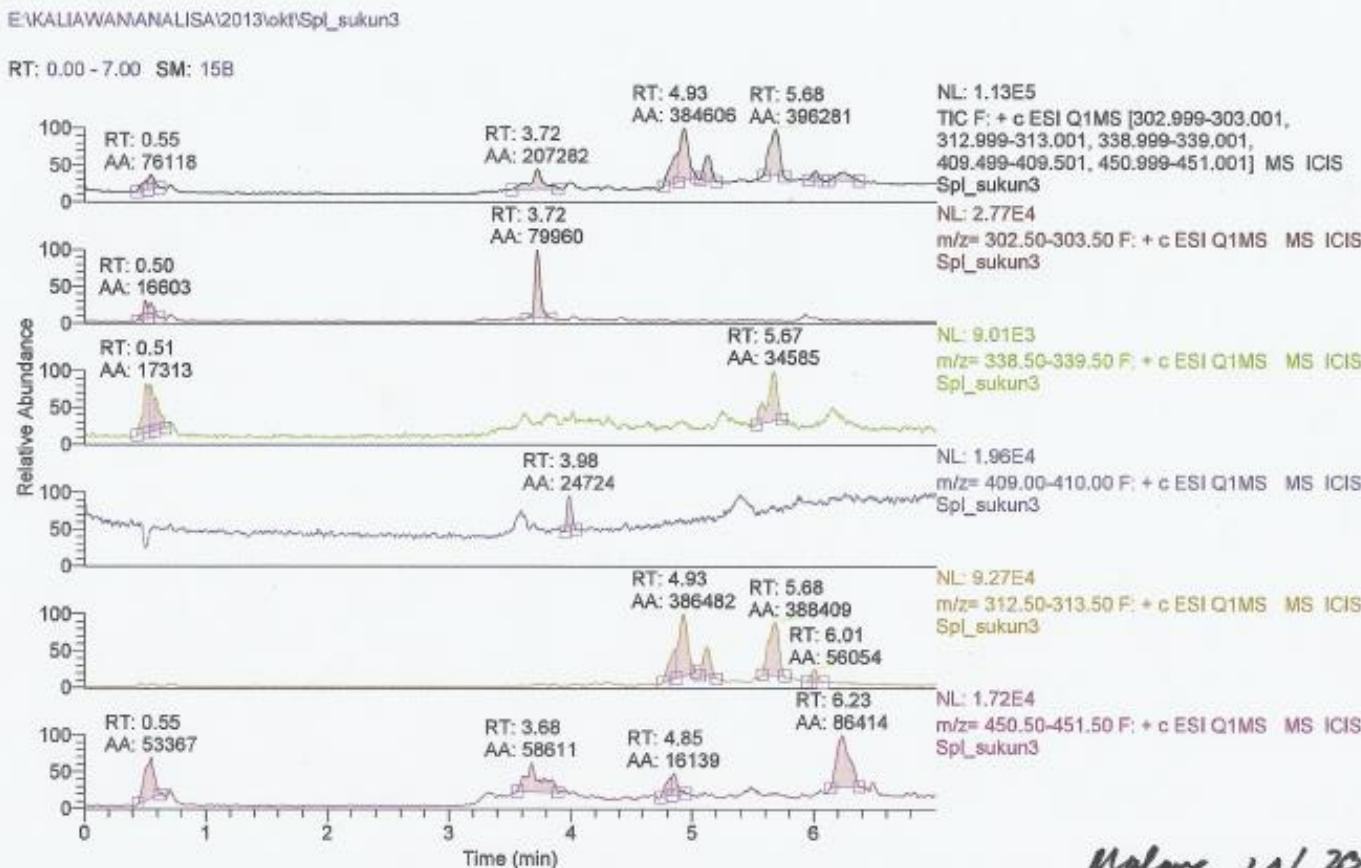
Lampiran 8. Hasil Uji LCMS

E:\KALIAWAN\ANALISA\2013\lok\Spl_sukun3

RT: 0.00 - 7.00 SM: 15B



Malang, 24/10/2013
Dipersipkan oleh
J. H. Kaliawan



Malang, 7/10/2013
A. H.
Kaliawan