

Lampiran 1. Laik Etik



UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU
KOMISI ETHICAL CLEARANCE UNTUK PENELITIAN PRAKLINIK

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
(*Ethical Clearance*)

Nomor: 134/KEC-LPPT/II/2014

Komisi *Ethical Clearance* untuk penelitian praklinik Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, setelah mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan bahwa penelitian:

- Judul penelitian** : Kajian *In Vivo* Antihipertensi Alami Berbasis Peptida Bioaktif Susu Kambing Hasil Fermentasi Bakteri Asam Laktat
- Peneliti Utama** : drh. Masdiana C. Padaga, M. App.Sc.
- Asal Instansi** : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang
- Lokasi Penelitian** : Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu UGM

Telah dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan penelitian tersebut pada hewan uji tikus. Komisi *Ethical Clearance* mempunyai hak untuk melakukan pemantauan selama penelitian berlangsung.

Yogyakarta, 7 Februari 2014
Komisi *Ethical Clearance*
Ketua,

Prof. Dr. drh. Puji Astuti, MP.

Lampiran 2. Surat Pernyataan Payung Penelitian

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Fitria Adinda
NIM : 0911310013
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Fakultas : Program Kedokteran Hewan
Universitas : Brawijaya

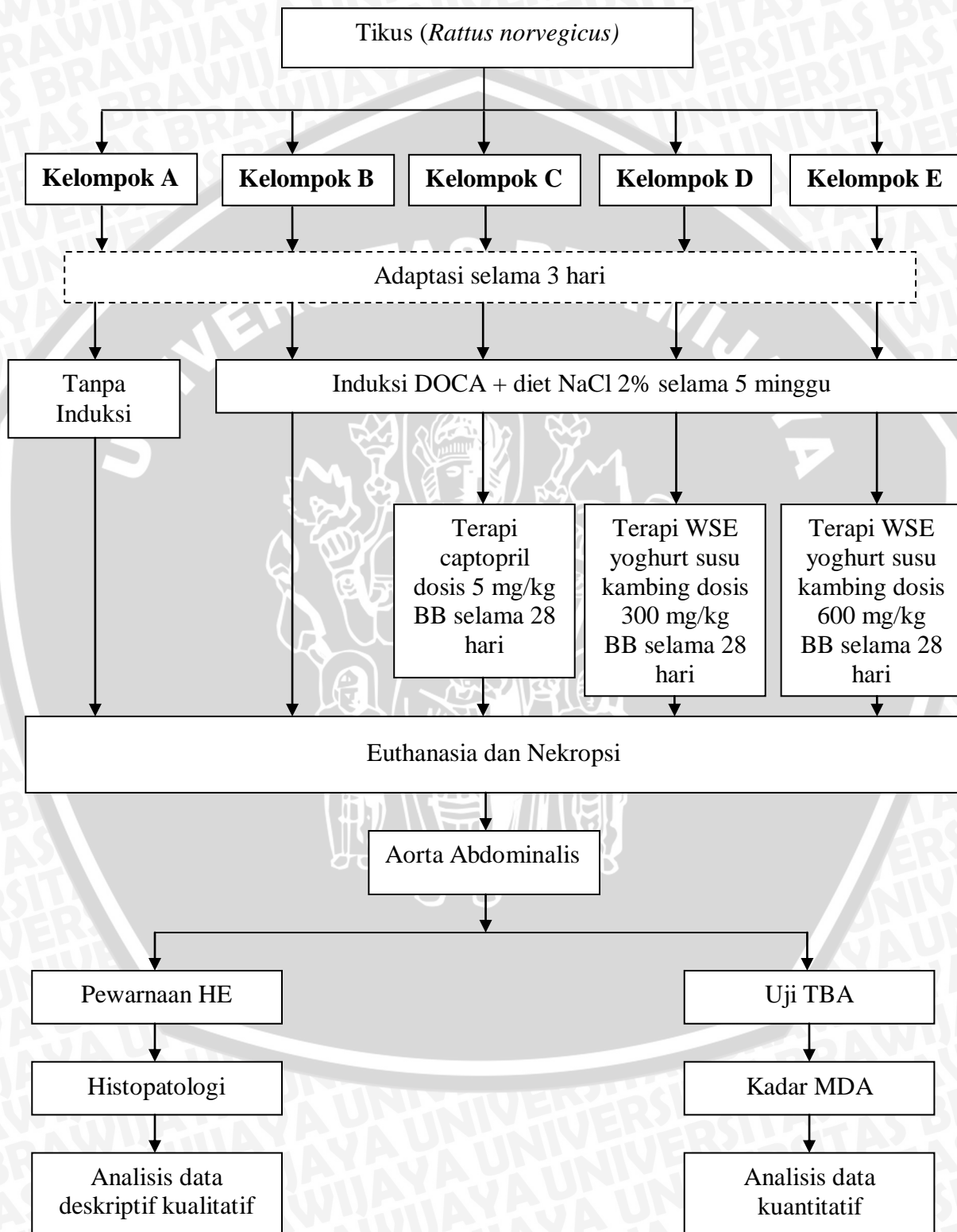
Menyatakan bahwa penelitian saya yang berjudul "Efek Terapi *Water Soluble Extract* (WSE) Yoghurt Susu Kambing Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Histopatologi Aorta Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hipertensi Induksi DOCA-Salt " merupakan bagian dari penelitian yang berjudul "Kajian In Vivo Antihipertensi Alami Berbasis Peptida Bioaktif Susu Kambing Hasil Fermentasi Bakteri Asam Laktat". Untuk itu kepemilikan dan hak publikasi menjadi hak milik dari peneliti utama drh.Masdiana C. Padaga, M.AppSc.

Malang, Oktober 2014

Yang membuat pernyataan

Fitria Adinda

Lampiran 3. Diagram Alir Penelitian



Lampiran 4. Perhitungan Dosis *Deoxycorticosterone Acetate* (DOCA)

- Dosis I : 20 mg/kgBB (5 kali injeksi dengan waktu injeksi 2x/minggu)
- Dosis II : 10 mg/kgBB (5 kali injeksi dengan waktu injeksi 2x/minggu)
- Pelarut : 0,5 ml minyak jagung
- Pemberian : injeksi subkutan

a. Dosis DOCA 20 mg/kgBB

Dosis DOCA dalam setiap kelompok perlakuan

a.	Berat badan tikus = 220 g	= $\frac{220}{1000} \times 20 \text{ mg}$	= 4,40 mg
b.	Berat badan tikus = 226 g	= $\frac{226}{1000} \times 20 \text{ mg}$	= 4,52 mg
c.	Berat badan tikus = 234 g	= $\frac{234}{1000} \times 20 \text{ mg}$	= 4,68 mg
d.	Berat badan tikus = 240 g	= $\frac{240}{1000} \times 20 \text{ mg}$	= 4,80 mg
e.	Berat badan tikus = 250 g	= $\frac{250}{1000} \times 20 \text{ mg}$	= 5,00 mg
			+ = 23,40 mg
		Rata-rata	= 4,68 mg

Dosis DOCA yang dilarutkan di dalam minyak jagung

a.	Berat badan tikus = 220 g	= $\frac{4,40}{4,68} \times 0,5 \text{ ml}$	= 0,47 ml
b.	Berat badan tikus = 226 g	= $\frac{4,52}{4,68} \times 0,5 \text{ ml}$	= 0,48 ml
c.	Berat badan tikus = 234 g	= $\frac{4,68}{4,68} \times 0,5 \text{ ml}$	= 0,50 ml
d.	Berat badan tikus = 240 g	= $\frac{4,80}{4,68} \times 0,5 \text{ ml}$	= 0,51 ml
e.	Berat badan tikus = 250 g	= $\frac{5,00}{4,68} \times 0,5 \text{ ml}$	= 0,53 ml
			+ = 2,49 ml

Keterangan :

- Dalam 2,49 ml minyak jagung terdapat 23,40 mg DOCA
- Untuk keperluan percobaan tiap kelompok perlakuan disajikan 3 ml larutan DOCA

- Untuk 3 ml larutan, DOCA yang dibutuhkan adalah :

$$\frac{3}{2,49} \times 23,40 \text{ mg} = 28,19 \text{ mg DOCA}$$

b. Dosis DOCA 10 mg/kgBB

Dosis DOCA dalam setiap kelompok perlakuan

a.	Berat badan tikus	= 220 g	= $\frac{220}{1000}$	x 10 mg	= 2,20 mg
b.	Berat badan tikus	= 226 g	= $\frac{226}{1000}$	x 10 mg	= 2,26 mg
c.	Berat badan tikus	= 234 g	= $\frac{234}{1000}$	x 10 mg	= 2,34 mg
d.	Berat badan tikus	= 240 g	= $\frac{240}{1000}$	x 10 mg	= 2,40 mg
e.	Berat badan tikus	= 250 g	= $\frac{250}{1000}$	x 10 mg	= 2,50 mg
					+ = 11,70 mg
				Rata-rata	= 2,34 mg

Dosis DOCA yang dilarutkan di dalam minyak jagung

a.	Berat badan tikus	= 220 g	= $\frac{2,20}{2,34}$	x 0,5 ml	= 0,47 ml
b.	Berat badan tikus	= 226 g	= $\frac{2,26}{2,34}$	x 0,5 ml	= 0,48 ml
c.	Berat badan tikus	= 234 g	= $\frac{2,34}{2,34}$	x 0,5 ml	= 0,50 ml
d.	Berat badan tikus	= 240 g	= $\frac{2,40}{2,34}$	x 0,5 ml	= 0,51 ml
e.	Berat badan tikus	= 250 g	= $\frac{2,50}{2,34}$	x 0,5 ml	= 0,53 ml
					+ = 2,49 ml

Keterangan :

- Dalam 2,49 ml minyak jagung terdapat 11,70 mg DOCA
- Untuk keperluan percobaan tiap kelompok perlakuan disajikan 3 ml larutan DOCA
- Untuk 3 ml larutan, DOCA yang dibutuhkan adalah :

$$\frac{3}{2,49} \times 11,70 \text{ mg} = 14,09 \text{ mg DOCA}$$

a. Tabel Pemberian Dosis *Deoxycorticosterone Acetate* (DOCA)

Minggu ke-	Injeksi ke-	Dosis	Rata-rata DOCA yang diberikan dari 4 kali ulangan (mg)				
			A	B	C	D	E
1	1	20 mg/kgBB	-	4,494	4,220	4,586	4,449
	2		-	4,494	4,220	4,586	4,449
2	3	10 mg/kgBB	-	4,058	3,814	3,967	3,803
	4		-	4,058	3,814	3,967	3,803
3	5	10 mg/kgBB	-	3,880	4,110	4,070	3,842
	6		-	1,940	2,055	2,035	1,921
4	7	10 mg/kgBB	-	2,053	2,200	2,116	2,087
	8		-	2,053	2,200	2,116	2,087
5	9	10 mg/kgBB	-	2,189	2,373	2,292	2,162
	10		-	2,189	2,373	2,292	2,162

Keterangan : (A) Tikus kelompok normal ; (B) Tikus kelompok kontrol hipertensi ; (C) Tikus kelompok kontrol hipertensi terapi captopril 5 mg/kgBB ; (D) Tikus kelompok kontrol terapi WSE yoghurt 300 mg/kgBB ; (E) Tikus Kelompok kontrol terapi WSE yoghurt 600 mg/kgBB

Lampiran 5. Perhitungan Dosis Terapi *Water Soluble Extract* (WSE) Yoghurt Susu Kambing

Dosis I : 300 mg/kgBB/hari
 Dosis II : 600 mg/kgBB/hari
 Terapi : 4 minggu (28 hari)
 Pelarut : 1,5 ml aquades
 Pemberian : oral sonde

a. WSE 300 mg/kgBB/hari dalam setiap kelompok perlakuan

WSE 300 mg/kgBB/hari

a.	Berat badan tikus	= 220 g	= $\frac{220}{1000}$	x 300 mg/kgBB/hari	= 66,00 mg
b.	Berat badan tikus	= 226 g	= $\frac{226}{1000}$	x 300 mg/kgBB/hari	= 67,80 mg
c.	Berat badan tikus	= 234 g	= $\frac{234}{1000}$	x 300 mg/kgBB/hari	= 70,20 mg
d.	Berat badan tikus	= 240 g	= $\frac{240}{1000}$	x 300 mg/kgBB/hari	= 72,00 mg
e.	Berat badan tikus	= 250 g	= $\frac{250}{1000}$	x 300 mg/kgBB/hari	= 75,00 mg
					+ = 351,00 mg
				Rata-rata	= 70,20 mg

WSE 300 mg dalam aquades

a.	Berat badan tikus	= 220 g	= $\frac{66,00}{70,20}$	x 1,5 ml	= 1,41 ml
b.	Berat badan tikus	= 226 g	= $\frac{67,80}{70,20}$	x 1,5 ml	= 1,44 ml
c.	Berat badan tikus	= 234 g	= $\frac{70,20}{70,20}$	x 1,5 ml	= 1,50 ml
d.	Berat badan tikus	= 240 g	= $\frac{72,00}{70,20}$	x 1,5 ml	= 1,53 ml
e.	Berat badan tikus	= 250 g	= $\frac{75,00}{70,20}$	x 1,5 ml	= 1,60 ml
					+ = 7,48 ml

Keterangan :

- Dalam 7,48 ml aquades terdapat 351,00 mg WSE
- Untuk keperluan percobaan tiap kelompok perlakuan disajikan 9 ml larutan WSE

- Untuk 9 ml larutan, WSE yang dibutuhkan adalah :

$$\frac{9}{7,48} \times 351,00 \text{ mg} = 422,32 \text{ mg WSE}$$

- b. WSE 600 mg/kgBB/hari dalam setiap kelompok perlakuan

Dosis WSE 600 mg/kgBB/hari

a.	Berat tikus	badan = 220 g	= $\frac{220}{1000}$	x 600 mg/kgBB/hari	= 132,00 mg
b.	Berat tikus	badan = 226 g	= $\frac{226}{1000}$	x 600 mg/kgBB/hari	= 135,60 mg
c.	Berat tikus	badan = 234 g	= $\frac{234}{1000}$	x 600 mg/kgBB/hari	= 140,40 mg
d.	Berat tikus	badan = 240 g	= $\frac{240}{1000}$	x 600 mg/kgBB/hari	= 144,00 mg
e.	Berat tikus	badan = 250 g	= $\frac{250}{1000}$	x 600 mg/kgBB/hari	= 150,00 mg
					+ = 702,00 mg
				Rata-rata	= 140,40 mg

WSE 600 mg dalam aquades

a.	Berat badan tikus	= 220 g	= $\frac{132,00}{140,40}$	x 1,5 ml	= 1,41 ml
b.	Berat badan tikus	= 226 g	= $\frac{135,60}{140,40}$	x 1,5 ml	= 1,44 ml
c.	Berat badan tikus	= 234 g	= $\frac{140,40}{140,40}$	x 1,5 ml	= 1,50 ml
d.	Berat badan tikus	= 240 g	= $\frac{144,00}{140,40}$	x 1,5 ml	= 1,53 ml
e.	Berat badan tikus	= 250 g	= $\frac{150,00}{140,40}$	x 1,5 ml	= 1,60 ml
					+ = 7,48 ml

Keterangan :

- Dalam 7,48 ml aquades terdapat 702,00 mg WSE
- Untuk keperluan percobaan tiap kelompok perlakuan disajikan 9 ml larutan WSE
- Untuk 9 ml larutan, WSE yang dibutuhkan adalah :

$$\frac{9}{7,48} \times 702,00 \text{ mg} = 844,65 \text{ mg WSE}$$

c. Tabel Pemberian Dosis WSE Yoghurt Susu Kambing

Hari Ke-	Rata-rata WSE yang diberikan dari 4 kali ulangan (mg)			
	300 mg/kgBB		600 mg/kgBB	
	D	E	D	E
1	70,942		138,510	
2	70,942		138,510	
3	70,942		138,510	
4	70,942		138,510	
5	70,942		138,510	
6	70,942		138,510	
7	70,942		138,510	
8	78,277		152,745	
9	78,277		152,745	
10	78,277		152,745	
11	78,277		152,745	
12	78,277		152,745	
13	78,277		152,745	
14	78,277		152,745	
15	83,820		170,775	
16	83,820		170,775	
17	83,820		170,775	
18	83,820		170,775	
19	83,820		170,775	
20	83,820		170,775	
21	83,820		170,775	
22	87,435		179,415	
23	87,435		179,415	
24	87,435		179,415	
25	87,435		179,415	
26	87,435		179,415	
27	87,435		179,415	
28	87,435		179,415	

Keterangan : Terapi hanya diberikan pada kelompok D dan E ; (D) Tikus kelompok kontrol terapi WSE yoghurt 300 mg/kgBB ; (E) Tikus Kelompok kontrol terapi WSE yoghurt 600 mg/kgBB

Lampiran 6. Perhitungan Dosis Terapi Captopril

Dosis captopril : 5 mg/kgBB/hari
 Terapi : 4 minggu (28 hari)
 Pelarut : 1 ml aquades
 Pemberian : oral sonde

b. Captopril dalam setiap kelompok perlakuan

a.	Berat badan tikus	= 220 g	= $\frac{220}{1000}$ x 5 mg/kgBB/hari	= 1,10 mg
b.	Berat badan tikus	= 226 g	= $\frac{226}{1000}$ x 5 mg/kgBB/hari	= 1,13 mg
c.	Berat badan tikus	= 234 g	= $\frac{234}{1000}$ x 5 mg/kgBB/hari	= 1,17 mg
d.	Berat badan tikus	= 240 g	= $\frac{240}{1000}$ x 5 mg/kgBB/hari	= 1,20 mg
e.	Berat badan tikus	= 250 g	= $\frac{250}{1000}$ x 5 mg/kgBB/hari	= 1,25 mg
				_____ +
				= 5,85 mg
			Rata-rata	= 1,17 mg

c. Captopril dalam aquades (ml/hari) dalam tiap kelompok perlakuan

a.	Berat badan tikus	= 220 g	= $\frac{1,10}{1,17}$ x 1 ml	= 0,94 ml
b.	Berat badan tikus	= 226 g	= $\frac{1,13}{1,17}$ x 1 ml	= 0,96 ml
c.	Berat badan tikus	= 234 g	= $\frac{1,17}{1,17}$ x 1 ml	= 1,00 ml
d.	Berat badan tikus	= 240 g	= $\frac{1,20}{1,17}$ x 1 ml	= 1,02 ml
e.	Berat badan tikus	= 250 g	= $\frac{1,25}{1,17}$ x 1 ml	= 1,07 ml
				_____ +
				= 4,99 ml

Keterangan :

- Dalam 4,99 ml aquades terdapat 5,85 mg captopril
- Untuk keperluan percobaan tiap kelompok perlakuan disajikan 6 ml larutan captopril
- Untuk 6 ml larutan, captopril yang dibutuhkan adalah :

$$\frac{6}{4,99} \times 5,85 \text{ mg} = 7,03 \text{ mg captopril}$$



d. Tabel Pemberian Dosis Captopril

Hari Ke-	Rata-rata captopril yang diberikan dari 4 kali ulangan (mg)
1	1,287
2	1,287
3	1,287
4	1,287
5	1,287
6	1,287
7	1,287
8	1,322
9	1,322
10	1,322
11	1,322
12	1,322
13	1,322
14	1,322
15	1,402
16	1,402
17	1,402
18	1,402
19	1,402
20	1,402
21	1,402
22	1,463
23	1,463
24	1,463
25	1,463
26	1,463
27	1,463
28	1,463

Keterangan : Terapi hanya diberikan pada kelompok C ; (C) Tikus kelompok kontrol hipertensi terapi captopril 5 mg/kgBB

Lampiran 7. Instruksi Kerja Pengukuran Tekanan darah Metode *Tail Cuff*
(Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta)

a. Fungsi

Untuk mengukur tekanan darah dan frekuensi denyut jantung hewan coba berukuran kecil (tikus putih, mencit, kelinci) melalui ekor. Contoh penggunaan alat ini adalah untuk penelitian obat – obat yang dapat menurunkan tekanan darah

b. Prosedur Pengoperasian

• Prinsip Penggunaan

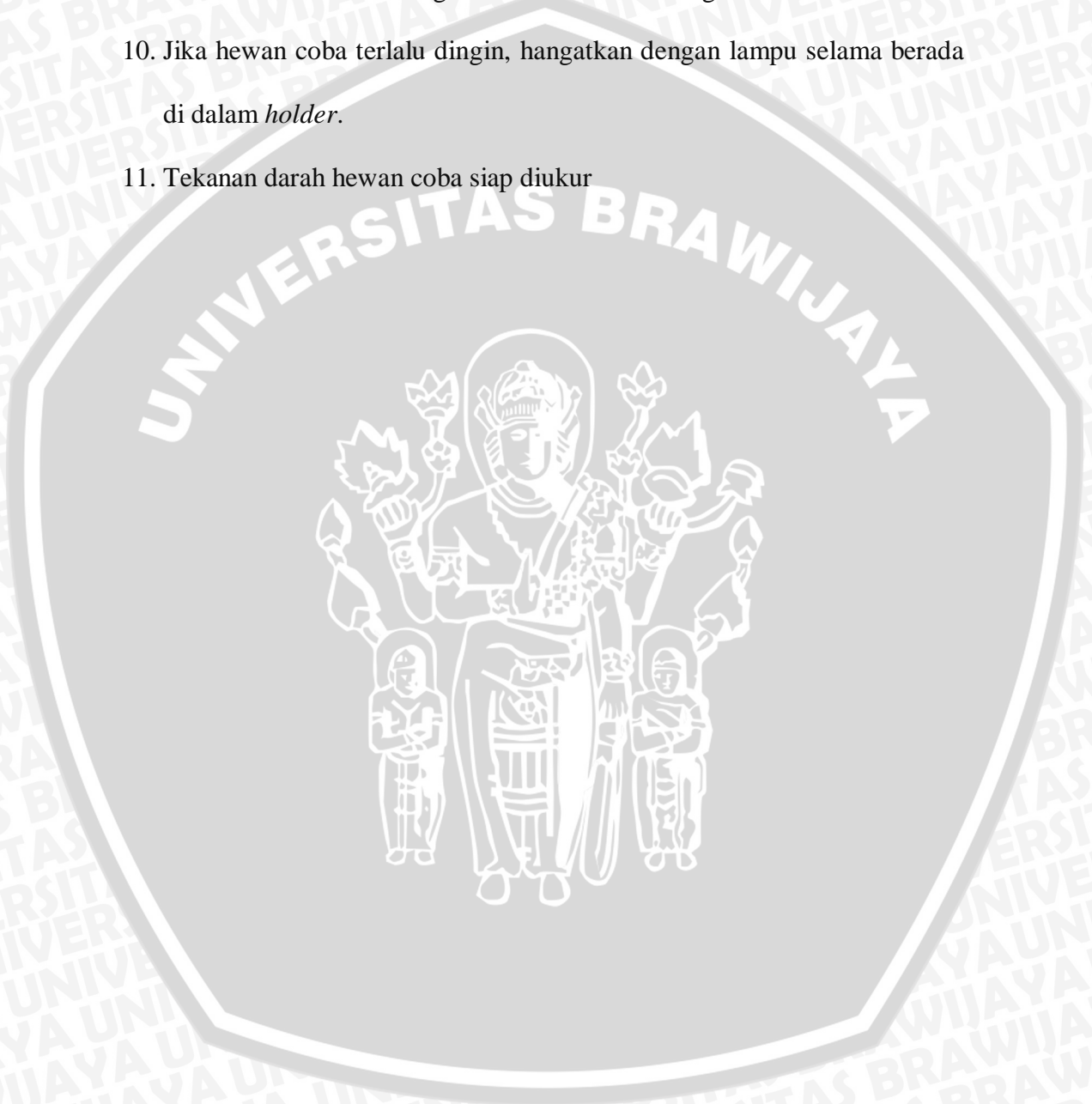
1. Instrumen terdiri dari 2 bagian. Satu bagian adalah amplifier untuk denyut jantung yang terdeteksi melalui manset pada ekor. Setiap akan dilakukan pengujian amplifier harus dikalibrasi.
2. Hasil *print out* pada *paper recorder* menunjukkan 2 macam bentuk, yaitu plot dengan gambaran gelombang dan dalam bentuk nilai digital. Semua hewan coba dapat mengalami stres apabila suhu panas dan akan mempengaruhi hasil pengukuran, sehingga hal ini harus dihindari (suhu ruangan tidak boleh melebihi 32°C).
3. Suhu yang dingin juga akan mempengaruhi hasil pengukuran. Suhu yang sesuai untuk tikus putih pada umumnya $\pm 26 - 27^\circ\text{C}$.
4. *Holder* untuk hewan coba juga harus disesuaikan suhunya sehingga tidak terlalu dingin atau terlalu panas karena hewan coba sangat sensitif terhadap perubahan suhu.

5. Pada saat pengukuran, *artifact filter* harus hidup.
6. Hewan coba yang tidak bisa tenang dapat menyulitkan pengukuran. Hewan coba sebaiknya dibiasakan terlebih dahulu di dalam *holder* dengan cara memasukkan hewan coba selama satu jam selama beberapa hari sebelum pengukuran.

- Aklimatisasi Hewan Coba

1. Sebelum dilakukan pengukuran, hewan coba harus dalam keadaan tenang dan tidak stres karena panas ataupun dingin ketika berada di dalam *holder*.
2. Jangan mencuci *holder* atau *chamber* dengan bahan yang berbau seperti deterjen atau pembersih dari bahan kimia. Hal ini dengan alasan :
 - a. cairan kimia tertentu dapat merusak *holder* atau lubang ekor.
 - b. beberapa deterjen menimbulkan efek seperti amfetamin terhadap rodent.
3. Letakkan hewan coba pada *holder* beberapa menit sebelum dilakukan pengukuran (3-5 menit, namun memerlukan waktu yang cukup lama untuk hewan coba yang belum dilatih berada dalam *holder*).
4. Gunakan 1 *holder* dan manset untuk 1 ekor hewan coba
5. Lepaskan lubang ekor dari *holder* dengan cara mengendorkannya.
6. Posisikan kepala lubang ekor sesuai dengan panjang hewan coba.
7. Jika *holder* terlalu dingin, hangatkan terlebih dahulu.

8. Ambil hewan coba (tikus) dengan memegang ekornya, letakkan di meja di depan *holder* maka secara alami tikus akan menuju *holder*.
9. Masukkan ekor ke lubang ekor kemudian kencangkan
10. Jika hewan coba terlalu dingin, hangatkan dengan lampu selama berada di dalam *holder*.
11. Tekanan darah hewan coba siap diukur



Lampiran 8. Data Tekanan Darah Sistol Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hipertensi Induksi DOCA-Salt

Perlakuan	Rata – rata pengukuran tekanan darah sistol dari 4 kali ulangan dalam 10 minggu (mmHg)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	96.5	106.75	104.25	106	98.75	112.75	121.5	107	120.25	
B	104.25	161.5	172.75	174.25	183.25	189.75				
C	146.25	159.25	180	187.75	195	209	176.25	168.25	164.5	155
D	132.25	180	181.25	192.75	202	219	195.75	170.75	163.25	153.25
E	96.25	163.5	168.75	177.75	189	192.25	184.5	175.5	162	153.75

Keterangan : (A) Tikus kelompok normal ; (B) Tikus kelompok kontrol hipertensi ; (C) Tikus kelompok kontrol hipertensi terapi captopril 5 mg/kgBB ; (D) Tikus kelompok kontrol terapi WSE yoghurt 300 mg/kgBB ; (E) Tikus Kelompok kontrol terapi WSE yoghurt 600 mg/kgBB ; = minggu terapi

Lampiran 9. Pengukuran Kadar Malondialdehida (MDA) dengan Metode Thiobarbituric Acid (TBA)

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum MDA

100 μ l larutan standart MDA 4 PPM

- ditambah 550 μ l aquades
- ditambah 100 μ l trikolorasetat (TCA) 100%
- dihomogenkan dengan vorteks
- ditambah 250 μ l HCN 1 N
- ditambah 100 μ l Na-Thio 100%
- dihomogenkan dengan vorteks
- dipanaskan dalam *waterbath* dengan suhu 100°C selama 20 menit
- diangkat dan didinginkan pada suhu ruang
- diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada λ 500-600 nm

Panjang Gelombang Maksimum MDA

b. Penentuan Kurva Standar MDA

100 μ l stok kit MDA konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 μ g/mL

- Dimasukkan tabung ependorf yang berbeda
- ditambah 550 μ l aquades
- ditambah 100 μ l asam TCA 100%
- dihomogenkan
- ditambah 250 μ l HCL 1N
- ditambah 100 μ l Na-Thio 100%
- dihomogenkan dengan vorteks
- dipanaskan dalam *waterbath* dengan suhu 100°C selama 20 menit
- diangkat dan didinginkan pada suhu ruang
- disentrifugasi pada kecepatan 500 rpm selama 10 menit

Supernatan

- diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal

Kurva Standart MDA

c. Pengukuran Kadar Malondialdehida (MDA)

0,5 g Aorta Abdominalis

- digerus dalam mortar steril
- ditambahkan 1 ml NaCl 0,9%

Homogenat

- dipindah dalam ependorf
- disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 20 menit

Supernatan

- diambil 100 μ L
- ditambah aquades 550 μ L, dihomogenkan dengan vorteks
- ditambah 100 μ L TCA, dihomogenkan dengan vorteks
- ditambah 250 μ L HCL 1N, dihomogenkan dengan vorteks
- ditambah 100 μ L Na-Thiol, dihomogenkan dengan vorteks
- disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 15 menit

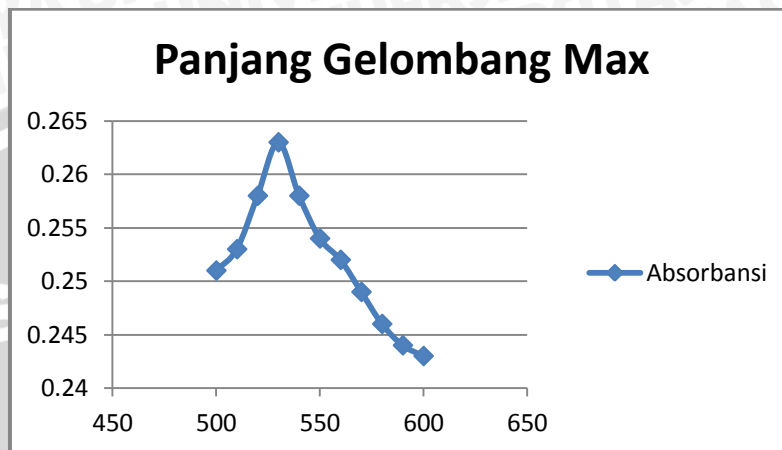
Supernatan

- dimasukkan dalam tabung reaksi baru
- diinkubasi dalam waterbath pada suhu 100° selama 30 menit
- dibiarkan pada suhu ruang
- diukur absorbansinya pada λ 530 nm
- diplotkan pada kurva standart

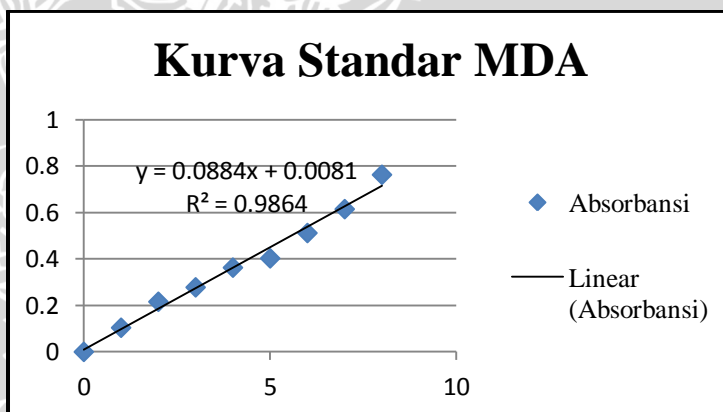
Kadar Malondialdehida

Lampiran 10. Panjang Gelombang Maksimum dan Kurva Standar MDA

λ	Absorbansi
500	0,251
510	0,253
520	0,258
530	0,263
540	0,258
550	0,254
560	0,252
570	0,249
580	0,246
590	0,244
600	0,243



Konsentrasi	Absorbansi
0	0
1	0,104
2	0,216
3	0,278
4	0,363
5	0,403
6	0,512
7	0,615
8	0,763



Lampiran 11. Data Nilai Absorbansi dan Perhitungan Kadar MDA

Perlakuan	Ulangan	Absorbansi (A)	Kadar MDA (mg/ml)	Rata-Rata	Standar Deviasi (SD)
Normal	1	0,047	0,440	0,318	0,087
	2	0,033	0,281		
	3	0,029	0,236		
	4	0,036	0,315		
Kontrol Hipertensi	1	0,075	0,756	0,612	0,097
	2	0,057	0,553		
	3	0,057	0,553		
	4	0,060	0,587		
Kontrol hipertensi terapi captopril 5 mg/kgBB	1	0,053	0,507	0,522	0,029
	2	0,052	0,496		
	3	0,054	0,519		
	4	0,058	0,564		
Kontrol hipertensi terapi WSE yoghurt 300 mg/kgBB	1	0,060	0,587	0,493	0,068
	2	0,049	0,462		
	3	0,046	0,428		
	4	0,052	0,496		
Kontrol hipertensi terapi WSE yoghurt 600 mg/kgBB	1	0,041	0,372	0,431	0,083
	2	0,057	0,553		
	3	0,045	0,417		
	4	0,042	0,383		

Nilai absorbansi yang diperoleh, dihitung menggunakan rumus kurva baku MDA yaitu $Y = 0,0884x + 0,008$ untuk memperoleh kadar MDA

Contoh perhitungan kadar MDA :

$$Y = 0,0884x + 0,008$$

$$0,047 = 0,0884x + 0,008$$

$$x = (0,047 - 0,0081) / 0,0884$$

$$x = 0,440$$

Lampiran 12. Pembuatan Preparat Histopatologi Aorta Abdominalis (Wati,dkk., 2013)

a. *Embedding* Aorta

Aorta Abdominalis

- direndam dalam larutan formaldehid 10%
- direndam dalam etanol 70% selama 24 jam
- dipindahkan dalam etanol 80% selama dua jam
- direndam dalam etanol 90% selama 20 menit
- direndam dalam etanol 95% selama 20 menit
- direndam dalam etanol absolut selama 20 menit dan diulang 3 kali
- dimasukkan pada larutan xilol I selama 20 menit
- dimasukkan pada larutan xilol II selama 20 menit
- dimasukkan pada larutan xilol III selama 30 menit pada suhu 60-63°C
- dicelupkan dalam parafin cair yang telah dituang ke dalam wadah

Aorta abdominalis dalam blok parafin

b. Pembuatan Preparat Aorta Abdominalis

Aorta Abdominalis dalam blok parafin

- dimasukkan pada penjepit mitokrom dan diatur sejajar dengan mata pisau
- dipotong dengan ukuran 5 μ L
- diambil irisan dengan kuas dan dimasukkan air pada suhu ruang
- dipindahkan hasil irisan dengan kuas ke dalam air hangat 38-40°C
- diambil irisan yang terentang sempurna dengan *object glass*
- dikeringkan dan diletakkan di atas *hot plate* 38-40°C hingga kering
- disimpan dalam inkubator pada suhu 38-40°C selama 24 jam

Pewarnaan preparat Aorta Abdominalis



c. Pewarnaan *Hematoxylin Eosin*

Preparat Aorta Abdominalis

- dideparafinasi dengan dimasukkan dalam xilol bertingkat 1-3 masing-masing selama 5 menit
- direhidrasi dengan dimasukkan dalam etanol absolut bertingkat 1-3 masing-masing 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 95% selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 90% selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 80% selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 70% selama 5 menit
- direndam dalam akuades selama 5 menit
- dimasukkan dalam pewarna hematoxylen hingga diperoleh hasil warna terbaik kurang lebih 10 menit
- dicuci dengan air mengalir selama 30 menit
- direndam dalam akuades untuk menghilangkan kelebihan eosin
- dimasukkan dalam etanol 80% selama 5 detik
- dimasukkan dalam etanol 90% selama 5 detik
- dimasukkan dalam etanol 95% selama 5 detik
- dimasukkan ke dalam etanol absolut 1-3 selama 2 menit
- dimasukkan pada xilol I
- dimasukkan pada xilol II
- dikeringanginkan
- dilakukan *mounting* dengan entellan

Preparat Aorta Abdominalis

Lampiran 13. Data Hasil dan Uji Statistik Kadar Malondialdehida (MDA)

a. Uji Statistik Normal

		Perlakuan	MDA
N		20	20
Normal Parameters ^a	Mean	3.0000	.47525
	Std. Deviation	1.45095	.121495
Most Extreme Differences	Absolute	.155	.129
	Positive	.155	.129
	Negative	-.155	-.118
Kolmogorov-Smirnov Z		.692	.576
Asymp. Sig. (2-tailed)		.725	.894

Test distribution is Normal

b. Uji Homogenitas

MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.828	4	15	.528

(*p*-value > α , 0,528 > 0,05)

c. Uji ANOVA Kadar Malondialdehida (MDA)

ANOVA

MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.192	4	.048	8.083	.001
Within Groups	.089	15	.006		
Total	.280	19			

{ $p < 0,05$. F hitung (8,083) > F tabel }

MDA

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Kontrol hipertensi	-.294250*	.054430	.001	-.46232	-.12618
	Captopril 5 mg/kgBB	-.203500*	.054430	.014	-.37157	-.03543
	WSE yoghurt 300 mg/kgBB	-.175250*	.054430	.039	-.34332	-.00718
	WSE yoghurt 600 mg/kgBB	-.113250	.054430	.278	-.28132	.05482
Hipertensi	Normal	.294250*	.054430	.001	.12618	.46232
	Captopril 5 mg/kgBB	.090750	.054430	.481	-.07732	.25882
	WSE yoghurt 300 mg/kgBB	.119000	.054430	.237	-.04907	.28707
	WSE yoghurt 600 mg/kgBB	.181000*	.054430	.032	.01293	.34907
Captopril 5 mg/kgBB	Normal	.203500*	.054430	.014	.03543	.37157
	Kontrol hipertensi	-.090750	.054430	.481	-.25882	.07732
	WSE yoghurt 300 mg/kgBB	.028250	.054430	.984	-.13982	.19632
	WSE yoghurt 600 mg/kgBB	.090250	.054430	.486	-.07782	.25832
WSE yoghurt 300 mg/kgBB	Normal	.175250*	.054430	.039	.00718	.34332
	Kontrol hipertensi	-.119000	.054430	.237	-.28707	.04907
	Captopril 5 mg/kgBB	-.028250	.054430	.984	-.19632	.13982
	WSE yoghurt 600 mg/kgBB	.062000	.054430	.784	-.10607	.23007
WSE yoghurt 600 mg/kgBB	Normal	.113250	.054430	.278	-.05482	.28132
	Kontrol hipertensi	-.181000*	.054430	.032	-.34907	-.01293
	Captopril 5 mg/kgBB	-.090250	.054430	.486	-.25832	.07782
	WSE yoghurt 300 mg/kgBB	-.062000	.054430	.784	-.23007	.10607

Kadar MDA

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Normal	4	.31800		
WSE yoghurt 600 mg/kgBB	4	.43125	.43125	
WSE yoghurt 300 mg/kgBB	4		.49325	.49325
Captopril 5 mg/kgBB	4		.52150	.52150
Hipertensi	4			.61225
Sig.		.278	.486	.237



Lampiran 14. Perhitungan Prosentase Kadar MDA

Perlakuan	Rata-rata Kadar MDA Tikus (mg/ml)	% Penurunan Kadar MDA
Normal (A)	0,318 ± 0,087a	-
Hipertensi (B)	0,612 ± 0,097c	-
Terapi captopril 5 mg/kgBB (C)	0,522 ± 0,029bc	14,7
Terapi WSE yoghurt 300 mg/kgBB (D)	0,493 ± 0,068bc	19,4
Terapi WSE yoghurt 600 mg/kgBB (E)	0,431 ± 0,083ab	29,5

Rumus penurunan kadar MDA kelompok terapi terhadap kelompok hipertensi :

$$\frac{\text{Rataan kadar MDA kel.hipertensi} - \text{Rataan kadar MDA kel.terapi}}{\text{Rataan kadar MDA kelompok hipertensi}} \times 100\%$$

- Prosentase kadar MDA terapi captopril 5 mg/kgBB :

$$\frac{0,612 - 0,522}{0,612} \times 100\% = 14,7 \%$$

- Prosentase kadar MDA terapi WSE yoghurt 300 mg/kgBB :

$$\frac{0,612 - 0,493}{0,612} \times 100\% = 19,4 \%$$

- Prosentase kadar MDA terapi WSE yoghurt 600 mg/kgBB :

$$\frac{0,612 - 0,431}{0,612} \times 100\% = 29,5 \%$$

