

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SUKUN
(*ARTOCARPUS ALTILIS*) TERHADAP KADAR MDA
DAN SOD DUODENUM TIKUS PUTIH MODEL
INFLAMMATORY BOWEL DISEASE**

SKRIPSI

Oleh:
RATIH AMELIA
155130107111011



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Kadar MDA dan SOD Duodenum Tikus Putih Model Inflammatory Bowel Disease**

Oleh:
RATIH AMELIA
155130107111011

Setelah dipertahankan di depan Mejlis Penguji pada tanggal 14 Mei 2019 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Sasangka Prasetyawan, MS
NIP. 19630404 198701 1 001

drh. Herlina Pratiwi, M.Si.
NIP. 19870518 201012 2 010

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarminto Yuwono, M.App.Sc
NIP. 19631216 198803 1 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Ratih Amelia
NIM : 155130107111011
Program Studi : Kedokteran Hewan
Penulis Skripsi berjudul :

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Kadar MDA dan SOD Duodenum Tikus Putih Model Inflammatory Bowel Disease

Dengan ini menyatakan bahwa:

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

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 14 Mei 2019
Yang menyatakan,

Ratih Amelia
NIM. 155130107111011

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Kadar MDA dan SOD Duodenum Tikus Putih Model Inflammatory Bowel Disease

ABSTRAK

Salah satu penyakit pencernaan adalah Inflammatory Bowel Disease (IBD). Inflammatory Bowel Disease dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor seperti efek negatif Obat Anti Inflamasi Non Steroidal (OAINS) seperti indometasin. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk terapi penyakit adalah tanaman sukun yang merupakan tanaman asli Indonesia di mana daunnya telah digunakan secara tradisional dalam pengobatan berbagai macam penyakit contohnya seperti penyakit pencernaan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek terapi ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap inflammatory bowel disease (IBD) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) berdasarkan kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan *Superoxide Dismutase* (SOD) pada duodenum. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* jantan umur 12 minggu dengan berat badan 150-250 gram dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu K1 (kontrol negatif), K2 (kontrol positif yang diinduksi 15mg/kg BB indometasin), K3, K4, dan K5 merupakan kelompok terapi ekstrak daun sukun dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB tikus putih yang sebelumnya telah diinduksi indometasin 15mg/kgBB. Induksi indometasin dilakukan satu kali pada hari ke 8. Terapi ekstrak daun sukun dengan cara sonde lambung dimulai dari hari ke 9 sekali sehari selama 14 hari. Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan metode TBA dan pengukuran kadar SOD dilakukan dengan metode NBT, kemudian dianalisis dengan metode statistik *one way* ANOVA. Hasil penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dengan dosis 400 mg/kgBB lebih efektif menurunkan kadar MDA, sedangkan dosis 200mg/kgBB dan 400mg/kgBB efektif untuk meningkatkan kadar SOD pada tikus model Inflammatory Bowel Disease.

Kata Kunci : daun sukun, Inflammatory Bowel Disease, OAINS, MDA, SOD.

The Effect of Breadfruit Leaf Extract (*Artocarpus altilis*) on MDA and SOD Levels of White Rat Duodenum Inflammatory Bowel Disease Model

ABSTRACT

Inflammatory Bowel Disease (IBD) is One of the digestive diseases. Inflammatory Bowel Disease can be caused by various factors such as the negative effects of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) such as indomethacin. The plant used as traditional medicine for the treatment of diseases is breadfruit plants which are native to Indonesia where the leaves have been used traditionally in the treatment of various diseases, such as digestive diseases. The purpose of this study was to determine the therapeutic effects of breadfruit leaf extract (*Artocarpus altilis*) on inflammatory bowel disease (IBD) in white rats (*Rattus norvegicus*) based on levels of Malondialdehyde (MDA) and Superoxide Dismutase (SOD) in the duodenum. This study used a completely randomized design with 20 male white rats (*Rattus norvegicus*) of Wistar strain aged 12 weeks with a weight of 150-250 grams divided into 5 groups, namely K1 (negative control), K2 (positive control induced 15 mg / kg BW indomethacin), K3, K4, and K5 were groups of breadfruit leaf extract therapy dose of 100 mg / kg, 200 mg / kg body weight, 400 mg / kg body weight white rats after induced 15mg/kgBW indomethacin. Indomethacin induction was done once on the 8th day. Breadfruit leaf extract therapy by method of gastric sonde starts from day 9 once a day for 14 days. MDA level measurement was carried out by the TBA method and SOD level measurement was carried out using the NBT method, then analyzed by one-way ANOVA statistical methods. The results of this study are the administration of breadfruit leaf extract (*Artocarpus altilis*) at a dose of 400 mg / kgBB more effective than MDA levels, while the dosages of 200mg / kgBW and 400mg / kgBB are effective for increasing SOD levels in white rats models of Inflammatory Bowel Disease.

Keywords : *Breadfruit leaf, Inflammatory Bowel Disease, NSAIDs, MDA, SOD.*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa atas berkat dan anugerah-Nya penulis dapat menyusun skripsi dengan judul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Kadar MDA dan SOD Duodenum Tikus Putih Model Inflammatory Bowel Disease”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

Skripsi ini disusun berdasarkan literatur yang penulis peroleh dari berbagai referensi. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Dr.Sasangka Prasetyawan, MS dan drh. Herlina Pratiwi, M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah menyisihkan waktunya untuk membimbing penulisan skripsi ini.
2. drh. Albiruni Haryo, M.Sc dan drh. Aldila Noviatry, M.Biomed. selaku penguji yang telah bersedia untuk menjadi dosen penguji dalam skripsi ini.
3. Dr. Ir. Sudarminto Yuwono, M.App.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
4. Keluarga tercinta yang selalu memberi kasih sayang, dorongan, dukungan, dan doa untuk menyelesaikan studi penulis serta perhatiannya akan kebutuhan penulis baik secara moril maupun materi.
5. Semua dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

6. Seluruh kolegium Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca untuk itu saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Malang, 14 Mei 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Inflammatory Bowel Disease	7
2.2 Obat Antiinflamasi Nonsteroid (OAINS)	9
2.3 Tanaman Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	12
2.3.1 Klasifikasi Tanaman Sukun	12
2.3.2 Morfologi Daun Sukun	12
2.3.3 Kandungan Gizi dan Kimia Daun Sukun	13
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	15
2.4.1 Duodenum Tikus Putih	16
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	18
3.1 Kerangka Konsep	18
3.2 Hipotesis Penelitian	21
BAB 4. METODE PENELITIAN	22
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	22
4.2 Sampel Penelitian	22
4.3 Rancangan Penelitian	23
4.4 Variabel Penelitian	23
4.5 Materi Penelitian	24
4.6 Prosedur Penelitian	24
4.6.1 Pembuatan Ekstrak Daun Sukun	24
4.6.2 Periapan Hewan Coba	25
4.6.3 Persiapan Hewan Model IBD Induksi Indometasin	26
4.6.4 Tata Laksana Pemberian Terapi Ekstrak Daun Sukun	26
4.6.5 Pengambilan Organ	27
4.6.6 Pengukuran Kadar MDA	27

4.6.7 Pengukuran Kadar SOD.....	28
4.7 Analisis Data.....	29
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
5.1 Pembuatan Hewan Model Inflammatory Bowel Disease Induksi Indometasin.....	30
5.2 Pengaruh Ekstrak Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>) terhadap Inflammatory Bowel Disease induksi Indometasin pada Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) Berdasarkan Kadar <i>Malondialdehyde</i> (MDA) Duodenum	31
5.3 Pengaruh Ekstrak Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>) terhadap Inflammatory Bowel Disease induksi Indometasin pada Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) Berdasarkan Kadar <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) Duodenum	39
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
6.1 Kesimpulan	45
6.2 Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN	52



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kandungan Senyawa Antioksidan Fenolik, Flavonoid dan Tanin.....	13
5.1 Data perhitungan rata-rata kadar MDA dan hasil uji Tukey HSD.....	33
5.2 Data perhitungan rata-rata kadar SOD dan hasil uji Tukey HSD	41



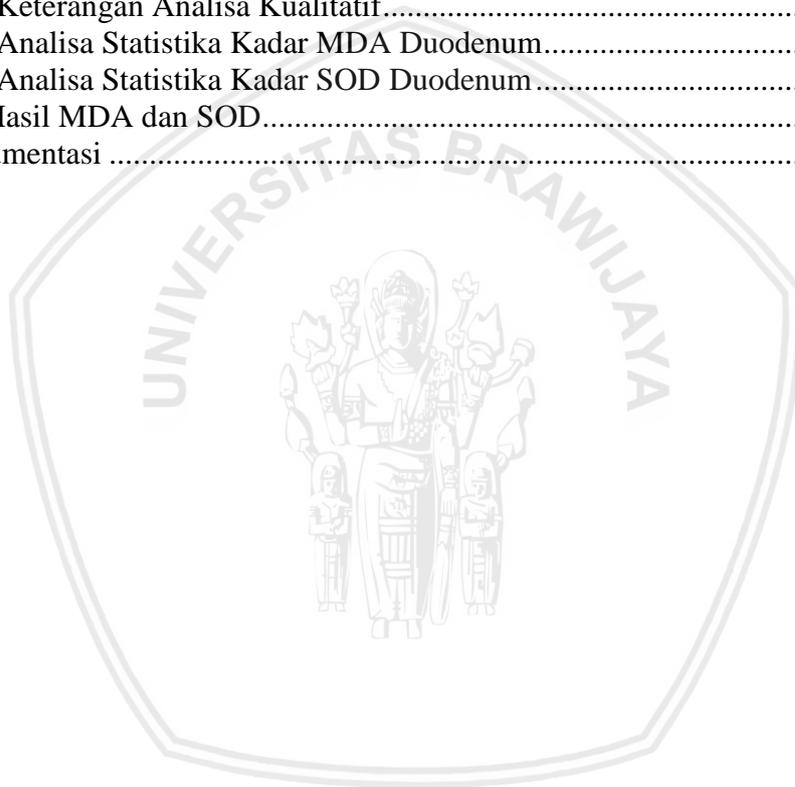
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Mekanisme kerusakan usus akibat penghambatan COX-1 oleh indometasin	11
5.1 Gambar gejala IBD yang timbul pada semua kelompok yang diinduksi indometasin (kelompok kontrol positif, kelompok 3, kelompok 4, dan kelompok 5); [A] Nyeri perut; [B] Melena (Hari ke 9); [C] Diare (Hari ke 10)	31
5.2 Gambar perbedaan feses normal dan feses tikus yang terkena IBD; (A) Feses normal (kelompok kontrol negatif) tikus berwarna coklat gelap; (B) Feses tikus yang terkena IBD (kelompok kontrol positif, kelompok 3, kelompok 4, dan kelompok 5) berwarna hitam atau melena	31
5.3 Grafik rata-rata kadar MDA.....	34
5.4 Grafik rata-rata kadar SOD	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Penelitian	53
2. Perhitungan Dosis Terapi Ekstrak Daun Sukun	54
3. Langkah Kerja Penelitian	55
4. Surat Keterangan Laik Etik	59
5. Determinasi Tanaman Sukun	60
6. Surat Keterangan Analisa Kualitatif.....	62
7. Hasil Analisa Statistika Kadar MDA Duodenum.....	64
8. Hasil Analisa Statistika Kadar SOD Duodenum.....	68
9. Data Hasil MDA dan SOD.....	72
10. Dokumentasi	73



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
%	Persen
<	Kurang dari
>	Lebih dari
gr	Gram
mm	Milimeter
mL	Mililiter
ANOVA	<i>Analisis Of Varian</i>
BB	Berat badan
BW	<i>Body Weight</i>
COX-1	<i>Cyclooxygenase 1</i>
IBD	<i>Inflammatory Bowel Disease</i>
MDA	Malondialdehid
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
NSAIDs	Non Steroid Antiinflammation Drugs
OAINS	Obat Anti Inflamasi Non Steroidal
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PUFA	<i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
RNS	<i>Reactive Nitrit Species</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Spesies</i>
SOD	Superdioksida Dismutase
TBA	Thiobarbituric Acid

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflammatory Bowel Disease (IBD) adalah salah satu penyakit pencernaan yang mempunyai variasi insidensi yang tinggi.. Loftus (2004) menyatakan bahwa angka insidensi dan prevalensi tertinggi IBD adalah di Eropa Utara, Inggris, dan Amerika Utara. Inflammatory Bowel Disease dilaporkan terjadi peningkatan insidensi dan prevalensi di Eropa Tengah dan Selatan, Asia, Afrika, dan Amerika Latin. Insidensi IBD di area Asia masih rendah, namun angkanya menunjukkan peningkatan bila dibandingkan dengan 20 tahun yang lalu (Ng *et al.*, 2013).

Penyakit IBD dapat juga terjadi pada hewan peliharaan. Salah satu contoh kasusnya terjadi pada anjing. Gejala klinis IBD pada anjing hampir sama dengan gejala klinis pada manusia. Gejala yang paling umum adalah terjadi penurunan berat badan, peningkatan frekuensi muntah atau diare (Fitri *et al.*, 2018).

Penyebab IBD ada berbagai macam, salah satunya yaitu efek samping dari penggunaan OAINS seperti indometasin (Dursun *et al.*, 2009). Penggunaan jangka panjang dari OAINS menyebabkan efek samping yang bervariasi mulai dari gejala seperti mual dan dispepsia sampai komplikasi ulserasi (Lopez-Pintor and Lumbreras, 2011). Efek samping dari penggunaan OAINS juga ditemukan terhadap sistem gastrointestinal seperti lesi mukosa,

perdarahan, ulserasi peptikum, dan inflamasi dari usus yang akan berkembang menjadi perforasi, striktur pada usus halus, dan akan berkembang menjadi masalah kronik. Beberapa efek samping dari penggunaan OAINS mungkin asimtomatik, tetapi pada banyak kasus dilaporkan, bahwa kejadian ini dapat mengancam jiwa (Sinha and Gautam, 2013).

Berdasarkan penelitian Aulanni'am *et al.* (2012), pemberian indometasin dengan dosis 15mg/kg BB secara per oral dapat digunakan untuk menghasilkan duodenum yang mengalami inflammatory bowel disease (IBD) akut. Indometasin bekerja memblokir jalur cyclooxygenase 1 (COX-1) yang mengakibatkan penurunan sintesa prostaglandin dan jumlah mucus pada saluran pencernaan. Berkurangnya jumlah mucus akan menyebabkan gangguan keseimbangan mikroflora dan hilangnya barrier mucus duodenum sehingga memudahkan invasi enterobakteri hingga terjadinya inflamasi. Invasi bakteri menyebabkan aktivasi makrofag, aktivasi neutrophil, induksi Inos, produksi radikal NO[•], pembentukan peroksi nitrit (RNS) dan pembentukan oksigen radikal (ROS) sehingga menyebabkan kerusakan usus (Takeuchi *et al.*, 2010). Pada sel, ROS dapat bereaksi dengan phospholipid membran menghasilkan peroksidasi lipid dengan produk akhir malondialdehid (MDA) yang akan menginisiasi reaksi berantai. Malondialdehid akan menyebabkan kerusakan fungsi membran dan menginaktifkan reseptor dan enzim yang terdapat pada membran, serta meningkatkan permeabilitas jaringan (Khenouf *et al.*, 2010).

Jumlah MDA dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan sel atau jaringan akibat dari peningkatan aktivitas peroksidasi lipid. Konsentrasi MDA yang semakin tinggi maka akan berbanding lurus dengan kadar ROS, namun berbanding terbalik dengan kadar antioksidan (Utari, 2011). Di antara antioksidan yang paling kritis yang mampu memperbaiki efek tekanan (stress) oksidatif adalah enzim superoxide dismutase (SOD) (Nurhayati *et al.*, 2011). Dapat disimpulkan bila kadar ROS meningkat, maka kadar MDA pun akan meningkat, sedangkan kadar SOD menurun.

Obat tradisional banyak digunakan oleh masyarakat, terutama kalangan menengah ke bawah. Obat tradisional adalah obat jadi atau ramuan bahan alam yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral, sediaan galenic atau campuran bahan-bahan tersebut yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Obat tradisional yang berasal dari tanaman lebih banyak digunakan jika dibandingkan dengan obat tradisional yang berasal dari hewan atau mineral (Katno dan Pramono, 2008). Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk terapi penyakit adalah tanaman sukun. Tanaman sukun merupakan tanaman asli Indonesia di mana daunnya telah digunakan secara tradisional dalam pengobatan berbagai macam penyakit (Wang, 2007).

Hariana (2011) mengatakan tanaman sukun kaya dengan senyawa saponin terutama pada batang dan daun. Berdasarkan beberapa penelitian, flavonoid dalam daun sukun dapat digunakan sebagai anti-inflamasi, antiplatelet (kolesterol yang menggumpal dalam pembuluh darah),

antioksidan, antimalaria, antimikroba, antikanker, dan sebagainya. Umumnya, masyarakat menggunakan daun sukun untuk mengobati penyakit liver, hepatitis, sakit gigi, gatal-gatal, jantung, ginjal, diare, sakit perut, membantu pencernaan dan metabolisme (Harmanto, 2012).

Dari latar belakang di atas maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh preventif pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan kadar *Super Oxide Dismutase* SOD duodenum pada tikus (*Rattus novergicus*) model inflammatory bowel disease induksi indometasin yang sesuai dengan rumusan masalah seperti di bawah ini.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah yang didapat adalah :

1. Apakah pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) mempunyai efek terhadap inflammatory bowel disease pada tikus putih (*Rattus novergicus*) berdasarkan penurunan kadar *Malondialdehyde* (MDA) ?
2. Apakah pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) mempunyai efek terhadap inflammatory bowel disease pada tikus putih (*Rattus novergicus*) berdasarkan peningkatan kadar *Super Oxide Dismutase* SOD?

1.3 Batasan Masalah

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

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan usia 8-12 minggu dengan berat antara 150-250 gram. Induksi indometasin diberikan menggunakan sonde lambung dengan dosis 15mg/kg BB selama 1 hari. Penggunaan hewan coba akan diajukan sertifikat laik etik di Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya (KEP-UB).
2. Pembuatan ekstrak daun sukun dengan cara ekstraksi dengan menggunakan etanol di UPT. Materia Medica Batu.
3. Ekstrak daun sukun diberikan satu kali dalam sehari dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB dengan menggunakan sonde (Tandi *et al.*, 2017).
4. Kadar MDA dan SOD diukur menggunakan metode spektrofotometer (Rukmini *et al.*, 2004).

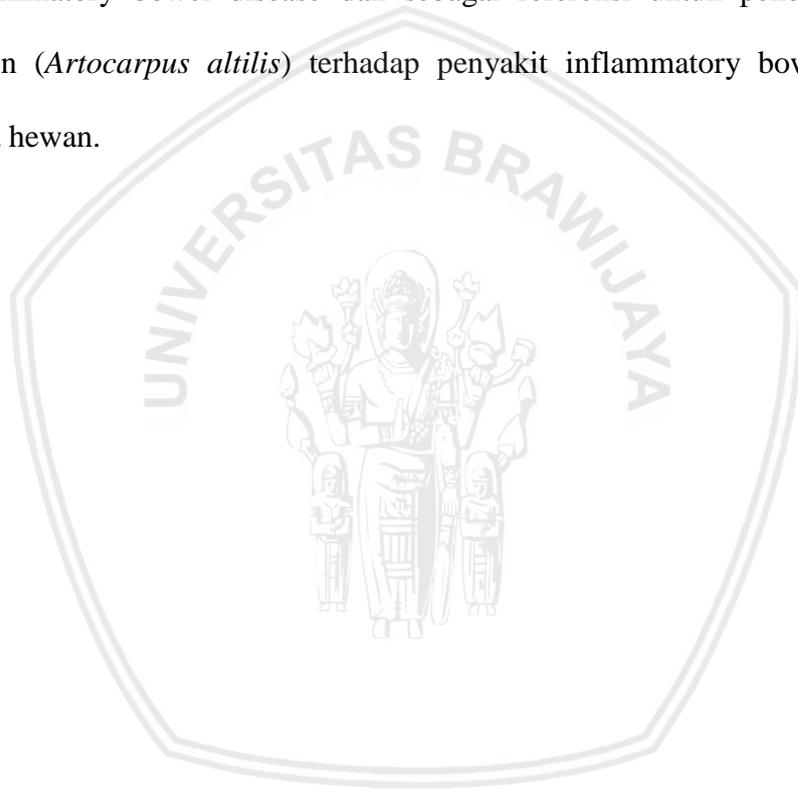
1.4 Tujuan Penelitian

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

1. Mengetahui efek ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) inflammatory bowel disease pada tikus putih (*Rattus novergicus*) berdasarkan penurunan kadar *Malondialdehyde* (MDA).
2. Mengetahui efek ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) inflammatory bowel disease pada tikus putih (*Rattus novergicus*) berdasarkan peningkatan *Super Oxide Dismutase* (SOD).

1.5 Manfaat

Memberikan informasi tentang pemanfaatan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai obat herbal untuk upaya pengobatan inflammatory bowel disease dan sebagai referensi untuk penelitian daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap penyakit inflammatory bowel disease pada hewan.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Inflammatory Bowel Disease

Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan salah satu penyakit yang terdapat pada intestinal hewan dengan gejala inflamasi dan adanya infiltrasi seluler pada mukosa lambung, usus halus dan usus besar (Hall, 2012). Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan penyakit peradangan usus yang memiliki gejala antara lain, diare, sembelit, rasa nyeri pada perut, sendawa dan kembung. IBD ini dibagi menjadi dua sub tipe klinis, yaitu Crohn's disease (CD) dan ulcerative colitis (UC). Crohn's disease merupakan inflamasi yang terjadi pada bagian yang lapisan dinding usus dan bagian saluran pencernaan meliputi mulut, esophagus, perut dan usus halus, sedangkan UC hanya terbatas pada usus besar, rektum dan peradangan terjadi pada lapisan usus (Korpacka *et al.*, 2009). Penyebab IBD ada berbagai macam. Beberapa faktor penyebab diantaranya seperti *Gastro Intestinal lymphoid tissue* (GALT), kecacatan permeabilitas, genetik, iskemik, biokimia dan kelainan psikosomatik, infeksi dan agen parasit, alergen diare, dan efek negatif obat-obatan salah satunya yaitu efek samping dari penggunaan indometasin. Temuan terbaru menunjukkan penyebab lain berupa reaksi hipersensitifitas terhadap antigen contohnya makanan, bakteri, mukus, sel epitel di dalam lumen intestinal atau di mukosa (Defarges, 2016; Neiger, 2014; Dursun *et al.*, 2009).

Diagnosis inflammatory bowel disease dilakukan berdasarkan pada pemeriksaan histopatologi, endoskopi, dan pemeriksaan laboratorium termasuk penghitungan leukosit, biomarker peradangan dan pemeriksaan feses. Endoskopi dan biopsi merupakan standar diagnosis untuk inflammatory bowel disease karena dapat menggambarkan aktivitas penyakit (Friedman and Blumberg, 2005).

Menurut Winarsi (2011) dalam Malysa (2014), malondialdehida merupakan produk akhir peroksidasi lemak tak jenuh dalam tubuh oleh radikal bebas. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$. Peningkatan kadar malondialdehida dipengaruhi oleh peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga MDA merupakan marker untuk mengetahui stress oksidatif dalam sel. Pembentukan MDA melibatkan radikal bebas dan asam lemak yang memiliki ikatan rangkap (PUFA). Reaksi radikal bebas (OH) dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) tersebut terjadi secara berantai, akibat akhir dari reaksi rantai tersebut akan terbentuk hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida tersebut dapat menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehid yang bersifat toksik terhadap sel dan berbeda panjang rantainya, antara lain MDA, yang merupakan salah satu aldehid utama yang terbentuk (Mudasir, 2012).

Malondialdehida (MDA) selain produk dari peroksidasi lipid juga merupakan metabolit komponen sel yang dihasilkan oleh radikal bebas. Konsentrasi MDA yang semakin tinggi akan berbanding lurus dengan kadar ROS, namun berbanding terbalik dengan kadar antioksidan. Senyawa

MDA diketahui bersifat toksik terhadap sel. Jumlah MDA dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan sel atau jaringan akibat dari peningkatan aktivitas peroksidasi lipid (Utari, 2011).

Antioksidan merupakan senyawa untuk menetralkan radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan cara menyerahkan elektronnya sehingga membuat radikal bebas menjadi bentuk molekul normal dan dapat menghentikan kerusakan sel lebih lanjut. Terdapat dua macam antioksidan yaitu alami baik yang diproduksi oleh tubuh sendiri seperti Super Oxide Dismutase (SOD), katalase dan Glutation peroksidase (GSH.Prx) (Panglossi, 2006; Purboyo, 2009). Di antara antioksidan yang paling kritis yang mampu memperbaiki efek tekanan (stress) oksidatif adalah enzim superoxide dismutase (SOD) atau superoksida dismutase (Nurhayati *et al.*, 2011).

2.2 Obat Anti-Inflamasi Non-Steroid (OAINS)

Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS) pertama kali ditemukan oleh seorang ilmuwan Jerman pada tahun 1829, yaitu golongan salisilat berasal dari tanaman willow bark, pada saat ini dikenal dengan nama Aspirin. Pada tahun 1960 didapatkan OAINS kedua yaitu indometasin. Selanjutnya perkembangan dalam produksi OAINS sampai saat ini melebihi dari 30 jenis yang berasal dari golongan dengan sifat kimiawi berbeda. Meskipun demikian efektifitas klinik dari obat-obat ini memberikan hasil yang hampir sama (Adebayo and Bjarnason 2006, Wallace 2008).

Indometasin merupakan salah satu OAINS yang biasa digunakan untuk pengobatan pada arteritis dan inflamasi (Matsui *et al.*, 2011; Laudanno,

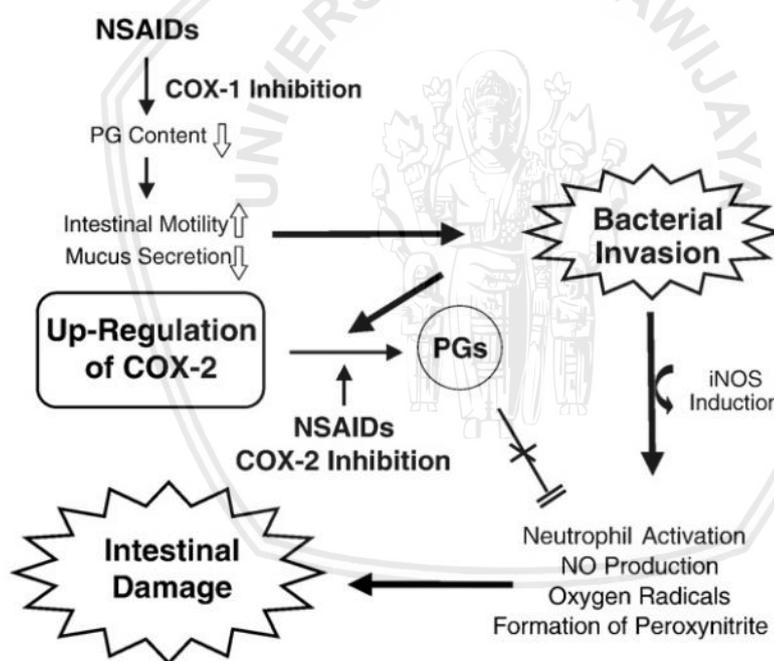
2006). Dosis terapi indometasin mempunyai efek samping yakni menyebabkan inflamasi pada saluran pencernaan manusia dan hewan (Bures, 2011).

Berdasarkan penelitian Aulanni'am *et al.* (2012), pemberian indometasin dengan dosis 15mg/kg BB secara per oral dapat digunakan untuk menghasilkan duodenum yang mengalami inflammatory bowel disease (IBD) akut. Indometasin bekerja memblokir jalur cyclooxygenase 1 (COX-1) yang mengakibatkan penurunan sintesis prostaglandin dan jumlah mucus pada saluran pencernaan. Berkurangnya jumlah mucus akan menyebabkan gangguan keseimbangan mikroflora dan hilangnya barrier mucus duodenum sehingga memudahkan terjadinya inflamasi.

Reactive oxygen species seperti O_2 dan OH dilepaskan dan pengaktifan sel imun dan sel inflamasi menyebabkan kerusakan pada mukosa usus. Pada sel, ROS dapat bereaksi dengan phospholipid membran menghasilkan peroksidasi lipid dengan produk akhir malondialdehid (MDA) yang akan menginisiasi reaksi berantai. Malondialdehid akan menyebabkan kerusakan fungsi membran dan menginaktifkan reseptor dan enzim yang terdapat pada membran, serta meningkatkan permeabilitas jaringan (Khennouf *et al.*, 2010).

Mekanisme kerusakan usus akibat OAINS ditunjukkan oleh **Gambar 2.1**. Obat antiinflamasi non steroid menyebabkan penurunan prostaglandin mukosa (inhibisi COX-1). Penurunan prostaglandin mukosa maka tidak ada perlindungan terhadap mukosa yang dilanjutkan dengan adanya invasi

enterobakteri. Invasi bakteri menyebabkan aktivasi makrofag, aktivasi neutrophil, induksi Inos, produksi radikal NO^- , pembentukan peroksi nitrit (RNS) dan pembentukan oksigen radikal (ROS) sehingga menyebabkan kerusakan usus. Penghambatan COX-1 sebenarnya dapat meningkatkan pengaturan ekspresi COX-2, tetapi karena indometasin dapat menghambat COX-2 maka produksi prostaglandin dapat ditekan. Oleh karena itu, OAINS dapat meredakan gejala peradangan seperti nyeri, tetapi dapat menyebabkan kerusakan usus (Takeuchi *et al.*, 2010).



Gambar 2.1 Mekanisme kerusakan usus akibat penghambatan COX-1 oleh indometasin (Takeuchi *et al.*, 2010).

Metabolisme indometasin akan menghasilkan metabolit imunokuinon yang sangat reaktif. Imunokuinon dapat menginduksi terjadinya inflamasi dan memicu kerusakan pada jaringan usus halus. Hal ini menyebabkan perubahan struktur dan memperlambat sistem pertahanan sel-sel penyusun mukosa usus

halus. Peningkatan imunokuinon akan memicu terjadinya stress oksidatif. Stress oksidatif selanjutnya akan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah proses oksidasi asam lipid tidak jenuh berantai panjang (polyunsaturated fatty acids) pada membrane sel yang menghasilkan radikal peroksida-lipid, hidroperoksida, dan produk aldehida, misalnya malondialdehida (MDA) (Niedemhofer *et al.*, 2003).

2.3 Tanaman Sukun

2.3.1 Klasifikasi Tanaman Sukun

Tanaman sukun menurut Shabella (2012) di klasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Urticales

Famili : Moraceae

Genus : Artocarpus

Spesies : Artocarpus altilis

2.3.2 Morfologi Daun Sukun

Daun sukun tergolong besar, lebar, kaku, dan tebal seperti belulang. Ukurannya 30-60 cm x 20-40 cm. Warna daun di sebelah atas hijau tua mengkilap, di sebelah bawah berwarna hijau pucat dan kasar. Daun ini berbulu halus. Pangkal daun utuh dan kukuh, panjangnya

sekitar 3-5 cm. Tepi daun bercangap atau melekok sekitar $\frac{3}{4}$ daun (Angkasa dan Nazaruddin, 1994).

2.3.3 Kandungan Gizi dan Kimia Daun Sukun

Beberapa penelitian disebutkan bahwa daun sukun (*Artocarpus altilis*) memiliki kandungan kimia seperti flavonoida, saponin dan tanin. Saponin bersifat membranpermeabilising, hemolitik, antioksidan, anti-inflamasi, imunostimulan dan antikarsinogenik, mereka mempengaruhi konsumsi pakan, pertumbuhan dan reproduksi pada hewan, dan dapat digunakan sebagai fungisida, moluskisida dan insektisida, serta dapat diaplikasikan terhadap beberapa bakteri dan virus (Geyter *et al.*, 2007).

Daun Sukun ditemukan senyawa turunan flavonoid jenis piranoflavon, yaitu siklokomunin, siklokomunol dan sikloartokarpin (Hakim, 2007). Kandungan fenolik, flavonoid, dan tanin yang merupakan senyawa antioksidan dari Daun Sukun berfungsi sebagai penangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan tidak hanya ditentukan oleh kandungan fenolik dan flavonoid saja tetapi juga oleh senyawa lain yang ada dalam makanan seperti phenylpropanoids dan anthocyanin (Suryanto dan Wehantouw, 2009; Dilworth *et al.*, 2012). Flavonoid juga dapat berfungsi sebagai antibiotik yang mengganggu fungsi mikroorganisme seperti bakteri atau virus (Harmanto, 2012).

Tabel 2.1 Kandungan Senyawa Antioksidan Fenolik, Flavonoid dan Tanin.

Pelarut	Fenolik total (mg/kg)	Flavonoid total (mg/kg)	Tanin (mg/kg)
Methanol	179,89 ± 3,17	17,74 ± 0,41	74,80 ± 0,71
Ethanol	152,55 ± 3,17	13,75 ± 0,69	71,80 ± 0,35
Aseton	62,46 ± 1,31	5,64 ± 0,98	38,80 ± 0,71

(Suryanto dan Wehantouw, 2009).

Senyawa flavonoid yang dihasilkan dari Daun Sukun memiliki aktivitas inhibitor enzim α -Glukosidase. Enzim α -glukosidase merupakan enzim yang terdapat pada usus halus manusia, yang berperan dalam proses akhir pemecahan karbohidrat. Inhibitor enzim α -glukosidase ini akan mencegah pemecahan karbohidrat, seperti pati dan oligosakarida lainnya sehingga dapat mengurangi konsentrasi gula darah dari karbohidrat yang dikonsumsi. Flavonoid dapat mencegah peroksidasi lipid melalui radical scavengers pada tahap inisiasi, sementara reaksi propagasi dapat dicegah dengan peroxy-radical scavenger (Suryanto dan Wehantouw, 2009).

Flavonoid bersifat sebagai oksidatif yang dapat menangkap radikal bebas (Harmanto, 2012). Flavonoid juga menghambat enzim yang berperan pada produksi radikal anion superoksida seperti xantin oksidase dan protein kinase. Flavonoid menunjukkan penghambatan terhadap siklo-oksigenase, lipoksigenase, mikrosomal monooksigenase,

glutathion S-transferase, suksin oksidase mitondria, dan NADH oksidase yang seluruhnya terlibat dalam pembentukan ROS (Gustina, 2012).

Fenolik terdiri dari molekul-molekul besar dengan beragam struktur, karakteristiknya adalah terdapatnya cincin aromatik yang memiliki gugus hidroksil. Kebanyakan dari senyawa fenolik tergabung dalam kelompok flavonoid (Pratt and Hudson, 1990).

2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Penggunaan hewan coba dalam suatu penelitian sangat mendukung suatu penelitian untuk pengobatan suatu penyakit atau untuk penemuan baru di bidang medis. Hewan coba yang digunakan harus memiliki kriteria khusus dan mampu memunculkan kondisi patogenesis dan patofisiologis dari suatu kondisi yang sedang diteliti. Adapun hewan coba yang digunakan dalam penelitian inflammatory bowel disease ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar dengan klasifikasi seperti dibawah ini:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Subkelas	: Theria
Ordo	: Rodentia
Famili	: Murinae
Genus	: Rattus

Spesies : *Rattus norvegicus* strain Wistar (Sirois, 2005).

Penggunaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak dilakukan karena mudah diperoleh. Selain itu tikus putih memiliki respon biologik dan adaptasi yang mirip dengan manusia, mudah dikendalikan, dan mudah pemeliharaan dan perawatannya. Tikus putih dewasa pada umur 50-60 hari baik jantan maupun betina. Pada umur tersebut seluruh organ sudah berfungsi secara normal dan stabil. Berat badan tikus putih dewasa berkisar 150-250 gram dan akan terus bertambah seiring dengan penambahan usianya (Sirois, 2005).

2.4.1 Duodenum Tikus Putih

Duodenum merupakan bagian dari usus halus yang berperan dalam sistem pencernaan (Frappier, 2006). Sistem pencernaan tikus terdiri dari mulut, esophagus, lambung, usus halus, dan usus besar. Usus halus merupakan tempat penyerapan makanan, dimana terdiri dari duodenum, jejunum, dan ileum. Duodenum merupakan bagian organ yang dimulai dari akhir pylorus lambung, disebelah kanan vertebrae lumbal 1. Duodenum mengelilingi pankreas dan berhubungan dengan jejunum di sebelah kiri vertebrae lumbal 2.

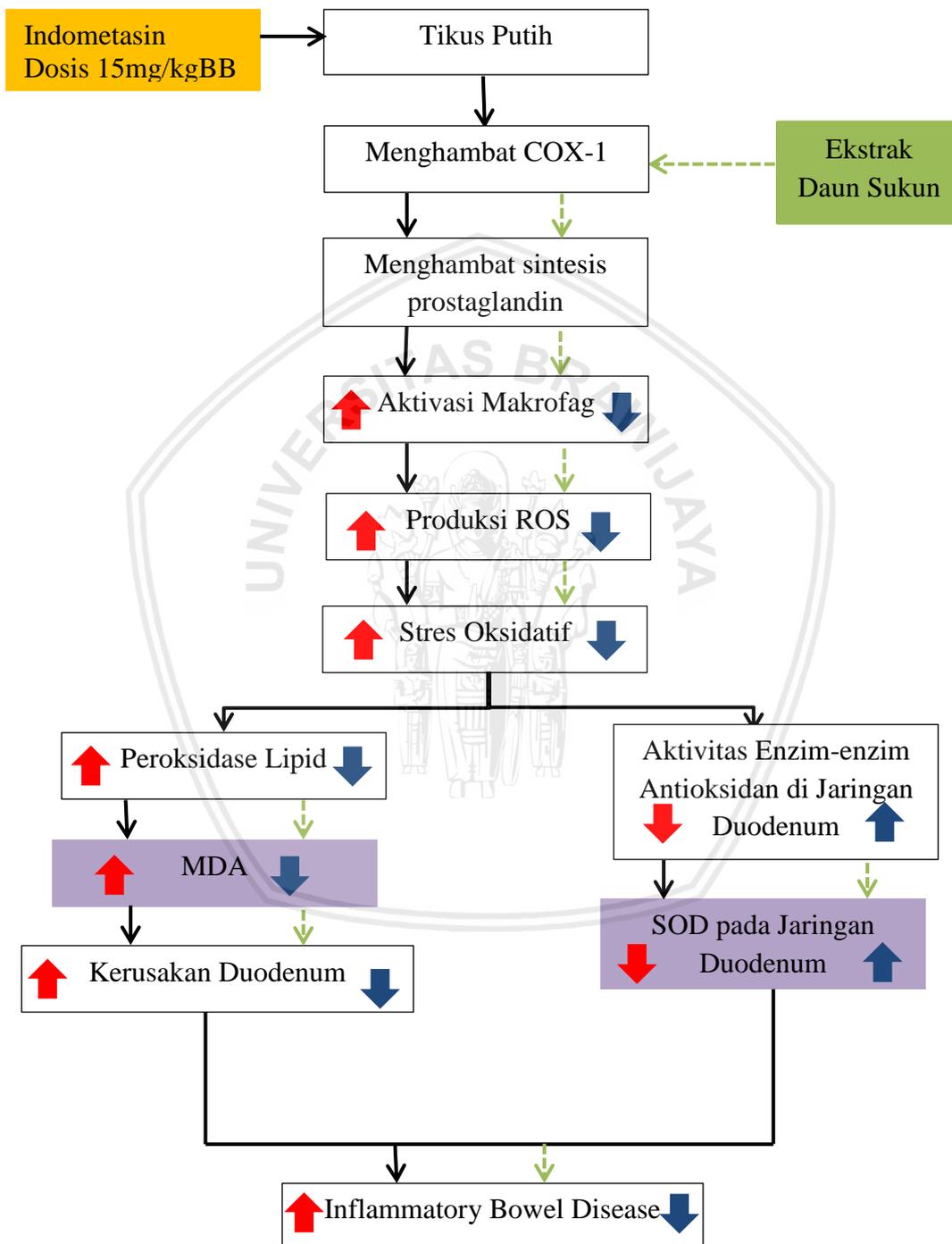
Duodenum, tersusun melingkar dengan panjang kira-kira 10 cm. Duodenum tersusun secara ventro-tranversal ke arah dinding abdomen lateral bagian kanan dan kemudian dari dorsal ke bidang tengah melingkar disebut duodenum transversal yang berakhir di tepi kolon transversal. Daerah permukaan usus halus ditingkatkan dengan adanya penonjolan yang berbentuk seperti jari yang disebut vili. Vili pada

duodenum panjang dan berbentuk lembaran. Glandula intestinal berbentuk tubula terbuka antara vili yang berdekatan (kripta Lieberkhun). Kelompok glandula duodenal berbentuk tubulo-alveoler terdapat didaerah pilori yang meluas sampai sub mukosa dan terbuka pada basal glandula intestinal (Brunner). Epitel yang melapisi vili usus halus adalah kolumnar selapis dengan inti terdapat di basal (Harjana, 2009).



BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Keterangan:

- ↓ : Jalur induksi indometasin
- ↓ (dashed green) : Menghambat
- (green) : Variabel bebas
- (purple) : Variabel terikat
- (yellow) : Paparan
- ↑ (red) ↓ (red) : Efek induksi indometasin
- ↑ (blue) ↓ (blue) : Efek ekstrak daun sukun

Hewan coba tikus putih diinduksi indometasin. Indometasin menyebabkan penurunan prostaglandin mukosa (inhibisi COX-1). Penurunan prostaglandin mukosa maka tidak ada perlindungan terhadap barrier mukosa dan peningkatan motilitas usus yang dilanjutkan dengan adanya invasi enterobakteri. Invasi bakteri menyebabkan aktivasi makrofag. Proses fagositosis bakteri oleh makrofag dengan melalui proses oksidatif yang terjadi berupa peningkatan penggunaan oksigen, peningkatan produksi *hydrogen peroxide* (H₂O₂) dan produksi beberapa senyawa seperti *superoxide anion*, *hydroxyl radicals*, *single oxygen*, *myeloperoxidase* yang dapat saling bereaksi, reaksi- reaksi ini menghasilkan metabolit oksigen yang toksik menyebabkan terjadinya pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan kerusakan duodenum. *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan senyawa radikal bebas yang berada didalam tubuh. Apabila radikal bebas terdapat dalam jumlah berlebihan, maka akan terjadi kondisi stres oksidatif. Stres oksidatif selanjutnya akan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid

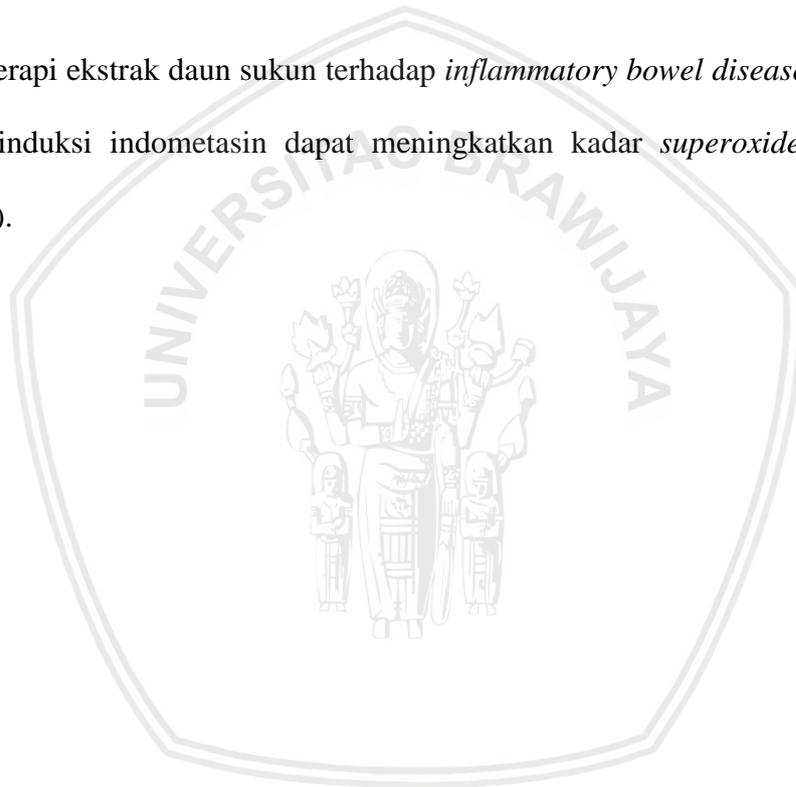
adalah proses oksidasi asam lipid adalah proses oksidasi asam lipid tidak jenuh berantai panjang (*polyunsaturated fatty acids*) pada membran sel duodenum yang menghasilkan produk aldehida seperti malondialdehida (MDA). Stres oksidatif merupakan keadaan ketidakseimbangan radikal bebas dan antioksidan dimana jumlah radikal bebas melampaui jumlah antioksidan endogen dalam tubuh yaitu *Superoxide Dismutase* (SOD).

Hewan model *Inflammatory Bowel Disease* diterapi dengan ekstrak daun sukun. Adanya efek antiinflamasi dikarenakan aktivitas metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun sukun yaitu flavonoid, fenolik dan tanin. Flavonoid menghambat sekresi enzim lisosom yang merupakan mediator inflamasi ini dapat menghambat proliferasi dari proses radang. Sedangkan tannin mempunyai aktivitas antibakteri dengan mekanisme merusak membrane sel bakteri. Kandungan flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin yang merupakan senyawa antioksidan dari Daun Sukun berfungsi sebagai pengikat radikal bebas. Antioksidan dalam ekstrak daun sukun akan mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi tidak reaktif. Setelah diberikan ekstrak daun sukun maka radikal bebas dan ROS akan menurun sehingga kadar MDA akan menurun. Kandungan flavonoid dan triterpenoid pada daun sukun akan menginduksi peningkatan ekspresi gen *nuclear factor erythroid 2 related factor* (nrf2) dan mengaktifkan pathway antioxidant response element (ARE), nrf2 dan ARE akan meregulasi gen antioksidan endogen sehingga antioksidan endogen seperti SOD akan meningkat.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep penelitian, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah sebagai berikut:

1. Efek terapi ekstrak daun sukun terhadap *inflammatory bowel disease* pada tikus hasil induksi indometasin dapat menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA).
2. Efek terapi ekstrak daun sukun terhadap *inflammatory bowel disease* pada tikus hasil induksi indometasin dapat meningkatkan kadar *superoxide dismutase* (SOD).



BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang. Penelitian dilaksanakan selama bulan Desember 2018 sampai dengan Januari 2019.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar berumur 8-12 minggu. Berat badan tikus rata-rata adalah 200 gram. Hewan coba diadaptasi selama tujuh hari untuk penyesuaian kondisi di laboratorium. Perkiraan besar sampel dihitung dengan rumus (Wahyuningrum dan Probosari, 2012) :

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t = Jumlah kelompok perlakuan

n = Jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan jumlah sampel didapatkan pengulangan lebih sama dengan 4 kali atau lebih dari 4 pada setiap perlakuan, maka untuk jumlah 5 kelompok perlakuan pada penelitian ini membutuhkan hewan coba sebanyak 20 ekor.

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, yaitu kelompok 1 adalah tikus yang tidak diberi perlakuan (kontrol negatif), kelompok 2 adalah tikus yang diinduksi indometasin 15 mg/kg BB (kontrol positif), kelompok 3 adalah tikus yang diinduksi indometasin 15 mg/kg BB dan diberi terapi ekstrak daun sukun 100mg/kg BB, kelompok 4 adalah tikus yang diinduksi indometasin 15 mg/kg BB dan diberi terapi ekstrak daun sukun 200mg/kg BB, kelompok 5 adalah tikus yang diinduksi indometasin 15 mg/kg BB dan diberi terapi ekstrak daun sukun 400mg/kg BB. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri atas 4 ekor tikus sebagai ulangan.

4.4 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- Variabel bebas : Pemberian indometasin dan dosis terapi ekstrak daun sukun
- Variabel tergantung : Kadar MDA dan kadar SOD duodenum
- Variabel kendali : Tikus putih strain wistar jantan berumur 8-12 minggu dengan berat rata-rata 200 gram, pakan, suhu, dan kondisi kandang.

4.5 Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), makanan dan minuman hewan coba, daun sukun, indometasin, etanol 96%, aquades steril, Alkohol 96%, PBS, thiobarbituric acid (TBA) larutan sodium thiobarbituric acid (Na-Thio) 1%, TCA 10%, HCL 1N, xantine, xanthine oxidase.

Peralatan yang dipergunakan dalam penelitian ini, antara lain bak pemeliharaan hewan coba, sonde, seperangkat alat bedah, pipet tetes, gelas ukur, microtube, mikropipet, pengaduk kaca, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *beaker glass*, *water bath*, lemari pendingin, timbangan, sentrifugator, inkubator, vortex, alat sonde, plastik klip, kertas label, *spidol marker*, *tissue*, *glove*, botol larutan, spektrofotometer.

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Pembuatan Ekstrak Daun Sukun

Daun sukun dikumpulkan, dibuang bagian yang tidak diperlukan (sortasi basah) selanjutnya dicuci bersih di bawah air mengalir,

ditiriskan, dan ditimbang berat basah nya. Daun sukun selanjutnya dikeringkan di lemari pengering hingga kering dan ditimbang berat kering simplisia. Setelah kering simplisia diblender sampai Halus dan diayak. Simplisia yang sudah Halus disimpan dalam wadah plastik (Nazira, 2018).

Pembuatan ekstrak daun sukun dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia daun sukun dimasukkan kedalam wadah kaca, ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 0,1 gram serbuk daun dalam 100mL, tutup, biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk, serkai, peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya. Pindahkan kedalam bejana tertutup, biarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya selama 2 hari. Dituangkan atau disaring. Hasil yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai sebagian besar pelarutnya menguap dan dilanjutkan proses penguapan di atas water bath sampai diperoleh ekstrak kental (Nazira, 2018).

4.6.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih *Rattus norvegicus* jantan umur 8 – 12 minggu dengan berat badan rata-rata 200 gram (Astawan dkk, 2011). Tikus diadaptasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di laboratorium. Kemudian dibagi dalam 5 kelompok perlakuan dimana setiap kelompok terdiri atas 4 ekor.

Tikus ditempatkan dalam bak plastik tertutup kawat, dengan ukuran 30 cm x 50 cm x 10 cm dengan alas berupa sekam padi agar kandang tidak lembab. Kandang tikus berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut dan terhindar dari asap industri maupun polutan lainnya. Semua tikus diberi pakan secara teratur dan minum *ad libitum* (Yaqin *et al*, 2015).

4.6.3 Persiapan Hewan Model IBD Induksi Indometasin

Dosis indometasin yang digunakan adalah 15 mg/kg berat badan tikus. Indometasin dilarutkan dalam minyak jagung steril yang berfungsi sebagai vehicle. Berat rata-rata tikus adalah 200 g, sehingga diperlukan 3 mg indometasin. Sebanyak 3 mg indometasin dilarutkan dengan 200 μ L minyak jagung. Selanjutnya 200 μ L larutan indometasin diberikan dengan cara disonde (dimasukkan secara oral). Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam.

4.6.4 Tata Laksana Pemberian Terapi Ekstrak Daun Sukun

Ekstrak daun sukun diberikan dengan cara disonde. Pemberian ekstrak daun sukun Ekstrak diberikan pada kelompok 3 dengan dosis 100 mg/kg BB, kelompok 4 dengan dosis 200 mg/kg BB, dan kelompok 5 dengan dosis 400 mg/kg BB. Ekstrak diberikan 2mL/tikus selama 14 hari (Abrianto, 2012).

4.6.5 Pengambilan Organ

Pengambilan organ duodenum dilakukan pada hari ke 22 setelah semua proses adaptasi tikus, induksi indometasin dan pemberian terapi ekstrak daun sukun selesai dilakukan. Pada pengambilan organ yang pertama dilakukan adalah dislokasi leher pada hewan coba, kemudian dilentakkan pada papan pembedahan dengan posisi rebah dorsal. Pembedahan dilakukan pada bagian abdomen, bagian duodenum dengan panjang kira-kira 10cm diambil dan dibilas dengan NaCl fisiologis 0,9%, selanjutnya duodenum dibagi 2 dan dimasukkan dalam plastik klip.

4.6.6 Pengukuran Kadar MDA

Jaringan duodenum diambil dari setiap sampel sebanyak 150 mg dan dipotong kecil-kecil lalu digerus dalam mortar. Kemudian ditambahkan 1 mL aquades. Homogenant yang terbentuk dipindahkan ke dalam microtube dan ditambahkan 100 μ L TCA, 250 μ L HCl 1N, dan 100 μ L Na-thio 1%. Pada setiap penambahan reagen, larutan dihomogenkan dengan vortex. Larutan lalu diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 100°C selama 20 menit dan dibiarkan dingin pada suhu ruang. Kemudian larutan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk diambil dan ditambahkan aquades sebanyak 3500 μ L. Kemudian larutan tersebut diukur

absorbansinya dengan panjang gelombang 532 nm dan diplotkan pada kurva standar yang telah dibuat untuk menghitung konsentrasi sampel.

4.6.7 Pengukuran Kadar SOD

Sampel duodenum tikus masing-masing diambil 100 mg kemudian dihomogenasi dengan buffer fosfat dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000rpm selama 5 menit. Homogenat yang terbentuk diambil 200 μ L, kemudian ditambahkan EDTA 100mM 200 μ L, selanjutnya ditambahkan Nitro Blue Tetrazolium (NBT) 25 unit 100 μ L., xantin 25 unit 100 μ L, dan xantin oksidase 1 unit 100 μ L. Homogenat selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian disaring dan diambil supernatant. Hasil pemisahan supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dikalibrasi 3mL. Supernatan tersebut ditambahkan aquadest hingga 3 mL. Larutan blanko untuk membuat kurva baku melalui tahapan yang sama tetapi tanpa diberi homogenate sampel. Selanjutnya dilihat absorbansinya pada spektrofotometer panjang gelombang 580 nm. Data absorbansi diolah secara terkomputerisasi menggunakan rumus:

$$\text{SOD activity (inhibition \%)} = (\text{OD blank} - \text{OD sample}) / (\text{OD blank}) \times 100$$

OD = Optical density atau absorbansi

Rumus tersebut digunakan untuk mendapatkan tingkat penghambatan bentukan NBT-formazan oleh enzim SOD pada larutan

sampel SOD menghambat NBT-formazan sehingga memancarkan sinar ungu pada panjang gelombang 580 nm. Sinar ungu tersebut ditangkap oleh spektrofotometer sebagai nilai absorbansi. Kemudian tingkat inhibisi SOD dari rumus diolah dengan cara diinterpretasikan secara komputerisasi menggunakan kurva baku sehingga dapat dikonversikan dari inhibisi SOD menjadi satuan unit. Satu unit SOD adalah jumlah SOD yang dibutuhkan untuk menghambat peningkatan absorbansi karena pembentukan NBT-formazan sebesar 50%.

4.7 Analisis Data

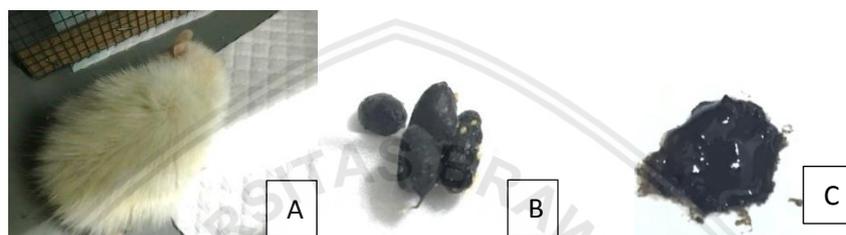
Data penelitian ini berupa data kuantitatif berdasarkan hasil pengukuran kadar Malondialdehid (MDA) dan Superoksida Dismutase (SOD) yang dilakukan dengan uji *one-way* ANOVA dan apabila terdapat perbedaan perlakuan nyata, maka perbedaan nilai tengah uji dengan perbandingan berganda uji *Tukey* atau Beda Nyata Jujur (BNJ) $\alpha=0.05$.

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pembuatan Hewan Model Inflammatory Bowel Disease

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih yang diinduksi dengan indometasin 15mg/kg BB. Hal ini sesuai dengan penelitian Aulanni'am *et al.* (2012), pemberian indometasin dengan dosis 15mg/kg BB secara per oral dapat digunakan untuk menghasilkan duodenum yang mengalami inflammatory bowel disease (IBD) akut yang terlihat dari gejala klinis yang tampak. Tikus diamati gejala klinis yang tampak dimulai 24jam setelah pemberian indometasin. Gejala yang timbul adalah melena, berkurang hingga hilangnya nafsu makan,diare, feses bermukus, lemas dan nyeri perut yang ditandai dengan bulu yng berdiri, meringkuk dan tikus cenderung menyendiri. Hal ini sesuai Chrismawaty dan Goeno (2012) yang menyebutkan bahwa gejala IBD yaitu melena, hilangnya nafsu makan, nyeri perut, dan diare. Adapun gejala lain yang disebutkan Danastri dan Putra (2013) adalah feses bermukus dan lemas. Gejala yang tampak pada seluruh kelompok yang diinduksi indometasin (kelompok kontrol positif, kelompok 3, kelompok 4, dan kelompok 5) dapat dilihat pada **Gambar 5.1**, pada hari pertama setelah pemberian indometasin feses menjadi hitam atau melena namun konsistensinya masih padat seperti **Gambar 5.1B**, sedangkan pada hari berikutnya terjadi perubahan konsistensi feses menjadi lebih encer atau diare seperti pada **Gambar 5.1C**. Pada tikus kontrol negatif tidak terjadi perubahan pada warna maupun konsistensi feses. Sedangkan seluruh tikus

kontrol positif, kelompok 3, kelompok 4 dan kelompok 5 menunjukkan gejala IBD setelah 24 jam diinduksi indometasin. Perbedaan feses normal (kontrol negatif) dengan kelompok tikus yang terkena IBD (kelompok kontrol positif, kelompok 3, kelompok 4, dan kelompok 5) dapat dilihat pada **Gambar 5.2**.



Gambar 5.1 Gambar gejala IBD yang timbul pada semua kelompok yang diinduksi indometasin (kelompok kontrol positif, kelompok 3, kelompok 4, dan kelompok 5); [A] Nyeri perut; [B] Melena (Hari ke 9); [C] Diare (Hari ke 10)



Gambar 5.2 Gambar perbedaan feses normal dan feses tikus yang terkena IBD; (A) Feses normal (kelompok kontrol negatif) tikus berwarna coklat gelap; (B) Feses tikus yang terkena IBD (kelompok kontrol positif, kelompok 3, kelompok 4, dan kelompok 5) berwarna hitam atau melena

5.2 Pengaruh Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Inflammatory Bowel Disease induksi Indometasin pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Berdasarkan Kadar Malondialdehyde (MDA) Duodenum.

Malondialdehid merupakan produk akhir dari peroksida lipid.

Tinggi rendahnya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksida lipid, yang

secara tidak langsung menunjukkan jumlah radikal bebas. Pengukuran kadar MDA duodenum tikus putih pada penelitian ini dilakukan dengan metode (TBA), kemudian diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang (λ) 530 nm.

Kelompok kontrol negatif merupakan kelompok dengan nilai kadar MDA yang terendah dibandingkan kelompok lainnya. Kelompok kontrol negatif merupakan kelompok yang tidak diinduksi indometasin dan tanpa pemberian ekstrak daun sukun. Kelompok kontrol negatif dijadikan sebagai acuan untuk menentukan tinggi atau rendahnya kadar MDA pada kelompok kontrol positif, Kelompok 3, Kelompok 4, dan Kelompok 5.

Tahapan uji statistika yang pertama adalah uji normalitas. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data parameter terdistribusi normal. Hasil uji normalitas kadar MDA dapat dilihat pada (**Lampiran 7.1**), didapat hasil ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal maka syarat untuk uji statistik Anova terpenuhi.

Uji selanjutnya adalah Uji homogenitas. Uji ini digunakan untuk mengetahui apakah kelompok data tersebut mempunyai varian yang sama atau tidak. Hasil uji homogenitas kadar MDA duodenum dapat dilihat pada (**Lampiran 7.2**), didapatkan nilai signifikan ($p > 0,05$) yang dapat disimpulkan bahwa data dari populasi tersebut homogen, maka syarat untuk uji statistik Anova terpenuhi.

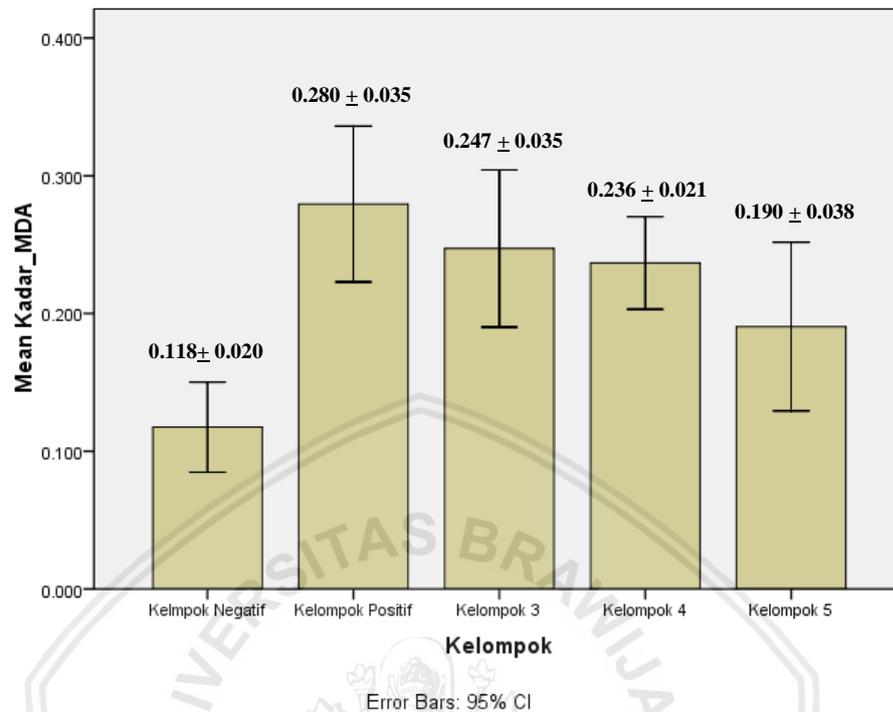
Uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan kadar MDA pada kontrol negatif, kontrol

positif, kelompok 3, kelompok 4, dan kelompok 5 dapat dilihat pada **(Lampiran 7.3)** dengan hasil ($p < 0,05$) yang dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan pada kelompok penelitian. Uji lanjutan ANOVA dilakukan untuk mencari kelompok mana yang berbeda dan yang tidak berbeda, pada penelitian ini digunakan uji Tukey **(Lampiran 7.4)**.

Tabel 5.1 Data perhitungan rata-rata kadar MDA dan hasil uji Tukey HSD

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Kadar MDA (ng/100mg) \pm SD
Kontrol Negatif	0.118 \pm 0.020 ^a
Kontrol Positif	0.280 \pm 0.035 ^c
K3 100 mg/kg	0.247 \pm 0.035 ^{bc}
K4 200 mg/kg	0.236 \pm 0.021 ^{bc}
K5 400 mg/kg	0.190 \pm 0.038 ^b

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)



Gambar 5.3 Grafik rata-rata kadar MDA

Kelima kelompok yang diujikan dapat dideteksi dan dikuantifikasi dengan nilai relatif yang baik berkisar antara 0,118-0,280 dengan skala 0,000-0,400 yang dapat terlihat pada **Gambar 5.3**. Kelompok positif mempunyai kadar MDA paling tinggi disbanding kelompok lainnya, sedangkan kelompok negatif mempunyai kadar MDA dan terendah. Jika dilihat dari Gambar 5.3, kelompok negatif mempunyai standar deviasi terendah yang berarti semakin mendekati rata-rata, sedangkan pada kelompok 5 mempunyai standar deviasi yang tinggi yang berarti semakin lebar rentang variasi data.

Kontrol negatif mempunyai nilai MDA terendah yaitu 0.118 ng/100mg. Kontrol positif merupakan kelompok tikus yang diinduksi

indometasin dan tanpa diberi terapi ekstrak daun sukun mempunyai kadar MDA tertinggi yaitu 0.280 ng/100mg. Kelompok 3 merupakan tikus yang diinduksi indometasin dan diberi terapi ekstrak daun sukun dengan dosis 100mg/kgBB mempunyai nilai MDA 0.247ng/100mg. Kelompok 4 merupakan tikus yang diinduksi indometasin dan diberi terapi ekstrak daun sukun dengan dosis 200mg/kgBB mempunyai nilai MDA 0.236ng/100mg. Kelompok 5 merupakan tikus yang diinduksi indometasin dan diberi terapi ekstrak daun sukun dengan dosis 400mg/kgBB mempunyai nilai MDA 0.190ng/100mg.

Kelompok negatif merupakan acuan normal. Malalondialdehid terdapat pada tubuh normal karena pembentukan radikal bebas terjadi terus menerus di dalam sel sebagai konsekuensi dari reaksi enzimatik dan nonenzimatik. Reaksi enzimatik, yang berfungsi sebagai sumber radikal bebas, termasuk yang terlibat dalam rantai pernafasan, fagositosis dan dalam sitokrom P-450. Radikal bebas juga terbentuk dalam reaksi nonenzimatik dari oksigen dengan senyawa-senyawa organik maupun yang di prakarsai oleh reaksi ionisasi (Wahjuni, 2012).

Kelompok kontrol positif, kelompok 3, kelompok 4, dan kelompok 5 hewan coba diinduksi indometasin dengan dosis 15mg/kg BB secara per oral untuk menghasilkan duodenum yang mengalami *inflammatory bowel disease* (IBD) akut. Indometasin bekerja memblokir jalur *cyclooxygenase* 1 (COX-1) yang mengakibatkan penurunan sintesa prostaglandin dan jumlah mucus pada saluran pencernaan. Berkurangnya jumlah mucus akan

menyebabkan gangguan keseimbangan mikroflora dan hilangnya barrier mucus duodenum sehingga memudahkan terjadinya inflamasi (Aulanni'am *et al.*, 2012).

Mikroflora yang jumlahnya berlebihan akan menjadi pathogen. Invasi bakteri patogen pada usus halus akan mengaktifkan neutrofil yang berperan untuk dalam perusakan mikroorganisme secara fagositosis yang selanjutnya didegradasi oleh reactive oxygen species (ROS) dan protease. Pelepasan protease menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan dan inflamasi (Segal, 2005). *Reactive oxygen species* seperti $\bullet\text{O}_2$ dan $\bullet\text{OH}$ dilepaskan dan pengaktifan sel imun dan sel inflamasi menyebabkan kerusakan pada mukosa usus. Pada sel, ROS dapat bereaksi dengan phospholipid membran menghasilkan peroksidasi lipid dengan produk akhir malondialdehid (MDA) yang akan menginisiasi reaksi berantai. Malondialdehid akan menyebabkan kerusakan fungsi membran dan menginaktifkan reseptor dan enzim yang terdapat pada membran, serta meningkatkan permeabilitas jaringan (Khennouf *et al.*, 2010). Adanya peningkatan peroksidasi lipid pada hewan coba menyebabkan peningkatan kadar MDA pada kontrol positif, kelompok 3,4 dan 5 (Ray, 2011).

Kelompok terapi 3 dan 4 sudah menunjukkan penurunan MDA tetapi hasilnya tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif. Hal ini dapat dikarenakan dosis yang diberikan kepada tikus belum bisa mengontrol tingkat oksidan pada tikus IBD (Yosua dan Dewajanti, 2017). Hal lain yang dapat menyebabkan hasil MDA yang belum signifikan dengan kontrol

positif adalah kurang lamanya pemberian ekstrak daun sukun (Partomuan dan Jusup, 2016). Kelompok 5 yang diterapi dengan dosis 400mg/kgBB ekstrak daun sukun mempunyai nilai MDA terendah dibandingkan kelompok terapi lain dan sudah berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif sehingga dapat disimpulkan ekstrak daun sukun dengan dosis 400mg/mgBB merupakan dosis yang paling efektif untuk menurunkan kadar MDA.

Hal ini disebabkan karena kemampuan dalam menurunkan kadar MDA oleh kandungan flavonoid dan fenolik dari ekstrak daun sukun. Menurut I Wayan *et al.* (2012), flavonoid adalah antioksidan eksogen yang telah dibuktikan bermanfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif, terdapat dua mekanisme flavonoid sebagai antioksidan yaitu mendonorkan ion hidrogen sehingga menetralsir efek toksik dari radikal bebas serta meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2), sehingga terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen. Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada jumlah dan posisi dari gugus hidroksil (-OH) yang terdapat pada molekul. Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada jumlah dan posisi dari gugus -OH yang terdapat pada molekul. Semakin banyak gugus -OH pada flavonoid, maka aktivitas anti radikalnya semakin tinggi (Amic *et al.*, 2002).

Berdasarkan Nzaramba (2008) komponen fenolik merupakan terminator dari radikal bebas dan sebagai pengkelat ion logam redoks aktif.

Ion logam ini memungkinkan peranannya untuk mengatalisis reaksi peroksidasi lipid. Antioksidan fenolik ini menghalangi oksidasi lipid dan molekul lain dengan cara mendonasikan atom hidrogen ke senyawa radikal membentuk intermediet radikal fenoksil. Senyawa intermediet radikal fenoksil relatif stabil sehingga tidak mampu lagi menginisiasi reaksi radikal selanjutnya. Aktivitas biologis yang tinggi pada senyawa fenolik ini terletak pada posisi dan jumlah gugus -OH.

Senyawa alkaloid, saponin dan triterpenoid dalam daun sukun juga memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar MDA. Senyawa alkaloid dapat bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada hepatic mikrosomal. Senyawa alkaloid, terutama indol, memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien. Senyawa radikal turunan dari senyawa amina ini memiliki tahap terminasi yang sangat lama. Senyawa alkaloid lain yang bersifat antioksidan adalah kafein yang dapat bertindak sebagai peredam radikal hidroksil (Dinara *et al.*, 2007). Triterpenoid akan mengikat radikal HOO* yang dapat bereaksi secara cepat (Grassman, 2005). Senyawa saponin dapat bertindak sebagai antioksidan dan memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas. Kemampuan senyawa saponin dapat menurunkan stres oksidatif pada tikus yang diinduksi aloksan (Ali *et al.*, 2014).

5.3 Pengaruh Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Inflammatory Bowel Disease induksi Indometasin pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Berdasarkan Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) Duodenum.

Kelompok kontrol negatif merupakan kelompok dengan nilai kadar SOD yang tertinggi dibandingkan kelompok lainnya. Kelompok kontrol negatif merupakan kelompok yang tidak diinduksi indometasin dan tanpa pemberian ekstrak daun sukun. Kelompok kontrol negatif dijadikan sebagai acuan untuk menentukan tinggi atau rendahnya kadar SOD pada kelompok kontrol positif, Kelompok 3, Kelompok 4, dan Kelompok 5.

Tahapan uji statistika yang pertama adalah uji normalitas. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data parameter terdistribusi normal. Hasil uji normalitas kadar SOD dapat dilihat pada (**Lampiran 8.1**), didapat hasil ($p>0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal maka syarat untuk uji statistik Anova terpenuhi.

Uji selanjutnya adalah Uji homogenitas. Uji ini digunakan untuk mengetahui apakah kelompok data tersebut mempunyai varian yang sama atau tidak. Hasil uji homogenitas kadar SOD duodenum dapat dilihat pada (**Lampiran 8.2**), didapatkan nilai signifikan ($p>0,05$) yang dapat disimpulkan bahwa data dari populasi tersebut homogen, maka syarat untuk uji statistik Anova terpenuhi.

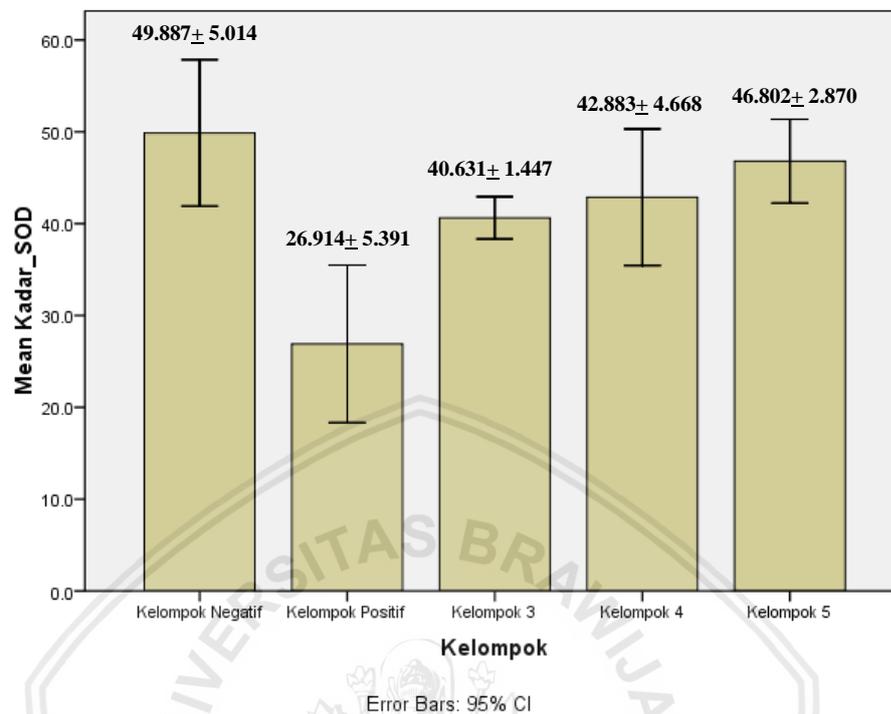
Uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan kadar SOD pada kontrol negatif, kontrol positif, kelompok 3, kelompok 4, dan kelompok 5 dapat dilihat pada (**Lampiran 8.3**) dengan hasil ($p<0,05$) yang dapat disimpulkan bahwa

terdapat perbedaan pada kelompok penelitian. Uji lanjutan ANOVA dilakukan untuk mencari kelompok mana yang berbeda dan yang tidak berbeda, pada penelitian ini digunakan uji Tukey (**Lampiran 8.4**).

Tabel 5.2 Data perhitungan rata-rata kadar SOD dan hasil uji Tukey HSD

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Kadar SOD (unit/100mg) \pm SD
Kontrol Negatif	49.887 \pm 5.014 ^c
Kontrol Positif	26.914 \pm 5.391 ^a
K3 100 mg/kg	40.631 \pm 1.447 ^b
K4 200 mg/kg	42.883 \pm 4.668 ^{bc}
K5 400 mg/kg	46.802 \pm 2.870 ^{bc}

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)



Gambar 5.4 Grafik rata-rata kadar SOD

Kelima kelompok yang diujikan dapat dideteksi dan dikuantifikasi dengan nilai relatif yang baik berkisar antara 26,914-49,887 dengan skala 0,0-60,0 yang dapat terlihat pada **Gambar 5.3**. Kelompok positif mempunyai kadar SOD terendah dibanding kelompok lainnya, sedangkan kelompok negatif mempunyai kadar SOD tertinggi. Jika dilihat dari **Gambar 5.3**, kelompok kelompok 3 mempunyai standar deviasi terendah yang berarti semakin mendekati rata-rata, sedangkan pada kelompok positif mempunyai standar deviasi yang tinggi yang berarti semakin lebar rentang variasi data.

Kontrol negatif mempunyai nilai SOD tertinggi yaitu 48.887 unit/100mg. Kontrol positif merupakan kelompok tikus yang diinduksi indometasin dan tanpa diberi terapi ekstrak daun sukun mempunyai kadar

SOD terendah yaitu 20.914unit/100mg. Kelompok 3 merupakan tikus yang diinduksi indometasin dan diberi terapi ekstrak daun sukun dengan dosis 100mg/kgBB mempunyai nilai SOD 40.631/100mg. Kelompok 4 merupakan tikus yang diinduksi indometasin dan diberi terapi ekstrak daun sukun dengan dosis 200mg/kgBB mempunyai nilai SOD 42.883unit/100mg. Kelompok 5 merupakan tikus yang diinduksi indometasin dan diberi terapi ekstrak daun sukun dengan dosis 400mg/kgBB mempunyai nilai SOD 46.802unit/100mg.

Kelompok 3 mempunyai kadar SOD yang berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif namun masih berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, sedangkan kelompok 4 dan kelompok 5 yang diberi ekstrak daun sukun dosis berturut-turut 200mg/kgBB dan 400mg/kgBB mempunyai kadar SOD yang tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif. Dapat disimpulkan dosis 200mg/kgBB dan 400mg/kgBB merupakan dosis efektif untuk meningkatkan kadar SOD. Hal ini disebabkan karena kelompok tikus yang diberi dosis terapi dalam jumlah yang tinggi akan memberikan efek antioksidan yang tinggi pula karena dapat langsung bertindak sebagai antioksidan eksogen, sehingga menetralkan radikal bebas, akan tetapi jika dosis berlebih akan menyebabkan toksisitas pada sel karena dapat menjadi prooksidan (Lopes-Giraldo *et al.*, 2009).

Kandungan polifenol dalam daun sukun sebagai antioksidan yang menetralkan akumulasi radikal bebas yang menyebabkan stres oksidatif. Antioksidan diketahui bekerja pada berbagai tahap oksidasi molekul lemak,

yaitu dengan cara menurunkan konsentrasi oksigen, menangkap singlet oksigen, pencegahan tahap inisiasi reaksi rantai melalui penangkapan radikal hidroksil, pengikatan ion logam katalisator, dekomposisi produk utama menjadi senyawa non radikal, dan pemutusan reaksi rantai untuk mencegah kelanjutan penarikan elektron dari substrat (Kusumastuty *et al.*, 2014).

Superoxide dismutase (SOD) merupakan antioksidan endogen yang normal ada didalam tubuh. *Superoxide dismutase* (SOD) berfungsi untuk mengkatalis dismutase radikal anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$) menjadi hydrogen peroksida (H_2O_2) dan molekul oksigen (O_2). Secara umum ada tiga macam SOD yang terdapat didalam tubuh, yaitu; *copper, zinc superoxide dismutase* (Cu, Zn-SOD) dalam sitoplasma sel eukariot, *manganase superoxide dismutase* (Mn-SOD) yang terdapat pada mitokondria, dan *iron superoxide dimutase* yang terdapat pada prokariot dan dalam darah, yang juga disebut *extra-cellular superoxide dismutase* (Ec-SOD). Adanya SOD akan menetralisasi radikal bebas menjadi molekul stabil dan tidak reaktif sehingga tidak merusak meusak molekul disekitarnya dan dapat mempertahankan sel dari kondisi stress oksidatif (West and Prohaska, 2004).

Peningkatan antioksidan endogen dalam penelitian ini disebabkan karena salah satu mekanisme fenolik sebagai antioksidan yaitu meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2), sehingga terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen (I Wayan *et al.*,

2012). Berdasarkan Lichuan *et al.* (2009), triterpenoid secara potensial dapat menginduksi pengekspresian gen Nrf2 dan mengaktifkan pathway ARE (*Antioxidant Response Element*) dalam sel neuronal. Nrf2/ ARE akan meregulasi lebih dari 200 gen termasuk gen antioksidatif.

Hasil kadar MDA dan kadar SOD memiliki notasi yang berbeda. Tidak terdapatnya hubungan antara kadar MDA dengan kadar SOD dalam penelitian ini diduga karena MDA tidak hanya dihasilkan oleh ion superoksida saja, tetapi bisa juga disebabkan oleh oksidan reaktif lainnya yang termasuk ke dalam golongan peroksida, sedangkan substrat dari enzim SOD hanya superoksida saja (Dianti *et al.*, 2016).

Dalam melawan radikal bebas, kerja enzim SOD dibantu oleh dua enzim lain, yaitu katalase dan glutathion (GSH) peroksidase. Enzim SOD secara spontan merubah radikal O_2^- menjadi H_2O_2 dan oksigen dengan kecepatan reaksi sekitar $10^5 M^{-1} s^{-1}$ pada pH 7, reaksinya sebagai berikut: $O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$. Reaksi tersebut berlangsung sangat cepat dan hanya dibatasi oleh frekuensi tumbukan SOD dengan superoksida. Hidrogen peroksida yang dihasilkan masih cukup berbahaya sehingga perlu pengubahan lebih lanjut oleh katalase menjadi air dan oksigen (Menvielle-Bourg, 2005)

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dengan dosis 400 mg/kgBB lebih efektif menurunkan kadar MDA pada tikus model Inflammatory Bowel Disease dibandingkan dosis 100mg/kgBB dan 200mg/kgBB.
2. Pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dengan dosis 200mg/kgBB dan 400 mg/kgBB lebih efektif meningkatkan kadar SOD pada tikus model Inflammatory Bowel Disease dibandingkan dosis 100mg/kgBB.

6.2 Saran

Dilakukan penelitian lanjutan dengan waktu terapi yang lebih lama atau dosis yang ditingkatkan untuk mengetahui dosis optimal yang lebih efektif dan dosis toksik pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) pada tikus model Inflammatory Bowel Disease.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrianto, W., Aulanni'am, Wuragil, D. K. 2012. *Studi Terapi Ekstrak Air Daun Sukun (Artocarpus altilis) Terhadap Kadar malondyaldehyde (MDA) dan Gambaran Histopatologi Jejunum Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) hiperkolesterolemia*. Malang: Universitas Brawijaya
- Adebayo D, Bjarnason I. 2006. Is non-steroidal anti-inflammaory drug (NSAID) enteropathy clinically more important than NSAID gastropathy? *Postgrad Med J* ;82:186–191
- Ali, Mat, M.S. (2008). *Analysis of Phenolics and Other Phytochemicals in Selected Malaysian Traditional Vegetables and Their Activities In Vitro*. Thesis. University of Glasgow
- Amic, D., Beslo, D., Trinajstic, N., and Davidovic. (2002). Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatia Chemica Acta*, 6(1), 55-61.
- Angkasa dan Nazaruddin. 1994. *Sukun dan Keluwih*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Astawan M, Wresdiyati T, I.I Arief dan E, Suhesti. 2011. Gambaran Hematologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinfeksi *Escherichia coli* Enteropatogenik dan diberikan Probiotik. *Media Peternakan*: 7 -13.
- Aulanni'am; A. Roosdiana and NL. Rahmah. 2012. The Potency of Sargassum duplicatum Bory Extract on Inflammatory Bowel Disease Therapy in *Rattus norvegicus*. *Journal of Life Sciences* 6 : 144-154.
- Bures, J, J. Pejchal, J.Kvetina, A. Tichy, S.Rejchrt, M. Kunes and M. Kopacova. 2011. Morphometric analysis of the porcine gastrointestinal tract in a 10-day high-dose indomethacin administration with or without probiotic bacteria *Escherichia coli* Nissle 1917. *Human and Experimental Toxicology*. 30(12) 1955– 1962.
- Chrisnawaty, B. E., G. Soebagyo. 2012 *Ulkus Aftosa Kompleks Manifestasi Penyakit Crohn*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada
- Danastri, I. G. A., dan I. B. D. Putra. 2013 *Inflammatory Bowel Disease*. *E-Jurnal Medika Udayana vol 2 no 1*
- Defarges A. 2016. *Inflammatory bowel disease in small animals*. Merck vetererinary manual. Merck Sharp & Dohme Corp.: USA
- Dianti, R. R., Rusdi, dan Evriyani, D. 2016. Kadar Malondialdehid Dan Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase Pada Hipertensi Dan Normotensi. *Bioma 12 Biologi UNJ Press*



- Dilworth, L., Gardner, M., Asemota, H., Omoruyi, F. 2012. Intestinal Morphology Assessments Of Rats Fed Phytic Acid Extract From Sweet Potato (*Ipomoea batatas*) and IP6. *Basic and Applied Pathology*, 5(4), 84-90.
- Dinara, J.M., Marc, F.R., Jane, M.B., Joaõ, A.P.A.H., and Jenifer, S. (2007). Antioxidant Properties of β -Carboline Alkaloids are Related to Their Antimutagenic and Antigenotoxic Activities. *Mutagenesis*, 22(4), 293-302.
- Dursun, H. Albayrak, F. Bilici, M. Koc, F. Hakan, H. Candar, T. and Kukula, O. 2009. Gastroprotective and Antioxidant Effect of Opipramol on Indometachininduced Ulcer Rats. *Yakugaku Zasshi* 129 (7) : 861-869.
- Fitri, A.D., Noviana, D., Siallagan, S.F., Utami, N.D., Tunggadewi, T.I., Tiffarent, R., Magdalena, T., Kuswardani, A. *Inflammatory bowel disease pada anjing yorkshire terrier. ARSHI Vet Lett*, 2018, 2 (2): 27-28
- Frappier BL. 2006. Digestive System. Textbook of Veterinary Histology. 6th Ed. Blackwell Publishing., Oxford.
- Friedman S and Blumberg RS 2005, 'Inflammatory Bowel Disease', in DL Kasper, AS Fauci, DL Longo, E Brauwald, S Hauser and JL Jameson (eds), *Harrison's Principles Of Internal Medicine*, 16th eds, Mc-Graw Hill, USA, pp.1776-1789.
- Geyter, ED., Lambert E., Geelen, D., and Smaghe, G. 2007. Novel Advances with Plant Saponins as Natural Insecticides to Control Pest Insects, *Journal of University of Belgium, Belgia*.
- Grassman, J. (2005). *Terpenoids as Plant Antioxidant*. Germany: Elsevier Inc
- Gustina, N.R.. 2012. *Aktivitas Ekstrak, Fraksi Pelarut, dan Senyawa Flavonoid Daun Sukun (Artocarpus altilis) terhadap Enzim α -Glukosidase Sebagai Antidiabetes*. Bogor : IPB
- Hakim EH. 2007. *Keanekaragaman Hayati Sebagai Sumber Keanekaragaman Molekul yang Unik dan Potensial untuk Bioindustri*. Bandung: Institut Teknologi Bandung
- Hall E.J.M. 2012. *Inflammatory Bowel Disease In Dogs and Cats*. School of Veterinary Sciences, University of Bristol ; Langford House, England.
- Hariana, A 2011, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 3*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Harjana, T. 2009. *Pemanfaatan Daun Pepaya (Carica papaya L) Untuk Pertumbuhan Dan Efeknya Pada Gambaran Histologi Usus Halus Tikus*

Putih (*Rattus norvegicus*). Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA

- Harmanto, N 2012, Daun Sukun Si Daun Ajaib, Penakluk Aneka Penyakit, PT. Agro Media Pustaka, Jakarta
- I Wayan, S., dan I Made, J. (2012). Ekstrak Air Daun Ubi Jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol. *Medicina*, 43(2), 67-70.
- Junqueira. 2010. *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas. 12th Edition*. McGraw-Hill Companies, Inc.USA.
- Katno, Pramono S. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Balai Penelitian Obat Tawangmangu, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada [press release]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Khenouf S., S.Amira, L. Arrar and A.Baghiani. 2010. Effect of Some Phenolic Compounds and Quercus Tannins on Lipid Peroxidation. *J.World Applied Sciences* 8 (9): 1144-1149
- Korpicka, M., K. Neubauer, and M. Matusiewicz. 2009. Platelet-Derived Growth Factor-BB Reflects Clinical, Inflammatory and Angiogenic Disease Activity and Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Disease. *Clinical Biochemistry*. 42 : 602 – 1609
- Kusumastuty, I., E. Falahia, P. Adi. 2014. Pengaruh Daun Ubi Jalar Ungu Terhadap Kadar Superoksid Dismutase Tikus Yang Dipapar Asap Rokok. *Indonesian Journal of Human Nutrition*, Desember 2014, Vol. 1 No.2
- Laudanno, O.M., Vasconcelos, L., Catalana, J., Cesolari, J.A. 2006. Anti-Inflammatory Effect of Bioflora Probiotic Administered Orally or Subcutaneously with Live or Dead Bacteria. *Dig Dis Sci* (2006) 51:2180–2183
- Lichuan, Yang., Noel, Y. Calingasan., Bobby, Thomas., Rajnish, K.C., Mahmoud, Kiaei., Elizabeth, J.W. (2009). Neuroprotective Effects of the Triterpenoid, CDDO Methyl Amide, a Potent Inducer of Nrf2-Mediated Transcription. *Plos One*, 6, 1-13.
- Loftus, EV 2004, 'Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence and environmental influences', *Gastroenterology*, vol.126, pp.1504-1517.
- Lopez-Giraldo, L. J., M. Laguerre, J. Lecomte, M. C Figueroa-Espinoza, B. Barea, J. Weiss, E. A. Decker, and P. Villeneuve. 2009. Kinetic and

Stoichiometry of the Reaction of Chlorogenic Acid and Its Alkyl Esters against the DPPH Radical. *J. Agric. Food Chem.*, 57(3) :863-870.

López-Pintor E and Lumbreras B (2011). Use of gastrointestinal prophylaxis in NSAID patients: a cross sectional study in community pharmacies. *Int J Clin Pharm* 33, 155-164

Malysa, R H. 2014. Pengaruh terapi Rebusan Akar Gantung Pohon Beringin (*Ficus benjamina L.*) terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Profil Pita Protein Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) Hasil Paparan Asap Rokok [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya: Malang.

Matsui, H., O. Shimokawa., T. Kaneko., Y. Nagano., K. Rai., I. Hyodo. 2011. The pathophysiology of non-steroidal antiinflammatory drug (NSAID)-induced mucosal injuries in stomach and small intestine. *J Clin Biochem Nutr.* 2011 March; 48(2): 107–111.

Menvielle-Bourg FJ. 2005. Superoxide Dismutase (SOD), A Powerful Antioxidant, Is Now Available Orally. *Phytothérapie.* 3: 1-4. doi:10.1007/s10298-005.

Mudasir, A Azis, dan AQ Punagi. 2012. Analisis Kadar *Malondialdehida* (MDA) Plasma Penderita Polip Hidung Berdasarkan Dominasi Self Inflamasi pada Pemeriksaan Histopatologi. Bagian Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok-Kepala Leher Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin: Makassar.

Nazira. 2018. Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus alitis* (park.) Fosberg) Pada Mencit (*Mus musculus*). Medan: Universitas Sumatera Utara

Neiger R. 2014. Inflammatory bowel disease, pathogenesis, diagnosis and treatment. Southern European Veterinary Conference and Congreso Nacional AVEPA. Barcelona (Spain). Oct 16-18, 2014.

Ng, S.C., Tang, W., Ching, J.Y., Wong, M., Chow, C.M., Hui, A.J. 2013. Incidence and phenotype of inflammatory bowel disease based on results from the Asia– Pacific Crohn's and colitis epidemiology study. *Gastroenterology* 145: 158–165.

Niedemhofer, L. J., J. S. Daniels, C. A. Rouzer, R. E. Geene, and L. J. Marnett. 2003. Malondialdehyde, A Product of Lipid Peroxidation is Mutagenic in Human Cells. *Journal of Biological and Chemistry* Vol 278 No. 33.

Nurhayati, S., Krisnanto, T., Syaifudin, M. 2011. Superoksida Dismutase (SOD) : Apa Dan Bagaimana Perannya Dalam Radioterapi. *Buletin Alara* Volume 13 Hamor 2, Desember 2011, 67 – 74

- Nzaramba, M.N. (2008). Relationships Among Antioxidants, Phenolics, and Specific Gravity in Potato Cultivars, and Evaluation of Wild Potato Species for Antioxidants, Glycoalkaloids, and AntiCancer Activity on Human Prostate and Colon Cancer Cells In Vitro. Disertasi. Texas A&M University
- Olaibi, K.O., Ijimone, O.M., and Ajibe, A.J. 2014. Histomorphometric Study of Stomach and Duodenum of Aspirin Treated Wistar Rats. *Journal of Experimental and Clinical Anatomy*. Vol. 13. Issue 1.
- Panglossi, H. V. 2006. *Antioxidant: New Research*. New York: Nova Science Publisher, Inc.
- Palipoch, S., Punsawad, C., and Chinnapun, D. 2013. Histopatology of small Intestine Induced by Cisplatin in Male Wistar Rats. *Walailak J Sci & Tech* 2013; 10(6): 657-663.
- Partomuan, A. T. dan Jusup, I. 2016. Pengaruh Ekstrak *Gynura Divaricata* Terhadap Kadar Mda Darah Tikus Terinduksi Kanker Payudara. *Jurnal Kedokteran Diponegoro* volume 5 nomor 4
- Pratt, D. E. dan B.J.F. Hudson. 1990. Natural antioxidants not exploited commercially. Di dalam: B.J.F.
- Ray, B. 2011. *Fundamental Food Microbiology*, 2nd Ed. CRS Press. Boca Raton.
- Rukmini MS, D'souza B, and D'souza V. 2004. Superoxide dismutase and catalase activities and their correlation with malonaldehyd in schiophrenic patirnts. *Indian journal of Clinical Biochemistry*, 19 (2): 114-118.
- Segal,A.W. 2005. How neutrophils kill microbes. *Annu. Rev. Immunol.* 23, 197-223.
- Serra, S., and Jani, A. 2006. An Approach to Duodenal Biopsies. *J Clin Pathol* 2006;59:1133-1150.doi: 10.1136/jcp.2005.031260.
- Shabella, R. 2012. *Terapi Daun Sukun Dahsyatnya Khasiat Daun Sukun Untuk Menumpas Penyakit*. Cable Book, Klaten.
- Sinha M, Gautam L, Shukla PK, Kaur P, Sharma S, Singh TP (2013). Current perspectives in NSAIDinduced gastropathy. *Mediators Inflamm* 2013, 1-11
- Sirois, M. 2005. *Laboratory Animal Medicine : Principles and Procedures*. Elsevier. United Stated of America.

- Suryanto, E.; Wehantouw F. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Ekstrak Fenolik Daun Sukun (*Artocarpus Altilis* F.). *Chemistry Progress*. 2009. 2, 1-7
- Takeuchi, K., Tanaka, A., Kato, S., Amagase, K., Satoh, H. 2010. Roles of COX inhibition in pathogenesis of NSAID-induced small intestinal damage. *Clinica Chimica Acta* 411 (2010) 459–466
- Tandi, J., Rizky, M., Mariani, R., Alan, F. 2017. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus Altilis* (Parkinson Ex F.A.Zorn) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah, Kolesterol Total Dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Hiperkolesterolemia-Diabetes. *Jurnal Sains dan Kesehatan* 2017 Vol 1 No 8.
- Utari DM. 2011. Efek intervensi tempe terhadap profil lipid, superoksida dismutase, LDL teroksidasi dan malondialdehyde pada wanita menopause. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wahjuni, S. 2012. Malondialdehid Prekursor Stres Oksidatif. Denpasar: Udayana University Press
- Wahyuningrum, M. R., E. Probosari. 2012. Pengaruh Pemberian Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Kadar Trigliserida pada Tikus Sprague Dawley dengan Hiperkolestolemia. *Journal of Nutrition College* vol1 no1
- Wallace JL 2008. Prostaglandins, OAINS/Aspirin, and Gastric Mucosal Protection: Why Doesn't the Stomach Digest Itself? *Physiol Rev* ; 88:1547- 1565
- Wang, Y., Xu, K., Lin, L., Pan, Y., and Zheng, X. 2007. Geranyl flavonoids from the leaves of *Artocarpus altilis*. *Phytochemistry*, 68, 1300–1306.
- West, E. C., and Prohaska. 2004. Cu,ZN superoxide dismutase is Lower and Copper Chaperone CCS in Higher in Erythrocytes of Copper-deficient Rats and Mice. *Experimental Biology and Medicine*, 229: 756-764
- Winarsi. 2011. Analisis Kadar Malondialdehida (MDA) Plasma Penderita Polip Hidung Berdasarkan Dominasi Self Inflamasi pada Pemeriksaan Histopatologi. Bagian Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok – Kepala Leher Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin: Makassar.
- Yaqin, M.A., dan M. Nurmilwati. 2015. Pengaruh Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai Penghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS. Kediri. 018-6.
- Yosua, K. dan Dewajanti, A. M. 2017. Efek Ekstrak Bunga Sisir (*Illicium verum*) terhadap Penurunan Kadar Malondialdehida (MDA) pada Tikus Diabetes Galur *Sprague dawley*. *Jurnal Kedokteran Meditek* volume 2