

AKTIVITAS FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN MURBEI (*Morus australis* Poir.) TERHADAP FUNGSI DAN HISTOLOGI HATI TIKUS PUTIH MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK



Oleh :

**Nurul Huda
SBF091510121**

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

AKTIVITAS FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN MURBEI (*Morus australis* Poir.) TERHADAP FUNGSI DAN HISTOLOGI HATI TIKUS PUTIH MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK



Oleh:

**Nurul Huda
SBF091510121**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN TESIS

berjudul :

**AKTIVITAS FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN MURBEI (*Morus australis* Poir.)
TERHADAP FUNGSI DAN HISTOLOGI HATI TIKUS PUTIH MODEL
HIPERKOLESTEROLEMIA YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK**

Oleh:

**Nurul Huda
SBF091510121**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Tesis
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : April 2017

Mengetahui
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,

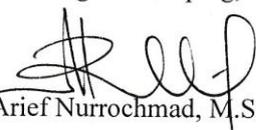
Prof. Dr. R. A. Octari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama,



Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping,

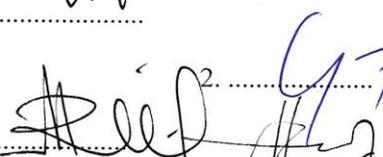


Dr. Arief Nurrochmad, M.Sc., Apt

Penguji :

1. Prof. Dr. Ediati Sasmito, S.E., Apt.
2. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt
3. Dr. Arief Nurrochmad, M.Sc., Apt
4. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

1. 

2. 

3. 

4. 

1.

*Sesungguhnya bersama kesukaran itu ada keringanan. Karena itu bila kau sudah selesai (mengerjakan yang lain). Dan berharaplah kepada Tuhanmu.
(Q.S Al Insyirah : 6-8)*

*Keberhasilan adalah sebuah proses. Niatmu adalah awal keberhasilan. Peluh keringatmu adalah penyedapnya. Tetesan air matamu adalah pewarnanya.
Doamu dan doa orang-orang sekitarmu adalah bara api yang mematangkannya. Kegagalan di setiap langkahmu adalah pengawetnya.
Maka dari itu, bersabarlah! Allah selalu menyertai orang-orang yang penuh kesabaran dalam proses menuju keberhasilan. Sesungguhnya kesabaran akan membuatmu mengerti bagaimana cara mensyukuri arti sebuah keberhasilan*

Kebanggaan kita yang terbesar adalah bukan tidak pernah gagal, tetapi bangkit kembali setiap kali kita jatuh

~Confusius~

Kupersembahkan karya ini untuk :
Allah SWT segala puji syukur atas Berkat dan Rahmatnya
Papa dan mamaku tercinta
Mba, kakak, adek dan seluruh keluarga besarku
Keluarga kecilku yang selama ini menemaniku disolo
Agama bangsa negara dan almamaterku

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila tesis ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/tesis orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, April 2017

Nurul Huda

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT karena atas Rahmat dan Karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Magister Farmasi (M.Farm) dalam ilmu farmasi dari Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Tesis ini berjudul **“AKTIVITAS FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN MURBEI (*Morus australis* Poir.) TERHADAP FUNGSI DAN HISTOLOGI HATI TIKUS PUTIH MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK”** dengan harapan dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat memberikan sumbangan bagi ilmu farmasi terutama pengobatan tradisional.

Tesis ini dalam penyusunannya tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan banyak pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi, yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama atas kesempatan, bimbingan, nasehat serta saran dalam penyusunan tesis ini.
4. Dr. Arief Nurrochmad, M.Sc., Apt selaku pembimbing pendamping atas kesempatan, bimbingan, nasehat serta saran dalam penyusunan tesis ini.

5. Tim penguji tesis Prof. Dr. Ediati Sasmito, S.E., Apt. dan Dr. Gunawan PW, M.Si., Apt. atas masukan, kritik, dan saran demi kesempurnaan tesis ini.
6. Segenap Dosen, Asisten, karyawan serta Staf Laboratorium Farmasi Universitas Setai Budi Surakarta yang banyak membantu kelancaran praktek penelitian tesis.
7. Segenap Dosen, Asisten, karyawan serta Staf Laboratorium Pasca Sarjana dan Laboratorium Patalogi Kedokteran UGM yang banyak membantu kelancaran praktek penelitian tesis.
8. Orang tua serta kakak, Ajim, Leni, Arka yang selalu memberi kekuatan, cinta, doa, dukungan, semangat, dan motivasi.
9. Mbaku terkasih yang selalu memberi semangat, kekuatan serta materil yang tak henti bagi penulis.
10. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu demi satu yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini masih banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Oleh sebab itu kritik dan saran sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga tesis ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya serta untuk mengembangkan ilmu farmasi dan pengobatan.

Surakarta, April 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGHANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Kegunaan Penelitian	5
E. Keaslian penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Tanaman Murbei.....	8
1. Nama Lain	8
2. Klasifikasi Daun Murbei	8
2.1. <i>Morus alba</i> L	8
2.2. <i>Morus multicaulis</i>	8
2.3. <i>Morus cathayana</i> . A.	9
3. Sistematika Tanaman.....	9
4. Habitat dan Morfologi Tanaman	10
5. Khasiat tanaman	10
6. Kandungan Tanaman	11
6.1. Flavonoid	12
6.2. Alkaloid	13
6.3. Polifenol	13
B. Simplisia.....	14

1. Pengertian simplisia.....	14
2. Pengeringan	15
3. Pembuatan serbuk.....	15
C. Penyarian	16
1. Pengertian penyarian	16
2. Cairan penyari.....	18
2.1. Etanol.....	18
2.2. n-Heksana	18
2.3. Etil Asetat	19
2.4. Air.....	19
3. Cara penyarian	19
4. Ekstrak	21
4.1. Pengertian	21
4.2. Pembagian	21
4.2.1. Ekstrak Encer	22
4.2.2. Ekstrak Kental	22
4.2.3. Ekstrak Kering	22
4.2.4. Ekstrak Cair	22
5. Fraksinasi.....	22
D. Kolesterol	23
1. Pengertian Kolesterol	23
2. Jalur Pengangkutan Kolesterol	24
2.1. Jalur Eksogen	24
2.2. Jalur Endogen	25
2.3. Jalur Balik	27
3. Kegunaan Kolesterol	27
4. Mekanisme Kolesterol.....	28
E. Golongan Obat Hiperlipidemia	30
1. Statin	30
1.1. Statin	30
1.2. Mekanisme Kerja	31
1.3. Efek Statin Terhadap Kadar LDL-C	31
1.4. Efek Statin Terhadap Kadar HDL-C.....	32
2. Asam Nikotinat (Niasin)	32
2.1. Asam Nikotinat	32
2.2. Mekanisme Kerja	32
2.3. Efek Terhadap Kadar Lipoprotein Plasma.....	33
3. Turunan asam fibrat.....	33
3.1. Asam Fibrat	33
3.2. Mekanisme kerja.....	33
4. Sekuestran Asam-Empedu	34
4.1. Sekuestran Asam-Empedu	34
4.2. Mekanisme Kerja	35
4.3. Efek Terhadap Kadar Lipoprotein	35

F. Hati	36
1. Definisi Hati	36
2. Fungsi Hati	37
G. AST dan ALT	37
H. Perlemakan Hati	39
1. Definisi	39
2. Epidemiologi	41
I. Metode Pengukuran Fungsi dan Histologi Hati	42
J. Binatang Percobaan	43
1. Sistematika Binatang Percobaan	43
2. Karakteristika Tikus	44
3. Jenis Kelamin	45
4. Pengambilan Darah Hewan Percobaan	45
5. Cara Pemberian Obat dan Bahan Perlakuan	46
K. Landasan Teori	46
L. Hipotesis	50
BAB III METODE PENELITIAN	51
A. Populasi dan Sampel.....	51
B. Variabel Penelitian	51
1. Identifikasi Variabel Utama.....	51
2. Klasifikasi Variabel Utama	51
3. Definisi Operasional Variabel	52
C. Alat dan Bahan	53
1. Alat	53
2. Bahan	53
3. Binatang Percobaan	54
D. Prosedur Penelitian	54
1. Determinasi Tanaman Murbei	54
2. Persiapan Bahan	55
3. Pembuatan Serbuk Daun Murbei	55
4. Penetapan Susut Pengeringan.....	55
5. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Murbei	56
6. Fraksinasi ekstrak etanol daun murbei	56
7. Identifikasi Kandungan Kimia.....	57
7.1. Identifikasi Flavonoid	58
7.2. Identifikasi Alkaloid	58
7.3. Identifikasi Polifenol	58
8. Pembuatan suspensi CMC	58
9. Pembuatan larutan PTU.....	59
10. Pembuatan suspensi simvastatin.....	59
11. Penetapan Dosis Sediaan	59
11.1. Penetapan dosis ekstrak	59
11.2. Penetapan dosis fraksi	60

12. Pembuatan sediaan uji	60
13. Pembuatan Pakan Diet Lemak Tinggi	60
14. Perlakuan Hewan Uji	60
15. Pengukuran kenaikan bobot badan	62
16. Prosedur Uji Penentuan Kadar AST dan ALT	62
17. Penimbangan berat lemak abdomen	63
18. Preparat Histologi	63
E. Analisa data	65
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	66
A. Hasil Persiapan daun murbei	66
1. Determinasi tanaman murbei	66
2. Pembuatan serbuk	67
3. Hasil penetapan susut pengeringan	67
4. Hasil pembuatan ekstrak etanol	68
5. Hasil fraksinasi ekstrak etanol	68
6. Hasil identifikasi kandungan	68
7. Hasil pengukuran kenaikan BB tikus	70
B. Hasil penetapan kadar AST dan ALT	74
C. Berat lemak absolut	83
D. Hasil uji histologi	85
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	92
A. Kesimpulan dan saran	92
1. Kesimpulan	92
2. Saran	92
BAB VI RINGKASAN	93
A. Ringkasan	93
DAFTAR PUSTAKA	97
LAMPIRAN	105

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Murbei.....	9
Gambar 2. Struktur Kolesterol.....	24
Gambar 3. Jalur Eksogen Kolesterol	25
Gambar 4. Jalur Endogen Kolesterol.....	26
Gambar 5. Jalur Balik Kolesterol	27
Gambar 6. Biosintesis Kolesterol	30
Gambar 7. Skema Perlakuan Tanaman Hingga Diperoleh Ekstrak dan Fraksi....	57
Gambar 8. Skema Alur Penelitian	64
Gambar 9. Grafik rata-rata BB tikus	71
Gambar 10. Grafik rata-rata kadar AST dan ALT T0-T28	74
Gambar 11. Histologi Hati	88

DAFTAR TABEL

	Halaman
Table 1. Hasil penetapan susut pengeringan	67
Tabel 2. Hasil prosentase rendemen ekstrak etanol.....	68
Tabel 3. Hasil identifikasi kandungan kimia	69
Tabel 4. Perubahan rata-rata BB T0-T42	72
Tabel 5. Rata-rata kadar ALT	75
Tabel 6. Hasil Analisa subset perubahan kadar ALT	78
Tabel 7. Rata-rata kadar AST	78
Tabel 8. Hasil Analisa subset perubahan kadar AST	80
Tabel 9. Rata-rata berat lemak abdomen dan absolut	83
Tabel 10. Hasil skor analisis uji histopatologi organ hati	85

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat <i>Ethical Clearance</i>	105
Lampiran 2. Surat Keterangan Determinasi	106
Lampiran 3. Surat Keterangan Penelitian di Pasca Sarjana UGM	107
Lampiran 4. Hasil kualitatif kandungan kimia daun murbei	108
Lampiran 5. Histopatologi hewan uji	110
Lampiran 6. Perhitungan rendemen dan dosis Fraksi-Fraksi	111
Lampiran 7. Contoh Perhitungan volume pemberian sediaan uji	112
Lampiran 8. Hasil pengukuran berat badan tikus	113
Lampiran 9. Hasil pengukuran Lemak Absolut	115
Lampiran 10. Hasil pengukuran kadar AST serum darah tikus putih	116
Lampiran 11 Hasil pengukuran kadar ALT serum darah tikus putih	118
Lampiran 12. Contoh hasil analisis statistik kadar AST & ALT	120

INTISARI

HUDA, N, 2017, AKTIVITAS FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN MURBEI (*Morus australis* Poir.) TERHADAP FUNGSI DAN HISTOLOGI HATI TIKUS PUTIH MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK, TESIS, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun murbei mengandung flavonoid, alkaloid, dan polifenol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas fungsi hati berdasarkan kadar ALT dan AST serta mengetahui efek fraksi ekstrak etanol daun murbei terhadap perlemakan hati dengan menggunakan parameter degenerasi sel berupa perlemakan hati (steatosis), inflamasi, dan nekrosis dengan melakukan pengecatan *Hematoksin Eosin* (HE).

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan wistar sebanyak 35 ekor dibagi menjadi 7 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok I kontrol normal, kelompok II kontrol negatif, kelompok III kontrol positif (simvastatin 0,9 mg/Kg BB), kelompok IV ekstrak etanol dosis 500 mg/Kg BB, kelompok V fraksi n-heksan dosis 60 mg/Kg BB, kelompok VI fraksi etil asetat dosis 40 mg/Kg BB, dan kelompok VII fraksi air dosis 400 mg/Kg BB. Semua kelompok diberikan pakan DTL+PTU selama 28 hari kecuali kelompok normal diberikan pakan standar. Pemberian fraksi uji dilakukan selama 14 hari.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dengan dosis 40 mg/kg BB merupakan fraksi yang paling optimal dalam menurunkan kadar ALT dan AST pada tikus yang diberi diet tinggi lemak dan PTU, serta fraksi etil asetat dosis 40 mg/kg BB dapat melindungi organ hati dari kerusakan pada tikus yang diberi diet tinggi lemak berdasarkan hasil analisis gambaran histologi.

Kata Kunci: *Morus australis* Poir., ALT, AST, Histologi hati

ABSTRACT

HUDA, N, 2017, ACTIVITY OF MULTI FRACTION OF MULBERRY LEAVES (*Morus asutralis* Poir) ETHANOL EXTRACT TO FUNCTION AND HISTOLOGY LIVER RATS INDUCED HIGH-FAT DIET, THESIS, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Mulberry leaves contains flavonoids, alkaloids, and polifenols. The purpose of this study is to know the activity of liver function based on ALT and AST level and to know the fraction effect of ethanol extract mulberry leaf to fatty liver by using cell degeneration parameter in the form of fatty liver (steatosis), inflammation and necrosis by doing Hematoxylin Eosin (HE) .

Test animals used were male rats wistar strain as many as 35 rats divided into 7 groups, each group consisting of 5 rats. Group I as normal control, group II as a negative control, group III as a positive control (simvastatin 0,9 mg/kg BW), Group IV as extract ethanol dose 500 mg/kg BW, group V as fraction n-heksan dose 60 mg/kg BW, group VI as fraction ethyl acetate dose 40 mg/kg BW, group VI as fraction of water dose 400 mg/kg BW. All groups were given feed HFD+ PTU for 28 days except normal group were only given a standard feed. Giving the fraction of the test carried out for 2 weeks.

The study result showed that fraction ethyl acetate dose 40 mg/kg BW was the optimum fraction in decreased ALT and AST levels in rats high-fat diet and PTU, and fraction ethyl acetate dose 40 mg/kg BW can protect liver from damage in rats fed high-fat diet based on histology image analysis.

Keywords: *Morus autralis* Poir., ALT, AST, Liver histology

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit jantung koroner (PJK) merupakan salah satu masalah kesehatan utama di dunia dan merupakan penyebab kematian nomor satu di Indonesia. Hasil survei yang dilakukan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, sejak tahun 1992 sampai survei terbaru tahun 2004, PJK merupakan penyakit kronis dan penyebab kematian urutan pertama di Indonesia (Soemantri *et al.*, 2005).

Penyakit kardiovaskuler atau PJK merupakan salah satu penyakit akibat tingginya kolesterol total, LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan trigliserida dan rendahnya kolesterol HDL (*High Density Lipoprotein*). Berbagai faktor risiko yang mengakibatkan timbulnya PJK mulai dari aspek metabolik, hemostatis, imunologi, infeksi, dan banyak faktor lain yang saling terkait (Nilawati *et al.*, 2008).

Hati merupakan organ penting yang bertanggung jawab dalam menjaga keseimbangan kolesterol plasma dan organ untuk detoksifikasi sekaligus sebagai organ target yang sensitif terhadap senyawa toksik (Lu, 1995). Penyakit hati menimbulkan kelainan pada kolesterol darah karena hati merupakan tempat degradasi insulin, sehingga bila hati rusak, jumlah insulin akan meningkat sehingga akan menurunkan kolesterol darah. Selain itu, hati juga merupakan tempat sintesa kolesterol, metabolisme lemak, pembentukan asam empedu,

pengaktifan hormon tiroid serta metabolisme hormon steroid, dan protein sehingga penyakit hati dapat mempengaruhi kadar kolesterol darah. Kelainan yang terjadi pada hati dapat dilihat dari meningkatnya aktivitas transaminase serum yaitu AST (Serum glutamat oksaloasetat transaminase), ALT (Serum glutamat piruvat transaminase), bilirubin, GGT (γ -Glutamyl transpeptidase), alkalin fosfatase dan protein (Ganong, 2002 diacu dalam North-Lewis, 2008).

Penyakit perlemakan hati non alkohol atau *Non-alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD) merupakan kumpulan gangguan hati yang ditandai dengan adanya perlemakan hati makrovesikular, fibrosis, sirosis dan tanpa adanya hubungan dengan konsumsi alkohol (Pagano *et al.*, 2005 diacu dalam Zhou *et al.*, 2005). Terdapat peningkatan insidensi NAFLD pada sindroma metabolik yang meliputi obesitas, hiperinsulinemia, resistensi insulin perifer, diabetes mellitus, dan hipertrigliseridemia (Kim *et al.*, 2008). Penyakit perlemakan hati non alkohol merupakan masalah kesehatan pada anak maupun dewasa yang obesitas. Prevalensi penyakit perlemakan hati non alkohol meningkat bersamaan dengan meningkatnya pandemi obesitas (Mathur *et al.*, 2007).

Salah satu tata laksana terapi hiperkolesterolemia adalah dengan menghambat kerja dari HMG CoA reduktase (*hydroxyl-methyl-glutaryl-Coenzim A*), yaitu enzim yang mengontrol jalur biosintesis kolesterol di dalam hati (Brown *et al.*, 1991). Penghambatan HMG CoA reduktase akan mencegah pembentukan mevalonat dan kolesterol. Zat ini bersifat kompetitor kuat terhadap HMG CoA reduktase dalam mengontrol jalur biosintesis kolesterol (Triana & Hidayat, 2006). Diah dkk (2012) melaporkan kadar kolesterol plasma

yang menurun atau dalam batas normal akan membantu organ hati dalam menjalankan fungsi metaboliknya dan kejadian perlemakan hati dapat dicegah. Pada kondisi hiperkolesterolemia organ hati akan terganggu fungsi metaboliknya sehingga jika hiperkolesterolemia terjadi terus menerus dalam jangka waktu yang panjang akan memicu timbulnya perlemakan hati yang dapat menimbulkan penyakit hati.

Banyak usaha yang dapat dilakukan untuk menurunkan kolesterol dalam darah seperti dengan melakukan diet, selain melakukan olahraga ataupun dengan menggunakan obat-obatan. Penggunaan obat konvensional yang digunakan sebagai penurun kolesterol tidak dapat dihindarkan dari efek samping yang dapat terjadi, oleh sebab itu banyak dilakukan penelitian-penelitian tanaman tradisional yang memiliki efek sama dengan obat sintetik dengan efek samping yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan obat konvensional (Purwanti, 2012).

Seiring dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dibidang kesehatan, maka dituntut bukti kebenaran secara ilmiah penggunaan tanaman-tanaman obat tersebut. Salah satu tanaman obat yang biasa digunakan secara empiris dan juga sudah mulai banyak penelitiannya secara ilmiah adalah daun murbei (*Morus australis* Poir.). Masyarakat Indonesia sudah lama mengenal daun murbei sebagai makanan istimewa ulat sutera. Selain sebagai makanan ulat sutera buah murbei juga banyak dikonsumsi karena buahnya yang manis dan daun muda murbei dapat dikonsumsi sebagai sayur.

Penelitian yang dilakukan oleh Valaachi *et al.* (2013) menyatakan bahwa suplementasi gabungan ekstrak buah dan daun murbei dengan dosis 500 mg/kg

BB tikus mempunyai efek yang menguntungkan pada metabolisme lipid, termasuk kolesterol dan akumulasi diet lemak tinggi pada tikus yang diinduksi obesitas. Murbei memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Iqbal *et al.*, 2012) dan nefroprotektif (Nematbakhsh *et al.*, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Katsube *et al.* (2006) juga melaporkan bahwa kandungan flavonoid dari ekstrak air buah murbei juga mampu menurunkan serum trigliserida dan kolesterol. Kandungan dari daun murbei diantaranya yaitu quercetin3-(6-malonylglucoside) dan rutin sebagai antioksidan. Senyawa ini menunjukkan efek penghambatan yang kuat pada oksidasi LDL (Naderi *et al.*, 2003).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Huda (2015) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun murbei dengan dosis optimal 100 mg/200g BB tikus dapat menurunkan kadar LDL dan dapat menurunkan ketebalan dinding aorta pada tikus yang diberi diet aterogenik. Ekstrak etanol daun murbei juga mampu meningkatkan kadar HDL serta dapat menghambat pembentukan sel busa pada dinding aorta tikus putih (Toyo, 2015).

Pada penelitian ini akan diuji lebih lanjut pengaruh fraksi ekstrak etanol daun murbei terhadap penurunan kadar AST dan kadar ALT dengan menggunakan metode IFCC serta untuk mengetahui efek fraksi ekstrak etanol daun murbei terhadap perlemakan hati dengan menggunakan parameter degenerasi sel berupa perlemakan hati (steatosis), inflamasi, dan *ballooning* dengan melakukan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE).

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan air. Diharapkan dengan fraksinasi ini dapat memisahkan senyawa yang

terkandung dalam ekstrak etanol daun murbei ke dalam kelompok yang nonpolar sampai polar.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah fraksi n-heksana, etil asetat dan air ekstrak etanol daun murbei (*Morus australis* Poir.) dapat menurunkan kadar AST dan kadar ALT dalam serum darah tikus jantan putih galur wistar yang diberi diet lemak tinggi dan PTU?
2. Apakah fraksi ekstrak etanol daun murbei memiliki efek terhadap histologi hati pada hewan uji setelah diberikan perlakuan diet lemak tinggi dan PTU ?
3. Fraksi manakah yang mempunyai aktivitas fungsi hati paling baik?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui dan membuktikan pengaruh fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun murbei (*Morus australis* Poir.) terhadap kadar AST dan ALT serum darah tikus jantan putih galur wistar.
2. Mengetahui efek fraksi ekstrak etanol daun murbei terhadap histologi hati pada hewan uji setelah diberikan perlakuan diet lemak tinggi dan PTU.
3. Mengetahui fraksi yang paling baik dalam aktivitas fungsi hati.

D. Kegunaan penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengungkap lebih lanjut khasiat dari fraksi ekstrak etanol daun murbei sebagai penurun kadar AST dan kadar ALT serta melihat histologi hati. Sehingga dapat digunakan sebagai suatu gagasan baru bagi kemajuan ilmu pengetahuan di Indonesia, terutama dalam pengembangan

dan pemanfaatan tanaman tradisional, serta dapat menjadi suatu masukan untuk berbagai pihak dalam memproduksi produk-produk obat herbal sebagai antihiperkolesterolemia.

E. Keaslian Penelitian

Penelitian fraksi ekstrak etanol daun murbei sebagai penurun kadar AST dan kadar ALT serta terhadap histologi hati tikus putih model hiperkolesterolemia yang diberi diet lemak tinggi dan PTU belum banyak dilakukan, ekstrak etanol daun murbei dapat menghambat kerja dari HMG CoA reduktase (*hydroxyl-methyl-glutaryl-Coenzim A*). Penelitian yang dilakukan oleh Huda (2015) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun murbei dengan dosis optimal 100 mg/200g BB tikus dapat menurunkan kadar LDL dan dapat menurunkan ketebalan dinding aorta pada tikus yang diberi diet aterogenik. Ekstrak etanol daun murbei dengan dosis 400, 600, dan 800 mg/kgBB mampu menurunkan kadar kolesterol total pada tikus jantan galur wistar (Kartikasari, 2015).

Enkhmaa *et al.* (2005) pada penelitiannya menyatakan bahwa flavonoid quecetin 3-(6-Malonylglucoside) yang terkandung dalam daun tanaman murbei (*Morus alba L.*) mampu menghambat perkembangan lesi aterosklerosis melalui peningkatan resistensi LDL terhadap modifikasi oksidatif dan efek protektif aterogeniknya.

Penelitian yang dilakukan oleh Sung *et al.* (2014) juga melaporkan bahwa isolasi dari akar tanaman murbei (*Morus alba L.*) yang diberi diet tinggi kolesterol mampu menurunkan kadar lipid.

Penelitian tentang aktivitas ekstrak etanol daun murbei sebagai penurun kadar AST dan kadar ALT serta terhadap histologi hati tikus putih model hiperkolesterolemia yang diberi diet lemak tinggi belum pernah dilakukan

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Murbei

1. Nama Lain

Tanaman murbei dikenal dengan beberapa nama daerah seperti Besaran (Indonesia), Murbai, besaran (Jawa), Gertu (Sulawesi), Kerta atau kitau (Sumatera), *Sangye* (China), Ambatuah (Tanah Karo), *Moerbei* (Belanda), *Gelsa* (Italia), *Murles* (Perancis), *may mon* dan *dau tam* (Vietnam), *morus leaf*, *morus bark*, *morus fruit*, *mulberry leaf*, *mulberry bark*, *mulberry twigs*, *white mulberry*, *mulberry* (Inggris) (Chen *et al.*, 2006).

2. Klasifikasi Daun Murbei

Spesies murbei unggul diklasifikasikan berdasarkan struktur bunga, buah, daun dan cabang (Pudjiono, 2003).

2.1. *Morus alba* L. Daun murbei ini berwarna coklat tua dan kecil memiliki nama sinonim *morus australis poir*. Kandungan airnya cenderung lebih kecil dibanding jenis murbei yang berdaun lebar. Jenis ini memiliki ujung ranting muda berwarna sedikit merah, tangkai yang berumur satu tahun berwarna coklat, batang lurus, percabangan muka keluar atau tumbuh pada bagian tengah dari batang utama. Panjang buku 7-8 cm.

2.2. *Morus multicaulis* P. Daun *Morus multicaulis* berwarna hijau muda dan lebar, ukuran daun besar, kaku dan permukaan daun kasar serta bergelombang. Memiliki ujung ranting dan tangkai daun muda tidak berwarna merah. Batang yang berumur satu tahun berwarna coklat keputihan, bentuk

percabangan lurus atau melengkung, cabang keluar dari bagian tengah, dan buku sedikit panjang.

2.3. *Morus cathayana* A. Daun murbei ini memiliki keunggulan-keunggulan yaitu koefisien cerna lebih tinggi serta memberikan kualitas kokon terbaik pada ulat sutra, palatabilitas dan pencernaan daun murbei ini juga baik dibandingkan jenis lainnya, serta memiliki kandungan vitamin A yang lebih tinggi (Ekastuti, 1996). Jenis ini memiliki ujung ranting berwarna muda sedikit merah, tangkai daun muda sedikit berwarna merah. Batang berumur satu tahun berwarna sedikit coklat, bentuk pertumbuhan batang lurus serta daun berwarna hijau tua dan lebar.

3. Sistematika Tanaman



Gambar 1. Tanaman murbei (Ryu, 1998)

Tanaman murbei (*Morus australis* Poir.) mempunyai sistematika tanaman sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta
 Sub Divisio : Angiospermae
 Kingdom : Plantae
 Classis : Dicotyledoneae

Ordo	: Urticalis
Famili	: Moraceae
Genus	: Morus
Species	: <i>Morus australis</i> Poir.

4. Habitat dan Morfologi Tanaman

Tanaman murbei berasal dari Cina, tumbuh baik pada ketinggian lebih dari 100 m diatas permukaan laut dan memerlukan cukup sinar matahari. Tanaman ini mempunyai banyak jenis. Tinggi pohon sekitar 9 m dan mempunyai percabangan banyak. Daun tunggal, letak berseling dan bertangkai dengan panjang 1-4 cm. Helai daun bulat telur panjang helaian daun 2,5 cm sampai 20 cm, lebar 1,5 cm sampai 12 cm, berjari atau berbentuk jantung, ujung runcing, tepi bergerigi dan warnanya hijau tua sampai hijau kecoklatan. Bunga majemuk bentuk tandan, keluar dari ketiak daun, warnanya putih. Ukuran dan bentuk buah tergantung kepada jenis murbei. Warna buah ada yang putih, putih kemerahan, ungu atau ungu tua sampai hitam (Depkes, 1989).

5. Khasiat Tanaman

Murbei dikenal juga sebagai tumbuhan sutera karena dapat dijadikan tempat hidup ulat sutera. Selain bermanfaat dalam memproduksi sutera, secara empiris masyarakat telah memanfaatkan murbei sebagai obat tradisional untuk flu, malaria, hipertensi, asma, obat hipertensi, palpitasi, diabetes, insomnia, vertigo, anemia, memperlancar gas dari saluran pencernaan (karmunatif), memperlancar pengeluaran keringat (diaforetik), memperlancar pengeluaran air kencing (diuretik), menurunkan panas badan (antipiretik), meningkatkan kemampuan

melihat, menurunkan tekanan darah, hepatitis dan diabetes melitus. Manfaat tersebut terdapat dalam berbagai bagian tanaman dari mulai daun, ranting, buah dan kulit (Hariana, 2008). Daun murbei memiliki efek farmakologi dapat menurunkan tekanan darah anjing percobaan bila diberikan secara intravena dengan tekanan 1 ml/kg berat badan.

Cara pemakaian murbei, untuk diminum pilih salah satu bagian yang disukai. Bila kulit akar 10-15 g; ranting 15-3 g; sedang daun dosisnya 5-10 g sekali rebus, dapat juga menggunakan dosis maksimal 20-40 g. Untuk buah dosisnya 10-15 g, direbus, lalu diminum. Untuk pemakaian luar, daun segar dilumatkan atau digiling halus, kemudian diberikan ke tempat yang sakit seperti luka, digigit ular, dan serangga, atau untuk merangsang pertumbuhan lambung (Dalimartha, 1999).

6. Kandungan Tanaman

Daun Murbei mengandung ekdisteron, inkosteron, lupeol, β -sitosterol, ritin, morakatein, isoquersetin, skopoletin, skopolin, α -heksenal, β -heksenal, cis- β -heksenol, cis- β -heksenol, cis-t-heksanol, benzaldehid, eugenol, linanol, benzil alkohol, butilamin, trigonelin, cholin, adenin, asam amino, vitamin A, vitamin B, vitamin C, karoten, asam fumarat, asam folat, asam formiltetrahidrofoli, mioinositol, logam seng dan tembaga.

Pada bagian ranting terdapat tanin dan vitamin A serta pada bagian buah terdapat cyanidin, isoquercetin, sakarida, asam linoleat, asam stearat, serta karoten.

Kulit batang mengandung: Triterpenoids; α - β -amyrin, sitosterol, sitosterol- α -glucoside. Flavonoids; morusin, cyclomorusin, kuwanone A,B,C, oxydihydromorusin. Coumarins; umbelliferone, dan scopoletin.

Kulit akar mengandung derivat flavone mulberrin, mulberrochromene, cyclomulberrin, cyclomulberrochromene, morussin, dan mulberrofuran A. Juga mengandung betuculin acid, scopoletin, α -amyrin, β -amyrin, undecaprenol, dan dodecaprenol (Kim *et al.*, 2000).

Daun dan kulit batang murbei (*Morus australis* Poir.) mengandung flavonoida, polifenol dan alkaloida. Di samping buahnya mengandung saponin (Depkes, 2000).

6.1. Flavonoid. Flavonoid adalah kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam terutama pada jaringan tumbuhan tinggi. Senyawa ini merupakan produk metabolik sekunder yang terjadi dari sel dan terakumulasi dari tubuh tumbuhan sebagai zat racun (Robinson, 1991). Senyawa flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆. Susunan tersebut dapat menghasilkan tiga struktur yaitu: 1,3-diarilpropana (flavonoid), 1,2-diarilpropana (isoflavonoid), 2,2-diarilpropana (neoflavonoid).

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil yang tak tersulih, atau suatu gula, sehingga flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol dan air (Markham, 1982). Flavonoid umumnya terikat pada gula sebagai glukosida dan aglikon flavonoid. Diantara flavonoid hanya flavalon yang menghasilkan warna merah ceri kuat (Harborne,

1984). Beberapa flavonoid mempunyai sifat antiinflamasi, antihepatotoksik, antitumor, antibakteri, serta antioksidan (Sarker, 2009).

6.2. Alkaloid. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa yang tersebar luas hampir pada semua jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan membentuk cincin heterosiklik (Harborne, 1984).

Suatu cara mengklasifikasi alkaloid adalah didasarkan pada jenis cincin heterosiklik nitrogen yang terikat. Menurut klasifikasi ini alkaloid dibedakan menjadi : pirolidin, piperidin, isoquinolin, quinolindan indol (Tobing, 1989).

Kebasaan alkaloid menyebabkan senyawa ini mudah terdekomposisi terutama oleh panas, sinar dan oksigen membentuk N-oksida. Jaringan yang masih mengandung lemak, maka dilakukan ekstraksi pendahuluan petroleum eter (Sastrohamidjojo, 1996). Pada temperatur kamar, kebanyakan alkaloid berupa padatan dan beberapa diantaranya berupa cairan. Alkaloid yang padat pada umumnya berwarna putih atau tidak berwarna, tetapi ada pula yang berwarna kuning misalnya Bebererina. Alkaloid padat sukar larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik yang umumnya seperti kloroform, eter, alkohol dan benzene (Sumardjo, 2006).

6.3. Polifenol. Senyawa fenolik atau polifenol merupakan sekelompok metabolit sekunder yang mempunyai cincin aromatik terikat satu atau lebih. Substituen gugus hidroksil (OH) yang berasal dari jalur metabolisme asam sikimat dan fenil propanoid. Termasuk dalam kelompok senyawa fenolik / polifenol adalah fenol sederhana, asam fenolat, kumarin, tannin, dan flavonoid. Dalam

tanaman, senyawa-senyawa ini biasanya berada dalam bentuk glikosida atau esternya (Rahman, 2007).

Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya mereka sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida, dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Peranan beberapa golongan senyawa fenol sudah diketahui (misalnya lignin sebagai bahan pembangun dinding sel, antosianin sebagai pigmen bunga).

Senyawa fenol dan asam fenolat lebih baik dibahas bersama karena biasanya, pada analisa tumbuhan, mereka diidentifikasi bersama. Hidrolisis jaringan tumbuhan dalam suasana asam membebaskan sejumlah asam fenolat yang larut dalam eter, beberapa diantaranya umum penyebarannya. Senyawa asam fenolat ada hubungannya dengan lignin terikat sebagai ester atau terdapat pada daun di dalam fraksi yang tidak larut dalam etanol atau mungkin terdapat di dalam fraksinasi yang larut dalam etanol, yaitu sebagai glikosida sederhana (Harborne, 1987).

B. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apa pun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Didik & Mulyani, 2004).

Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman yang adalah isi sel yang secara

spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan, atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan berupa zat kimia murni. Simplisia mineral atau pelikan adalah simplisia yang berupa bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes RI, 1985).

2. Pengeringan

Pengeringan adalah penghilangan cairan dari bahan dengan menggunakan panas dan dilakukan dengan pemindahan dari permukaan ke dalam fase uap yang belum jenuh. Proses pengeringan simplisia, terutama bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Cara pengeringan untuk bahan berupa daun yang akan diambil minyak atsirinya maka cara pengeringan yang dianjurkan adalah menghindari penguapan terlalu cepat dan proses oksidasi udara (Didik & Mulyani, 2004). Pengeringan secara alamiah dapat dilakukan dengan cara simplisia dikeringkan dibawah sinar matahari langsung atau diangin-anginkan, sedangkan pengeringan menggunakan lemari pengering dimana dipanasi secara elektris dengan pengatur suhu otomatis. Pengeringan menggunakan lemari pengering dapat menghasilkan kualitas simplisia sesuai dengan keinginan (Sudewo, 2004).

3. Pembuatan serbuk

Serbuk adalah campuran homogen dua atau lebih obat yang diserbukkan. Serbuk diracik dengan cara mencampur bahan obat satu per satu, sedikit demi sedikit dan dimulai dari bahan obat yang jumlahnya sedikit, kemudian diayak, biasanya menggunakan pengayak nomor 60 dan dicampur lagi. Jika serbuk mengandung lemak, harus diayak dengan pengayak nomor 40 mesh. Jika jumlah obat kurang dari 50 mg atau jumlah tersebut tidak dapat ditimbang, harus dilakukan pengenceran menggunakan zat tambahan yang cocok. Obat serbuk kasar, terutama simplisia nabati, digerus lebih dahulu sampai derajat halus sesuai yang tertera pada pengayak dan derajat halus serbuk, setelah itu dikeringkan pada suhu tidak lebih dari 50°C (Anonim, 1979).

Serbuk yang terlalu halus akan mempersulit penyaringan, karena butir-butir halus tadi membentuk suspensi yang sulit dipisahkan dengan hasil penyarian. Dengan demikian hasil penyarian tidak murni lagi tetapi tercampur dengan partikel-partikel halus tadi. Dinding sel merupakan saringan, sehingga zat yang tidak larut masih tetap berada di dalam sel. Dengan penyerbukan yang terlalu halus menyebabkan banyak dinding sel yang pecah, sehingga zat yang tidak diinginkan pun ikut ke dalam hasil penyarian (Depkes, 1986).

C. Penyarian

1. Pengertian penyarian

Pada waktu pembuatan serbuk simplisia, beberapa sel ada yang dindingnya pecah dan ada sel yang dindingnya masih utuh. Sel yang dindingnya

sudah pecah, proses pembebasan sari tidak ada yang menghalangi. Proses penyarian pada sel yang dindingnya masih utuh, zat aktif yang terlarut pada cairan penyari untuk keluar dari sel, harus melewati dinding sel. Peristiwa osmosa dan difusi berperan pada proses penyarian tersebut. Peristiwa difusi jauh lebih berpengaruh, bila dibanding dengan peristiwa osmosa (Anonim, 1986).

Tanpa memperhatikan keadaan sel tersebut, maka larutan harus melintasi lapisan batas antara butir serbuk dengan cairan penyari. Kecepatan melintasi lapisan batas dipengaruhi oleh faktor yang mempengaruhi pemindahan massa yaitu derajat perbedaan konsentrasi, tebal lapisan batas, serta koefisien difusi (Anonim, 1986).

Jika penyarian dilakukan dengan mencelupkan sejumlah serbuk simplisia pada cairan penyari maka penyarian tersebut tak akan dapat sempurna karena suatu keseimbangan akan terjadi antara larutan zat aktif yang terdapat dalam sel dengan larutan zat aktif yang terdapat di luar butir sel (Anonim, 1986).

Penyarian dipengaruhi oleh derajat kehalusan serbuk dan perbedaan konsentrasi yang terdapat mulai dari pusat butir serbuk simplisia sampai ke permukaannya, maupun pada perbedaan konsentrasi yang terdapat lapisan batas, sehingga suatu titik akan dicapai oleh zat-zat yang tersari jika ada daya dorong cukup untuk melanjutkan pemindahan massa. Makin besar perbedaan konsentrasi, makin besar daya dorong tersebut hingga makin cepat penyarian. Makin kasar serbuk simplisia makin panjang jarak, sehingga konsentrasi zat aktif yang terlarut dan tertinggal dalam sel makin banyak. Dengan demikian serbuk simplisia harus dibuat sehalus mungkin dan dijaga jangan terlalu banyak sel yang pecah. Cairan

penyari harus dapat mencapai seluruh serbuk dan secara terus menerus mendesak larutan yang memiliki konsentrasi yang lebih tinggi keluar (Anonim, 1986).

2. Cairan penyari

Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria berikut, yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, dan diperbolehkan oleh Farmakope Indonesia. Untuk penyarian ini Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari adalah air, etanol, atau etanol-air. Pada penelitian ini menggunakan cairan penyari etanol, n-heksan dan etil asetat.

2.1. Etanol. Pelarut etanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin (Ansel, 1989). Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lain dari etanol mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Umumnya yang digunakan cairan pengekstraksi adalah campuran bahan pelarut yang berlainan, khususnya campuran etanol-air. Etanol 96% sangat efektif dalam menyari bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengekstraksi. Selain itu ekstrak etanol sulit ditumbuhi kapang, kamir, kuman dan tidak beracun (Voigt, 1995).

2.2. n-heksana. Pelarut n-heksana adalah hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih, terdiri atas suatu campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna, transparan, bersifat mudah terbakar, baunya khas, tidak dapat larut dengan air, dapat larut dengan alkohol, benzena, kloroform, dan eter (Tiwari *et*

al., 2011). Pelarut n-heksana merupakan pelarut nonpolar dan efektif sebagai pelarut lemak dan minyak yang terdapat di dalam sampel (Hazimah *et al.*, 2013). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut n-heksana yaitu senyawa yang bersifat non polar seperti terpenoid, triterpenoid, steroid dan fenil propanoid (Tiwari *et al.*, 2011)

2.3. Etil asetat. Etil asetat merupakan cairan bening, volatil, relatif tidak toksik dan tidak higroskopis. Kelarutan etil asetat dalam air adalah 8,3 g/100 mL pada suhu 20°C. Pelarut etil asetat adalah pelarut yang bersifat semi polar, mudah terbakar dan mudah menguap sehingga penyimpanannya di dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas (DepKes, 1979). Etil asetat dapat larut dengan baik dalam etanol, aseton, dietil eter dan benzena. Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna dan memiliki aroma khas. Senyawa yang terlarut dalam etil asetat adalah flavonoid aglikon (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4. Air. Air adalah pelarut universal, penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan karena zat ikut tersari sehingga zat lain yang diperlukan mengganggu proses penyarian. Senyawa yang terlarut dalam air seperti saponin dan tanin (Tiwari *et al.*, 2011).

3. Cara penyarian

Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai syarat Farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengestraksi (Voigt, 1994). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya

perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang dipekatkan didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (DepKes, 1986).

Metode penyarian yang digunakan tergantung pada wujud dan kandungan dari bahan yang akan disari. Pemilihan sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus mampu melarutkan dalam jumlah maksimal dari suatu zat aktif (Ansel, 1989). Metode ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu cara dingin dan cara panas. Cara dingin terdiri dari maserasi, perkolasi, sedangkan cara panas terdiri dari refluks, soxhletasi, digesti, dekoktasi, dan infudasi. Pemilihan dari beberapa metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari (Harborne, 1987).

Pada penelitian ini menggunakan metode maserasi sebagai cara penyarian. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari dan tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah di usahakan. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (DepKes, 1986).

Maserasi adalah proses pengekstraksian simplisia dengan menggunakan pelarut beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar) dan merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Masukkan satu

bagian serbuk kering simplisia kedalam maserator, tambahkan 10 bagian pelarut. Rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara sentrifugasi,dekantasi atau filtrasi. Ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya satu kali dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak setengah kali jumlah volume pelarut pada penyarian pertama. Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan dengan penguap vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental (DepKes, 2013).

Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Ansel, 1989).

4. Ekstrak

4.1. Pengertian. Ekstrak adalah sediaan sari pekat tumbuhan atau hewan yang diperoleh dengan cara mengestraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani, menggunakan pelarut yang cocok dengan menguapkan atau hampir semua pelarutnya dan sisa endapan atau serbuk diatur untuk ditetapkan standarnya. Sediaan ekstrak dibuat agar zat berkhasiat dari simplisia mempunyai kadar yang tinggi sehingga memudahkan dalam pengaturan dosis (DepKes, 1995).

4.2. Pembagian menurut (Voigt, 1994). Jika ekstrak tumbuhan (umumnya konsentrasi etanolnya berbeda-beda) bahan pengekstraksinya sebagian atau keseluruhan diuapkan, maka akan diperoleh ekstrak yang akan dikelompokkan atas dasar sifatnya menjadi:

4.2.1 Ekstrak encer (*extractum tenue*). Sediaan ini memiliki konsistensi semacam madu dan dapat dituang. Akan tetapi pada saat ini sudah tidak terpakai lagi.

4.2.2 Ekstrak kental (*extractum spissum*). Sediaan ini dilihat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai 30%. Sediaan obat ini pada umumnya sudah tidak sesuai lagi dengan persyaratan masa kini. Tingginya kandungan air menyebabkan ketidakstabilan sediaan obat (cemaran bakteri) dan bahan aktifnya (penguraian secara kimia). Ekstrak kental sulit ditakar (penimbangan dan sebagainya).

4.2.3 Ekstrak kering (*extractum siccum*). Sediaan ini memiliki konsistensi kering dan mudah digosokkan. Melalui penguapan cairan pengekstraksi dan pengeringan sisanya akan terbentuk suatu produk, yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%.

4.2.4 Ekstrak cair (*extractum fluidum*). Dalam hal ini diartikan sebagai ekstrak cair yang dibuat sedemikian rupa sehingga 1 bagian simplisia sesuai dengan 2 bagian (kadang-kadang juga 1 bagian) ekstrak cair. Ekstrak kering dan ekstrak cair merupakan komponen sediaan obat yang hanya tercantum dalam Farmakope.

5. Fraksinasi

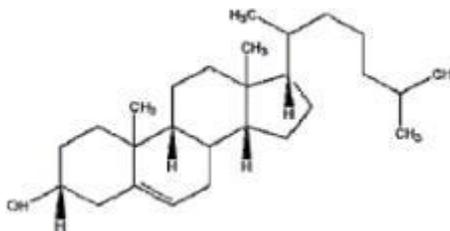
Fraksinasi merupakan pemisahan golongan utama kandungan yang satu dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan kepolaran suatu senyawa. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan terlarut dalam pelarut polar, senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan terlarut dalam pelarut non polar pula. Mula-mula

ekstrak kental difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Masing-masing pelarut secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, mula-mula disari dengan pelarut non polar kemudian disari pelarut kurang polar dan yang terakhir disari dengan pelarut polar (Harborne, 1987). n-heksana merupakan pelarut non polar yang akan melarutkan minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, steroid, triterpenoid dan karotenoid (DepKes, 1987), etil asetat merupakan pelarut semipolar yang akan melarutkan alkaloid, senyawa fenolik meliputi fenol-fenol, asam fenolat, fenilpropanolamin, kumarin dan derivatnya, flavonoid, xanton dan stilben, komponen minyak atsiri tertentu dan asam lemak (DepKes, 1987). Air merupakan pelarut polar yang melarutkan garam alkaloid, glikosida, tannin, saponin dan gula (DepKes, 1987).

D. Kolesterol

1. Pengertian kolesterol

Kolesterol merupakan salah satu komponen lemak dan merupakan salah satu zat gizi yang sangat dibutuhkan oleh tubuh di samping zat gizi lain seperti karbohidrat, protein, vitamin, dan mineral. Kolesterol dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis yang pada akhirnya akan berdampak pada penyakit jantung koroner (Rahayu, 2005). Kolesterol memiliki struktur kimia dimana sangat larut dalam lemak, tetapi hanya sedikit larut dalam air, dan dapat membentuk ester kolesterol (Guyton, 2012).



Gambar 2. Struktur kolesterol

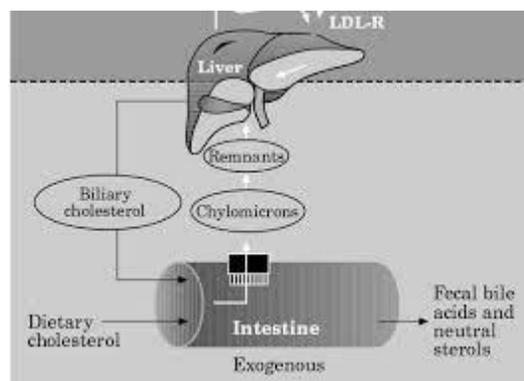
Kolesterol dalam saluran cerna akan diabsorpsi setiap hari, yang dinamakan kolesterol eksogen, dan dalam jumlah besar disebut dengan kolesterol endogen yang dibentuk dalam sel tubuh (Guyton, 2012).

2. Jalur Pengangkutan Kolesterol

Pengangkutan kolesterol terdapat beberapa jalur dari metabolisme lipoprotein. Secara garis besar ada tiga jalur metabolisme lipoprotein yang terjadi di dalam tubuh, yaitu jalur metabolisme eksogen, jalur metabolisme endogen, dan jalur *reverse cholesterol transport* atau jalur balik kolesterol. Kedua jalur pertama lipoprotein berhubungan dengan metabolisme kolesterol-LDL (low density lipoprotein) dan trigliserida, sedangkan jalur terakhir berhubungan dengan metabolisme kolesterol-HDL (high density lipoprotein).

2.1. Jalur metabolisme eksogen. Trigliserida dan kolesterol yang berasal dari makanan dalam usus dikemas dan dicerna. Selain itu, dalam usus juga terdapat kolesterol yang berasal dari hati yang disekresikan bersama dengan empedu ke usus halus yang disebut dengan lemak eksogen. Trigliserida dan kolesterol dalam usus halus akan diserap ke dalam enterosit mukosa usus halus. Kolesterol diserap sebagai kolesterol dan trigliserida diserap dalam bentuk asam lemak bebas. Asam lemak bebas setelah melewati mukosa usus halus akan diubah menjadi trigliserida. Kedua jenis molekul ini bersamaan dengan fosfolipid dan

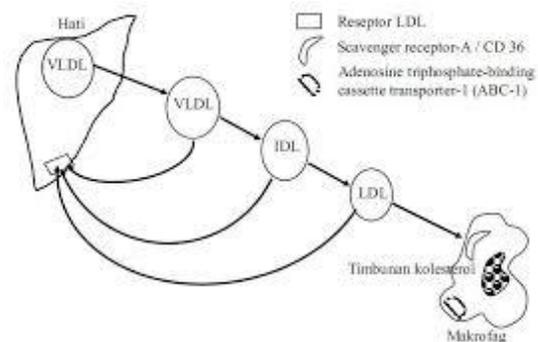
apolipoprotein akan membentuk lipoprotein yang disebut kilomikron. Kilomikron akan masuk ke saluran limfe dan menuju aliran darah. Dalam aliran darah kilomikron dihidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase menjadi asam lemak bebas. Asam lemak bebas akan menembus jaringan lemak atau sel otot untuk diubah menjadi trigliserida kembali menjadi cadangan energi, sedangkan kilomikron *remnat* akan dimetabolisme dalam hati sehingga menghasilkan kolesterol bebas. Kolesterol dikeluarkan melalui saluran empedu tanpa dimetabolisme menjadi asam empedu kemudian organ hati akan mendistribusikan kolesterol ke jaringan tubuh lainnya melalui jalur endogen. Pada akhirnya kilomikron yang tersisa, dibuang dari aliran darah oleh hati. Kolesterol juga dapat diproduksi oleh hati dengan bantuan enzim yang disebut HMG koenzim-A reduktase, kemudian dikirimkan ke dalam aliran darah (Anonim, 1997). Skema jalur eksogen kolesterol dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Jalur eksogen kolesterol

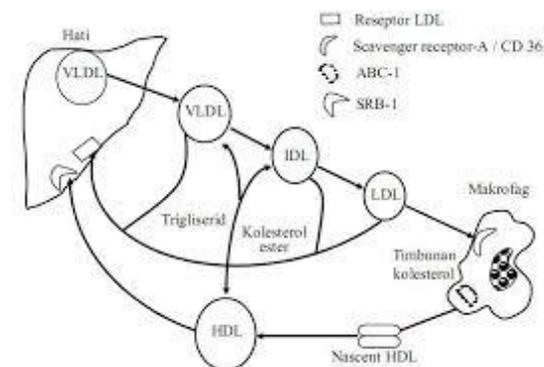
2.2. Jalur metabolisme endogen. Hati memiliki kemampuan mensintesis kolesterol dan trigliserida. Pembentukan trigliserida dalam hati akan meningkat apabila makanan sehari-hari mengandung karbohidrat yang berlebihan. Hati mengubah karbohidrat menjadi asam lemak, kemudian membentuk

trigliserida. Kedua produk ini disekresikan ke dalam sirkulasi darah dalam bentuk lipoprotein *very low density lipoprotein* (VLDL). Dalam sirkulasi, trigliserida di VLDL akan dihidrolisis oleh enzim *lipoprotein lipase* (LPL) sehingga VLDL berubah menjadi *intermediate density lipoprotein* (IDL). IDL sebagian kembali ke hati dan sebagian lainnya akan dihidrolisis kembali oleh LPL sehingga berubah menjadi *low density lipoprotein* (LDL). LDL adalah lipoprotein yang paling banyak mengandung kolesterol total dalam plasma normal manusia mengandung partikel LDL yang bertugas menghantarkan kolesterol ke dalam tubuh.. Sebagian LDL akan dibawa ke hati dan jaringan steroidogenik lainnya seperti kelenjar adrenal, testis, dan ovarium yang memiliki reseptor untuk kolesterol-LDL. Sebagian lainnya akan dioksidasi dan ditangkap oleh reseptor *scavenger-A* (SR-A) di makrofag dan akan menjadi sel busa. Jika konsentrasi kolesterol-LDL dalam plasma banyak, maka makin banyak yang akan mengalami oksidasi dan ditangkap oleh sel makrofag (Kwiterovich, 2000). Kolesterol yang tidak diperlukan akan dilepaskan ke dalam darah, dimana akan berikatan dengan *High Dencity Lipoprotein* (HDL) yang bertugas membuang kelebihan kolesterol dari dalam tubuh. Sehingga muncul istilah LDL-kolesterol disebut lemak jahat dan HDL-kolesterol disebut lemak baik (Anonim, 1997). Skema jalur eksogen kolesterol dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Jalur endogen kolesterol

2.3. Jalur balik kolesterol. Jalur ini berkaitan dengan metabolisme kolesterol-HDL. HDL dilepaskan sebagai partikel kecil yang miskin kolesterol dan mengandung apolipoprotein (apo) A, C, dan E. HDL ini disebut HDL nascent. HDL ini berasal dari usus halus dan hati. HDL nascent akan mendekati makrofag untuk mengambil kolesterol yang tersimpan di makrofag dan kemudian berubah menjadi HDL dewasa. Kolesterol yang telah diambil HDL akan diesterifikasikan oleh enzim *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT) menjadi kolesterol ester. Kolesterol ester ini kemudian di transport dalam dua jalur. Pertama, jalur ke hati dan ditangkap oleh reseptor kolesterol-HDL. Jalur kedua, kolesterol ester dalam HDL akan dipertukarkan dengan trigliserida Dari VLDL dan IDL dengan bantuan *3 cholesterol ester transfer protein* (CETP). Dengan demikian, fungsi HDL sebagai pembersih kolesterol dari makrofag mempunyai dua jalur, yaitu langsung ke hati atau tidak langsung melalui VLDL dan IDL yang akan kembali ke hati (Kwiterovich, 2000).



Gambar 5. Jalur balik kolesterol

3. Kegunaan Kolesterol

Kolesterol terdapat pada bahan-bahan makanan yang berasal dari organ hewani, seperti: ginjal, kulit, hati, otak, jeroan, limfa, dan lain-lain. Kolesterol mempunyai tiga fungsi dalam tubuh. Pertama kolesterol merupakan komponen dari semua dinding sel, yang juga mengandung lesitin dan zat lain. Selain itu kolesterol dalam hati digunakan sebagai bahan pembentuk asam empedu. Asam ini dikeluarkan dengan empedu ke dalam usus kecil dan bertugas menyiapkan zat lemak hingga mudah diserap oleh dinding usus (Tjay & Rahardja, 1993). Kolesterol juga sangat berguna untuk tubuh, tetapi jika dikonsumsi berlebihan akan merugikan untuk tubuh (Dalimartha, 2000).

Kolesterol terdapat dalam membran sel dan pada membran organel-organel interna semua sel. Untuk membran yang akan dibentuk, harus tersedia zat yang tidak larut dalam air dan pada umumnya, satu-satunya zat dalam tubuh yang tidak larut dalam air adalah lipid dan beberapa protein. Jadi, integrasi fisika sel seluruh tubuh terutama didasarkan pada fosfolipid, trigliserida, kolesterol, dan protein tertentu yang tidak larut. Beberapa fosfolipid sedikit larut dalam air serta

larut dalam lipid, yang memberi sifat penting membantu menurunkan tegangan permukaan antara membran dan cairan sekitarnya (Guyton, 2012).

Bukti lain yang menunjukkan fosfolipid dan kolesterol terutama berkaitan dengan pembentukan unsur-unsur struktural sel adalah kecepatan pertukaran zat tersebut yang lambat. Misalnya, fosfolipid yang dibentuk dalam otak mencit tetap berada dalam otak beberapa bulan atau mungkin betahun-tahun (Guyton, 2012).

4. Mekanisme Kolesterol

Kolesterol merupakan unsur penting dalam membran sel. Banyak kolesterol terdapat pada asam-asam empedu, steroid-steroid dan korteks suprarenalis, estrogen dan androgen. Kolesterol berasal dari tubuh yang terus-menerus mengalami sintesis, perombakan dan pendauran ulang: kemungkinan besar kolesterol dari makanan hampir tidak ikut serta dalam reaksi metabolik (Widmann, 1995).

Kolesterol diserap dari usus sehingga menjadi satu dengan kilomikron yang dibentuk dalam mukosa. Kilomikron melepaskan trigliserida dalam jaringan adiposa, sisa kilomikron akan membawa kolesterol ke hati (Ganong, 1983).

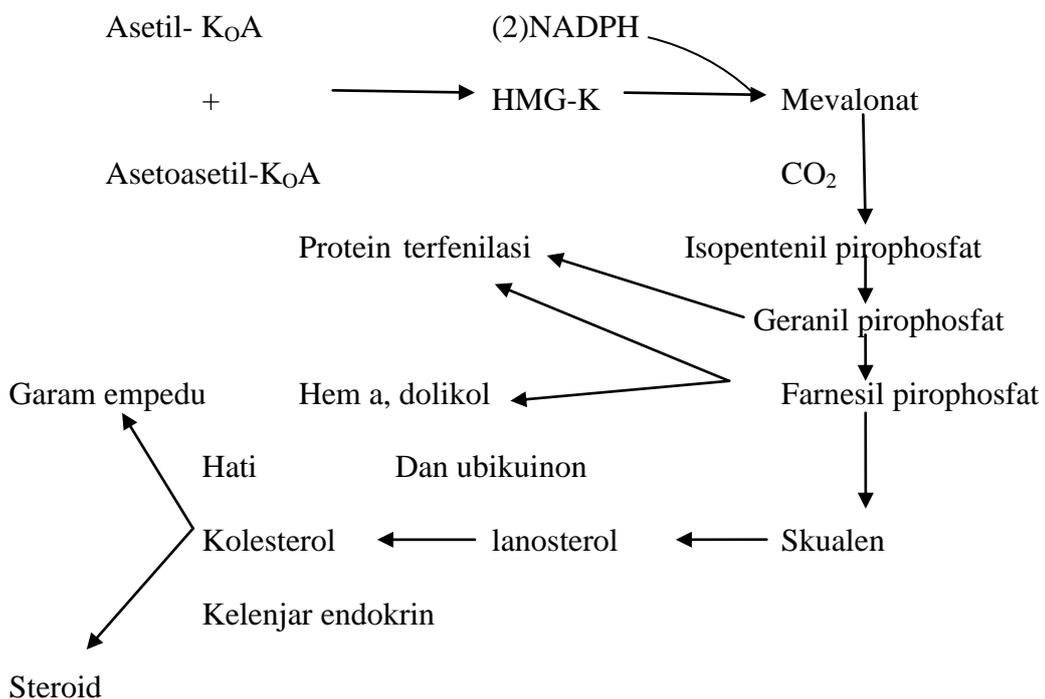
Hati dalam keadaan normal akan melepaskan kolesterol ke darah sesuai kebutuhan. Tetapi bila diet mengandung terlampau banyak kolesterol atau lemak hewani jenuh, maka kolesterol darah akan meningkat. Setelah diserap tubuh, sebagian lemak dan minyak dalam bahan pangan digunakan sebagai sumber energi (Tjay & Rahardja, 2002).

Kolesterol merupakan komponen penting untuk pembentukan membran sel dan disintesis di seluruh jaringan, tetapi 90% disintesis dalam sel mukosa usus

dan hepatosit. Dalam hati kolesterol sebagai prekursor dari asam empedu dan gonad serta kelenjar, anak ginjal sebagai prekursor dari hormon steroid (Suyatna, 2009). Sintesis kolesterol tersebut berlangsung dalam sitoplasma dan sitokrom, yang di bentuk dari astil-koenzim A.

Proses ini terdiri dari lima tahap utama, yaitu: Asetil-koenzim A diubah menjadi 3-hidroksi-3-metilglutaril-Koenzim A. Kemudian HMG-CoA diubah menjadi mevalonat. Mevalonat diubah menjadi molekul dengan struktur dasar isoprene, isopentil pirofosfat (IPP), bersamaan dengan pelepasan CO₂. IPP diubah menjadi skualen. Skualen diubah menjadi kolesterol.

Proses tersebut dapat dilihat pada gambar berikut ini :



Gambar 6. Biosintesis kolesterol

E. Golongan Obat Hiperlipidemia

1. Statin

1.1. Statin. Statin adalah obat yang paling efektif dan paling baik toleransinya untuk mengobati dislipidemia. Obat golongan statin merupakan inhibitor kompetitif 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) reduktase, yang mengkatalisis biosintesis kolesterol pada tahap awal pembatas-laju. Dosis statin yang lebih poten (misalnya *atorvastatin* dan *simvastatin*) obat golongan ini dalam dosis lebih tinggi juga dapat menurunkan kadar trigliserida yang disebabkan oleh naiknya kadar VLDL. Beberapa statin juga ditujukan untuk meningkatkan kadar HDL-C, walaupun signifikan klinis efek ini terhadap HDL-C masih harus dibuktikan (Goodman & Gilman, 2008).

1.2. Mekanisme kerja. Statin memberikan efek utama sebagai penurun kadar LDL melalui gugus mirip asam mevalonat yang menghambat HMG-CoA reduktase secara kompetitif melalui penghambatan produk (Alberts *et al.*, 1980). Statin mempengaruhi kadar kolesterol darah dengan menghambat pembentukan kolesterol di dalam hati, yang menyebabkan peningkatan ekspresi gen reseptor LDL. Sebagai respons terhadap berkurangnya kandungan kolesterol bebas dalam hepatosit, SREBP yang terikat pada membran dipecah oleh suatu protease dan dipindahkan ke nukleus (Goodman & Gilman, 2008). Faktor transkripsi kemudian diikat oleh unsur gen reseptor LDL yang responsif terhadap sterol, meningkatkan transkripsi dan akhirnya meningkatkan sintesis reseptor LDL dan degradasi reseptor LDL juga berkurang (Brown *et al.*, 1998). Jumlah reseptor LDL yang makin banyak pada permukaan hepatosit menyebabkan makin

banyaknya LDL yang hilang dari darah, sehingga kadar LDL-C menurun (Goodman & Gilman, 2008). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa statin juga dapat menurunkan kadar LDL dengan cara meningkatkan penghilangan prekursor LDL dan dengan menurunkan produksi VLDL di hati (Salinas *et al.*, 1998).

1.3. Efek statin terhadap kadar LDL-C. Statin menurunkan LDL-C sebesar 20% - 50%, bergantung pada dosis dan statin yang digunakan. Pada uji-uji besar yang setara tampaknya adalah 5 mg simvastatin = ~15 mg lovastatin = ~15 mg pravastatin = ~40 mg fluvastatin (Pedersen and Tobert 1996). Analisis hubungan dosis-respons untuk semua statin menunjukkan bahwa khasiat penurunan LDL-C adalah linier log; LDL-C diturunkan sebesar ~6% (dari kadar awal) dengan setiap kali menggandakan dosis. Efek maksimum terhadap kadar kolesterol plasma dicapai dalam 7-10 hari. Persentase penurunan yang tercapai dengan berbagai dosis adalah sama, tanpa memperhatikan nilai mutlak kadar awal LDL-C. Statin efektif pada hampir semua pasien dengan kadar LDL-C yang tinggi. Pengecualiannya adalah pasien hiperkolesterolemia familial homozigot, yang responsnya sangat rendah terhadap dosis lazim statin, karena kedua alel gen reseptor LDL mengode reseptor LDL yang disfungsi (Goodman & Gilman, 2008).

1.4. Efek statin terhadap kadar HDL-C. Simvastatin pada dosis tinggi dapat meningkatkan kadar HDL-C dan apoA-I lebih dari atorvastatin pada dosis yang sama (Goodman & Gilman, 2008).

2. Asam Nikotinat (Niasin)

2.1. Asam nikotinat (niasin, asam piridin-3-karboksilat) termasuk obat-obat awal yang digunakan untuk mengobati dislipidemia dan paling serbaguna karena cenderung mempengaruhi hampir semua parameter lipid (Knopp 1998). Niasin merupakan vitamin B-kompleks larut air yang berfungsi sebagai vitamin hanya setelah diubah menjadi nikotinamida adenin di nukleotida. Nikotinamida oral dapat digunakan sebagai sumber niasin untuk memperoleh fungsi vitaminnya, tetapi nikotinamida tidak memengaruhi kadar lipid. Efek hipolipidemia niasin membutuhkan dosis yang lebih besar daripada yang dibutuhkan untuk efek vitaminnya. Niasin adalah senyawa paling baik yang tersedia untuk meningkatkan HDL-C sebesar 30%-45% dan menurunkan kadar LDL-C sebesar 20%-30% (Knopp *et al.*, 1985).

2.2. Mekanisme kerja. Niasin memiliki beragam efek terhadap metabolisme lipoprotein. Dalam jaringan adiposa, niasin menghambat lipolisis trigliserida oleh lipase sensitif-hormon, yang mengurangi transpor asam lemak bebas ke hati dan menurunkan sintesis trigliserida di hati (Grundy *et al.*, 1981). Di dalam hati niasin mengurangi sintesis trigliserida dengan menghambat sintesis dan esterifikasi asam lemak, efek yang meningkatkan degradasi apoB (Jin *et al.*, 1999).

2.3. Efek terhadap kadar lipoprotein plasma. Niasin dalam dosis 2-6 g per hari menurunkan trgliserida sebesar 35%-50%, dan efek maksimumnya terjadi dalam 4-7 hari (Figge *et al.*, 1988). Penurunan kadar LDL-C sebanyak 25% dapat tercapai dengan dosis 4,5-6 g per hari, tetapi diperlukan 3-6 minggu untuk dapat

mengamati penurunan LDL maksimum. Terapi kombinasi dengan resin dapat menurunkan kadar LDL-C sebanyak 40-60% (Malloy *et al.*, 1987).

3. Turunan Asam Fibrat

3.1. Asam Fibrat. Thorp dan Waring (1962) melaporkan bahwa etil klorofenoksi isobutirat menurunkan kadar lipid pada tikus. Pengobatan dengan klofibrat tidak menurunkan insiden kardiovaskuler yang fatal, walaupun infark nonfatal berkurang. Mortalitas total secara signifikan lebih tinggi pada kelompok klofibrat. Peningkatan mortalitas ini terjadi karena berbagai sebab, termasuk kolelitiasis. Klofibrat hampir tidak digunakan lagi setelah publikasi uji WHO 1978, walaupun obat ini dan dua fibrat lainnya, *gemfibrozil* dan *fenofibrat*, masih banyak tersedia (Goodman & Gilman, 2008).

3.2. Mekanisme kerja. Penelitian pada manusia dilakukan secara ekstensif, mekanisme penurunan kadar lipoprotein atau peningkatan kadar HDL oleh fibrat masih belum jelas (Grundy & Vega, 1987). Penelitian baru menunjukkan bahwa banyak efek senyawa ini terhadap lipid darah diperantarai oleh interaksinya dengan reseptor peroksisoma yang diaktivasi proliferasi (*peroxysome proliferator-activated receptors*, PPAR) (Kersten *et al.*, 2000), yang mengatur transkripsi gen. Kadar LDL meningkat pada banyak pasien yang diobati dengan gemfibrozil, terutama pasien hipertrigliseridemia. Namun, pada pasien lain ternyata kadar LDL tidak berubah atau menurun, terutama pada pasien yang kadar trigliseridanya tidak meningkat, atau yang mengonsumsi senyawa generasi kedua, seperti fenofibrat, bezafibrat, atau siprofibrat. Turunnya kadar LDL sebagian terjadi karena perubahan kandungan kolesterol dan trigliserida dalam

LDL yang diperantarai oleh aktivitas protein pentransfer ester kolesteril. Perubahan ini dapat mengubah afinitas LDL terhadap reseptor LDL (Kersten *et al.*, 1984). Selain itu, terdapat bukti bahwa peningkatan produksi SREBP-1 di hati yang diperantarai-PPAR α meningkatkan ekspresi reseptor LDL di hati (Kersten *et al.*, 2000).

Gembfibrozil menurunkan konsentrasi plasma partikel LDL yang kecil, padat dan lebih mudah teroksidasi (Goodman & Gilman, 2008). Sebagian besar senyawa asam fibrat memiliki potensi efek antiaterotrombosis, termasuk penghambatan koagulasi dan peningkatan fibrinolisis. Efek-efek yang bermanfaat ini juga dapat mengubah konsekuensi pada kardiovaskuler melalui mekanisme yang tak terkait dengan aktivitas hipolipidemia apapun (Wats dan Dimmitt, 1999).

4. Sekuestran Asam-Empedu

4.1. Sekuestran Asam-Empedu. Dua sekuestran asam-empedu atau resin yang telah diketahui (*kolestiramin* dan *kolestipol*) merupakan obat-obat hipolipidemia yang pertama kali, dan mungkin paling aman, karena tidak diabsorpsi dari usus (Groot *et al.*, 1983). Resin ini adalah satu-satunya obat hipokolesterolemia yang saat ini disarankan untuk anak berusia 11-20 tahun, walaupun kini bermunculan data yang menunjukkan keamanan terapi statin untuk anak pada rentang usia tersebut (Stein *et al.*, 1999). Karena statin sangat efektif sebagai monoterapi, resin paling sering dipakai sebagai obat pilihan kedua jika terapi statin tidak berhasil menurunkan kadar LDL-C secara memadai (Goodman & Gilman, 2008).

4.2. Mekanisme kerja. Sekuestran asam-empedu sangat bermuatan positif dan mengikat asam-asam empedu bermuatan negatif. Karena ukurannya yang besar, resin tidak diabsorpsi, dan asam-empedu yang terikat diekskresi dalam feses. Karena biasanya lebih dari 95% asam empedu direabsorpsi, gangguan proses ini mendepleksi akumulasi asam empedu dalam hati dan sintesis asam-empedu di hati meningkat. Akibatnya, kandungan kolesterol di hati berkurang, menstimulasi produksi reseptor LDL, efek yang mirip dengan statin (Bilheimer *et al.*, 1983). Bertambah banyaknya reseptor LDL-C di hati meningkatkan bersihan LDL dan menurunkan kadar LDL-C, tetapi efek ini sebagian diimbangi dengan meningkatnya sintesis kolesterol yang disebabkan oleh bertambahnya jumlah reseptor (*upregulation*) HMG-CoA reduktase (Shepherd *et al.*, 1980).

4.3. Efek terhadap kadar lipoprotein. Penurunan LDL-C bergantung pada dosis. Dosis kolestiramin 8-12 g atau kolestipol 10-15 g menyebabkan penurunan LDL-C sebesar 12%-18% (Hunninghake *et al.*, 1981). Dosis maksimum dapat menurunkan LDL-C sebesar 25%, tetapi menyebabkan efek samping gastrointestinal yang sangat mengganggu bagi sebagian besar pasien. Satu sampai dua minggu sudah cukup untuk mencapai penurunan LDL-C maksimum dengan dosis resin tertentu (Goodman & Gilman, 2008).

F. Hati

1. Definisi Hati

Hepar atau hati merupakan organ intestinal terbesar yang terletak di sebelah kanan atas rongga abdomen. Pada kondisi hidup hati berwarna merah tua karena

kaya akan persediaan darah (Sloane, 2004). Hati memiliki berat antara 1,2-1,8 kg atau kurang lebih 25% berat badan orang dewasa. Hati terbagi menjadi lobus kiri dan lobus kanan yang dipisahkan oleh *ligamentum falciforme*, diinferior oleh fissura yang dinamakan dengan *ligamentum teres* dan diposterior oleh fissura yang dinamakan *ligamentum venosum* (Hadi, 2002). Lobus kanan hepar enam kali lebih besar dari lobus kiri yang mempunyai 3 bagian utama yaitu : lobus kanan atas, lobus *caudatus* dan lobus *quadrates*.

Hati disuplai dengan dua pembuluh darah yaitu: vena porta hepatica berasal dari lambung dan usus yang kaya akan nutrisi seperti asam amino, monosakarida, vitamin yang larut dalam air dan mineral dan arteri hepatica, cabang dari arteri kiliaka yang kaya akan oksigen. Pembuluh darah akan masuk ke hati melalui porta hepatis kemudian dalam porta tersebut vena porta dan arteri hepatica akan bercabang menjadi dua yakni ke lobus kiri dan ke lobus kanan (Hadi, 2002). Darah dari cabang-cabang arteri hepatica dan vena porta mengalir dari perifer lobulus ke dalam ruang kapiler yang melebar disebut sinusoid. Sinusoid ini terdapat diantara barisan sel-sel hepar ke vena sentral. Vena sentral dari semua lobulus hati menyatu untuk membentuk vena hepatica (Sherwood, 2001).

2. Fungsi Hati

Hati mempunyai fungsi yang sangat beraneka ragam. Sirkulasi vena porta dari suplai asinus memegang peranan penting dalam fisiologi hati, terutama dalam hal metabolisme karbohidrat, protein dan asam lemak. Telah dibuktikan bahwa pada zona-zona hepatosit yang memperoleh oksigenasi lebih baik mempunyai

kemampuan glukoneogenesis dan sintesis glutathione yang lebih baik dibandingkan dengan zona lain (Amirudin, 2006).

Hati juga melakukan fungsi sintesis berbagai protein plasma, mencakup protein-protein yang penting untuk pembekuan darah serta untuk mengangkut hormone tiroid, steroid dan kolesterol dalam darah dan juga dapat melakukan ekskresi kolesterol dan bilirubin, yang merupakan produk penguraian yang berasal dari pemecahan sel darah merah yang sudah usang.

G. Enzim *Aminotransferase* (AST/ ALT)

Hati merupakan organ penting yang bertanggung jawab dalam menjaga keseimbangan kolesterol plasma dan organ untuk detoksifikasi sekaligus sebagai organ target yang sensitif terhadap senyawa toksik (Lu, 1995). Penyakit hati menimbulkan kelainan pada kolesterol darah karena hati merupakan tempat degradasi insulin, sehingga bila hati rusak, jumlah insulin akan meningkat sehingga akan menurunkan kolesterol darah.

Enzim Transaminase atau disebut juga enzim aminotransferase merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi transaminasi. Terdapat dua jenis enzim serum transaminase yaitu serum glutamat oksaloasetat transaminase dan serum glutamate piruvat transaminase (ALT). Pemeriksaan AST adalah indikator yang lebih sensitif terhadap kerusakan hati dibanding ALT. Hal ini dikarenakan enzim GOT sumber utamanya di hati, sedangkan enzim GPT banyak terdapat pada jaringan terutama jantung, otot rangka, ginjal dan otak (Cahyono, 2009).

Alanine aminotransferase (ALT) atau yang biasa disebut dengan serum glutamate piruvat transaminase (ALT) banyak dihasilkan oleh hati, mengkatalisasi transfer dari gugus amino antara L-alanine dan glutamate. ALT juga ditemukan di jantung, otot, dan ginjal dalam jumlah kecil. Ketika hati mengalami cedera atau inflamasi, kadar ALT dalam darah biasanya meningkat. Oleh karena itu tes ini biasanya digunakan untuk melihat tanda-tanda penyakit hati (Pratt, 2008).

Enzim *aspartat aminotransferase* (AST) disebut juga serum glutamat oksaloasetat transaminase (AST) merupakan enzim mitokondria yang berfungsi mengkatalisis pemindahan bolak-balik gugus amino dari asam aspartat ke asam α -oksalasetat membentuk asam glutamat dan oksaloasetat (Price & Wilson, 1995). AST adalah enzim yang mengkatalisis pemindahan bolak-balik gugus amino dan gugus keto antara asam-asam alpha-amino dan asam-asam alpha-keto. Enzim yang dihasilkan oleh sel hepar dalam kondisi normal memiliki konsentrasi rendah. Fungsi dari enzim-enzim hepar tersebut hanya sedikit yang diketahui. AST banyak ditemukan di jaringan-jaringan tubuh termasuk jantung, otot, ginjal, otak, dan paru. Enzim ini juga ditemukan di hati. Ketika jaringan tubuh atau organ seperti jantung atau hati mengalami kerusakan, AST dilepaskan ke dalam darah. Jumlah AST di dalam darah berkaitan langsung dengan kejadian kerusakan jaringan (Pratt, 2008).

Nilai normal kadar AST < 35 U/L dan ALT < 41 U/L. (Daniel S.P, 2010). Enzim AST dan ALT mencerminkan keutuhan atau intergrasi sel-sel hati. Adanya peningkatan enzim hati tersebut dapat mencerminkan tingkat kerusakan sel-sel hati. Makin tinggi peningkatan kadar enzim AST dan ALT, semakin tinggi tingkat

kerusakan sel-sel hati (Cahyono, 2009). Kerusakan membran sel menyebabkan enzim Glutamat Oksaloasetat Transaminase (GOT) keluar dari sitoplasma sel yang rusak, dan jumlahnya meningkat di dalam darah. Sehingga dapat dijadikan indikator kerusakan hati (Ronald *et al.*, 2004 diacu dalam Ismail *et al.*, 2014).

H. Perlemakan Hati

I. Definisi

Hati adalah organ sentral dalam metabolisme tubuh. Hati melakukan berbagai proses metabolik terhadap konstituen-konstituen darah yang mengalir kepadanya. Sebagai produk sisa atau zat gizi (Sacher, 2005). Perlemakan hati (*fatty liver*) merupakan pengumpulan lemak (*lipid*) yang berlebihan di dalam sel-sel hati. Kejadian perlemakan hati di Jakarta tahun 2001 sebesar 30,6%. Faktor risiko penting yang ditimbulkan adalah obesitas, diabetes mellitus dan dislipidemia. Perlemakan hati dapat terjadi pada semua usia, termasuk anak-anak, tetapi paling banyak ditemukan pada usia 40 sampai 50 tahun dan cenderung terjadi pada perempuan (Mulyono, 2009).

Fatty liver adalah kondisi yang ditandai dengan adanya akumulasi lemak (5% dari berat badan) didalam sel hepatosit hati, yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara produksi dan sekresi trigliserida oleh hati (David *et al.*, 2005). Faktor risiko timbulnya *fatty liver* diantaranya adalah obesitas, konsumsi alkohol yang berlebihan, dan kelainan genetik, tetapi penyebab paling banyak *fatty liver* adalah konsumsi alkohol yang berlebihan (46-50%) yang disebut dengan *alcoholic fatty liver disease* (AFLD) dan obesitas (76-90%) yang disebut dengan *non alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) (Stefano *et al.*, 2004).

Penyakit perlemakan hati non-alkoholik merupakan salah satu penyakit yang sering ditemukan dalam bidang hepatologi. NAFLD merupakan kondisi klinis yang sering ditemukan dalam bidang hepatologi sebagai salah satu bentuk penyakit hati kronik. Dengan semakin meningkatnya prevalensi obesitas, diabetes melitus tipe 2, dan hiperlipidemia, NAFLD menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang tidak boleh diabaikan (Dabhi *et al.*, 2008).

Terjadinya penumpukan lemak hepatosit yang dapat terjadi karena keadaan seperti dislipidemia, yaitu istilah yang digunakan untuk menggambarkan profil lipid dengan adanya komponen yang naik (seperti kolesterol, trigliserida atau kolesterol LDL) dan ada pula komponen yang turun (misalnya kolesterol HDL) (Schreuder *et al.*, 2008; Hasan, 2009). Profil lipid adalah tes darah yang mengukur kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL, dan kolesterol LDL. Abnormalitas salah satu profil lipid dalam plasma disebut dislipidemia. Dislipidemia dapat diklasifikasikan berdasarkan dislipidemia primer yaitu yang tidak jelas penyebabnya dan dislipidemia sekunder yaitu yang mempunyai penyakit dasar seperti *sindrom nefrotik*, diabetes mellitus dan hipotiroidisme. Selain itu, dapat juga diklasifikasikan berdasarkan profil lipid yang menonjol seperti hiperkolesterolemia, hipertrigliseridemia, isolated low HDL-cholesterol dan dislipidemia campuran (Hasan, 2009).

2. Epidemiologi

Penelitian-penelitian yang banyak menggunakan organ hati terbukti bahwa abnormalitas tes fungsi hati akibat perlemakan-hati maupun steatohepatitis non alkoholik merupakan kelainan yang sangat sering ditemukan masyarakat. Angka

yang dilaporkan sangat bervariasi karena metodologi survei yang berbeda-beda (Hasan, 2006). Prevalensi perlemakan hati non alkoholik berkisar antara 15-20% pada populasi dewasa di Amerika Serikat, Jepang, dan Italia. Diperkirakan 20-30% diantaranya berada dalam fase yang lebih besar (steatohepatitis non alkoholik).

Sebuah penelitian terhadap populasi dengan obesitas di negara maju mendapatkan 60% perlemakan hati sederhana, 20-25% steatohepatitis non alkoholik dan 2-3% sirosis. Dalam laporan yang sama disebutkan pula bahwa 70% pasien diabetes mellitus tipe 2 mengalami perlemakan hati, sedangkan pada pasien dyslipidemia angkanya sekitar 605 (Hasan, 2006).

Penelitian di Indonesia mengenai perlemakan hati non alkoholik masih belum banyak. Hasan dkk (2006) melaporkan sebuah studi populasi dengan sampel cukup besar mendapatkan prevalensi perlemakan hati non alkoholik sebesar 30,6%. Faktor resiko penting yang dilaporkan adalah obesitas, diabetes mellitus (DM) dan hipertriglisideremia.

Steatohepatitis non alkoholik dapat terjadi pada semua usia, termasuk anak-anak, walaupun penyakit ini dikatakan paling banyak pada tahun keempat dan kelima kehidupan. Jenis kelamin yang dominan berbeda-beda dalam berbagai penelitian, namun umumnya banyak terjadi pada perempuan. Obesitas, DM tipe 2 dan dislipidemia juga merupakan kondisi yang sering berkaitan dengan perlemakan hati non alkoholik. Walaupun demikian, steatohepatitis non alkoholik dapat terjadi pada individu yang tidak gemuk tanpa faktor resiko seperti di atas (Hasan, 2006).

I. Metode Pengukuran Fungsi dan Histologi Hati

Metode pengukuran pada fungsi hati dilakukan dengan cara tikus diambil melalui sinus orbitalis. *Canthus medialis* mata ditusuk dengan menggunakan tabung mikrohematokrit sampai dengan vena *retro-orbitalis*. Sampel darah yang dikeluarkan ditampung dalam tabung rekasi. Darah disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Plasma yang dihasilkan digunakan sebagai sampel untuk pemeriksaan kadar AST dan ALT dengan menggunakan fotometer (Krisnansari , 2014).

Penentuan aktivitas AST darah Tikus Putih (Metode IFCC, 1980). Dalam tabung reaksi dicampurkan 20.100 µl sampel serum darah dan 1.000 µl reagen, dicampur dengan baik, kemudian diinkubasi dalam penangas air pada suhu kamar selama tepat 1 menit dan serapan dibaca pada panjang gelombang 365 nm menggunakan spektronik 20D Milton Roy Company. Pembacaan diulangi sampai 3 kali tepat setiap satu menit. Selisih serapan setiap pengukuran dirata-rata, kemudian aktivitas AST dihitung.

Penentuan aktivitas ALT darah Tikus Putih (Metode IFCC, 1980). Ke dalam tabung reaksi dicampurkan 20.100 µl sampel serum darah dan 1.000 µl reagen, dicampur dengan baik, kemudian diinkubasi dalam penangas air pada suhu kamar selama tepat 1 menit dan serapan dibaca pada panjang gelombang 365 nm menggunakan spektronik 20D Milton Roy Company. Pembacaan diulangi sampai 3 kali tepat setiap satu menit. Selisih serapan setiap pengukuran dirata-rata, kemudian aktivitas ALT dihitung.

Metode *reaksi* kinetik enzimatis yang digunakan sesuai dengan IFCC yang terdiri dari 2 macam yaitu metode IFCC dengan penambahan reagen *pyridoxal phosphate* yang biasa disebut metode “IFCC with PP” atau “*Substrat strat*”, dan metode IFCC tanpa penambahan reagen *pyridoxal phosphate* yang biasa disebut metode “IFCC *without* PP” atau “*Sample start*”

Metode pengukuran pada organ hati dengan cara tikus didislokasi pada bagian leher dan dilakukan pembedahan. Sebelum dilakukan histologi, organ hati dicuci dengan *xayline* dan dimasukkan dalam larutan formalin 10%, kemudian organ hati dibuat sayatan dengan metode paraffin dan dilakukan pewarnaan hematoxilin eosin. Sayatan histologi organ hati diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran lensa objektif 10 dan 100x (Nurliana dkk 2014). Jaringan hepar tikus dibuat preparat dengan metode pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE). Perubahan yang diamati berdasarkan steatosis (perlemakan hati), inflamasi (peradangan hati), nekrosis (Wulandari, 2012).

J. Binatang Percobaan

1. Sistematika Binatang Percobaan

Sistematika tikus putih galur wistar menurut Sharp dkk (1998) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Subfilum : Vertebrata
Classis : Mammalia

Subclassis	: Placentalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Species	: <i>Rattus norvegicus</i>

2. Karakteristik tikus

Tikus putih merupakan hewan yang paling banyak digunakan dalam penelitian terutama dalam percobaan toksisitas. Hal tersebut disebabkan antara tikus putih dan manusia mempunyai fisiologi dan anatomi yang hampir sama, sedangkan kebanyakan proses biokimia dan biofisik juga sama berdasarkan fungsi fisiologiknya (Koeman, 1987). Bahkan kemiripannya tidak hanya terbatas pada struktur genomnya saja, tetapi sampai tingkat DNA sequense.

Umumnya dikenal tiga galur tikus putih yaitu galur Sprague-Dawley, galur Wistar dan galur Long-Evans. Galur Sprague-Dawley yang umum digunakan untuk penelitian mempunyai ciri berwarna putih albino, berkepala kecil dan ekornya lebih panjang dari badannya (Malole *et al.*, 1989).

Pada penelitian biasanya digunakan tikus berumur 2-3 bulan dengan berat badan 100-150 gram (Priyambodo, 2003). Tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu dari kebanyakan binatang yang dipelajari dalam ilmu pengetahuan (Myers, 2004).

Tikus putih relatif resisten terhadap infeksi dan sangat cerdas. Tikus putih tidak begitu bersifat fotofobik seperti halnya mencit, dan kecenderungan untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Tikus putih adalah tikus

laboratorium lebih cepat menjadi dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, mudah ditangani, lebih mudah berkembang biak, dan terkadang tikus dapat menjadi agresif jika diperlakukan kasar. Ada satu sifat lain yang membedakan tikus putih dengan hewan percobaan lain, yaitu tikus putih tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esofagus yang bermuara di lambung (Smith & Mangkoewidjojo, 1988).

Ada berbagai galur tikus putih yaitu Long-Evans, Sprague-Dawley, dan Wistar. Tikus putih galur wistar mempunyai ciri-ciri: warna tubuh putih, mata bewarna merah (albino), ukuran kepala yang kecil, dan ekor lebih panjang dari badannya; sedangkan galur Long-Evans ditandai dengan warna hitam dibagian kepala dan tubuh bagian depan (Malole & Pramono, 1989).

3. Jenis kelamin

Tikus jenis kelamin jantan kecepatan metabolisme obat lebih cepat dibanding tikus betina, pada tikus betina secara berkala dalam tubuhnya mengalami perubahan kondisi seperti masa kehamilan, menyusui, dan menstruasi (Sugiyanto, 1995).

4. Pengambilan darah hewan percobaan

Pengambilan darah dengan volume yang sedikit dapat dilakukan dengan memotong ujung ekor, namun cara ini tidak baik untuk pengambilan berulang. Cara lain adalah dengan mengambilnya dari vena orbitalis. Cara dekapitasi sering dipakai pada tikus. Pengambilan darah melalui vena saphena atau vena jugularis di leher tidak lazim dipakai (Smith & Mangkoewidjojo, 1988). Pengambilan darah dengan volume yang cukup banyak dilakukan melalui *Plexus Retoorbitalis* pada

mata. *Plexus Retroorbitalis* dilakukan dengan cara mikrohematokrit yang digoreskan pada medial cantus mata di bawah bola mata ke arah *foramen opticus*. Mikrohematokrit diputar sampai melukai *plexus*, jika diputar 5 kali maka akan dikembalikan 5 kali (Permatasari, 2012).

5. Cara pemberian obat dan bahan perlakuan

Pemberian secara peroral yaitu pemberian obat dengan jarum suntik dengan ujung tumpul (pemberian secara oral) memasukkan secara langsung ke dalam lubang melalui asefagus yang ujungnya tumpul dan berlubang ke samping, tetapi pemakaian dengan cara ini harus hati-hati agar dinding esofagus tidak tembus (Mangkoewidjojo, 1994).

K. Landasan Teori

Kolesterol merupakan zat alamiah dengan sifat-sifat fisik bersifat stereo seperti hormon kelamin dan anak ginjal, glikosida jantung dan vitamin D. Kolesterol dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis yang pada akhirnya akan berdampak pada penyakit jantung koroner (Rahayu, 2005). Hiperkolesterolemia merupakan hiperkolesterol familial atau dapat disebabkan karena konsumsi kolesterol tinggi. Hiperkolesterol terutama fraksi LDL merupakan faktor terpenting terbentuknya LDL (Murwani, 2006). Kadar kolesterol HDL yang tinggi sangat bermanfaat dalam menurunkan risiko aterosklerosis, karena HDL berfungsi mengangkut kolesterol dari jaringan perifer menuju ke hati hingga mencegah terjadinya pengapuran atau dengan kata lain kolesterol HDL memiliki efek antiaterogenik yang mengangkut kolesterol bebas

dari pembuluh darah dan jaringan lain menuju ke hati. Kemudian organ hati mengekskresikannya melalui empedu. Peningkatan kadar HDL sebesar 1 poin dapat menurunkan resiko penderita PJK sebesar 2-3% (Gani, 2013). Salah satu tanaman obat yang biasa digunakan secara empiris dan juga sudah mulai banyak penelitiannya secara ilmiah adalah daun murbei (*Morus australis* Poir.). Penelitian yang dilakukan oleh Valaachi *et al.* (2013) menyatakan bahwa suplementasi gabungan ekstrak buah dan daun murbei dengan dosis 500 mg/kg BB tikus mempunyai efek yang menguntungkan pada metabolisme lipid, termasuk kolesterol dan akumulasi diet lemak tinggi pada tikus yang diinduksi obesitas. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Huda (2015) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun murbei dengan dosis optimal 100 mg/200g BB tikus dapat menurunkan kadar LDL dan dapat menurunkan ketebalan dinding aorta pada tikus yang diberi diet aterogenik. Ekstrak etanol daun murbei juga mampu meningkatkan kadar HDL serta dapat menghambat pembentukan sel busa pada dinding aorta tikus putih (Toyo, 2015).

Murbei memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Iqbal *et al.*, 2012) dan nefroprotektif (Nematbakhsh *et al.*, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Katsube *et al.* (2006) juga melaporkan bahwa kandungan flavonoid dari ekstrak air buah murbei juga mampu menurunkan serum trigliserida dan kolesterol. Kandungan dari daun murbei diantaranya yaitu *quercetin3-(6-malonylglucoside)* dan rutin sebagai antioksidan. Senyawa ini menunjukkan efek penghambatan yang kuat pada oksidasi LDL (Naderi *et al.*, 2003).

Penyakit hati menimbulkan kelainan pada kolesterol darah karena hati merupakan tempat degradasi insulin, sehingga bila hati rusak, jumlah insulin akan meningkat sehingga akan menurunkan kolesterol darah. Selain itu, hati juga merupakan tempat sintesis kolesterol, metabolisme lemak, pembentukan asam empedu, pengaktifan hormon tiroid serta metabolisme hormon steroid, dan protein sehingga penyakit hati dapat mempengaruhi kadar kolesterol darah. Pada kondisi hiperkolesterolemia organ hati akan terganggu fungsi metaboliknya sehingga jika hiperkolesterolemia terjadi terus menerus dalam jangka waktu yang panjang akan memicu timbulnya perlemakan hati yang dapat menimbulkan penyakit hati.

Fatty liver adalah kondisi yang ditandai dengan adanya akumulasi lemak (5% dari berat badan) didalam sel hepatosit hati, yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara produksi dan sekresi trigliserida oleh hati (David *et al.*, 2005). Faktor risiko timbulnya *fatty liver* diantaranya adalah obesitas, konsumsi alkohol yang berlebihan, dan kelainan genetik, tetapi penyebab paling banyak *fatty liver* adalah konsumsi alkohol yang berlebihan (46-50%) yang disebut dengan *alcoholic fatty liver disease* (AFLD) dan obesitas (76-90%) yang disebut dengan *non alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) (Stefano *et al.*, 2004).

Pada penelitian ini menggunakan hewan uji yaitu tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu dari kebanyakan binatang yang dipelajari dalam ilmu pengetahuan (Myers, 2004). Faktor lain yang mempengaruhi metode uji pada penelitian ini adalah pemberian diet tinggi lemak dan PTU. Diet tinggi lemak merupakan komposisi dari beberapa pakan yang mampu menimbulkan efek hiperlipidemia, sedangkan PTU (Propil tiourasil) adalah

senyawa yang dapat dengan cepat menimbulkan efek antidislipidemia yang permanen dalam waktu 22 hari (Wirajaya *et al.*, 2014).

Daun murbei dapat dimanfaatkan dengan cara diekstraksi terlebih dahulu. Ekstraksi adalah proses penarikan zat yang dipilih sehingga zat yang diinginkan akan larut. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode maserasi. Cairan penyari yang digunakan dalam proses ekstraksi yaitu etanol 70 % dimana pelarut ini bersifat universal, relatif aman, dan dapat menyari zat-zat yang bersifat polar hingga non polar seperti senyawa-senyawa alkaloida, flavonoid, saponin, tanin dan minyak atsiri.

Untuk memisahkan senyawa dengan sifat kepolaran yang berbeda pada ekstrak etanol daun murbei agar dapat tersari dengan pelarut yang sesuai maka menggunakan metode fraksinasi. Fraksinasi dilakukan dengan metode partisi cair-cair yang diawali dengan pelarut yang non polar ke pelarut polar yaitu n-heksana, etil asetat dan air. Berdasarkan hal di atas maka penelitian dilakukan dengan pembuktian secara alamiah pengaruh daun murbei terhadap penurunan kadar AST dan kadar ALT serta melihat berdasarkan steatosis (perlemakan hati), inflamasi (peradangan hati), nekrosis dan skor kerusakan hepaosis pada organ hati tikus putih galur wistar.

Metode yang dilakukan untuk pengukuran fungsi hati yaitu dengan metode IFCC dimana 20.100 μ l sampel serum darah dan 1.000 μ l reagen, dicampur kemudian diinkubasi dalam penangas air pada suhu kamar selama 1 menit dan serapan dibaca pada panjang gelombang 365 nm menggunakan spektrometri 20D *Milton Roy Company*. Selanjutnya dilakukan pengecatan preparat dengan metode

pewarnaan Hemaktosilin-Eosin untuk melihat perubahan gambaran histologi berdasarkan steatosis (perlemakan hati), inflamasi (peradangan hati), nekrosis dan skor kerusakan hepatosis. degenerasi melemap organ hati yang dilihat dengan menggunakan mikroskopis.

L. Hipotesis

1. Diantara fraksi n-heksana, etil asetat dan air hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun murbei (*Morus australis* Poir.) dapat menurunkan kadar AST dan kadar ALT dalam serum darah tikus putih jantan galur wistar yang diberi diet lemak tinggi dan PTU.
2. Diantara fraksi n-heksana, etil asetat dan air hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun murbei dapat memberikan efek terhadap histologi hati secara efektif.
3. Fraksi n-heksana atau fraksi etil asetat yang mempunyai aktivitas fungsi hati paling baik.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah daun murbei yang berasal dari daerah Mbay Kabupaten Nagekeo Nusa Tenggara Timur. Sampel yang digunakan adalah daun murbei yang diambil pada siang hari masih segar, hijau dan bebas hama yang diambil pada bulan Agustus 2016.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah daun murbei. Variabel utama kedua penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi ekstrak daun murbei. Ketiga, AST dan ALT ditetapkan dengan metode IFCC. Keempat, histologi hati berdasarkan steatosis (perlemakan hati), inflamasi (peradangan hati), nekrosis dan skor kerusakan hepatosis. Kelima, diet lemak tinggi dan PTU.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi n-heksana, etilasetat dan air dari ekstrak etanol daun murbei. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar AST dan ALT serum darah tikus putih jantan galur wistar setelah perlakuan dengan fraksi n-heksana, etilasetat dan air ekstrak etanol daun murbei

dengan berbagai konsentrasi yang terbagi dalam kelompok histologi hati tikus putih jantan galur wistar.

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah PTU dan diet lemak tinggi yang terdiri dari pakan kolesterol, asam kolat, minyak babi, terigu, tepung jagung, tepung ikan, tepung kacang hijau, lemak sapi, lemak sapi, Comfeed PAR-S dan air, diberikan selama 28 hari sebelum pengambilan darah.

3. Definisi operasional variabel

Pertama, daun murbei adalah daun dari tanaman murbei atau mullbery, masih segar dan hijau yang diperoleh dari daerah Mbay Kabupaten Nagekeo Nusa Tenggara Timur.

Kedua, ekstrak etanol daun murbei adalah hasil ekstraksi dari daun murbei yang diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*

Ketiga, fraksi ekstrak etanol daun murbei adalah fraksi yang diperoleh dari ekstraksi cair-cair terhadap ekstrak etanol daun murbei menggunakan eluen n-heksana, etil asetat, dan air.

Keempat, kadar fungsi hati adalah kadar AST dan ALT serum darah tikus saat sebelum dan sesudah diberi penginduksi diet lemak tinggi dan PTU.

Kelima, pengukuran lemak abdomen adalah pengukuran yang dilakukan dengan mengambil lemak didaerah abdomen tikus kemudian ditimbang berat lemaknya.

Keenam, histologi hati adalah histologi yang dilakukan dengan mengamati steatosis (perlemakan hati), inflamasi (peradangan hati), nekrosis dan skor kerusakan hepatosis.

Ketujuh, PTU dan diet lemak tinggi yang terdiri dari pakan kolesterol, asam kolat, minyak babi, terigu, tepung jagung, tepung ikan, tepung kacang hijau, lemak sapi, lemak sapi, Confeed PAR-S dan air, diberikan selama 28 hari sebelum pengambilan darah T₁.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat untuk pembuatan ekstrak air daun murbei yaitu kain flannel, bejana bewarna gelap, neraca elektrik, beaker glass, oven, blender, ayakan dan vakum. Alat untuk perlakuan hewan uji adalah timbangan analitik, spuit injeksi, jarum suntik oral, mikrohematokrit, dan alat untuk pengukuran kolesterol yaitu *sentrifugase*, tabung sentrifus, mikropipet, alat-alat gelas, dan fotometer stardust. Alat untuk penetapan susut pengeringan adalah *moisture balance*, sedangkan alat untuk pemeriksaan sediaan mikroskopis organ hati adalah *Microscop Digital*.

2. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun murbei, air suling, etanol 70%, n-heksan, etil asetat dan tikus putih jantan galur wistar umur 2-3 bulan dengan berat badan 100-200 g, air suling digunakan sebagai pelarut, CMC Na 0,5%, Simvastatin, PTU, pakan diet lemak tinggi yang terdiri dari kolesterol, asam kolat, minyak babi, tepung terigu, tepung beras, tepung jagung,

kuning telur puyuh, lemak sapi, Comfeed PAR-S dan air suling sebagai bahan peningkatan kolesterol.

3. Binatang percobaan

Binatang percobaan pada penelitian ini adalah tikus putih jantan dengan umur 2-3 bulan dengan berat 100-150 gram yang didapatkan dari Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Pengelompokan dilakukan dengan membagi tikus 5 ekor tiap kelompoknya. Semua tikus mendapat perlakuan yang sama, ukuran kandang yang sesuai. Setiap kandang dilengkapi dengan serbuk kayu (sekam), penggantian sekam dilakukan setiap hari untuk menjaga kebersihan tikus. Fungsi dari sekam yaitu untuk menyerap urin tikus. Selama penelitian kebutuhan makanan dan minuman harus selalu terkontrol agar mencegah kematian tikus. Semua tikus diadaptasi selama 7 hari agar tidak stres dan agar tikus dapat bertahan hidup selama masa percobaan. Selanjutnya tikus diaklimatisasi dan dipuasakan selama 12 jam dan hanya diberi air minum sebelum perlakuan (Winter *et al.*, 2000 diacu dalam Ikawati *et al.*, 2007). *Ethical clearance* yang disetujui oleh komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Sebelas Maret Surakarta dengan nomor: 892/X/HREC/2016.

D. Prosedur penelitian

1. Determinasi tanaman murbei

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman murbei yang bertujuan untuk mengetahui kebenaran dari tanaman yang digunakan. Determinasi yang dilakukan berkaitan dengan ciri-ciri

morfologi tanaman secara mikroskopis dari tanaman daun murbei yang dibuktikan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Persiapan bahan

Daun murbei yang berasal dari daerah Mbay Kabupaten Nagekeo Nusa Tenggara Timur. Daun yang dipilih adalah daun yang masih segar dan dipetik pada siang hari, diambil pada bulan Juli 2016. Daun yang telah dipetik dicuci dengan air bersih mengalir bertujuan untuk menghilangkan kotoran dan cemaran yang berada pada daun kemudian dikeringkan.

3. Pembuatan serbuk daun murbei

Daun murbei dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C sampai kering. Tujuan pengeringan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam daun murbei, mencegah terjadinya perubahan kimiawi dan reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu, menghindari pertumbuhan jamur dan bakteri, memudahkan dalam proses penyerbukan (Ansel, 1989). Daun digiling menggunakan penggiling yang berada di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta, setelah digiling serbuk daun murbei diayak menggunakan ayakan serbuk kemudian ampasnya dihaluskan kembali menggunakan blender dan diayak. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering yang tertutup rapat, kemudian serbuk yang diperoleh dilakukan dengan metode maserasi.

4. Penetapan susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan simplisia daun murbei dalam penelitian ini menggunakan *moisture balance*. Serbuk dan murbei ditimbang sebanyak 2 gram

serbuk dalam cakram yang sudah ditara. Wadah dimasukkan dalam alat *moisture balance*. Pengoperasian alat telah selesai jika alat tersebut bebunyi, kemudian dicatat hasil susut pengeringan (dalam satuan %) dan dilakukan 3 kali replikasi.

5. Pembuatan ekstrak etanol daun murbei

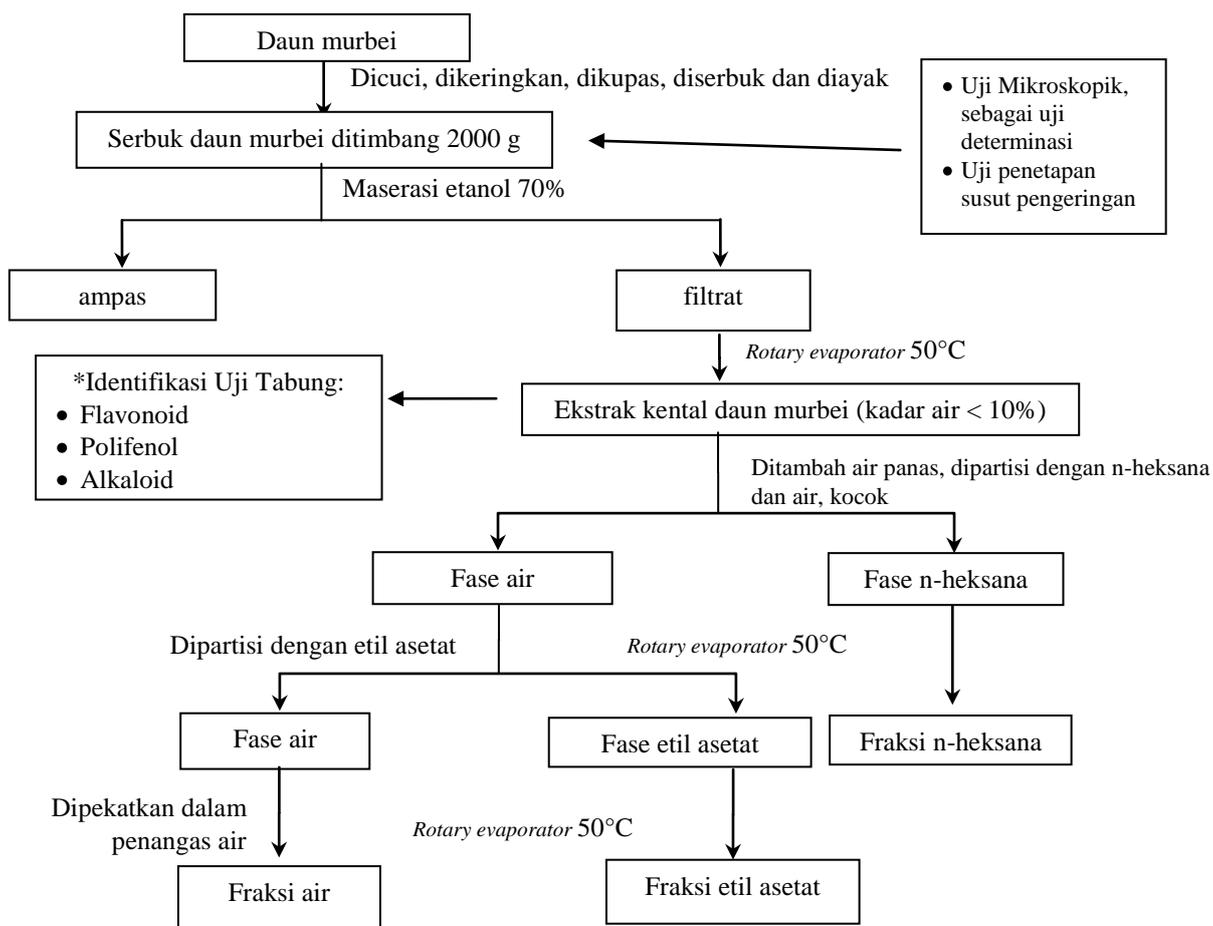
Ekstrak etanolik dibuat dengan cara diambil 2000 gram serbuk daun murbei kemudian dimasukkan dalam wadah berwarna gelap lalu ditambah dengan etanol 70% sebanyak 20000 ml. rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara disaring menggunakan kain flannel, kertas saring, dan corong buchner. Ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya satu kali dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak setengah kali jumlah volume pelarut pada penyarian pertama. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* (suhu dijaga pada 50°C) sampai diperoleh ekstrak kental.

6. Fraksinasi ekstrak etanol daun murbei

Ekstrak etanol daun murbei sebanyak 10 gram yang diperoleh dilarutkan sedikit dengan air panas, kemudian dipartisi dengan air 50 ml dan pelarut n-heksana 50 ml ke dalam corong pisah diulang sebanyak 3 kali. Fraksi n-heksana merupakan filtrat yang terletak diatas dan fraksi air merupakan filtrat yang terletak dibawah. Fraksi n-heksana dipisahkan dari fraksi air ditampung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu penangas 50°C.

Fraksi air sisa dari fraksi n-heksana kemudian difraksinasi kembali dengan pelarut etil asetat 50 ml menggunakan corong pisah proses ini diulang sebanyak 3 kali. Fraksi etil asetat merupakan filtrat yang terletak diatas dan fraksi air terletak

dibawah. Fraksi etil asetat dipisahkan dari fraksi air kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu penangas 50°C. Filtrat sisa fraksinasi dengan etil asetat adalah fraksi air, yang kemudian dikentalkan dengan penangas air sampai kental.



Gambar 7. Skema perlakuan hingga diperoleh ekstrak etanol dan fraksinasi daun murbei.

7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi-fraksi daun murbei

Identifikasi kandungan kimia daun murbei bertujuan untuk menetapkan keberadaan senyawa kimia dalam tanaman daun murbei (Depkes 2000). Identifikasi kandungan senyawa kimia terdiri dari senyawa flavonoid, alkaloid,

dan polifenol. Penentuan fase gerak pada uji KLT ekstrak dan fraksi-fraksi daun murbei disesuaikan dengan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak.

7.1. Identifikasi flavonoid. Sampel ditotolkan pada lempeng silika. Lempeng kemudian dimasukkan ke dalam bejana jenuh berisi fase gerak n-butanol : asam asetat: air (4:1:5) lalu diekspansikan hingga batas, lempeng dikeringkan dan diamati di bawah sinar UV. Deteksi senyawa flavonoid dilakukan dengan pereaksi sitroborat. Setelah dipanaskan selama 5 menit pada suhu 100°C akan terjadi fluoresensi kuning, kehijauan pada UV 366 nm (Harborne, 1987).

7.2. Identifikasi alkaloid. Sampel ditotolkan pada lempeng silika gel 60 F254, dimasukkan ke dalam bejana jenuh berisi fase gerak toluen : etil asetat : dietilamin (7:2:1), diekspansi hingga batas, diangkat dan dikeringkan, kemudian disemprot dengan pereaksi dragendorff. Senyawa alkaloid menggunakan Dragendorff memberikan warna orange atau coklat setelah dipanaskan selama 5-10 menit pada suhu 100°C (Wagner dan Bladt, 1996). Hasil analisis menunjukkan bercak warna orange (Harborne, 1987).

7.3. Identifikasi polifenol. Sampel sebanyak 1 ml ditambah 0,5 ml Fehling A dan 0,5 ml Fehling B dipanaskan, maka terbentuk endapan merah bata (Harborne, 1987).

8. Pembuatan suspensi CMC Na 0,5%

Suspensi CMC 0,5% dibuat dengan cara melarutkan lebih kurang 0,5 g CMC yang telah ditimbang ke dalam air sampai volume 100 ml

9. Pembuatan larutan PTU (Propil tiourasil) 0,01%

Propiltiourasil adalah senyawa yang dapat dengan cepat menimbulkan efek hiperlipidemia yang permanen. Dosis yang diberikan pada penelitian ini yaitu dosis 10 mg/kg BB (Hasimun *et al.*, 2011). Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018, sehingga dosis PTU tikus $10 \text{ mg} \times 0,018 = 0,18 \text{ mg}/200 \text{ gram BB}$. Volume pemberian yang diberikan secara oral kepada tikus yaitu 0,018 ml.

10. Pembuatan suspensi simvastatin

Obat untuk menurunkan kadar kolesterol yang digunakan dalam penelitian ini adalah simvastatin dari golongan statin sebanyak 10 mg. Dengan dosis pada manusia adalah 10 mg/hari. Simvastatin untuk tikus $10 \text{ mg} \times 0,018 = 0,18 \text{ mg}/200 \text{ gram BB}$ tikus konversi ke kg $0,18 \text{ mg}/200 \text{ gram BB tikus} \times 5 = 0,9 \text{ mg/kg BB}$. Jadi, simvastatin yang diberikan pada kelompok tikus adalah 0,9 mg/kg BB dengan cara simvastatin digerus kemudian ditambah dengan CMC digerus homogen ditambah air sedikit demi sedikit kemudian masukkan dalam labu takar sampai volume 100 ml.

11. Penetapan dosis sediaan

11.1. Penetapan dosis ekstrak. Dosis yang telah digunakan oleh Huda dan Toyo (2015) pada penelitian sebelumnya adalah dosis 100 mg/200 g BB tikus. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 100 mg/200 g BB tikus merupakan dosis efektif untuk menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL kemudian dikonversi ke kg. Sehingga pada penelitian ini menggunakan dosis $100 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus} \times 5 = 500 \text{ mg/kg BB}$.

11.2. Penetapan dosis fraksi. Penetapan dosis fraksi yaitu dari persen rendemen fraksi dibagi total persen rendemen fraksi dikalikan dengan dosis efektif ekstrak etanol daun murbei. Setelah dilakukan perhitungan rendemen maka didapatkan fraksi n-heksan dosis 60 mg/kg BB, fraksi etil asetat dosis 40 mg/Kg BB, fraksi air dosis 400 mg/kg BB.

12. Pembuatan pelarut cmc Na. 0,5%

Pembuatan sediaan uji ekstrak dilakukan dengan cara menimbang 0,5 gram CMC Na kemudian ditabur di atas air panas yang ada di cawan sedikit demi sedikit ditunggu 10 menit hingga mengembang. Kemudian ditambah ekstrak/fraksi (sesuai perhitungan) diaduk hingga homogen kemudian ditambah air suling sampai 10 ml aduk sampai homogen.

13. Pembuatan Pakan Diet Lemak Tinggi

Pakan diet lemak tinggi dibuat dengan menambahkan Confeed PAR-S sebesar 200 gram, terigu 100 gram, tepung beras 10 gram, tepung jagung 6,7 gram, tepung ikan 10 gram, tepung kacang hijau 10 gram, lemak sapi 60 gram, kolesterol 80 ml, asam kolat 0.8 gram, minyak babi 40 ml, dan air 51.2 ml. Semua bahan pakan diaduk sampai homogen, sediaan dibuat pelet dan dikeringkan kemudian diberikan kepada tikus *ad libitum* sebanyak 20 gram/hari/tikus. Campuran pakan ini diberikan kepada hewan uji selama 28 hari.

14. Perlakuan hewan uji

Tikus yang digunakan sebanyak 35 ekor dibagi menjadi 7 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus, tikus ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenal, sebelumnya tikus dipuasakan terlebih dahulu

selama 12 jam. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar berumur 2-3 bulan dengan berat badan 100-150 gram. Jenis kelamin yang dipilih adalah tikus jantan sebab hormon pada jantan lebih stabil dibandingkan dengan tikus betina. Perlakuan diberikan secara oral pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut :

- Kelompok I : Kontrol normal diberi pakan Confeed PAR-S
- Kelompok II : Kontrol negatif diberi larutan CMC 0,5% secara oral + DLT
- Kelompok III : Kontrol positif diberi simvastatin dosis sebanyak 0,9 mg/kg BB + DLT
- Kelompok IV : Ekstrak etanol daun murbei dengan dosis 500 mg/kg BB + DLT
- Kelompok V : Dosis fraksi n-heksan daun murbei dosis 60 mg/kg BB + DLT
- Kelompok VI : Dosis fraksi etil asetat daun murbei dosis 40 mg/kg BB + DLT
- Kelompok VII : Dosis fraksi air daun murbei dosis 400 mg/kg BB + DLT

Setelah pengambilan darah pada hari ke-0 kelompok II hingga kelompok VII hewan uji diberi pakan diet lemak tinggi dan PTU 0,01% dengan volume pemberian 1,8 ml selama 28 hari secara oral. Hewan uji ditimbang bobot badannya setiap minggu. Setelah 28 hari induksi hewan uji tikus putih galur wistar diambil darahnya pada hari ke-28 atau H0 kemudian diberikan perlakuan hewan uji selama 14 hari dengan pemberian fraksi n-heksana, fraksi etil asetat,

dan fraksi air serta ekstrak etanol daun murbei. setelah itu hewan uji tikus putih kembali diambil darahnya pada setiap minggu setelah pemberian fraksi-fraksi ekstrak etanol daun murbei yaitu pada H35 dan H42.

Pengambilan darah dilakukan sebanyak 3 kali, pada setiap hewan uji dalam masing-masing kelompok yang di ambil pada hari ke-0 atau H0, hari ke-28 atau t1 dan hari ke-35 dan ke-42. Darah yang diambil melalui vena orbitalis menggunakan mikrohematokrit, ditampung dalam tabung *sentrifuge* kira-kira 0,5 ml melalui dinding tabung. Didiamkan selama 20-30 menit kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya yang digunakan sebagai bahan penelitian adalah serumnya yaitu bagian atas cairan yang bening agak kekuningan (Sugiyanto, 1995).

15. Pengukuran kenaikan bobot badan

Sebelum dikarantina 35 ekor hewan uji ditimbang bobot badannya pada setiap kelompok perlakuan setiap minggu atau selama 42 hari. Penimbangan selanjutnya dilakukan pada H0, H28, H35, dan H42. Setiap perubahan kenaikan bobot badan akan dimasukkan ke dalam tabel.

16. Prosedur uji penentuan kadar AST dan ALT

Setelah dipuasakan tikus diukur kadar AST dan ALT awal (H0) bertujuan untuk mengukur kadar awal AST dan ALT sebelum diberi perlakuan. Kemudian tikus diberi diet lemak tinggi dan PTU 0,05% selama 28 hari, setelah 28 hari diukur kadar AST dan ALT pertama (T₁) digunakan untuk mengukur kondisi hati hewan uji. Kemudian masing-masing kelompok mendapatkan perlakuan secara oral dengan pemberian fraksi n-heksana, etilasetat dan air ekstrak etanol daun

murbei selama 14 hari. Pengambilan darah pada hari ke-35 dan hari ke-42 atau pada hari ke-7 dan hari ke-14 setelah perlakuan diukur kadar AST dan ALT (H35 dan H42) dimaksudkan untuk mengetahui kadar AST dan ALT yang optimal mendekati kontrol positif setelah diberi perlakuan penentuan kadar AST dan ALT ditentukan secara langsung dengan metode IFCC without PP atau sampel start.

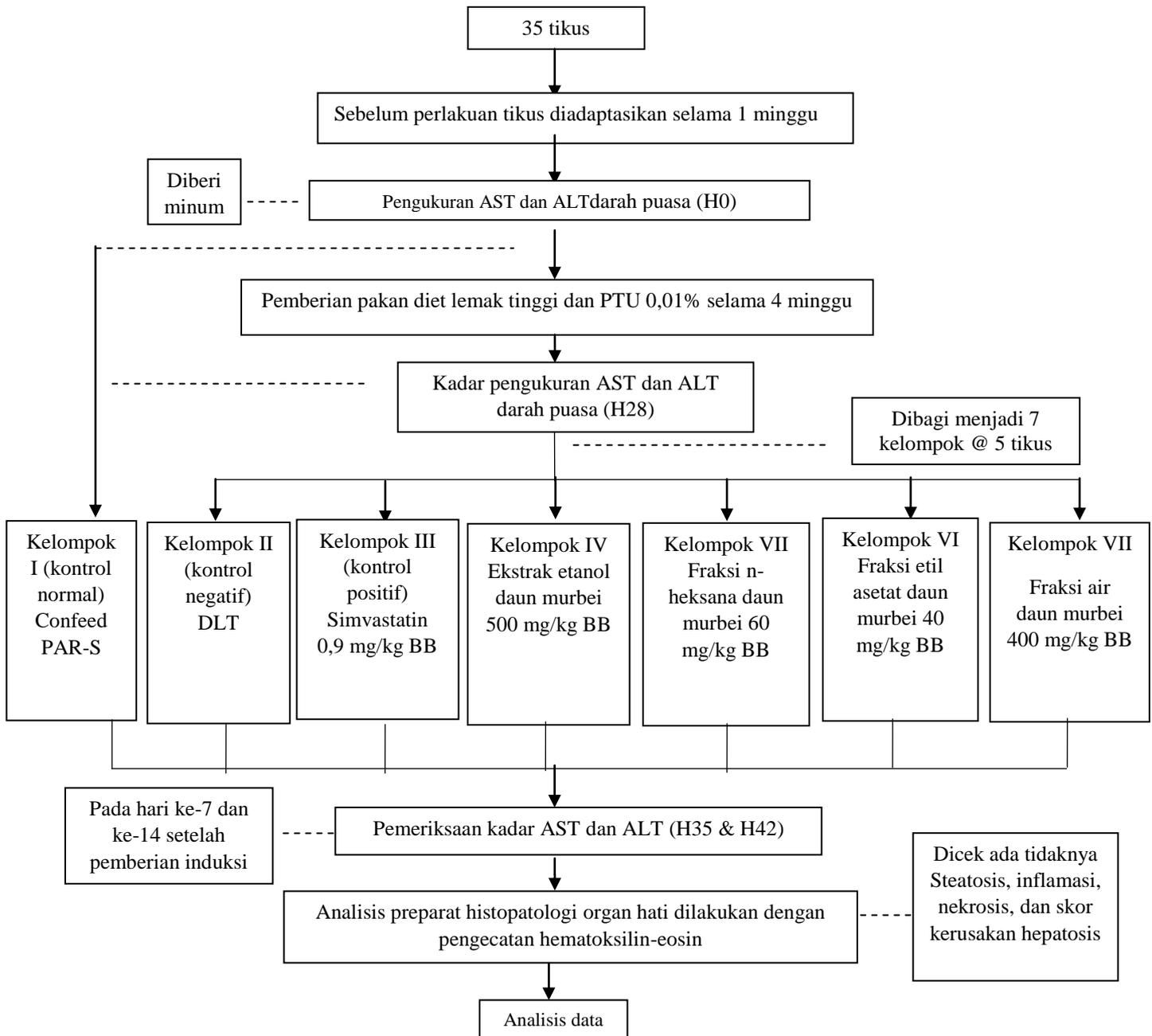
17. Penimbangan berat lemak subkutan abdomen

Setelah 42 hari pada masing-masing kelompok tikus dilakukan pembedahan, dimana rongga perut dibuka, dicari dan diambil lemak subkutan abdomennya sehingga dapat ditimbang berat lemak subkutan abdomennya kemudian dilakukan analisis data.

18. Preparat hispatologi

Organ hati tikus pada semua kelompok diukur dari vena sentralis dan sinusoid hari ke-42 untuk dibuat preparat histopatologi. Analisis preparat histopatologi dilakukan dengan pengecatan Hematoksilin-Eosin dan diamati perubahan histologi hati berdasarkan steatosis (perlemakan hati), inflamasi (peradangan hati), nekrosis dan skor kerusakan hepatitis. Analisis histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM Yogyakarta.

Secara umum, alur penelitian sebagai berikut:



Gambar 8. Skema alur penelitian

E. Analisis Data

Analisis data yang diperoleh pada penelitian ini merupakan data yang dianalisa untuk mendapatkan dosis yang paling efektif sebagai penurunan kadar AST dan kadar ALT serum darah tikus jantan putih. Analisis data dapat diperoleh dengan cara statistik dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui bahwa data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak. Jika data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan metode uji non parametik, sedangkan jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan uji parametik (ANOVA).

Analisis dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* yaitu *Tukey* untuk mengetahui perbedaan *mean* antar kelompok tersebut signifikan atau tidak dengan menggunakan program *SPSS for Windows Release 17.0*.

Data pengukuran perlemakan hati tikus dianalisis secara kuantitatif, dengan menghitung skor berdasarkan steatosis, inflamasi, dan nekrosis.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Persiapan Simplisia, Ekstrak, dan Fraksi Daun Murbei

1. Determinasi dan deskripsi tanaman murbei

Daun murbei diperoleh dari daerah Mbay Kabupaten Nagekeo Nusa Tenggara Timur, dan di determinasi di Laboratorium Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta. Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, mencocokkan ciri morfologi tanaman yang akan diteliti dengan kunci determinasi dan menghindari kesalahan pengumpulan bahan. Hasil determinasi menurut pustaka C. A. Backer (1965) adalah sebagai berikut:

1b - 2b - 3b - 4b - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23b - 24b - 25b - 26b - 27a - 799b - 800a. familia 117. Moraceae. 1b - 2b - 4b - 6b - 8b - 9a - 10a - 11b - 12b. 2. Morus. 1b. ***Morus australis* Poir.**

Deskripsi: habitus perdu yang memiliki batang berkayu, dan percabangan monopodial. Daun murbei berbentuk tunggal, ovatu sampai oblongatus, berlobi 3 dimana letaknya berseling, pangkal subcordatus, ujung acutus, bertepi serratus, dan memiliki permukaan yang kasar. Bunga dari tanaman murbei berbentuk majemuk tandan, keluar dari ketiak daun, dan dalam satu pohon terdapat bunga jantan dan betina. Buah murbei banyak mengandung air, buni, waktu muda berwarna hijau sedangkan setelah masak berwarna hitam keunguan. Data determinasi tanaman murbei dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pembuatan serbuk daun murbei

Hasil prosentase berat kering terhadap berat basah daun murbei menunjukkan bahwa daun murbei (*Morus australis* Poir.) dengan berat basah 8,2 kg dikeringkan dan diperoleh berat kering sebesar 2,24 kg dengan prosentase berat kering terhadap berat basah adalah sebesar 27,3%.

Serbuk hasil ayakan ini dinamakan serbuk simplisia yang digunakan untuk ekstraksi. Penyerbukan ini bertujuan untuk memperluas permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian berlangsung efektif.

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun murbei

Kelembapan simplisia yang terlalu tinggi akan memudahkan pertumbuhan jamur dan bakteri serta perubahan kimiawi yang dapat merusak simplisia. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun murbei dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil penetapan kadar air dalam serbuk daun murbei

No	Penimbangan (g)	Kadar air serbuk (%)
1	2,0	5,3
2	2,0	6,0
3	2,0	6,5
Rata-rata		5,9 ± 0,5

Susut pengeringan kurang dari 10 % menunjukkan dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel sehingga serbuk juga dapat lebih awet dalam penyimpanan dalam jangka waktu tertentu. Selain itu mempermudah difusi pelarut kedalam sel, karena dengan adanya air dan zat-zat yang folatil difusi pelarut akan terganggu (DepKes 1979).

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun murbei

Hasil prosentase rendemen ekstrak etanol daun murbei dengan bobot serbuk 1800 gram, serta bobot ekstrak 341,92 gram didapatkan prosentase rendemen sebesar 18,99%. Perhitungan dapat dilihat dalam lampiran 13.

5. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun murbei

Hasil fraksinasi yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 4 dan perhitungan persen rendemen terlihat pada lampiran 6. Hasil rendemen urutan dari yang paling banyak yaitu 75,29%. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol daun murbei lebih besar senyawa semipolar yaitu flavonoid.

Tabel 2. Hasil prosentase rendemen ekstrak etanol daun murbei

Berat ekstrak (gram)	Fraksi	Fraksi kental (gram)	Rendemen (%)
160	Air	120,46	75,29
	n-heksan	18,72	11,70
	Etil asetat	12,00	7,505
Total rendemen			94,498 ± 37,98

6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi daun murbei

Ekstrak etanol dan fraksi daun murbei dianalisis kandungan kimia dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Senyawa kimia yang diidentifikasi pada daun murbei yaitu flavonoid, alkaloid, dan polifenol. Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak dan fraksi daun murbei dapat dilihat pada tabel 3. Gambar identifikasi senyawa kimia ekstrak dan fraksi daun murbei dapat dilihat pada lampiran 4.

Tabel 3. Hasil identifikasi kandungan kimia daun murbei

Kandungan Kimia (Agen Semprot)	Sampel			
	EEDM	FNHDM	FEADM	FADM
Flavonoid (Asam Sitroborat)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Kuning bependar	Kuning bependar	Kuning bependar	Kuning bependar
Alkaloid (Dragendorff)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Orange	Orange	Orange	Orange
Polifenol (klorofom)	(+)	(+)	(+)	(+)
	hijau tua kehitaman	hijau tua kehitaman	hijau tua kehitaman	hijau tua kehitaman

Keterangan : + : positif

EEDM : ekstrak etanol daun murbei

FNHDM : fraksi n-heksan daun murbei

FEADM : fraksi etil asetat daun murbei

FADM : fraksi air daun murbei

Identifikasi kandungan senyawa kimia dengan KLT menunjukkan bahwa daun murbei mengandung senyawa kimia seperti flavonoid, alkaloid, dan polifenol. Hal ini juga dibuktikan pada berbagai macam penelitian yang menyebutkan bahwa daun murbei memiliki kandungan senyawa kimia yang sangat banyak dan beragam dengan berbagai macam cara analisis diantaranya flavonoid (kuersetin), alkaloid, serta polifenol.

Flavonoid merupakan senyawa polifenol dengan struktur dasar fenilbenzopiron yang mengandung dua cincin benzene yang dipisahkan oleh cincin piran heterosiklik. Flavonoid yang dimiliki oleh daun murbei termasuk dalam golongan kuersetin. Penelitian yang dilakukan Hassimoto dkk (2008) melaporkan bahwa dalam daun murbei terdapat kandungan senyawa kuersetin.

Hasil penelitian yang dilakukan Katsube dkk (2006) menunjukkan bahwa quercetin 3- (6-malonylglucoside) dan rutin yang dominan pada daun murbei. Tiga flavonol glikosida quercetin 3- (6-malonylglucoside), rutin (quercetin 3-rutinosida) dan isoquercitrin (quercetin 3-glucoside) merupakan senyawa pada daun murbei yang diidentifikasi dengan menggunakan metode LC-MS dan NMR. Jumlah flavonol glikosida dalam daun murbei pada penelitian yang dilakukan oleh Katsube dkk ditentukan oleh HPLC.

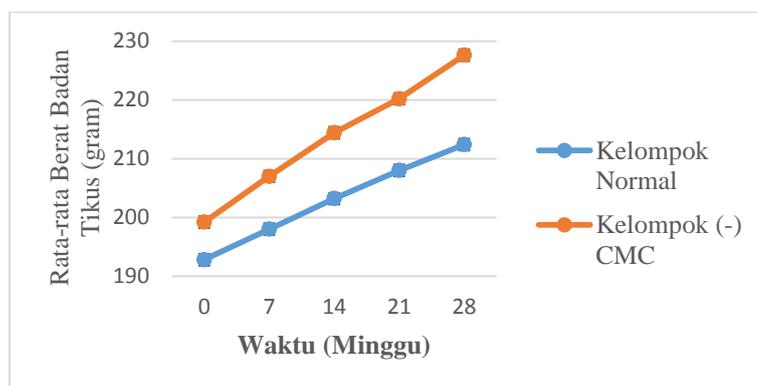
Alkaloid merupakan sekelompok metabolit sekunder alami yang mengandung nitrogen aktif, dimana atom nitrogen tersebut merupakan bagian dari cincin. Alkaloid bersifat basa dan membentuk garam yang larut dalam air dengan asam-asam mineral. Menurut Kim dkk (2013) melaporkan bahwa pada daun murbei terdapat kandungan senyawa alkaloid.

Ekstrak daun murbei memiliki kandungan yang kaya akan polifenol. Hasil identifikasi yang dilakukan daun murbei memiliki kandungan polifenol. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Eva dkk (2016) menyatakan bahwa daun murbei ditandai dengan adanya sejumlah besar derivat flavonol, terutama glikosilasi dari quercetin dan kaempferol, asam Caffeoylquinic, asam fenolik sederhana, dan beberapa asam organik juga terdeteksi pada daun murbei dengan menggunakan UHPLC-MS (*Ultra High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*).

7. Hasil pengukuran kenaikan berat badan

Penelitian mengenai aktivitas fungsi hati dilakukan terhadap hewan uji tikus putih galur wistar yang berumur 2-3 bulan dengan berat rata-rata 100-150

gram, dalam kondisi hiperlipidemia akibat diberi pakan diet lemak tinggi selama 28 hari kecuali kelompok normal yang hanya diberikan pakan standar *confeed-pars*.



Gambar 9. Grafik rata-rata berat badan tikus (gram)

Pada kelompok normal dan kelompok yang diberi diet tinggi lemak selama 28 hari terjadi kenaikan berat badan yang signifikan. Hal tersebut dikarenakan pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak diberikan pakan yang terdiri dari kolesterol, *Confeed-pars*, terigu, asam kolat, minyak babi, minyak sapi, tepung kacang hijau, tepung ikan, tepung jagung, air suling, dan PTU sehingga dapat meningkatkan berat badan pada hewan uji.

Selain diberi asupan pakan diet tinggi lemak, hewan uji juga diberi asupan PTU guna membantu menginduksi terjadinya hiperkolesterol. PTU merupakan zat anti tiroid yang mampu menghambat pembentukan hormon tiroid. Hormon tiroid dalam lipolisis sangat berperan, sehingga penghambatan hormon tiroid akan menyebabkan peningkatan kadar kolesterol darah melalui peningkatan biosintesis kolesterol endogen, sehingga jika kolesterol didalam darah meningkat maka hati akan terganggu fungsi metaboliknya (Murray *et al.*, 1996)

Setelah pemberian diet tinggi lemak selama 28 hari hewan uji dikelompokkan kedalam beberapa kelompok yaitu kelompok normal, kelompok negatif, kelompok positif, kelompok ekstrak etanol, dan ketiga fraksi uji perlakuan dosis, dimana pada masing-masing kelompok terdiri dari lima hewan uji. Pada H28 sampai H42 hewan uji hanya diberi makan standar confeed-pars kemudian dilakukan pengukuran berat badan tikus. Pengukuran berat badan tikus dilakukan secara bertahap bertujuan untuk melihat ada tidaknya perubahan yang dipengaruhi perlakuan baik dengan kelompok uji ekstrak dan fraksi-fraksi maupun dengan pemberian kontrol positif sebelum dan sesudah diinduksi dengan diet tinggi lemak. Hasil pengukuran rata-rata berat badan tikus ditunjukkan pada tabel 4, data selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 4. Perubahan rata-rata berat badan tikus putih galur wistar H0 sampai T₃ perlakuan bahan uji dan rata-rata selisih berat badan tikus

No	Kelompok	Waktu (hari)			
		H0	H28	H35	H42
1	Kontrol Normal	192,8±5,93	212,4 ±6,27 ^{bc}	218,2 ±7,05 ^{bc}	224,6 ±6,23 ^{bc}
2	Kontrol (-) DLT	199,2±3,42	227,6 ±4,04 ^a	236,8 ±4,09 ^a	247 ±3,54 ^{ac}
3	Kontrol (+) simvastatin	196 ± 3,87	224,6 ±4,72 ^a	231,2 ±4,66 ^a	235,4 ±5,18 ^{ab}
4	Ekstrak 500 mg /Kg BB	197,6±5,03	226,8 ±5,45 ^a	234 ±5,57 ^a	241 ± 5,34 ^a
5	FNH 60 mg / Kg BB	198,4±6,99	226,8±6,61 ^a	232,8±6,50 ^a	238,6 ± 6,54 ^a
6	FEA 40 mg / Kg BB	190,8 ±3,19	219,4 ±3,91	225,8±3,19 ^b	231,8 ±3,19 ^b
7	FA 400 mg / Kg BB	199 ±6,56	228 ±6,44 ^a	234 ±6,78 ^a	240 ±5,96 ^a

Keterangan: Tanda a, b, c : pembacaan statistik *Oneway Anova*
a: berbeda signifikan terhadap kontrol normal

b: berbeda signifikan terhadap kontrol (-) CMC
c: berbeda signifikan terhadap kontrol (+) simvastatin
FNH : Fraksi n-heksan
FEA : Fraksi Etil Asetat
FA : Fraksi Air

Pada kelompok normal H28, H35, serta H42 terjadi kenaikan berat badan yang signifikan. Pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok ekstrak etanol, dan ketiga fraksi uji perlakuan dosis menunjukkan adanya kenaikan berat badan hewan uji. Data berat badan tikus yang diperoleh dilanjutkan dengan uji *oneway anova* dengan tujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok perlakuan dengan waktu pengukuran yang berbeda. Berdasarkan uji *oneway anova* menunjukkan bahwa pada kelompok normal H35 dan H42 berbeda signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan fraksi air. Hal ini disebabkan karena kelompok normal juga diberikan pakan standar Confeed-PARS sehingga berat badan pada kelompok normal mengalami peningkatan tetapi peningkatan berat badan tidak seperti kelompok perlakuan lainnya yang diberikan pakan diet tinggi lemak + PTU. Fraksi etil asetat sebanding dengan kelompok normal hal tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mampu mengembalikan kondisi hewan uji ke keadaan sebelumnya.

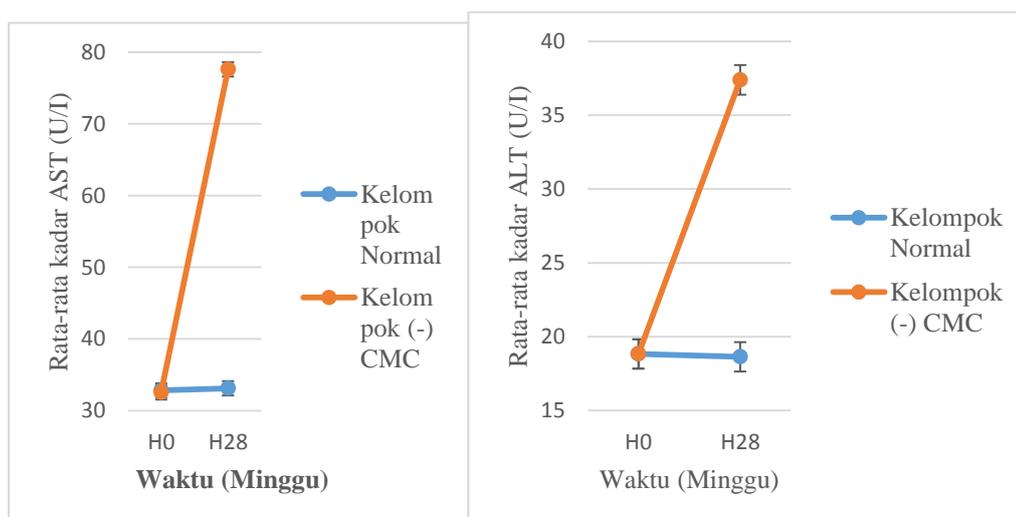
Terjadinya peningkatan berat badan tikus pada beberapa sediaan uji diduga karena pengaruh keadaan tikus. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini juga dimungkinkan mengalami stress yang cukup tinggi. Pemberian ekstrak etanol dan fraksi uji daun murbei secara oral dalam jangka waktu yang panjang serta pengambilan darah yang dilakukan selama penelitian

juga dapat menyebabkan tikus mengalami stress yang cukup tinggi (Guyton 1990).

Diet tinggi lemak dapat menyebabkan peningkatan ukuran sel lemak dan peningkatan jumlah sel. Pertambahan ukuran sel melalui lipogenesis mengawali pertambahan jumlah sel dari pre adiposit melalui proliferasi dan diferensiasi menjadi sel adiposit yang matang dan dalam regulasinya diatur oleh faktor transkripsi *Sterol regulatory element binding protein* (SREBP)-1 (Mawarti *et al*, 2012).

B. Hasil Penetapan Kadar ALT dan AST

Hasil ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun murbei diujikan pada tikus dengan metode IFCC dan dilakukan selama 4 kali pemeriksaan kadar AST dan ALT. Pada H0 saat hewan uji belum mengalami perlakuan apapun sehingga dianggap sebagai kadar normal, H28 setelah hewan uji diberi diet tinggi lemak sehingga kadar AST dan ALT serum darah meningkat.



Gambar 10. Grafik rata-rata kadar AST dan ALT serum darah tikus pada H0-H28 (U/l)

Serum darah tikus pada H0 belum menunjukkan perubahan kadar AST maupun kadar ALT karena merupakan nilai awal atau kadar normal. Pada H28 dibandingkan hari ke-0 menunjukkan kenaikan kadar AST dan ALT. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian pakan diet tinggi lemak seperti Confeed PAR-S, terigu, kolesterol, asam kolat, minyak babi, minyak sapi, tepung kacang hijau, tepung ikan, tepung jagung, air suling, dan PTU yang bertujuan untuk menginduksi peningkatan pada fungsi hati. Minyak babi memiliki kandungan kolesterol yang lebih tinggi dibandingkan dengan minyak hewani lainnya dan minyak nabati. Asam kolat diberikan, karena tanpa penambahan asam kolat pemberian diet aterogenik selama empat minggu tidak dapat meningkatkan kadar kolesterol yang bermakna. Dengan diet yang ditambah asam kolat dapat merubah gambaran lipoprotein menjadi naik bermakna, yaitu dapat meningkatkan LDL plasma (Mulyani *et al.*, 2006). Rata rata kadar ALT dan AST dapat dilihat pada tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Rata-rata kadar ALT

No	Kelompok	Rata-rata kadar ALT (U/I)			
		Waktu (Hari)			
		H0	H28	H35	H42
1	Kontrol Normal	18,84 ± 0,63	18,64 ± 0,43	18,45 ± 0,34	18,84 ± 1,05 ^{bc}
2	Kontrol (-) DLT	18,84 ± 0,53	37,38 ± 1,88	33,40 ± 0,41	37,87 ± 1,88 ^{ac}
3	Kontro(+)Simvastatin	18,74 ± 0,55	37,58 ± 1,12	27,19 ± 0,34	22,33 ± 1,03 ^{ab}
4	Ekstrak 500 mg / Kg BB	18,16 ± 1,12	37,87 ± 0,77	32,72 ± 0,55	29,71 ± 1,16 ^{abc}
5	Fraksi n-heksan 60 mg / Kg BB	18,35 ± 1,44	37,67 ± 1,01	33,27 ± 0,74	23,69 ± 0,41 ^{abc}
6	Fraksi etil asetat 40	19,03 ± 0,63	38,84 ± 0,77	28,84 ± 1,01	21,17 ± 0,55 ^{ab}

mg / Kg BB					
7	Fraksi air 400 mg /Kg BB	19,52 ± 0,41	37,38 ± 0,77	33,31 ± 0,55	30,49 ± 0,72 ^{abc}

Keterangan: Tanda a, b, c : pembacaan statistik *Two way*
a: berbeda signifikan terhadap kontrol normal
b: berbeda signifikan terhadap kontrol (-) CMC
c: berbeda signifikan terhadap kontrol (+) simvastatin

Setelah pemberian diet tinggi lemak selama 28 hari kemudian hewan uji diberi ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun murbei yaitu fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air yang diberikan selama 14 hari. Pengukuran pada H42 menunjukkan penurunan kadar ALT, kecuali pada kelompok negatif dimana penurunan kadar ALT dari H35 sampai H42 tidak mengalami penurunan yang bermakna.

Berdasarkan tabel pengukuran hasil rata-rata pengujian kadar ALT diatas, pada kelompok normal memberikan hasil rata-rata kadar normal dari kadar ALT pada kondisi tikus yang sehat. Rentang nilai normal ALT pada tikus putih jantan 17,5-30,2 (IU/L). Ini menunjukkan bahwa kelompok normal memiliki kadar ALT yang normal sehingga dapat digunakan sebagai pembanding terhadap kelompok negatif, kelompok positif, kelompok ekstrak dan ketiga fraksi lainnya.

Analisis yang dilakukan pertama kali adalah uji normalitas data *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan signifikansi > 0,05 maka data dinyatakan terdistribusi normal. Uji selanjutnya yang dilakukan adalah dengan uji *Two Way Anova* untuk melihat perbedaan kadar ALT pada masing-masing kelompok dan untuk melihat dosis yang paling baik dalam aktivitas fungsi hati tikus yang diberi diet tinggi lemak. Analisis dengan uji *Post Hoc test* menunjukkan bahwa kadar ALT pada kelompok normal terdapat perbedaan yang signifikan antar

kelompok. Tabel 5 menunjukkan bahwa kadar ALT pada kelompok normal berbeda dengan kelompok negatif, kelompok positif simvastatin, dan keempat kelompok lainnya. Perbedaan kelompok normal dengan ketujuh kelompok lainnya menunjukkan bahwa induksi diet tinggi lemak yang diberikan kepada hewan percobaan telah berhasil, dimana pada kelompok normal yang tidak diinduksi diet tinggi lemak tidak terjadi peningkatan kadar ALT.

Kadar ALT pada kelompok negatif berbeda secara signifikan dengan kelompok normal dan kelompok positif simvastatin, yang artinya pemberian diet tinggi lemak berhasil mampu meningkatkan kadar ALT.

Kadar ALT pada kelompok positif berbeda signifikan dengan kelompok normal, kelompok (-) cmc, dan ketiga kelompok perlakuan uji dosis ekstrak etanol 100 mg/200 g BB, fraksi n-heksan 12 mg/200 g BB, dan fraksi air 80 mg/200 g BB kecuali pada kelompok perlakuan fraksi etil asetat 8 mg/200 g BB pada kelompok ini mengalami penurunan kadar ALT yang sebanding dengan kontrol positif simvastatin. Simvastatin merupakan salah satu obat yang digunakan untuk pengobatan hiperlipidemia, simvastatin adalah senyawa ester-naftyl dari asam butirat yang mempunyai mekanisme kerja menghambat 3-hidroksi-s3-metil-glutaril-koenzim A (HMG-CoA) reduktase yang mempunyai fungsi sebagai katalis dalam pembentukan kolesterol. HMG-CoA reduktase bertanggung jawab terhadap penurunan sintesis kolesterol dan meningkatkan jumlah reseptor LDL yang terdapat dalam membran sel hati dan jaringan ekstra hepatis, sehingga menyebabkan banyak LDL yang hilang dalam plasma (Li *et al.*, 2016).

Hasil analisis data kadar ALT dianalisis untuk mendapatkan dosis yang paling baik dalam aktivitas fungsi hati pada tikus hiperlipidemia. Dari data yang diperoleh pada H35 dan H42 dinyatakan bahwa setelah pemberian kelompok perlakuan terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas diperoleh signifikansi ($p > 0,05$). Hasil uji diperoleh homogenitas yang sama sehingga dilanjutkan dengan metode *two way anova* dimana menunjukkan hasil signifikansi ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara sebelum pemberian perlakuan uji dan setelah pemberian perlakuan yang diberi ekstrak etanol serta fraksi-fraksi daun murbei. Untuk perbedaan yang terjadi kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test* yaitu *Tukey*. Hasil uji *Tukey* menunjukkan penurunan kadar ALT berbeda signifikan antara kelompok positif simvastatin dengan masing-masing kelompok perlakuan kecuali dengan dosis fraksi etil asetat 40 mg/Kg BB. Dosis fraksi etil asetat 40 mg/Kg BB dapat menurunkan kadar ALT lebih baik dibandingkan dengan dosis ekstrak etanol 500 mg/Kg BB, dosis fraksi n-heksan 60 mg/Kg BB, dan dosis fraksi air 400 mg. Tabel statistik dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil analisa subset perubahan kadar ALT pada H0 sampai H42 pada kelompok perlakuan menggunakan *Two Way ANOVA*

Kelompok	Subset				
	1	2	3	4	5
Kontrol Normal	*				
Kontrol (-) DLT					*
Kontrol(+)Simvastatin		*			
Ekstrak 500 mg /Kg BB				*	
Fraksi n-heksan 60 mg /Kg BB			*		

**Tabel 7. Rata-rata kadar AST**

No	Kelompok	Rata-rata kadar AST (U/I)			
		Waktu (Hari)			
		H0	H28	H35	H42
1	Kontrol Normal	32,82± 1,12	33,11 ± 0,41	33,40 ± 0,63	33,60 ± 0,63 ^{bc}
2	Kontrol (-) DLT	32,53 ± 0,77	77,58 ± 1,26	71,37 ± 3,71	78,46 ± 1,67 ^{ac}
3	Kontrol(+)Simvastatin	33,50 ± 0,97	77,78 ± 1,92	67,58 ± 2,26	36,02 ± 1,26 ^{ab}
4	Ekstrak 500 mg /Kg BB	33,31 ± 1,40	76,71 ± 1,54	66,80 ± 1,52	59,23 ± 1,56 ^{abc}
5	Fraksi n-heksan 60 mg /Kg BB	33,31 ± 1,44	76,22 ± 1,54	67,78 ± 2,63	44,28 ± 1,43 ^{ab}
6	Fraksi etil asetat 40 mg / Kg BB	33,11 ± 2,41	77,78 ± 2,26	68,16 ± 2,21	38,45 ± 1,21 ^{ab}
7	Fraksi air 400 mg / Kg BB	33,99 ± 0,97	77,49 ± 2,21	72,44 ± 2,24	58,16 ± 2,56 ^{abc}

Keterangan: Tanda a, b, c : pembacaan statistik *Two way*
a: berbeda signifikan terhadap kontrol normal
b: berbeda signifikan terhadap kontrol (-) CMC
c: berbeda signifikan terhadap kontrol (+) simvastatin

Kadar AST pada H42 menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok dan perbedaan-perbedaan tersebut terjadi sama seperti yang terlihat pada kadar ALT H42 (Tabel 5). Berdasarkan tabel 7 pengukuran hasil rata-rata pengujian kadar AST diatas, pada kelompok normal memberikan hasil rata-rata kadar normal dari

kadar AST pada kondisi tikus yang sehat. Rentang nilai normal AST pada tikus 45,7-80,8 (IU/L).

Hasil analisis data kadar AST dan ALT dianalisis untuk mendapatkan dosis yang paling baik dalam aktivitas fungsi hati pada tikus hiperlipidemia. Dari data yang diperoleh pada H35 dan H42 dinyatakan bahwa setelah pemberian kelompok perlakuan terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas diperoleh signifikansi ($p > 0,05$). Hasil uji diperoleh homogenitas yang sama sehingga dilanjutkan dengan metode *two way anova* dimana menunjukkan hasil signifikansi ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara sebelum pemberian perlakuan uji dan setelah pemberian perlakuan yang diberi ekstrak etanol serta fraksi-fraksi daun murbei. Untuk perbedaan yang terjadi kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test* yaitu *Tukey*. Hasil uji *Tukey* menunjukkan penurunan kadar AST berbeda signifikan antara kelompok positif simvastatin dengan masing-masing kelompok perlakuan kecuali dengan dosis fraksi etil asetat 40 mg/Kg BB dan dosis n-heksan 60 mg/Kg BB. Dosis fraksi etil asetat serta dosis n-heksan dapat menurunkan kadar AST lebih baik dibandingkan dengan dosis ekstrak etanol 500 mg/Kg BB, dan dosis fraksi air 400 mg/Kg BB. Tabel statistik dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil analisa subset perubahan kadar AST pada H0 sampai H42 pada kelompok perlakuan menggunakan *Two Way ANOVA*

Kelompok	Subset			
	1	2	3	4
Kontrol Normal	*			
Kontrol (-) DLT				*
Kontrol(+)Simvastatin		*		
Ekstrak 500 mg /Kg BB			*	
Fraksi n-heksan 60 mg /Kg BB		*		
Fraksi etil asetat 40 mg / Kg BB				
Fraksi air 400 mg / Kg BB			*	

Enzim AST dan ALT umum digunakan dalam penentuan fungsi hati. Fungsi hati yang menurun dapat menyebabkan enzim-enzim tersebut keluar dari sel hati kemudian akan masuk ke aliran darah setelah pecah dari membran sel. Ketika aktivitas enzim AST dan ALT meningkat, maka kemungkinan fungsi hati dari hewan percobaan menurun (Lehninger, 1982). Peningkatan enzim-enzim tersebut akan terjadi apabila adanya pelepasan enzim secara intraseluler kedalam darah akibat adanya kerusakan sel-sel hati secara akut (Hu *et al.*, 2011). Hati memiliki peran yang sangat penting dalam proses metabolisme sehingga organ hati sering terpapar oleh senyawa kimia. Senyawa kimia tersebut akan mengalami detoksikasi dan inaktivasi sehingga tidak akan berbahaya untuk tubuh. Kerusakan hati karena obat dan senyawa kimia terjadi jika cadangan daya tahan hati

mengalami penurunan dan kemampuan regenerasi sel hati hilang, sehingga dapat mengalami kerusakan permanen yang dapat menimbulkan dampak berbahaya.

Penelitian yang dilakukan oleh Li dkk (2016) melaporkan bahwa efek dari ekstrak kulit akar tanaman murbei dapat menghambat aktivitas dari fungsi hati yang diinduksi *high fat emulsion*. Tebib *et al.* (1994) juga menyatakan terjadi peningkatan aktivitas enzim AST dan ALT pada hewan yang diinduksi diet tinggi lemak. Penyerapan kolesterol LDL tergantung pada reseptor dalam membran plasmatik. Hal ini dapat terjadi pada hati sel hewan yang diberi diet kolesterol dimana konsentrasi kolesterol lebih tinggi. Adanya peningkatan kadar AST yang merupakan enzim mitokondria, menunjukkan adanya kerusakan akut yang dilepaskan oleh sel-sel yang rusak. Sedangkan ALT didominasi lebih besar di dalam hati, sehingga peningkatannya lebih spesifik dibandingkan dengan AST (Amr & Abeer, 2011).

Hati merupakan organ utama dalam mengendalikan semua jalur biokimia yang berhubungan dengan pertumbuhan, pasokan nutrisi, dan penyediaan energi. Zat yang merusak hati dikenal sebagai *hepatotoxins* misalnya aflatoxin diet yang terkontaminasi akibat adanya gangguan hati (Muhammad *et al.*, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Oh dkk (2002) melaporkan bahwa *Morus alba* mengandung flavonoid, dan kumarin yang memiliki aktivitas hepatoprotektif. Zeni & Molin (2010) juga menyatakan ekstrak air daun murbei dapat melindungi hati tikus yang diberi diet tinggi lemak.

Flavonoid merupakan senyawa antioksidan polifenol alami, terdapat pada tumbuhan, buah-buahan, dan minuman (teh & *wine*) yang dapat menurunkan

kadar kolesterol dan kadar trigliserida dalam darah, melindungi pembuluh arteri dari kerusakan, dan mengurangi jumlah penimbunan kolesterol di permukaan endotel pembuluh darah arteri. Flavonoid dapat menurunkan peroksidasi lipid. Secara *in vitro* flavonoid bekerja sebagai inhibitor enzim HMG-KoA reduktase sehingga sintesis kolesterol menurun (Siregar 2015). Flavonoid quecetin 3-(6-Malonylglucoside) yang terkandung dalam daun tanaman murbei (*Morus alba* L.) mampu menghambat perkembangan lesi aterosklerosis melalui peningkatan resistensi LDL terhadap modifikasi oksidatif dan efek protektif aterogeniknya (Enkhmaa *et al.*, 2005). Hal serupa juga dilaporkan oleh Hassimoto dkk (2008) bahwa kandungan senyawa kuersetin dalam daun murbei dapat digunakan sebagai antioksidan. Keseimbangan antioksidan diubah dengan mengurangi aktivitas katalase, superoksida dismutase, dan glutathion peroksidasi, dan jumlah tingkat antioksidan.

Beberapa penelitian *in vitro* mengenai aktivitas antihiperlipidemia serta fungsi hati senyawa alkaloid menyebutkan adanya efek penurunan kadar hiperlipidemia dan diketahui dapat mengatur metabolisme lipid (Kobayashi, 2016). Ekstrak daun murbei yang kaya akan polifenol memiliki efek hipokolesterolemia dan imunostimulan. Analisis DNA *microarray* melaporkan bahwa ekstrak murbei dapat menurunkan regulasi ekspresi gen yang terlibat dalam biosintesis kolesterol, termasuk gen reduktase HMG-CoA, yang mengkode enzim *rate-limiting* (Kobayashi, 2016).

Fraksi etil asetat daun murbei mempunyai efek menurunkan kadar AST dan ALT dalam serum darah tikus jantan putih galur wistar. Fraksi etil asetat

daun murbei yang paling baik dalam aktivitas fungsi hati adalah dosis 40 mg/Kg BB karena menunjukkan efek setara dengan kontrol positif simvastatin 0,9 mg/kg BB.

C. Berat Lemak Absolut

Setelah pemberian sediaan uji pada H42 hewan percobaan pada masing-masing kelompok ditimbang berat badannya, kemudian dilakukan pembedahan dimana rongga perut dibuka, dicari dan diambil lemak subkutan abdomennya sehingga dapat ditimbang berat lemak subkutan abdomennya kemudian dilakukan analisis data. Hasil pengukuran rata-rata berat abdomen dan absolut ditunjukkan pada tabel 9, data selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 9. Rata-rata berat lemak abdomen dan absolut

No	Kelompok	N	Rata-rata berat abdomen dan absolut (gram)	
			Lemak Abdomen	Lemak Absolut
1	Kontrol Normal	5	0,65 ± 0,27 ^{bc}	0,29 ± 0,12 ^{bc}
2	Kontrol (-) DLT	5	4,10 ± 1,15 ^{ac}	1,66 ± 0,48 ^{ac}
3	Kontrol (+) Simvastatin	5	1,93 ± 0,74 ^{ab}	0,82 ± 0,29 ^{ab}
4	Ekstrak 500 mg / Kg BB	5	1,76 ± 0,50 ^b	0,73 ± 0,19 ^b
5	Fraksi n-heksan 60 mg / Kg BB	5	1,33 ± 0,50 ^b	0,60 ± 0,10 ^b
6	Fraksi etil asetat 40 mg / Kg BB	5	1,36 ± 0,24 ^b	0,59 ± 0,10 ^b
7	Fraksi air 400 mg / Kg BB	5	2,65 ± 0,26 ^{ab}	1,12 ± 0,12 ^{ab}

Keterangan: Tanda a, b, c : pembacaan statistik *Two way*
 a: berbeda signifikan dengan kontrol normal
 b: berbeda signifikan dengan kontrol (-) CMC
 c: berbeda signifikan dengan kontrol (+) simvastatin

Berdasarkan data pada tabel 8 pengukuran berat absolut menunjukkan bahwa pada kelompok normal berbeda signifikan dengan kelompok negatif. Hal tersebut disebabkan pada kelompok normal hanya diberikan pakan standar *confeed-pars* sedangkan pada kelompok negatif diberikan diet tinggi lemak selama 28 hari, dan setelah 28 hari kelompok normal, kelompok negatif, kelompok positif serta kelompok sediaan uji hanya diberi pakan standar *confeed-pars*.

Kelompok negatif berbeda signifikan dengan kelompok normal, kelompok positif simvastatin dan gemfibrozil. Hal ini terjadi karena hewan uji pada kelompok negatif sudah mengalami obesitas dimana akan sulit untuk kembali ke keadaan yang normal. Kelompok positif simvastatin berbeda signifikan dengan kelompok normal dan kelompok negatif, dengan kata lain kelompok positif simvastatin belum mampu mengurangi lemak yang berada pada abdomen hewan uji. Berbeda dengan kelompok positif gemfibrozil dan fraksi air yang sebanding dengan kelompok normal artinya pemberian obat golongan fibrat yaitu gemfibrozil mampu mengurangi lemak abdomen pada hewan uji. Penelitian yang dilakukan secara paralel dengan Toyo (2017) juga menyatakan bahwa pemberian kelompok positif gemfibrozil pada hewan uji dapat menurunkan kadar lipid dari hewan uji yang diberi diet tinggi lemak. Penelitian yang dilakukan Anderson *et al.* (2002) menyatakan bahwa gemfibrosil dapat meningkatkan sekresi kolesterol menuju empedu, meningkatkan afinitas reseptor LDL untuk mengikat partikel LDL, mengaktifkan lipoprotein lipase, menghambat trigliserida, dan menekan pelepasan asam lemak bebas dari jaringan adiposa.

Lemak abdominal terdiri dari lemak subkutan abdomen dan lemak intra abdomen, yang secara jelas nampak lewat CT Scan dan MRI. Berkurangnya lemak abdominal akan menjadi sangat bermakna, dikarenakan kelebihan lemak di bagian abdomen merupakan salah satu faktor risiko dari penyakit kardiovaskular. Lemak intra abdominal (viseral) memiliki kadar *turnover* trigliserida yang tertinggi dan kelebihan adiposit visceral adalah hal yang paling berkaitan dengan gangguan terutama resistensi insulin dan hipertrigliseridemia (Maki *et al.*, 2009)

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *One Way Anova*, kemudian dilanjutkan uji *Tukey Post Hoc Test* digunakan untuk melihat perbedaan masing-masing dosis perlakuan uji terhadap berat lemak subkutan abdomen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diet lemak tinggi selama 28 hari kemudian dengan pemberian berbagai dosis uji selama 14 hari mampu menurunkan lemak subkutan pada daerah abdomen pada tikus yang hiperkolesterolemia.

D. Hasil uji Histologi

Uji histologi yang dilakukan pada organ hati bertujuan untuk melihat keadaan organ hati sebelum dan sesudah perlakuan. Perubahan yang diamati berdasarkan steatosis (perlemakan hati), inflamasi (peradangan hati), nekrosis dan skor kerusakan hepatosis.pada vena sentarlis dan sinusoid (Wulandari, 2012). Hasil analisis skor kerusakan hepatosit pada uji histologi dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 10. Hasil skor analisis uji histopatologi organ hati

Kelompok	Inflamasi	Perlemakan	Nekrosis
----------	-----------	------------	----------

Normal	+	+	+
Kontrol negatif DLT	++	++	++
Kontrol positif simvastatin	+	+	0
Ekstrak 500 mg/Kg BB	+	+	0
Fraksi n-heksan 60 mg/Kg BB	+	+	++
Fraksi etil asetat 40 mg/Kg BB	+	+	0
Fraksi air 400 mg/Kg BB	+	++	0

Keterangan : tanda + menunjukkan adanya perubahan atau kerusakan. Semakin tinggi jumlah + menunjukkan tingkat perubahan atau kerusakan yang semakin besar. Tanda 0 menunjukkan tidak adanya perubahan atau kerusakan.

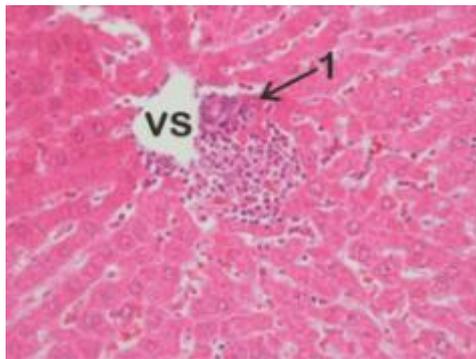
Hasil analisis dari organ hati berdasarkan dengan pewarnaan HE dan pengamatan di bawah mikroskop dapat dilihat bahwa pada kontrol normal organ hati telah mengalami peradangan, perlemakan pada hati maupun terjadinya nekrosis. Hal tersebut disebabkan karena kondisi dari hewan uji sebelum dilakukannya penelitian telah terganggu fungsi metaboliknya serta terpengaruh oleh lingkungan sekitarnya.

Sel yang normal diidentifikasi dari sitoplasmanya yang berwarna merah muda atau merah dan nukleusnya yang berwarna biru dan masih terlihat membran nukleusnya, sedangkan sel yang mengalami nekrosis diamati dari inti selnya yang mengecil, tidak terlihat lagi membran intinya dan terlihat berwarna gelap atau hitam, Serta perlemakan diamati berdasarkan adanya ruang kosong berbentuk bulat dimana pada inti sudah tidak terlihat adanya membran nukleus pada sitoplasma sel hepatosit (Cheville, 2006). Hasil histologi hati dapat dilihat pada gambar 11.

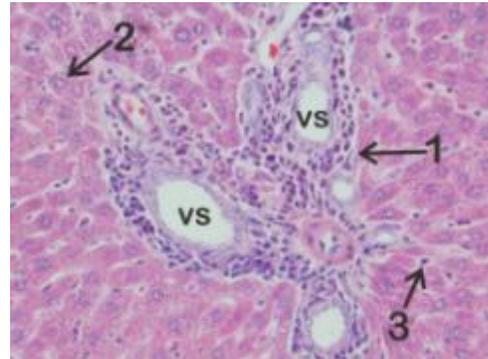
Pada kelompok negatif terjadi inflamasi atau peradangan yang semakin parah di sekitar pembuluh darah yang ditandai multifokal infiltrasi sel radang baik pada limfosit maupun neutrofil di sekitar pembuluh darah hati yang dapat di lihat pada gambar 11 dimana sel yang mengalami peradangan terjadi perubahan warna

menjadi ungu . Selain terjadinya peradangan yang cukup parah pada kontrol negatif juga terjadi perlemakan yang ditandai dengan perubahan pada sitoplasma hati dengan vakuola lemak yang berbatas jelas dan adanya kerusakan hati atau nekrosis yang di tandai dengan perubahan pada inti dan sitoplasma pada beberapa lokasi di parenkim hati sekitar vena sentralis hati yang sangat besar. Hal ini sejalan dengan pengukuran kadar AST dan ALT pada kelompok negatif yang mengalami peningkatan cukup besar yang mengidentifikasi terjadinya kerusakan dan kelainan pada fungsi hati. Perlemakan yang cukup besar pada kelompok negatif juga ditandai dengan meningkatnya parameter lipid hewan uji pada penelitian yang dilakukan secara paralel oleh Toyo (2017).

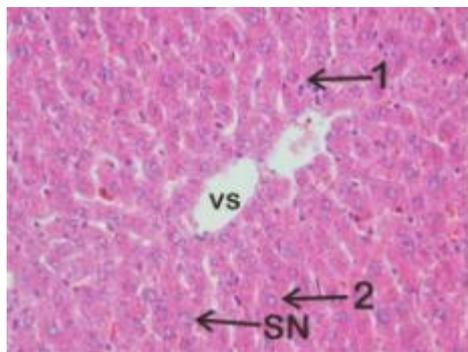
Kelompok positif simvastatin, gemfibrozil , ekstrak, serta fraksi etil asetat menunjukkan keadaan hati yang sama. Pada keempat kelompok tersebut terjadi inflamasi di sekitar pembuluh darah namun tidak sebesar yang terjadi pada kontrol negatif. Pada keempat kelompok ini juga menunjukkan terjadinya perlemakan pada organ hati. Sedangkan pada kelompok fraksi n-heksan menunjukkan kerusakan hati yang sama dengan kelompok negatif tetapi perlemakan serta inflamasi yang terjadi pada kelompok fraksi n-heksan lebih kecil dari pada kelompok negatif yang berarti pada dosis ini masih memberikan perlindungan pada organ hati walaupun hanya sedikit.



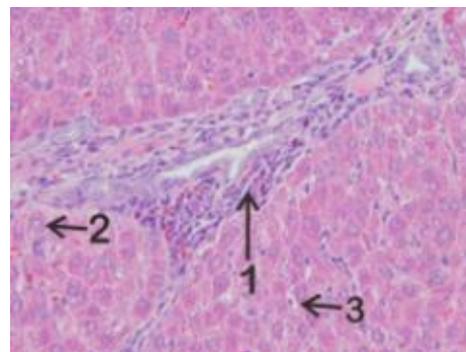
Kelompok normal



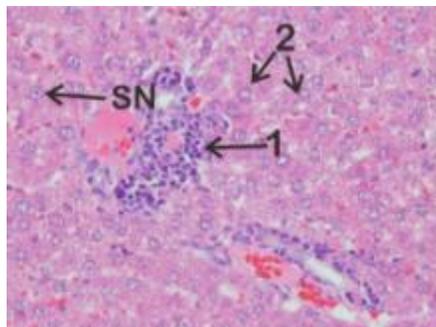
Kelompok negatif cmc



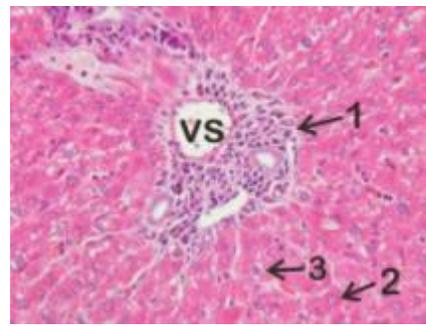
Kelompok positif simvastatin



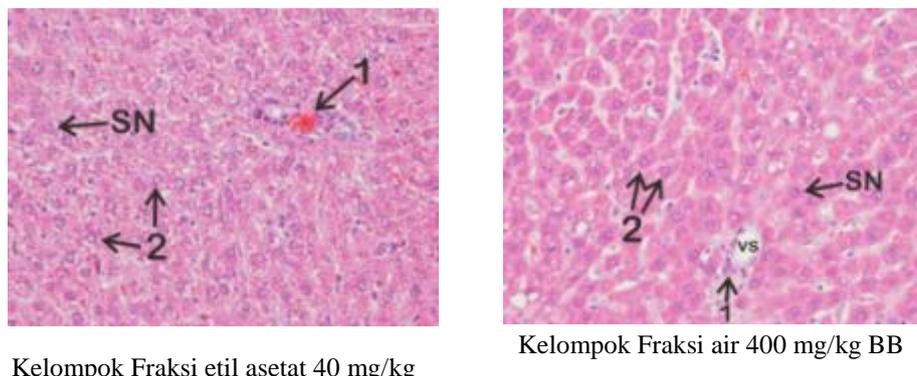
Kelompok positif gemfibrozil



Kelompok ekstrak 500 mg/kg BB



Kelompok Fraksi n-heksan 60 mg/kg BB



Kelompok Fraksi etil asetat 40 mg/kg

Kelompok Fraksi air 400 mg/kg BB

Gambar 11. Histologi Organ Hati

Keterangan :

SN = Sel normal

VS = Vena Sentralis

1. Inflamasi

2. Perlemakan

3. Nekrosis

Berdasarkan gambaran histologi hewan uji didapatkan bahwa semua kelompok sediaan uji terjadi perlemakan. Adanya perlemakan pada sel hati menyebabkan terjadinya perubahan susunan sel sehingga sel tidak mampu kembali kekeadaan semula menyebabkan sinusoid yang tampak melebar (Oktavianti, 2005). Degenerasi lemak terjadi karena adanya penurunan aktivitas enzim LPL dalam menghidrolisa VLDL yang mengakibatkan akumulasi trigliserida di dalam sel hati. Terbentuknya radikal bebas menyebabkan sel tidak mampu mengeluarkan trigliserida sehingga terjadi perlemakan (Porth & Matfin, 2008). Akumulasi lemak intraseluler dapat terjadi melalui beberapa mekanisme yaitu penghambatan sintesis satuan protein dari lipoprotein, penekanan konjugasi trigliserida, gangguan transfer VLDL melalui membran sel, rusaknya oksidasi lipid di mitokondria, serta penghambatan sintesis fosfolipid (Lu 1995).

Kerusakan hati yang diawali dengan meningkatnya steatosis dan degenerasi pada hati yang dalam kondisi kronis dapat menyebabkan kematian. Salah satu mekanisme patogenesis kerusakan hati adalah degradasi membran

hepatosit karena peroksidasi lemak. Reaksi peroksidasi dapat dipicu oleh paparan spesies oksigen reaktif (SOR) yang selain dapat merusak membran sel juga merusak komponen intrasel termasuk asam nukleat, protein, dan lipid. Asam deoksiribonukleat (DNA) mitokondria tidak tahan terhadap serangan radikal bebas sehingga membran bagian dalam mitokondria juga menjadi ikut rusak. Peroksidasi lipid selanjutnya mengubah DNA mitokondria dan mengganggu kestabilan membran sel, propagasi siklus stres oksidatif secara besar-besaran yang diikuti dengan peradangan. Peningkatan level oksidatif digambarkan dengan megamitokondria dan perlemakan nonalkoholik (Ganda *et al.*, 2007)

Selain mengalami perlemakan dan nekrosis, pada organ hati juga terlihat adanya infiltrasi sel radang. Sel radang tersebut ditemukan pada daerah sinusoid. Peningkatan jumlah sel radang pada jaringan hati disebabkan produksi radikal bebas yang berlebihan pada jaringan tersebut. Radikal bebas yang jumlahnya berlebihan akan menyerang makromolekul sel dan dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel. Hal ini menyebabkan terjadinya diapedesis, sehingga sel-sel radang keluar dari pembuluh darah dan menginfiltrasi jaringan untuk melakukan opsonisasi atau pembersihan sel-sel yang rusak (Tizard, 1992). Adanya sel yang mengalami nekrosa juga menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah sel radang (Forrest *et al.*, 1994).

Perlemakan, nekrosis, dan peradangan pada kelompok positif, kelompok ekstrak, kelompok fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat terlihat adanya perbaikan gambaran histologi organ hati. Perbaikan yang terjadi disebabkan karena adanya kerja antioksidan dari pemberian ekstrak etanol dan fraksi-fraksi sediaan uji daun

murbei. Senyawa quercetin yang terkandung dalam daun murbei dapat berfungsi sebagai antioksidan. Kerja antioksidan dapat menghambat peroksidasi lipid dengan menangkap radikal bebas sehingga tidak menimbulkan radikal bebas berlebih.

Menurut Qureshi *et al.* (2010) melaporkan bahwa senyawa yang terkandung dalam daun murbei yang dapat berperan dalam memperbaiki fungsi hati adalah antioksidan diantaranya golongan flavonoid seperti mirisitin 3-O-glikosida, hiperin, isoquesertin, quesertin-3-O-rhamnosida. Penelitian yang dilakukan oleh Chen *et al.* (2006) juga menyatakan bahwa pada buah murbei senyawa bioaktif yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antioksidan adalah sianidin 3-rutinosida, sianidin-3-monoglukosida, isoquercetin, quesertin dan vitamin C. Antioksidan tersebut umumnya bekerja dengan cara melindungi lipid pada membran sel agar tidak teroksidasi sehingga mencegah terjadinya kerusakan sel (Wiseman *et al.*, 2000).

Peran antioksidan akan sangat terlihat pada kerusakan sel yang diakibatkan oleh radikal bebas yang dapat menyerang lipid pada membran sel. Menurut McGavin dan Zachary (2007) kerusakan membran merupakan salah satu permulaan dari kerusakan sel, sedangkan menurut Halliwell dan Gutteridge (1999) radikal bebas bisa berasal dari dalam tubuh seperti proses pembentukan nitrit oksida yang akan menghasilkan NO radikal, atau asupan dari luar seperti dari polusi, bahan kimia, bakteri dan virus. Dengan adanya antioksidan maka terjadinya oksidasi membran sel oleh radikal bebas dapat dicegah, karena antioksidan dapat menangkap radikal bebas tersebut. Antioksidan yang berasal

dari alam seperti flavonoid dan vitamin C merupakan antioksidan primer yang dapat menghambat rantai reaksi radikal bebas dengan cara memberikan ion hidrogen atau elektron pada radikal bebas tersebut sehingga radikal bebas berubah menjadi produk yang stabil (Rajalaksmi & Narisimhan, 1996).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian fraksi etil asetat daun murbei (*Morus australis* Poir.) dengan dosis 40 mg/kg BB dapat menurunkan kadar AST dan ALT pada tikus yang diberi diet lemak tinggi dan PTU.
2. Berdasarkan hasil analisis histologi kelompok fraksi etil asetat dengan dosis 40 mg/kg BB dapat melindungi organ hati dari kerusakan yang disebabkan oleh pemberian pakan diet tinggi lemak.
3. Pemberian fraksi etil asetat daun murbei dengan dosis 40 mg/kg BB merupakan paling optimal dalam melindungi fungsi hati berdasarkan parameter ALT dan AST dan gambaran histologi pada tikus yang diberi diet tinggi lemak.

B. Saran

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut terkait efek dari daun murbei dengan berbagai jenis fraksi dalam jangka waktu yang lebih lama.
2. Perlu dilakukan induksi menggunakan diet tinggi lemak lebih dari 28 hari sehingga dapat menimbulkan lemak abdomen.

BAB IV

RINGKASAN

Penyakit kardiovaskuler atau PJK merupakan salah satu penyakit akibat tingginya kolesterol total, LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan trigliserida dan rendahnya kolesterol HDL (*High Density Lipoprotein*). Berbagai faktor risiko yang mengakibatkan timbulnya PJK mulai dari aspek metabolik, hemostatis, imunologi, infeksi, dan banyak faktor lain yang saling terkait (Nilawati *et al.*, 2008).

Hati merupakan organ penting yang bertanggung jawab dalam menjaga keseimbangan kolesterol plasma dan organ untuk detoksifikasi sekaligus sebagai organ target yang sensitif terhadap senyawa toksik (Lu, 1995). Penyakit hati menimbulkan kelainan pada kolesterol darah karena hati merupakan tempat degradasi insulin, sehingga bila hati rusak, jumlah insulin akan meningkat sehingga akan menurunkan kolesterol darah. . Kelainan yang terjadi pada hati dapat dilihat dari meningkatnya aktivitas transaminase serum yaitu AST (Serum glutamat oksaloasetat transaminase), ALT (Serum glutamat piruvat transaminase), bilirubin, GGT (γ -Glutamyl transpeptidase), alkalin phosphatase dan protein (Ganong, 2002 diacu dalam North-Lewis P, 2008).

Diah dkk (2012) melaporkan kadar kolesterol plasma yang menurun atau dalam batas normal akan membantu organ hati dalam menjalankan fungsi metaboliknya dan kejadian perlemakan hati dapat dicegah. Pada kondisi hiperkolesterolemia organ hati akan terganggu fungsi metaboliknya sehingga jika

hiperkolesterolemia terjadi terus menerus dalam jangka waktu yang panjang akan memicu timbulnya perlemakan hati yang dapat menimbulkan penyakit hati. Penelitian yang dilakukan oleh Valaachi *et al.* (2013) menyatakan bahwa suplementasi gabungan ekstrak buah dan daun murbei dengan dosis 500 mg/kg BB tikus mempunyai efek yang menguntungkan pada metabolisme lipid, termasuk kolesterol dan akumulasi diet lemak tinggi pada tikus yang diinduksi obesitas. Murbei memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Iqbal *et al.*, 2012) dan nefroprotektif (Nematbakhsh *et al.*, 2013).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Huda dan Toyo (2015) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun murbei dengan dosis optimal 100 mg/200g BB tikus dapat menurunkan kadar LDL dan dapat menurunkan ketebalan dinding aorta pada tikus yang diberi diet aterogenik. Ekstrak etanol daun murbei juga mampu meningkatkan kadar HDL serta dapat menghambat pembentukan sel busa pada dinding aorta tikus putih (Toyo, 2015).

Pada penelitian ini akan diuji lebih lanjut pengaruh fraksi ekstrak etanol daun murbei terhadap penurunan kadar AST dan kadar ALT dengan menggunakan metode IFCC serta untuk mengetahui efek fraksi ekstrak etanol daun murbei terhadap perlemakan hati dengan menggunakan parameter degenerasi sel berupa perlemakan hati (steatosis), inflamasi, dan *ballooning* dengan melakukan pengecatan *Hematoksin Eosin* (HE).

Penelitian ini terdiri dari 7 kelompok, dimana masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus yang terbagi atas kelompok normal, kelompok negatif, kelompok positif simvastatin, kelompok ekstrak etanol 500 mg/kg BB serta ketiga

fraksi-fraksi kelompok uji. Pengambilan darah dilakukan sebanyak 3 kali, pada setiap hewan uji dalam masing-masing kelompok yang di ambil pada hari ke-0 atau H₀, hari ke-28 atau t₁ dan hari ke-35 dan ke-42 yang dapat disebut juga sebagai t₂ dan t₃. Setelah pengambilan darah pada hari ke-0 kelompok II hingga kelompok VII hewan uji diberi pakan diet lemak tinggi dan PTU 0,01% dengan volume pemberian 1,8 ml selama 28 hari secara oral. Hewan uji ditimbang bobot badannya setiap minggu. Setelah 28 hari induksi hewan uji tikus putih galur wistar diambil darahnya pada hari ke-28 atau H₀ kemudian diberikan perlakuan hewan uji selama 14 hari dengan pemberian dosis fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air serta ekstrak etanol daun murbei. setelah itu hewan uji tikus putih kembali diambil darahnya pada setiap minggu setelah pemberian dosis fraksi-fraksi ekstrak etanol daun murbei yaitu pada H₃₅ dan H₄₂.

Setelah dipuaskan tikus diukur kadar AST dan ALT awal (H₀) bertujuan untuk mengukur kadar awal AST dan ALT sebelum diberi perlakuan. Kemudian tikus diberi diet lemak tinggi dan PTU 0,05% selama 28 hari, setelah 28 hari diukur kadar AST dan ALT pertama (T₁) digunakan untuk mengukur kondisi hati hewan uji. Kemudian masing-masing kelompok mendapatkan perlakuan secara oral dengan pemberian fraksi n-heksana, etilasetat dan air ekstrak etanol daun murbei selama 14 hari. Pengambilan darah pada hari ke-35 dan hari ke-42 atau pada hari ke-7 dan hari ke-14 setelah perlakuan diukur kadar AST dan ALT (T₂ dan T₃) dimaksudkan untuk mengetahui kadar AST dan ALT yang optimal mendekati kontrol positif setelah diberi perlakuan penentuan kadar AST dan ALT ditentukan secara langsung dengan metode IFCC. Setelah 42 hari perlakuan, pada

hari ke-42 tikus diambil organ hatinya untuk dibuat preparat histologi. Analisis preparat histopatologi dilakukan dengan pengecatan Hematoksilin-Eosin dan diamati perubahan histologi hati berdasarkan steatosis (perlemakan hati), inflamasi (peradangan hati), nekrosis dan skor kerusakan hepatosis.

Serum darah tikus pada H0 belum menunjukkan perubahan kadar AST maupun kadar ALT karena merupakan nilai awal atau kadar normal. Pada H28 dibandingkan hari ke-0 menunjukkan kenaikan kadar AST dan ALT. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian pakan diet tinggi lemak yang diberikan berhasil meningkatkan berat badan hewan uji. Namun pada pengujian H35 dan H42 berdasarkan hasil uji statistik masing-masing memiliki perbedaan dimana kelompok positif, kelompok fraksi n-heksan, dan kelompok fraksi etil asetat berbeda nyata dengan kelompok negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian fraksi n-heksan dan etil asetat pada hewan uji yang diberi diet tinggi lemak mampu melindungi organ hati.

Fraksi etil asetat daun murbei mempunyai efek menurunkan kadar AST dan ALT dalam serum darah tikus jantan putih galur wistar. Fraksi etil asetat daun murbei yang paling baik dalam aktivitas fungsi hati adalah dosis 40 mg/kg BB karena menunjukkan efek setara dengan kontrol positif simvastatin 0,9 mg/kg BB.

Hasil penelitian terhadap kadar ALT, dan AST dapat dilihat dari hasil analisis histologi hati, dimana berdasarkan analisis yang telah dilakukan organ hati yang diberikan fraksi etil asetat menunjukkan kerusakan yang lebih ringan dibandingkan dengan kelompok negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- [Anonim]. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- [Anonim]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm 1,4 dan 11.
- Alberts, A.W., Chen, J., Kuron, G., Hunt, V., and Springer, J. 1980. a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77: 3957-3961.
- Amr, A. R., Abeer, E. El-Khamisy. 2011. Hypolipideimic and Hypochloestermic Effect Of Pine Nuts in Rats Fed High Fat Cholesterol Diet. *World Applied Sciences Journal*. 15 (12):1667-1677
- Andriani Y.HS. 2008. Toksisitas Fraksi Aktif Steroid Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma Ulmifolia* L.) Terhadap Aktivitas Serum Glutamat Oksalat Transaminase (AST) dan Serum Glutamat Piruvat Transaminase (ALT) Pada Tikus Putih. Universitas Bengkulu.
- Ansel H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Ibrahim F, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*. Hlm 605-608
- Anwar, B. 2004. Dislipidemia Sebagai Faktor Resiko Jantung Koroner. Sumatera Utara: Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara.
- Chau J.W., Hsu L.S., Lin M.C. 2012. Mulberry water extracts (MWEs) ameliorated carbon tetrachloride-induced liver damages in rat. *Food and Chemical Toxicology* :3086-3093.
- Chen, P.N. 2006. Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside, exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line. *Cancer Letter*. **235**(2):248-259
- Cheville NF. 2006. *Introduction to Veterinary Pathology*. Iowa: Blackwell Publishing
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Dalimartha N.S. 2000. 36 Resep Tumbuhan Untuk Menurunkan Kolesterol. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Dalimartha N.S. 2007. 36 Resep Tumbuhan Untuk Menurunkan Kolesterol. Jakarta: Penebar Swadaya.

- David. 2005. *Atherosclerosis An Inflammatory Process*. Journal Insur Med. 37:72-5.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hlm 3-13, 6-7, 10
- [Departemen Kesehatan RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Ed ke-3. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hlm 3-13, 6-7, 10. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 166, 266
- [Departemen Kesehatan RI]. 1989. *Materi Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hlm. 338-342.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta.
- [Departemen Kesehatan RI]. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia. Hlm. 90-95.
- [Departemen Kesehatan RI]. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Diyani, Y.S. 2011. Nata de coco terhadap kadar kolesterol LDL dan HDL pada tikus hiperkolesterolemia. [Skripsi]. Diponegoro: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Enkhmaa, B., Shiwaku. K., Katsube. T., Kitajima. K., Anuurad. E., Yamasaki. M. 2005. Biochemical and Molecular Actions of Nutrients Mulberry (*Morus alba* L.) Leaves and Their Major Flavonol Quercetin 3-(6-Malonylglucoside) Attenuate Atherosclerotic Lesion Development in LDL Receptor-Deficient Mice 1. *The Journal of Nutrition*. 729–734.
- Eva M, Sanchez S, Michele T, Dabiele D, Fransisca H, Juan J, Pedro M. 2016. (Poly)phenolic fingerprint and chemometric analysis of white (*Morus alba* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry leaves by using a non-targeted UHPLC-MS approach. *Food Chemistry*. 212 (2016) 250–255
- Gani, N, IM, Lidya, MP. Mariska. 2013. *Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (Abelmoschus manihot L.)*. Jurnal MIPA UNSRAT online 2 (1) 44-49 Jurusan Kimia. FMIPA. Unsrat, Manado.
- Ganong, W.F. 1983. *Fisiologi Kedokteran* (review of Medical Physiology), edisi 10, Jakarta, 290
- Ganong, W.F. 2002. Buku ajar fisiologi kedokteran. Editor edisi bahasa indonesia, H.M. Djauhari Widjajakusumah-ed.20. EGC. Jakarta.
- Goodman dan Gilman, editor. 2008. *Dasar Farmakologi Terapi*. Volume 2, edisi 10. Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC.

- Guyton AC, 2012. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Ed ke-III.
- Grundy, S.M., Mok, H.Y.I., Zech, L., and Berman, M. 1981. Influence of nicotinic acid on metabolism of cholesterol and triglycerides in man. *J. Lipid Res.* 22: 24-36.
- Grundy, S.M., and Vega, G.L. 1987. Fibric acids: effects on lipids and lipoprotein metabolism. 83: 9-20.
- Groot, P.H., Dijkhuis-Stoffelsma, R., Grose, W.F., and Fernandes, J. 1983. The effects of colestipol hydrochloride on serum lipoprotein lipid and apolipoprotein B and A-I concentrations in children heterozygous for familial hypercholesterolemia. *Acta paediatr. Scand.* 72: 81-85.
- Gunawan D, Sri Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jakarta: Penebar swadaya.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. Free Radical in Biology and Medicine. Oxford Univ Press:105-220.
- Harborne, J.B. 1984. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Terbitan Kedua. Bandung: Penerbit ITB. Halaman 47-102, 152-153.
- Harborne, J, B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi II. Padmawinata K, Soediro JI, penerjemah; Bandung: ITB Bandung. Terjemahan dari *Phytochemical Methods*.
- Hasimun, P, E. Y. Sukandar, I.K. Adnyana and D.H. Tjahjono. 2011. *A Simple Method for Screening Antihyperlipidemic Agents*. International Journal of Pharmacology 7 (1): 74-78.
- Hassimotto NM., Genovese MI., Lajolo FM. 2008. Absorption and Metabolism of Cyanidin-3-glucoside and Cyanidin-3-rutinoside extracted From Wild Mulberry (*Morus nigra* L.) in Rats. *Nutr Res* 28: 198-207.
- Heming. 2006. Mengendalikan kolesterol tinggi dengan herba & pola hidup sehat. <http://www.cbnportal.com> (Juni 2016).
- Huda, N. 2015. Aktivitas Penurunan Kadar LDL dan Anti Aterosklerosis Ekstrak Etanol Daun Murbei (*Morus australis* Poir.) Tikus yang diberi Diet Aterogenik [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Hunninghake, D.B., Probstfield, J.L., Crow, L.O., and Isaacson, S.O. 1981. Effect of colestipol and clofibrate on plasma lipid and lipoproteins in type Iia hyperlipoproteinemia. *Metabolism.* 30: 605-609.
- Jin, F.Y., Kamanna, V.S., and Kashyap, M.L. 1999. Niacin accelerates intracellular apoB degradation by inhibiting triacylglycerol synthesis in human hepatoblastoma cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 19: 1051-1059.

- Kartikasari. R. 2015. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Murbei (*Morus alba* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Pada Tikus Putih Hiperlipidemia. [Skripsi] Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Katsube., Takuya., Imawaka., Naoto., Kawano., Yasuhiro., Yamazaki., Yoshimitsu., Shiwaku, Kuninori., and Yamane., Yosuke. 2006. Antioxidant Flavonol Glycosides Mulberry (*Morus alba* L.) Leaves Isolated based on LDL Antioxidant Activity. *Food Chemistry*. 97. pp.25–31.
- Kersten, S., Desvergne, B., and Wahli, W. 2000. Roles of PPARs in health and disease. *Nature*. 405: 421-424.
- Kim S. Y., Gao J. J., and Kang H. K., 2000. Two flavonoids from the leaves of *Morus alba* induce differentiation of the human promyelocytic leukemia (HL-60) cell line. *Biol Pharm Bull*. 23(4):451-5.
- Kim, C.H., Younossi, Z.M. 2008. Non alcoholic Fatty Liver Disease: A Manifestation of the Metabolic Syndrome. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. Pp. 75(10):721-728.
- Krisnansari D, Hapsari AT, Sulistyoningrum E, Prastowo A. 2012. Pengaruh pemberian propolis terhadap profil lipid plasma tikus model hiperkolesterolemia yang diinduksi eksogen dan endogen. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*;4503;106-157.
- Knopp, R.H., Ginsberg, J., Alberts, J.J., Retzlaff, B., and Poole, M. 1985. Constrasting effects of unmodified and time-release forms of niacin on lipoproteins in hyperlipidemic. *Metabolism*. 34: 642-650.
- Knopp, R.H. 1998. Clinical profiels of plain versus sustained-release niacin and the physiologic rationale for nighttime dosing. *Am. J. Cardiol*. 82: 24U-28U.
- Koenam, J.H. 1987. *Pengantar Umum Toksikologi*. Yogyakarta: Gajah mada University Press. Hlm 77-78
- Kwiterovich PO, Jr. 2000. *The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides*. *Am J Cardiol* 86:5-10.
- Lehninger, AL. 2003. *Dasar-dasar biokimia*. Jilid II. Thenawidjaja M, penerjemah; Jakarta: Erlangga. Terjemahan: *Principles of Biochemistry*.
- Lu CF. 1995. Toksikologi dasar. Edisi ke-2. Jakarta: UI press.
- Maki, K.C., Reeves, M.S., Farmer, M., Yasunaga, K., Matsuo, N., Katsuragi, Y., Komikado, M., Tokimitsu, I., Wilder, D., Jones, F., Blumberg, J.B., Cartwright, Y. 2009. *Green Tea Catechin Consumption Enhances Exercise-Induced Abdominal Fat Loss in Overweight and Obese Adults*. *Journal of Nutrition*. Vol. 139, No. 2, 264-270. Available from <http://jn.nutrition.org/cgi/reprint/139/2/264>. Accessed October 14th, 2010.

- Mansjoer *et al.* 2001. *Kabita Selekt Kedokteran*. Jilid 1. Media Aesculapius. Jakarta.
- Markham, K. R. 1982. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB.
- Mathur, P., Das, K.M., Arora, N.K. 2007. Non-alcoholic fatty liver disease and childhood obesity. *Indian J Pediatr*.pp. 74: 401-407.
- Malloy, M.J., Kane, J.P., Kunitake, S.T., and Tun, P. 1987. Complementarity of colestipol, niacin, and lovastatin in treatment of severe familial hypercholesterolemia, *Ann, Intern. Med.* 107: 616-623.
- Malole, M.B.M. dan Pramono, C.S.U. 1989. *Pengantar Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: Pusat Antara Universitas Bioteknologi IPB.
- Mawarti H., Ratnawati R., 2012. Penghambatan peningkatan kadar kolestrol pada diet tinggi lemak oleh Epigallocatechin Gallate (EGCG) teh hijau klon Gmb4.
- McGavin MD, Zachary JF. 2007. *Pathologic Basic Veterinary Disease*. China: Elsevier Inc.
- Muhammad S.Z., Faqir M., Ijaz J., Masood A., Tanweer K., Bilal A., Abdul W., Riffat Y., Hira Z. 2013. White Mulberry (*Morus alba*) A Brief Phytochemical and Pharmacological Evaluations Account. *International Journal Of Agriculture and Biology*.
- Mulyani, S., Mulyohadi, A., Muliarta, K. 2006. Diet aterogenik pada tikus putih sebagai model hewan aterosklerosis. [Skripsi]. Malang: Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.
- Myers P & D Armitage. 2004. *Rattus novergicus*, animal diversity.
- Nilawati S, Krisnatuti D, Mahendra B, Djing OG. 2008. *Care Your Self Kolesterol*. Jakarta: Penebar Plus. Hlm 12.
- North-Lewis, P. 2008. *Drugs and the Liver*. Pharmaceutical Press. London.
- Oh. H. E.K., Ko. J.Y., Jun. M.H., Oh. S.U., Park. 2002. Hepatoprotective and Free Radical Scavenging Activites of prenylflavonoids Coumarin and Stilbene From *Morus alba*. *Planta Med.* 68: 932-934.
- Pagano, C., Soardo, G., Esposito, W., Fallo, F., Basan, L., Donnini, D., et al. 2005. Plasma adiponectin is decreased in nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Endocrinol*. Pp. 152: 113-118.
- Permata sari N. 2012. *Instruksi Kerja Pengambilan Darah, Perlakuan, dan Injeksi Pada Hewan Coba*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Priyambodo S. 2003. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu*. Edisi ke 3. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Pujiono S. 2003. Teknik Persemaian dan Informasi Benih Murbei, Pusat Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan. Yogyakarta.
- Purwanti S. 2012. Antihyperlipidemia effect of 70% ethanol extract of Ridged Gourd fruit in induces high cholesterol and lipid diet male rate. FMIPA. Universitas Indonesia.
- Qureshi MN, Kuchekar BS, Logade NA, Haleem MA. 2010. In-vitro antioxidant and in-vivo hepatoprotective activity of *Leucas ciliata* leaves. *J Record Na Prod* 4:124-130.
- Rahman A. 2007. Pengaruh pemberian abu terbang batubara dan kotoran sapi terhadap sifat kimia tanah podsolik dari Jasinga [skripsi]. Bogor: Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Rahayu, T. 2005. Kadar kolesterol darah tikus putih (*Rattus norvegiucus* L) setelah pemberian cairan kombucha per-oral blood cholesterol degree of white rat after getting kombucha fluid per-oral. [Skripsi]. Surakarta: FKIP, Universitas Muhammadiyah Surakarta.85.
- Rajalaksmi dan Narashiman S. 1996. Food antioxidant: source and methods of evaluation. Hongkong: Marcell dekker Inc hal 65-157.
- Roeschisu P, Bent E. 1979. *Biochem.* Jellin, Chem Clin. London hal: 403-411.
- Ryu, C.H. 1998. *Panduan Teknis Persuteraan Alam, Petunjuk Dasar Persuteraan Alam.* Jawa Barat: PT. Indo Jado sumatera Pratama (Silk Industries). Hlm. 13-15.
- Robinson T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi.* Padamwinata K, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituents of Higher Plants.*
- Sarker, S. D. dan Nahar, L. 2009. Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi Bahan Kimia Organik, Alam Dan Umum. Penerjemah: Abdul Rohman. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. Hal. 365-366
- Sastrohamidjojo. 1996. *Sintesis Bahan Alam.* Cetakan Pertama, Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Shepherd, J., Packard, C.J., Bicker, S., Lawrie, T.D., and Morgan, H.G. 1980. Cholestyramine promotes receptor-mediated low-density-lipoprotein catabolism. *N. Engl. J. Med.* 302: 1219-1222.
- Shepherd, J. 2001. *The role of the exogenous pathway in hypercholesterolemia.* *European heart J* 3 Supl E:2-5
- Shi-Zhou Qi, Na Li, Zheng-dong T, Jia-lin Li, Shan-Shan Xing, Ban-Ban Li, Le Zhang, Hyun-Sun Lee, Jian-Guang Chen. 2016. Effects of morus root bark

- extract and active constituents on blood lipids in hyperlipidemia rats. *Journal of ethnopharmacology*. 180:54-59.
- Smith dan Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia. Hlm 37-38.
- Soemantri S., Budiarmo LR., Sandjaja. 2005. Survei Kesehatan Nasional 2004 Volume 3: Sudut Pandang Masyarakat mengenai status, cakupan, ketanggapan, dan system pelayanan kesehatan [laporan penelitian]. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Sudewo B. 2004. *Tanaman Obat Populer Penggempur Aneka Penyakit*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Sumardjo, D. 2006. Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran Dan Program Strata 1 Fakultas Bioeksakta. Jakarta: EGC.
- Sung-Pil. J., Kim. JK., Lim. YH. 2014. Antihyperlipidemic effects of stilbenoids isolated from *Morus alba* in rats fed a high-cholesterol diet *Food and Chemical Toxicology* 65: 213–218.
- Suyono. 1996. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid 1 edisi 3. Penerbit FKUI: Jakarta. Hlm 714.
- Sugiyanto, 1995. *Petunjuk Praktikum Farmakologi*. Edisi IV. Fakultas Farmasi. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Tebib. K., Rouanet, P. Beasancon. 1994. Effect of Grape Seed Tannins On The Activity of Some Rat intestinal Enzyme Activities, Enzyme Protein. \$8: 51-60.
- Tjay TH, Rahardja K. 1993. Swamedikasi; *Cara-cara Mengobati Gangguan Sehari-hari dengan Obat-Obat Bebas Sederhana*. Jakarta: Depkes RI. HLM 202-204.
- Tjay TH, Rahardja K. 2002. *Obat-Obat Penting*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo
- Tobing, Rangke. 1989. *Kimia Bahan Alam*. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga kependidikan.
- Tobing, Rangke. 1989. *Kimia Bahan Alam*. Jakarta : Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga kependidikan.
- Toyo, E. M. 2015. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Murbei (*Morus australis* Poir.) Terhadap Kadar HDL dan Sel Busa Tikus Putih Jantan Galur Wistar [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

- Triana, E. dan Nurhidayat, N. 2006. Pengaruh pemberian beras difermentasi oleh *Monascus purpurues* jmba terhadap darah tikus putih (*Rattus* sp.) Hiperkolesterolemia. *Biodeversitas*. 7(4): 317-321.
- Valacchi, G., Belmonte, G., Miracco, C., Hyeyoon, and Lim, Y. 2013. Effects of combined mulberry leaf and fruit extract on liver and skin cholesterol transporters in high fat diet-induced obese mice. *Nutr Res Pract* 8(1): 20-26.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press
- Watts, G.F., and Dimmitt, S.B. 1999. Fibrates, dyslipoproteinaemia and cardiovascular disease. *Curr. Opin. Lipidol*. 10: 561-574.
- Wirajaya F., Irmadoly N., Chalista S., Fam FI., Se HS. 2014. Uji aktivitas antidiislipidemia *in vivo* fraksi ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) pada tikus galur wistar yang diinduksi diet tinggi lemak. *Jurnal kedokteran dan kesehatan*, volume 1 : 21-24.
- Wiseman H, Goldfarb P, Ridgway T, Wiseman A, 2000. Biomolecular Free Radical Toxicity: Causes and Prevention. New York: John wiley and sons, Ltd.
- Zeni. A.L.B., M.D. Molin. 2010. Hypotriglyceridemic Effect of *Morus alba* L. Leaves in Hyperlipidemic Rats. *Braz J. Pharmacog*. 20: 130-133.
- Zou, C., Liang, L., Hong, F., Feng, F., Yan, Z. 2005. Serum adiponectin resistin levels and non-alcoholic fatty liver disease in obese children. *Endocr J*.pp. 52: 519-524.

L

A

M

P

9

R

A

N

Lampiran 1. Surat *Ethical Clearance*

HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Dr. Moewardi General Hospital
 RSUD Dr. Moewardi
School of Medicine SebelasMaret University
 Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 892 / X / HREC /2016

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic:
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

AKTIVITAS FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN MURBEI (*Morus australis* Poir.)
 TERHADAP FUNGSI DAN HISTOLOGI HATI TIKUS PUTIH MODEL
 HIPERKOLESTEROLEMIA YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK

Principal investigator : Nurul Huda
 Peneliti Utama SBF091510121

Location Of Research : Laboratorium Pasca Sarjana Ahli Gizi Universitas Gadjah Mada
 Lokasi Tempat Penelitian (PAU UGM)

Is ethically approved
 Dinyatakan laik etik

Issued on : 29 Oktober 2016

Chairman
 Ketua

Dr. Hari Wajoso, dr., Sp.F, MM †
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 2. Surat Keterangan Determinasi



UPT- LABORATORIUM

No : 114/DET/UPT-LAB/12/XI/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

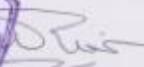
Nama : Nurul Huda
NIM : SBF 091510121
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Murbei (*Morus australis* Poir.)**

Hasil determinasi berdasarkan : **Backer : Flora of Java**
1b - 2b - 3b - 4b - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23b - 24b - 25b - 26b - 27a - 799b - 800a. familia 117. Moraceae. 1b - 2b - 4b - 6b - 8b - 9a - 10a - 11b - 12b. 2. *Morus*. 1b. *Morus australis* Poir.

Deskripsi :

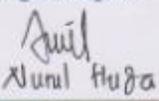
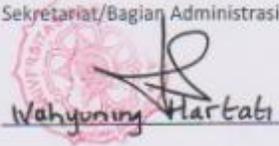
Habitus : Perdu.
Batang : Berkayu, percabangan monopodial.
Daun : Tunggal, ovatus sampai oblongatus, berlobi 3, letak berseling, pangkal subcordatus, ujung acutus, tepi serratus, permukaan kasar.
Bunga : Majemuk tandan, keluar dari ketiak daun. Dalam satu pohon terdapat bunga jantan dan betina.
Buah : Buni, berair, waktu muda hijau, setelah masak hitam.
Akar : Tunggang.
Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff - Groningen - The Netherlands.

Surakarta, 12 November 2016
Ttd. Determinasi

Dr. Sri Wahati Wirjosoendjojo, SU.



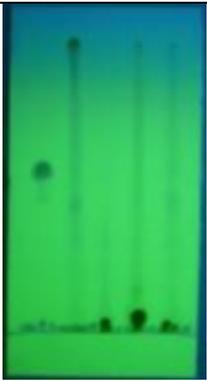
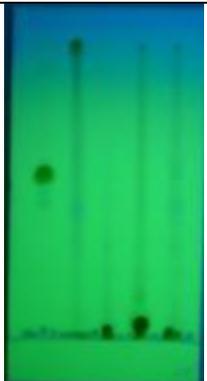
Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 3. Surat keterangan penelitian di Pasca Sarjana UGM

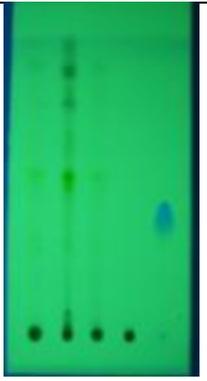
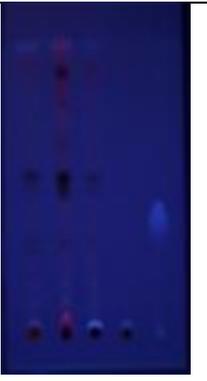
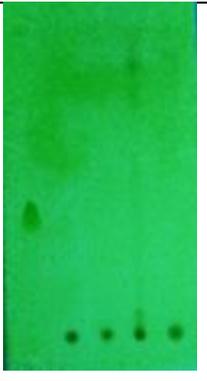
	
UNIVERSITAS GADJAH MADA Pusat Studi Pangan dan Gizi Jln. Teknik Utara, Berek, YOGYAKARTA 55281 Telp. 0274 589242, 6492282 Web : www.cfns.ugm.ac.id Email : cfns@ugm.ac.id	
FORMULIR PEMAKAIAN FASILITAS LABORATORIUM GIZI (HEWAN COBA)	
Nama Mahasiswa/Peneliti	: <u>Nurul Huda</u>
No. Mahasiswa	: <u>602091510121</u>
Jurusan/Fakultas/Universitas	: <u>sa farmasi / farmasi / Univ seba avb</u>
Alamat Rumah dan No. Telp/HP	: <u>di Tegol mulyo RT.03 Kwag solo</u>
Topik Penelitian /Judul	: <u>AKTIVITAS FRAKSI - FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN MURBEI (MORUS ALBA LUS POIR.) TERHADAP FUNGSI DAN HISTOLOGI HATI TIKUS HIPERKOLESTEROLEMIA YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK</u>
Mulai bekerja pada tanggal	: <u>01 November 2016</u>
Rencana penyelesaian tanggal	: <u>01 Desember 2016</u>
Diperpanjang sampai tanggal	: _____
Bekerja di laboratorium	: <u>1. Gizi</u>
	Yogyakarta, <u>20 Oktober 2016</u>
Mahasiswa /Peneliti	Pembimbing Tesis/Skripsi
Yang bersangkutan	Dekan Fakultas/Pimpinan Lembaga
 <u>Nurul Huda</u>	<u>Terlampir</u>
Mengetahui :	
Sekretariat/Bagian Administrasi	Kepala/Teknisi Lab Gizi
 <u>Wahyuning Hartati</u>	 _____

Lampiran 4. Hasil kualitatif kandungan kimia daun murbei

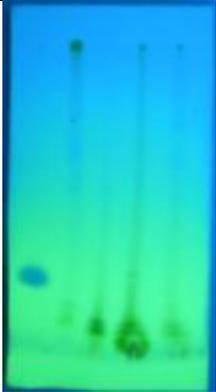
Hasil identifikasi flavonoid

Senyawa	Sebelum disemprot		Cahaya tampak	Setelah disemprot	
	UV 254	UV366		UV 254	UV366
Flavonoid					
	a b c d e	a b c d e	a b c d e	a b c d e	a b c d e

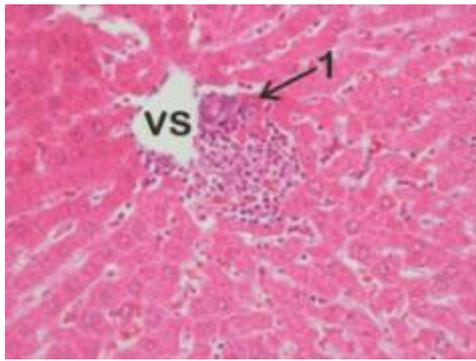
Hasil identifikasi alkaloid

Senyawa	Sebelum disemprot		Cahaya tampak	Setelah disemprot	
	UV 254	UV366		UV 254	UV366
Alkaloid					
	a b c d e	a b c d e	a b c d e	a b c d e	a b c d e

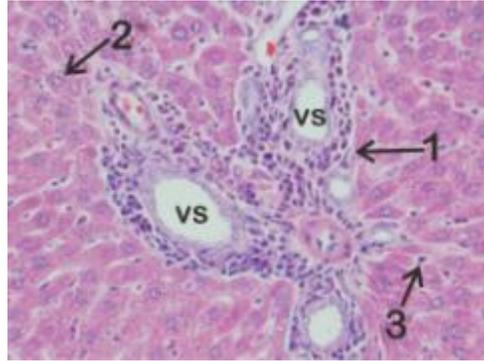
Hasil identifikasi polifenol

Senyawa	Sebelum disemprot		Cahaya tampak	Setelah disemprot	
	UV 254	UV366		UV 254	UV366
Polifenol					
	a b c d e	a b c d e	a b c d e	a b c d e	a b c d e

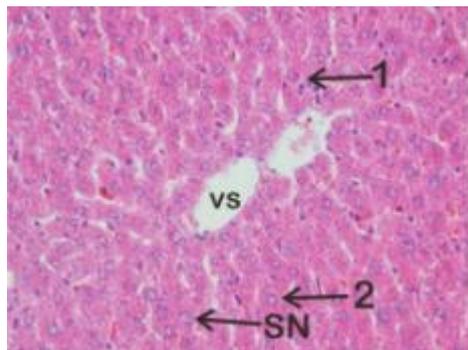
Lampiran 5. Histopatologi hewan uji



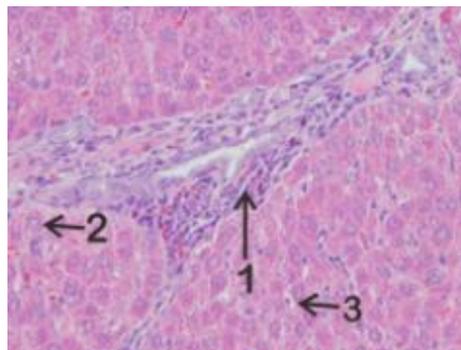
Kelompok normal



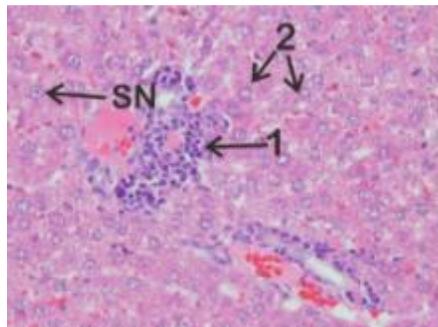
Kelompok negatif cmc



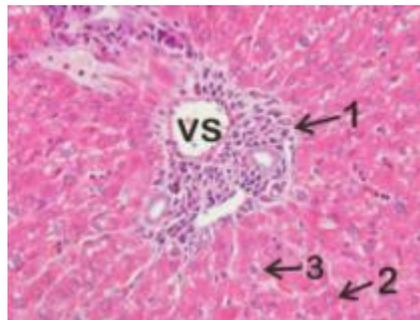
Kelompok positif simvastatin



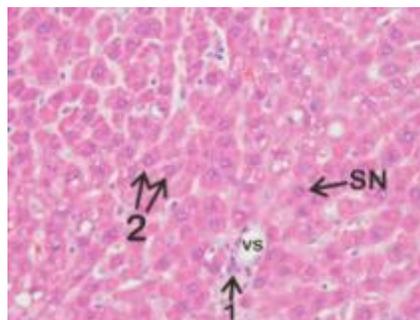
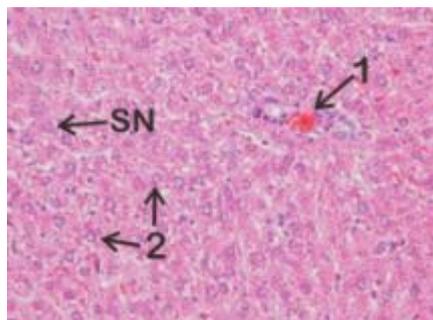
Kelompok positif gemfibrozil



Kelompok ekstrak 100 mg/200



Kelompok Fraksi n-heksan 12 mg/200 g



Lampiran 6. Perhitungan rendemen dan dosis Fraksi-Fraksi

Lampiran 7. Contoh perhitungan volume pemberian ekstrak etanol & fraksi-fraksi daun murbei

Penentuan dosis ekstrak daun murbei berdasarkan dosis efektif pada penelitian terdahulu oleh Huda (2015) adalah 100 mg / kg / hari.

Dosis ekstrak daun murbei 100 mg / 200 g BB tikus

Pengambilan darah T₁

N	BB	Dosis	Volume pemberian
1	219	219 g BB × 100 mg = 109,5 mg	219 g BB × 2 ml = 2,19 ml
		200 g BB	200 g BB
2	228	228 g BB × 100 mg = 114 mg	228 g BB × 2 ml = 2,28 ml
		200 g BB	200 g BB
3	225	225 g BB × 100 mg = 112,5 mg	225 g BB × 2 ml = 2,25 ml
		200 g BB	200 g BB
4	234	234 g BB × 100 mg = 117 mg	234 g BB × 2 ml = 2,34 ml
		200 g BB	200 g BB
5	228	228 g BB × 100 mg = 114 mg	228 g BB × 2 ml = 2,28 ml
		200 g BB	200 g BB

Lampiran 8. Hasil pengukuran berat badan tikus

NO	N	Kelompok Normal	Kelompok Negatif CMC	Kelompok Positif Simvastatin	Kelompok Positif Gemfibrozil	Kelompok Ekstrak 100 mg/200g BB	Kelompok Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	Kelompok Fraksi Etilasetat 8mg/200g BB	Kelompok Fraksi Air 80 mg/200g BB
T0	1	192	205	201	202	190	203	190	203
	2	186	198	195	198	199	187	195	188
	3	194	196	193	201	197	205	193	202
	4	202	199	199	194	204	199	187	204
	5	190	198	192	198	198	198	189	198
		192,8 ± 5,93	199,2 ± 3,42	196 ± 3,87	198,6 ± 3,13	197,6 ± 5,03	198,4 ± 6,99	190,8 ± 3,19	199 ± 6,56
T28	1	211	234	231	231	219	229	218	233
	2	205	227	223	226	228	216	224	217
	3	214	223	221	229	225	234	223	230
	4	222	228	228	222	234	228	215	232
	5	210	226	220	226	228	227	217	228
		199,2 ± 3,42	227,6 ± 4,04	224,6 ± 4,72	226,8 ± 3,42	226,8 ± 5,45	226,8 ± 6,61	219,4 ± 3,91	228 ± 6,44
T35	1	217	242	237	236	227	237	225	240
	2	210	238	230	232	235	223	230	223
	3	220	231	228	236	231	240	228	235
	4	229	238	235	229	242	233	222	239
	5	215	235	226	231	235	231	224	233

		218,2 ± 7,05	236,8 ± 4,09	231,2 ± 4,66	232,8 ± 3,11	234 ± 5,57	232,8 ± 6,50	225,8 ± 3,19	234 ± 6,78
T42	1	223	253	243	244	233	240	231	244
	2	219	246	234	237	244	228	236	230
	3	225	244	232	241	239	246	234	241
	4	235	247	238	232	247	240	228	245
	5	221	245	230	238	242	239	230	240
		224,6 ± 6,23	247 ± 3,54	235,4 ± 5,18	238,4 ± 4,51	241 ± 5,34	238,6 ± 6,54	231,8 ± 3,19	240 ± 5,96

Lampiran 9. Hasil pengukuran Lemak Absolut

	N	Kelompok Normal	Kelompok Negatif CMC	Kelompok Positif Simvastatin	Kelompok Positif Gemfibrozil	Kelompok Ekstrak 100 mg/200g BB	Kelompok Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	Kelompok Fraksi Etilasetat 8mg/200g BB	Kelompok Fraksi Air 80 mg/200g BB
Lemak Abdomen	1	0,7512	2,6128	2,9387	1,1631	1,3788	1,5262	0,9903	2,3177
	2	0,5408	4,0392	2,5025	1,0844	2,2920	1,6725	1,5262	2,6997
	3	0,1990	4,2194	1,3889	0,9031	1,8845	1,6263	1,2939	3,0279
	4	0,9196	5,835	1,4287	0,9217	2,1372	0,4558	1,3924	2,6494
	5	0,8183	3,8167	1,4033	1,0864	1,1083	1,3875	1,6045	2,5786
		0,65 ± 0,27	4,10 ± 1,15	1,93 ± 0,74	1,03 ± 0,11	1,76 ± 0,50	1,33 ± 0,50	1,36 ± 0,24	2,65 ± 0,26
Lemak Absolut	1	0,337	1,032	1,209	0,476	0,592	0,636	0,429	0,949
	2	0,247	1,642	1,069	0,458	0,939	0,734	0,647	1,174
	3	0,088	1,729	0,599	0,374	0,788	0,661	0,553	1,256
	4	0,391	2,363	0,600	0,397	0,865	0,398	0,611	1,081
	5	0,370	1,558	0,610	0,456	0,458	0,581	0,698	1,074
		0,29 ± 0,12	1,66 ± 0,48	0,82 ± 0,29	0,43 ± 0,04	0,73 ± 0,19	0,60 ± 0,10	0,59 ± 0,10	1,12 ± 0,12

Lampiran 10. Hasil pengukuran kadar AST serum darah tikus putih

NO	N	Kelompok Normal	Kelompok Negatif CMC	Kelompok Positif Simvastatin	Kelompok Ekstrak 100 mg/200g BB	Kelompok Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	Kelompok Fraksi Etilasetat 8mg/200g BB	Kelompok Fraksi Air 80 mg/200g BB
T0	1	32,04	32,53	33,01	32,53	33,50	190	203
	2	33,99	33,01	33,99	32,53	33,01	195	188
	3	31,56	31,56	32,04	35,44	34,96	193	202
	4	32,53	33,50	33,99	33,99	31,07	187	204
	5	33,99	32,04	34,47	32,04	33,99	189	198
		32,82 ± 1,12	32,53 ± 0,77	33,50 ± 0,97	33,31 ± 1,40	33,31 ± 1,44	190,8 ± 3,19	199 ± 6,56
T28	1	33,50	77,19	75,25	77,19	75,74	218	233
	2	33,01	78,65	76,22	79,14	75,25	224	217
	3	33,01	76,22	79,14	76,22	74,77	223	230
	4	32,53	79,14	79,62	75,25	76,71	215	232
	5	33,50	76,71	78,65	75,74	78,65	217	228
		33,11 ± 0,41	77,58 ± 1,26	77,78 ± 1,92	76,71 ± 1,54	76,22 ± 1,54	219,4 ± 3,91	228 ± 6,44
T35	1	33,99	71,37	66,03	66,03	68,94	225	240
	2	33,50	72,83	68,94	66,51	65,54	230	223
	3	33,01	66,03	65,54	66,51	66,03	228	235
	4	32,53	76,22	66,51	65,54	66,51	222	239
	5	33,99	70,40	70,88	69,43	71,85	224	233
		33,40 ± 0,63	71,37 ± 3,71	67,58 ± 2,26	66,80 ± 1,52	67,78 ± 2,63	225,8 ± 3,19	234 ± 6,78

T42	1	33,01	77,68	35,44	58,75	43,70	231	244
	2	33,50	79,14	34,47	58,26	46,61	236	230
	3	34,47	77,19	37,87	57,77	43,21	234	241
	4	33,01	81,08	36,41	59,72	44,67	228	245
	5	33,99	77,19	35,93	61,66	43,21	230	240
		33,60 ± 0,63	78,46 ± 1,67	36,02 ± 1,26	59,23 ± 1,56	44,28 ± 1,43	231,8 ± 3,19	240 ± 5,96

Lampiran 11. Hasil pengukuran kadar ALT serum darah tikus putih

NO	N	Kelompok Normal	Kelompok Negatif CMC	Kelompok Positif Simvastatin	Kelompok Ekstrak 100 mg/200g BB	Kelompok Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	Kelompok Fraksi Etilasetat 8mg/200g BB	Kelompok Fraksi Air 80 mg/200g BB
T0	1	19,42	18,93	18,93	17,96	18,93	19,42	19,91
	2	19,42	18,93	18,93	19,42	17,96	18,93	19,42
	3	17,96	17,96	18,45	18,93	18,45	19,91	18,93
	4	18,93	18,93	19,42	17,96	17,96	18,45	19,42
	5	18,45	19,42	17,96	16,51	18,45	18,45	19,91
		18,84 ± 0,63	18,84 ± 0,53	18,74 ± 0,55	18,16 ± 1,12	18,35 ± 1,44	19,03 ± 0,63	19,52 ± 0,41
T28	1	18,93	39,81	38,84	38,84	36,41	38,84	36,41
	2	17,96	38,84	37,87	38,35	38,35	37,87	36,90
	3	18,93	36,90	36,41	37,87	37,87	39,33	37,38
	4	18,45	35,93	38,35	37,38	38,84	38,35	38,35
	5	18,93	35,44	36,41	36,90	36,90	39,81	37,87
		18,64 ± 0,43	37,38 ± 1,88	37,58 ± 1,12	37,87 ± 0,77	37,67 ± 1,01	38,84 ± 0,77	37,38 ± 0,77
T35	1	18,45	33,01	27,19	32,53	33,50	29,62	32,53
	2	17,96	33,50	27,19	32,04	32,04	28,64	33,50
	3	18,45	33,99	26,70	33,01	33,50	30,10	33,01
	4	18,93	33,01	27,19	33,50	33,01	27,67	33,50
	5	18,45	33,50	27,67	32,53	33,99	28,16	33,99
		18,45 ± 0,34	33,40 ± 0,41	27,19 ± 0,34	32,72 ± 0,55	33,27 ± 0,74	28,84 ± 1,01	33,31 ± 0,55

T42	1	19,42	40,30	22,33	29,13	23,30	21,36	30,10
	2	19,42	39,33	22,82	31,07	23,79	21,85	29,62
	3	16,99	37,38	21,36	30,59	23,79	20,39	30,59
	4	18,93	36,41	23,79	28,16	24,28	21,36	31,56
	5	19,42	35,93	21,36	29,62	23,30	20,88	30,59
		18,84 ± 1,05	37,87 ± 1,88	22,33 ± 1,03	29,71 ± 1,16	23,69 ± 0,41	21,17 ± 0,55	30,49 ± 0,72

Lampiran 12. Contoh hasil analisis statistik kadar AST & ALT

❖ **Uji normalitas dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov***

➤ **Hasil Terdistribusi Normal T0**

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar SGOT	Kadar SGPT
N		35	35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	33.2229	18.7806
	Std. Deviation	1.33995	.72448
Most Extreme Differences	Absolute	.117	.182
	Positive	.106	.104
	Negative	-.117	-.182
Kolmogorov-Smirnov Z		.689	1.075
Asymp. Sig. (2-tailed)		.729	.198

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

➤ **Hasil Terdistribusi Normal T1**

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar SGOT	Kadar SGPT
N		30	30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	77.2583	37.7873
	Std. Deviation	1.76605	1.14092
Most Extreme Differences	Absolute	.155	.129
	Positive	.155	.115
	Negative	-.094	-.129
Kolmogorov-Smirnov Z		.850	.706
Asymp. Sig. (2-tailed)		.465	.701

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

➤ **Hasil Terdistribusi Normal T2**

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Sgot	KadarSGPT
N		30	30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	69.0213	31.4440
	Std. Deviation	3.13193	2.59049
Most Extreme Differences	Absolute	.222	.262
	Positive	.222	.163
	Negative	-.133	-.262
Kolmogorov-Smirnov Z		1.216	1.438
Asymp. Sig. (2-tailed)		.104	.032

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

➤ **Hasil Terdistribusi Normal T3**

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar SGOT	Kadar SGPT
N		35	35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	49.7429	26.3006
	Std. Deviation	15.36526	6.34928
Most Extreme Differences	Absolute	.172	.197
	Positive	.172	.197
	Negative	-.138	-.094
Kolmogorov-Smirnov Z		1.019	1.163
Asymp. Sig. (2-tailed)		.250	.134

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

➤ **Two Way Anova****1. Kelompok Perlakuan**

Dependent Variable	Kelompok Perlakuan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Kadar SGOT	Normal	33.233	.400	32.441	34.025
	(-) CMC Na	64.984	.400	64.192	65.776
	(+) Simvastatin	53.720	.400	52.928	54.512
	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	59.012	.400	58.221	59.804
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	55.396	.400	54.604	56.188
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	54.375	.400	53.583	55.167
	Fraksi Air 80mg/200g BB	60.518	.400	59.726	61.309
Kadar SGPT	Normal	18.690	.195	18.303	19.077
	(-) CMC Na	31.873	.195	31.486	32.259
	(+) Simvastatin	26.459	.195	26.072	26.845
	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	29.615	.195	29.228	30.002
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	28.231	.195	27.844	28.618
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	26.970	.195	26.583	27.356
	Fraksi Air 80mg/200g BB	30.174	.195	29.788	30.561

2. Waktu Perlakuan

Dependent Variable	Waktu Perlakuan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Kadar SGOT	T.0	33.223	.302	32.624	33.821
	T.1	70.951	.302	70.353	71.550
	T.2	63.933	.302	63.335	64.532
	T.3	49.743	.302	49.144	50.341
Kadar SGPT	T.0	18.781	.148	18.488	19.073
	T.1	35.052	.148	34.759	35.345
	T.2	29.587	.148	29.295	29.880
	T.3	26.301	.148	26.008	26.593

Dependent Variable	Kelompok Perlakuan	Waktu Perlakuan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kadar SGOT	Normal	T.0	32.822	.799	31.239	34.405
		T.1	33.110	.799	31.527	34.693
		T.2	33.404	.799	31.821	34.987
		T.3	33.596	.799	32.013	35.179
	(-) CMC Na	T.0	32.528	.799	30.945	34.111
		T.1	77.582	.799	75.999	79.165
		T.2	71.370	.799	69.787	72.953
		T.3	78.456	.799	76.873	80.039
	(+) Simvastatin	T.0	33.500	.799	31.917	35.083
		T.1	77.776	.799	76.193	79.359
		T.2	67.580	.799	65.997	69.163
		T.3	36.024	.799	34.441	37.607
	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	T.0	33.306	.799	31.723	34.889
		T.1	76.708	.799	75.125	78.291
		T.2	66.804	.799	65.221	68.387
		T.3	59.232	.799	57.649	60.815
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	T.0	33.306	.799	31.723	34.889
		T.1	76.224	.799	74.641	77.807
		T.2	67.774	.799	66.191	69.357
		T.3	44.280	.799	42.697	45.863
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	T.0	33.112	.799	31.529	34.695
		T.1	77.776	.799	76.193	79.359
		T.2	68.162	.799	66.579	69.745
		T.3	38.450	.799	36.867	40.033
	Fraksi Air 80mg/200g BB	T.0	33.986	.799	32.403	35.569
		T.1	77.484	.799	75.901	79.067
		T.2	72.438	.799	70.855	74.021
		T.3	58.162	.799	56.579	59.745
Kadar SGPT	Normal	T.0	18.836	.391	18.062	19.610
		T.1	18.640	.391	17.866	19.414
		T.2	18.448	.391	17.674	19.222
		T.3	18.836	.391	18.062	19.610
	(-) CMC Na	T.0	18.834	.391	18.060	19.608
		T.1	37.384	.391	36.610	38.158
		T.2	33.402	.391	32.628	34.176
		T.3	37.870	.391	37.096	38.644
	(+) Simvastatin	T.0	18.738	.391	17.964	19.512
		T.1	37.576	.391	36.802	38.350

	T.2	27.188	.391	26.414	27.962
	T.3	22.332	.391	21.558	23.106
Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	T.0	18.156	.391	17.382	18.930
	T.1	37.868	.391	37.094	38.642
	T.2	32.722	.391	31.948	33.496
	T.3	29.714	.391	28.940	30.488
Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	T.0	18.350	.391	17.576	19.124
	T.1	37.674	.391	36.900	38.448
	T.2	33.208	.391	32.434	33.982
	T.3	23.692	.391	22.918	24.466
Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	T.0	19.032	.391	18.258	19.806
	T.1	38.840	.391	38.066	39.614
	T.2	28.838	.391	28.064	29.612
	T.3	21.168	.391	20.394	21.942
Fraksi Air 80mg/200g BB	T.0	19.518	.391	18.744	20.292
	T.1	37.382	.391	36.608	38.156
	T.2	33.306	.391	32.532	34.080
	T.3	30.492	.391	29.718	31.266

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Kelompok Perlakuan	(J) Kelompok Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Kadar SGOT	Normal	(-) CMC Na	-31.7510 ^{ab}	.56508	.000	-33.4477	-30.0543
		(+) Simvastatin	-20.4870 ^a	.56508	.000	-22.1837	-18.7903
		Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	-25.7795 ^a	.56508	.000	-27.4762	-24.0828
		Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	-22.1630 ^a	.56508	.000	-23.8597	-20.4663
		Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	-21.1420 ^a	.56508	.000	-22.8387	-19.4453
		Fraksi Air 80mg/200g BB	-27.2845 ^a	.56508	.000	-28.9812	-25.5878
		(-) CMC Na	Normal	31.7510 ^{ab}	.56508	.000	30.0543
	(+) Simvastatin	Normal	11.2640 ^a	.56508	.000	9.5673	12.9607
		Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	5.9715 ^a	.56508	.000	4.2748	7.6682
		Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	9.5880 ^a	.56508	.000	7.8913	11.2847
		Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	10.6090 ^a	.56508	.000	8.9123	12.3057
		Fraksi Air 80mg/200g BB	4.4665 ^a	.56508	.000	2.7698	6.1632
		Normal	(+)	20.4870 ^a	.56508	.000	18.7903

Simvastatin	(-) CMC Na	-11.2640 st	.56508	.000	-12.9607	-9.5673
	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	-5.2925 st	.56508	.000	-6.9892	-3.5958
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	-1.6760	.56508	.055	-3.3727	.0207
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	-.6550	.56508	.908	-2.3517	1.0417
	Fraksi Air 80mg/200g BB	-6.7975 st	.56508	.000	-8.4942	-5.1008
Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	Normal	25.7795 st	.56508	.000	24.0828	27.4762
	(-) CMC Na	-5.9715 st	.56508	.000	-7.6682	-4.2748
	(+) Simvastatin	5.2925 st	.56508	.000	3.5958	6.9892
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	3.6165 st	.56508	.000	1.9198	5.3132
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	4.6375 st	.56508	.000	2.9408	6.3342
	Fraksi Air 80mg/200g BB	-1.5050	.56508	.118	-3.2017	.1917
Fraksi n- Heksan 12mg/200g BB	Normal	22.1630 st	.56508	.000	20.4663	23.8597
	(-) CMC Na	-9.5880 st	.56508	.000	-11.2847	-7.8913
	(+) Simvastatin	1.6760	.56508	.055	-.0207	3.3727
	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	-3.6165 st	.56508	.000	-5.3132	-1.9198
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	1.0210	.56508	.546	-.6757	2.7177
	Fraksi Air 80mg/200g BB	-5.1215 st	.56508	.000	-6.8182	-3.4248
Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	Normal	21.1420 st	.56508	.000	19.4453	22.8387
	(-) CMC Na	-10.6090 st	.56508	.000	-12.3057	-8.9123
	(+) Simvastatin	.6550	.56508	.908	-1.0417	2.3517
	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	-4.6375 st	.56508	.000	-6.3342	-2.9408
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	-1.0210	.56508	.546	-2.7177	.6757
	Fraksi Air 80mg/200g BB	-6.1425 st	.56508	.000	-7.8392	-4.4458
Fraksi Air 80mg/200g BB	Normal	27.2845 st	.56508	.000	25.5878	28.9812
	(-) CMC Na	-4.4665 st	.56508	.000	-6.1632	-2.7698
	(+) Simvastatin	6.7975 st	.56508	.000	5.1008	8.4942
	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	1.5050	.56508	.118	-.1917	3.2017
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	5.1215 st	.56508	.000	3.4248	6.8182
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	6.1425 st	.56508	.000	4.4458	7.8392
Kadar SGPT	Normal					
	(-) CMC Na	-13.1825 st	.27619	.000	-14.0118	-12.3532
	(+) Simvastatin	-7.7685 st	.27619	.000	-8.5978	-6.9392

	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	-10.9250 ^{ab}	.27619	.000	-11.7543	-10.0957
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	-9.5410 ^{ab}	.27619	.000	-10.3703	-8.7117
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	-8.2795 ^{ab}	.27619	.000	-9.1088	-7.4502
	Fraksi Air 80mg/200g BB	-11.4845 ^{ab}	.27619	.000	-12.3138	-10.6552
(-) CMC Na	Normal	13.1825 ^{ab}	.27619	.000	12.3532	14.0118
	(+) Simvastatin	5.4140 ^{ab}	.27619	.000	4.5847	6.2433
	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	2.2575 ^{ab}	.27619	.000	1.4282	3.0868
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	3.6415 ^{ab}	.27619	.000	2.8122	4.4708
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	4.9030 ^{ab}	.27619	.000	4.0737	5.7323
	Fraksi Air 80mg/200g BB	1.6980 ^{ab}	.27619	.000	.8687	2.5273
(+) Simvastatin	Normal	7.7685 ^{ab}	.27619	.000	6.9392	8.5978
	(-) CMC Na	-5.4140 ^{ab}	.27619	.000	-6.2433	-4.5847
	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	-3.1565 ^{ab}	.27619	.000	-3.9858	-2.3272
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	-1.7725 ^{ab}	.27619	.000	-2.6018	-.9432
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	-.5110	.27619	.517	-1.3403	.3183
	Fraksi Air 80mg/200g BB	-3.7160 ^{ab}	.27619	.000	-4.5453	-2.8867
Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	Normal	10.9250 ^{ab}	.27619	.000	10.0957	11.7543
	(-) CMC Na	-2.2575 ^{ab}	.27619	.000	-3.0868	-1.4282
	(+) Simvastatin	3.1565 ^{ab}	.27619	.000	2.3272	3.9858
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	1.3840 ^{ab}	.27619	.000	.5547	2.2133
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	2.6455 ^{ab}	.27619	.000	1.8162	3.4748
	Fraksi Air 80mg/200g BB	-.5595	.27619	.405	-1.3888	.2698
Fraksi n- Heksan 12mg/200g BB	Normal	9.5410 ^{ab}	.27619	.000	8.7117	10.3703
	(-) CMC Na	-3.6415 ^{ab}	.27619	.000	-4.4708	-2.8122
	(+) Simvastatin	1.7725 ^{ab}	.27619	.000	.9432	2.6018
	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	-1.3840 ^{ab}	.27619	.000	-2.2133	-.5547
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	1.2615 ^{ab}	.27619	.000	.4322	2.0908
	Fraksi Air 80mg/200g BB	-1.9435 ^{ab}	.27619	.000	-2.7728	-1.1142
Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	Normal	8.2795 ^{ab}	.27619	.000	7.4502	9.1088
	(-) CMC Na	-4.9030 ^{ab}	.27619	.000	-5.7323	-4.0737
	(+) Simvastatin	.5110	.27619	.517	-.3183	1.3403

	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus		-2.6455 ^a	.27619	.000	-3.4748	-1.8162
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB		-1.2615 ^a	.27619	.000	-2.0908	-4.322
	Fraksi Air 80mg/200g BB		-3.2050 ^a	.27619	.000	-4.0343	-2.3757
Fraksi Air 80mg/200g BB	Normal		11.4845 ^a	.27619	.000	10.6552	12.3138
	(-) CMC Na		-1.6980 ^a	.27619	.000	-2.5273	-8.687
	(+) Simvastatin		3.7160 ^a	.27619	.000	2.8867	4.5453
	Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus		.5595	.27619	.405	-.2698	1.3888
	Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB		1.9435 ^a	.27619	.000	1.1142	2.7728
	Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB		3.2050 ^a	.27619	.000	2.3757	4.0343

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,763.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

➤ Uji Homogen Kelompok Perlakuan

Kadar SGOT

Tukey HSD^{a,b,c}

Kelompok Perlakuan	N	Subset			
		1	2	3	4
Normal	20	33.2330			
(+) Simvastatin	20		53.7200		
Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	20		54.3750		
Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	20		55.3960		
Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	20			59.0125	
Fraksi Air 80mg/200g BB	20			60.5175	
(-) CMC Na	20				64.9840
Sig.		1.000	.055	.118	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3,193.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20,000.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = ,05.

Kadar SGPT

Tukey HSD^{a,b,c}

Kelompok Perlakuan	N	Subset				
		1	2	3	4	5
Normal	20	18.6900				
(+) Simvastatin	20		26.4585			
Fraksi Etil Asetat 8mg/200g BB	20		26.9695			
Fraksi n-Heksan 12mg/200g BB	20			28.2310		
Ekstrak Etanol 100mg/200g BB tikus	20				29.6150	
Fraksi Air 80mg/200g BB	20				30.1745	
(-) CMC Na	20					31.8725
Sig.		1.000	.517	1.000	.405	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,763.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20,000.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = ,05.

- Waktu Perlakuan

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Waktu Perlakuan	(J) Waktu Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Kadar SGOT	T.0	T.1	-37.7286 ^a	.42716	.000	-38.8426	-36.6145
		T.2	-30.7103 ^a	.42716	.000	-31.8243	-29.5963
		T.3	-16.5200 ^a	.42716	.000	-17.6340	-15.4060
	T.1	T.0	37.7286 ^a	.42716	.000	36.6145	38.8426
		T.2	7.0183 ^a	.42716	.000	5.9043	8.1323
		T.3	21.2086 ^a	.42716	.000	20.0945	22.3226
	T.2	T.0	30.7103 ^a	.42716	.000	29.5963	31.8243
		T.1	-7.0183 ^a	.42716	.000	-8.1323	-5.9043
		T.3	14.1903 ^a	.42716	.000	13.0763	15.3043
	T.3	T.0	16.5200 ^a	.42716	.000	15.4060	17.6340
		T.1	-21.2086 ^a	.42716	.000	-22.3226	-20.0945
		T.2	-14.1903 ^a	.42716	.000	-15.3043	-13.0763
Kadar SGPT	T.0	T.1	-16.2714 ^a	.20878	.000	-16.8159	-15.7269
		T.2	-10.8069 ^a	.20878	.000	-11.3514	-10.2624
		T.3	-7.5200 ^a	.20878	.000	-8.0645	-6.9755
	T.1	T.0	16.2714 ^a	.20878	.000	15.7269	16.8159
		T.2	5.4646 ^a	.20878	.000	4.9201	6.0091
		T.3	8.7514 ^a	.20878	.000	8.2069	9.2959

T.2	T.0	10.8069 [*]	.20878	.000	10.2624	11.3514
	T.1	-5.4646 [*]	.20878	.000	-6.0091	-4.9201
	T.3	3.2869 [*]	.20878	.000	2.7424	3.8314
T.3	T.0	7.5200 [*]	.20878	.000	6.9755	8.0645
	T.1	-8.7514 [*]	.20878	.000	-9.2959	-8.2069
	T.2	-3.2869 [*]	.20878	.000	-3.8314	-2.7424

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,763.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

➤ Uji Homogen Waktu Perlakuan

Kadar SGOT

Tukey HSD^{a,b,c}

Waktu Perlakuan	N	Subset			
		1	2	3	4
T.0	35	33.2229			
T.3	35		49.7429		
T.2	35			63.9331	
T.1	35				70.9514
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3,193.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 35,000.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = ,05.

Kadar SGPT

Tukey HSD^{a,b,c}

Waktu Perlakuan	N	Subset			
		1	2	3	4
T.0	35	18.7806			
T.3	35		26.3006		
T.2	35			29.5874	
T.1	35				35.0520
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,763.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 35,000.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = ,05.