

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

SKRIPSI

Oleh:
CLARA SAKTI KALYANAKRETYA VEDA SIETA
155130101111049



**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 GAMBARAN
HISTOPATALOGI AORTA DAN KADAR TRIGLISERIDA
PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL
HIPERKOLESTEROLEMIA**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
CLARA SAKTI KALYANAKRETYA VEDA SIETA
155130101111049



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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

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

Oleh:

CLARA SAKTI KALYANAKRETYA VEDA SIETA
155130101111049

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 9 Juli 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc
NIP. 19580711 199203 2 002

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

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

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

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Clara Sakti Kalyanakretya Veda Sieta

NIM : 155130101111049

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulisan Skripsi berjudul :

Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*) Terhadap Gambaran Histopatologi Aorta dan Kadar Trigliserida pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia.

Dengan ini menyatakan bahwa:

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

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 9 Juli 2019

Yang menyatakan,

(Clara Sakti Kalyanakretya V. S.)

NIM. 155130101111049

Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*) Terhadap Gambaran Histopatologi Aorta dan Kadar Triglisierida pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia

ABSTRAK

Hiperkolesterolemia merupakan suatu keadaan meningkatnya kadar kolesterol di dalam darah melebihi batas normal terjadi akibat akumulasi kolesterol dan lipid pada dinding pembuluh darah. Senyawa yang terdapat pada jamur kuping hitam yaitu tanin, polisakarida, dan niasin. Kandungan tersebut dapat menurunkan kadar triglisierida dengan meningkatkan aktivitas enzim LPL. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) untuk menurunkan kadar triglisierida dan memperbaiki kerusakan gambaran histopatologi aorta pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari lima kelompok, yaitu kontrol negatif, kontrol positif (diet hiperkolesterol selama 42 hari), dan tiga kelompok perlakuan dengan diberi diet hiperkolesterol selama 42 hari dan diberi terapi air rebusan jamur kuping hitam secara per oral selama 14 hari dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 750 mg/kgBB. Pengukuran kadar triglisierida dengan menggunakan *Spektrofotometer Biosystem A15*. Pengamatan histopatologi aorta dilakukan dengan pewarnaan HE. Analisis data menggunakan Uji ANOVA menggunakan SPSS 22. Pengamatan histopatologi aorta secara deskriptif kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan terapi air rebusan jamur kuping hitam dengan dosis 250 mg/kgBB tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan kelompok tikus sehat. Dosis terapi 250 mg/kgBB merupakan dosis terbaik karena mampu memperbaiki tunika intima dan tunika media. Disimpulkan bahwa air rebusan jamur kuping hitam dapat digunakan sebagai terapi hiperkolesterolemia berdasarkan penurunan kadar triglisierida dan memperbaiki kerusakan pada tunika intima dan tunika media.

Kata kunci: Aorta, Hiperkolesterolemia, Jamur kuping hitam, Tanin, Triglisierida

The Effect of Black Ear Mushroom (*Auricularia polytricha*) Decoction Administration on Aortic Histopathologi and Triglyceride Levels in Hypercholesterolemic Rats (*Rattus norvegicus*)

ABSTRACT

Hypercholesterolemia is a condition of increasing cholesterol levels in the blood beyond normal limits due to the accumulation of cholesterol and lipids in the blood vessel walls. Black ear mushroom contains tannins, polysaccharide, and niacin which can reduce triglyceride levels by increasing LPL enzyme. The purpose of this study was to determine the effect of black ear mushroom boiled water (*Auricularia polytricha*) to reduce the levels of triglycerides and repair damage to the aortic histopathology in the hypercholesterolemic rat (*Rattus norvegicus*) model. This study is an experimental laboratory using a *Completely Randomized Design* consisting of five groups, namely negative control, positive control (received a hypercholesterolemia diet for 42 days), and three groups with a hypercholesterolemia diet for 42 days and treated with black mushroom cooking water with oral therapy for 14 days with a dose of 250 mg/kg body weight, 500 mg/kg body weight, and 750 mg/kg body weight). Triglyceride levels were measured by using the *Biosystem A15 Spectrophotometer*. Observation of aortic histopathology was carried out by staining Hematoxylin Eosin (HE). Data analysis used the ANOVA test using SPSS 22. Observation of aortic histopathology was in a descriptive manner. The results showed that the treatment of black mushroom boiled water at a dose of 250 mg/kg body weight does not significantly differ ($p>0,05$) from the group of healthy rat. The therapeutic dose of 250 mg/kg body weight is the best dose that can improve tunica intima and tunica media. It was concluded that black mushroom decoction water containing tanin compounds could be used as a therapy for hypercholesterolemia based on a decrease in triglyceride levels and improved tunica intima and tunica media.

Keywords: Aortic, Black ear mushroom, Hypercholesterolemia, Tanin, Triglycerida

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karuniaNya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang judul “**Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*) Terhadap Gambaran Histopatologi Aorta dan Kadar Trigliserida pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Universitas Brawijaya.

Penulis mengucapkan terima kasi kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu dalam penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih terutama kepada:

1. Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc selaku dosen pembimbing 1 dan drh. Herlina Pratiwi, M.Si selaku dosen pembimbing 2 atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, arahan serta dukungan yang diberikan kepada penulis.
2. drh. Aldila Noviatrri, M.Biomed selaku penguji 1 dan drh. Galuh Chandra Agustina, M.Si selaku dosen penguji 2 yang telah memberikan kritik dan saran demi perbaikan penulisan skripsi ini.
3. drh. Ahmad Fauzi, M.Sc selaku dosen pembimbing akademik atas segala nasihat, arahan, dan dukungan yang diberikan kepada penulis.
4. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.

5. Seluruh Civitas Akademika (dosen dan karyawan) Fakultas Kedokteran Hewan yang telah membantu memfasilitasi penulisan skripsi ini.
6. Keluarga penulis Ayah Yohanes Bosco Sidharta, Ibu Etprilita Surtiana, Ignatius Janitra Javas Sieta, Agatha Agrippina Ardis Sieta, Maria Chefana Santa Sieta, Oktavianus Andrian dan keluarga besar yang telah memberikan doa, kasih sayang, dukungan, pengorbanan moril maupun materil kepada penulis selama belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
7. Sahabat penulis Yurisa Noviaji Pranoto dan Addin Naufalisa Farizqi yang telah memberikan doa, motivasi, dukungan dan kebersamaan.
8. Rekan seperjuangan penelitian Luh Ayu Yasendra, Ellen Soegiarto, Yumna Esti, dan Amalia Dyah Pavita untuk waktu dan inspirasi yang diberikan untuk penulis.
9. Seluruh rekan angkatan 2015, terutama kelas C atas segala perhatian, semangat, ajaran, motivasi, dukungan, kebersamaan, dan doa yang telah diberikan dalam meraih mimpi.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan skripsi ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI	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 I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Hiperkolesterolemia	6
2.2 Patomekanisme Hiperkolesterolemia	6
2.3 Histologi Aorta	7
2.4 Hubungan Aorta dan Hiperkolesterolemia	8
2.5 Jamur Kuping Hitam (<i>Auricularia polytricha</i>)	9
2.6 Hewan Coba Model Hiperkolesterol	12
BAB III. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	15
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	15
3.2 Hipotesis Penelitian	18
BAB IV. METODE PENELITIAN	19
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	19
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	19
4.2.1 Alat	19
4.2.2 Bahan	20
4.3 Tahapan Penelitian	20
4.4 Prosedur Kerja	21
4.4.1 Rancangan Penelitian dan Preparasi Hewan Coba	21
4.4.2 Pembuatan Pakan dan Pemberian Diet Hiperkolesterol	23
4.4.3 Pembuatan Air Rebusan Jamur Kuping Hitam	23

4.4.4 Perhitungan Dosis dan Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam	23
4.4.5 Pengambilan Serum Darah dan Pengambilan Jaringan Aorta	24
4.4.6 Pengukuran Kadar Trigliserida	24
4.4.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Aorta	25
4.4.8 Pengamatan Preparat Histologi	27
4.4.9 Analisa Data	27
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
5.1 Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam Terhadap Kadar TG Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	28
5.2 Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam Terhadap Gambaran Histopatologi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	34
BAB VI. PENUTUP	39
6.1 Kesimpulan	39
6.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	14
4.1 Rancangan kelompok penelitian	20
5.1 Rata-rata kadar trigliserida pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) model hiperkolesterolemia yang diberi terapi air rebusan jamur kuping hitam (<i>Auricularia polytricha</i>) ..	27



DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Histologi aorta normal	8
2.2	Jamur kuping hitam (<i>Auricularia polytricha</i>)	10
2.3	Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain Wistar	13
5.1	Histopatologi aorta tikus yang diberi terapi air rebusan jamur kuping hitam pada tikus model hiperolesterolemia. Pewarnaan HE dengan perbesaran 400x dan 1000x	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Sertifikat Laik Etik.....	41
2 Uji Kualitatif Air Rebusan Jamur Kuping	42
3 Hasil Pemeriksaan Kolesterol Total	44
4 Kerangka Operasional	45
5 Perhitungan Dosis	46
6 Pembuatan Pakan	47
7 Bagan Alir Trigliserida	48
8 Bagan Alir Pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE)	49
9 Tabel Kadar Trigliserida dan Perhitungan Kadar TG	50
10 Data Hasil Analisis Statistik Kadar Trigliserida	52

DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
%	Persen
μL	Mikroliter
ACAT	<i>Acyl Co-A Cholesterol Acyl transferase</i>
<i>ad libitum</i>	Tidak terbatas
ALT	<i>Alanine Aminotransferase</i>
ANOVA	<i>Analysis of variant</i>
AST	<i>Aspartat Aminotransaminase</i>
BB	Berat badan
CC	<i>Cubic centimeter</i>
DHAP	<i>Dihydroxyacetone phosphate 4-aminoantipyrine</i>
dL	<i>Deciliter</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
G	Gram
HDL	<i>High density lipoprotein</i>
HE	<i>Haematoxylin eosin</i>
IDL	<i>Lipoprotein density</i>
KEP	Komisi Etik Penelitian
Kg	Kilogram
L	Liter
LDL	<i>Low density lipoprotein</i>
LPL	Lipoprotein lipase
Mg	Miligram
ML	Mililiter
MTP	<i>Microsomal triglyceride transfer protein</i>
NaCl	Natrium klorida
PFA	<i>Para Formal Dehyde</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
RGT	<i>Reagent Glyserol Triglycerida</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SPSS	<i>Statistical Package for The Social Science</i>
TG	Trigliserida
VLDL	<i>Very Low density lipoprotein</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperkolesterolemia adalah suatu keadaan meningkatnya kadar kolesterol didalam darah melebihi batas normal. Kadar kolesterol normal pada manusia 120-240 mg/dL, *pet animal* seperti anjing 150-300 mg/dL, dan 40-130 mg/dL pada tikus putih (Murray *et al*, 2003). Hiperkolesterolemia saat ini sering terjadi pada hewan kesayangan. Pemberian pakan berlemak dan kadar kolesterol tinggi yang melebihi kebutuhan tubuh sehari-hari menyebabkan tingginya kadar kolesterol dalam tubuh (Lichtenstein, 2006). Pada hewan kesayangan, penyakit ini ditemukan sebanyak 13% pada kucing (Tapan, 2005). Sebuah studi terbaru menunjukkan bahwa hiperkolesterolemia pada anjing di Amerika Serikat ditemukan sebanyak 32,8% dari 192 ekor yang diselidiki (Xenoulis and Steiner, 2008).

Hiperkolesterolemia dapat terjadi akibat pemberian diet tinggi kolesterol pada hewan. Hewan dengan hiperkolesterolemia akan mengalami adanya peningkatan kadar trigliserida (TG) dan penurunan aktivitas enzim *lipoprotein lipase* (LPL) yang dipicu oleh terbentuknya sintesa asam empedu sehingga terjadi peningkatan radikal bebas dan mengganggu hidrolisis kadar trigliserida (TG). Penurunan aktivitas enzim LPL juga akan menyebabkan perubahan VLDL menjadi IDL menjadi terhambat (Wresdiyati dkk, 2006).

Penurunan aktivitas enzim LPL dapat memicu terbentuknya aterosklerosis yang disebabkan oleh *low density lipoprotein* (LDL). Aterosklerosis adalah suatu keadaan terbentuknya plak di dinding arteri, plak terdiri dari sel otot polos, jaringan ikat, lemak yang tertimbun di intima dinding arteri. Aterosklerosis terutama

mengenai arteri elastik dan paling sering dijumpai pada aorta abdominal, aorta torakalis/torasika, arteri poplitea, arteri carotis interna, dan arteri koronaria (Welinsa, 2014).

Terapi terhadap hiperkolesterolemia sudah banyak diterapkan dengan menggunakan obat-obat sintetis. Obat yang digunakan yaitu simvastatin. Simvastatin adalah obat yang dapat digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol yang termasuk kedalam golongan inhibitor HMG-KoA reduktase (statin). Namun penggunaan obat sintetis dapat memberikan efek negatif pada penderita hiperkolesterolemia (Tjay dan Rahardja, 2013). Berdasarkan penelitian Budinastiti (2016), pemberian air rebusan jamur kuping hitam dapat menurunkan kadar kolesterol total sebanyak 43,39%. Kemampuan jamur kuping hitam dalam menurunkan kadar kolesterol berkaitan erat dengan kandungan antioksidan. Senyawa yang terkandung dalam jamur kuping hitam seperti polisakarida, niasin, dan tanin. Salah satu kandungan antioksidan yang terdapat pada jamur kuping hitam adalah tanin.

Tanin memiliki efek antioksidan dan menurunkan kadar trigliserida (TG) melalui mekanisme penghambatan VLDL. Komponen penyusun yang dimiliki VLDL yaitu trigliserida, kolesterol ester dan apolipoprotein B, serta beberapa komponen lipid lainnya. Penurunan kadar VLDL oleh tanin melalui penghambatan protein transfer MTP dan enzim ACAT. *Microsomal triglyceride transfer protein* (MTP) merupakan protein transfer yang bertanggung jawab dalam proses penggabungan trigliserida, kolesterol ester dan Apo-B. *Acyl Co-A Cholesterol Acyl transferase* (ACAT) merupakan enzim intraseluler yang berperan mengkatalisasi

kolesterol ester dari kolesterol dan memfasilitasi translokasi Apo-B menyeberangi membran retikulum endoplasma dari sitoplasma menuju lumen. Penghambatan MTP dan ACAT ini dapat menurunkan kadar VLDL dan selanjutnya menurunkan kadar trigliserida (TG) (Budinastiti, 2016).

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) terhadap tikus model hiperkolesterolemia yang diharapkan dapat menurunkan kadar trigliserida dan memperbaiki kerusakan gambaran histopatologi aorta.

1.2 Rumusan Masalah

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

1.3 Batasan Masalah

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

1. Hewan model yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan sejumlah 20 ekor, berumur 8-10 minggu dan berat badan 150 -200 gram (Widyaastuti *et al*, 2011), yang

diperoleh dari Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas SAINTEK UIN Maulana Malik Ibrahim. Penggunaan hewan model telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya nomor: 1092-KEP-UB (**Lampiran 1**).

2. Jamur kuping hitam kering (*Auricularia polytricha*) yang digunakan diperoleh dari usaha pribadi Bapak Hidayat yang berlokasi di Desa Sruwen Kecamatan Tenggaran Kabupaten Semarang.
3. Perlakuan terapi dilakukan selama 56 hari dengan pemberian induksi secara per oral dengan menggunakan pakan diet hiperkolesterol selama 42 hari. Hal ini disebabkan oleh pada hari ke-14 dan hari ke-28 kadar kolesterol total hewan coba masih dalam batas normal. Pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) selama 14 hari (Budinastiti, 2016).
4. Komposisi pakan diet hiperkolesterol terdiri dari asam kholat 0,1%, minyak babi 10%, dan kuning telur puyuh rebus 5% mengacu pada penelitian sebelumnya (Budinastiti, 2016).
5. Pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dilakukan dengan 3 dosis yaitu 250 mg/kgBB per sonde sebanyak 1 mL/200gBB, 500 mg/kgBB per sonde sebanyak 2 mL/200gBB, dan 750 mg/kgBB per sonde sebanyak 3 mL/200gBB dan diberikan selama 14 hari dengan cara sonde lambung.
6. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar trigliserida serum darah dengan uji spektrofotometri dan gambaran histopatologi aorta menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) untuk menurunkan kadar trigliserida pada tikus (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.
2. Mengetahui pengaruh pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) untuk memperbaiki kerusakan gambaran histopatologi aorta pada tikus (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat diketahui manfaat dari air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) yang jarang dikonsumsi masyarakat dimana memiliki fungsi sebagai pencegah hiperkolesterolemia dalam darah dan mampu sebagai pencegah gangguan aorta yang disebabkan oleh hiperkolesterolemia.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia adalah kondisi saat konsentrasi kolesterol di dalam darah melebihi batas normal. Hiperkolesterolemia terjadi akibat akumulasi kolesterol dan lipid pada dinding pembuluh darah. Kolesterol LDL teroksidasi berperan dalam pembentukan plak aterosklerosis atau penyempitan pembuluh darah (Cynthia, 2013). Hiperkolesterolemia dapat berkembang menjadi aterosklerosis yaitu berupa penyempitan pembuluh darah, terutama di jantung, otak, ginjal, dan mata (Vodjani, 2003).

Kondisi hiperkolesterolemia dipelajari lebih lanjut melalui penelitian menggunakan hewan percobaan yaitu dengan melakukan induksi secara eksogen. Cara eksogen yaitu dengan pemberian pakan yang mengandung tinggi kolesterol. Komposisi pakan diet hiperkolesterol terdiri dari asam kholat 0,1%, minyak babi 10%, dan kuning telur puyuh rebus 5% (Murwani dkk, 2006). Kuning telur mengandung kolesterol tinggi dan dapat meningkatkan resiko hiperkolesterolemia.

2.2 Patomekanisme Hiperkolesterolemia

Triasilgliserol (trigliserida) merupakan komponen utama pembentuk lipid. Trigliserida adalah suatu ester gliserol yang terbentuk dari 3 asam lemak dan gliserol. Apabila terdapat satu asam lemak dalam ikatan dengan gliserol maka dinamakan monogliserida (Prawirokusumo, 1994). Lipida di dalam hepar ada yang dioksidasi untuk menghasilkan energi dan ada yang disimpan untuk cadangan.

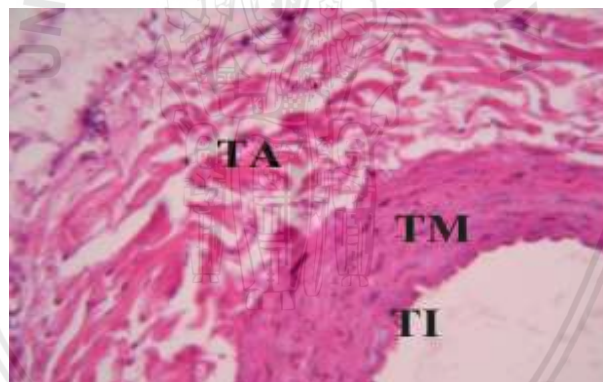
Mekanisme terjadinya hiperkolesterolemia yaitu makanan yang mengandung tinggi lemak akan mengalami proses pencernaan di dalam usus dalam bentuk lipoprotein menjadi asam lemak bebas, trigliserida, fosfolipid dan kolesterol yang diserap ke dalam bentuk kilomikron (Sari, 2012). Kilomikron akan membawa trigliserida dan kolesterol ke dalam aliran darah. Kemudian trigliserida dalam kilomikron mengalami penguraian oleh enzim lipoprotein lipase sehingga terbentuk asam lemak bebas dan sisa-sisa kilomikron. Sisa-sisa kilomikron akan dimetabolisme dalam hati sehingga menghasilkan kolesterol bebas. Pengeluaran kolesterol dari dalam tubuh adalah melalui jalur sintesis asam empedu yang berlangsung di hepar. Semakin banyak kolesterol yang akan dikeluarkan maka produksi asam empedu juga akan meningkat (Murray *et al*, 2003).

Sintesis asam empedu menghasilkan peningkatan radikal bebas dan mengganggu hidrolisis lipid sehingga terjadi gangguan pada enzim lipoprotein lipase. Aktivitas enzim lipoprotein lipase yang terganggu dapat mengakibatkan terjadinya perubahan VLDL menjadi IDL menjadi terhambat sehingga mempengaruhi kerja metabolisme lemak (Wresdiyati dkk, 2006).

2.3 Histologi Aorta

Aorta normal pada **Gambar 2.1** tidak menunjukkan adanya kerusakan sel endotel. Aorta memiliki lapisan media yang lebih luas dibandingkan dengan pembuluh darah lainnya. Tunika intima memiliki satu lapis sel endotel yang ditopang selapis tipis subendotel jaringan ikat longgar, sedangkan tunika media disusun oleh sel otot polos. Tunika intima dipisahkan dengan tunika media oleh

pembuluh darah lainnya. Tunika intima memiliki satu lapis sel endotel yang ditopang selapis tipis subendotel jaringan ikat longgar, sedangkan tunika media disusun oleh sel otot polos. Tunika intima dipisahkan dengan tunika media oleh suatu lamina elastika interna. Lamina ini terdiri atas elastin, yang memiliki celah (fenestra) yang memungkinkan terjadinya difusi zat untuk memberi nutrisi ke sel-sel bagian dalam dinding pembuluh. Tunika media dipisahkan dengan tunika adventitia oleh lamina elastika eksterna. Tunika adventitia atau tunika externa terdiri atas serat kolagen tipe I dan elastin. Pada kasus hiperkolesterolemia, tepi dari tunika intima terlihat tidak rata karena rusaknya sel endotel (Murwani dkk, 2006).



Gambar 2.1 Histologi aorta normal perbesaran 400x, menggunakan pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE) (Riesanti, 2018).

Keterangan:

TI : Tunika intima

TM : Tunika media

TA : Tunika adventitia

2.4 Hubungan Aorta dengan Hiperkolesterolemia

Aterosklerosis adalah suatu keadaan terbentuknya plak di dinding arteri, plak terdiri dari sel otot polos, jaringan ikat, lemak yang tertimbun di intima dinding arteri. Aterosklerosis terutama mengenai arteri elastik dan paling sering dijumpai

pada aorta abdominal, aorta torakalis/torasika, arteri poplitea, arteri carotis interna, dan arteri koronaria. Faktor risiko utama terbentuknya aterosklerosis adalah hiperkolesterolemia, terutama fraksi *low density lipoprotein* (LDL). Kemudian LDL teroksidasi akan difagositik oleh makrofag sehingga terbentuk sel busa (*foam cell*), makrofag mengeluarkan faktor pertumbuhan yang menyebabkan proliferasi sel otot polos dan pengendapan matriks ekstrasel oleh sel otot polos di intima yang berperan menyebabkan pertumbuhan progresif lesi aterosklerotik (Welinsa, 2014).

Pemberian diet tinggi lemak dapat menimbulkan stres oksidatif endotel pembuluh darah melalui pembentukan keadaan dislipidemia yaitu tingginya kadar kolesterol total, LDL, VLDL, TG dan rendahnya kadar HDL dalam sirkulasi. Stres oksidatif dapat menyebabkan disfungsi endotel dan produksi berlebihan dari ROS *Reactive oxygen spesies* (ROS) yang akan mengoksidasi LDL ekstraseluler sehingga terbentuklah LDL teroksidasi. Setelah itu, LDL teroksidasi akan yang difagositosis oleh makrofag melalui reseptor *scavenger* sehingga terbentuk sel busa sebagai lesi awal aterosklerosis (Welinsa, 2014).

2.5 Jamur Kuping (*Auricularia polytricha*)

Jamur kuping hitam berwarna keungu-unguan tua atau coklat kehitaman, berdiameter 6-10 cm dan tebalnya sekitar 0,1-0,2 cm. Tubuh buah jamur kuping dalam keadaan basah bersifat *gelatinous* (kenyal), licin, lentur, dan berubah melengkung agak kaku dalam keadaan kering. Jamur kuping hitam dalam keadaan kering akan mengecil dari ukuran aslinya tetapi ketika kontak dengan air akan menyerap dan membesar kembali (Djarajah, 2001).

Klasifikasi dari jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) sebagai berikut:

Kingdom : Fungi
Phylum : Basidiomycotina
Class : Heterobasidiomycetes
Ordo : Auriculariales
Familia : Auriculariaceae
Spesies : *Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc.
Sinonim : *Exidia purpurascens* Junghuhn



Gambar 2.2 Jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) (Liana dkk, 2015).

Jamur merupakan organisme yang memiliki inti, berspora, tidak berklorofil, dinding sel terdiri dari selulosa, khitin atau kombinasi keduanya dan merupakan sel-sel disebut hifa (sehelai benang) atau miselium (kumpulan hifa). Miselium jamur bercabang-cabang dan pada titik-titik pertemuannya membentuk bintik kecil yang disebut sporangium yang akan tumbuh menjadi *pin head* (tunas atau calon

tubuh buah jamur) dan akhirnya berkembang (tumbuh) menjadi jamur (tubuh buah) (Djarijah, 2001)

Menurut Budinastiti (2016), jamur kuping hitam memiliki beberapa komponen senyawa zat gizi dari jamur kuping hitam yang berpengaruh terhadap perubahan profil lipid darah. Senyawa tersebut adalah polisakarida, niasin, dan tanin. Polisakarida digunakan sebagai sumber serat yang dapat menurunkan kadar kolesterol. Serat yang terdapat pada jamur kuping hitam adalah polisakarida β -glukan yang merupakan inhibitor kuat dalam menghambat enzim lipase gastrointestinal sehingga mampu menurunkan kadar kolesterol darah. Selain itu serat makanan akan menghalangi siklus enterohepatik (reabsorpsi empedu dalam usus ke hati) dengan kemampuan dan viskositasnya menjebak misel yang mengandung asam empedu dalam usus dan mengeluarkannya dari ikatan dengan transporter membran luminal epitelium intestinal. Proses tersebut menurunkan absorpsi dan reabsorpsi lemak termasuk kolesterol dan asam lemak sehingga meningkatkan pengeluaran feses.

Komponen lain yang berpengaruh adalah niasin atau asam nikotinat merupakan bagian dari vitamin B kompleks, yang disebut juga vitamin B3. Niasin dapat mempengaruhi lipoprotein yang mengandung Apo-B seperti VLDL dan LDL. Selain itu juga dapat meningkatkan lipoprotein yang mengandung Apo-A1 seperti HDL. Niasin juga bekerja secara langsung dalam menghambat aktivitas enzim *Diacylglycerol Acyltransferase-2* (DGAT-2) merupakan enzim penting dalam sintesis trigliserida. Penghambatan sintesis TG oleh niasin mengakibatkan degradasi Apo-B intraselular dan menurunkan sekresi VLDL dan LDL. Mekanisme

lain niasin dapat mengatur kadar TG dengan menghambat lipolisis pada adiposit sehingga menurunkan kadar TG di dalam plasma. Dalam mempengaruhi kadar kolesterol HDL, niasin berperan sebagai penghambat penyerapan dan pemindahan kolesterol HDL dan Apo-A1 (Budinastiti, 2016).

Komponen lain yang berpengaruh adalah kandungan antioksidan pada jamur kuping hitam. Salah satu senyawa antioksidan tersebut adalah tanin. Tanin dapat menurunkan kadar TG melalui mekanisme penghambatan VLDL. Komponen penyusun yang dimiliki VLDL yaitu trigliserida, kolesterol ester dan apolipoprotein B, serta beberapa komponen lipid lainnya. Penurunan kadar VLDL oleh tanin melalui penghambatan protein transfer MTP dan enzim ACAT. *Microsomal triglyceride transfer protein* (MTP) merupakan protein transfer yang bertanggung jawab dalam proses penggabungan trigliserida, kolesterol ester dan Apo-B. *Acyl Co-A Cholesterol Acyl transferase* (ACAT) merupakan enzim intraseluler yang berperan mengkatalisasi kolesterol ester dari kolesterol dan memfasilitasi translokasi Apo-B menyeberangi membran retikulum endoplasma dari sitoplasma menuju lumen. Penghambatan MTP dan ACAT ini dapat menurunkan kadar VLDL dan selanjutnya menurunkan kadar trigliserida (TG) (Budinastiti, 2016).

2.6 Hewan Coba Model Hiperkolesterol

Tikus putih yang digunakan dalam percobaan memiliki beberapa galur atau variates antara lain galur Sprague-Dawley dengan ciri-ciri berwarna albino putih, berkepala kecil dan ekornya lebih panjang daripada badannya, galur Wistar dengan ciri-ciri kepala besar dan ekor yang lebih pendek, galur Long-evans bercirikan

ukuran lebih kecil daripada tikus putih serta memiliki warna hitam pada kepala dan tubuh bagian depan; serta galur *inbred* (Malole dan Pramono, 1989).

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut (Gardenia, 1997):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Odontoceti
Familia	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>



Gambar 2.3 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (Made dkk, 2017).

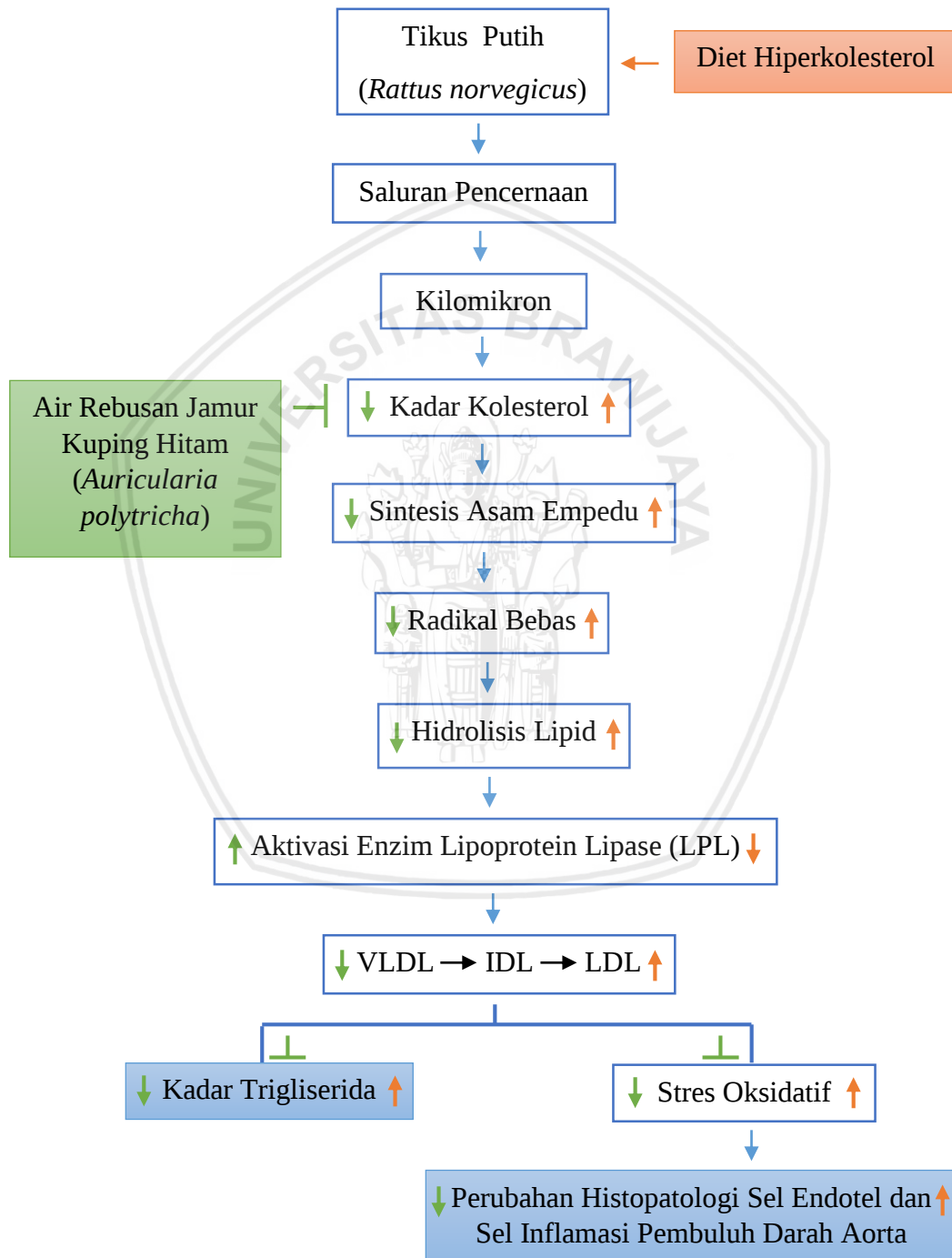
Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian diantaranya perkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih juga

memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsenik tiroksid (Gardenia, 1997).



BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Keterangan:

↓ : Patomekanisme	 : Paparan
↓ : Penurunan	 : Variabel bebas
⊥ : Menghambat	 : Variabel yang diamati
↑ : Peningkatan	

Diet pakan hiperkolesterol diberikan kepada hewan model secara per oral. Makanan yang mengandung tinggi lemak akan mengalami proses pencernaan di dalam usus dalam bentuk lipoprotein menjadi asam lemak bebas, trigliserida, fosfolipid dan kolesterol yang diserap ke dalam bentuk kilomikron. Kilomikron akan membawa trigliserida dan kolesterol ke dalam aliran darah. Kemudian trigliserida dalam kilomikron mengalami penguraian oleh enzim lipoprotein lipase sehingga terbentuk asam lemak bebas dan sisa-sisa kilomikron. Sisa-sisa kilomikron akan dimetabolisme dalam hati sehingga menghasilkan kolesterol bebas. Pengeluaran kolesterol dari dalam tubuh adalah melalui jalur sintesis asam empedu yang berlangsung di hepar. Semakin banyak kolesterol yang akan dikeluarkan maka produksi asam empedu juga akan meningkat.

Sintesis asam empedu menghasilkan peningkatan radikal bebas dan mengganggu hidrolisis lipid sehingga terjadi gangguan pada enzim lipoprotein lipase. Aktivitas enzim lipoprotein lipase yang terganggu dapat mengakibatkan terjadinya perubahan VLDL menjadi IDL menjadi terhambat dan mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar trigliserida. Penurunan aktivitas enzim LPL dapat meningkatkan stres oksidatif yang disebabkan oleh *low density lipoprotein* (LDL).

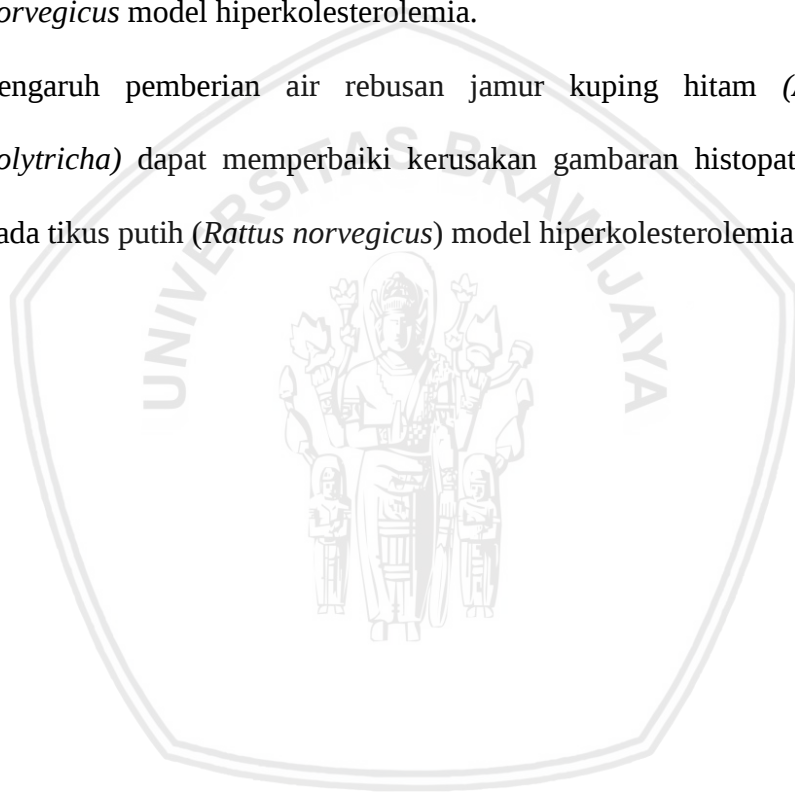
Stres oksidatif dapat menyebabkan disfungsi endotel pembuluh darah aorta dan produksi berlebihan dari ROS (*Reactive oxygen spesies*) yang akan mengoksidasi LDL ekstraseluler sehingga terbentuklah LDL teroksidasi. Lalu LDL teroksidasi akan difagositosis oleh makrofag melalui reseptor *scavenger* sehingga terbentuk sel busa sebagai lesi awal aterosklerosis.

Salah satu senyawa antioksidan yang terdapat pada jamur kuping hitam yaitu tanin. Antioksidan dapat berfungsi mencegah dampak radikal bebas yang terdapat di dalam tubuh. Kandungan tanin dapat menurunkan stress oksidatif sehingga meningkatkan aktivitas enzim LPL. Aktivitas enzim LPL yang meningkat akan menyebabkan trigliserida dalam kilomikron dapat dihidrolisis menjadi asam lemak dan mengakibatkan terjadinya perubahan VLDL menjadi IDL sehingga dapat menurunkan kadar trigliserida. Mekanisme kerja antioksidan dapat menurunkan kadar kolesterol plasma dengan cara menghambat absorpsi kolesterol dalam usus. Antioksidan berfungsi mengurangi erosi endotel dengan cara menurunkan kadar *low density lipoprotein* (LDL) sehingga meminimalisir terjadinya LDL oksidasi. Jika terjadi LDL oksidasi dapat merangsang datangnya limfosit dan monosit disepanjang lumen tunika intima. Peningkatan monosit menyebabkan monosit menempel pada endotel dan berubah menjadi makrofag. Antioksidan dapat menekan pelepasan radikal O_2 reaktif sehingga menekan terjadinya kerusakan endotel dengan menghambat inisiasi atau propagasi dari reaksi rantai oksidasi dan sebagai anti inflamasi sehingga mencegah monosit berubah menjadi makrofag.

3.2 Hipotesis Penelitian

Dari kerangka konsep penelitian, maka hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pengaruh pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dapat menurunkan kadar trigliserida pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.
2. Pengaruh pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dapat memperbaiki kerusakan gambaran histopatologi aorta pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.



BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 56 hari, mulai bulan Februari hingga April 2019, dengan tempat penelitian di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas SAINTEK UIN Maulana Malik Ibrahim sebagai tempat pemeliharaan dan pemberian perlakuan tikus. Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sebagai tempat pengukuran kadar trigliserida, dan Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada sebagai tempat pembuatan preparat histopatologi aorta.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, botol minum tikus, sekam, tempat pakan, alat sonde, *dissecting set*, papan bedah, sarung tangan (*glove*), masker, *sputum* 3 cc, tabung *venoject*, timbangan digital, gelas ukur, tabung reagen (schott 1000 mL dan 100 mL), tabung erlenmeyer, corong kaca, *object glass*, *cover glass*, mikrotom, mikroskop cahaya (Olympus BX51), kamera digital, tabung reaksi, tabung falcon, kuvet, rak tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, pipet tetes, *vortex*, *centrifuge* (Thermoscientific Sorvall Biofuge Primo R *Centrifuge*), *appendorf micropipette* ukuran 10 – 100 μ L, spektrofotometer UV-VIS, karet *bulb*, pisau, gunting, pot organ, kertas saring, *autoclave*, *disposable syringe*, *timer*, inkubator, dan lemari pendingin.

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar umur 8 – 10 minggu, jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*), kuning telur puyuh, asam kholat (Catalog No: M5M5306), minyak babi, reagen ABX Pentra Triglycerides CP, 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 coba tikus (*Rattus norvegicus*).
2. Pembuatan pakan dan Pemberian diet hiperkolesterol.
3. Pembuatan air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*).
4. Perhitungan dosis dan Pemberian terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*).
5. Pengambilan serum darah tikus dan Pengambilan jaringan aorta tikus (*Rattus norvegicus*).
6. Pengukuran kadar trigliserida dengan metode spektrofotometri.
7. Pembuatan preparat histopatologi aorta dengan pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE).
8. Pengamatan preparat histologi
9. Analisis data

4.4 Prosedur Kerja

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

Penelitian ini bersifat eksperimental. Rancangan untuk penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini telah memiliki sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Brawijaya. Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok tikus tanpa perlakuan (kontrol negatif), kelompok tikus dengan pemberian diet hiperkolesterolemia (kontrol positif), kelompok terapi air rebusan jamur kuping hitam dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 750 mg/kgBB dengan pemberian diet hiperkolesterol. Rancangan penelitian ditunjukkan dalam **Tabel 4.1**.

Tabel 4.1 Rancangan Kelompok Perlakuan

Kelompok tikus	Perlakuan
A	Tikus tanpa perlakuan (kontrol negatif)
B	Tikus diberi diet hiperkolesterol (kontrol positif)
C	Tikus diberi diet hiperkolesterol ditambah terapi air rebusan jamur kuping hitam dengan dosis 250 mg/Kg BB
D	Tikus diberi diet hiperkolesterol ditambah terapi air rebusan jamur kuping hitam dengan dosis 500 mg/Kg BB
E	Tikus diberi diet hiperkolesterol ditambah terapi air rebusan jamur kuping hitam dengan dosis 750 mg/Kg BB

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

Variabel bebas : dosis diet hiperkolesterol dan air rebusan jamur kuping hitam

Variabel terikat : kadar trigliserida dan histopatologi aorta

Variabel kontrol : umur, berat badan, tikus strain wistar, jenis pakan

Sampel penelitian yang dilakukan menggunakan tikus sebagai hewan percobaan. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 ekor tikus spesies *Rattus norvegicus* 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

Hewan coba diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari untuk menyesuaikan kondisi lingkungan laboratorium. Pemberian pakan selama masa adaptasi pada kelompok kontrol negatif berupa pakan standar yaitu 20 g/ekor/hari dalam bentuk pelet dan air minum yang diberikan secara *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

dikandangan sesuai kelompok perlakuan dan dipelihara pada ruangan bersuhu 26°C – 27°C dengan kelembaban ruang 83% (Gani dkk., 2013).

4.4.2 Pembuatan Pakan dan Pemberian Diet Hiperkolesterol

Diet hiperkolesterol menggunakan asam kholat 0,02 g, minyak babi 2 g, dan kuning telur rebus 1 g yang dilarutkan ke dalam akuades sebanyak 2 mL. Pakan hiperkolesterol diberikan melalui sonde lambung sebanyak 3,02 g/ekor/hari (Gani, 2013). Pakan hiperkolesterol diberikan pada kelompok B, C, D, dan E. Diet hiperkolesterol diberikan pada hewan model sebelum pemberian pakan standar. Diet hiperkolesterol diberikan selama 42 hari (Budinastiti, 2016).

4.4.3 Pembuatan Air Rebusan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*)

Prosedur pembuatan air rebusan jamur kuping hitam yaitu jamur kuping hitam dengan berat 85 gram dimasukkan ke dalam air dengan volume 1800 mL. Kemudian dimasak sampai mendidih sekitar 30 menit atau sampai volume air rebusan tinggal 600 mL. Setelah itu, air rebusan disaring menggunakan kain flannel untuk menghilangkan buih. Lalu diuapkan dalam penangas air dengan suhu 90°C selama 3 jam sampai volume air rebusan tinggal 50 mL (Budinastiti, 2016).

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

Terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dilakukan pada kelompok C, D, dan E. Dosis air rebusan jamur kuping hitam yang diberikan

pada kelompok C 250 mg/kgBB, kelompok D 500 mg/kgBB, dan pada kelompok E 750 mg/kgBB. Berdasarkan dosis tersebut, maka dengan berat tikus 150-200 gram diperoleh volume yaitu 1 mL/200gBB untuk kelompok C, pada kelompok D volume yang diberikan yaitu 2 mL/200gBB, dan pada kelompok E volume yang diberikan yaitu 3 mL/200gBB.

4.4.5 Pengambilan Serum Darah Tikus dan Pengambilan Jaringan Aorta Tikus (*Rattus norvegicus*)

Hewan coba tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam sebelum pengambilan sampel darah. Hewan coba dianastesi dengan menggunakan ketamin. Pengambilan darah dilakukan secara intrakardial. Hewan coba difiksasi sedemikian rupa dan dilakukan pembedahan, kemudian dicari jantung hewan. Darah diambil secara intrakardial yaitu pada vena cordis sebanyak 3 cc menggunakan spuit 3 cc. Darah yang diperoleh ditampung ke dalam *venoject* tanpa antikoagulan, kemudian diletakkan dalam posisi miring dengan sudut 45°C sampai terbentuk serum. Darah disentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit (Yunina, 2010).

Pembuluh darah aorta digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi. Pembuluh darah aorta diperoleh dengan mengeluarkan jantung dan isi abdomen, pembuluh darah aorta diambil dari thorak hingga abdomen dan kemudian dimasukkan dalam larutan paraformaldehida (PFA) 10% (Yunina, 2010).

4.4.6 Pengukuran Kadar Triglisierida dengan Spektrofotometri

Pemeriksaan kadar triglisierida dapat dilakukan setelah pengambilan serum. Kadar triglisierida ditetapkan dengan menggunakan metode DHAP

(*dihydroxyacetone phosphate 4-aminoantipyrine*). Prinsip dari metode ini yaitu pengukuran trigliserida dilakukan setelah mengalami pemecahan secara enzimatik oleh LPL. Serum diambil dengan menggunakan pipet sebanyak 3 μ L dan dimasukkan ke dalam kuvet dan ditambahkan 1000 μ L reagen ABX Pentra Triglycerides CP kemudian diencerkan. Reagen ABX Pentra Triglycerides CP terdiri *pipes free acid*, *Sodium hydroxide*, Triton X-100, *Magnesium salt*, *p-chlorophenol*, ATP, *Sodium azide*, *Potassium ferrocyanide*, 4-aminoantipyrine, Lipoprotein lipase, *Glycerokinase*, *Glycerol phosphate oxidase*, *Peroxidase*, dan *distilled water*. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 25°C selama 20 menit. Reagen dan sampel dimasukkan di alat *Spektrofotometer Biosystem A15* kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm (Warnick, 2001).

4.4.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Aorta dengan Pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE)

Menurut Lemanepa (2005) langkah-langkah dalam proses pembuatan preparat histopatologi antara lain:

4.4.7.1 Fiksasi

Fiksasi dilakukan dengan cara merendam jaringan aorta sepanjang 5 cm dengan formalin buffer 10% selama 18-24 jam. Hal ini bertujuan untuk mengerasakan jaringan.

4.4.7.2 Dehidrasi

Dehidrasi adalah proses pengeluaran air dari dalam jaringan yang telah dilakukan fiksasi. Jaringan dimasukkan ke dalam aquades selama 1 jam kemudian

didehidrasi dengan alkohol bertingkat 30%, 50%, 70%, 80%, 90% sampai alkohol 100% dan dilakukan dengan cara direndam.

4.4.7.3 Penjernihan (*Clearing*)

Penjernihan (*Clearing*) adalah suatu proses pengeluaran alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang berikatan dengan paraffin. Jaringan dimasukkan ke larutan alkohol xylol selama 1 jam dan larutan xylol murni selama 2x2 jam.

4.4.7.4 *Embedding*

Embedding merupakan proses untuk mengeluarkan cairan *clearing agent* dari jaringan dan diganti dengan paraffin. Jaringan aorta dicelupkan ke dalam paraffin cair yang telah dituang ke dalam wadah hingga paraffin memadat.

4.4.7.5 Pemotongan (*Sectioning*)

Jaringan dipotong dengan blok paraffin dengan mikrotom setebal 4 mikron secara melintang. Irisan diletakkan pada slide. Potongan terpilih dikeringkan dan diletakkan di atas *hot plate* 38-40°C sampai kering. Kemudian preparat disimpan dalam inkubator pada suhu 38-40°C lalu siap diwarnai dengan pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE).

4.4.7.6 Pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE)

Pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE) terdiri dari zat warna yaitu hematosiklin dan eosin. Preparat dimasukkan dalam larutan xylol 1 dan 2 selama 5 menit. Kemudian dimasukkan dalam etanol bertingkat yang dimulai dari etanol absolut 95%, 90%, 80%, 70% selama 5 menit. Jaringan kemudian direndam dalam aquades selama 5 menit. Selanjutnya preparat diwarnai dengan pewarna

hematoksilin selama 10 menit kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan dibilas dengan aquades selama 5 menit. Setelah itu, preparat diwarnai dengan pewarna eosin selama 5 menit dan dicuci kembali dengan air mengalir selama 10 menit dan dibilas aquades selama 5 menit. Setelah preparat diwarnai, preparat dimasukkan pada alkohol dari 80%, 90%, dan 95% hingga alkohol absolut. Selanjutnya preparat dimasukkan kedalam larutan xylol 1-3 selama 3 menit dan dikeringkan. Kemudian dilakukan perekatan menggunakan balsem canada serta ditutup dengan *cover glass*.

4.4.8 Pengamatan Preparat Histologi

Hasil pembuatan preparat histopatologi jaringan aorta menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX51 dengan perbesaran 400x dan 1000x dengan 5 pandang untuk melihat adanya perubahan jaringan aorta berupa adanya kerusakan endotel dan vakuolisasi disekitar tunika intima dan tunika media secara kualitatif deskriptif.

4.4.9 Analisis Data

Perubahan sel endotel dan adanya vakuolisasi pada tunika intima dan tunika media yang terdapat dalam histopatologi aorta diamati secara kualitatif deskriptif. Kadar trigliserida dalam serum berupa data kuantitatif yang dianalisis dengan menggunakan Uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) kemudian dilanjutkan dengan Uji Tukey ($\alpha = 0.05$).

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam Terhadap Kadar TG Tikus (*Rattus norvegicus*)

Hasil pengukuran kadar trigliserida pada tikus yang diberi terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dan dilakukan analisa statistika menggunakan SPSS 22.0 for Windows dengan uji normalitas (**Lampiran 9.1**) dan uji homogenitas (**Lampiran 9.2**) yang menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dilakukan dengan uji statistik *One Way ANOVA* (**Lampiran 9.4**) diperoleh hasil nilai $p < 0,05$ kemudian dilanjutkan Uji Tukey (**Lampiran 9.5**). Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan. Hasil pengujian statistik disajikan pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Rata-rata kadar trigliserida pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia yang diberi terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*)

Kelompok	Perlakuan	Rata-Rata Kadar TG (mg/dL) $\pm$ SD	Kadar TG (%)	
			Peningkatan Terhadap Kontrol Positif	Penurunan Terhadap Kontrol Negatif
A	Tikus normal	$64,3 \pm 1,70^a$	-	-
B	Tikus hiperkolesterolemia	$161,5 \pm 3,69^d$	151,2%	
C	Tikus hiperkolesterolemia Terapi diberi dosis 250 mg/kgBB	$67,5 \pm 1,29^{ab}$	-	58,2%
D	Tikus hiperkolesterolemia Terapi diberi dosis 500 mg/kgBB	$72,3 \pm 2,62^b$	-	55,2%
E	Tikus hiperkolesterolemia Terapi diberi dosis 750 mg/kgBB	$84 \pm 2,16^c$	-	47,9%

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan ($p < 0,05$).

Berdasarkan analisis statistika yang dilakukan menunjukkan bahwa terapi air rebusan jamur kuping hitam secara nyata mampu menurunkan kadar trigliserida. Pada kelompok A didapatkan adanya rata-rata kadar trigliserida sebesar 64,3 mg/dL, hal ini dikarenakan pada kondisi normal kadar trigliserida tetap ditemukan di dalam tubuh dengan kadar yang sedikit. Menurut Budinastiti (2010), rata-rata kadar trigliserida pada tikus (*Rattus norvegicus*) secara normal sebesar 25-145 mg/dL, sesuai dengan kadar trigliserida pada kelompok tikus perlakuan normal (A). Pada kondisi normal trigliserida, yaitu lemak yang berasal dari makanan akan mengalami proses pencernaan di dalam usus dalam bentuk lipoprotein menjadi asam lemak bebas, trigliserida, fosfolipid dan kolesterol yang diserap ke dalam bentuk kilomikron (Sari, 2012). Kilomikron akan membawa trigliserida dan kolesterol ke dalam aliran darah. Kemudian trigliserida dalam kilomikron mengalami penguraian oleh enzim lipoprotein lipase sehingga terbentuk asam lemak bebas dan sisa-sisa kilomikron. Sisa-sisa kilomikron akan dimetabolisme dalam hati sehingga menghasilkan kolesterol bebas. Pengeluaran kolesterol dari dalam tubuh adalah melalui jalur sintesis asam empedu yang berlangsung di hepar (Murray *et al*, 2003). Trigliserida berfungsi untuk menyimpan kalori dan menyediakan energi untuk tubuh. Kadar trigliserida digunakan sebagai indikator terhadap adanya reaksi radikal bebas yang diakibatkan oleh adanya peningkatan pada proses sintesa asam empedu yang terjadi di dalam tubuh (Sari, 2012).

Pada penelitian ini, kelompok B sebagai kontrol positif diberi diet hiperkolesterolemia memiliki hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok tikus normal (A) dengan peningkatan kadar trigliserida sebesar

151,2% dan rata-rata kadar trigliserida sebesar 161,5 mg/dL yang dapat dilihat pada **Tabel 5.1**. Diet hiperkolesterolemia yang diberikan selama 42 hari dapat menyebabkan peningkatan kolesterol di dalam darah sehingga proses sintesa asam empedu meningkat. Peningkatan sintesa asam empedu menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang berlebih sehingga terjadi peningkatan peroksidasi lipid. Peningkatan peroksidasi lipid menyebabkan aktivitas enzim LPL menurun sehingga kadar trigliserida meningkat (Wresdiyanti dan Astawan, 2006).

Kadar trigliserida kelompok C yang diterapi dengan air rebusan jamur kuping hitam dengan pemberian dosis 250 mg/kgBB mengalami penurunan sebesar 58,2% dibandingkan dengan kelompok tikus hiperkolesterolemia (B) dan rata-rata kadar trigliserida sebesar 67,5 mg/dL. Kadar trigliserida kelompok D yang diterapi dengan air rebusan jamur kuping hitam dengan pemberian dosis 500 mg/kgBB mengalami penurunan sebesar 55,2% dibandingkan dengan kelompok tikus hiperkolesterolemia (B) dan rata-rata kadar trigliserida sebesar 72,3 mg/dL. Kadar trigliserida kelompok E yang diterapi dengan air rebusan jamur kuping hitam dengan pemberian dosis 750 mg/kgBB mengalami penurunan sebesar 47,9% dibandingkan dengan kelompok tikus hiperkolesterolemia (B) dan rata-rata kadar trigliserida sebesar 84 mg/dL. Rata-rata kadar trigliserida pada kelompok C, D, dan E dapat dikatakan dalam batas normal. Rata-rata kadar trigliserida pada tikus putih secara normal sebesar 25-145 mg/dL (Budinastiti, 2010).

Pemberian air rebusan jamur kuping hitam dengan pemberian dosis 250 mg/kgBB, dosis 500 mg/kgBB, dan dosis 750 mg/kgBB mampu menurunkan kadar trigliserida pada kelompok tikus yang diberi diet hiperkolesterolemia sesuai dengan

kadar normal trigliserida. Penurunan tertinggi terjadi pada pemberian dosis 250 mg/kgBB sebesar 58,2% sehingga dikatakan bahwa pemberian dosis 250 mg/kgBB merupakan dosis terbaik dalam menurunkan kadar trigliserida.

Hasil penelitian pada kelompok C, D, dan E menunjukkan adanya penurunan kadar trigliserida yang disebabkan oleh pengaruh pemberian air rebusan jamur kuping hitam yang memiliki senyawa antioksidan berupa tanin, polisakarida, dan niasin. Senyawa-senyawa tersebut dapat dibuktikan dengan analisa uji Kualitatif (**Lampiran 2**).

Rata-rata kadar trigliserida dilihat dari notasi pada **Tabel 5.1**, kelompok C tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan kelompok tikus normal (A). Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa tanin, polisakarida, dan niasin yang terkandung dalam jamur kuping hitam. Tanin merupakan golongan senyawa polifenol yang dapat menurunkan kadar TG melalui mekanisme penghambatan VLDL. Komponen penyusun yang dimiliki VLDL yaitu trigliserida, kolesterol ester dan apolipoprotein B, serta beberapa komponen lipid lainnya. Penurunan kadar VLDL oleh tanin melalui penghambatan protein transfer MTP dan enzim ACAT. *Microsomal triglyceride transfer protein* (MTP) merupakan protein transfer yang bertanggung jawab dalam proses penggabungan trigliserida, kolesterol ester dan Apo-B. *Acyl Co-A Cholesterol Acyl transferase* (ACAT) merupakan enzim intraseluler yang berperan mengkatalisasi kolesterol ester dari kolesterol dan memfasilitasi translokasi Apo-B menyeberangi membran retikulum endoplasma dari sitoplasma menuju lumen. Penghambatan MTP dan ACAT ini dapat menurunkan kadar VLDL dan selanjutnya menurunkan kadar TG (Budinastiti, 2016). Mekanisme tersebut

dapat menurunkan radikal bebas yang dihasilkan oleh sintesis asam empedu sehingga peroksidasi lipid dapat dihambat dan aktivitas LPL meningkat. Peningkatan aktivitas LPL dapat menghidrolisa trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol serta dapat disimpan dalam jaringan adiposa dan jaringan otot. Peningkatan aktivitas LPL berpengaruh terhadap penurunan kadar trigliserida di dalam darah (Umarudin dkk, 2012).

Polisakarida digunakan sebagai sumber serat yang dapat menurunkan kadar kolesterol. Serat yang terdapat pada jamur kuping hitam adalah polisakarida β -glukan yang merupakan inhibitor kuat dalam menghambat enzim lipase gastrointestinal sehingga mampu menurunkan kadar kolesterol darah. Selain itu serat makanan akan menghalangi siklus enterohepatik (reabsorpsi empedu dalam usus ke hati) dengan kemampuan dan viskositasnya menjebak misel yang mengandung asam empedu dalam usus dan mengeluarkannya dari ikatan dengan transporter membran luminal epitelium intestinal. Proses tersebut menurunkan absorpsi dan reabsorpsi lemak termasuk kolesterol dan asam lemak sehingga meningkatkan pengeluaran feses (Budinastiti, 2016).

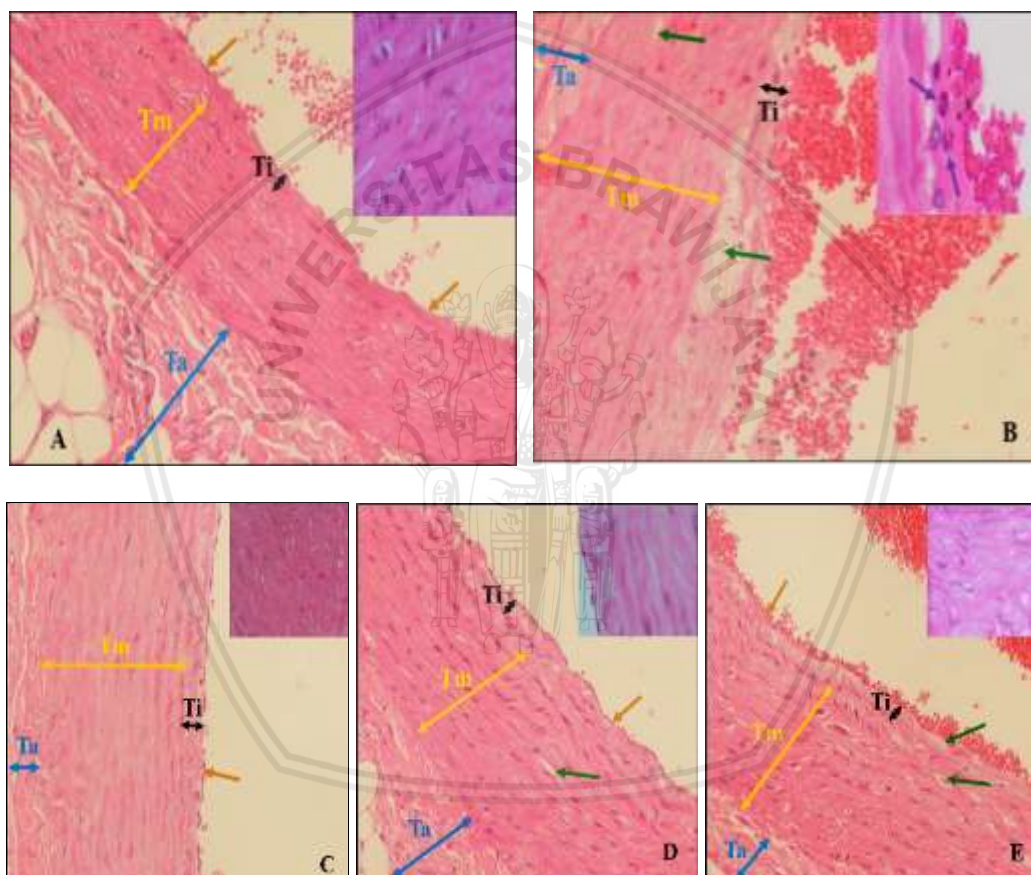
Komponen lain yang berpengaruh adalah niasin atau asam nikotinat merupakan bagian dari vitamin B kompleks, yang disebut juga vitamin B3. Niasin dapat mempengaruhi lipoprotein yang mengandung Apo-B seperti VLDL dan LDL. Selain itu juga dapat meningkatkan lipoprotein yang mengandung Apo-A1 seperti HDL. Niasin juga bekerja secara langsung dalam menghambat aktivitas enzim *Diacylglycerol Acyltransferase-2* (DGAT-2) merupakan enzim penting dalam sintesis trigliserida. Penghambatan sintesis TG oleh niasin mengakibatkan

degradasi Apo-B intraselular dan menurunkan sekresi VLDL dan LDL. Mekanisme lain niasin dapat mengatur kadar TG dengan menghambat lipolisis pada adiposit sehingga menurunkan kadar TG di dalam plasma. Dalam mempengaruhi kadar kolesterol HDL, niasin berperan sebagai penghambat penyerapan dan pemindahan kolesterol HDL dan Apo-A1 (Budinastiti, 2016).

Kelompok D dan E berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok tikus normal (A). Hal ini disebabkan oleh sifat polifenol dimana pada kondisi tertentu seperti konsentrasi tinggi, pH tinggi, atau keberadaan ion besi maka senyawa polifenol dapat menginisiasi proses autooksidasi dan lebih bersifat seperti peroksidan dibandingkan antioksidan (Furham, 2002). Pada konsentrasi tinggi, antioksidan polifenol seringkali bersifat sebagai peroksidan karena antioksidan polifenol tersebut ikut terlibat dalam reaksi inisiasi oksidasi yang menghasilkan produk berupa radikal bebas. Produksi radikal bebas yang berlebihan akan menyebabkan oksidasi LDL dan terjadi penurunan aktivitas LPL. Penurunan aktivitas LPL menyebabkan trigliserida tidak dapat dihidrolisis dan terjadi peningkatan kadar trigliserida (Shahidi dan Naczki, 1995).

5.2 Pengaruh Pemberian Air Rebusan Jamur Kuping Hitam Terhadap Gambaran Histopatologi Aorta Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Histopatologi aorta hasil dari pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) menggunakan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) pada perbesaran 400x dan 1000x ditunjukkan pada **Gambar 5.1**



Gambar 5.1 Histopatologi aorta tikus yang diberi terapi air rebusan jamur kuping hitam pada tikus model hiperkolesterolemia. Pewarnaan HE dengan perbesaran 400x dan 1000x.

Keterangan:

A : Tikus normal

B : Tikus hiperkolesterolemia

C : Tikus hiperkolesterolemia dengan terapi air rebusan jamur kuping dosis 250 mg/kgBB

D : Tikus hiperkolesterolemia dengan terapi air rebusan jamur kuping dosis 500 mg/kgBB

E : Tikus hiperkolesterolemia dengan terapi air rebusan jamur kuping dosis 750 mg/kgBB

↔ Ti : Tunika intima

↔ Tm : Tunika media

↔ Ta : Tunika adventitia

→ : Sel endotel normal

→ : Vakuolisasi lemak

→ : Sel radang

Histologi aorta pada tikus normal (Gambar 5.1 A) menunjukkan tidak adanya kerusakan sel endotel pada tunika intima, tidak terlihat adanya vakuolisasi lemak dan tidak adanya sel radang, ini ditunjukkan dengan struktur intima yang terlihat berupa bentukan memanjang dengan inti ditengahnya. Tunika intima memiliki satu lapis sel endotel yang ditopang selapis tipis subendotel jaringan ikat longgar. Lapisan endotel pada tikus normal menunjukkan lapisan endotel yang berbentuk pipih dan poligonal dengan sumbu panjang, sel sejajar dengan pembuluh darah. Susunan histopatologi aorta adalah tunika intima yang tersusun oleh sel endotel, tunika media yang tersusun oleh sel otot polos, dan tunika adventitia yang tersusun oleh lapisan sel lemak (Murwani dkk, 2006).

Histopatologi aorta pada tikus model hiperkolesterolemia (Gambar 5.1 B) menunjukkan adanya vakuolisasi lemak di tunika intima dan tunika media dan terlihat adanya sel radang yaitu neutrofil. Vakuolisasi lemak ditandai dengan timbulnya vakuol-vakuol lemak berbentuk jernih pada tunika intima dan tunika media. Vakuolisasi lemak yang terjadi pada kelompok hiperkolesterolemia terjadi akibat adanya respon inflamasi akibat LDL oksidasi. Oksidasi LDL menginisiasi terjadinya proses inflamasi akut yang menyebabkan vasodilatasi dan permeabilitas vaskular sehingga monosit dalam darah masuk melalui celah antar endotel dan masuk pada tunika intima dan tunika media, dimana deposisi lemak juga terbentuk. Kerusakan ini diakibatkan adanya induksi hiperkolesterol yang memicu radikal bebas dan mengakibatkan reaksi inflamasi dan menyebabkan perlemakan pada tunika intima dan tunika media (Umarudin dkk, 2012).

Menurut Galuh (2018), reaksi inflamasi direspon tubuh dengan mengeluarkan sel-sel inflamasi berupa makrofag, neutrofil, dan limfosit, dimana makrofag merupakan penanda paling jelas dari terjadinya hiperkolesterolemia. Sel inflamasi yang lebih dahulu muncul yaitu neutrofil, karena inflamasi yang terjadi merupakan inflamasi akut. Neutrofil menghambat adanya infeksi dengan melepaskan prostaglandin dan histamin. Adanya prostaglandin dan histamin menyebabkan peningkatan vasodilatasi dan permeabilitas vaskular. Vasodilatasi vaskular menyebabkan sel endotel merenggang sehingga deposisi lemak yang ada pada endotel masuk melalui celah endotel ke dalam tunika intima dan tunika media (Nair, 2004).

Histopatologi aorta pada tikus model hiperkolesterolemia dengan terapi air rebusan jamur kuping hitam dengan dosis 250 mg/kgBB (Gambar 5.1 C) menunjukkan tidak adanya vakuolisasi lemak dan tidak terlihat adanya sel radang. Histopatologi aorta pada kelompok C menunjukkan keadaan histopatologi aorta lebih baik dari kelompok B dengan hilangnya vakuolisasi lemak dan tidak terlihat adanya sel radang. Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa tanin, polisakarida, dan niasin yang terkandung dalam jamur kuping hitam. Tanin merupakan golongan senyawa polifenol yang berperan sebagai antioksidan yang mampu menghambat LDL oksidasi dengan mengurangi ROS sehingga proses inflamasi serta LDL oksidasi berkurang. Selain itu, tanin dapat meningkatkan sintesis lemak sehingga lemak berlebih dalam darah dapat diangkut menuju usus dan dibuang melalui feses sehingga tidak terjadi inisiasi lemak pada tunika intima dan tunika media (Galuh dkk, 2018).

Polisakarida digunakan sebagai sumber serat yang dapat menurunkan kadar kolesterol. Serat yang terdapat pada jamur kuping hitam adalah polisakarida β -glukan yang merupakan inhibitor kuat dalam menghambat enzim lipase gastrointestinal sehingga mampu menurunkan kadar kolesterol darah. Selain itu serat makanan akan menghalangi siklus enterohepatik (reabsorpsi empedu dalam usus ke hati). Proses tersebut menurunkan absorpsi dan reabsorpsi lemak termasuk kolesterol dan asam lemak sehingga meningkatkan pengeluaran feses (Budinastiti, 2016). Komponen lain yang berpengaruh adalah niasin. Niasin dapat mempengaruhi lipoprotein yang mengandung Apo-B seperti VLDL dan LDL. Selain itu juga dapat meningkatkan lipoprotein yang mengandung Apo-A1 seperti HDL. Niasin juga bekerja secara langsung dalam menghambat aktivitas enzim *Diacylglycerol Acyltransferase-2* (DGAT-2). Penghambatan sintesis TG oleh niasin mengakibatkan degradasi Apo-B intraselular dan menurunkan sekresi VLDL dan LDL. Mekanisme lain niasin dapat mengatur kadar TG dengan menghambat lipolisis pada adiposit sehingga menurunkan kadar TG di dalam plasma. Dalam mempengaruhi kadar kolesterol HDL, niasin berperan sebagai penghambat penyerapan dan pemindahan kolesterol HDL dan Apo-A1 (Budinastiti, 2016).

Histopatologi aorta pada tikus model hiperkolesterolemia dengan terapi air rebusan jamur kuping hitam dengan dosis 500 mg/kgBB (Gambar 5.1 D) menunjukkan adanya vakuolisasi lemak di tunika media dalam jumlah sedikit dan tidak terlihat adanya sel radang. Histopatologi aorta pada tikus model hiperkolesterolemia dengan terapi air rebusan jamur kuping hitam dengan dosis 750 mg/kgBB (Gambar 5.1 E) menunjukkan adanya vakuolisasi lemak di tunika intima

dan tunika media dalam jumlah sedikit dan tidak terlihat adanya sel radang. Histopatologi aorta pada kelompok D dan E menunjukkan keadaan aorta menjadi lebih baik dari kelompok B tetapi masih terlihat adanya vakuolisasi lemak dalam jumlah sedikit. Hal ini disebabkan oleh sifat polifenol dimana pada kondisi tertentu seperti konsentrasi tinggi, pH tinggi, atau keberadaan ion besi maka senyawa polifenol dapat menginisiasi proses autooksidasi dan lebih bersifat seperti peroksidan dibandingkan antioksidan (Furham dan Aviram, 2002). Pada konsentrasi tinggi, antioksidan polifenol seringkali bersifat sebagai peroksidan karena antioksidan polifenol tersebut ikut terlibat dalam reaksi inisiasi oksidasi yang menghasilkan produk berupa radikal bebas. Produksi radikal bebas yang berlebihan akan menyebabkan oksidasi LDL dan terjadi penurunan aktivitas LPL. Penurunan aktivitas LPL memicu stres oksidatif (Shahidi dan Naczki, 1995).

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa air rebusan jamur kuping hitam yang mengandung senyawa tanin, polisakarida, dan niasin dapat menurunkan kadar trigliserida dan dapat memperbaiki kerusakan gambaran histopatologi aorta pada tunika intima dan tunika media pada tikus model hiperkolesterolemia. Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) dapat digunakan sebagai terapi pada tikus (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.

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. Terapi air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) menurunkan kadar trigliserida pada tikus (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia. Penurunan kadar trigliserida dengan dosis 250 mg/kgBB menunjukkan hasil yang paling baik karena tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan kelompok tikus sehat.
2. Pemberian air rebusan jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) memperbaiki kerusakan gambaran histopatologi aorta tikus (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia yang dibuktikan dengan adanya perbaikan pada tunika intima dan tunika media pada dosis 250 mg/kgBB.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis terendah untuk mendapatkan dosis optimal sehingga menghasilkan penurunan kadar trigliserida pada kasus hiperkolesterolemia sampai mendekati normal.

DAFTAR PUSTAKA

- Budinastiti, R. 2016. Pengaruh Pemberian Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*) Terhadap Kadar Kolesterol Total, LDL (*Low Density Lipoprotein*), dan HDL (*High Density Lipoprotein*) Serum Tikus Wistar Yang Diinduksi Minyak Jelantah. Jurnal Universitas Diponegoro
- Cynthia, N. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Hijau (*Phaseolus Radiatus*) Terhadap Kadar Kolesterol LDL Serum Tikus Hiperkolesterolemia. Universitas Diponegoro, 2(4): 585-592
- Djarajah. 2001. *Budi Daya Jamur Kuping*. Kanisius. Yogyakarta
- Furham, B., dan M. Aviram. 2002. Polyphenols and flavonoids protect LDL against atherogenic modification. Handbook of Antioxidants 2nd Edition Revised and Expanded. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Galuh, D., Masdiana C., dan Herawati. 2018. Kadar HDL, Kasar LDL, dan Gambaran Histopatologi Aorta pada Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia dengan Terapi Ekstrak Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*). Universitas Brawijaya, Malang
- Gani, N., Lidya I., dan M. Mariska. 2013. Profil Lipida Plasma Tikus Putih yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (*Abelmoschus manihot L.*). Jurnal UNSRAT 2(1): 44-49
- Gardenia, L. 1997. *Pengaruh xanton terhadap kehamilan awal tikus (Rattus norvegicus) galur Wistar*. Skripsi Sarjana Biologi ITB. Hal 10-11
- Liana, M., S. Peni, dan L. Muqie. 2015. *Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Jamur Kuping Hitam (Auricularia polytricha (Mont, Sacc))*. Akademika UNISBA. Hal 267-271
- Lemanepa, M. E. 2005. Perbandingan Profil Lipid dan Perkembangan Lesi Aterosklerosis pada Tikus Wistar yang Diberi Diet Perasan Pare dengan Diet Perasan Pare dan Statin. Semarang, Universitas Diponegoro
- Lichtenstein, A. H. 2006. Diet and Lifestyle Recommendations Revision: A Scientific Statement From The American Heart Association Nutrition Committee. Circulation 114: 82-96.
- Made, I., Henna R., dan N. Suci. 2017. Pengaruh Pemberian Jamur Kuping Hitam (*Auricularia poltricha*) Terhadap Kadar Trigliserida Serum Tikus Wistar Yang Diinduksi Minyak Jelantah. Jurnal Kedokteran Universitas Diponegoro 6(2): 645-654
- Malole, M., dan Pramono, U. 1989. Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Murray, R. K., Granner, and Rodwell. 2003. *Biokimia Harper*. Penerjemah: Andry Hartono. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

- Murwani, S., Mulyohadi A., dan K. Muliarta. 2006. Diet Aterogenik Pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus* Strain Wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 1(22): 7-9
- Nair, P. 2004. *Pathogenesis of Apical Periodontitis and The Causes of Endodontic Failures*. Int and American Assc for Dent Research. 15(6): 348-381
- Prawirokusumo, S. 1994. *Ilmu Gizi Komparatif*. BPFE, Yogyakarta, Hal 28-31
- Sari, R. K., 2012. Pengaruh Pemberian Air Seduhan Teh Hitam Terhadap Kadar Trigliserida Dan Kolesterol VLDL pada Tikus Wistar Yang Diberi Diet
- Shahidi, F., dan M. Nacz. 1995. *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications*. Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster, Basel.
- Tapan, E. 2005. *Penyakit Degeneratif*. Alex Media Komputindo. Jakarta
- Tjay, T. H dan K. Rahardja. 2013. *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*, Edisi Keenam, Cetakan ketiga. Alex Media Komputindo, Jakarta.
- Umarudin, Susanti R., dan Y. Ari. 2012. Efektivitas Ekstrak Tanin Seledri Terhadap Profil Lipid Tikus Putih Hiperkolesterolemia, Universitas Negeri Semarang, Semarang
- Vodjani, A. 2003. *How Probiotics Help Lower Cholesterol*. <http://www.natren.com/> [Diakses tanggal 1 November 2018]
- Warnick. G. R. 2001. Overview of The Diagnosis and Treatment of Lipid Disorders. Dominiczack MH. Edisi Handbook of Lipoprotein Testing. Washington: AACC press
- Welinsa, F. 2014. Histopatologi Aorta Torasika *Rattus Novergicus* Strain Wistar Jantan Setelah 8 Minggu Pemberian Diet Aterogenik, *Jurnal Kedokteran*, 2(1): 1-11
- Wresdiyati, T., M. Astawan, dan Y. H. Lusia., 2006. Profil imunohistokimia Super Oksida Dismutase (SOD) pada jaringan hati tikus dengan kondisi hiperkolesterolemia. *Hayati J Biosci* 13: 85-89.
- Xenoulis P. G. and J. M. Steiner. 2008. *Lipid Metabolism and Hyperlipidemia In Dogs*. Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Texas A&M University, College Station, TX 77843-4474, USA
- Yunina. 2010. Pengaruh Minyak Zaitun Terhadap Kadar Kolesterol HDL Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberikan Diet Tinggi Lemak. Universitas Airlangga, Surabaya

LAMPIRAN



Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

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 2. Uji Kualitatif Air Rebusan Jamur Kuping



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

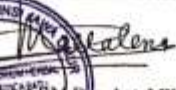
Nama Sampel	Flavonoid	Tanin	Karbohidrat
Jamur Kuping Hitam (<i>Auricularia polytricha</i>)			

5. Pustaka

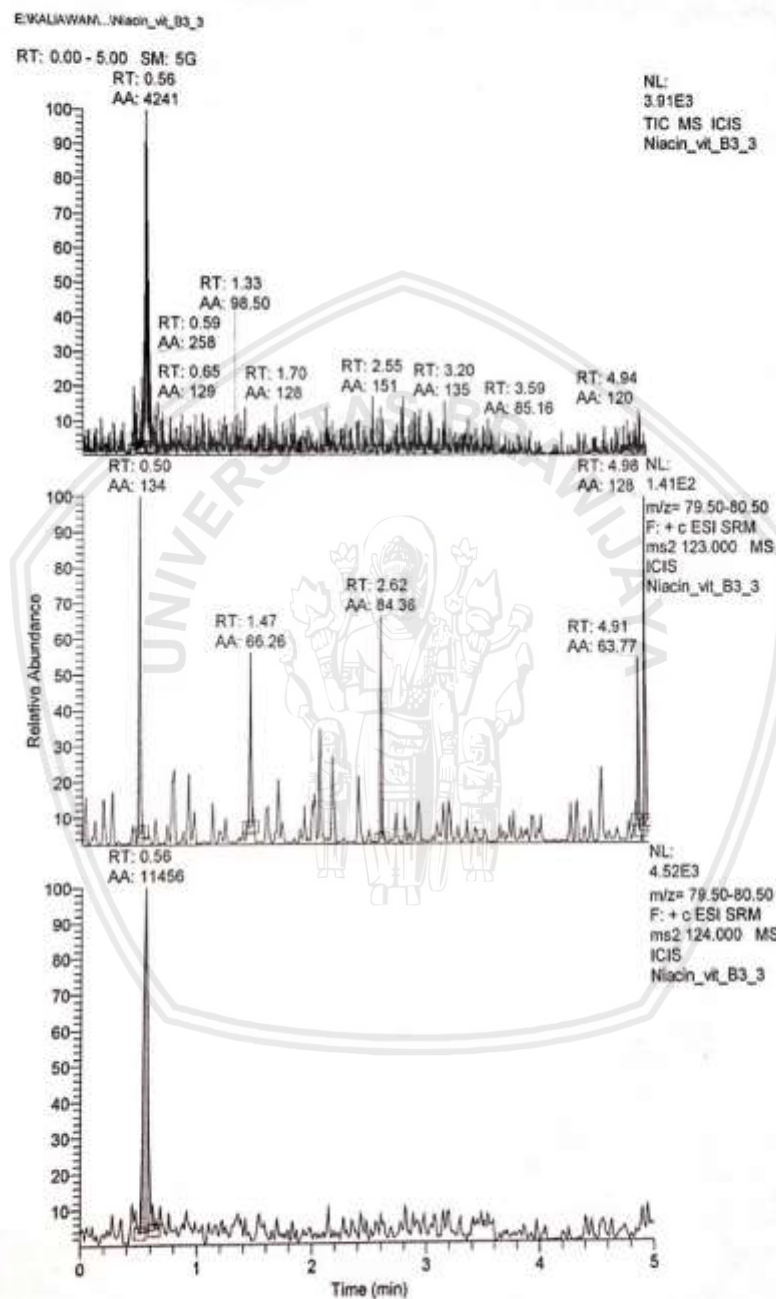
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978. "Materia Medika Indonesia", Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 14 Maret 2019
 Kepala UPT Materia Medica Batu



 Dr. Hesti Rini, Apt. MKes.
 NIP.196111021990031003



Lampiran 3. Hasil Pemeriksaan Kolesterol Total



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
LABORATORIUM PATOLOGI KLINIK
 Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
 Telp. (021) 0341 569317, 567192 Ext. 176 - Fax. (021) 0341 564735
<http://ik.ub.ac.id/labpatologi/ptklinik> e-mail : pt_klinik@ub.ac.id

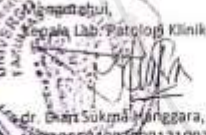
HASIL LABORATORIUM PATOLOGI KLINIK

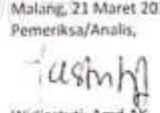
No. Registrasi : 2019032101
 Nama : YUMNA ESI
 Instansi : FKH. UB
 Alamat/Telp. : 085139714855

Spesimen : Tikus Putih
 Tgl. Terima : 21 Maret 2019
 Tgl. Selesai : 21 Maret 2019
 Judul TA : PENGARUH PEMBERIAN AIR REBUSAN JAMUR KUPING HITAM TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPA TIKUS MODEL HYPERKOLESTROLEMIA

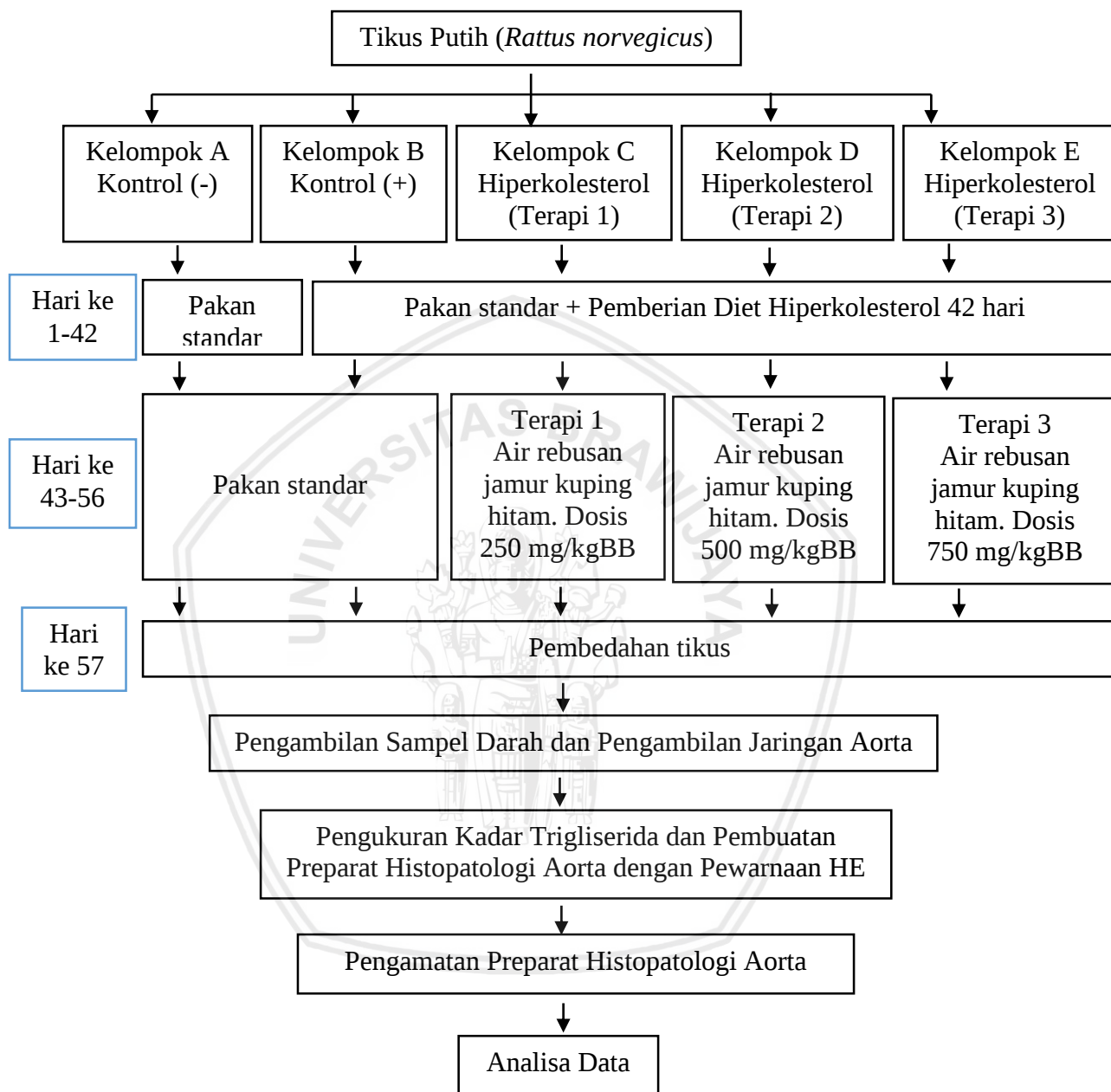
HASIL PEMERIKSAAN KIMIA KLINIK LIPID PROFILE : KOLESTEROL TOTAL

NO	KODE SPESIMEN	JENIS PEMERIKSAAN	HASIL	SATUAN	NILAI RUJUKAN	KETERANGAN
1	SERUM P1.2	Kolesterol Total	76	mg/dL	40 - 130	
2	SERUM P1.3	Kolesterol Total	39	mg/dL	40 - 130	
3	SERUM P1.4	Kolesterol Total	54	mg/dL	40 - 130	
4	SERUM P1.5	Kolesterol Total	77	mg/dL	40 - 130	
5	SERUM P2.3	Kolesterol Total	48	mg/dL	40 - 130	
6	SERUM P2.4	Kolesterol Total	65	mg/dL	40 - 130	
7	SERUM P2.5	Kolesterol Total	61	mg/dL	40 - 130	
8	SERUM P3.2	Kolesterol Total	60	mg/dL	40 - 130	
9	SERUM P3.3	Kolesterol Total	55	mg/dL	40 - 130	
10	SERUM POS 1	Kolesterol Total	65	mg/dL	40 - 130	
11	SERUM POS 2	Kolesterol Total	53	mg/dL	40 - 130	
12	SERUM POS 3	Kolesterol Total	38	mg/dL	40 - 130	
13	SERUM POS 4	Kolesterol Total	53	mg/dL	40 - 130	
14	SERUM POS 5	Kolesterol Total	77	mg/dL	40 - 130	

Mengantar,
 Kepala Lab. Patologi Klinik,

 dr. Chari Sukma Panggara, Sp.PK, M.Biomed.
 NIP 198504092009121003

Malang, 21 Maret 2019
 Pemeriksa/Analisis,

 Widiastuti Amd.AK
 NIP 197402042000032002

Lampiran 4. Kerangka Operasional



Lampiran 5. Perhitungan Dosis

Rata-rata BB tikus = 200 gram

Berat Kering Air Rebusan 2mL = 0,1 gram

$$= 100 \text{ mL/g}$$

$$\text{Konsentrasi} = \frac{0,1 \text{ gram} \times 100\%}{2 \text{ mL}}$$

$$= 5\%$$

Jadi, 5% = 5 g/100mL = 50 mg/mL

Dosis Air Rebusan Jamur Kuping Hitam:

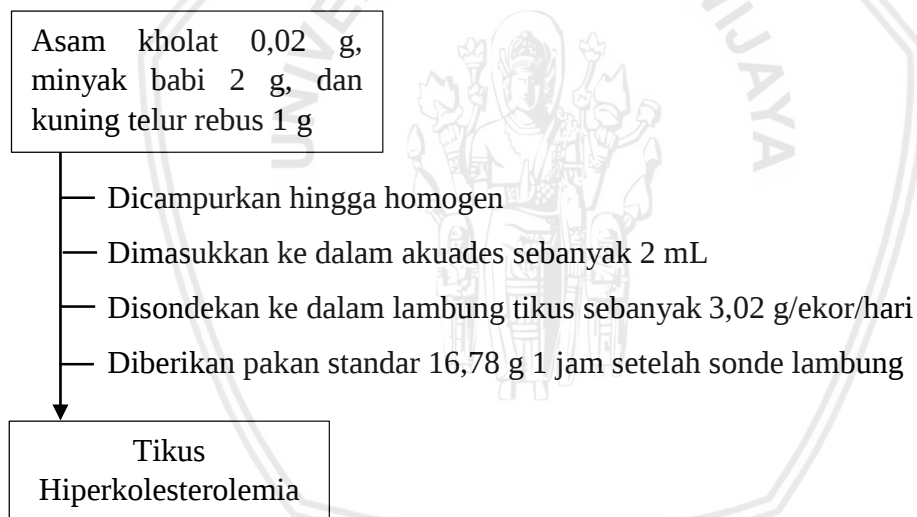
- a) Perlakuan 1 = 1 mL = 50 mg/200gBB
= 250 mg/kgBB
- b) Perlakuan 2 = 2 mL = 100 mg/200gBB
= 500 mg/kgBB
- c) Perlakuan 3 = 3 mL = 150 mg/200gBB
= 750 mg/kgBB

Lampiran 6. Pembuatan Pakan

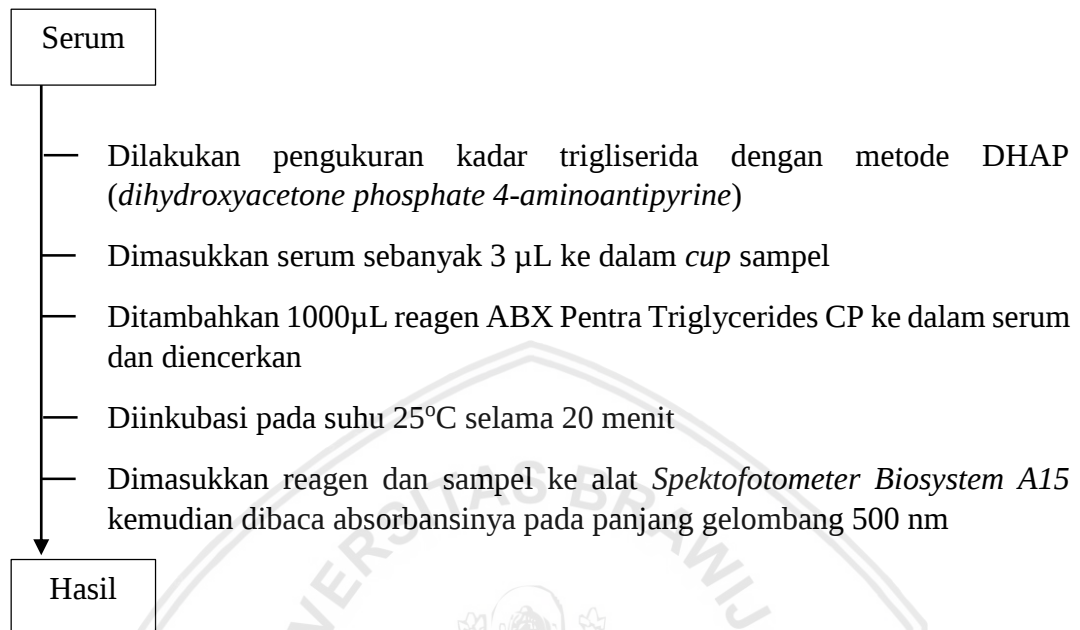
Komposisi dalam pembuatan diet hiperkolesterol antara lain asam kholat 0,1%, minyak babi 10%, kuning telur rebus 5%, dan pakan standar 83,9% dari 20 g total pakan per hari sehingga diperlukan komposisi sebagai berikut:

- a) Asam kholat $= 0,15 \times 20 \text{ g} = 0,02 \text{ g}$
- b) Minyak babi $= 10\% \times 20 \text{ g} = 2 \text{ g}$
- c) Kuning telur rebus $= 5\% \times 20 \text{ g} = 1 \text{ g}$
- d) Akuades sebanyak $= 2 \text{ mL}$
- e) Pakan standar $= 83,9\% \times 20 \text{ g} = 16,78 \text{ g}$

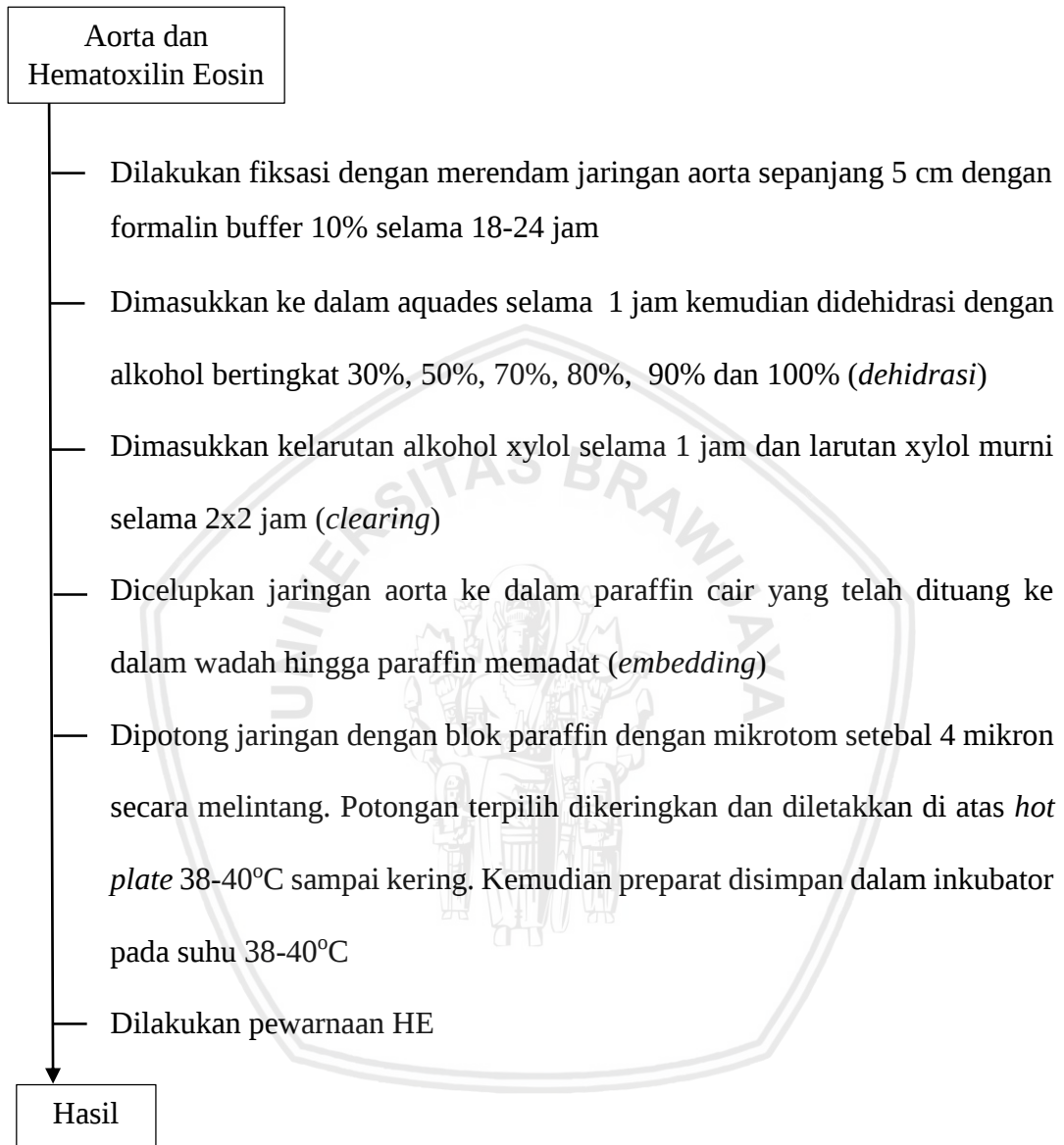
Diagram Alir:



Lampiran 7. Bagan Alir Triglicerida



Lampiran 8. Bagan Alir Pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE)



Lampiran 9. Tabel Kadar Trigliserida dan Perhitungan Kadar TG

1. Hasil pengukuran kadar TG (mg/dL)

Kelompok Perlakuan	Tikus				Jumlah	Rataan Kadar TG
	1	2	3	4		
K-	62	66	64	65	257	64,3
K+	157	164	165	160	646	161,5
P1	69	68	66	67	270	67,5
P2	71	76	72	70	289	72,3
P3	81	85	84	86	336	84

2. Perhitungan kadar TG

Kelompok Kontrol Positif

$$\text{Peningkatan Kadar TG (\%)} = \frac{(\text{Rataan K+}) - (\text{Rataan K-})}{\text{Rataan K-}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{161,5 - 64,3}{64,3} \times 100\% \\
 &= 151,2\%
 \end{aligned}$$

Kelompok Terapi dosis 250 mg/kgBB

$$\text{Penurunan Kadar TG (\%)} = \frac{(\text{Rataan K+}) - (\text{Rataan P1})}{\text{Rataan K+}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{161,5 - 67,5}{161,5} \times 100\% \\
 &= 58,2\%
 \end{aligned}$$

Kelompok Terapi dosis 500 mg/kgBB

$$\text{Penurunan Kadar TG (\%)} = \frac{(\text{Rataan K+}) - (\text{Rataan P2})}{\text{Rataan K+}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{161,5 - 72,3}{161,5} \times 100\% \\
 &= 55,2\%
 \end{aligned}$$

Kelompok Terapi dosis 750 mg/kgBB

$$\begin{aligned}\text{Penurunan Kadar TG (\%)} &= \frac{(\text{Rataan K+}) - (\text{Rataan P3})}{\text{Rataan K+}} \times 100\% \\ &= \frac{161,5 - 84}{161,5} \times 100\% \\ &= 47,9\%\end{aligned}$$



Lampiran 10. Data Hasil Analisis Statistik Kadar Triglicerida

Lampiran 10.1 Uji Normalitas

Tests of Normality							
	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Triglicerida	A	.192	4	.	.971	4	.850
	B	.251	4	.	.927	4	.574
	C	.151	4	.	.993	4	.972
	D	.288	4	.	.887	4	.369
	E	.250	4	.	.927	4	.577

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan uji normalitas, maka dapat disimpulkan data bersifat normal, dimana hasil sig. > 0,05.

Lampiran 10.2 Descriptives

Descriptives								
Triglicerida								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	4	64.2500	1.70783	.85391	61.5325	66.9675	62.00	66.00
B	4	161.5000	3.69685	1.84842	155.6175	167.3825	157.00	165.00
C	4	67.5000	1.29099	.64550	65.4457	69.5543	66.00	69.00
D	4	72.2500	2.62996	1.31498	68.0652	76.4348	70.00	76.00
E	4	84.0000	2.16025	1.08012	80.5626	87.4374	81.00	86.00
Total	20	89.9000	37.43050	8.36971	72.3820	107.4180	62.00	165.00

Lampiran 10.3 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Trigliserida

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.820	4	15	.177

Berdasarkan uji homogenitas, maka dapat disimpulkan data bersifat homogen, dimana hasil sig. = 0,177 > 0,05 dan layak dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA*.

Lampiran 10.4 Uji ANOVA

ANOVA

Trigliserida

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26530.300	4	6632.575	1111.605	.000
Within Groups	89.500	15	5.967		
Total	26619.800	19			

Berdasarkan uji ANOVA, maka dapat disimpulkan data dapat dilanjutkan ke uji Tukey, dimana hasil $P < 0,05$.

Lampiran 10.5 Uji Tukey

Trigliserida

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
A	4	64.2500			
C	4	67.5000	67.5000		
D	4		72.2500		
E	4			84.0000	
B	4				161.5000
Sig.		.368	.093	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Signifikasi perbedaan terlihat pada notasi huruf yang berbeda (a,b,c,d) maka diantaranya terdapat perbedaan yang sangat nyata (0,01).