

repository.ub.ac.id

**PENGARUH PEMBERIAN AIR REBUSAN JAMUR  
KUPING HITAM (*Auricularia polytricha*) TERHADAP  
KADAR MALONDIALDEHIDA DAN HISTOPATOLOGI  
HEPAR PADA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) MODEL  
HIPERKOLESTEROLEMIA**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**YUMNA ESTI**  
1551301011110006



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



repository.ub.ac.id

**PENGARUH PEMBERIAN AIR REBUSAN JAMUR  
KUPING HITAM (*Auricularia polytricha*) TERHADAP  
KADAR MALONDIALDEHIDA DAN HISTOPATOLOGI  
HEPAR PADA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) MODEL  
HIPERKOLESTEROLEMIA**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

**YUMNA ESTI**

**1551301011110006**



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

**LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN TERAPI AIR REBUSAN KUPING HITAM  
(*Auricularia polythrica*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA  
(MDA) DAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS PUTIH (*Rattus  
novergicus*) MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA**

Oleh:

**YUMNA ESTI  
155130101111006**

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

Pembimbing I

Pembimbing II

**Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS.**  
NIP. 195204121980021001

**drh. Ajeng Erika PH, M.Si**  
NIP.19890516 201504 2 001

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

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

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Praktek Kerja Lapang (PKL) yang berjudul “PENGARUH PEMBERIAN AIR REBUSAN JAMUR KUPING HITAM (*Auricularia polytricha*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA”. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Selama penyusunan laporan ini, penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis berterima kasih kepada yang terhormat:

1. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan (FKH UB) atas segala peralatan penunjang yang ada di FKH UB.
2. Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS., selaku dosen pembimbing I dan drh. Ajeng Erika P.H., M.Si., selaku dosen pembimbing II, atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, dan arahan yang diberikan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan laporan ini.
3. drh. Rahadi Swastomo M.Biomed., dosen penguji I dan drh. Wawid Purwatiningsih M.Vet., selaku dosen penguji II atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, dan arahan yang diberikan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan laporan ini.
4. Seluruh Civitas Akademika (dosen dan karyawan) FKH UB yang telah membantu memfasilitasi penulisan skripsi ini.
5. Secara khusus penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Ayah Seran, Ibu Kanthi Rahayu, dan Adik Tian Akbar atas doa, kasih sayang, semangat, dan dukungan dalam bentuk moril maupun material tanpa batas kepada penulis selama menempuh pendidikan di FKH UB.
6. Rekan seperjuangan penelitian SKRIPSI MANTUL yang berjuang bersama penulis selama penyelesaian tugas akhir ini.

7. Kepada INDRA MUHAMMAD yang sudah menyemangati dan memberikan peralatan penunjang untuk menyelesaikan penyusunan tugas akhir ini.
8. Kepada Classy Class (2015C) atas kebersamaan, persaudaraan, dan kenangan-kenangan dan teman-teman seperjuangan, mahasiswa FKH UB angkatan 2015 (DNA) yang telah memberikan semangat, saran, dan informasi.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan proposal skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan laporan skripsi. Oleh karena itu, penulis sangat menerima kritik atau saran yang membangun. Semoga dapat memberikan manfaat karena pengalaman adalah guru terbaik dalam kehidupan.

Oktober, 2019

Penulis

**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yumna Esti  
NIM : 155130101111006  
Program Studi : Pendidikan Kedokteran Hewan  
Penulis Skripsi berjudul : Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*) Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Histopatologi Hepar pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Model Hiperkolesterolemia

Dengan ini menyatakan bahwa:

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

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 01 Oktober 2019

Yang menyatakan,

( Yumna Esti )  
155130101111006

## **Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polythrica*) Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Histopatologi Hepar pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Model Hiperkolesterolemia**

### **ABSTRAK**

Hiperkolesterolemia adalah kondisi ketika kadar kolesterol meningkat di dalam tubuh, mengindikasikan akumulasi radikal bebas. Dalam kondisi ini uji MDA dapat digunakan untuk pengujian radikal bebas. Peningkatan radikal bebas ini menyebabkan antioksidan alami di dalam tubuh tidak mampu menangani, sehingga dibutuhkan antioksidan yang berasal dari luar, yang dapat ditemukan pada air rebusan jamur kuping hitam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian air rebusan jamur kuping hitam terhadap kadar MDA dan histopatologi organ hepar pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model hiperkolesterolemia. Penelitian ini bersifat eksperimental (RAL). Hewan model menggunakan tikus putih (*Rattus novergicus*) strain *Wistar* jantan, yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, yaitu kelompok negatif, kelompok hiperkolesterol, dan kelompok terapi yang diberi perlakuan air rebusan dengan sediaan pemberian 1, 2, dan 3 mL. Data kadar MDA hepar dianalisa secara kuantitatif (*oneway ANOVA*) dan histopatologi hepar dianalisa secara deskriptif. Hasil rata-rata kadar MDA antar kelompok perlakuan antara lain : (-)  $458,56 \pm 40,54$  ; (+)  $496,89 \pm 32,75$  ; (P1)  $458,28 \pm 38,20$  ; (P2)  $450,22 \pm 30,97$  ; (P3)  $457,73 \pm 31,35$ . Hasil analisis data menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap penurunan kadar MDA ( $P > 0,05$ ). Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam tidak dapat menurunkan kadar MDA, walaupun ada kecenderungan menurun. Demikian juga terdapat perbaikan histopatologi hepar pada tikus model hiperkolesterolemia.

**Kata kunci:** hiperkolesterolemia, jamur kuping hitam, MDA, histopatologi, hepar.

## The Effect of Giving Decoction of Black Ear Fungus to Malondialdehyde (MDA) Levels and Liver Histopathology in White Rat (*Rattus norvegicus*) Hypercholesterolemia Model

### ABSTRACT

Hypercholesterolemia is a condition when cholesterol levels increase in the body, indicating the accumulation of free radicals. In this condition the MDA test can be used for free radical testing. This increase in free radicals causes the endogenous antioxidants unable to handle, so that needed exogenous antioxidants, which can be found in decoction of black ear fungus. This study aims to determine the effect of giving decoction of black ear fungus to MDA levels and liver organ histopathology in white rat (*Rattus norvegicus*) model of hypercholesterolemia. This research is experimental (CRD). Animal models used male white rats (*Rattus norvegicus*), strain Wistar which were divided into five treatment groups, including the negative group, the hypercholesterol group, and the treatment group treated with boiled water with 1, 2 and 3 mL. Data on liver MDA levels were analyzed quantitatively (oneway ANOVA) and liver histopathology was analyzed descriptively. The average results of MDA levels between treatment groups include: (-)  $458.56 \pm 40.54$ ; (+)  $496.89 \pm 32.75$ ; (P1)  $458.28 \pm 38.20$ ; (P2)  $450.22 \pm 30.97$ ; (P3)  $457.73 \pm 31.35$ . The results of the data analysis showed that there were no significant differences between the treatment groups for the reduction in MDA levels ( $P > 0.05$ ). The conclusion of this study is that the treatment of black mushroom decoction therapy cannot reduce MDA levels, although there is a downward trend. Likewise there is improvement in liver histopathology in hypercholesterolemic rats.

**Keywords:** hypercholesterolemia, black ear fungus, MDA, histopathology, liver.



## DAFTAR ISI

	halaman
<b>HALAMAN SAMPUL .....</b>	<b>1</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN SKRIPSI.....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>iv</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG .....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>2</b>
1.1 Latar Belakang.....	2
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Batasan Masalah .....	6
1.4 Tujuan Penelitian.....	7
1.5 Manfaat penelitian.....	7
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>8</b>
2.1 Hiperkolesterolemia .....	8
2.2 Antioksidan.....	10
2.3 Radikal Bebas .....	13
2.4 Jamur Kuping Hitam ( <i>Auricularia polytricha</i> ).....	15
2.5 Hepar .....	17
2.6 Malondialdehida (MDA) .....	21
2.7 Tikus Putih ( <i>Rattus novergicus</i> ) .....	22
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....</b>	<b>24</b>
3.1 Kerangka Teori .....	24
3.2 Kerangka Konseptual .....	25
3.3 Hipotesis Penelitian.....	27
<b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>28</b>
4.1 Waktu dan Tempat penelitian.....	28
4.2 Alat dan Bahan Penellitian .....	28
4.2.1 Alat.....	28
4.2.2 Bahan.....	29
4.3 Tahapan Penelitian .....	29
4.4 Prosedur Penelitian.....	30
4.4.1 Rancangan Penelitian dan Preparasi Hewan Model.....	30



4.4.2 Pembuatan Air Rebusan Jamur Kuping Hitam ( <i>Auricularia polytricha</i> ) .....	33
4.4.3 Perhitungan Dosis dan Pemberian Terapi Air Rebusan Jamur Kuping Hitam ( <i>Auricularia polytricha</i> ) .....	33
4.4.4 Pembuatan Pakan dan Pemberian Diet Hiperkolesterol .....	34
4.4.5 <i>Euthanasia</i> dan Pengambilan Hepar .....	34
4.4.6 Pengukuran Kadar Malondialdehida (MDA) Hepar .....	34
4.4.6.1 Pengukuran Kurva Standar Malondialdehida (MDA) .....	34
4.4.6.2 Pengukuran Kadar Malondialdehida (MDA) Hepar dengan Uji <i>Thiobarbituric Acid</i> (TBA) .....	35
4.4.7 Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi Hepar Pewarnaan <i>Hemaktosilin-Eosin</i> (HE) .....	36
4.4.8 Analisa Data .....	37
<b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>39</b>
5.1 Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam ( <i>Auricularia polytricha</i> ) Terhadap Kadar Normal Malondialdehida (MDA) Tikus Putih ( <i>Rattus novergicus</i> ) model Hiperkolesterolemia .....	39
5.2 Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam ( <i>Auricularia polytricha</i> ) Terhadap Histopatologi Hepar Tikus Putih ( <i>Rattus novergicus</i> ) model Hiperkolesterolemia .....	43
<b>BAB 6 PENUTUP .....</b>	<b>47</b>
6.1 Kesimpulan .....	47
6.2 Saran .....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>55</b>



**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Tabel kandungan nutrisi pada jamur kuping hitam per 100 g.....	17
4.1 Kelompok Perlakuan.....	30
4.2 Rancangan Peneliitian.....	32
4.3 ANOVA ( <i>Analysis of Variance</i> ) .....	32
5.1 ANOVA ( <i>Analysis of Variance</i> ) kadar MDA .....	39
5.2 Rata-rata kadar MDA (Malondialdehida) pada Tikus Putih ( <i>Rattus novergicus</i> ) seluruh kelompok.....	40



**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Struktur Flavonoid dan Macam-Macamnya .....	13
2.2 Hepar Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	18
2.3 Histologi Hepar Tikus putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ). .....	19
2.4 Gambaran Mikroskopis Hepar Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Hiperkolesterolemia.....	20
2.5 Reaksi TBA dengan MDA.....	21
2.6 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) strain Wistar .....	22
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	24
5.1 Gambar Histopatologi Hepar Tikus Putih dengan Perbesaran 400x.....	43

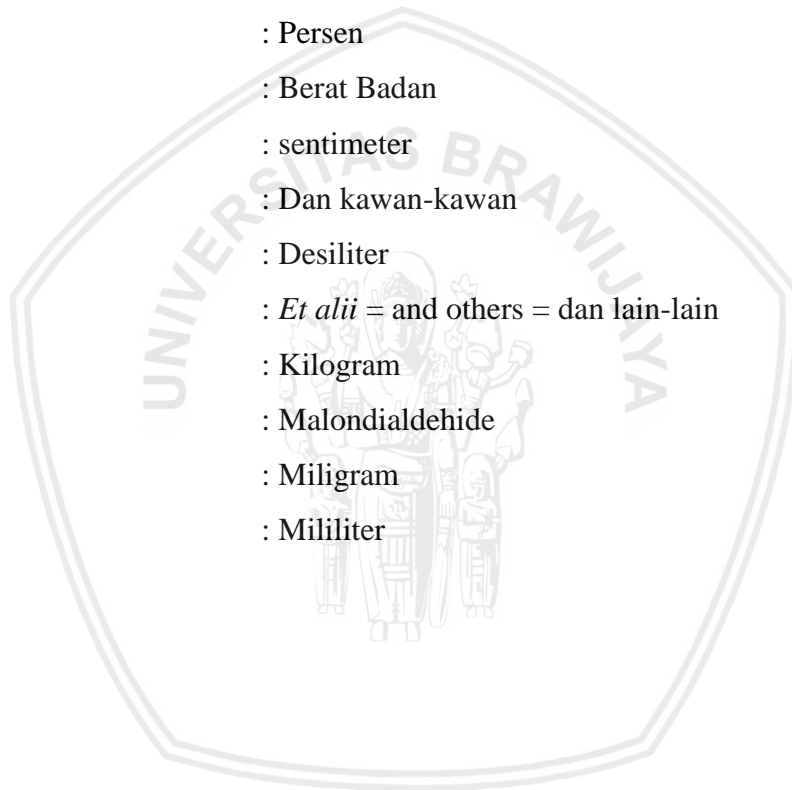


## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional Penelitian.....	56
2. Sertifikat Laik Etik.....	57
3. Perhitungan Dosis .....	58
4. Kerangka Pembuatan Air Rebusan Jamur Kuping Hitam ( <i>Auricularia polytricha</i> ) berdasarkan Budinastiti dkk., (2017) .....	59
5. Kerangka Pembuatan Pakan Hiperkolesterol.....	60
6. Prosedur Pengukuran Kurva Standar Malondialdehida.....	61
7. Prosedur Pengukuran Kadar Malondialdehida Hepar dengan Uji <i>Thiobarbiturat Acid</i> (TBA).....	62
8. Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar dan Pewarnaan <i>Hemaktosilin-Eosin</i> (HE).....	63
9. Hasil Pengujian Malondialdehida (MDA) .....	65
10. Anilisa Statistika Menggunakan <i>Statistical Package for The Social Science</i> (SPSS) <i>version 22.0 for window</i> .....	66
11. Perhitungan Presentase Kadar MDA .....	68
12. Hasil Pengujian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam ( <i>Auricularia polytricha</i> )... ..	69
13. Komposisi Pakan Standar (BR1) .....	70

**DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG**

°	: Derajat
°C	: Derajat celcius
µm	: Miu = micrometer
µg	: Mikrogram
%	: Persen
BB	: Berat Badan
cm	: sentimeter
Dkk	: Dan kawan-kawan
dL	: Desiliter
<i>et al.</i>	: <i>Et alii</i> = and others = dan lain-lain
kg	: Kilogram
MDA	: Malondialdehyde
mg	: Miligram
mL	: Mililiter



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Dalam hutan hujan di Indonesia dapat ditemukan berbagai macam jamur dengan jumlah sekitar 12.000 jenis dan di dunia terdapat 47.000 jenis. Dari 12.000 spesies, hanya ratusan yang sudah dikenal. Jenis-jenis jamur yang dijumpai akan menggambarkan keanekaragaman hayati didalam hutan (Putir dkk., 2008). Jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) salah satu dari sekian jenis jamur yang ada di Indonesia. Jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) merupakan salah satu dari berbagai jenis jamur kayu yang dapat dikonsumsi. Disebut sebagai jamur kuping karena jamur yang tergolong dalam genus *Auricularia* ini mempunyai bentuk dan kekenyalan yang menyerupai kuping atau telinga. Secara umum jamur kuping dikenal juga sebagai jamur kuping pohon atau kuping kayu, karena tumbuh pada batang-batang kayu terutama kayu yang sudah lapuk (Falakh, 2008). Menurut Utoyo (2010) yaitu berbentuk seperti cendawan dengan sisi yang sedikit melengkung keatas, tubuh buah yang kecil, dan berwarna coklat kehitaman.

Nutrisi yang terkandung dalam jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) cukup tinggi yaitu 4,2% protein, 2,8% karbohidrat, 5,3 % lemak, dan 19,8 % serat (Chang and Miles 1989). Selain itu jamur ini juga mengandung kalsium, kalium, fosfor, kalsium, magnesium, besi, dan natrium. Pada lendir jamur ini dapat digunakan sebagai penetralisir senyawa beracun pada makanan. Jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) ini juga telah digunakan untuk suplemen pengobatan antihiperlipidemia dan obat

kardiovaskular. Di Inggris ekstrak jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dimanfaatkan sebagai obat sakit tenggorokan (*sore throat*), obat cacing, dan penurun gula darah. (Falakh, 2008).

Hiperkolesterolemia adalah kondisi peningkatan kadar kolesterol dalam tubuh, peningkatan ini dibagi menjadi dua, yaitu hiperkolesterolemia sedang dan hiperkolesterolemia tinggi. Hiperkolesterolemia dapat dibuat pada beberapa hewan dengan menambahkan lemak dan kolesterol yang tinggi pada pakan, tindakan ini dapat disebut dengan induksi endogen. Kondisi ini mengindikasikan akumulasi dari radikal bebas di tubuh. Akumulasi radikal bebas ini disebabkan dari proses perubahan kolesterol menjadi asam empedu, dimana proses perubahan ini membutuhkan  $7\alpha$ -hidroksilasi sebagai salah satu enzim mikrosomal yang memerlukan oksigen, NADPH, dan sitokrom P-450. Jika terdapat banyak asam empedu yang terbentuk, maka aktivitas sitokrom P-450 dan oksigen akan meningkat, dan menyebabkan radikal bebas sebagai hasil samping terbentuk berlebih. Peningkatan radikal bebas ini yang tidak dapat ditangani oleh antioksidan tubuh akan menstimulasi proses peroksidasi lipid dan mengakibatkan stress oksidatif (Mu'nisa, 2009).

Pada kondisi hiperkolesterolemia dapat dilakukan pengukuran dengan salah satu parameter, yaitu MDA (Valko *et. al.*, 2006). Malondialdehida (MDA) sendiri juga dapat menjadi indikator jika terjadi oksidasi LDL, yaitu kondisi ketika paparan radikal bebas yang terlalu tinggi di sel endotel dinding arteri, sehingga akan mempercepat kemunculan plak aterosklerosis (Price dan Wilson, 2006), radikal bebas ini akan menonaktifkan faktor *endothelial-*



*relaxing* (Yu *et. al.*, 2002). Sehingga, pada kondisi hiperkolesterolemia sangat dibutuhkan asupan antioksidan tambahan untuk mengatasi kelebihan radikal bebas yang juga berguna untuk mencegah atau mengurangi terjadi oksidasi LDL. Fungsi lain dari antioksidan adalah sebagai senyawa atau zat yang melindungi sistem biologis tubuh dan dapat melawan efek potensial dari reaksi yang menyebabkan oksidasi berlebihan (Capeyron *et. al.*, 2002).

Jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) mengandung senyawa antioksidan (Hung and Nhi, 2012). Antioksidan ini akan bekerja sebagai penghambat terjadinya peroksidasi lipid dan pelindung dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas (Mu'nisa, 2009). Tikus putih (*Rattus novergicus*) digunakan sebagai hewan model hiperkolesterolemia pada penelitian ini dengan induksi pakan yang mengandung tinggi kolesterol (induksi eksogen).

Tikus putih (*Rattus novergicus*) yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi tiga kelompok besar penelitian yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok hiperkolesterolemia, dan kelompok terapi jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*). Kadar kolesterol normal dalam darah pada tikus putih (*Rattus novergicus*), yaitu 10-54 mg/dL (Herwiyarirasanta, 2010), sedangkan untuk rata-rata kadar MDA normal pada tikus putih (*Rattus novergicus*) adalah 1,599 µg/mL (Agnes dkk., 2013). Keadaan hiperkolesterolemia pada hewan sering menyerang hewan-hewan kesayangan, seperti anjing dan kucing. Hal ini disebabkan oleh pakan yang sering dicampur dengan hati (ayam dan sapi).

Presentase kejadian ini pada anjing sekitar 32,8%, sedangkan di kucing 13% (Xenoulis, 2007). Pada awal permulaan hiperkolesterol mungkin belum ada gejala, akan tetapi jika berlangsung cukup lama, maka gejala yang dapat diamati antara lain: (1) pengendapan lemak pada tendon kulit (xanthoma) ; (2) pembesaran hati dan limpa ; (3) pada manusia, akan mengalami nyeri pada perut (jika kadar trigliserida lebih dari 800mg/dL) dan nyeri pada dada kiri (penanda adanya penyakit jantung). Pada umumnya hiperkolesterolemia diketahui ketika penderita telah didiagnosis mengidap jantung koroner atau stroke (Yatim,2011).

Hal tersebut yang menelatarbelakangi tugas akhir ini, guna mempelajari pengaruh dari terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) terhadap Tikus putih (*Rattus novergicus*) model hiperkolesterolemia yang diharapkan mampu mengurangi kadar MDA dan mengurangi kerusakan histopatologi hepar.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka dapat disimpulkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dapat menurunkan kadar MDA hepar pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model hiperkolesterolemia?
2. Apakah pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dapat memperbaiki kerusakan histopatologi hepar pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model hiperkolesterolemia?

### 1.3 Batasan Masalah

Bedasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) strain *Wistar* jantan yang diperoleh dari Fakultas Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang dengan umur 8 – 12 minggu, dan berat badan sekitar 150 - 200 gram.
2. Perlakuan terapi dilakukan selama 28 hari, dengan pemberian pakan hiperkolesterolemia per-oral dengan menggunakan sonde lambung pada hari ke-1 sampai dengan ke-14 dan pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polythrica*) per-oral dengan menggunakan sonde lambung pada hari ke-15 sampai dengan ke-28.
3. Komposisi diet hiperkolesterolemia terdiri dari asam kholat 0,1%, minyak babi 10%, dan kuning telur puyuh rebus 5% mengacu pada penelitian Gani (2013).
4. Jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) diperoleh dari usaha pribadi Bapak Hidayat yang berlokasi di Desa Sruwen, Kecamatan Tengaran, Kabupaten Semarang.
5. Pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dilakukan dengan tiga dosis, yaitu 0,05 mg/kgBB, 0,15 mg/kgBB, dan 0,25 mg/kgBB diberikan selama 14 hari per-oral dengan sonde lambung.

6. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kadar MDA dan histopatologi hepar pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model hiperkolesterolemia..

#### 1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini, antara lain:

1. Mengetahui pengaruh pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) untuk menurunkan kadar MDA hepar tikus putih (*Rattus novergicus*) model hiperkolesterolemia.
2. Mengetahui pengaruh pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dapat memperbaiki kerusakan histopatologi hepar pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model hiperkolesterolemia.

#### 1.5 Manfaat penelitian

Melalui penelitian ini diharapkan dapat diketahui manfaat dari air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) yang jarang dikonsumsi masyarakat, dimana memiliki fungsi sebagai terapi hiperkolesterolemia dan mampu sebagai pencegah gangguan organ yang disebabkan oleh hiperkolesterolemia.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Hiperkolesterolemia

Kolesterol adalah sterol utama dalam tubuh. Kolesterol dibutuhkan tubuh sebagai struktur membran sel dan lipoprotein serta bahan awal pembentukan asam empedu dan juga hormon steroid (Montgomery *et. al.*, 1993). Terdapat empat kelompok utama yang berperan dalam proses pengangkutan kolesterol, antara lain: (1) kilomikron yang berasal dari penyerapan trigliserida dalam usus; (2) lipoprotein berdensitas sangat rendah (*Very Low Density Lipoprotein/VLDL*) yang berasal dari hati untuk mengeluarkan trigliserida; (3) lipoprotein berdensitas sedang (*Low Density Lipoprotein/ LDL*) yang memperlihatkan tahap akhir dalam katabolisme VLDL; dan (4) lipoprotein densitas tinggi (*High Density Lipoprotein/ HDL*) yang terlibat dalam metabolisme VLDL, kilomikron, dan juga kolesterol (Stipanuk, 2000)

Hiperkolesterolemia adalah kondisi peningkatan kolesterol dalam tubuh (Mu'nisa, 2009). Kolesterol dalam tubuh dipakai untuk membentuk asam kolat yang merupakan dasar dari asam empedu dan disintesis di hati. Dalam proses sintesis ini pada tahap pertama akan dikatalis oleh enzim mikrosomal  $7\alpha$ -hidroksilase yang memerlukan oksigen, NADPH, dan sitokrom P-450 oksidase. Maka dari itu peningkatan kadar kolesterol maka akan banyak asam empedu yang disintesis serta pemakaian oksigen, NADPH

dan aktivitas sitokrom P-450 akan mengalami peningkatan (Mayes, 1996). Peningkatan aktivitas dari sitokrom P-450 akan menghasilkan radikal bebas yang berlebihan (Dhaunsi *et. al.*, 1992).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Pembentukan radikal bebas dapat dengan dua, cara yaitu endogen, sebagai respon normal dari proses biokimia dalam tubuh dan secara eksogen dari polusi yang terpapar ke tubuh melalui pernafasan, pencernaan, dan penyerapan (Mu'nisa, 2009). Radikal bebas ini mampu menarik elektron dari molekul-molekul lain, sehingga dapat merusak senyawa penyusun membran (asam lemak tak jenuh) (Noguchi *and* Nikki, 1999).

Pada oksidasi asam lemak akan menghasilkan aldehyd jenuh (heksanal) dan aldehyd tak jenuh [malondialdehida (MDA) serta 4-hidroksinonenal (HNE)]. Heksanal dan HNE merupakan derivat dari oksidasi asam linoleat dan asam arakidonat, sedangkan MDA bersumber dari asam arakidonat. Secara umum MDA memiliki tiga ikatan rangkap (Estebauer *et. al.*, 1992). Peroksidasi lipid dapat dilihat dengan menggunakan metode TBARs yang berdasarkan dari reaksi asam tiobarbiturat (TBA) dengan MDA sebagai produknya. Membran-membran mikrosom hati menjalani peroksidasi lipid secara enzimatik dimana bergantung pada NADPH atau NADH, yang memiliki peran sebagai pereduksi  $Fe^{3+}$  menjadi  $Fe^{2+}$  (Halliwell *and* Gutteridge, 1999). Telah dilaporkan bahwa ada hubungan antara tingginya kadar MDA dengan kerusakan jaringan, seperti pada sel endotelia,

sel otot polos, netrofil, dan monosit (Luczaj *and* Elzbieta 2003; NouroozZadeh *et. al.*, 2001)

Peroksidasi lipid adalah kerusakan secara oksidatif terhadap asam lemak tidak jenuh berantai panjang (*Polyunsaturated Fatty Acid/PUFA*). Membran-membran endotel rentan dengan proses peroksidasi lipid, yang disebabkan oleh kadar PUFA dalam membran yang tinggi. Kadar peroksidasi yang berlebihan akan menyebabkan penyakit-penyakit degeneratif. Jika kadar peroksidasi lipid meningkat di hati, maka peroksidasi lipid ini akan keluar dari hati menuju pembuluh darah dan akan merusak organ atau jaringan lainnya (Yagi, 1994).

## 2.2 Antioksidan

Secara kimia antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (elektron donor), sedangkan jika secara biologis, antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Cara kerja dari antioksidan ini adalah dengan menyumbangkan atau mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas oksidannya dapat dihambat ( Sayuti dan Rina, 2015).

Antioksidan ini dapat dibedakan menjadi antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Senyawa-senyawa yang termasuk antioksidan eksogen adalah enzim-enzim dan antioksidan eksogen berasal dari bahan makanan. Enzim-enzim antioksidan yang biasa menangani munculnya radikal bebas

adalah *superoksidasi dismutase* (SOD), katalases, dan *glutathion peroksidase* (GPX) (Mu'nisa, 2009).

Superoksida dismutase adalah metaloenzim yang mengkatalis reaksi reduksi radikal anion superoksida ( $\bullet\text{O}_2$ ) menjadi hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dan oksigen ( $\text{O}_2$ ). Enzim ini memiliki sifat tidak stabil pada kondisi panas, cukup stabil pada kondisi basa, dan memiliki aktivitas meskipun disimpan hingga 5 tahun pada suhu  $5^\circ\text{C}$ . Aktivitas SOD tertinggi yang diamati ditemukan di hati, kelenjar adrenalin, ginjal, darah, limfa, pankreas, otak, paru paru, lambung, usus, ovarium, dan timus, dengan reaksi sebagai berikut : (Parwata,2016).

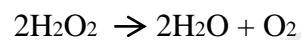


Secara fisiologis tubuh menghasilkan senyawa radikal bebas melalui proses fosforilasi oksidatif. Selama proses ini,  $\text{O}_2$  akan tereduksi menjadi  $\text{H}_2\text{O}$  dengan penambahan 4 elektron, sehingga terbentuk radikal anion superoksida yang kemudian diubah menjadi hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) oleh enzim SOD. Proses fosforilasi dalam mitokondria menyebabkan 1 molekul  $\text{O}_2$  tereduksi oleh 4 elektron bersama-sama dengan ion  $\text{H}^+$  membentuk 2 molekul  $\text{H}_2\text{O}$ . Jika jumlah elektron yang mereduksi  $\text{O}_2$  kurang dari 4, proses fosforilasi berlangsung tidak sempurna sehingga akan terbentuk senyawa radikal bebas (Parwata, 2016).

Katalase adalah enzim yang disusun lebih dari 500 asam amino dan memiliki gugus forfirin. Enzim ini mengkatalis reaksi reduksi senyawa



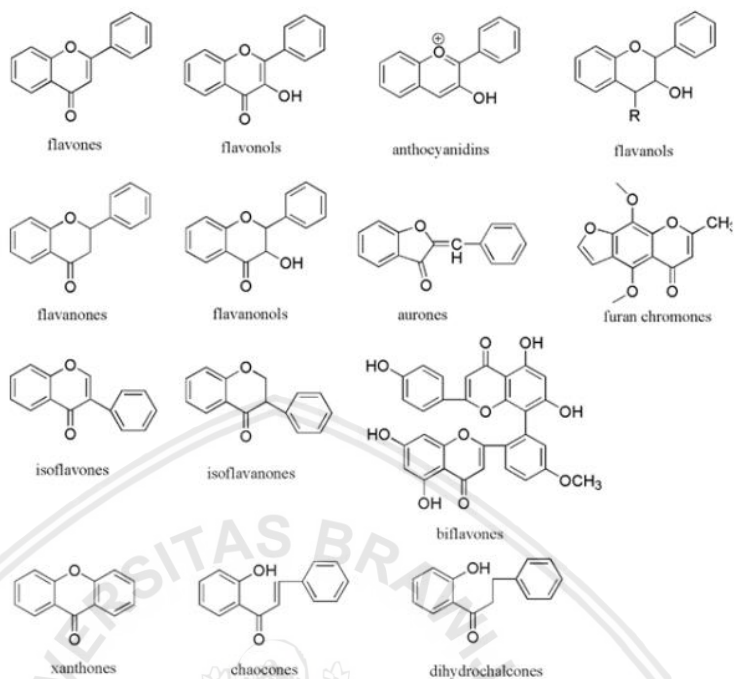
hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) menjadi oksigen ( $\text{O}_2$ ) dan air ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Aktivitas katalase sendiri optimal pada pH 7 dan dapat meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Konsentrasi katalase yang tinggi dapat ditemukan di hati, darah, ginjal, otak, paru-paru, jaringan adiposa, dan kelenjar adrenal, reaksinya adalah sebagai berikut : (Parwata, 2016).



*Glutation peroksidase* (GPX) adalah selanoprotein yang terdiri atas empat subunit protein yang mengkatalis reaksi reduksi  $\text{H}_2\text{O}_2$  menjadi senyawa organik hidroperoksida (ROOH). *Glutation peroksidase* (GPX) banyak ditemukan dalam sitosol hati (Parwata 2016). Dengan reaksi sebagai berikut : (Mu'nisa, 2009)



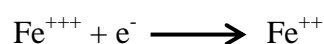
Dalam kondisi hiperkolesterolemia dimana radikal bebas muncul dalam jumlah diluar batas, maka enzim-enzim antioksidan dalam tubuh tidak dapat menanggapi, sehingga dibutuhkan sumber antioksidan lainnya yang berasal dari luar tubuh (Mu'nisa, 2009). Antioksidan alami dari luar tubuh bisa didapatkan dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji, dan serbuk sari seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E, dan senyawa fenolik (flavanoid) (Parwata, 2016).



**Gambar 2.1** Struktur Flavonoid dan Macam-Macamnya (Tian Yang dkk., 2018)

### 2.3 Radikal Bebas

Oksidasi secara biokimia adalah proses pelepasan elektron dari suatu senyawa, sedangkan reduksi adalah proses penangkapan elektron. Senyawa-senyawa yang dapat menarik atau menerima disebut oksidan atau oksidator, sedangkan senyawa yang dapat melepaskan atau memberikan disebut reduktan atau reduktor. Dalam ilmu kimia oksidan adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa yang dapat menarik ion ferri ( $\text{Fe}^{+++}$ ) (Sayuti dan Rina, 2015).



Secara kimiawi radikal bebas adalah suatu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron

tidak berpasangan, sehingga memiliki sifat tidak stabil dan reaktif. Elektron yang tidak berpasangan ini selalu berusaha mencari pasangan, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak maupun DNA) dalam tubuh (Sayuti dan Rina, 2015).

Cara dari radikal bebas menyebabkan kerusakan sel antara lain: (1) Peroksidasi komponen lipid dari membran sel dan sitosol. Menyebabkan serangkaian reduksi asam lemak (otokatalisis) yang mengakibatkan kerusakan membran dan organel sel ; (2) Kerusakan DNA, kerusakan DNA ini dapat mengakibatkan mutasi DNA bahkan dapat menimbulkan kematian sel ; (3) Modifikasi protein teroksidasi oleh karena terbentuknya *cross linking* protein, melalui mediator sulfidril atas beberapa asam amino labil seperti sistein, metionin, lisin dan histidin (Kumar *et al.* 2005; Eberhardt, 2001).

Pada kondisi normal, radikal bebas terus menerus masih dapat dijumpai di dalam tubuh. Hal ini disebabkan karena terjadinya metabolisme sel normal, proses peradangan, kekurangan nutrisi, maupun dikarenakan respon dari paparan dari sinar gama pada tubuh, sinar ultraviolet (UV), polusi lingkungan, dan asap rokok (Wijaya, 1996). Kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas ini dapat menimbulkan penyakit degeneratif seperti kanker, infeksi penyakit jantung koroner, rematik, penyakit respiratorik, katarak, liver, dan *aging* (Wijaya, 1996; Meydani, 2000).

#### 2.4 Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*)

Jamur merupakan organisme eukariota (mempunyai inti sel sejati) yang digolongkan ke kelompok cendawan. Dinding jamur merupakan zat kitin, untuk tubuh (soma) dinamakan hifa. Hifa ini merupakan rantai sel yang membentuk rangkaian berupa benang yang berasal dari spora (Gunawan, 2005). Sel jamur tidak memiliki klorofil, sehingga tidak dapat melakukan proses fotosintesis. Jamur memperoleh makanan secara heterotrof dengan mengambil makanan dari bahan organik. Untuk klasifikasi jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) menurut Wiardani (2010) adalah:

Super kingdom	: Eukaryota
Kingdom	: Myceteae
Divisio	: Amastigomycota
Subdivisio	: Basidiomycotae
Kelas	: Basidiomycetes
Ordo	: Auriculariales
Familia	: Auriculariae
Genus	: Auricularia
Spesies	: <i>Auricularia polytricha</i>

Jamur ini dinamakan jamur kuping karena tubuh buah memiliki bentuk menyerupai kuping manusia yang berlekuk-lekuk dan memiliki

ukuran sekitar 3 – 8 cm. Jamur kuping memiliki tangkai buah yang pendek dan menempel pada substrat (Wiardani, 2010). Tubuh buah jamur kuping dalam keadaan basah bersifat *galtinous* (kenyal), licin, elastis, dan akan berubah menjadi melengkung agak kaku ketika sudah kering. Tebal dari jamur kuping sekitar 0,1 – 0,2 cm. Jamur kuping akan dianggap dewasa jika panjang basidioscarp mencapai 10 cm (Djarjah dan Djarjah, 2001).

Proses penetrasi ke dinding kayu dibantu oleh enzim-enzim pemecah selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang disekresikan oleh jamur melalui ujung lateral benang-benang mesenlium. Senyawa kayu yang terkena enzim dari jamur kuping akan menjadai zat makanan bagi jamur (Djarjah dan Djarjah, 2001).

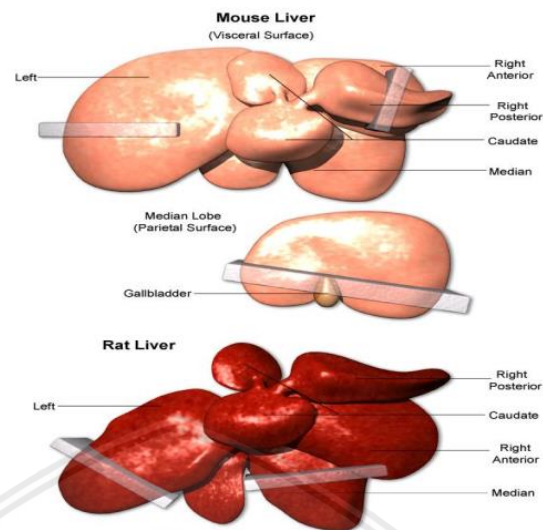
Jamur ini merupakan salah satu dari berbagai jenis jamur yang aman untuk dikonsumsi (*edible*). Istilah lain untuk menyebut jamur jenis ini adalah jamur kuping pohon atau kuping kayu, karena tumbuh di batang-batang kayu terutama kayu yang lapuk. Suhu optimum untuk hidup berkisar pada 20 - 30<sup>0</sup>C dan dengan kelembapan 80 – 90% (Cahyana, 2002). Menurut penjelasan Agromedia (2009) nutrisi yang terkandung dalam jamur kuping hitam adalah sebagai berikut,

**Tabel 2.1** Tabel Kandungan Nutrisi pada Jamur Kuping Hitam per 100 g

Kandungan Gizi	Jumlah
Air	14,80 g
Kalori	284 kkal
Protein	9,25 g
Lemak total	0,73 g
Karbohidrat	73,01 g
Serat	70,1 g
Kalsium	159 mg
Besi	5,88 mg
Magnesium	83 mg
Fosfor	184 mg
Niasin	6,267 mg
Vitamin B6	0,112 mg

## 2.5 Hepar

Hati merupakan salah satu organ yang memiliki fungsi sebagai tempat metabolisme. Letak organ ini secara anatomi ada di permukaan caudal diafragma dan membentang disisi median dan sisi kanan lengkung costae kiri (Bredo, 2011). Hati tikus terbagi menjadi empat lobus, yaitu lobus kiri, lobus median, lobus kanan, dan lobus cuadatus ( Boorman, 2006). Tiga jenis jaringan penting dalam hati yaitu sel parenkim hati, susunan pembuluh darah, dan susunan saluran mepedu (Darmawan, 2003).

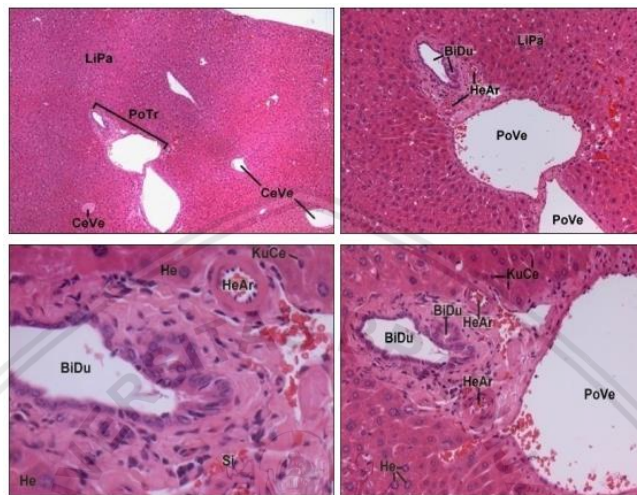


**Gambar 2.2** Hepar Tikus Putih (*Rattus novergicus*) (Bredo, 2011).

Secara mikroskopis, setiap lobus hati terbagi menjadi struktur-struktur yang disebut sebagai lobulus, yang merupakan unit mikroskopis dan fungsional organ. Setiap lobulus merupakan badan heksagonal yang terdiri atas lempeng-lempeng sel hati berbentuk kubus, tersusun radial mengelilingi vena sentralis yang mengalirkan darah dari lobulus. Diantara sel hati terdapat kapiler-kapiler yang disebut sebagai sinusoid. Sinusoid dibatasi oleh sel fagositik atau sel kupffer yang fungsi utamanya adalah menelan bakteri dan benda asing dalam darah. Selain cabang-cabang vena porta dan arteri hepatica, juga terdapat saluran empedu. Saluran empedu interlobular membentuk kapiler empedu yang sangat kecil yang disebut sebagai kanalikuli yang bersatu membentuk saluran empedu yang makin lama makin besar hingga menjadi duktus koledokus (Price *and* Lorraine, 2006)

Sedangkan secara histologi sel sel yang dapat dijumpai adalah sel hati (hepatosit), sel endotel, dan sel makrofag (sel kupffer). Hepatosit yang berjajar akan memiliki saluran kapiler yang disebut sinusoid hati. Sinusoid

sendiri adalah saluran yang berliku dan melebar, diameter yang tidak teratur, dan dilapisi sel endotel bertingkat. Sel-sel yang membatasi sinusoid antara lain sel endotel dengan inti pipih gelap, dan sel kuppfer (Gibson, 2003).

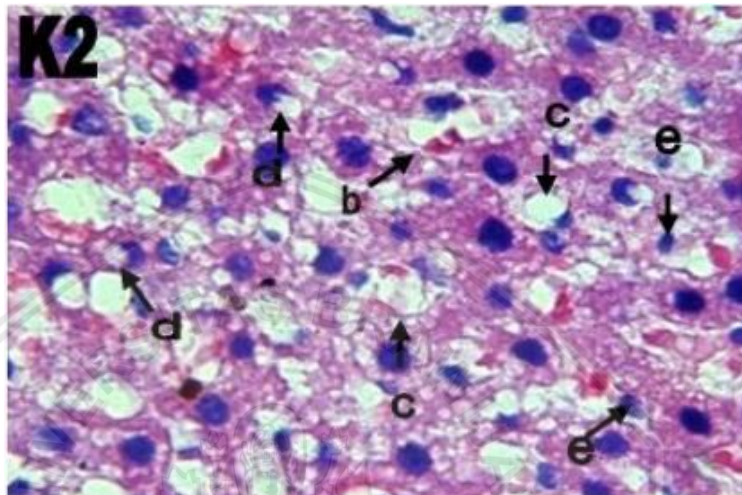


**Gambar 2.3** Histologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). LiPa: liver parenchyma, PoTr: portal triad, CeVe: central vein, BiDu: Biler duct, HeAr: hepatic arteri, PoVe: portal vein, KuCe: kuffer cell, He: hepatocit, Si: sinusoid (Susanti, 2015).

Fungsi hati yang dijelaskan oleh Price and Lorraine (2006) antara lain: (1) Sekresi, hepar memproduksi empedu yang berguna dalam emulsifikasi dan absorpsi lemak; (2) Metabolisme, hepar memiliki peranan penting dalam metabolisme protein, lemak dan karbohidrat; 3) Penyimpanan, hepar menyimpan beberapa mineral, seperti besi dan tembaga, serta vitamin yang larut dalam lemak, yaitu vitamin A, D, E, dan K. Hepar juga menyimpan toksin dan obat-obatan yang tidak dapat dipecah atau diekskresi oleh tubuh; (4) Detoksifikasi, hepar dapat mendetoksifikasi toksin dan berbagai obat-obatan. Proses ini dilakukan melalui oksidasi, metilasi dan konjugasi ; (5) Produksi panas, banyaknya aktivitas kimiawi dalam hepar membuatnya berperan sebagai sumber utama panas tubuh, terutama ketika



tubuh dalam keadaan istirahat atau tidur; (6) Penyimpanan darah, hepar adalah reservoir darah yang dihasilkan dari jantung dan limpa serta volume darah yang diperlukan oleh tubuh.



**Gambar 2.4** Gambarana Mikroskopis hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia. b: sinusoid, c: degenerasi, d: infiltrasi lemak, e: sel radang, perbesaran 10x100 (Roslizawaty dkk., 2016).

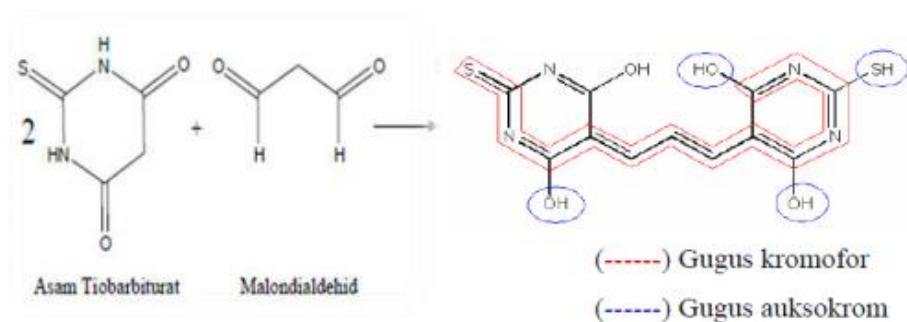
Histopatologi adalah ilmu yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan pada kondisi sakit. Maka gambaran histopatologi pada kondisi hiperkolesterolemia yang dapat diamati di hepar adalah munculnya vakuola-vakuola lemak yang disebabkan oleh degenerasi melemap, sehingga akan mendesak inti sel hepatosit ke tepi. Dapat pula dikatakan bahwa sel hepatosit mengalami imflamsi, hal ini ditunjukkan dengan salah satu ciri-ciri jika sel mengalami imflamsi yaitu, mengalami pembengkakan (*swelling*), akumulasi lemak (lipid), dan sel mengalami kerusakan (lisis). Infiltrasi sel lemak akan tampak mengisi ruang diluar sitoplasma. Kondisi ini disebabkan oleh peningkatan aktivitas lipogenesis dan pembentukan *free fatty acid* (FFA). Sel radang juga dapat dijumpai pada gambaran mikroskopis. Sel radang ini

disebabkan oleh penumpukan radikal bebas pada organ. Radikal bebas yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan dan kematian sel sehingga sel radang akan datang untuk membersihkan sel-sel yang rusak (Roslizawaty dkk., 2016).

## 2.6 Malondialdehida (MDA)

Malondialdehid (MDA) merupakan senyawa yang digunakan sebagai penanda terjadinya stress oksidatif dan sebagai produk oksidasi asam lemak tidak jenuh oleh radikal bebas serta metabolit komponen sel yang dihasilkan oleh radikal bebas. Tingginya kadar MDA menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel, bila antioksidan tinggi biasanya diikuti oleh penurunan kadar MDA (Indahsari, 2017).

Prinsip pengukuran MDA adalah dengan reaksi satu molekul MDA dengan dua molekul asam tiobarbiturat (TBA) membentuk kompleks senyawa MDA-TBA yang berwarna merah muda dan kuantitasnya dapat dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532-533 nm (Parwata, 2016).



**Gambar 2.5** Reaksi TBA dengan MDA (Parwata, 2016)

## 2.7 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) termasuk ke dalam hewan mamalia. Hewan ini memiliki ciri-ciri tubuh seperti, bertubuh panjang, bentuk kepala sempit, memiliki ekor yang panjang, memiliki telinga yang tebal serta pendek dengan rambut halus, dan memiliki mata merah. Berat badan rata-rata pada umur 12 minggu untuk jantan mencapai 240 gram, sedangkan untuk betina mencapai 200 gram. Umur hidup hewan ini berkisar 4 – 5 tahun dengan berat badan rata-rata 267 – 500 gram untuk jantan dan 225 – 325 gram untuk betina. Kebutuhan pakan sebesar 10% dari berat badan sedangkan kebutuhan minum perhari sekitar 15-30 ml perhari (Sirois, 2005).



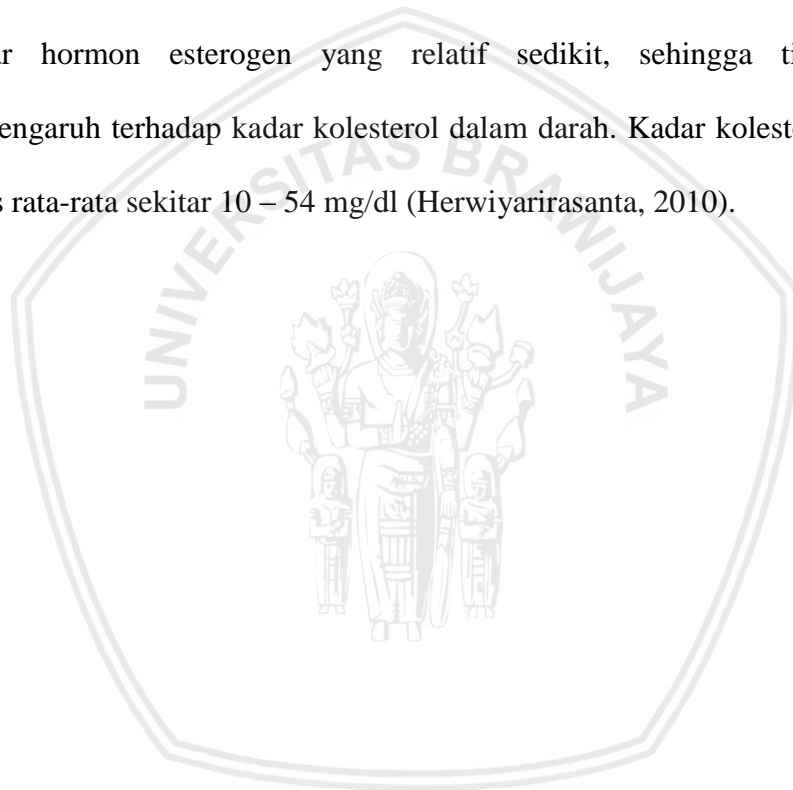
**Gambar 2.6** Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (Suckow *et. al.*, 2006)

Menurut Suckow *et. al.*, (2006) klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) antara lain:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia

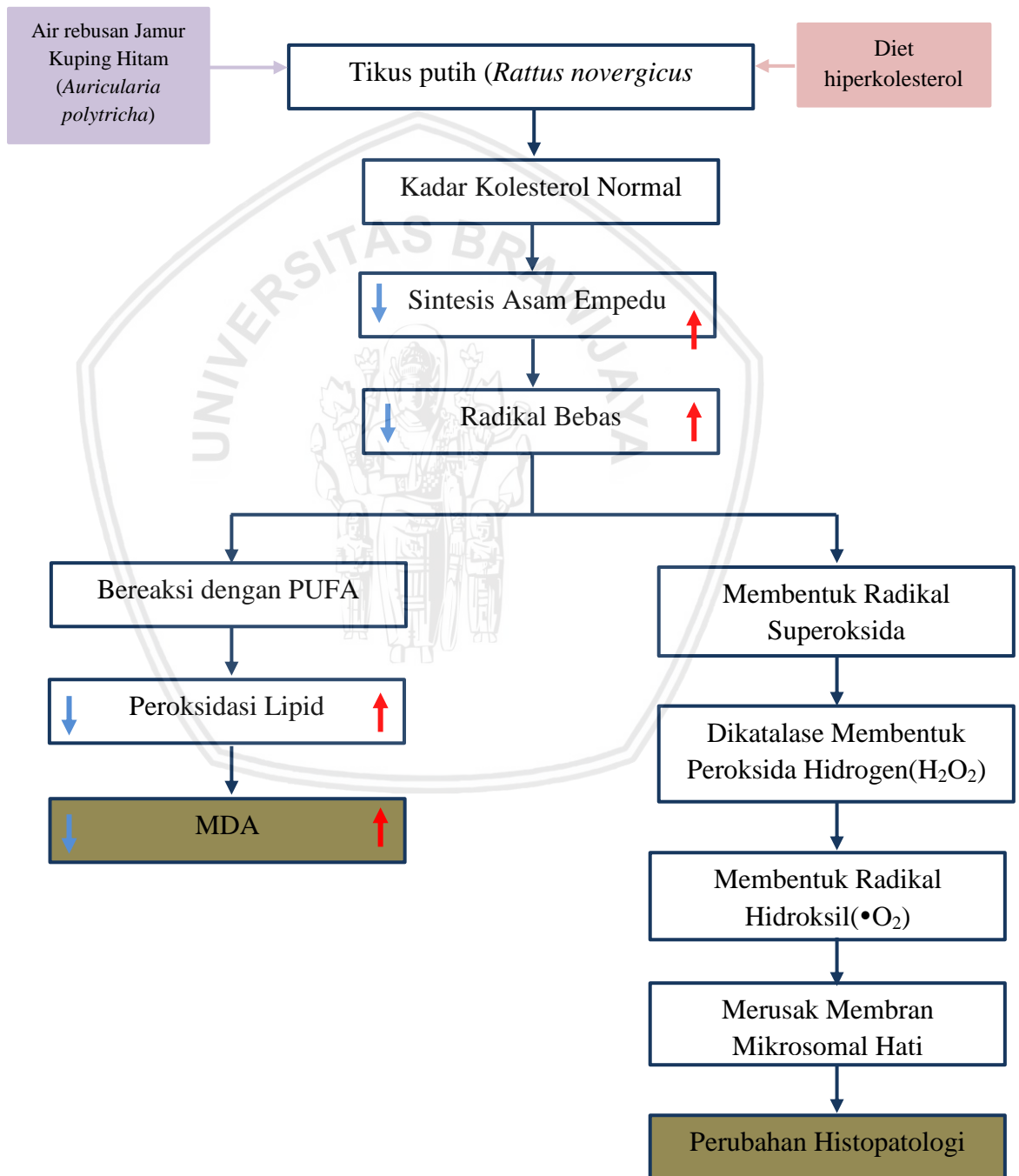
Subordo : Sciurognathi  
Famili : Muridae  
Sub-Famili : Murinae  
Genus : Rattus  
Spesies : *Rattus norvegicus*  
Galur/*Strain* : Wistar, Sprague Dawley

Penggunaan hewan model tikus jantan dipilih karena memiliki kadar hormon esterogen yang relatif sedikit, sehingga tidak dapat berpengaruh terhadap kadar kolesterol dalam darah. Kadar kolesterol normal tikus rata-rata sekitar 10 – 54 mg/dl (Herwiyarirasanta, 2010).



### BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

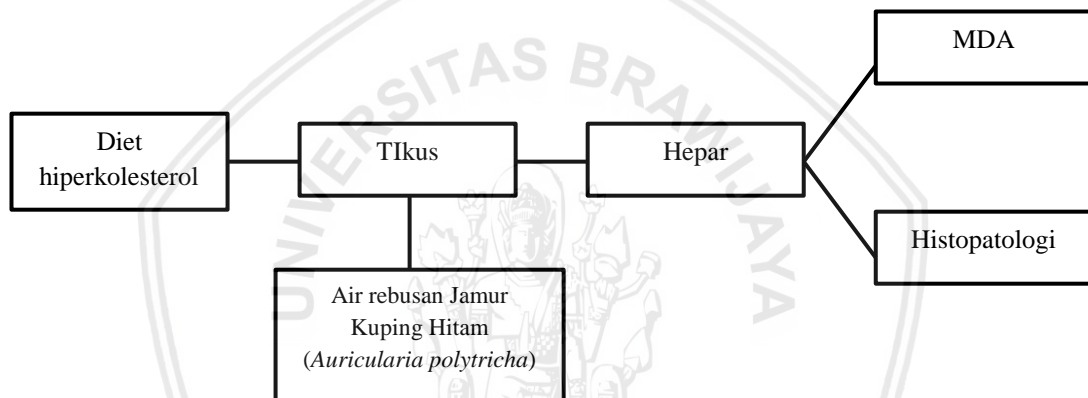
#### 3.1 Kerangka Teori



Gambar 3.1 Kerangka Teori Penelitian

**Keterangan:**

- ↓ : Mekanisme dalam tubuh tikus       : Paparan
- ↓ : Efek pemberian air rebusan       : Variabel bebas
- ↑ : Efek pemberian diet hiperkolesterol  : Variabel yang diamati

**3.2 Kerangka Konseptual**

Pada kondisi hiperkolesterolemia, tubuh akan berusaha menyeimbangkan kadar kolesterol dengan cara terus menyintesis asam empedu, sehingga banyak sitokrom P-450 yang dibutuhkan. Peningkatan aktivitas sitokrom P-450 ini akan menghasilkan radikal bebas yang berlebih sebagai hasil sampingnya. Kondisi kelebihan radikal bebas ini tidak dapat ditangani oleh enzim antioksidan dalam tubuh. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan peroksidasi lipid akan menyebabkan munculnya kondisi yang disebut stress oksidatif.

Peroksidasi lipid adalah suatu kondisi rusaknya proses oksidasi akibat adanya radikal bebas dan dibawah kondisi stress oksidatif di membran plasma atau dapat disebut sebagai kondisi dimana radikal bebas bereaksi dengan PUFA

(*Polyunsaturated fatty acids*), sehingga akan menghasilkan lipid peroksida yang bersifat tidak stabil. Produk dari proses oksidasi ini adalah malondialdehida (MDA). Sehingga MDA sering digunakan sebagai parameter untuk melihat tingginya radikal bebas dalam tubuh.

Salah satu radikal bebas yang terbentuk adalah radikal superoksida dimana memiliki sifat paling reaktif. Radikal superoksida ini akan direduksi sehingga membentuk peroksida hidrogen ( $H_2O_2$ ) setelah itu akan mengalami dekomposisi dengan  $Fe^{2+}$  dan menghasilkan radikal hidroksil ( $\bullet O_2$ ). Radikal hidroksil ini akan berperan dalam kerusakan sel-sel membran. Terlebih pada membran yang memiliki kandungan PUFA cukup tinggi, salah satunya adalah hepar.

Kerusakan pada hepar jika diamati secara mikroskopis maka akan degenerasi melemak dan juga adanya sel radang. Degenerasi melemak adalah kondisi yang sering terjadi pada sel-sel parenkimatososa seperti sel hepar, tubulus ginjal, myocard, dan lain sebagainya. Degenerasi melemak akan terlihat seperti vakuola kosong jika dilaksanakan pewarnaan HE, sehingga juga dapat disebut degenerasi vakuola. Salah satu penyebab degenerasi ini adalah penyerapan lemak dari usus yang berlebihan.

Pada kondisi normal ketika radikal bebas terbentuk dan menyebabkan munculnya peroksidasi lipid, tubuh akan terpicu untuk mengekspresikan antioksidan dan kemampuan adaptasi alami oleh sel. Sedangkan, jika pada kondisi hiperkolesterolemia yang memiliki tingkat radikal bebas yang terbentuk cukup

tinggi, maka antioksidan dalam tubuh tidak dapat menangani tingginya radikal bebas itu sendiri.

Sehingga pada kondisi hiperkolesterolemia ini akan membutuhkan asupan antioksidan dari luar tubuh. Sumber antioksidan eksogen salah satunya adalah jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*). Mekanisme kerja dari antioksidan adalah untuk menurunkan radikal bebas dalam tubuh dengan menyumbangkan satu molekul yang dapat berpasangan dengan radikal bebas, sehingga akan menjadikan radikal bebas lebih stabil. Selain itu pemberian jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) sebagai antioksidan tambahan dapat menurunkan kadar MDA menjadi normal atau mendekati normal dan akan mengurangi terbentuk vakuola-vakuola yang disebabkan oleh degenerasi melemak dan sel radang..

### 3.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, maka hipotesis yang ingin dilakukan adalah:

1. Pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) secara kuratif dapat menurunkan kadar MDA hepar pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model hiperkolesterolemia dengan pakan hiperkolesterol.
2. Pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) secara kuratif dapat mencegah kerusakan histopatologi hepar pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model hiperkolesterolemia dengan pakan hiperkolesterol.



## BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2019 sampai dengan bulan April 2019 di :

- a) Pemeliharaan dan pemberian perlakuan hewan coba di Laboratorium Fisiologi Hewan UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- b) Pengukuran kadar malondialdehida dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Tumbuhan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- c) Pengamatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, Malang.

### 4.2 Alat dan Bahan Penelitian

#### 4.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan coba, botol minum, sekam, tempat pakan, alat sonde, *dissecting set*, papan bedah, sarung tangan (*glove*), masker, *disposable syringe* 3 mL dan 5 mL, tabung *venoject*, timbangan digital, gelas ukur, tabung reagen (schott 1000 ml dan 100 ml), tabung *Erlenmeyer*, *object glass*, *cover glass*, mikrotom, mikroskop cahaya (Olympus BX51), kamera digital, , pipet tetes, vortex, *centrifuge* (*Thermoscientific Sorvall Biofud Primo R*

*Centrifuge*), *appendorf micropipette* ukuran 10–100  $\mu$ l, spektrofotometer UV-VIS, karet *bulb*, pisau, gunting, bunsen, pot organ, kertas saring, *autoclave*, *timer*, inkubator, dan lemari pendingin.

#### 4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain *Wistar* umur 8–10 minggu dengan berat badan 150-200 gram, Jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*), asam kholat 0,02 gram, minyak babi 2 gram, dan kuning telur puyuh rebus 1 gram, paraformaldehide (PFA), alkohol (70%, 80%, 90%, 100%), akuades, NaCl fisiologis, *xylol*, parafin blok, pewarna *hematoxylin* dan *Eosin*.

#### 4.3 Tahapan Penelitian

Tahapan-tahapan dalam penelitian ini, antara lain:

1. Rancangan penelitian dan preparasi hewan model.
2. Pembuatan air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*).
3. Perhitungan pemberian sediaan air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*).
4. Pembuatan pakan dan pemberian diet hiperkolesterolemia.
5. Proses *euthanasia* hewan model pengambilan hepar
6. Pengukuran kadar Malondialdehida (MDA)
7. Pembuatan preparat histopatologi hepar
8. Analisis data..

#### 4.4 Prosedur Penelitian

##### 4.4.1 Rancangan Penelitian dan Preparasi Hewan Model

Penelitian ini bersifat eksperimental. Rancangan untuk penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan penelitian ini sesuai dengan kerangka operasional yang ada pada **Lampiran 1**. Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok tanpa perlakuan (kelompok negatif), kelompok dengan pemberian diet hiperkolesterolemia (kelompok hiperkolesterolemia), kelompok terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dengan dosis 0,05 mg/kgBB, 0,15 mg/kgBB, dan 0,25 mg/kgBB serta pemberian diet hiperkolesterol. Rancangan penelitian ditunjukkan dalam **Tabel 4.1**

**Tabel 4.1** Kelompok Perlakuan

Kelompok tikus	Perlakuan
A	Tanpa perlakuan (kontrol negatif)
B	Diberi diet hiperkolesterol (kontrol positif)
C	Pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam ( <i>Auricularia polytricha</i> ) dengan sediaan pemberian 1 mL/200grBB
D	Pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam ( <i>Auricularia polytricha</i> ) dengan sediaan pemberian 2 mL/200grBB
E	Pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam ( <i>Auricularia polytricha</i> ) dengan sediaan pemberian 3 mL/200grBB

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- Variabel bebas : dosis air rebusan jamur kuping hitam
- Variabel terikat : kadar MDA dan histopatologi hepar
- Variabel kontrol : hewan coba (umur, berat badan, dan strain *Wistar*), jenis pakan, kandang (luas kandang, kelembapan, dan suhu)

Hewan coba diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari untuk menyesuaikan kondisi lingkungan laboratorium. Pemberian pakan selama masa adaptasi berupa pakan standar yaitu 20 gram/ekor/hari dalam bentuk pelet dan air minum yang diberikan *ad libitum*. Komposisi pakan berdasarkan *Association of Analytical Communities* (2005) terdiri dari 5% karbohidrat, 10% protein, 3% lemak, dan 13% vitamin dan mineral. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dikandangkan sesuai kelompok perlakuan dan dipelihara pada ruangan bersuhu  $26^{\circ}\text{C} - 27^{\circ}\text{C}$  dengan kelembaban ruang 83% (Saputri dkk., 2008).

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, strain *Wistar*, berumur 8-10 minggu, dengan berat badan sekitar 150-200 gram. Perhitungan sampel menggunakan rumus Montgomery and Kowalsky (2011)

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan

p : jumlah kelompok perlakuan

n : jumlah ulangan yang diperlukan

**Tabel 4.2** Rancangan Penelitian “Two Ways Table”

Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
K-	K-.1	K-.2	K-.3	K-.4	$\sum_1^5 K -$	$\frac{\sum_1^5 K -}{5}$
K+	K+.1	K+.2	K+.3	K+.4	$\sum_1^5 K +$	$\frac{\sum_1^5 K +}{5}$
P1	P1.1	P1.2	P1.3	P1.4	$\sum_1^5 P1$	$\frac{\sum_1^5 P1}{5}$
P2	P2.1	P2.2	P2.3	P2.4	$\sum_1^5 P2$	$\frac{\sum_1^5 P2}{5}$
P3	P3.1	P3.2	P3.3	P3.4	$\sum_1^5 P3$	$\frac{\sum_1^5 P3}{5}$

**Keterangan:**

Kelompok Negatif : Tanpa diberi perlakuan

Kelompok Positif : Diberi diet hiperkolesterol (kontrol positif)

Tikus Perlakuan P1 : Pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dengan sediaan pemberian 1 mL/200grBB

Tikus Perlakuan P2 : Pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dengan sediaan pemberian 2 mL/200grBB

Tikus Perlakuan P3 : Pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dengan sediaan pemberian 3 mL/200grBB

**Tabel 4.3** ANOVA (*Analysis of Variance*)

S.V	df	SS	MS	F <sub>Calculated</sub>	F <sub>5%</sub>
<b>Treatment</b>	T-1	SST	MST	$\frac{MST}{MSE}$	3,06
<b>Error</b>	T(n-1)	SSE	MSE		
<b>Total</b>	Tn-1	SS total			

#### **4.4.2 Pembuatan Air Rebusan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*)**

Sediaan air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) pemberian kepada hewan coba tikus putih (*Rattus novergicus*) masing-masing sebanyak 1 mL/200grBB untuk kelompok perlakuan satu, 2 mL/200grBB untuk kelompok perlakuan dua, dan 3 mL/200grBB untuk kelompok perlakuan tiga selama 14 hari. Pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) per-oral dengan menggunakan sonde lambung (**Lampiran 3**).

#### **4.4.3 Perhitungan Dosis dan Pemberian Terapi Air Rebusan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*)**

Prosedur pembuatan air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dilakukan sama seperti pada penelitian Budinastiti dkk., (2017) yaitu, disiapkan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dengan berat kering 85 gr. Jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) direbus dengan volume air 1800 mL selama 3-5. Setelah itu air rebusan sebanyak 600 mL di saring dan dikukus pada suhu 90<sup>0</sup>C hingga volume air rebusan tersisa 50 mL. Tujuan dari diupkannya air sampel dalam metode ekstraksi ini adalah untuk mengentalkan sampel, sehingga dapat diatur dosis pemberiaanya (**Lampiran 4**).

#### 4.4.4 Pembuatan Pakan dan Pemberian Diet Hiperkolesterol

Diet hiperkolesterol menggunakan asam kholat 0,02 gram, minyak babi 2 gram, dan kuning telur puyuh rebus 1 gram yang dilarutkan ke dalam akuades sebanyak 2 mL. Pakan hiperkolesterol diberikan per-oral dengan sonde lambung sebanyak 3,02 g/ekor/hari (Gani, 2013) (**Lampiran 5**). Pakan hiperkolesterol diberikan pada kelompok B, C, D, dan E. Diet hiperkolesterol diberikan pada hewan model sebelum pemberian pakan standar (**Lampiran 13**). Diet hiperkolesterol diberikan selama 14 hari.

#### 4.4.5 Euthanasia dan Pengambilan Hepar

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) didislokasi pada bagian leher dan dilakukan pembedahan. Hepar diambil dan dicuci dengan NaCl fisiologis, kemudian disimpan dalam formalin 10%, penyimpanan organ pada formalin untuk mencegah terjadi perubahan komponen dalam organ.

#### 4.4.6 Pengukuran Kadar Malondialdehida (MDA) Hepar

##### 4.4.6.1 Pengukuran Kurva Standar Malondialdehida (MDA)

Pengukuran kurva standar ini sesuai dengan metode yang digunakan oleh Aulani'am *et. al.*, (2012). Larutan stok kit MDA konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 µg/mL diambil 100 µL, dimasukkan dalam ependrof yang berbeda, ditambahkan akuades 550 µL, 100 µL TCA 10%, 250 µL HCl 1 N, 100 µL NaThio 1 %, dan dihomogenkan. Setelah itu disentrifugasi dengan

kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk diambil, lalu dipanaskan dalam *waterbath* dengan suhu 100°C selama 30 menit, setelah itu dibiarkan dalam suhu ruangan, lalu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda_{\text{maks}}$  (532 nm). Hasil absorpsi kemudian dibuat kurva standar MDA dan dihasilkan persamaan linear **Lampiran 4**.

#### 4.4.6.2 Pengukuran Kadar Malondialdehida (MDA) Hepar dengan Uji *Thiobarbituric Acid* (TBA)

Pengukuran kadar MDA dilakukan sesuai dengan metode yang digunakan Aulanni'am *et. al.*, (2012). Hepar dengan berat 1 gram dimasukkan ke dalam mortar dingin dan digerus hingga halus. Kemudian 500  $\mu\text{L}$  NaCl 0,9% ditambahkan dan dilakukan homogenasi. Homogenat diambil dan dipindahkan ke tabung ependorf. Selanjutnya, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 20 menit dan diambil supernatan. Supernatan sebanyak 100  $\mu\text{L}$  dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah akuades 550  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{L}$  TCA, 100  $\mu\text{L}$  HCl 1 N, 100  $\mu\text{L}$  NaThio 1 % dan dihomogenkan kembali. Setelah itu, disentrifugasi 500 rpm selama 10 menit, dipanaskan dalam *waterbath* 100°C selama 30 menit. Sampel kemudian diukur absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{maks}} = 532 \text{ nm}$ ) **Lampiran 5**.



#### 4.4.7 Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi Hepar Pewarnaan *Hemaktosilin-Eosin* (HE)

Pembuatan preparat diawali dengan melakukan fiksasi yaitu merendam hepar dalam paraformaldehid (PFA) 4% selama 24 jam. Proses ini bertujuan untuk mencegah kerusakan jaringan, menghentikan proses metabolisme, mengawetkan komponen sitologi dan histologi, serta mengeraskan materi yang lunak agar mudah untuk terwarnai. Proses pembuatan preparat seperti yang dijelaskan oleh Junqueira *and* Cameiro (2005) dan Wati dkk., (2013) antara lain:

- a. Dehidrasi ; yaitu mengeluarkan air dalam jaringan, sehingga dapat terisi dengan parafin yang akan mempermudah proses memotong preparat menjadi tipis. Proses ini menggunakan etanol 70%, 80%, 90%, dan 95%.
- b. *Clearing* ; yaitu proses penjernihan organ, larutan yang digunakan adalah *xylol* dan dibagi menjadi tiga tahap, yaitu dengan *xylol* I selama satu jam, *xylol* II selama 30 menit, dan *xylol* III selama 30 menit.
- c. *Embedding* ; tahap dimana organ dimasukkan ke parafin cair dengan kisaran suhu 56<sup>0</sup>C selama dua jam, kemudian diambil dengan pinset dan dilanjutkan ke parafin blok.
- d. *Sectinong* ; proses pemotongan sampel organ menggunakan *microtome* dengan ketebalan sampe 5µm. Pemilihan ukuran ini bertujuan untuk mempermudah tertembus cahaya pada prose

pengamatan. Setelah dipotong sampel direndam dalam *waterbath* dengan suhu 40°C.

- e. *Mounting* ; yaitu proses penempelan blok parafin yang telah dipotong ke *object glass*. Setelah ditempel dikeringkan diatas *hot plate* sampai kering dengan kisaran suhu 38<sup>0</sup>-40<sup>0</sup>C, dan disimpan pada suhu 37<sup>0</sup>C.
- f. Proses pewarnaan HE ; menggunakan pewarna *Hemaktosilin* dan *Eosin*. Diawali dengan larutan *Hemaktosilin* selama 10 menit, dicuci dengan air mengalir selama 15 menit, dan dibilas akuades. Setelah itu, preparat diwarnai dengan pewarna *eosin* selama lima menit dan dicuci dengan air mengalir selama 10 menit, dan dibilas akuades selama lima menit **Lampiran 6**.

Setelah dilakukan pewarnaan preparat dapat diamati menggunakan mikroskop cahaya (Olympus BX51) dengan menggunakan perbesaran 100x dan 400x. perubahan mikroskopis yang dapat diamati adalah munculnya vakuola yang diakibatkan oleh degenerasi lemak dan sel radang akibat jumlah radikal bebas yang tinggi.

#### 4.4.8 Analisa Data

Analisa data MDA hepar dianalisa secara kuantitatif dengan menggunakan ragam statistika *oneway ANOVA (Analysis of Variant)* dan dilanjutkan dengan uji Tukey  $\alpha=5\%$ . Sedangkan, untuk analisa data

histopatologi hepar dianalisa secara deskriptif dengan diamati adanya degenerasi lemak dan adanya sel radang.



## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*) Terhadap Kadar Normal Malondialdehida (MDA) Tikus Putih (*Rattus novergicus*) model Hiperkolesterolemia

Pengukuran kadar malondialdehida (MDA) pada tikus putih (*Rattus novergicus*) dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) sebagai pengobatan pada kondisi hiperkolesterolemia. Pengukuran kadar MDA ini menggunakan uji ANOVA dibantu dengan SPSS *version 22.0 for window* dan ditunjukkan pada **Tabel 5.1**

**Tabel 5.1** ANOVA (*Analysis of Variance*) kadar MDA

S.V	df	SS	MS	F <sub>Calculated</sub>	F <sub>5%</sub>
<b>Treatment</b>	4	5306,553	1326,638	1,084	3,06
<b>Error</b>	15	18351,213	1223,414		
<b>Total</b>	19	23657,766			

Data uji *One Way* ANOVA pada **Tabel 5.1** disajikan dengan tingkat kepercayaan 95% menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata karena  $F_{hit} < F_{tabel}$  5% (3.06), maka dapat disimpulkan bahwa kadar MDA antara masing-masing perlakuan tidak berpengaruh secara signifikan.

Berdasarkan statistika dilakukan uji normalitas dan homogenitas (**Lampiran 10**) menunjukkan normal dan homogen. Hal itu menunjukkan

pengaruh terhadap terapi yang diberikan pada kondisi hiperkolesterolemia. Hasil uji statistika dilanjutkan ke uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau uji *Tukey*, meskipun pada uji sebelumnya tidak memiliki perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Hasil uji statistika yang dilakukan dapat dilihat pada **Tabel 5.2**

**Tabel 5.2** Tabel Rata-Rata Kadar MDA pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Seluruh Kelompok

Kelompok	Rata-rata kadar MDA ng/mL±SD	Peningkatan (%)	Penurunan (%)
K- (kontrol negatif)	458,56±40,54 <sup>a</sup>		
K+ (tikus hiperkolesterol)	496,89±32,75 <sup>a</sup>	8,35%	
P1 (sediaan pemberian 1mL/kgBB)	458,28±38,20 <sup>a</sup>		7,77%
P2 (sediaan pemberian 2mL/kgBB)	450,22±30,97 <sup>a</sup>		9,39%
P3 (sediaan pemberian 3mL/kgBB)	462,72±31,35 <sup>a</sup>		6,87%

Keterangan: Hasil rata-rata kadar tidak berbeda signifikan yang ditunjukkan dengan  $f_{hitung} < f_{tabel}$  ( $p > 0,05$ ) sehingga antar perlakuan menunjukkan notasi yang sama.

Kelompok dengan nilai rata-rata kadar MDA tertinggi, yaitu kelompok hiperkolesterolemia (K+) sebesar 496,89±32,75 ng/mL. Pada kelompok hiperkolesterolemia mengalami peningkatan sebesar 8,35% jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K-) yang memiliki rata-rata sebesar 458,56±40,54 ng/mL. Sedangkan pada kelompok P1 memiliki rata-rata sebesar 458,28±38,20 ng/mL dan mengalami penurunan sebanyak

7,77%. Untuk kelompok P2 memiliki rata-rata sebesar  $450,22 \pm 30,97$  ng/mL dengan persentase penurunan sebesar 9,39%. Sedangkan, untuk kelompok P3 memiliki rata-rata sebesar  $457,73 \pm 31,35$  ng/mL dengan persentase penurunan sebesar 6,87%. Kadar dianalisa MDA menggunakan ragam statistika *One way ANOVA* didapatkan  $f_{hitung}$  sebesar 1,084 dimana lebih kecil daripada  $f_{tabel}$ , yaitu 3,06. Hasil ini membuktikan bahwa rata-rata kadar MDA antar perlakuan tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ).

Penurunan kadar MDA yang tidak berbeda signifikan ini membuktikan, bahwa ketiga volume sediaan yang diberikan selama 14 hari menunjukkan hasil yang sama. Malondialdehida (MDA) produk dari peroksidasi lipid yang disebabkan radikal bebas yang bereaksi dengan PUFA. Oleh sebab itu, MDA sering digunakan sebagai parameter untuk pengujian tingkat radikal bebas dalam tubuh. Peningkatan radikal bebas akan menyebabkan peningkatan juga pada kadar MDA tubuh. Sehingga, dibutuhkan antioksidan lain dari luar tubuh untuk menetralkan radikal bebas yang berlebih dalam tubuh (Muliartha dkk., 2009).

Kadar MDA dapat dijumpai baik pada kelompok kontrol negatif (K-) maupun kelompok hiperkolesterolemia (K+) hal ini disebabkan oleh membran sel mengalami oksidasi. Oksidasi ini disebabkan oleh interaksi antar radikal bebas dengan PUFA. Radikal bebas sendiri normal ada dalam tubuh. Akan tetapi yang membedakan, jika jumlah radikal bebas terlalu banyak di dalam tubuh, misal pada kondisi hiperkolesterolemia, maka antioksidan alami tidak

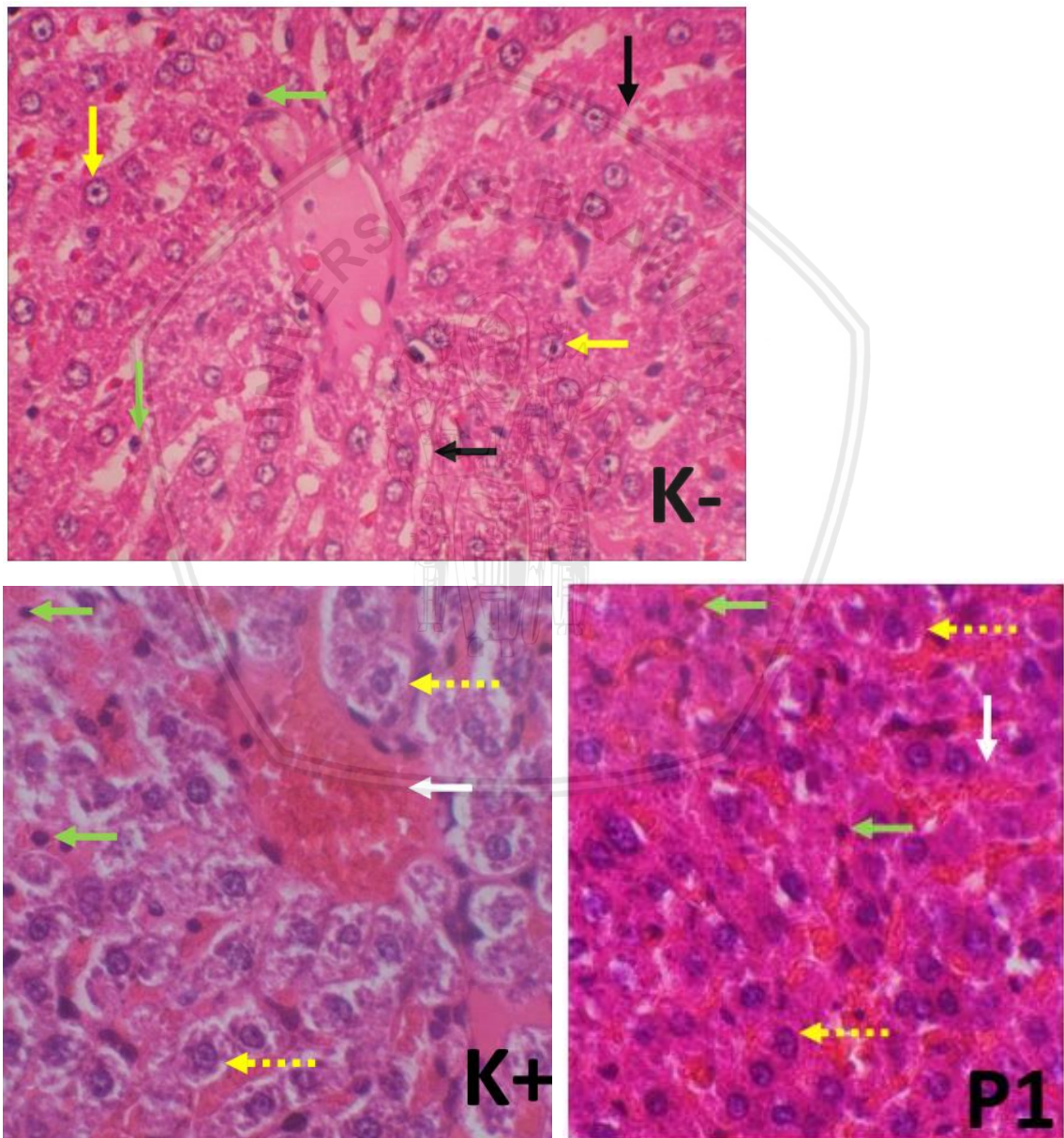
mampu untuk menanganinya, sehingga jika terus menerus menumpuk akan menyebabkan berbagai macam penyakit (Mu'nisa, 2009).

Penurunan kadar MDA dari kelompok yang diterapi, menunjukkan bekerjanya antioksidan yang berasal dari jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*). Secara umum, antioksidan memiliki gugus -OH dan ikatan rangkap dua ( $>C=C<$ ) yang berfungsi sebagai penangkap dan penghambat reaksi radikal bebas. Proses penangkapan dan penghambatan radikal bebas oleh gugus ini adalah dengan memberikan satu molekul hidrogennya, sehingga senyawa radikal bebas menjadi lebih stabil dan terbentuk radikal bebas baru yang kurang reaktif (Parwata, 2016). Penurunan kadar MDA pada antar perlakuan disebabkan oleh flavanoid yang terkandung dalam jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*). Pada kondisi radikal bebas merusak membran sel, radikal yang berperan yaitu radikal hidroksil ( $\bullet O_2$ ), sehingga antioksidan akan bekerja dengan merubah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ , menyebabkan pelepasan radikal hidroksil dapat dikurangi (Dede dkk., 2016 dan Mu'nisa, 2009).

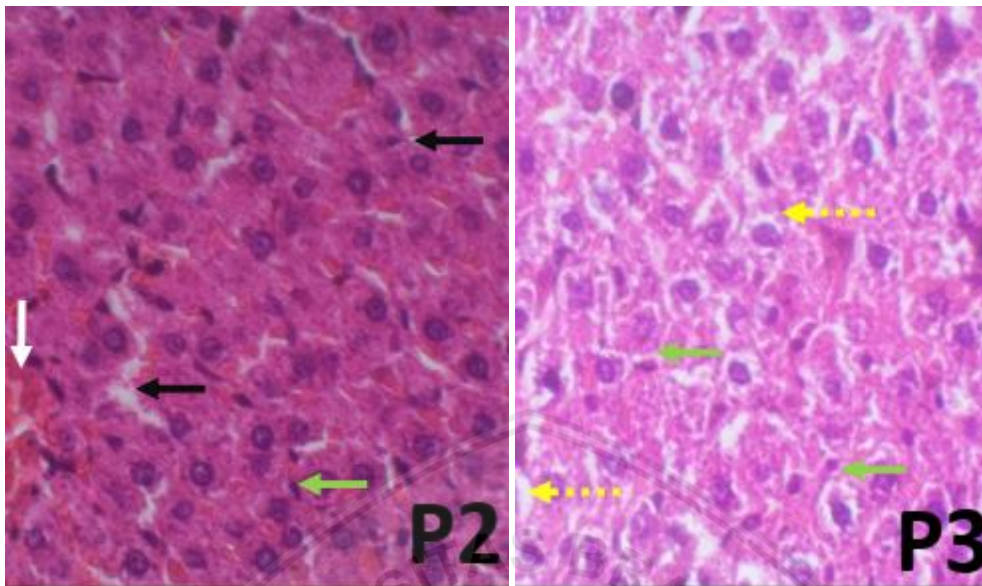
Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dari ketiga sediaan yang diberikan, sediaan 2 mL/kgBB (P2) cukup efektif untuk menurunkan kadar MDA tikus pada kondisi hiperkolesterolemia, meskipun antar kelompok perlakuan tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

## 5.2 Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*) Terhadap Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus novergicus*) model Hiperkolesterolemia

Pengamatan histopatologi hepar tikus putih hasil pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) menggunakan pewarnaan HE diamati pada perbesaran 400x ditunjukkan pada **Gambar 5.1**







**Gambar 5.1** Histopatologi Hepar Tikus Putih dengan Perbesaran 400x

Keterangan:

- K- (kontrol negatif) : Kelompok tanpa perlakuan
- K+ (tikus hiperkolesterol) : Kelompok diberi diet hiperkolesterol
- P1 (sediaan pemberian 1 mL/kgBB) : Kelompok hiperkolesterol yang di terapi dengan sediaan pemberian 1 mL
- P2 (sediaan pemberian 2 mL/kgBB) : Kelompok hiperkolesterol yang di terapi dengan sediaan pemberian 2 mL
- P3 (sediaan pemberian 3mL/kgBB) : Kelompok hiperkolesterol yang di terapi dengan sediaan pemberian 3 mL
- ← (Yellow) : Hepatosit normal
- ← (Yellow with dots) : Hepatosit mengalami degenerasi lemak
- ← (Black) : Sinusoid
- ← (Green) : Sel Kupffer
- ← (Grey) : kongesti

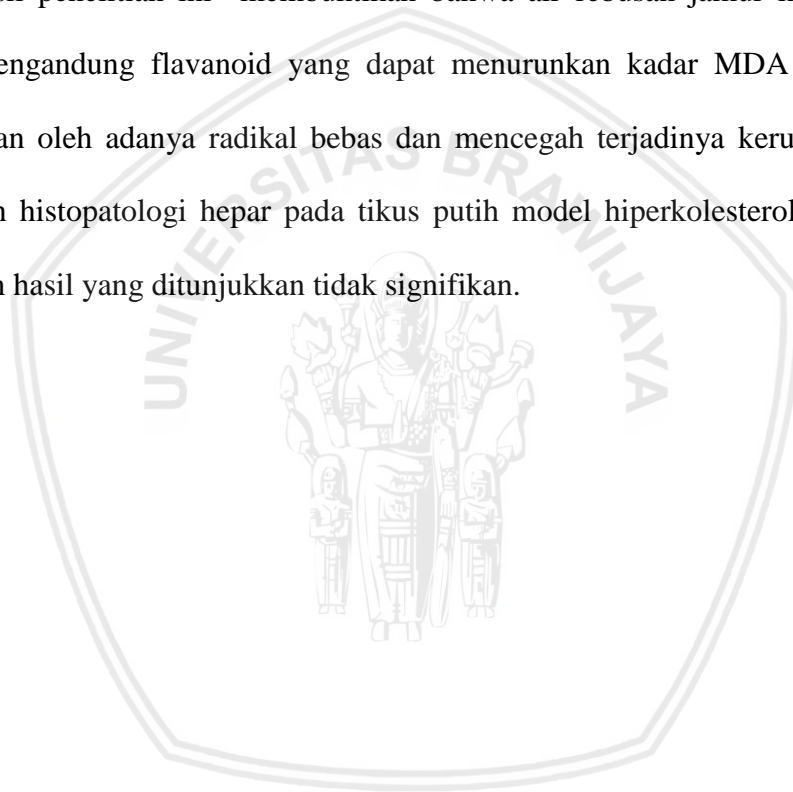
Dalam pengamatan mikroskopis yang dilakukan, dijumpai gambaran sel hepatosit hepar secara normal (K-) memiliki inti sel berada di tengah dengan lobus berbentuk heksagonal dan sinusoid rapi mengelilingi vena sentralis (Roslizawaty dkk., 2016). Sedangkan pada kelompok yang diberi diet hiperkolesterol (K+) menunjukkan perbedaan, yaitu terdapat degenerasi

melemak yang ditunjukkan dengan ‘ ◀♦♦♦♦ ’. Penambahan kolesterol dalam pakan menjadi salah satu penyebab penimbunan lemak dalam hati (Kasim dkk., 2016). Degenerasi melemak yang muncul menunjukkan bahwa oksidasi asam lemak terhambat, mengakibatkan akumulasi asam lemak yang akan dirubah menjadi trigliserida, sehingga jika kadar trigliserida melebihi kapasitas, maka trigliserida yang akan dirubah menjadi VLDL disimpan didalam hati dalam bentuk butiran lemak (Mu'nisa, 2009). Selain degenerasi melemak, dalam kelompok ini juga dijumpai kongesti yang terjadi di sinusoid. Kongesti adalah keadaan dimana aliran darah terganggu yang disebabkan oleh melemapnya sel hepar dalam kondisi hiperkolesterolemia (Kasim dkk., 2012).

Pada semua kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) menunjukkan pengurangan degenerasi sel lemak jika dibandingkan dengan kelompok positif (K+), meskipun pengurangan pada masing-masing kelompok perlakuan tidak signifikan. Pengurangan ini membuktikan bahwa flavanoid yang merupakan antioksidan yang terkandung dalam air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) cukup efektif dalam menurunkan akumulasi sel lemak yang disebabkan oleh pakan hiperkolesterol. Antioksidan yang terkandung dalam air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) ini akan meningkatkan afinitas LDL terhadap reseptornya, sehingga dapat mencegah terbentuknya sel busa di hepar (degenerasi melemak di hepar) (Mu'nisa, 2009).

Dari ketiga sediaan yang diberikan, sediaan yang dapat menurunkan akumulasi lemak di hepar dan kadar MDA adalah sediaan pemberian 2 mL/kgBB. Hal ini tampak lebih sedikitnya degenerasi sel lemak yang teramati dalam preparat histopatologi (P2) dan rata-rata kadar MDA paling rendah pada kelompok perlakuan P2 (**Tabel 5.1**).

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa air rebusan jamur kuping hitam mengandung flavanoid yang dapat menurunkan kadar MDA yang disebabkan oleh adanya radikal bebas dan mencegah terjadinya kerusakan gambaran histopatologi hepar pada tikus putih model hiperkolesterolemia, meskipun hasil yang ditunjukkan tidak signifikan.



## BAB 6 PENUTUP

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan terkait dengan variabel yang diamati, maka dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dapat menurunkan kadar MDA hepar pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model hiperkolesterolemia dengan pakan hiperkolesterol dengan menunjukkan penurunan 7,77% yaitu dengan sediaan pemberian 2 mL/kgBB, meskipun tidak menunjukkan hasil yang signifikan pada masing-masing kelompok perlakuan.
2. Pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dapat memperbaiki kerusakan histopatologi hepar pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model hiperkolesterolemia dengan pakan hiperkolesterol yaitu dengan sediaan pemberian 2 mL/kgBB, meskipun tidak menunjukkan hasil yang signifikan pada masing-masing kelompok perlakuan.

### 6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai rentang dosis yang diberikan pada model air rebusan, sehingga dapat dijumpai dosis optimal yang dapat memberikan hasil penurunan kadar MDA dan memperbaiki histopatologi organ sampai mendekati normal, dan perlu dilakukan ekstraksi yang tepat agar hasil sesuai dengan yang diharapkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agnes, R. Y., Aulanni'am, dan S. Prasetyawan. 2013. Kadar Malondialdehida (MDA) dan Gambaran Histopatologi pada Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Induksi Cylosporine-A. *Kimia Student Journal* Vol 1 No 22 : 222-228 Universitas Brawijaya.
- Aulanni'am, Roosdiana, Ana, and N. L. Rahmah. 2012. The Potency of *Sargassum duplicatum* Bory Extract on Inflammatory Bowel Disease Therapy in *Rattus norvegicus*. *Journal of Life Sciences* 6: 144-154.
- Boorman, G. A. 2006. *Pathology of the Fischer Rat: Reference and Atlas*. California: Academic Press.
- Bredo, R. M. 2011. Anatomy of the Liver In Wistar Rat (*Rattus norvegicus*). *Jurnal International J. Morphol.* Hal 77
- Budinastiti, Ratih, H. R. Sunoko, and N. S. Widiastiti. 2017. The Effect of Cloud Ear Fungus (*Auricularia polytricha*) on Serum Total Cholesterol, LDL And HDL Levels on Wistar Rats Induced by Reused Cooking Oil. E3S Web of Conferences 31, 06006 (2018) ICENIS 2017.

Capeyron, M. F. M. *et al.* 2002. A Diet High Cholesterol and Deficient in Vitamin E Induces Lipid Peroxidation but does not Enhance Antioxidant Enzyme Expression in Rat Liver. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13:296-301.

Chang , S. T and Miles, P. G. 1989. *Edible Mushrooms and Their Cultivation*. Florida: CRC Press, Inc. Boca Raton.

Dede, M. A. W., P. Pandarangga, dan M. M. Laut. 2016. Effect of The Soursop Leaves Ethanol Extract (*Annona muricata* L..) on Histopathology of Aorta in Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) Hypercholesterolemia. Seminar Nasional ke-4 Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana Kupang. ISBN 978-602-21-2.

Dhaunsi, G. S. *et al.* 1992. Demonstration of Cu,Zn-SOD superoxide dismutase in Rat Liver Peroxisome. *Journal Biology Chemistry* 267:6870-6875.

Darmawan S. 2003. *Hati dan Saluran Empedu*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Djarajah, M.N dan Djarajah, A.S. 2001. *Budidaya Jamur Tiram*. Yogyakarta: Kanisius.

Estebauer H, J Gebicki, H Puhl, dan G Jurgens. 1992. The Role of Lipid Peroxidation and Antioxidants in Oxidative Modification of LDL [Review]. *Free Radic Biol Med* 13: 341-390.

- Falakh, S. 2008. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*). [Skripsi]. Program Studi Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Gani, N., L. L. Momuat, dan M. M. Pitoi. 2013. Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada pemberian Gedu Merah (*Abelmoschus Manthol L*). *Jurnal MIPA UNSRAT* 2(1):44-49.
- Grundi, S. M. 1991. *Multifactorial etiology of hypercholesterolemia. Atherosclerosis and thrombosis* 11: 1619-1635.
- Gunawan, Agustin W. 2005. *Usaha Pembibitan Jamur*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Halliwell B dan J. M. C., Gutteridge. 1999. *Free Radicals In Biology And Medicine*. Oxford University Press. Pp 225-230.
- Herwiyarirasanta, I. 2010. Effect of Black Soybean Extract Supplementation in Low Density Lipoprotein Level of Rats (*Rattus norvegicus*) with High Fat Diet. *Scienc Article University of Airlangga Surabaya*.
- Hung, P. V., and Nhi N. N. Y. Nutritional Composition and Antioxidant Capacity of Several Edible Mushrooms Grown in the Southern Vietnam. *International Food Research Journal* 2012;19:611-615.
- Indahsari, N. K. 2017. Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi dengan Parasetamol Dosis Toksik Pasca Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kelor. *Jurnal Kimia Riset* Vol. 2: No. 2, 123-130.

- Junquiera, L. C. and J. Cameiro. 2005. *Basic Histology Text & Atlas: Female Reproduction System. 11th ed.* United States of America: McGraw Hill.
- Junqueira, L. C. 2000. *Histologi Dasar* Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kasim, E., E. Triana, T. Yulinery, dan N. Nurhidayat. 2012. Pengaruh Angkak Hasil Fermentasi Beras Oleh *Monascus purpureus* JMBa Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Glutathion Peroksidase (GPx) serta Histopatologi Hati Tikus Galur Spargue Dawley. *Berita Biologi* 11(2).
- Kusmana, C., dan A. Hikmat. 2015. Keanekaragaman Hayati Flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan* Vol 5 No. 2: 187-198.
- Luczaj W. dan S Elzbieta. 2003. DNA damage caused by lipid peroxidation products. *Cellular and Molecular Biology Letters* 8: 391 – 413.
- Maigoda, T. C., A. Sulaeman, B. Setiawan, dan I. W. T. Wibawan. 2016. Persentase Lemak pada Organ Hatis Tikus Jantan (*Spargue dawley*) Obes yang Diberi Tepung Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan Olahraga Renang. *Jurnal Gizi Pangan* 11(2) ISSN 1978-1059.
- Mayes, P. A. 1997. *Pengangkutan dan penyimpanan lipid*. Di dalam: Murray, R. K *et. Al.*, Biokimia Harper. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Pp 260.



- Montgomery R., L. D. Robert, W.C. Thomas, dan A. S. Arthur. 1993. *Biokimia suatu Pendekatan Berorientasi Kasus, Ed ke-4. M. Ismadi, penerjemah.* Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Mu'nisa, A. 2009. Aktivitas Antiosidan dan Antihiperkolesterolemia Ekstrak Daun Cengkeh (*Eugenia aromatica* O.K) pada Kelinci [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Muliartha, I.K.G., E. Sriwahyuni, dan Yuliawati. 2009. Pemberian Kombinasi Vitamin C dan E Peroral Memperbaiki Kerusakan Hepar Akibat Paparan Rokok Kretek Sub Kronik. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 25(1) : 23-25.
- Noguchi, N. and E. Niki. 1999. *Chemistry of Active Oxygen Species and Antioxidants*. Di dalam Papas, A. M. London: Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health. CRC Press. Hlm 3-20.
- Nourooz-Zadeh J, C. C. T., Smith, dan D. J., Betteridge. 2001. Measures of Stress in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia, *Atherosclerosis* 156:435-441.
- Pandani. 2011. *Siklus Hidup Basidiomycota*. <<http://pak.pandani.web.id/2018/01/siklus-hidupbasidiomycota.html?m=1>> (Diakses pada 28 Oktober 2018).
- Parwata, I. M. O. A. 2016. *Antioksidan*. Denpasar: Universitas Udayana (Bahan Ajar Kimia Terapan Program Pascasarjana).
- Price S. A., and L. M. Wilson. 2006. *Patofisiologi. Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

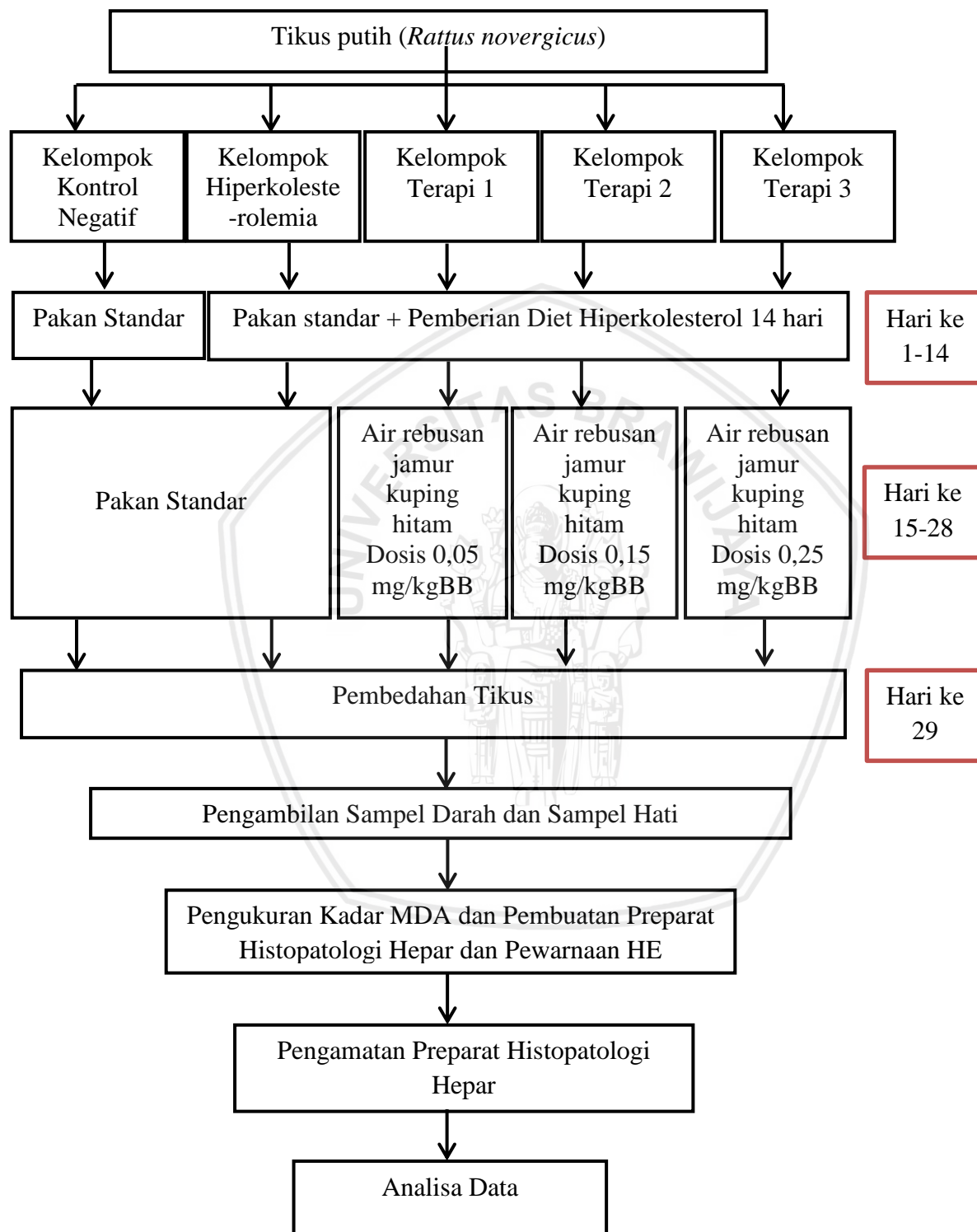
- Putir, P. E., D. Mardji, dan B. D. A. S. Simarankir. 2008. Keanekaragaman Jenis Jamur Makro pada Dua Kondisi Hutan Berbeda di Kalampanan Zone Cimtrop Kalimantan Tengah. *Jurnal Kehutanan Tropika Humida* 1 (2): 155-170.
- Roslizawaty, Rusli, nazaruddin, Syafruddin, I. A. Bangun, dan Jumaidar. 2016. Peningkatan Aktivitas Enzim Lipoprotein Lipase (LPL) dan Perubahan Histopatologi Hati Tikus (*Rattus novergicus*) Hiperkolesterolemia yang Diberi Ekstrak Sarang Senut (*Myrmecodia* sp.). *Jurnal Kedokteran Hewan P-ISSN : 1978-225x; E-ISSN: 2502-5600, vol. 10 No. 1*.
- Sirois. 2005. *Laboratory Animal Medicine: Principles and Procedures*. United States of America: Elsevier.
- Stipanuk M. H. 2000. *Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition*. WB Saunders Company. Pp354.
- Suckow, M. A., Weisbroth, S.H., and Franklin, C.L. 2006. *The Laboratory Rat*. San Diego: Elsevier.
- Susanti, E. 2015. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Insektisida Golongan Piretroid (Sipermetrin) [Skripsi]. Makassar. Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- Utoyo, Norwiyono. 2010. *Bertanam Jamur Kuping di Lahan Sempit*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

- Valko, M. 2006. Free Radical, Metal and Antioxidant In Oxidative Stress Induced Cancer. *J.Chem-Biol, Rusia*, 160: 1-40.
- Wati, I. O., Aulanni'am, dan C. Mahdi. 2013. Aktivitas Protease dan Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Pasca Induksi Cyclosporine-A. *Kimia Student Journal* Vol. 1 No. 2 pp 257-263.
- Wiardani, I. 2010. *Budi Daya Jamur Komsumsi*. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Xenoulis, P. G. 2008. *Lipid Metabolism and Hyperlipidemia in Dogs*. Gastrointestinal Labolatory, Departement of Small Animal Clinical Science, Collage of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences Texas A&M Universuty, Collage Station, TX 77843-4464, USA.
- Yagi K. 1994. *Lipid Peroxides in Hepatic, Gastrointestinal, and Pancreatic Disease. Free Radicals in Diagnostic Medicine*. New York : Plenum Press.
- Yasa, I. M. M., H. R. Abdurachim, N. S. Widyastiti. 2017. Pengaruh Pemberian Jamur Kuping Hitam (*Auricularia Polytricha*) Terhadap Kadar Trigliserida Serum Tikus Wistar yang Dinduksi Minyak Jelantah. *Jurnal Kedokteran Online* Vol 6, No 2 : 645-654 Semarang: Universitas Diponegoro.

# LAMPIRAN



**Lampiran 1. Kerangka Operasional Penelitian**



## Lampiran 2. Sertifikat Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 1092-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

**PENELITIAN BERJUDUL** : PENGARUH PEMBERIAN AIR REBUSAN JAMUR  
KUPING HITAM (*Auricularia polytricha*) TERHADAP  
GAMBARAN HISTOPATOLOGI AORTA DAN KADAR  
TRIGLISERIDA PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)  
MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA

**PENELITI** : CLARA SAKTI K. V. S

**UNIT/LEMBAGA/TEMPAT** : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

**DINYATAKAN** : LAIK ETIK

Malang, 17 Februari 2019  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
Universitas Brawijaya

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



**Lampiran 3 . Perhitungan Dosis**

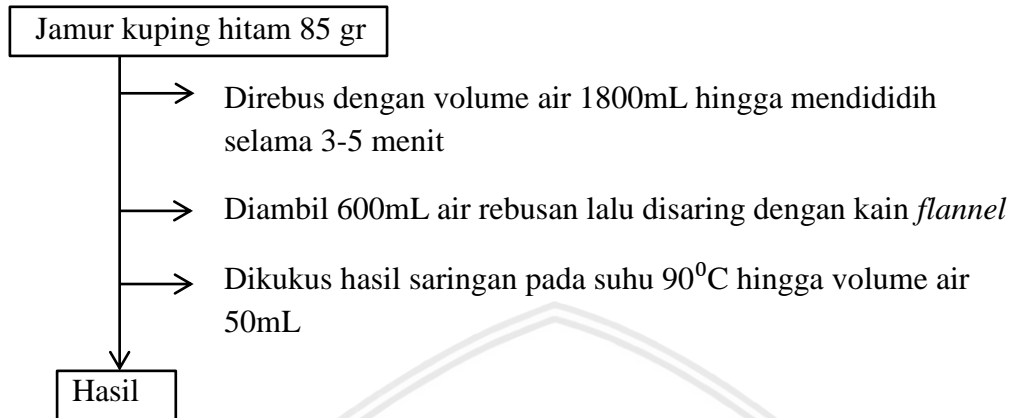
- Rata-rata BB tikus : 200 gram
- Berat Kering Air Rebusan 2mL : 0,1 gram = 100mL/g
- Konsentrasi :  $\frac{0,1 \text{ gram} \times 100\%}{2 \text{ mL}} = 5\%$

➤ Jadi, 5% = 5 g/100mL = 50mL

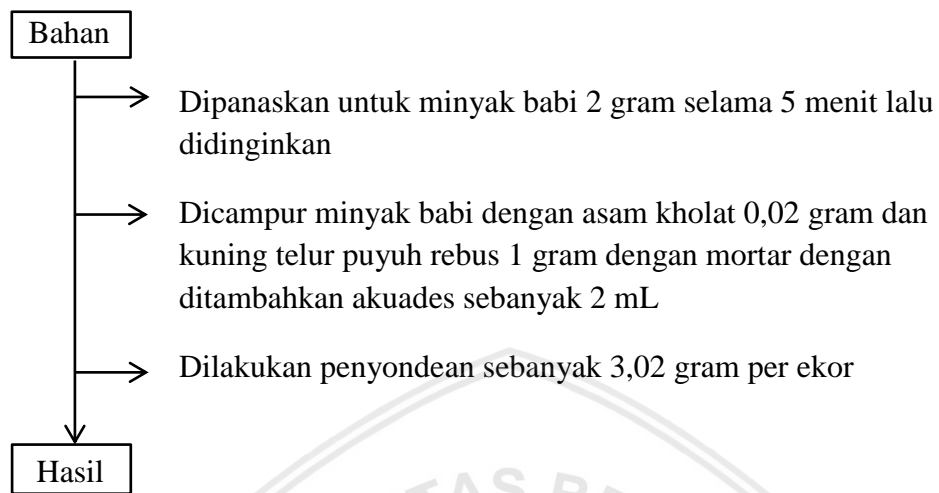
Dosis air rebusan jamur kuping hitam pada setiap sediaan yang diberikan, yaitu:

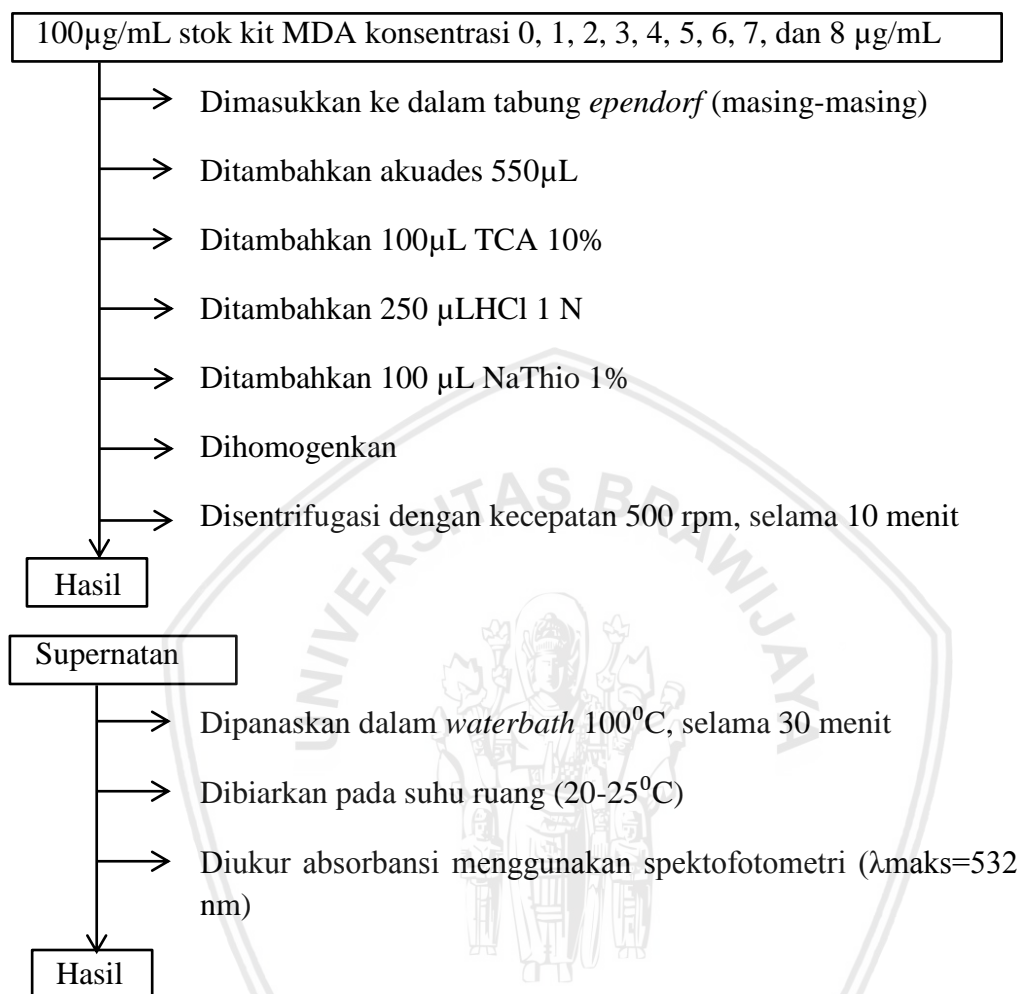
- a) Perlakuan 1 : 1 mL = 50mg/200g = 250mg/kgBB
- b) Perlakuan 2 : 2 mL = 100mg/200g = 500mg/kgBB
- c) Perlakuan 3 : 3 mL = 150mg/200g = 750mg/kgBB

**Lampiran 4.** Kerangka Pembuatan Air Rebusan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*) berdasarkan Budinastiti dkk., (2017)

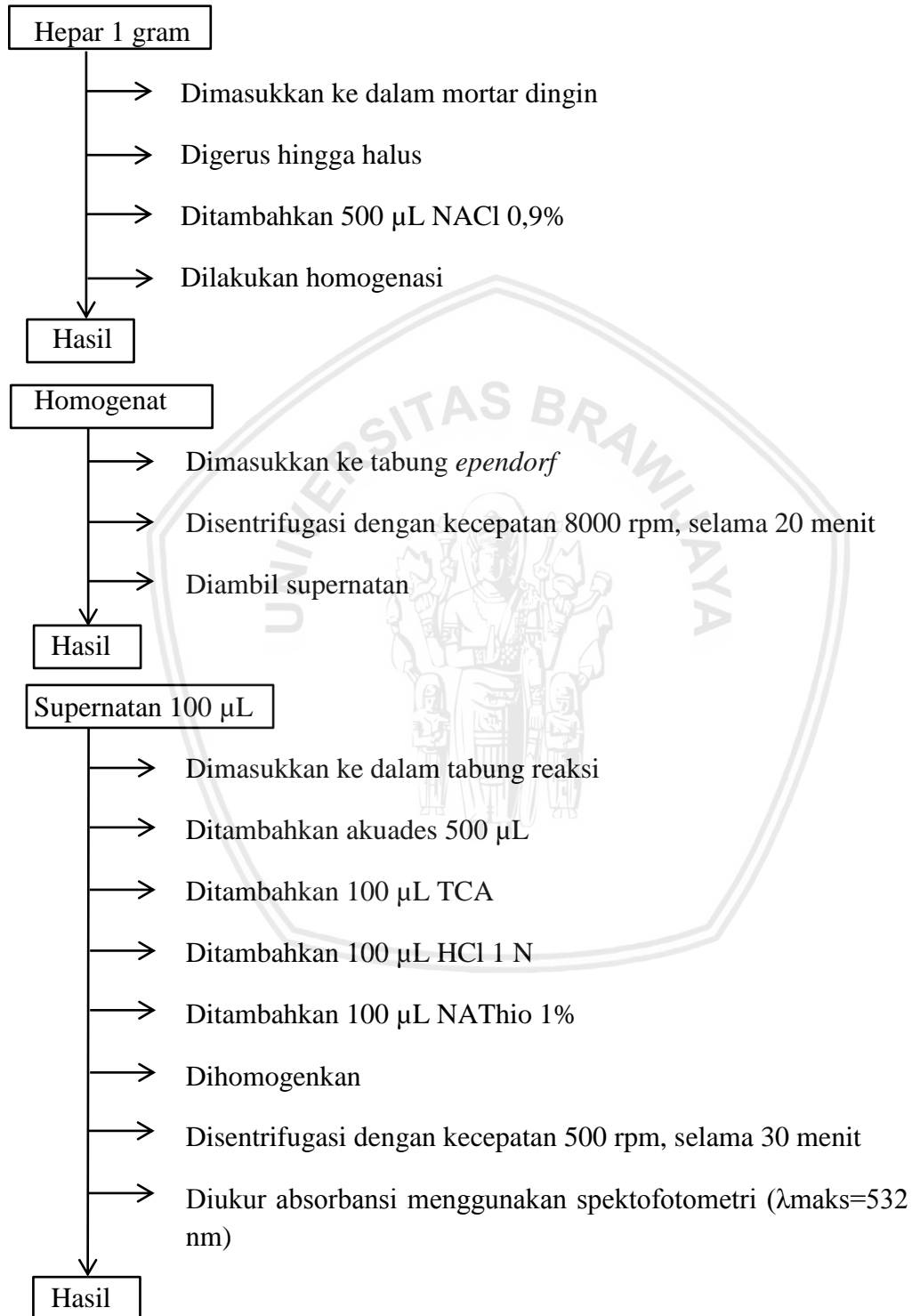




**Lampiran 5. Kerangka Pembuatan Pakan Hiperkolesterol**

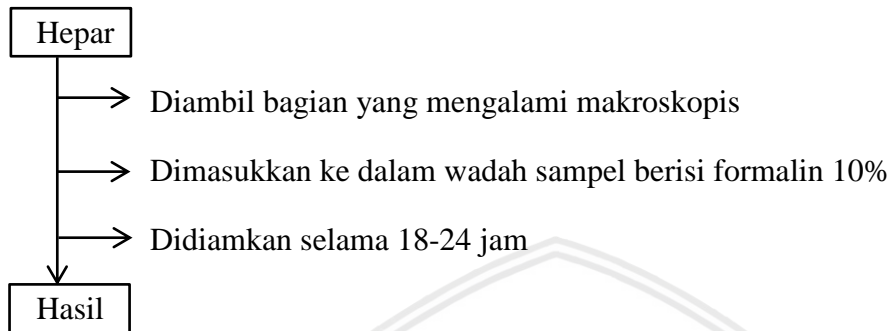
**Lampiran 6.** Prosedur Pengukuran Kurva Standar Malondialdehida

**Lampiran 7.** Prosedur Pengukuran Kadar Malondialdehida Hepar dengan Uji Thiobarbiturat Acid (TBA)

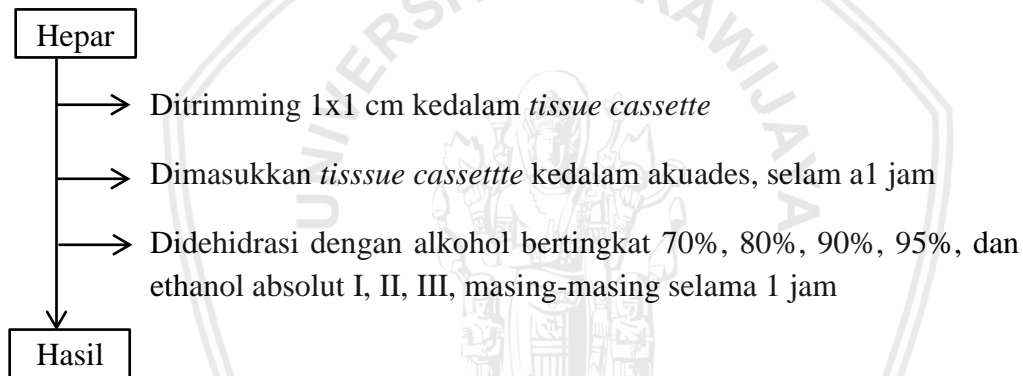


**Lampiran 8.** Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar dan Pewarnaan *Hemaktosilin-Eosin (HE)*

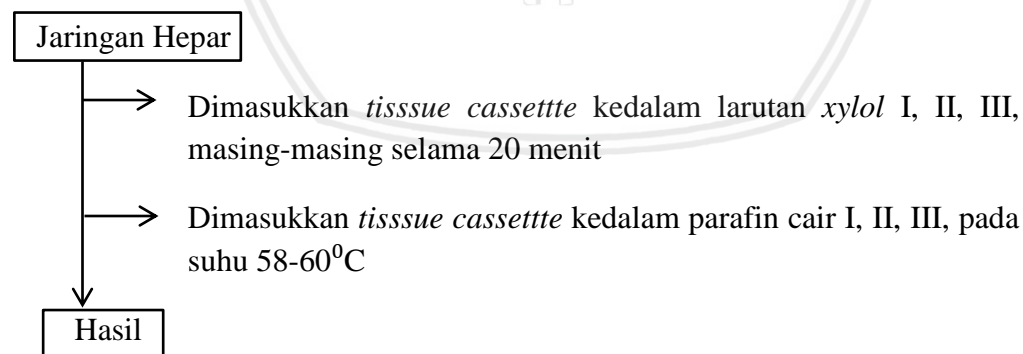
A. Fiksasi



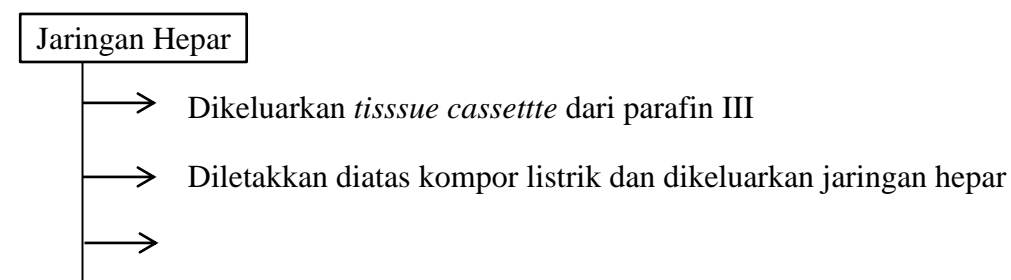
B. Dehidrasi

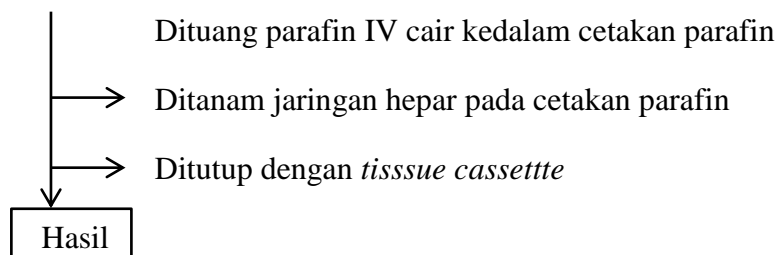


C. *Clearing* (penjernihan)

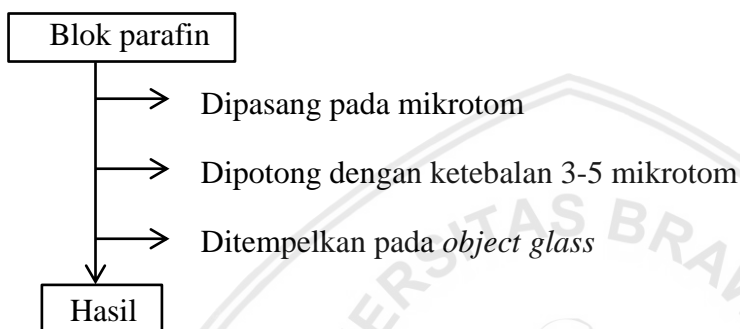


D. *Embedding*

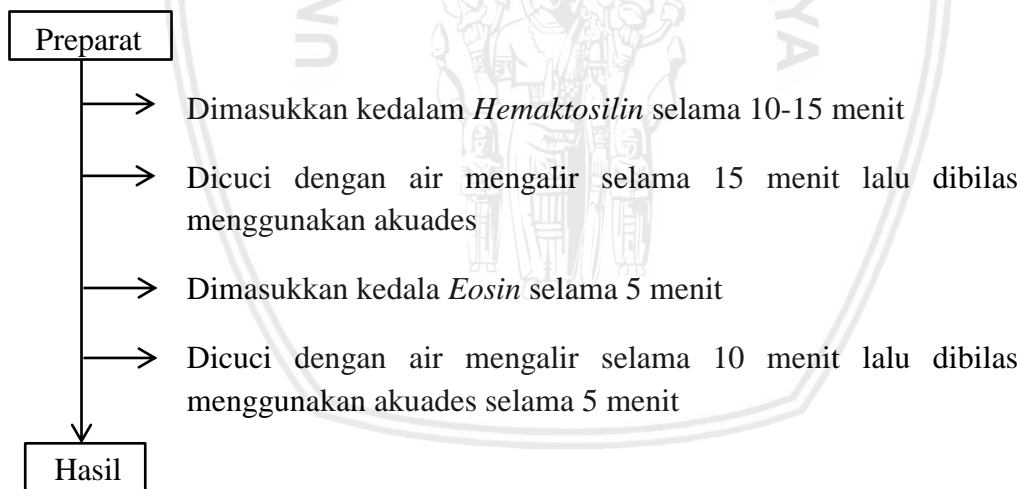




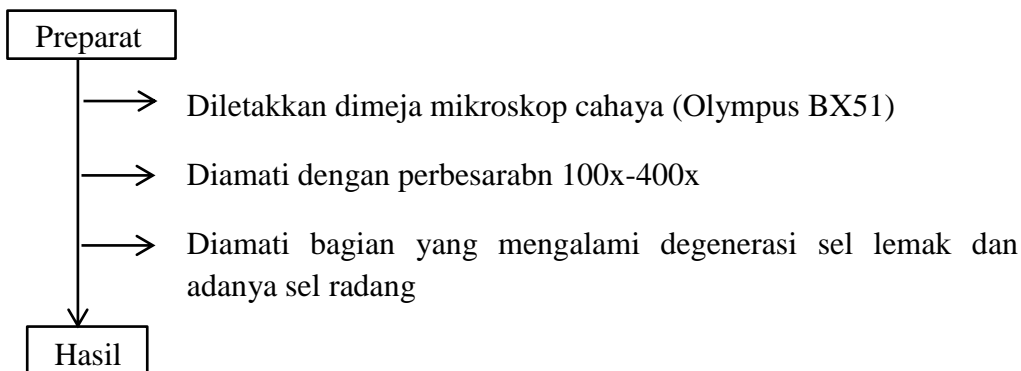
E. *Sectioning* (pemotongan)




F. *Staining* (pewarnaan)



G. Pengamatan



Lampiran 9. Hasil Pengujian Malondialdehida (MDA)



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI**  
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**LABORATORIUM ILMU FAAL**  
 Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia  
 Telp. (62) (0341) 569117, 567192 Ext 115 - Fax. (62) (0341) 564755  
<http://www.fk.ub.ac.id> e-mail : [faal.fk@ub.ac.id](mailto:faal.fk@ub.ac.id)

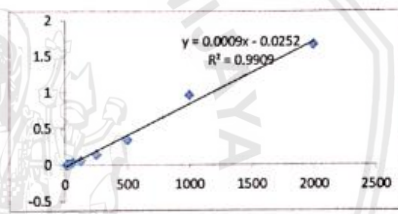
---

**HASIL PEMERIKSAAN UJI SAMPEL**

Nama : YUMNA ESTI  
 Instansi : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya  
 No Lab : 2019.2116  
 Jumlah sampel : 20 Sampel  
 Jenis Pemeriksaan : MDA HEPAR  
 Laboran : BUDI WICAKSONO, AMd.

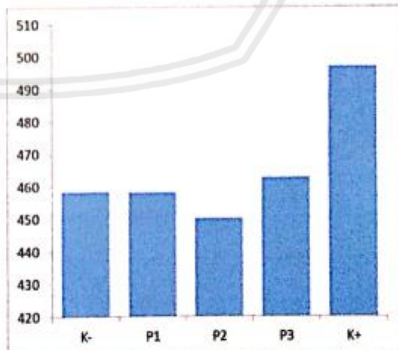
**STANDART MDA HEPAR**

No	Kadar (ng/ml)	Abs
1	16.125	0.006
2	31.25	0.016
3	62.5	0.038
4	125	0.064
5	250	0.148
6	500	0.348
7	1000	0.964
8	2000	1.668




No	Kode	Abs	Kadar (ng/ml)
1	K-1	0.427	502.444
2	K-2	0.355	422.444
3	K-3	0.358	425.778
4	K-4	0.410	483.556
<b>Rata - rata</b>			<b>458.556</b>
5	P1.1	0.406	479.111
6	P1.2	0.363	431.333
7	P1.3	0.354	421.333
8	P1.4	0.426	501.333
<b>Rata - rata</b>			<b>458.278</b>
9	P2.1	0.416	490.222
10	P2.2	0.364	432.444
11	P2.3	0.353	420.222
12	P2.4	0.387	458.000
<b>Rata - rata</b>			<b>450.222</b>
13	P3.1	0.407	480.222
14	P3.2	0.366	434.667
15	P3.3	0.369	438.000
16	P3.4	0.423	498.000
<b>Rata - rata</b>			<b>462.722</b>
17	K+1	0.454	532.444
18	K+2	0.395	466.889
19	K+3	0.399	471.333
20	K+4	0.440	516.889
<b>Rata - rata</b>			<b>496.889</b>

No	Kode	Kadar (ng/ml)
1	K-	458.56
2	P1	458.28
3	P2	450.22
4	P3	462.72
5	K+	496.89



Malang, 3 Mei 2019  
 Ka. Div. Fisiologi Molekuler Lab. Ilmu Faal FKUB



**Edwin Widodo, SSI, MSc.**  
 NIP. 198105042005011001



**Lampiran 10.** Anilisa Statistika Menggunakan *Statistical Package for The Social Science (SPSS) version 22.0 for window*

**a.** Uji Deskriptif

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	4	458,55550	40,536528	20,268264	394,05284	523,05816	422,444	502,444
2	4	496,88875	32,747861	16,373930	444,77960	548,99790	466,889	532,444
3	4	458,27750	38,204332	19,102166	397,48588	519,06912	421,333	501,333
4	4	450,22200	30,965328	15,482664	400,94925	499,49475	420,222	490,222
5	4	462,72225	31,353084	15,676542	412,83250	512,61200	434,667	498,000
Total	20	465,33320	35,286620	7,890328	448,81855	481,84785	420,222	532,444

**b.** Uji Normalitas

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MDA	1	,291	4	.	,846	4	,214
	2	,282	4	.	,861	4	,264
	3	,260	4	.	,904	4	,453
	4	,217	4	.	,953	4	,735
	5	,285	4	.	,866	4	,284

a. Lilliefors Significance Correction

**c.** Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,796	4	15	,546

**d. Uji ANOVA**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5306,553	4	1326,638	1,084	,399
Within Groups	18351,213	15	1223,414		
Total	23657,766	19			





### Lampiran 11. Perhitungan Presentase Kadar MDA

Presentase kadar MDA sebagai berikut :

- **Kelompok k+ (Tikus yang diberi diet hiperkolesterol)**

$$\text{Peningkatan kadar MDA} = \frac{\text{Rataan Kontrol (+)} - \text{rataan kontrol (-)}}{\text{Rataan kontrol (-)}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} &= \frac{496,89 - 458,56}{458,56} \times 100\% \\ &= 8,35\% \end{aligned}$$

- **Kelompok P1 (Tikus terapi dengan sediaan pemberian 1mL/kgBB)**

$$\text{Penurunan kadar MDA} = \frac{\text{Rataan Kontrol (-)} - \text{rataan kontrol (+)}}{\text{Rataan kontrol (-)}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} &= \frac{496,89 - 458,28}{496,89} \times 100\% \\ &= 7,77\% \end{aligned}$$

- **Kelompok P2 (Tikus terapi dengan sediaan pemberian 2mL/kgBB)**

$$\text{Penurunan kadar MDA} = \frac{\text{Rataan Kontrol (-)} - \text{rataan kontrol (+)}}{\text{Rataan kontrol (-)}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} &= \frac{496,89 - 450,22}{496,89} \times 100\% \\ &= 9,39\% \end{aligned}$$

- **Kelompok P3 (Tikus terapi dengan sediaan pemberian 3mL/kgBB)**

$$\text{Penurunan kadar MDA} = \frac{\text{Rataan Kontrol (-)} - \text{rataan kontrol (+)}}{\text{Rataan kontrol (-)}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} &= \frac{496,89 - 457,73}{496,89} \times 100\% \\ &= 6,87\% \end{aligned}$$

**Lampiran 12.** Hasil Pengujian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*)



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR  
DINAS KESEHATAN  
UPT LABORATORIUM HERBAL  
MATERIA MEDICA BATU**  
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu  
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 19D / 102.7 / 2019  
Sifat : Biasa  
Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon

Nama	NIM	Fakultas
Luh Ayu Yasendra Distira	155130101111044	Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya
Clara Sakti K.Y.S	155130101111049	
Yumna Esti	155130101111006	
Ellen Soegiarto	155130100111040	
Amalia Dyah Pavita	155130101111046	




2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Jamur Kuping Hitam  
Nama latin : *Auricularia polytricha*  
Bagian sampel : Tubuh Buah  
Bentuk sampel : Infusa  
Pelarut : Aquadest  
Asal sampel : -  
Tanggal penerimaan : 13 Maret 2019  
Tanggal pemeriksaan : 13 Maret 2019

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Negatif
2.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
3.	Karbohidrat	Hijau, Merah, atau Merah Bata serta Adanya Endapan	Positif

4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Tanin	Karbohidrat
Jamur Kuping Hitam ( <i>Auricularia polytricha</i> )			

5. Pustaka

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978. "Materia Medika Indonesia", Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 14 Maret 2019

Ketua UPT Materia Medica Batu



Drs. Prisman R.M. Drs. Apt. MKes.  
NIP.19611102190031003

**Lampiran 13. Komposisi Pakan Standar (BR1)**

Protein Kasar (%)	20,0-22,0
Lemak Kasar (%)	5,0-7,0
Serat Kasar (%)	3,0-5,0
Abu (%)	5,0-7,0
Ca (%)	0,9-1,1
Fosfor (%)	0,6-0,8
ME (kkal)	2900-3100

