

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz)
TERHADAP KADAR TRIGLISERIDA DAN HISTOPATOLOGI HEPAR
TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR**



Oleh :

**Muhammad Abi Rohman
19134014A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz)
TERHADAP KADAR TRIGLISERIDA DAN HISTOPATOLOGI HEPAR
TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S. Farm)
Prog Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Muhammad Abi Rohman
19134014A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz)
TERHADAP KADAR TRIGLISERIDA DAN HISTOPATOLOGI HEPAR
TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR**

Oleh :

**Muhammad Abi Rohman
19134014A**


Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 20-Juli-2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

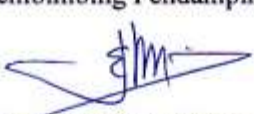
Dekan,

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

Pembimbing,


Fransiska Leviana, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,


Tri Wijayanti, MPH, Apt.
Penguji :

1. Drs. Mardiyono, M.Si.
2. Sunarti, M.Sc., Apt.
3. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.
4. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt.

1. 
2. 
3. 
4. 

PERSEMBAHAN

Syukur kepadamu ya Allah, atas limpahan karuniaMu, atas segala nikmat dariMu yang tak bisa kuhitung, atas perlindunganMu, atas ujianMu. Engkaulah yang Maha Pemurah lagi Maha Penyayang. Sholawat serta salam kepadamu ya Rasulullah atas perjuangan dan tauladan yang engkau berikan

Skripsi ini penulis persembahkan untuk :

Bapak dan Ibu

Sunardi – Nur Rodiyah

Yang telah membesarkan penulis, atas perjuanganmu, do'amu, cintamu, kasih sayangmu yang telah mengalir tiada batas.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi 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 atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, 20 juli 2017

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Abi Rohman', with a stylized flourish at the end.

Muhammad Abi Rohman

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) TERHADAP KADAR TRIGLISERIDA DAN HITOPATOLOGI HEPAR TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, untuk itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA. selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt, selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, arahan, nasehat, perhatian dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Tri Wijayanti, MPH, Apt, selaku dosen pembimbing pendamping yang telah banyak membantu penulis dalam memberikan bimbingan, pengarahan, dan koreksi pada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan, kritik, dan saran dalam penyempurnaan skripsi ini.
6. Segenap dosen, karyawan dan staf laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran skripsi ini.
7. Perpustakaan Universitas Setia Budi.
8. Bapak Sunardi dan Ibu Nur Rodiyah selaku orang tua, serta keluarga tercinta trimakasih yang selalu memberi semangat, do'a, cinta, dan kasih sayang. sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Sahabat-sahabatku TEORI 5 2013, FKK 4 2013, dan grup GLB, serta teman-teman yang lain terima kasih untuk doa, semangat, dan perhatiannya.

10. Terima kasih kepada Ari WO sebagai TEAM skripsi. Terima kasih untuk Venesya Airrizha Lubis telah memberikan dukungan, doa, semangat dan perhatian yang tulus.
11. Keluarga besar Himpunan Mahasiswa Jurusan S1 Farmasi terima kasih atas kesempatan yang telah diberikan untuk belajar dan memahami organisasi serta rasa kekeluargaan dan persaudaraannya.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini, untuk itu kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang mempelajarinya.

Surakarta, 20 Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Ashitaba.....	5
1. Sistematika tanaman.....	5
2. Nama daerah.....	5
3. Morfologi tanaman.....	5
4. Kandungan zat kimia.....	6
4.1 Alkaloid.....	6
4.2 Saponin	6
4.3 Flavonoid	7
4.4 Tanin	7
5. Khasiat.....	7
B. Metode Ekstraksi Simplisia.....	8
1. Pengertian simplisia	8

2.	Pengumpulan simplisia.....	8
3.	Pengeringan simplisia.....	8
4.	Pelarut.....	9
5.	Metode ekstraksi.....	9
5.1	Maserasi.....	10
C.	Trigliserida	10
1.	Pengertian trigliserida.....	10
2.	Struktur kimia trigliserida	11
3.	Fungsi trigliserida dalam tubuh.....	11
4.	Metabolisme trigliserida.....	12
4.1	Jalur eksogen.....	12
4.2	Jalur endogen trigliserida	12
5.	Metabolisme trigliserida di hepar.....	12
6.	Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar trigliserida.....	13
7.	Metode pengukuran trigliserida.....	13
D.	Hipertrigeliseridemia.....	14
E.	Gemfibrozil.....	15
1.	Pengertian gemfibrozil	15
2.	Mekanisme kerja gemfibrozil.....	16
F.	Hewan Uji.....	16
1.	Sistematika tikus putih	16
2.	Karakteristik utama tikus putih	17
3.	Kandang dan perawatan	17
4.	Induksi hipertrigliseridemia	18
G.	Organ Hepar	19
1.	Pengertian hati	19
2.	Struktur hati	19
3.	Fungsi hati	19
3.1	Fungsi metabolik.....	20
3.2	Fungsi pembentukan dan ekskresi empedu.....	20
3.3	Fungsi vaskular hati	20
3.4	Fungsi pertahanan tubuh.....	20
4.	Kerusakan hati	20
4.1	Perlemakan hati.....	21
4.2	Nekrosis hati	21
4.3	Sirosis hati.....	21
4.4	Ensefalopati hepatica	21
5.	Histopatologi organ hati	21
H.	Landasan Teori	23
I.	Hipotesis	25
BAB III METODE PENELITIAN		26
A.	Populasi dan Sampel.....	26
B.	Variabel Penelitian	26
1.	Identifikasi variabel utama	26
2.	Klasifikasi variabel utama	26

3.	Definisi operasional variabel utama	27
C.	Alat dan Bahan	27
1.	Alat	27
2.	Bahan	28
D.	Jalannya Penelitian	28
1.	Detrminasi tanaman ashitaba.....	28
2.	Persiapan bahan	28
3.	Penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba	29
4.	Uji bebas alkohol.....	29
5.	Pembuatan ekstrak daun ashitaba.....	29
6.	Identifikasi kandungan senyawa kimia	29
6.1	Identifikasi flavonoid	30
6.2	Identifikasi tanin	30
6.3	Identifikasi alkaloid	30
6.4	Identifikasi saponin	30
7.	Penetapan dosis	30
7.1	Dosis CMC 0,5%	30
7.2	Dosis gemfibrozil.....	30
7.3	Dosis ekstrak daun ashitaba	31
8.	Pembuatan larutan uji.....	31
8.1	Suspensi CMC 0,5%.....	31
8.2	Suspensi gemfibrozil.....	31
8.3	Suspensi propiltiourasil.....	31
9.	Pembuatan pakan diet tinggi lemak.....	31
10.	Perlakuan hewan uji	32
11.	Pengambilan darah dan pengumpulan serum	33
12.	Penetapan kadar trigliserida serum darah tikus	33
13.	Uji histopatologi organ hati.....	34
13.1	Pembuatan preparat histopatologi	34
13.2	Pemeriksaan histopatologi.....	34
E.	Analisis Hasil.....	35
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		 37
A.	Hasil Penelitian.....	37
1.	Determinasi tanaman ashitaba.....	37
2.	Pembuatan serbuk daun ashitaba.....	37
3.	Pembuatan ekstrak daun ashitaba.....	38
4.	Penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba	38
5.	Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun ashitaba.....	39
6.	Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun ashitaba.....	39
7.	Penetapan dosis	40
8.	Pengujian penurunan kadar trigliserida ekstrak etanolik daun ashitaba terhadap kadar trigliserida.	40
9.	Pengujian ekstrak etanol daun ashitaba terhadap gambaran histopatologi hepar.	46

BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	50
	A. Kesimpulan.....	50
	B. Saran.....	50
	DAFTAR PUSTAKA	51
	LAMPIRAN.....	57

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daun ashitaba (Soepomo 1997).....	5
Gambar 2. Stuktur kimia trigliserida (Bishop 1996).	11
Gambar 3. Stuktur kimia gemfibrozil (Suyatna 1995).	16
Gambar 4. Skema mekanisme propiltiourasil.....	18
Gambar 5. (A) hepar normal dan (B) hepar mengalami perlemakan (Sutejo & Dewi 2012).....	22
Gambar 6. Skema prosedur pengujian hewan uji.	36
Gambar 7. Histog rata-rata kadar trigliserida	42
Gambar 8. Gambaran histopatologi organ hepar tikus dengan pewarnan HE (perbesaran 400 kali): I. Kontrol normal; II. Kontrol negatif; III. Kontrol positif; IV. Kontrol dosis 32 mg; V. Kontrol dosis 64 mg; VI. Kontrol dosis 128 mg.....	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Pakan diet tinggi lemak (Widyaningsih 2011).....	31
Tabel 2. Pengujian trigliserida (Marniwati & Cornelius 2012).....	33
Tabel 3. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun ashitaba.....	38
Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak daun ashitaba.....	38
Tabel 5. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba.....	38
Tabel 6. Hasil uji bebas alkohol ekstrak daun ashitaba.....	39
Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun ashitaba....	39
Tabel 8. Hasil rata-rata kadar trigliserida darah tikus.....	41
Tabel 9. Persentase penurunan kadar trigliserida T1 ke T2	43
Tabel 10. Hasil jumlah skoring pembentukan lemak hepar.	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat determinasi tanaman daun ashitaba.....	58
Lampiran 2. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah.	59
Lampiran 3. Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol daun ashitaba.....	60
Lampiran 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba.....	61
Lampiran 5. Perhitungan dosis dan pembuatan larutan stok.	62
Lampiran 6. Pengukuran berat badan hewan uji.....	65
Lampiran 7. Hasil pengukuran kadar trigliserida serum darah tikus	66
Lampiran 8. Hasil kadar trigliserida T0,T1 dan T2.	67
Lampiran 9. Hasil analisa normalitas data kadar trigliserida.....	68
Lampiran 10. Hasil analisis data kadar trigliserida pada hari ke-28 (T ₂) menggunakan <i>One Way Anova</i>	69
Lampiran 11. Foto daun serbuk dan ekstrak ashitaba.....	71
Lampiran 12. Foto alat dan bahan.....	72
Lampiran 13. Foto hewan uji, cara oral pada tikus, induksi hipertrigliserida, pengambilan sampel darah dan serum.....	73
Lampiran 14. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun ashitaba.....	74

DAFTAR SINGKATAN

ADP	adenosine difosfat
CMC	carboxy metil cellulose
DAP	dihidroksi seton fosfat
DE	dosis empiris
GK	gliserol kinase
GPO	gliserida fosfat oksidase
HDL	high density lipoprotein
HE	hematoxylin eosin
IDL	intermediate density lipoprotein
LDL	low density lipoprotein
LPL	lipoprotein lipase
PJK	penyakit jantung koroner
PPAR- α	poliferator-activated receptor-alpha
PTU	propiltiourasil
VLDL	very low density lipoprotein

INTISARI

ROHMAN, M.A., 2017, PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) TERHADAP KADAR TRIGLISERIDA DAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Hipertrigliseridemia merupakan kondisi yang terjadi karena meningkatnya kadar trigliserida yang dapat memicu akumulasi lipid di dinding pembuluh arteri yang dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis. Daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak daun ashitaba dalam menurunkan kadar trigliserida, mengetahui dosis efektif dari ekstrak daun ashitaba, dan gambaran histopatologi hepar tikus.

Ekstrak etanol daun ashitaba pada pengujian hipertrigliseridemia dilakukan pada 30 ekor yang dikelompokkan menjadi 6 kelompok yaitu kelompok normal, kelompok negatif (CMC 0,5%), kelompok positif (Gemfibrozil), kelompok dosis 32 mg/kg BB, kelompok dosis 64 mg/kg BB, kelompok dosis 128 mg/kg BB. Pembuatan hipertrigliseridemia dengan cara menginduksi pakan diet tinggi lemak dan PTU selama 14 hari. Terapi ekstrak daun ashitaba dilakukan selama 14 hari dengan dosis 32 mg/kg BB, 64 mg/kg BB, dan 128 mg/kg BB.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun ashitaba dapat menurunkan kadar trigliserida. Pengamatan histopatologi hepar menunjukkan bahwa senyawa bioaktif dalam ekstrak etanol daun ashitaba dapat menurunkan lemak pada hepar. Dosis 128 mg/Kg BB merupakan dosis yang efektif dalam menurunkan kadar trigliserida dan dapat mengurangi lemak hepar.

Kata kunci: hipertrigliseridemia, ekstrak daun ashitaba, histopatologi hepar.

ABSTRACT

ROHMAN, M.A., 2017, THE EFFECT OF ASHITABA (*Angelica keiskei*(Miq.) Koidz) LEAF ETHANOL EXTRACT TO TRIGLYCERIDES LEVEL AND HEPAR HISTOPATHOLOGY ON WISTAR MALE WHITE RAT, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Hypertriglyceridemia is a condition which is happened because increased triglyceride levels which could trigger lipid accumulation at blood vessel wall that caused atherosclerosis. Ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) leaf contains flavonoids, saponins, tannins, and alkaloids. The aim of this study is to know that ashitaba extract can decrease triglyceride levels, to know the effective dose of ashitaba extract, and to know rat hepar histopathology.

Ashitaba leaf ethanol extract in this hipertriglicemia study were used to 30 rats which grouped to 6 groups, they are control, negative (CMC-Na), positive (gemfibrozil), ashitaba leaf extract 32 mg/KgBW rat, ashitaba leaf extract 64 mg/KgBW rat, and ashitaba leaf extract 128 mg/KgBW rat. Hypertriglyceridemia induction was did by giving high diet feeds and PTU for 14 days. Ashitaba leaf extract therapy was did for 14 days at dose 32 mg/KgBW rat, 64 mg/KgBW rat, and 128 mg/KgBW rat.

The result of this study showed that ashitaba leaf extract could decrease triglyceride. Hepar histopathology observation showed that bioactive components in ashitaba leaf extract could lowered fatty that showed at hepar histopathology. Dose 128 mg/kg BW rat is effective dose in decreasing triglyceride level and lowered fatty at hepar.

Keywords: hypertriglyceridemia, ashitaba leaf extract, hepar histopathology.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Perkembangan zaman yang semakin modern menyebabkan perubahan gaya hidup dan pola makan pada masyarakat. Masyarakat lebih mengonsumsi makanan cepat saji, karena sering dianggap lebih praktis dibandingkan dengan makanan yang diolah sendiri. Perubahan pola makan ini dapat menyebabkan peningkatan konsumsi makanan padat kalori, sehingga dapat mengganggu kesehatan dan menyebabkan hiperlipidemia (Hakim *et al.* 2010). Hiperlipidemia dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis, aterosklerosis ini merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya penyakit jantung koroner (PJK) dan stroke (Rachmadani 2001). Hiperlipidemia merupakan suatu keadaan meningkatnya kadar trigliserida, LDL, dan kolesterol total dalam darah yang melebihi batas normal.

Trigliserida adalah salah satu jenis lemak yang terdapat dalam darah dan berbagai organ tubuh (Soeharto 2001). Kadar trigliserida normal <150 mg/dL, tinggi 200-499 mg/dL dan sangat tinggi jika >500 mg/dL (Dipiro *et al.* 2008). Hipertrigliseridemia adalah peningkatan trigliserida dalam darah melebihi ambang normal. Peningkatan kadar trigliserida karena adanya penumpukan *visceral fat* dan penurunan aktivitas enzim *lipoprotein lipase* (LPL) yang dipicu oleh karena adanya radikal bebas yang akan mengganggu hidrolisis trigliserida, sehingga kadar trigliserida meningkat. Penurunan aktivitas enzim LPL juga akan menyebabkan terhambatnya perubahan *very low density lipoprotein* (VLDL) menjadi *intermediate density lipoprotein* (IDL), sehingga VLDL akan mengendap di dalam hepar dan menyebabkan perlemakan hepar berupa akumulasi lemak pada sinusoid dan sekitar sel-sel hepar (Wresdiyati *et al.* 2006).

Penurunan kadar trigliserida dalam darah dapat dilakukan dengan terapi farmakologis dan nonfarmakologis. Banyak usaha yang dapat digunakan untuk menurunkan kadar trigliserida dalam darah yaitu dengan diet, olahraga, maupun dengan obat-obatan. Salah satu obat yang digunakan untuk menurunkan kadar

trigliserida dalam darah adalah golongan asam fibrat, di antaranya gemfibrozil, gemfibrozil sangat efektif dalam menurunkan trigliserida plasma dan meningkatkan aktivitas LPL, sehingga membersihkan partikel trigliserida yang meningkat (Tjay & Rahardja 2002). Tidak semua orang dapat menjangkau obat, dikarenakan obat yang semakin mahal. Oleh sebab itu, pengobatan dengan menggunakan ramuan obat tradisional merupakan jalan terbaik karena tidak mempunyai efek samping dan harganya relatif lebih murah (Dalimartha 2007).

Salah satu tanaman yang tumbuh di Indonesia yaitu ashitaba *Angelica keiskei* (Miq.) Koidz. Tanaman ashitaba berasal dari pulau *Hachijo*, Jepang yang tumbuh di daerah tandus, berbatu dan berpasir (Sembiring & Manoi 2011). Penggunaan tanaman ashitaba di masyarakat yaitu dalam bentuk daun yang digunakan dalam keadaan mentah atau direbus, sedangkan batang dan akarnya harus direbus terlebih dahulu lalu sari airnya diminum sebagai obat. Penggunaan dalam bentuk serbuk, dengan cara satu sendok teh serbuk diseduh dengan 150 ml air panas lalu diaduk. Untuk pengobatan sebaiknya diminum 2 kali sehari, 1 sendok teh setara dengan 2,5 g serbuk daun ashitaba (Sembiring & Manoi 2011).

Tanaman ashitaba diduga mampu memulihkan fungsi tubuh dan mencegah timbulnya berbagai macam penyakit, misalnya penyakit kanker, sebagai bahan diuretik dan laksatif, serta dapat memperbaiki proses metabolisme tubuh, antikolesterol, antidiabetes, serta antibakteri (Kozawa *et al.* 1978). Bagian batang tanaman ashitaba terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol (Junichi *et al.* 2007). Menurut Eunmi *et al.* (2012), *juice* dan perasan daun ashitaba mampu menurunkan kadar kolesterol.

Kandungan fitokimia dalam tanaman ashitaba adalah golongan alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin (Sembiring & Manoi 2011). Bagian batang, daun, maupun umbi tanaman ashitaba jika dipotong akan mengeluarkan getah berwarna kuning yang disebut *chalcone*, salah satu golongan dari flavonoid. Flavonoid dapat berfungsi sebagai pelindung membran lipid terhadap reaksi oksidasi yang merusak serta melindungi struktur sel. Flavonoid juga memiliki khasiat sebagai antioksidan dan menekan sintesis asam lemak yang penting bagi diet manusia dan

penting bagi kesehatan. Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas LPL yang dapat menguraikan trigliserida yang terdapat pada kilomikron (Sudhesh et al. 1997).

Kandungan senyawa dalam tanaman ashitaba bervariasi polaritasnya, sehingga untuk menarik sebagian besar senyawa yang ada dalam tanaman tersebut dapat menggunakan pelarut etanol, hal ini dikarenakan etanol merupakan pelarut yang universal, sehingga diharapkan ashitaba dalam bentuk ekstrak etanol dapat mengandung senyawa aktif yang lebih banyak.

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak campuran daun dan batang tanaman ashitaba dapat menurunkan kadar trigliserida dalam darah (Ohnogi et al. 2012), namun penelitian daun ashitaba tunggal terhadap kadar trigliserida dalam darah dan terhadap perlemakan hati pada tikus, yang ditunjukkan melalui gambaran histopatologi hepar belum pernah dilakukan. Oleh sebab itu, penelitian ini akan membuktikan secara ilmiah pengaruh ekstrak etanol daun ashitaba terhadap kadar trigliserida dengan menggunakan metode GPO-PAP dan gambaran histopatologi hepar dengan tahapan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) metode Harris pada tikus yang diberi pakan diet tinggi lemak.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat ditarik permasalahan sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) dapat menurunkan kadar trigliserida dalam serum darah tikus putih jantan yang diberikan diet tinggi lemak ?

Kedua, apakah ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) dapat memperbaiki histopatologi hepar tikus putih jantan yang diberikan diet tinggi lemak?

Ketiga, berapakah dosis efektif ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) yang dapat menurunkan kadar trigliserida dalam serum darah dan memperbaiki histopatologi hepar tikus putih jantan yang diberikan diet tinggi lemak ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui :

Pertama, untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) terhadap penurunan kadar trigliserida serum darah tikus putih jantan yang diberi diet tinggi lemak.

Kedua, untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) yang dapat memperbaiki histopatologi hepar tikus putih jantan yang diberi diet tinggi lemak.

Ketiga, mengetahui dosis efektif ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) yang dapat menurunkan kadar trigliserida dalam serum darah dan memperbaiki histopatologi hepar tikus putih jantan yang diberi diet tinggi lemak.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat serta memberikan informasi bagi instansi, terutama pada industri farmasi dan masyarakat dalam pemanfaatan obat tradisional terutama penggunaan ekstrak daun ashitaba sebagai penurun kadar trigliserida.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Ashitaba

1. Sistematika tanaman

Sistematika tanaman ashitaba menurut Soepomo (1997) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Sub class	: sympetalae
Family	: Apiaceae
Bangsa	: Apiales
Marga	: Angelica
Jenis	: <i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz (Soepomo 1997).



Gambar 1. Daun ashitaba (Soepomo 1997).

2. Nama daerah

Tanaman ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz), umumnya di Indonesia dikenal dengan nama seledri Jepang, daun hari esok, ashitaba (Jepang) (Soepomo 1997).

3. Morfologi tanaman

Ashitaba merupakan suatu jenis tanaman tahunan. Ashitaba tumbuh dengan baik di daerah dataran tinggi dengan keadaan tanah yang cukup lembab.

Ashitaba termasuk tanaman monokotil dan termasuk daun lengkap yang terdiri dari pelepah (upih), tangkai, dan helaian. Daun ashitaba merupakan daun majemuk karena mulai pelepah sampai ujung tangkai daun tumbuh anak daun yang berjumlah tiga atau lebih. Pada anak daun ashitaba mempunyai anak tingkat yang seolah-olah seperti tangkai daun untuk daun yang melekat padanya. Ujung daun ashitaba meruncing dengan pangkal daun yang tumpul (Soepomo 1997).

Susunan tulang daun ashitaba ada dua macam, yaitu menjari dan menyirip. Hal ini dilihat dari dua sudut pandang yang berbeda, pertama jika dilihat dari bagian tempat melekatnya daun tanaman tersebut tulang daunnya menjari, sedangkan daun ashitaba dikatakan sebagai susunan tulang daun menyirip karena pada helaian dari hasil torehan daun tersebut tulang daunnya tersusun menyirip. Daun ashitaba yang muda berwarna hijau tua. Tepi daun ashitaba yaitu bergerigi daun duri berwarna putih yang tidak terlalu keras dan kaku (Soepomo 1997).

4. Kandungan zat kimia

Pada bagian daun, batang, dan umbi secara kualitatif menunjukkan bahwa tanaman ashitaba mengandung senyawa kimia golongan alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin (Sembiring & Manoi 2011).

4.1 Alkaloid. Alkaloid adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan, mengandung nitrogen, biasanya berbentuk heterosiklik dalam ikatan primer, sekunder, atau kuartner, bersifat alkalis, dan pada umumnya berasa pahit dan memiliki aksi farmakologi tertentu. Alkaloid merupakan golongan zat tubular sekunder yang terbesar. Alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Kelarutan alkaloid bentuk bebas adalah tidak larut dalam air tetapi larutan dalam pelarut organik, sedangkan alkaloid bentuk garam mudah larut dalam air (Robinson 1995).

4.2 Saponin. Saponin adalah senyawa aktif yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Dikenal dua jenis saponin, yaitu glikosida triterpenoid dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai simpang siproketal (Robinson 1995). Senyawa saponin dipercaya dapat bermanfaat untuk mengontrol

jumlah trigliserida pada manusia. Saponin memiliki aktifitas antihipertrigliseridemia dan meningkatkan ekskresi trigliserida melalui feses (Suharti *et al.* 2008).

4.3 Flavonoid. Flavonoid di alam berupa senyawa fenol yang dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆ artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Flavonoid merupakan senyawa polar yang larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, dan aseton (Robinson 1995). Gugus yang lebih polar digunakan untuk mengekstraksi flavonoid pada semua tipe jaringan tumbuhan, contohnya etanol atau metanol yang berkadar 70-80%. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terdapat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid. Aglikon yang kurang polar cenderung lebih mudah larut dalam pelarut eter, dan gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid mudah larut dalam air (Nurhayati 2000). Flavonoid dapat berfungsi sebagai pelindung membran lipid terhadap reaksi oksidasi yang merusak serta melindungi struktur sel. Flavonoid juga memiliki khasiat sebagai antioksidan dan menekan sintesis asam lemak yang penting bagi diet manusia dan penting bagi kesehatan. Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas LPL yang dapat menguraikan trigliserida yang terdapat pada kilomikron (Sudheshh *et al.* 1997).

4.4 Tanin. Tanin merupakan salah satu jenis senyawa yang termasuk golongan polifenol yang terdapat dalam tumbuhan. Tanin dapat bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus sehingga dapat menghambat penyerapan lemak (Harborne 1987). Tanin memiliki sifat-sifat antara lain: dapat membentuk larutan koloid yang bereaksi asam dalam air, mengendapkan alkali, mampu mengoksidasi oksigen, mengendapkan protein dari larutan bersenyawa sehingga protein tersebut tidak mempengaruhi enzim proteolitik (Harborne 1987).

5. Khasiat

Tanaman ashitaba berpotensi meningkatkan produksi sel darah merah, produksi hormon pertumbuhan serta meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan infeksi (Sembiring & Manoi 2011). Ashitaba berpotensi sebagai sumber antioksidan (Li *et al.* 2009). Ashitaba dapat juga menyembuhkan berbagai

penyakit seperti diabetes, asam lambung, hipertensi, jantung coroner, asma, liver, menurunkan kolesterol, osteoporosis, ginjal, maag, menambah vitalitas, penghambat proliferasi HIV dan sebagai anti bakteri utama *Staphylococcus aureus* epidermis (Enoki 2007). Menurut Eunmi *et al* (2012), *juice* dan perasan daun ashitaba mampu menurunkan kadar kolesterol. Pada bagian batang tanaman ashitaba mampu menurunkan kadar kolesterol (Junichi *et al.* 2007). Penelitian terdahulu campuran daun dan batang ashitaba dapat menurunkan kadar trigliserida (Ohnogi *et al.* 2012).

B. Metode Ekstraksi Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu: Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Simplisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Depkes 1985).

2. Pengumpulan simplisia

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini yaitu simplisia nabati dan bagian yang digunakan adalah daun. Daun yang diambil dipilih yang telah membuka sempurna dan terletak di bagian cabang atau batang yang menerima sinar matahari sempurna, sehingga daun tersebut terjadi kegiatan asimilasi sempurna (Depkes 1985).

3. Pengeringan simplisia

Pengeringan merupakan salah satu proses yang dapat menentukan baik buruknya mutu produk yang dihasilkan. Oleh karena itu dalam proses pengeringan harus memperhatikan sifat-sifat zat aktif, cara pemanasan, tinggi suhu, dan lamanya pemanasan (Depkes 1986).

Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering. Pada proses pengeringan bahan simplisia tidak dianjurkan menggunakan alat yang berasal dari bahan plastik. Pengeringan pada dasarnya dikenal dengan dua cara, yaitu pengeringan secara alamiah dan pengeringan buatan. Pengeringan alamiah dilakukan dengan panas matahari langsung dan dengan diangin-anginkan tanpa dipanaskan dengan sinar matahari langsung. Pengeringan buatan dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat atau mesin pengering yang suhu, kelembapan, tekanan, dan aliran udaranya dapat diatur (Depkes 1995).

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, serta memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan, tahan lama, dan sebagainya) (Depkes 1989).

4. Pelarut

Pelarut adalah cairan yang digunakan untuk ekstraksi. Pemilihan pelarut yang akan digunakan dalam ekstraksi dari bahan mentah obat tertentu berdasarkan pada daya larut maksimum zat aktif dan seminimum mungkin zat tidak aktif serta zat yang tidak diinginkan juga tergantung pada tipe preparat farmasi yang diperlukan (Ansel 1989).

Etanol merupakan pelarut serbaguna yang digunakan untuk ekstraksi. Pelarut etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, antrakinon, flavonoid, steroid, tanin, dan saponin (Depkes 1985).

Keuntungan dari etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Dimana bahan pengotor hanyalah dalam skala kecil turun dalam cairan pengestraksi (Voigt 1995).

5. Metode ekstraksi

Ekstraksi adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan serbuk tersisa diperlukan sedemikian sampai memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes 1985).

Ekstraksi adalah penyarian yang merupakan proses perpindahan zat aktif yang semula berada dalam sel ditarik oleh cairan penyari, sehingga zat aktif larutan dalam cairan penyari (Ansel 1989).

5.1 Maserasi. Maserasi adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar (Depkes 2000). Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larutan dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat di desak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Pada penyarian dengan cara maserasi, perlu dilakukan pengadukan, 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 sel (Depkes 1986).

Keuntungan cara penyarian secara maserasi adalah pelarut yang digunakan serta cara pengujian yang relatif sederhana dan mudah digunakan sedangkan kerugiannya adalah membutuhkan waktu yang relatif lebih lama karena pengerjaan yang lama serta proses penyarian yang kurang sempurna (Depkes 1985).

C. Triglicerida

1. Pengertian triglicerida

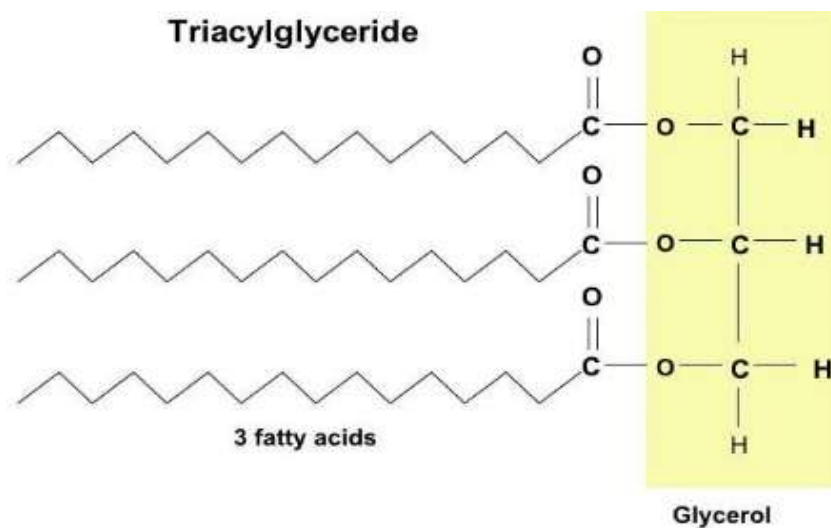
Triglicerida adalah fraksi lemak di dalam darah yang dibentuk di hati dari gliserol dan lemak yang berasal dari makan dengan rangsangan insulin atau dari kelebihan kalori akibat makan yang berlebihan. Akibat kelebihan makan maka kelebihan kalori yang ada diubah menjadi triglicerida dan disimpan sebagai lemak di bawah kulit. Selain sebagai bantalan tubuh karena letaknya yaitu di perut, bokong, lengan atas, paha, dan pinggul, triglicerida juga dapat berperan sebagai

cadangan energi bila kelaparan (Dalimartha 2007). Trigliserida akan tinggi jika mengkonsumsi makan yang mengandung karbohidrat, alkohol, dan lemak jenuh serta makan yang tinggi lemak dan karbohidrat sederhana, maka dari itu perlu dibatasi dalam mengkonsumsi makan-makanan tersebut.

Kadar trigliserida normal <150 mg/dL, tinggi 200-499 mg/dL, dan sangat tinggi jika >500 mg/dL (Dipiro *et al.* 2008). Keadaan hipertrigliserida ditandai dengan tingginya kadar trigliserida, meningkatnya kadar LDL serta menurunnya kadar HDL yang merupakan pencetus aterosklerosis (Dalimartha 2007).

2. Struktur kimia trigliserida

Trigliserida merupakan gliserol yang berikatan dengan 3 asam lemak. Ketiga asam lemak yang berkaitan dengan gliserol dapat sama maupun berbeda.



Gambar 2. Stuktur kimia trigliserida (Bishop 1996).

Lemak yang paling sering terdapat dalam trigliserida pada tubuh manusia adalah asam stearat, yang mempunyai rantai karbon-18 yang sangat jenuh dengan atom hidrogen, asam oleat, yang juga mempunyai rantai karbon-18 tetapi mempunyai satuan ikatan ganda di bagian tengah rantai, dan asam palmitat, yang mempunyai 16 atom karbon dan sangat jenuh (Guyton & Hall 1997).

3. Fungsi trigliserida dalam tubuh

Trigliserida dipakai dalam tubuh terutama untuk menyediakan energi bagi berbagai proses metabolik; suatu fungsi yang hampir sama dengan karbohidrat. Beberapa lipid, terutama kolesterol, fosfolipid, dan sejumlah kecil trigliserida

dipakai di seluruh tubuh untuk membentuk membran dari semua sel dan untuk melakukan fungsi-fungsi selular yang lain (Guyton & Hall 1997).

4. Metabolisme trigliserida

Jalur metabolisme trigliserida dibagi menjadi dua, yaitu jalur eksogen dan jalur endogen.

4.1 Jalur eksogen. Trigliserida akan diserap sebagai asam lemak bebas. Asam lemak bebas akan diubah lagi menjadi trigliserida di dalam usus halus (Adam 2006). Trigliserida yang berasal dari makan dalam usus dikemas sebagai kilomikron. Kilomikron ini akan diangkut dalam darah melalui ductus torasikus. Trigliserida dan kilomikron mengalami hidrolisis di dalam usus halus, maka akan terbentuk asam lemak dan kilomikron remnan. Asam lemak bebas akan menembus endotel dan masuk ke dalam jaringan lemak atau sel otot untuk diubah, menjadi trigliserida kembali atau dioksidasi (Suyatna 2007).

4.2 Jalur endogen trigliserida. Jalur endogen trigliserida yang disintesis oleh hati diangkut secara endogen dalam bentuk VLDL. VLDL mengalami hidrolisis dalam sirkulasi oleh lipoprotein lipase yang juga menghidrolisis kilomikron menjadi IDL. Partikel IDL kemudian diambil oleh hati dan mengalami pemecahan lebih lanjut menjadi produk akhir yaitu LDL. LDL akan diambil oleh reseptor LDL di hati dan mengalami katabolisme (Adam 2006).

5. Metabolisme trigliserida di hepar

Metabolisme trigliserida dalam tubuh terutama terjadi pada hati. Fungsi utama hati dalam metabolisme lemak adalah untuk memecahkan asam lemak menjadi senyawa kecil yang dapat dipakai untuk energi, untuk mensintesis trigliserida, terutama dari karbohidrat tetapi juga dari protein dalam jumlah yang lebih sedikit dan untuk mensintesis asam lemak, terutama kolesterol dan fosfolipid. Sebagian besar trigliserida terdapat dalam hati, dimana sebagian trigliserida dimobilisasi dari jaringan lemak, ditranspor sebagai asam lemak bebas dalam darah, dan kemudian ditimbun kembali sebagai trigliserida dalam hati, tempat dimulainya tahap awal dari sebagian besar degenerasi lemak. Jadi, dalam keadaan fisiologi normal, jumlah total trigliserida dalam hati ditentukan secara

menyeluruh oleh seluruh kecepatan penggunaan lipid untuk energi (Guyton & Hall 1997).

Sel hati, selain mengandung trigliserida juga mengandung sejumlah besar fosfolipid dan kolesterol, yang secara kontinu disintesis oleh organ hati. Sel hati lebih mampu mendesaturasi asam lemak dari pada jaringan lain sehingga trigliserida hati secara normal lebih tidak jenuh dari pada trigliserida dari jaringan adiposa. Kemampuan hati untuk mendesaturasi asam lemak secara fungsional penting untuk semua jaringan tubuh, sebab banyak struktur bagian dari seluruh sel mengandung jumlah asam lemak tidak jenuh yang cukup banyak, dan sumber utamanya adalah hati. Desaturasi ini dilakukan oleh suatu dehidrogenase dalam sel hati (Guyton & Hall 1997).

6. Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar trigliserida

Kadar trigliserida dalam darah dapat dipengaruhi oleh berbagai sebab diantaranya, pemberian diet tinggi lemak karbohidrat dan lemak jenuh ternyata dapat meningkatkan kadar trigliserida. Faktor genetik, misalnya pada hipetrigliseridemia familial dan disbetalipoproteinemia familial (Taslissavrina *et al.* 2013). Stress mengaktifkan sistem saraf simpatis yang menyebabkan pelepasan spinstrin dan norepinefrin yang akan meningkatkan tekanan darah (Guyton & Hall 1997). Kadar trigliserida darah juga sangat dipengaruhi kadar hormon dalam darah. Hormon-hormon yang mempengaruhi kadar trigliserida dalam darah antara lain ialah tiroid menginduksi peningkatan asam lemak bebas dalam darah, namun menurunkan kadar trigliserida darah, hormon insulin menurunkan kadar trigliserida darah karena insulin akan mencegah hidrolisis trigliserida (Guyton & Hall 1997), hormon estrogen menurunkan LDL dan meningkatkan HDL (Ganong 2002).

7. Metode pengukuran trigliserida

Pemeriksaan kadar trigliserida serum darah menggunakan metode GPO-PAP karena metode ini sangat mudah, praktis, cepat, dan efisien. Reagen yang digunakan siap pakai dan stabil. Kadar trigliserida serum diperiksa secara enzymatic colorimetric dengan metode GPO-PAP. GPO (Gliserida Fosfat Oksidase) enzimatik yang kemudian dimodifikasi menjadi tes reaksi warna

(kolorimetri) dan metode reaksi warna trinder. Triglicerida dihidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak, lalu gliseriol difosforasi oleh gliserol kinase (GK) menjadi gliserol-3-fosfat dan adenosine difosfat (ADP). Selanjutnya gliserol-3-fosfat diubah menjadi dihidroksi seton fosfat (DAP) dan H_2O_2 yang terbentuk akan bereaksi dengan aminoamfipirn dan triglicerida sehingga terbentuknya benzo kinonimin (Wahyuningrum & Probosari 2012).

D. Hipertrigliceridemia

Hipertrigliceridemia merupakan kondisi yang terjadi karena meningkatnya kadar triglicerida yang dapat memicu akumulasi lipid di dinding pembuluh arteri yang dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis (Patonah *et al.* 2010). Sedangkan hiperlipidemia merupakan keadaan dimana terjadinya peningkatan kadar semua fraksi lipid dalam plasma terutama triglicerida dan kolesterol. Hiperlipidemia diklasifikasi menjadi hiperkolesterolemia menyebabkan peningkatan kadar LDL, kolesterol total, dan menurunnya kadar HDL. Sedangkan hipertrigliceridemia terjadi jika kadar triglicerida meningkat. Kadar triglicerida yang tinggi dalam darah akan meningkatkan konsentrasasi VLDL yang kemudian akan meningkatkan resiko terbentuknya plak deposit pada arteri, peningkatan tekanan darah dan gangguan pada jantung (Anwar 2004). Ada lima jenis lipoprotein yang menurut fraksi dengan berat jenisnya yang dibedakan dengan cara ultrasentrifugsi yaitu kilomikron, VLDL, IDL, LDL, dan HDL.

Kilomikron merupakan senyawa kompleks lipoprotein yang sangat besar yang memasuki sirkulasi melalui pembuluh limfe. Lemak utama yang diangkut sebageian besar triglicerida untuk di bawah jaringan lemak dan otot rangka. Pada kilomikron enzim mengkatalisis pemecahan triglicerida menjadi FFA dan gliserol yang kemudian dibawa ke sel-sel adiposa dan kemudian diestrifikasi (Ganong 2002). Kilomikron dibentuk di dinding usus (Tjay & Rahardja 2002).

VLDL terbentuk di hati yang mengangkut triglicerida yang terbentuk dari asam lemak dan karbohidrat di hati jaringan ekstrak hati (Ganong 2002). VLDL mengandung 60% triglicerida endogen dan 10-15% kolesterol (Dalimartha 2007). Triglicerida dihidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase, sedangkan asam lemak

yang dibebaskan larutan diserap oleh sel-sel otot dan sel-sel lemak (Tjay & Rahardja 2002).

IDL merupakan zat perantara yang terjadi sewaktu VLDL dikatabolisme menjadi LDL (Ganong 2002). IDL mengandung trigliserida sebanyak 10% dan kolesterol 50% (Suyatna 2007). LDL merupakan lipoprotein yang menyediakan kolesterol bagian jaringan. Jalur utama katabolisme LDL berlangsung lewat *reseptor mediated endocytosis* di hati dan sel lain. LDL mengandung trigliserida sebanyak 10% dan kolesterol 50 % (Suyatna 2007).

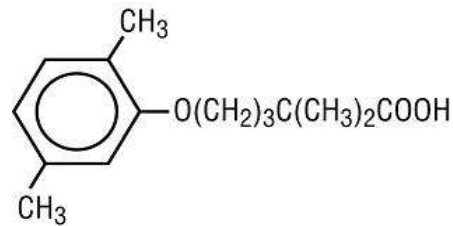
HDL merupakan lipoprotein yang mengandung Apo AI dan AII dengan kandungan trigliserida 5-10% dan kolesterol 15-25%. HDL mengangkut kolesterol bebas yang terdapat dalam endotel jaringan perifer termasuk pembuluh darah, ke reseptor HDL di hati untuk dijadikan empedu dan dikeluarkan ke usus kecil untuk mencerna lemak dan dibuang berupa tinja. Kadar HDL diharapkan tinggi di dalam darah. Pada orang yang gemuk, perokok, penderita diabetes melitus yang tidak terkontrol dan pemakai pil KB memiliki kadar HDL rendah dalam darah (Dalimartha 2007).

Peningkatan kadar trigliserida karena adanya penumpukan visceral fat dan penurunan aktivitas enzim LPL yang dipicu oleh karena adanya radikal bebas yang akan mengganggu hidrolisis trigliserida, sehingga kadar trigliserida meningkat. Penurunan aktivitas enzim LPL juga akan menyebabkan perubahan VLDL menjadi IDL menjadi terhambat, sehingga VLDL akan mengendap di dalam hepar dan menyebabkan perlemakan hepar berupa akumulasi lemak pada sinusoid dan sekitar sel-sel hepar (Wresdiyati 2006).

E. Gemfibrozil

1. Pengertian gemfibrozil

Gemfibrozil adalah senyawa yang mampu mengatur lipid plasma, dengan jalan menurunkan kadar trigliserida serum, kolesterol total, VLDL, LDL, dan meningkatkan pembersihan apolipoprotein B sebagai pembawa VLDL sehingga kadar VLDL berkurang dan meningkat kolesterol HDL dengan jalan meningkatkan substrak HDL serta apolipoprotein AI dan AII (Suyatna 1995).



Gambar 3. Struktur kimia gemfibrozil (Suyatna 1995).

2. Mekanisme kerja gemfibrozil

Mekanisme kerja gemfibrozil yaitu dengan meningkatkan aktivitas peroxisome poliferator-activated receptor-alpha (PPAR- α), suatu reseptor yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat dan lemak, yang akan meningkatkan aktivitas lipoprotein lipase. Gemfibrozil diabsorpsi secara alami kuantitatif dari usus dan diikat kuat plasma protein. Obat ini mengalami sirkulasi intrahepatik dan mudah melintasi plasenta. Waktu paruh dalam plasma 1,5 jam, sekitar 70% dikeluarkan melalui ginjal. Obat ini berguna untuk hipertrigliseridemia dimana VLDL lebih menonjol, dosis yang digunakan 600 mg per oral sekali sehari atau dua kali sehari. Gemfibrozil meningkatkan lipolisis trigliserida lipoprotein melalui lipoprotein lipase. Lipolisis intraseluler pada jaringan lemak berkurang dan kadar VLDL dalam plasma menurun disebabkan oleh penurunan sekresi oleh hati (Katzung 1998).

F. Hewan Uji

1. Sistemika tikus putih

Sistemika tikus putih menurut Sugiyanto (1995), adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Kelas	: Placent
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muidae
Marga	: Ratus
Jenis	: <i>Rattus novergicus</i>

2. Karakteristik utama tikus putih

Tikus merupakan hewan yang cerdas dan resisten terhadap infeksi. Tikus putih umumnya tenang dan mudah ditangani, kecenderungan untuk berkumpul sesamanya tidak begitu besar, hewan ini dapat tinggal sendiri dalam kandang asalkan masih mendengar atau melihat tikus yang lain. Tikus mudah ditangani, menjadi agresif terutama saat diperlakukan kasar atau mengalami defisiensi nutrisi. Hewan uji merupakan suatu sumber variasi avabilitas sistemik, distribusi dan kecepatan eliminasi obat-obatan (Sugiyanto 1995).

Tikus jantan kecepatan metabolismenya lebih cepat dibandingkan dengan tikus betina. Kondisi biologis tikus jantan juga lebih stabil dibanding tikus betina. Pada tikus betina secara berkala dalam tubuhnya mengalami perubahan kondisi seperti masa kehamilan, menyusui, dan menstruasi. Tikus putih yang dibiarkan di laboratorium lebih cepat dewasa dan lebih mudah berkembang biak. Berat badan tikus di laboratorium cenderung lebih ringan dibanding tikus liar (Sugiyanto 1995).

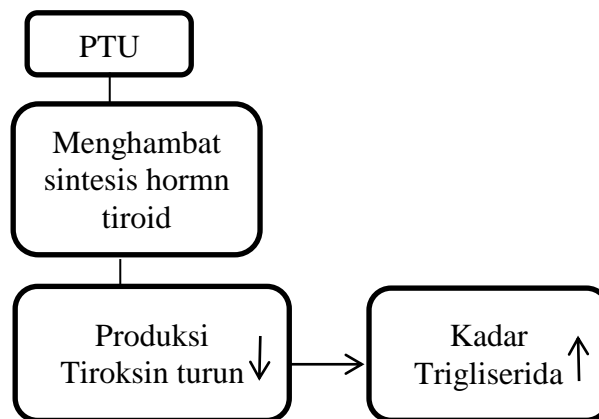
Aktivitas tikus tidak terganggu oleh adanya manusia di sekitarnya, suhu tubuh normal $37,5^{\circ}\text{C}$, laju respirasi normal 210 tiap menit. Tikus putih bila diperlakukan kasar akan menjadi galak dan sering menyerang si pemegang. Tikus tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esofagus bermuara ke dalam lubang dan tikus putih tidak mempunyai kandung empedu (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

3. Kandang dan perawatan

Kandang tikus pada dasarnya mirip dengan kandang mencit hanya ukurannya lebih besar. Jumlah tikus di dalam kandang dibatasi agar tidak berdesakan. Kondisi yang berdesakan dapat mengakibatkan hipertemia, sedangkan tikus yang memiliki kelenjar keringat di telapak kakinya hal ini akan menyulitkan untuk menurunkan suhu badannya. Cara lain yang dilakukan tikus dalam menurunkan suhu tubuh adalah dengan mengeluarkan banyak ludah dan menjilati tubuhnya dengan ludah tersebut. Sebaiknya kondisi suhu dapat dijaga antara $20-25^{\circ}\text{C}$, untuk menjaga terjadi hipertemia yang mungkin dapat menyebabkan kematian untuk memudahkan tikus berkembang (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

4. Induksi hipertrigliseridemia

Induksi hipertrigliseridemia dapat dilakukan secara endogen dan eksogen. Induksi endogen dilakukan dengan pemberian propiltiourasil secara peroral. Propiltiourasil merupakan suatu obat antitiroid untuk pengobatan hipertiroidisme dan dapat menyebabkan hiperlipidemia. Propiltiourasil bekerja dengan menghambat sintesis hormon tiroid, yakni tiroksin. Tiroksin diperlukan oleh tubuh untuk metabolisme kolesterol. Produksi tiroksin yang dihambat akan meningkatkan kadar trigliserida serum darah (Guyton & Hall 1997). Propiltiourasil pada penelitian ini dimaksudkan agar tikus mengalami kondisi hipertrigliseridemia.



Gambar 4. Skema mekanisme propiltiourasil

Sedangkan induksi secara eksogen dilakukan dengan cara pemberian diet tinggi lemak secara peroral dalam bentuk emulsi lipid. Emulsi lipid merupakan sumber energi dan asam lemak esensial sebagai nutrisi parenteral. Emulsi lipid ini terdiri dari campuran lemak sapi dan kuning telur, dimana pada lemak sapi mengandung asam lemak sedangkan lemak dalam kuning telur terikat dalam bentuk lipoprotein yang terdiri dari 85% lemak dan 15% protein. Lemak dari lipoprotein tersebut terdiri dari 20% fosfolipid (lesitin, fosfatidil serin), 60% lemak netral (trigliserida) dan 5% kolesterol (Ariyani 2006). Tingginya asam lemak jenuh dalam lemak sapi dan trigliserida dalam kuning telur serta kolesterol pada keduanya yang dapat menyebabkan peningkatan kadar trigliserida dalam darah. Emulsi lipid ini akan diubah menjadi trigliserida dalam darah (Patonah *et al.* 2010).

G. Organ Hepar

1. Pengertian hati

Hati adalah kelenjar terbesar yang ada dalam tubuh, terletak di bagian teratas dalam rongga abdomen sebelah kanan di bawah diafragma. Bagian hati terbagi menjadi dua bagian lobus kanan dan lobus kiri. Permukaan atas terbentuk cembung dan terletak di bawah diafragma, permukaan bawah tidak rata dan memperlihatkan lekukan. Hati mempunyai dua jenis persediaan darah, yaitu yang datang melalui arteri hepatic dan melalui vena porta (Pearce 2009). Hati mempunyai peranan penting dalam metabolisme, detoksifikasi, dan penyimpanan cairan empedu. Hati merupakan organ yang rentan terhadap kerusakan karena metabolit yang bersifat toksik (Brzoska *et al.* 2003).

2. Struktur hati

Hati terbentuk dari dua jenis sel yaitu sel hepatosit yang berasal dari epitel yang melakukan bagian kegiatan metabolit dan sel-sel kupffer yang seperti sel-sel retikuloendotel di seluruh tubuh mempunyai fungsi fagositosis dan perombakan. Satuan anatomis terkecil lobus yang terbentuk dari rangkaian hepatosit yang ditopang oleh anyaman reticulum yang mengelilingi seluruh darah dan bernama sinusoid. Pertukaran zat dalam darah sinusoid dan hepatosit dapat terjadi secara maksimal karena darah dalam sinusoid dan sel-sel hati yang membatasi sinusoid, bersentuhan secara erat (Corwin 2009).

Menurut Lu (1995), hati menjadi sasaran toksisitas suatu zat karena hati memiliki banyak tempat pengikatan. Zat yang masuk tubuh sebagian besar memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal, diserap lalu dibawa oleh vena porta hati ke dalam hati. Toksikologi hati dipersulit oleh kerusakan hati dan berbagai mekanisme yang menyebabkan morfologi serta biokimia.

3. Fungsi hati

Fungsi hati sangat kompleks. Hati merupakan organ terpenting dalam metabolisme tubuh. Hati memiliki kapasitas cadangan yang sangat besar, dengan memanfaatkan 10% sampai 20% fungsi jaringan akan mempertahankan hidup. Pada kasus pembuangan sel hati yang mati, sel hati akan digantikan dengan sel yang baru. Hati memiliki kemampuan melakukan regenerasi (Noer 1996).

3.1 Fungsi metabolik. Hati memiliki fungsi pada metabolisme karbohidrat, lemak, protein, vitamin, selain itu hati, yaitu mensintesis glukosa dari protein dan lemak. Hati mensintesis protein plasma kecuali globulin gama. Protein merupakan albumin yang dibutuhkan untuk mempertahankan tekanan osmotik koloid, protombin, fibrinogen. Dalam proses metabolisme lemak, hati memiliki fungsi oksidasi beta asam lemak dan pembentukan asam asetoasetal yang sangat tinggi, pembentukan lipoprotein, pembentukan kolesterol dan fosfolipid dalam jumlah yang besar (Noer 1996).

3.2 Fungsi pembentukan dan ekskresi empedu. Empedu dihasilkan oleh hati sebanyak satu liter per hari. Saluran empedu mengalirkan, kantung empedu menyiapkan dan mengeluarkan empedu ke usus halus. Garam empedu oleh usus halus, direabsorpsi dalam ileum, mengalami resirkulasi, rekonjugasi dan resekreasi ke hati. Bilirubin merupakan akhir dari metabolisme. Bilirubin digunakan sebagai indikator penyakit hati dan saluran empedu dengan cara mewarnai jaringan dan cairan yang berhubungan dengan bilirubin (Noer 1996).

3.3 Fungsi vaskular hati. Aliran darah ke hati dalam tubuh orang dewasa seperti menitnya sekitar 1500 cc. Darah portal mengalir ke hati sebanyak 1200 cc melalui sinusoid, diteruskan ke vena sentralis dan ke vena hepatica dan masuk ke dalam vena kava inferior. Darah arterial bercampur dengan darah portal, setelah masuk kedalam sinusoid. Hati berfungsi sebagai ruang penampung dan bekerja secara filter (Noer 1996).

3.4 Fungsi pertahanan tubuh. Sel kuffer terdapat di dinding sinusoid hati, mempunyai fungsi sebagai sistem endothelial, mempunyai kemampuan fagositosis yang dapat membersihkan kuman dalam vena porta sebesar 99%. Hati mempunyai fungsi sebagai detoksifikasi, enzim di dalam hati melakukan oksidasi, reduksi, hidrolisis, atau konjugasi zat yang dapat menimbulkan racun, dan mengubahnya menjadi zat secara fisiologi yang tidak aktif (Noer 1996).

4. Kerusakan hati

Kerusakan hati dibagi menjadi beberapa jenis, dimana zat yang masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan efek toksik pada hati.

4.1 Perlemakan hati. Perlemakan hati merupakan hati yang mengandung lipid lebih dari 50%. Berlebihnya lemak pada hati disebabkan oleh adanya toksikan yaitu etanol, fosfor, tetrasiklin. Penumpukan lemak di dalam hati terjadi melalui mekanisme penghambatan sintesis satuan protein dari lipoprotein (karbon tertrasklorida) dan penghambatan konjugasi trigliserida dengan lipoprotein (Lu 1995).

4.2 Nekrosis hati. Nekrosis hati ditandai dengan sel yang menyusup, batas tidak beraturan serta warna hati menjadi gelap. Nekrosis terjadi melalui beberapa tahapan, yaitu piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Pada proses piknosis, sel yang terlihat bulat, mengecil dan berwarna gelap. Karioreksis sel mengalami fragmentasi menjadi kecil dan tersebar. Proses kariolisis inti sel akan melisis, menyebabkan rongga kosong yang dibatasi membran inti (Cotran *et al.* 1999).

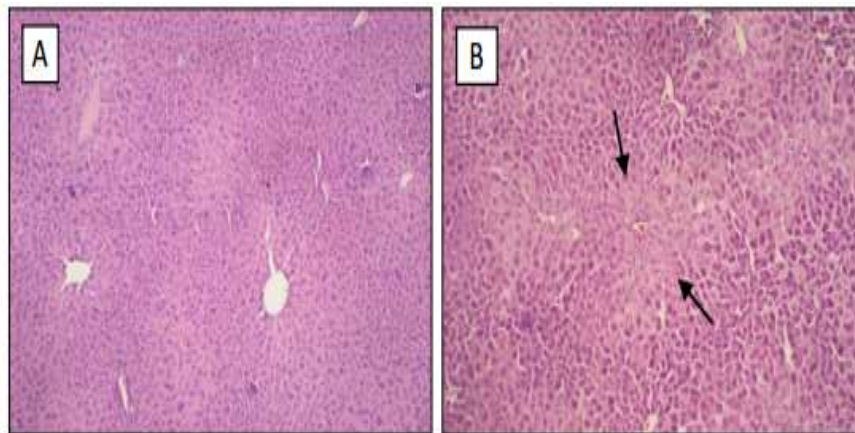
4.3 Sirosis hati. Sirosis hati yaitu kondisi dimana fibrosis dan pembentukan jaringan parut yang difus di hati. Fibrosis yang keras dan pita-pita yang mengerut menggantikan jaringan hati yang normal menyebabkan fungsi dan struktur hati terganggu. Penyebab sirosis adalah infeksi, cedera hepatosit akibat toksin dan obstruksi selaruan empedu yang mengakibatkan terjadinya penimbunan empedu (Lu 1995).

4.4 Ensefalopati hepatica. Ensefalopati hepatica adalah kerusakan kompleks gangguan syaraf pusat yang dijumpai pada individu yang mengalami gagal hati. Terjadinya ensefalopati hepatic ditandai dengan gangguan memori dan perubahan keperibadian. Faktor utama terjadinya ensefalopati yaitu karena penimbunan toksin di dalam darah, karena hati gagal dalam mengubah dan mendetoksifikasi toksin secara maksimal (Corwn 2009).

5. Histopatologi organ hati

Histopatologi adalah cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Histopatologi sangat penting dalam kaitannya dengan diagnosis penyakit karena salah satu pertimbangan dalam penentuan diagnosis adalah melalui hasil pengamatan terhadap jaringan yang diduga terganggu. Gambaran histologi organ hati digunakan untuk mengamati

jaringan secara langsung guna memastikan adanya infeksi, infiltrasi atau fibrosa lemak dan kanker dalam pemeriksaan fungsi hati (Corwin 2009).



Gambar 5. (A) hepar normal dan (B) hepar mengalami perlemakan (Sutejo & Dewi 2012).

Organ hati erat kaitannya dengan makanan dan minuman yang dikonsumsi oleh suatu individu. Perubahan struktur histologi pada hati dapat dipengaruhi oleh masuknya jumlah dan jenis senyawa tertentu ke dalam organ hati, karena senyawa-senyawa yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi di dalam tubuh (Guyton & Hall 1997).

Tingginya asupan asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh dalam minyak ini akan meningkatkan absorpsi asam lemak di usus sehingga asam lemak di darah juga tinggi. Adanya transpor asam lemak berlebihan yang diangkut dari luar ke dalam hati mengakibatkan terjadinya penumpukan asam lemak dalam sel hati. Asam lemak jenuh yang disimpan di hati dalam jumlah besar dapat menimbulkan pembentukan lemak dan akan muncul perlemakan hati. Asam lemak tak jenuh dalam jumlah banyak pada membran mikrosomal sel hati meningkatkan kepekaan membran terhadap aktivitas radikal bebas yang bersifat autokatalitik. Aktivitas radikal bebas ini menghasilkan lipid peroksida yang menyebabkan kerusakan (Ong & Goh 2002). Sintesis protein terganggu, lemak yang ada dalam hati tidak bisa berikatan dengan protein membentuk lipoprotein untuk diangkut keluar hati. Akumulasi lemak dalam hati berlangsung terus menerus sehingga terjadi degenerasi lemak (Mulyani 1997).

H. Landasan Teori

Trigliserida adalah senyawa utama dari lipid pada deposit lemak tubuh dan makan. Trigliserida merupakan jenis lemak di dalam darah yang terbentuk di hati dari gliserol dan lemak yang berasal dari makanan dengan rangsangan insulin atau kelebihan kalori akibat makanan yang berlebih (Dalimartha 2007). Trigliserida tinggi biasanya asupan kalori dari makanan lebih banyak dari pada yang dibakar. Kadar normal trigliserida adalah <150 mg/dL (1,70 mmol/L) (Syamsudin 2011). Hipertrigliseridemia merupakan kondisi yang terjadi karena meningkatnya kadar trigliserida yang dapat memicu akumulasi lipid di dinding pembuluh arteri yang dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis (Patonah *et al.* 2010).

Organ hati akan mensintesis lipid yang diabsorpsi dari makanan, dibawa oleh darah ke berbagai jaringan dan organ tubuh untuk digunakan sebagai sumber energi dan disimpan sebagai cadangan lemak. Lipid sebagian besar disimpan sebagai trigliserida dalam jaringan adiposa, dapat juga ditemukan dalam otot rangka dan plasma (Klein & Romijin 2003). Penurunan aktivitas enzim LPL juga akan menyebabkan perubahan VLDL menjadi IDL menjadi terhambat, sehingga VLDL akan mengendap di dalam hepar dan menyebabkan perlemakan hepar berupa akumulasi lemak pada sinusoid dan sekitar sel-sel hepar (Wresdiyati *et al.* 2006).

Salah satu tanaman yang tumbuh di Indonesia ialah ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) yang bentuk tanamnya mirip dengan seledri (Sembiring & Manoi 2011). Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa campuran daun dan batang tanaman ashitaba dapat menurunkan kadar trigliserida dalam darah (Ohnogi *et al.* 2012), namun penelitian pengaruh daun ashitaba tunggal terhadap kadar trigliserida dalam darah dan terhadap perlemakan hati pada tikus, yang ditunjukkan melalui gambaran histopatologi hepar belum pernah dilakukan. Penggunaan tanaman ashitaba di masyarakat yaitu dalam bentuk daun yang digunakan dalam keadaan mentah atau direbus, sedangkan batang dan akarnya harus direbus terlebih dahulu lalu sari airnya diminum sebagai obat. Penggunaan dalam bentuk serbuk, dengan cara satu sendok teh serbuk diseduh dengan 150 ml air panas lalu diaduk. Untuk pengobatan sebaiknya diminum 2 kali sehari, 1 sendok teh setara dengan 2,5 g serbuk daun asihtaba. Skrining fitokimia daun,

batang dan umbi secara kualitatif menunjukkan bahwa tanaman ashitaba mengandung senyawa kimia golongan alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin (Sembiring & Manoi 2011).

Flavonoid dapat berfungsi sebagai pelindung membran lipid terhadap reaksi oksidasi yang merusak serta melindungi struktur sel. Flavonoid juga memiliki khasiat sebagai antioksidan dan menekan sintesis asam lemak yang penting bagi diet manusia dan penting bagi kesehatan. Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas LPL yang dapat menguraikan trigliserida yang terdapat pada kilomikron (Sudheshh *et al.* 1997).

Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan zat aktif dengan jumlah yang maksimum, dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel 1989). Senyawa tersebut bervariasi polaritasnya, sehingga untuk menarik sebagian besar senyawa yang ada dalam tanaman tersebut dapat menggunakan pelarut etanol, hal ini dikarenakan etanol merupakan pelarut yang universal, sehingga diharapkan ashitaba dalam bentuk ekstrak etanol dapat mengandung senyawa aktif yang lebih banyak.

Metode GPO-PAP digunakan dalam penelitian ini untuk memeriksa trigliserida, karena metode ini sangat mudah, praktis, dan efisien. Metode ini mempunyai prinsip, pengukuran trigliserida setelah mengalami pemecahan secara enzimatis oleh LPL. Indikator yang digunakan adalah chinonimine yang berasal dari katalisasi 4-aminoantipyrine oleh hydrogen peroksida (Artanti 2008).

Tahapan pewarnaan *hematoxylin eosin* (HE) metode Harris adalah jenis pewarnaan rutin yang paling umum dipakai. Prosedur ini digunakan dalam proses pembuatan preparat histopatologi dari berbagai spesies hewan sakit atau mati yang memerlukan pemeriksaan histopatologi. Metode ini memiliki Prinsip, inti yang bersifat asam akan menarik zat/larutan yang bersifat basa sehingga akan berwarna biru. Sitoplasma bersifat basa akan menarik zat/larutan yang bersifat asam sehingga berwarna merah (Muntiha 2001).

I. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada dalam penelitian ini, dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

Pertama, ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) memiliki pengaruh dalam menurunkan kadar trigliserida serum darah tikus putih jantan yang diberi diet tinggi lemak.

Kedua, ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) memiliki pengaruh dalam memperbaiki histopatologi hepar tikus putih jantan yang diberi diet tinggi lemak.

Ketiga, dosis efektif ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) yang setara dengan dosis empiris sebesar 64 mg/kg BB tikus dapat menurunkan kadar trigliserida serum darah dan memperbaiki histopatologi hepar tikus putih jantan yang diberi diet tinggi lemak.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman ashitaba yang diperoleh dari Trawas Mojokerto, Jawa Timur. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ashitaba yang masih segar dari Trawas, Mojokerto, Jawa Timur.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak daun ashitaba hasil maserasi dengan pelarut etanol 70% yang diuji daya antihipertrigliseridemia terhadap tikus putih jantan.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali.

Variabel bebas adalah variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun ashitaba dengan variasi dosis.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kondisi kadar trigliserida pada hewan uji setelah perlakuan.

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kondisi fisik hewan uji (berat badan, usia, jenis kelamin, galur), kondisi laboratorium, dan praktikan.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun ashitaba adalah daun majemuk yang diambil dari tanaman ashitaba mulai pelepah sampai ujung tangkai daun tumbuh anak daun yang berjumlah tiga atau lebih yang diperoleh dari Trawas, Mojokerto, Jawa Timur.

Kedua, serbuk daun ashitaba adalah simplisia kering daun ashitaba yang dihaluskan dengan blender dan diayak dengan pengayak ukuran mesh no 40.

Ketiga, ekstrak daun ashitaba adalah ekstrak yang diperoleh dengan cara maserasi serbuk daun ashitaba menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian diuapkan dengan evaporator dan dilanjutkan dengan oven untuk mendapatkan ekstrak kental.

Keempat, tikus putih jantan galur wistar adalah tikus putih jantan galur wistar yang berumur 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 g.

Kelima, kenaikan kadar trigliserida adalah naiknya kadar trigliserida setelah diberi diet tinggi lemak selama 14 hari yang dibandingkan kadar trigliserida hari ke-0.

Keenam, penurunan kadar trigliserida adalah turunnya kadar trigliserida setelah diberi perlakuan yang diukur dari hari ke-0, hari ke-14 sampai ke-28 dengan metode GPO-PAP.

Ketujuh, histopatologi hati adalah perubahan yang terjadi pada hati tikus yang mengalami hipertrigliseridemia yang ditandai dengan perlemakan pada hati akibat induksi pakan diet tinggi lemak.

Kedelapan, dosis efektif adalah dosis yang dapat menurunkan kadar trigliserida yang hampir setara dengan kontrol positif.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat untuk membuat simplisia ashitaba adalah oven, mesin penggiling, ayakan mesh no 40. Alat untuk maserasi antara lain gelas ukur, corong kaca, gelas beker, batang pengaduk, erlenmeyer, timbangan elektrik, *vacuum rotary evaporator*, *moisture balance*, kain flannel dan botol berwarna gelap. Alat yang digunakan untuk identifikasi kandungan kimia adalah tabung reaksi, penjepit, dan

rak tabung. Alat untuk perlakuan hewan uji yaitu kandang, timbangan analitik, spuit, jarum suntik ujung tumpul (pemberian secara oral), alat untuk pengukuran kadar trigliserida yaitu sentrifuge tipe t121, pipet tetes dan penangas air gelas. Alat yang digunakan untuk preparat histopatologi adalah rangkaian alat bedah (pinset, scalpel, meja, lilin, pisau, gunting, dan jarum), mikrotom putar (*rotary microtome*), *object glass* dan *deg glass*, mikroskop cahaya.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel pertama adalah daun ashitaba yang diperoleh dari Trawas, Mojokerto, Jawa Timur. Kedua Bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan ekstrak adalah etanol 70%. Gemfibrozil yang digunakan sebagai kelompok kontrol positif dengan cara meningkatkan kadar trigliserida dengan menggunakan propiltiourasil dan diet tinggi lemak (kuning telur puyuh dan lemak sapi), sedangkan sebagai kelompok negatif hipertrigliseridemia adalah *Carboxy Metil Cellulose* CMC 0,5%. Reagen yang digunakan untuk mengukur kadar trigliserida yaitu trigliserida diasys. Bahan untuk pengamatan histopatologi adalah larutan Bouin, larutan warna *Haematoxylin Eosin*, formaldehid, etanol, xilen, dan alkohol.

D. Jalannya Penelitian

1. Detrminasi tanaman ashitaba

Tanaman sebelum digunakan harus dipisahkan terlebih dahulu bahwa yang akan digunakan adalah benar sesuai dengan yang dikehendaki. Determinasi tanaman dilakukan berdasar kunci determinasi yang akan dilakukan di Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Persiapan bahan

Daun ashitaba diperoleh dari daerah Trawas, Mojokerto, Jawa Tengah. Daun ashitaba yang dipilih adalah daun yang masih segar dan dipetik pagi hari atau sore hari. daun yang dipanen dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran dan cecaran, dikeringkan dengan oven pada suhu 50⁰C, kemudian ditimbang sebagai bobot akhir. Pembuatan serbuk ashitaba yang sudah kering kemudian

digiling lalu diblender, serbuk daun ashitaba diayak menggunakan ayakan mesh no 40. Serbuk yang didapat disimpan dalam wadah yang kering dan tertutup rapat.

3. Penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba

Penetapan susut pengeringan serbuk daun manggis dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Parameter suhu diatur pada suhu 105⁰C. Wadah pemanas diletakkan pada alat kemudian ditara. Ditimbang serbuk dari masing-masing-masing bahan sebanyak 2 g dan dimasukkan dalam wadah. Pemanasan akan berhenti jika alat sudah berbunyi, kemudian dicatat hasil susut pengeringan (dalam satuan %). Kadar air memenuhi syarat jika kadar air serbuk tersebut tidak boleh lebih dari 10% (Voigt 1995).

4. Uji bebas alkohol

Uji bebas alkohol dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak etanol daun ashitaba sudah tidak mengandung etanol, yaitu dengan cara melakukan reaksi esterifikasi alkohol. ekstrak alkohol tersebut ditambahkan asam sulfat pekat dan asam asetat kemudian dipanaskan. adanya sisa alkohol ditandai dengan aroma ester yang khas.

5. Pembuatan ekstrak daun ashitaba

Simplisia yang telah diserbukkan ditimbang sebanyak 500 g kemudian dimasukkan ke dalam wadah gelap, ditambah pelarut etanol 70% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 bagian. Serbuk dan pelarut ditempatkan pada botol kaca berwarna gelap, digojok, dan disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari selama 5 hari. Selama proses maserasi setiap hari penggojokan minimal 3 kali sehari. Selanjutnya, disaring dengan kain flannel, lalu sari yang diperoleh dipekatkan dengan *vacuum rotari evaporator* pada suhu 60⁰C dan selanjutnya diuapkan dengan oven pada suhu 45⁰C sampai mendapatkan ekstrak kental.

6. Identifikasi kandungan senyawa kimia

Identifikasi senyawa kimia daun ashitaba dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat pada ekstrak daun ashitaba. Senyawa yang diidentifikasi yaitu :

6.1 Identifikasi flavonoid. Sebanyak 1 g ekstrak ditambah 10 ml air. Campuran kemudian dipanaskan selama 5 menit, disaring, dan diambil filtratnya. Filtrat diberi 0,1 g serbuk Mg, 1 ml HCl pekat, dan 1 ml ambil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat. Terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Prameswari *et al.* 2014).

6.2 Identifikasi tanin. Sebanyak 1 g ekstrak ditambahkan 100 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah dengan 3 tetes pereaksi FeCl_3 1%. Perubahan warna menjadi hitam menunjukkan adanya senyawa polifenol. Terbentuknya warna hijau violet atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Prameswari *et al.* 2014).

6.3 Identifikasi alkaloid. Ekstrak daun ashitaba ditimbang masing-masing 0,5 g ditambah dengan sedikit larutan HCl 2N dengan dipanaskan, kemudian ditambahkan larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dan dengan reagen Dragendrof terbentuk endapan warna coklat sampai hitam, maka ada kemungkinan terdapat alkaloid (Depkes 1986).

6.4 Identifikasi saponin. Ekstrak daun ashitaba masing-masing ditimbang sebanyak 2 mg dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan air panas 10 ml, di dinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 menit. Bila dibanding dengan larutan standart reaksi positif akan terbentuk buih setinggi 1 sampai 10 cm. Pada penambahan asam klorida 2 N buih tidak hilang (Depkes 1987).

7. Penetapan dosis

7.1 Dosis CMC 0,5%. Dosis kontrol negtif CMC 0,5% ditentukan melauai pemberian secara peroral ke tikus sebanyak 1 ml/200 g BB. Penelitian ini menggunakan CMC 0,5% sebagai kontrol negatif.

7.2 Dosis gemfibrozil. Dosis kontrol positif gemfibrozil ditentukan berdasarkan dosis manusia yaitu 600 mg. Pemberian didasarkan berat badan orang dewasa yaitu 70 kg. Faktor konversi manusia dengan berat 70 Kg ke tikus adalah 0,018, maka dosis gemfibrozil yang digunakan 10,8 mg/200 g BB tikus.

7.3 Dosis ekstrak daun ashitaba. Dosis yang digunakan sebagai kontrol uji ekstrak etanol daun ashitaba dengan menggunakan dosis yang digunakan di masyarakat. Untuk mengetahui dosis yang tepat ekstrak etanol daun ashitaba yang diberikan kepada hewan uji dengan varian dosis 32 mg/kg BB tikus, 64 mg/kg BB tikus, 128 mg/kg BB tikus.

8. Pembuatan larutan uji

8.1 Suspensi CMC 0,5%. Pembuatan larutan CMC 0,5% dibuat dengan cara serbuk CMC ditimbang 0,5 g dan dilarutkan dalam aquadest panas 100 ml sambil diaduk hingga homogen.

8.2 Suspensi gemfibrozil. Pembuatan larutan gemfibrozil dosis gemfibrozil untuk manusia adalah 600 mg, sehingga jika dikonversikan ke tikus menjadi 10,8 mg/200 g BB tikus. 10,8 mg serbuk gemfibrozil dimasukkan kedalam 100 ml. Takaran pemberian gemfibrozil sebanyak 1 ml/200g BB tikus.

8.3 Suspensi propiltiourasil. Dosis PTU yang diberikan ke hewan uji sebanyak 12,5 mg/200g BB tikus diberikan selama 14 hari secara peroral (Allo *et al.* 2013). Dibuat larutan stok PTU 1,25% yaitu dengan cara melarutkan 1250 mg PTU dengan aquadest hingga volume 100 ml. Takaran pemberian PTU sebanyak 1 ml/200 g BB tikus.

9. Pembuatan pakan diet tinggi lemak

Hewan uji yang akan digunakan tikus jantan yang memiliki umur 2-3 bulan, dengan berat sekitar 150-200 g dan memiliki kondisi sehat. Dengan pemberian asupan makanan standar BR II, tikus juga diberikan asupan pakan diet tinggi lemak. Bahan yang digunakan berupa emulsi lemak sapi yang diberikan secara per oral sebagai makanan untuk menginduksi kenaikan kadar trigliserida. Komposisi dari emulsi ini yaitu 5 g lemak sapi, 10 g kuning telur puyuh, dan air sampai 100 ml.

Tabel 1. Pakan diet tinggi lemak (Widyaningsih 2011)

No	Nama Bahan	Komposisi
1	Lemak sapi	5 g
2	Kuning telur puyuh	10 g

Cara pembuatannya yaitu dengan memanaskan lemak sapi yang berupa padatan sehingga diperoleh bentuk cair (minyak lemak sapi). Kemudian

mencampur minyak sapi tersebut dengan kuning telur puyuh sehingga terbentuk korpus emulsi, kemudian ke dalam korpus emulsi tersebut ditambahkan air sampai 100 ml sambil diaduk cepat hingga terbentuk emulsi yang halus dan homogen. Emulsi lemak sapi ini dibuat baru setiap hari sebelum diberikan secara per oral menggunakan injeksi jarum oral selama perlakuan diet tinggi lemak sebelum pemberian pakan standar BR II, Takaran pemberian emulsi minyak sapi dan telur puyuh untuk setiap ekor tikus sebanyak 2 mL/200 g BB (Widyaningsih 2011).

10. Perlakuan hewan uji

Hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus putih berjenis kelamin jantan galur wistar, usianya 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 g. Sebelum perlakuan, tikus diadaptasi selama 1 minggu untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan sekitarnya. Tikus ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenalan, tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor dan dibagi dalam 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus yang sebelumnya sudah dipuasakan selama 7-8 jam tetapi tetap diberi minum. Pada hari ke-0 diambil darah untuk menetapkan kadar trigliserida (T_0) pada tikus. Kemudian dilakukan pengambilan darah pada kelompok normal (5 ekor tikus) dan kelompok perlakuan (25 ekor tikus) untuk menetapkan kadar trigliserida, setelah diperiksa kadar trigliserida kemudian induksi menggunakan pakan diet tinggi lemak dan PTU. Kemudian pada hari ke-14 dilakukan pengambilan darah untuk menetapkan kadar trigliserida (T_1) pada tikus. Setelah diketahui kadar trigliserida mengalami kenaikan maka diberikan pemberian terapi pada masing-masing kelompok uji, yaitu sebagai berikut :

Kelompok I, kontrol normal : sebagai kelompok normal yang diberi pakan standart BR II.

Kelompok II, kontrol negatif : sebagai kelompok negatif makan standart BR II dan ditambahkan CMC 0,5%

Kelompok III, kontrol positif : sebagai kelompok positif diberi makan standart BR II dan ditambahkan suspensi Gemfibrozil (10,8 mg/200 g BB tikus).

- Kelompok IV, perlakuan : sebagai kelompok perlakuan diberi makan standart BR II dan ditambahkan sediaan ekstrak daun ashitaba dengan dosis 32 mg/kg BB tikus.
- Kelompok V, perlakuan : sebagai kelompok perlakuan diberi makan standart BR II dan ditambahkan sediaan ekstrak daun ashitaba dengan dosis 64 mg/kg BB tikus.
- Kelompok VI, perlakuan : sebagai kelompok perlakuan diberi makan standart BR II dan ditambahkan sediaan ekstrak daun ashitaba dengan dosis 128 mg/kg BB tikus.

Pada hari ke-28 semua tikus di ukur kadar trigliserida, kemudian semua tikus dianestesi lalu diambil organ hatinya untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi (T₂). Pakan diet tinggi lemak dibuat dalam sediaan emulsi yang diberikan secara oral menggunakan sonde lambung. Propiltiourasil juga diberikan pada tikus secara peroral menggunakan sonde lambung.

11. Pengambilan darah dan pengumpulan serum

Pengambilan darah dilakukan sebanyak 3 kali, pada setiap hewan uji dalam masing-masing kelompok, yang diambil pada hari ke-0, hari ke-14 dan hari ke-28. Darah yang diambil melalui sinus ophthalmikus tikus menggunakan mikrohematokrit, ditampung dalam tabung *sentrifuge* ± 2 ml melalui dinding tabung, kemudian disentrifuge 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).

12. Penetapan kadar trigliserida serum darah tikus

Cara penentuan kadar trigliserida pada penelitian ini memiliki cara langsung dengan metode GPO-PAP. Serum sebanyak 10 µl ditambah pereaksi trigliserida kit 1000 µl lalu campur di atas inkubasi selama 20 menit pada suhu 20-25⁰C, diamati kadarnya dengan alat fotometer dengan panjang gelombang 546 nm, kemudian didapatkan kadar trigliserida (mg/dL) (Widyaningsih 2011).

Tabel 2. Pengujian trigliserida (Marniwati & Cornelius 2012).

	Blanko	Standart	Sampel
Sampel	-	-	10 µL
Standart	-	10 µL	-
Aquadest	10 µL	-	-

Reagent	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L
---------	--------------	--------------	--------------

13. Uji histopatologi organ hati

13.1 Pembuatan preparat histopatologi. Tahap pembuatan sediaan histopatologi dilakukan sesuai metode Kiernan. Fiksasi jaringan dengan cara merendam dalam formalin buffer fosfat 10% selama 24 jam, kemudian diiris (*trimming*) agar dapat dimasukkan dalam kotak untuk diproses dalam *tissue processor*. Tahap berikutnya, jaringan tersebut dimasukkan ke dalam alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, toluene 1 dan toluene 2 masing-masing selama 2 jam. Selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam paraffin cair dengan suhu 56⁰C selama 2 jam sebanyak 2 kali. Jaringan kemudian diambil dengan pinset, dilanjutkan dengan pemblokkan menggunakan parafin blok. Pemotongan (*cutting*) dilakukan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 μ m. Jaringan yang terpotong dikembangkan di atas air dalam *waterbath*, kemudian ditangkap dengan gelas objek. Kemudian dikeringkan dalam suhu kamar dan preparat siap diwarnai dengan HE.

Tahapan pewarnaan HE metode Harris adalah sebagai berikut : preparat di atas gelas objek direndam dalam xylol I 5 menit, dilanjutkan xylol II, III masing-masing 5 menit. Kemudian preparat direndam dalam alkohol 100% I dan II masing-masing 5 menit, selanjutnya ke dalam aquadest dan kemudian direndam dalam *hematoxylin* selama 15 menit. Preparat dicelupkan ke dalam aquadest dengan cara mengangkat dan menurunkannya. Preparat kemudian dicelupkan ke dalam alkohol 1% selama 7-10 celupan, direndam dalam aquadest 15 menit, dan dalam eosin selama 2 menit. Selanjutnya preparat direndam dalam alkohol 96% I dan II masing-masing 3 menit, alkohol 100 % I dan II masing-masing 3 menit, dan dalam xylol IV dan V masing-masing 5 menit. Preparat dikeringkan dan dilakukan *mounting* dengan menggunakan entelan. Preparat diperiksa di bawah mikroskop untuk pemeriksaan terhadap perubahan histopatologi.

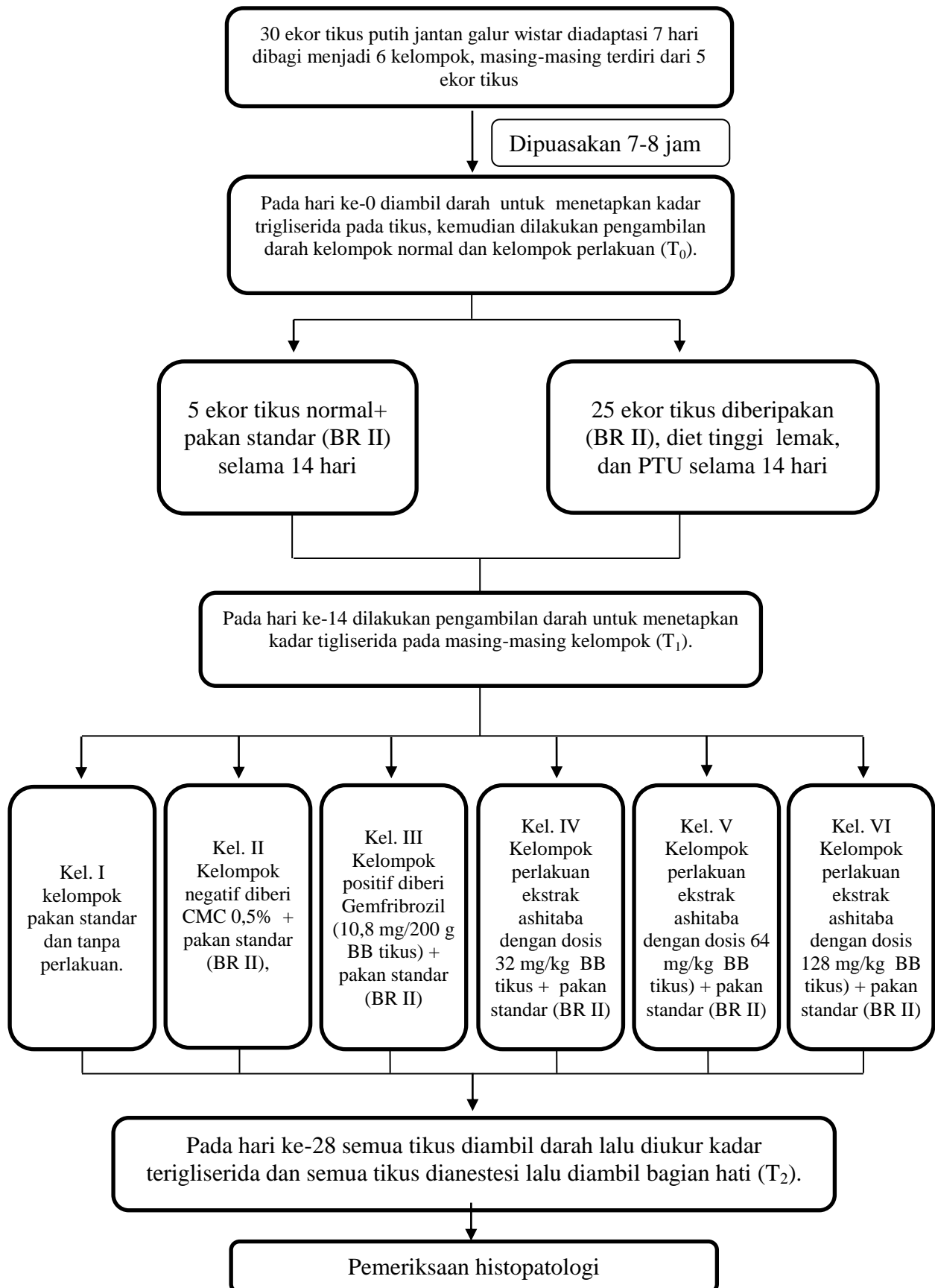
13.2 Pemeriksaan histopatologi. Preparat histopatologi diperiksa di bawah mikroskop masing-masing pada 4 lapang pandang mikroskopik. Pemeriksaan dengan mikroskop dilakukan dengan pembesaran 400x kemudian

dilanjutkan dengan pembesaran 1000x. Perubahan histopatologi yang diamati meliputi adanya degenerasi melemak (vakuolisasi) dan sel normal.

E. Analisis Hasil

Analisis hasil yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan hasil data yang dianalisis mengetahui adanya efek ekstrak etanol daun ashitaba terhadap kadar trigliserida. Tahap pertama dalam data analisis statistik yaitu uji distribusi normal (*Kolmogorov Semirnov*) untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak. Data terdistribusi normal jika $p > 0,05$ dan terdistribusi tidak normal jika $p < 0,05$.

Analisis hasil data persentase kadar trigliserida (TG) dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Bila $p < 0,05$ terdapat perbedaan bermakna antar kelompok, bila $p > 0,05$ berarti tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok. Bila $p < 0,05$ maka dilanjutkan dengan uji Post Hoc Test untuk menarik kesimpulan.



Gambar 6. Skema prosedur pengujian hewan uji.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi tanaman ashitaba

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman ashitaba yang diperoleh, di desa Terawas Mojokerto, Jawa Timur pada bulan Desember tahun 2016. Tanaman ashitaba terlebih dahulu diidentifikasi untuk menetapkan kebenaran bahan tanaman yang digunakan sebagai objek penelitian dan untuk menghindari kesalahan dalam mengumpulkan bahan, serta menghindari tercampurnya bahan tanaman dengan tanaman lain. Identifikasi tanaman ashitaba dilakukan di Laboratorium Bagian Biologi, Universitas Sebelas Maret Surakarta. Berdasarkan surat keterangan identifikasi Nomor : 165/UN27.9.6.4/Lab/2016 dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman daun ashitaba *Angelica keiskei* (Miq.) Koidz. Hasil identifikasi tanaman dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Pembuatan serbuk daun ashitaba

Daun ashitaba disortir terlebih dahulu, kemudian dicuci hingga bersih dengan menggunakan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel. Kemudian daun ashitaba dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50⁰C sampai kering. Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah timbulnya jamur yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan kimia dan dapat menurunkan kualitas simplisia, serta menghilangkan kadar air untuk mencegah pembusukan. Simplisia yang sudah kering dibuat serbuk dengan cara bahan digiling menggunakan mesin penggiling, kemudian diayak dengan ayakan no 40. Penyerbukan bertujuan untuk memperkecil ukuran bahan agar kontak permukaan partikel serbuk dengan pelarut semakin luas sehingga pengekstraksian dapat berlangsung efektif dan juga mempermudah dalam penggunaan. Hasil persentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun ashitaba dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun ashitaba

Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%)
10	3	30%

Daun ashitaba sebanyak 10 kg dikeringkan dan didapatkan rendemen bobot basah adalah 30%. Hasil perhitungan persentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun ashitaba dapat dilihat pada Lampiran 2.

3. Pembuatan ekstrak daun ashitaba

Ekstrak daun ashitaba diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Metode maserasi digunakan karena merupakan metode yang sederhana, mudah dilakukan, alat yang digunakan mudah didapat dan baik untuk senyawa yang tidak tahan panas. Pemilihan pelarut etanol 70% didasarkan karena pelarut ini bersifat lebih polar, lebih selektif, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, dan senyawa yang terkandung dalam simplisia dapat tersaring secara maksimal. Semua maserat yang diperoleh diuapkan dengan alat *vacuum rotary evaporator* hingga didapat ekstrak kental. Hasil pembuatan ekstrak daun ashitaba dapat dilihat pada Tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak daun ashitaba

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
500	71,5	14,3%

Dapat dilihat pada Tabel 3, ekstrak kental yang didapatkan dari 500 g serbuk daun ashitaba sebesar 71,5 g dan diperoleh rendemen 14,3%. Hasil rendemen pembuatan ekstrak daun ashitaba dapat dilihat pada Lampiran 3.

4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba

Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun ashitaba menggunakan alat *moisture balance*. Prinsip kerja alat *moisture balance* yaitu dilakukan pemanasan terhadap serbuk, sehingga terjadi penguapan terhadap zat-zat yang dapat menguap hingga bobot konstan. Data hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba dapat dilihat pada Tabel 5 di bawah ini.

Tabel 5. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba

No	Berat serbuk (g)	Kadar Air (%)
1	2,00	6,5
2	2,00	6,0
3	2,00	5,0
Rata-rata±SD		5,9±0,76

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba sebesar 5,9%. Syarat kadar air serbuk tersebut tidak boleh lebih dari 10% (Voigt 1995). Dengan tujuan untuk mengetahui ketahanan suatu bahan dalam penyimpanannya sehingga bahan dapat terhindar dari pengaruh aktivitas mikroba perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 5.

5. Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun ashitaba

Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun ashitaba dilakukan dengan cara ekstrak ditambahkan dengan asam asetat encer dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, apabila tidak terdapat bau ester berarti sudah tidak terdapat alkohol. Hasil uji bebas alkohol pada Tabel 6 menunjukkan hasil negatif maka dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun ashitaba yang diperoleh sudah tidak mengandung etanol.

Tabel 6. Hasil uji bebas alkohol ekstrak daun ashitaba

Hasil	Pustaka	Keterangan
Tidak tercium bau khas ester (etil asetat dari alkohol)	Tidak ada bau khas ester (etil asetat) dari alkohol (Depkes 1979)	(-)

6. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun ashitaba

Ekstrak daun ashitaba mengandung senyawa kimia seperti flavonoid dan tanin. Untuk mengetahui kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun ashitaba menggunakan metode reaksi warna. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun ashitaba dapat dilihat pada Tabel 7 di bawah ini.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun ashitaba

No	Kandungan kimia	Hasil	Pustaka	Keterangan
1	Flavonoid	Merah bata pada lapisan amyl alkohol	Merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alcohol (Robinson 1995)	(+)
2	Tanin	Terbentuk warna biru kehitaman	Warna coklat kehijauan atau biru kehitaman (Robinson 1995)	(+)
3	Saponin	Terbentuk buih	Adanya buih yang stabil (Harbone 1987)	(+)
4	Alkaloid	Endapan merah kecoklatan	Berwarna jingga atau adanya endapan jingga kemerahan (Depkes 1987)	(+)

Hasil identifikasi ekstrak daun ashitaba menggunakan metode reaksi warna menunjukkan bahwa ekstrak daun ashitaba mengandung senyawa flavonoid

dan tanin. Gambar hasil identifikasi kandungan kimia dapat dilihat pada Lampiran 14.

7. Penetapan dosis

Dosis gemfibrozil yang digunakan adalah 1,08 mg/200 g BB tikus. Penetapan dosis sediaan uji ekstrak etanol daun ashitaba berdasarkan dosis orientasi yaitu dapat menurunkan kadar trigliserida sebesar 64 mg/kg BB tikus, sehingga ditetapkan dosis pada penelitian ini sebesar 32 mg/kg BB tikus, 64 mg/kg BB tikus, dan 128 mg/kg BB tikus. Perhitungan dosis pemberian dapat dilihat pada Lampiran 5.

8. Pengujian penurunan kadar trigliserida ekstrak etanolik daun ashitaba terhadap kadar trigliserida.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan ekstrak daun ashitaba. Pengujian kadar trigliserida dilakukan terhadap 30 ekor tikus putih jantan dengan metode GPO-PAP. Prinsip kerja adalah trigliserida oleh enzim lipoprotein lipase diubah menjadi gliserol dan asam amino bebas. Gliserol yang terbentuk direaksikan dengan ATP dengan bantuan enzim gliserol kinase membentuk gliserol-3-phospat dan ADP. Gliserol-3-phospat dioksidasi aseton phospat dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida yang bentuk akan mengoksidasi klorophenol membentuk quinonim yang berwarna merah muda. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan kadar trigliserida dalam sampel (Kahono 2010).

Tikus putih jantan galur wistar dipilih sebagai hewan uji dalam penelitian. Pemeriksaan kadar trigliserida dilakukan menggunakan darah yang diambil melalui vena ophthalmikus sebanyak 2 ml dengan menggunakan pipa kapiler, kemudian darah disentrifuge pada peraturan 3000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum dan ditambahkan dengan reagen kit yang di laukan sebanyak 3 kali pemeriksaan yaitu pada hari ke-0 (T0) dimana hewan uji diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari sebelum memulai penelitian agar dapat menyesuaikan dengan lingkungan sekitar dan belum mengalami perlakuan apapun sehingga dianggap sebagai kadar awal trigliserida normal tikus putih jantan sebelum dipengaruhi oleh induksi tinggi lemak dan PTU. Pemeriksaan kadar trigliserida hari ke-14 (T1) untuk mengetahui peningkatan kadar trigliserida

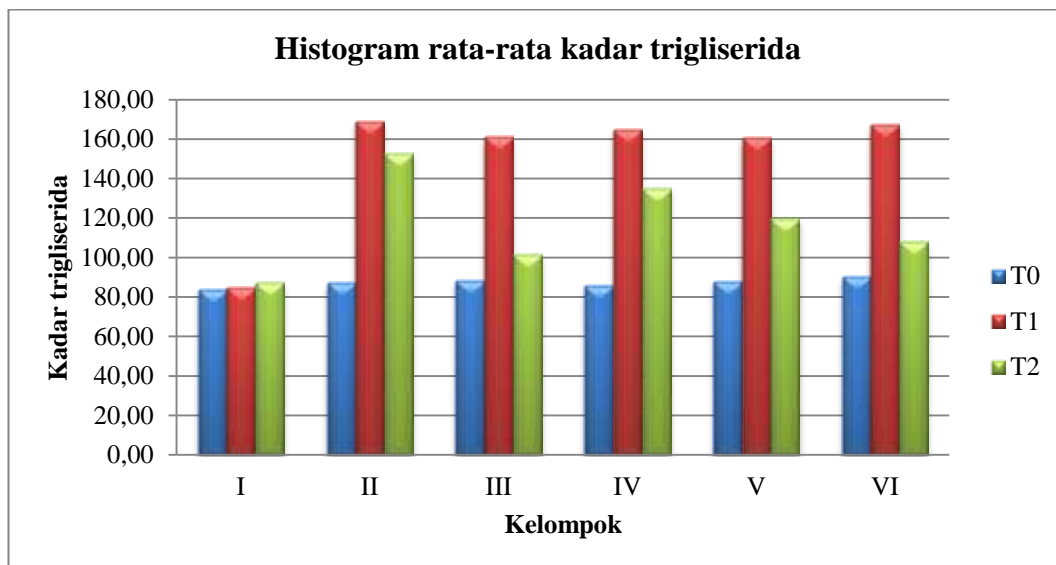
setelah diinduksi diet tinggi lemak dan PTU. Pada hari ke-28 (T2) setelah hewan uji diberi perlakuan lakukan pengujian sesuai kelompok uji yaitu kelompok I sebagai kelompok normal tidak diinduksi diet tinggi lemak dan PTU, kelompok II sampai VI sebagai kelompok sakit diinduksi diet tinggi lemak dan PTU, kelompok II (hipertrigliseridemia) diberi CMC 0,5% yang tidak mengandung senyawa aktif, kelompok III sebagai kelompok obat diberi gemfibrozil, dan kelompok IV,V,VI sebagai kelompok dosis uji diberi ekstrak etanol daun ashitaba yang dibagi menjadi beberapa variasi dosis yaitu 32 mg/kg BB tikus, 64 mg/kg BB tikus, 128 mg/kg BB tikus. Perhitungan dosis dan volume pemberian dapat dilihat pada Lampiran 5. Hasil rata-rata kadar trigliserida pada hari ke-0, hari ke-14, hari ke-28 dapat dilihat pada Table 8.

Tabel 8. Hasil rata-rata kadar trigliserida darah tikus

Kelompok perlakuan	Rata-rata kadar trigliserida (mg/dL)			kenaikan (T ₁ -T ₀)	Penurunan (T ₁ -T ₂)
	T0 (Hari ke-0)	T1 (Hari ke-14)	T2 (Hari ke-28)		
I	83,61±2,57	84,94±2,69	87,30±2,81	1,33±1,36	-2,36±0,54 ^{bc}
II	87,22±3,28	169,22±9,19	152,99±2,45	82,00±8,71	16,23±9,19 ^{ac}
III	88,72±5,40	161,48±6,46	101,61±3,28	72,76±8,20	59,88±4,70 ^{ab}
IV	85,71±4,12	164,94±14,06	135,18±3,55	79,22±13,54	29,76±13,76 ^{abc}
V	87,97±5,18	160,66±6,77	120,00±2,95	72,69±6,86	41,66±9,04 ^{abc}
VI	90,23±4,76	167,74±21,41	108,18±4,77	77,51±20,41	59,56±19,98 ^{ab}

Keterangan

- Kelompok I : kelompok normal (hewan sehat)
 Kelompok II : kelompok negatif (CMC 0,5%)
 Kelompok III : kelompok positif (gemfibrozil 10,8 mg/200 g BB tikus)
 Kelompok IV : kelompok uji (ekstrak etanol ashitaba 32 mg/kg BB tikus)
 Kelompok V : kelompok uji (ekstrak etanol ashitaba 64 mg/kg BB tikus)
 Kelompok VI : kelompok uji (ekstrak etanol ashitaba 128 mg/kg BB tikus)
 a : Berbeda signifikan terhadap kelompok normal
 b : Berbeda signifikan terhadap kelompok negatif
 c : Berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif



Gambar 7. Histogram rata-rata kadar trigliserida

Keterangan

- Kelompok I : Kelompok normal diberi pakan standar dan air minum
 Kelompok II : Kelompok negatif diberi perlakuan dengan CMC 0,5 %
 Kelompok III : Kelompok positif diberi suspensi (gemfibrozil 10,8 mg/200 g BB tikus)
 Kelompok IV : Kelompok dosis 32 mg/kgBB
 Kelompok V : Kelompok dosis 64 mg/kgBB
 Kelompok VI : Kelompok dosis 128 mg/kgBB
 T₀ : Kadar trigliserida periode I (hari ke-0)
 T₁ : Kadar trigliserida periode II (hari ke-14)
 T₂ : Kadar trigliserida periode III (hari ke-28)

Berdasarkan hasil rata-rata kadar trigliserida di atas dapat dilihat pada histog tersebut bahwa pada hari ke-0 belum menunjukkan perubahan karena merupakan nilai awal dari kadar trigliserida tikus putih jantan. Kelompok I (kelompok normal) dari hari ke-0 sampai hari ke-28 tidak dapat perbedaan kadar trigliserida yang signifikan. Pada kelompok I (normal) ini hanya diberi pakan BR II.

Pada hari ke-14 kadar trigliserida mengalami kenaikan. Pada kelompok II (kelompok negatif), III (kelompok positif), IV (dosis ekstrak 32 mg), V (dosis ekstrak 64 mg), dan VI (dosis ekstrak 128 mg) menunjukkan peningkatan kadar trigliserida, hal ini terjadi karena tikus diinduksi pakan diet tinggi lemak dan PTU pada semua kelompok perlakuan kecuali kelompok I sebagai kelompok normal. Pemberian pakan diet tinggi lemak dan PTU dapat menyebabkan keadaan hipertrigliseridemia pada tikus putih jantan galur wistar selama 14 hari.

Peningkatan ini dipengaruhi oleh kandungan diet tinggi lemak dan PTU tersebut. Trigliserida merupakan komponen utama dalam makanan berlemak. Asupan lemak dan kolestrol yang berlebih dapat meningkatkan kadar kolestrol total dan trigliserida dalam darah (Rully 2012). Trigliserida dari makanan merupakan sumber lemak jenuh yang tidak dapat langsung diserap oleh lambung. Kemudian kadar trigliserida pada hari ke-28, menunjukkan penurunan yang signifikan pada kelompok positif (gemfibrozil 10,8 mg/200g BB). Sedangkan pada ketiga variasi dosis ekstrak daun ashitaba dosis 128 mg/kg BB tikus memberikan efek penurunan yang mendekati dengan kontrol positif. Berbeda dengan kelompok II sebagai kontrol negatif yang diinduksi diet lemak tinggi dan diberi CMC 0,5% dimana CMC tidak merusak komponen lipid, sehingga menunjukan penurunan kadar trigliserida yang sangat kecil dibandingkan kelompok uji lainnya yang diberikan perlakuan.

Tabel 9. Persentase penurunan kadar trigliserida T1 ke T2

Kelompok	T1-T2	Persentase Penurunan (%)
I	-2,36±0,54	-2,78±0,64 ^c
II	16,23±9,19	9,39±4,78 ^c
III	59,88±4,70	37,05±1,96 ^{ab}
IV	29,76±13,76	17,63±6,48 ^{abc}
V	41,66±9,04	25,17±4,42 ^{abc}
VI	59,56±19,98	34,88±6,66 ^{ab}

Keterangan

- I : Kelompok normal diberi pakan standar dan air minum
- II : Kelompok negatif diberi perlakuan dengan CMC 0,5 %
- III : Kelompok positif diberi suspensi (gemfibrozil 10,8 mg/200 g BB tikus)
- IV : Kelompok dosis 32 mg/kgBB tikus
- V : Kelompok dosis 64 mg/kgBB tikus
- VI : Kelompok dosis 128 mg/kgBB tikus
- a : Berbeda signifikan terhadap kelompok normal
- b : Berbeda signifikan terhadap kelompok negatif
- c : Berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif

Berdasarkan tabel 9 persentase penurunan kadar trigliserida dapat dilihat bahwa kelompok III, IV,V, dan VI dapat menurunkan kadar trigliserida darah, tetapi pada kelompok IV dan V memiliki penurunan kadar trigliserida yang lebih rendah dibandingkan kelompok III, sedangkan penurunan kadar trigliserida pada kelompok VI hampir setara dengan kelompok III, Penurunan kadar trigliserida pada kelompok III yang diberi perlakuan gemfibrozil.

Data hasil penurunan kadar trigliserida dianalisis dengan Anova. Namun, sebelum dilakukan uji untuk mengetahui adanya perbedaan penurunan kadar trigliserida yang nyata dalam setiap kelompok, maka dilakukan uji distribusi yaitu diamati datanya terdistribusi normal atau tidak. Uji distribusi data dilakukandengan uji *Kolmogrov-Smirnov*. Kriteria uji ini adalah nilai signifikanya lebih dari 0,05 maka data terdistribusi normal dan jika kurang dari 0,05 maka data tidak terdistribusi normal. Dari hasil uji *Kolmogrov-Smirnov* diperoleh nilai signifikanya lebih besar dari 0,05 sehingga data terdistribusi secara normal dapat dilihat pada Lampiran 9.

Kemudian dilanjutkan dengan analisis statistic kadar trigliserida menggunakan *One Way Anova* karena penurunan trigliserida hanya dipengaruhi oleh 1 faktor yaitu variasi dosisnya. Kriteria uji adalah bila nilai signifikanya lebih kecil dari 0,05 maka disimpulkan bahwa adanya beda aktivitas secara signifikan diantara setiap kelompok uji. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan nilai signifikanya 0,000 sehingga disimpulkan bahwa ada bedanya nyata penurunan kadar trigliserida pada tiap kelompok. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey Pos Hoc-Test*, untuk melihat adanya perbedaan antara kelompok hewan uji normal (sehat) dengan hewan uji hipertrigliseridemia (sakit).

Berdasarkan hasil dari statistic *Tukey Pos Hoc-Test* untuk menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan semua kelompok Dilihat dari kontrol normal berbeda signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, dan ketiga variasi dosis ekstrak daun ashitaba. Kontrol negatif berbeda signifikasi dengan kontrol positif dan ketiga variasi dosis ekstrak etanol daun ashitaba. Hal ini disebabkan karena kontrol negatif merupakan kelompok hipertrigliseridemia yang digunakan sebagai pembanding dengan kadar uji dosis ekstrak etanol daun ashitaba. Sedangkan pada kontrol positif berbeda signifikasi dengan kelompok dosis ekstrak 32 mg/kg BB dan 64 mg/kg BB, hal ini disebabkan karena penurunan kadar trigliserida pada kedua variasi dosis ekstrak tersebut belum sebanding dengan kontrol positif. Tetapi pada kelompok dosis ekstrak 128 mg/kg BB tidak menunjukkan perbedaan signifikasi dengan kontrol positif, hal ini disebabkan karena penurunan kadar trigliserida pada kelompok

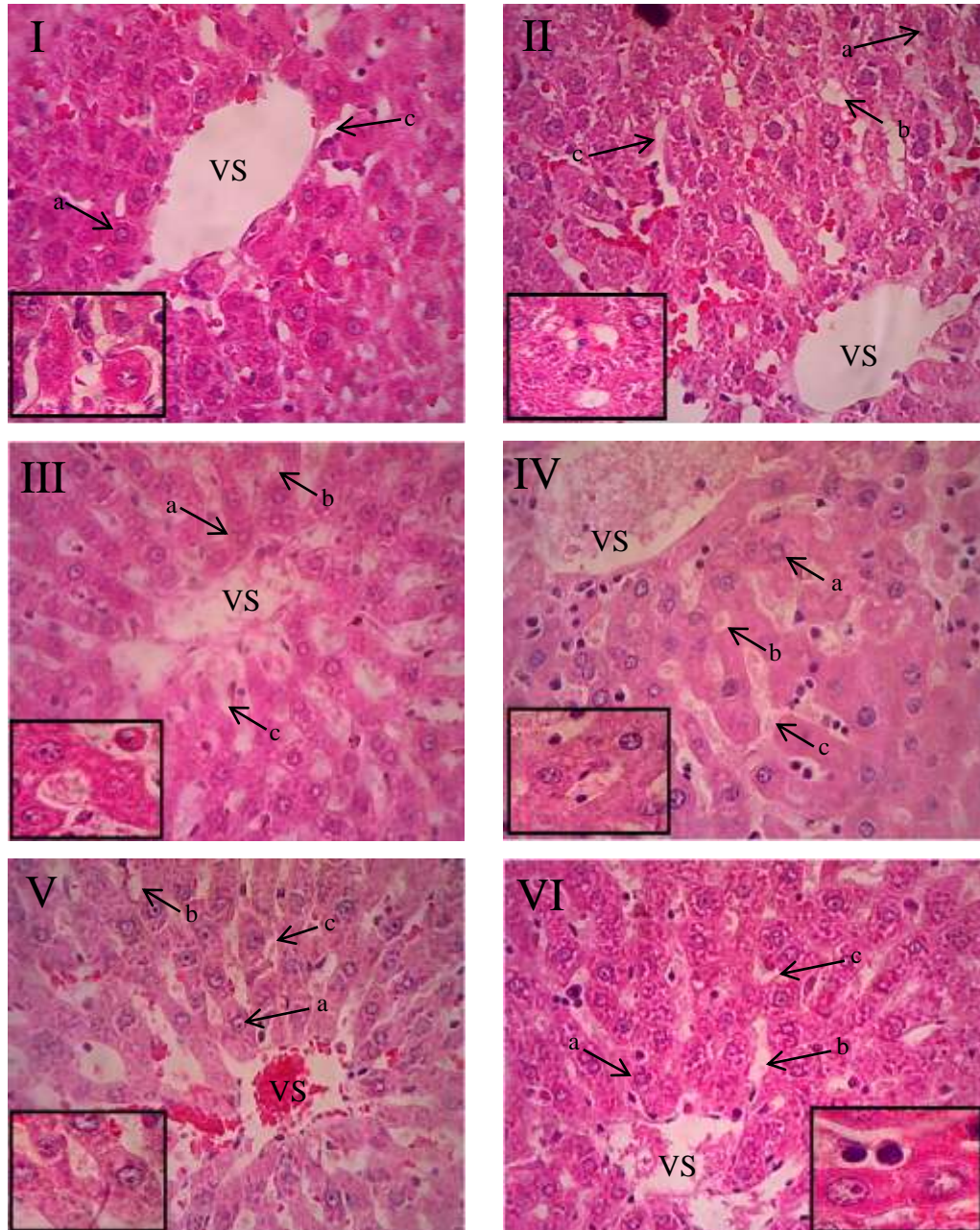
dosis ekstrak 128 mg/kg BB sebanding dengan penurunan kadar trigliserida pada kontrol positif. Dengan adanya hal tersebut dapat disimpulkan Dari ketiga variasi dosis yang digunakan ekstrak etanol daun ashitaba dengan dosis III yaitu 128 mg/kg BB tikus memberikan pengaruh dalam menurunkan kadar triglierida yang efektif dalam penurunan kadar trigliserida dengan uji *Tukey Post Hoc Test* dapat dilihat pada Lampiran 9.

Daun ashitaba dapat beraktifitas sebagai antihipertrigliseridemia karena mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tannin. Flavonoid yang dapat berfungsi sebagai pelindung membran lipid terhadap reaksi oksidasi yang merusak serta melindungi struktur sel. Flavonoid juga memiliki khasiat sebagai antioksidan dan menekan sintesis asam lemak yang penting bagi diet manusia dan penting bagi kesehatan dalam tubuh serta baik untuk pencegah kanker. Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas lipoprotein lipase yang dapat menguraikan trigliserida yang terdapat pada kilomikron (Sudheshsh *et al.* 1997).

Senyawa saponin juga dipercaya dapat bermanfaat untuk mengontrol jumlah trigliserida pada manusia. Saponin memiliki aktifitas antihipertrigliseridemia dan meningkatkan ekskresi trigliserida melalui feses (Suharti *et al.* 2008).

Tanin mampu menurunkan kadar trigliserida dengan cara menghambat absorpsi trigliserida dalam usus, dengan dihambatnya absorpsi trigliserida dalam saluran pencernaan maka jumlah trigliserida yang masuk kedalam pembuluh darah menjadi berkurang dan trigliserida yang tidak terabsorpsi akan dikeluarkan bersama feses (Widyaningsih 2011).

9. Pengujian ekstrak etanol daun ashitaba terhadap gambaran histopatologi hepar.



Gambar 8. Gambaran histopatologi organ hepar tikus dengan pewarnaan HE (perbesaran 400 kali): I. Kelompok normal; II. Kelompok negatif; III. Kelompok positif; IV. Kelompok dosis 32 mg; V. Kelompok dosis 64 mg; VI. Kelompok dosis 128 mg.

Keterangan gambar : a = sel hepar normal, b = Pembentukan lemak, c = sinusoid, VS = vena sentralis, insert = menunjukkan gambaran sel hepatosit yang diperbesar.

Hasil pengamatan analisis gambaran histopatologi organ hepar dilakukan secara deskriptif. Dimana pada penelitian ini hanya menggambarkan bentuk lemak dan perlemakan yang terjadi pada organ hepar tikus (*Rattus norvegicus*) disebabkan oleh induksi pakan diet tinggi lemak dan PTU. Pada setiap kelompok hanya mengambil satu perwakilan tikus untuk melihat bentuk perlemakan yang terjadi di organ hepar dapat diketahui melalui pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Penghitungan skoring dapat dilihat pada Tabel 10 di bawah ini.

Tabel 10. Hasil jumlah skoring pembentukan lemak hepar.

Kelompok perlakuan	Skoring dari 4 penampang pandang				Rata-rata
	1	2	3	4	
I	0	0	0	0	0
II	3	3	4	3	3,25
III	1	1	1	1	1
IV	2	2	1	2	1,75
V	2	2	1	2	1,75
VI	1	2	1	2	1,5

Dari hasil pengamatan histopatologi pada jaringan hepar tikus kelompok I menggambarkan tidak mengalami pembentukan lemak dengan nilai rata-rata 0 karena tidak diberi induksi pakan diet tinggi lemak dan PTU gambar tersebut terlihat sinusoid nampak jelas dan rapat dari vena sentralis pada insert pebesaran sinusoid nampak jelas dan tidak tampak adanya pembentukan lemak pada sel hepar.

Pada hepar adanya pembentukan lemak terjadi pada kelompok II dan III maupun kelompok perlakuan IV, V, dan VI. Perbedaan antara lima kelompok ditunjukkan oleh derajat lemak yang timbul pada sel hepar, seperti pada Gambar 2. Jaringan hepar tikus pada kelompok II (Kelompok negatif), terlihat di sekitar sel hepar yang dekat dengan vena sentralis mengalami pembentukan lemak pada seluruh bagian dengan nilai rata-rata 3,25 dan sinusoid tidak nampak teratur. Lemak yang timbul pada kelompok II ditunjukkan pada insert dengan perbesaran, dari gambar tersebut dapat dilihat sekitar sel hepar mengalami pembentukan lemak inti sel hati normal berada di tepi karena terdesak oleh adanya lemak yang memenuhi sitoplasma sel hati normal. Pada kelompok I dibandingkan dengan kelompok II memiliki perbedaan berdasarkan pengamatan yang dilakukan. Jika adanya pembentukan lemak sel hati menyebabkan terjadinya perubahan susunan sel sehingga sel tidak mampu kembali keadaan semula menyebabkan sinusoid

tampak melebar. Lemak yang muncul ditandai dengan adanya akumulasi trigliserida dan metabolit lemak lainnya pada sitoplasma, berupa vakuola jernih dalam sitoplasma (Sudiono 2003). Akumulasi lemak umumnya dimulai dari daerah portal yang meluas menuju vena sentralis. Hal ini disebabkan karena suplai darah dari usus menuju ke hati melalui vena porta. Jika darah yang berasal dari usus mengandung toksin maka kerusakan awal akan ditemukan pada hepatosit daerah vena porta selanjutnya aliran darah akan melewati sinusoid menuju vena sentralis. Terdapat beberapa zat toksin akan dimetabolisme oleh hati. Hasil metabolisme akan dibawa oleh aliran darah sinusoid menuju vena sentralis. Dalam hal ini maka, kerusakan hepatosit berupa perlemakan akan banyak dijumpai pada daerah vena sentralis (Paderi 2007).

Jaringan hepar tikus pada kelompok III (kelompok positif), mengalami pembentukan lemak yang mulai berkurang dibandingkan dengan kelompok negatif terlihat di sekitar sel hepar yang dekat dengan vena sentralis mengalami pembentukan lemak yang paling sedikit dengan nilai rata-rata 1 dan sinusoid nampak mulai tersusun kembali tetapi tidak sempurna dan hampir mendekati kelompok I. Hal ini disebabkan karena pada kelompok III diberi terapi obat dengan gemfibrozil yang di duga dapat menurunkan pembentukan lemak yang di sebabkan oleh induksi diet tinggi lemak dan PTU. Gemfibrozil adalah senyawa yang mampu mengatur lipid plasma, dengan jalan menurunkan kadar trigliserida serum, kolesterol total, VLDL, LDL, dan meningkatkan pembersihan apolipoprotein B sebagai pembawa VLDL sehingga kadar VLDL berkurang dan meningkat kolesterol HDL dengan jalan meningkatkan substrak HDL serta apolipoprotein AI dan AII (Suyatna 1995).

Pada kelompok IV merupakan kelompok ekstrak daun ashitaba dengan dosis 32 mg/kg BB. gambaran histopatologi jaringan hepar tikus yang mengalami pembentukan lemak yang mulai berkurang dengan nilai rata-rata lemak yang terbentuk 1,75 dan sinusoid mengalami perubahan dimana mulai kembali seperti semula tetapi masih melebar setelah diberi ekstrak daun ashitaba, sedangkan pada kelompok V merupakan kelompok ekstrak dengan peningkatan dosis sebesar 64 mg/kg BB dimana pada gambaran jaringan sel hepar yang mengalami

pembentukan lemak mulai berkurang nilai rata-rata lemak yang dihasilkan 1,75 dan sinusoid mulai nampak membaik dimana pada kelompok IV dan V memiliki kemampuan memperbaiki perlemakan hampir sama. Jika dibandingkan dengan kedua dosis ekstrak daun ashitaba kelompok IV dan V, kelompok VI dengan dosis ekstrak ashitaba 128 mg/kg BB memiliki gambaran histopatologi yang hampir sama dengan kelompok I dimana pada kelompok ini pembentukan lemak yang terjadi cukup berkurang dengan nilai rata-rata lemak 1,5 dan sinusoid mulai nampak seperti normal tetapi masih ada sinusoid yang melebar. Sedangkan antara kelompok III dan VI kelompok III memiliki penurunan degenerasi melemak yang lebih sedikit dari pada kelompok VI.

Ekstrak daun ashitaba memiliki kandungan antioksidan seperti flavonoid, tanin, dan saponin yang diyakini menurunkan kadar trigliserida dan mengurangi degenerasi melemak hepar. menurunkan kadar trigliserida dalam darah dengan cara meningkatkan aktivitas enzim LPL dengan mengurangi peroksidasi lipid (Lamanepa 2005). Mekanisme penurunan degenerasi melemak pada hepar melalui jalur endogen, yaitu dengan meningkatkan kerja aktivitas enzim LPL yang berfungsi untuk mengubah VLDL menjadi IDL sehingga akumulasi VLDL di dalam hepar dapat berkurang (Xenouli 2007).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Pertama, ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) memiliki pengaruh dalam menurunkan kadar trigliserida serum darah tikus putih jantan yang diinduksi pakan diet tinggi lemak yang ditunjukkan dengan adanya penurunan kadar trigliserida dalam darah

Kedua, ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) memiliki pengaruh dalam memperbaiki histopatologi hepar tikus putih jantan yang diinduksi pakan diet tinggi lemak yang ditunjukkan dengan adanya penurunan lemak pada hepar.

Ketiga, dosis ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) 128 mg/kg BB merupakan dosis efektif yang setara dengan kontrol positif karena dapat menurunkan kadar trigliserida serum darah dan memperbaiki histopatologi hepar tikus putih jantan galur wistar.

B. Saran

Pertama, Penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode penyarian yaitu fraksinasi dari ekstrak etanol daun ashitaba.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menambahkan durasi pemberian induksi diet lemak tinggi agar lemak yang terbentuk lebih jelas.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam JMF. 2006. *Dislipidemia*. Di dalam: Aru WS, Bambang S, Idrus A, Marcelus SK, Siti S. Editor. *Buku Ajar Penyakit Dalam*. Ed 4. Jakarta: Pusat Penerbit Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hlm 1926-32.
- Allo GI *et al* 2013. Uji efek ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap kadar kolesterol total tikus wistar (*Rattus norvegicus*), *Jurnal e-Biomedik (eBM)*. 1:371-378.
- Ansel. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed. Ke-4. Farida I, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia. Terjemahan dari: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*.
- Anwar TB. 2004. Hiperlipidemia sebagai faktor resiko penyakit jantung koroner. *e-USU respiratory*, 1-10.
- Ariyani E. 2006. Penetapan kandungan kolesterol dalam kuning telur pada ayam petelur, Bogor. *Temu Teknis Nasional Tenaga Fungsional*, pertanian Bogor.
- Artanti D. 2008. Pengaruh pemberian jus buah pare (*Momordica charantia*) terhadap kadar trigliserida serum tikus wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak [Skripsi]. Semarang : Fakultas kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Bishop ML, Duben Engelkirk JL, Edward PF. 1996. *Clinical Chemistry : Principles procedures correlations third edition* Lippincott Raven in USA Publisher : *Philadelphia*. 196:314-315
- Brzoska MM, Jakoniuk JM, Marcinkiewicz BP, Sawicki B. 2003. Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol. www.alcalc.oupjournals.org 38(1):2-10.
- Corwin J. Elosabeth. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta : EGC. Hlm 660-678.
- Cotran RS, Kumar V, Collins T. 1999. *Robbnis Pathologic Basis of Dsreare*. Ed ke-8. Philadelphia. Hlm 660-678.
- [DEPKES RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI]. 1987. *Materi Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [DEPKES RI]. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI]. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI]. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Hlm 227.
- Dalimartha NS. 2007. *36 Resep Tumbuhan Obat Untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. 2008. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. Ed Ke-7. McGraw-Hill. Hlm 1205:1208-1227.
- Enoki T, Ohnogi H, Nagamine K. 2007. Antidiabetic activities of Chalcones isolated from a Japanese herb *Angelica keiskei*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:6013-6017.
- Eunmi K, Jinho C, Ikhyun Y. 2012. The effect of *Angelica keiskei* oil on the expression of antioxidant enzymes related to lipid profiles in rats fed a high fat diet. *Jurnal Teknologi Bunseki Kagaku* (2):4-6.
- Ganong WF. 2002. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 20. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hlm 1187-1201.
- Guyton Ac, Hall JE. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Hewan Edisi Sembilan*. Terga di KA, Santoso A. Penerjemah: Setiawan I, Editor. Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Text book of Medical Physiology*
- Hakim RD, Pudjadi, Kartikawati H. 2010. Pengaruh pemberian ekstrak bawang merah (*Alium ascalonicum*) terhadap kadar kolesterol-LDL serum tikus wistar hiperlipidemia [Artikel ilmiah]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan Kedua. Padmawinata, Soediro, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods: a Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*.
- Junichi M, Abe C, Akashiba A, Takahashi T. 2007. Long-term efficacy of combination therapy with losartan and low-dose hydrochlorothiazide in patients with uncontrolled hypertension. *International Heart Journal* 48 (2):177-186

- Katzung BG. 1998. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi IV. Agoes A, penerjemah; Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Besic and Clinical pharmacology*.
- Kahono JY. 2010. Pengaruh ekstrak herba meniran (*Phyllanuts niruri L*) terhadap kadar trigliserida darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret.
- Klein S & Romijn JA. 2003. Chapter 33-obesity, in Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS & Larsen PR (eds), *William Textbook of Endocrinology*, 10 edn, Philadelphia Saunders Elsevier. 1619-1621.
- Kozawa M, Morita N, Baba K, and Hata K. 1978. Chemical components of roots *Angelica koidzuma* [abstrak]. Di dalam: *US National Library of Medicine and National Institutes of Health: Yakugaku Zasshi*. 98(5):636-8.
- Lamanepa MEL. 2005. Perbandingan profil lipid dan perkembangan lesi aterosklerosis pada tikus wistar yang diberi diet perasan pare dengan diet perasan pare dan statin [Tesis]. Semarang: Prog Pascasarjana Universitas Diponegoro.
- Li LG *et al.* 2009. Characterisation, Extraction effieciency, stability and antioksidant activity of phytonutrients in *Angelica keiskei*. *Food chemistry* 115:227-232.
- Lu C Frank. 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi II. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Marniwati, Cornelus L. 2012. *Petunjuk praktkum analisis klinik*. Surakarta: Universitas Setia Budi hlm 39-40.
- Mulyani GT. 1997. Efek diet lemak jenuh dan lemak tak jenuh terhadap pembentukan lipid peroksida dalam darah tikus percobaan [skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada.
- Muntiha M. 2001. Teknik pembuatan preparat histopatologi dari jaringan hewan dengan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E). Bogor. *Temu Teknis Fungsional Non Peneliti* 156-153.
- Muray RK, Granner DK, Mayes PA, dan Radwell VW. 2003. *Sintesis, Pengangkutan dan Ekskresi Kolesterol*. Dalam Biokimia Hepar. Alih Bahasa: Andry hartanto. Edisi 25. Jakarta. EGC. Hlm 270-281.
- Noer S. 1996. *Buku Ajaran Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Penerbit Gaya Barat.
- Nurhayati, Nenden, 2000. Isolasi dan uji antioksidan flavonoid daun kemuning [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.





- Ohnogi H, Hayami S, Kudo Y, Deguchi S, Mizutani S, Enoki T, Tanimura Y, Aoi W, Naito Y, Kato I, Yoshikawa T. 2012. *Angelica keiskei* extract improves insulin resistance and hypertriglyceridemia in rats fed a high-fructose drink. *Biosci Biotechnol Biochem* 76(5):928-932.
- Ong ASH & Goh SH. 2002. Palm oil: A healthful and cost-effective dietary component [abstrak]. Di dalam: *US National Library of Medicine and National Institutes of Health: 23 Mar 2002. Food and Nutrition Bulletin* (1):11-22.
- Patonah, Elin Yulinah Sukandar, I Ketut Adnyana, Daryono Hadi Tjahyono. 2010. Antihipertriglisieridemia Kurkuminoid dan S-metilsistein: Metode Tes Toleransi Lipid. *Jurnal Bahan Alam Indonesia* 7(4):179-181.
- Paderi AZ. 2007. Kajian perubahan jaringan uji khasiat buah merah (*Pandanus conideus*) sebagai bahan penghambatan kerusakan hati [Skripsi]. Bogor: Fakultas kedokteran hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Pearce C.E. 2009. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Jakarta : PT Gedia Pustaka Utama.
- Prameswari, Okky M, Widjanarko, Simon B. 2014. Uji efek ekstrak air daun pandan wangi terhadap penurunan kadar glukosa darah dan histopatologi tikus diabetes mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2(2):16-27.
- Rachmadani. 2001. Ekstrak air daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia lamk*) berpotensi menurunkan kadar lipid darah pada tikus putih strain wistar. [skripsi]. Bogor : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB
- Robinson T.1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Edisi ke-6 Bandung: ITB.
- Rully MW, Probosari E. 2012. Pengaruh pemberian buah pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap kadar trigliserida pada tikus Sprague Dawlay dengan hiperkolesterolemia. *Journal of Nutrition College* 1 (1):142-154
- Sembiring B Br. Dan Manoi F. 2011. Identifikasi mutu tanaman Ashitaba. *Bul. Litro*. 22(2):177-185.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia, hlm 35-37.
- Soepomo G.C. 1997, *Morfologi Tumbuhan*, Yogyakarta : UGM -IKAPI http://www.academia.edu/7142066/Efek_Nefrotoksik_Ekstrak_Air_dan_eta_nolDaun_Ashitaba# [23 september 2016]

- Soeharto I. 2001. *Kolesterol dan Lemak Jahat, Kolesterol dan Lemak Baik, dan Proses_Terjadinya Serangan Jantung dan Stroke*. Jakarta: PT Gedia PustakaUtama.
- Sudiono JB, Kurniadhi, Hendrawan A, Djinantoro B. 2003. *Ilmu Patologi*. Jakarta: Penerbit EGC.
- Sudheesh SG, Pressankumar S, Vijayakumar and NR Vijayalashmi. 1997. Hypolipidemic effect of flavonoids from solanum melongena. *Plant Foods for Human Nutrition* 51:321-30.
- Sugiyanto. 1995. *Penuntun Praktikum Farmakologi Edisi IV*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Suharti S, Banowati A, Hermana W, Wiryawan KG. 2008. Komposisi dan kandungan kolesterol karkas ayam broiler diare yang diberi tepung daun salam (*Syzygium polyanthum wight*) dalam ransum. *Media Peternakan* 3(2):138-145.
- Sutejo IR dan Dewi R. 2012. Kerusakan sel hati dan peningkatkan kolesterol serum mencit akibat pemberian minyak goreng bekas pakai. *Jurnal IKESMA* 8:9-12
- Suyatna FD. 1995. *Farmakologi Dan Editor*. Sulistia G Rianto S, Frans D. Dan Purwastyastuti. Edisi Keempat. Jakarta: Penerbit Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hlm 374-375.
- Suyatna FD. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi ke-5. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hlm 376.
- Syamsudin. 2011. *Buku Ajar Farmakoterapi Kardiofasecular dan Renal*. Jakarta : Salemba Medika. Hlm 17.
- Tjay TH, Rahardja K. 2002. *Obat-obat penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya*. Edisi V. Jakarta: Depkes RI Hlm 441:536-540.
- Tsalissavrina I, Wahono D, & Handayani D. 2013. Pengaruh pemberian diet tinggi karbohidrat di bandingkan diet tinggi lemak terhadap kadar trigliserida dan HDL darah pada Rattus novergicus galur witsar. *Jurnal Kedokteran Brawijaya* 22(2):80.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Ncrono S, Penerjemah Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wahyuningrum MR dan Probosari E. 2012. Pengaruh pemberian pepaya (*Carica papaya L*) terhadap kadar trigliserida pada tikus Sprague dawley dengan hiperkolesterolemia. *Journal of Nutrition College* 1(1):192-198.

- Widyaningsih W. 2011. Efek ekstrak etanol rimpang temugiring (*Curcuma heynaena val*) terhadap kadar trigliserida, *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 1(1):55-65.
- Wresdiyati T, M Astawan, dan YH Lusua. 2006. Profil imunohistokimia super oksida dismutase (SOD) pada jaringan hati tikus dengan kondisi hiperkolesterolemia. *Hayati J Biosci* 13:85-89.
- Xenoulis PG, JM Steiner. 2008. *Lipid Metabolism and Hyperlipidemia In Dogs*. Department of Small Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences 77843-4474.

**L
A
M
P
I
R
A
N**

Lampiran 1. Surat determinasi tanaman daun ashitaba

 UNIVERSITAS SEBELAS MARET FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI <small>Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375 http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id</small>	
Nomor	: 165/UN27.9.6.4/Lab/2016
Hal	: Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran	: -
Nama Pemesan	: Muhammad Abi Rohman
NIM	: 19134014A
Alamat	: Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta
HASIL DETERMINASI TUMBUHAN	
Nama Sampel	: <i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz.
Familia	: Apiaceae
Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963; 1965) dan She et al. (2005): 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74b-631a _____ 148. Apiaceae 1b-4b-6b-8a-9b-53a-54b-57b-58b-59b-60b _____ 82. Angelica 1 _____ <i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz.	
Deskripsi Tumbuhan :	
Habitus : tera, menahun, tegak, tinggi bisa mencapai 0.5-1.5 m. Akar : tunggang, bercabang, bentuk cabang akar hampir silindris, putih kotor atau putih kekuningan atau coklat muda. Batang : tumbuh tegak, tidak berkayu, bersegi, beralur dalam, beruas, bercabang, permukaan gundul, berwarna hijau hingga hijau pucat. Daun : majemuk menyirip ganjil, anak daun 3 helai; helaian anak daun bulat telur, panjang 3.5-9 cm, lebar 4-6 cm, pangkal tumpul hingga membulat, ujung daun runcing, tepi daun bercangap menyirip hingga berbagi menyirip, tulang daun menyirip, permukaan atas hijau tua mengkilat, permukaan bawah hijau keputih-putihan, jika digerus aromatik; ibu tangkai daun bulat, hijau, gundul, panjang 7.5-12 cm; tangkai anak daun bulat, hijau, gundul, panjang 3.5-5 cm. Bunga : majemuk berbentuk payung, di ujung, dalam satu payung besar terdapat 20-25 bunga payung kecil, dengan panjang tangkai payung 2-4 cm, masing-masing bunga payung kecil bertangkai pendek, panjang 2-3 mm, masing-masing bunga payung dilindungi oleh daun pembalut (involukrum) berwarna hijau; kelopak bungaberbagi 5, berwarna hijau; mahkota berbagi 5, bagian pangkal berlekatan, warna putih kehijauan atau putih kekuningan; benang sari 5, berlepasan; tangkai putik pendek.	
	Surakarta, 30 November 2016
Kepala Lab. Program Studi Biologi	Penanggungjawab Determinasi Tumbuhan
 Dr. Tetri Widiyani, M.Si. NIP. 19711224 200003 2 001	 Supatman, S.Si., M.Si. NIP. 19800705 200212 1 002
Mengetahui Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS  Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si. NIP. 19620114 198003 2 001	

Lampiran 2. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah

Simplisia	Berat basah (kg)	Berat kering (kg)	Rendemen (%)
Daun ashitaba	10	3	30

Rendemen dapat diperoleh dengan rumus :

$$\begin{aligned}\text{Rendemen daun ashitaba} &= \frac{\text{Berat kering (g)}}{\text{Berat basah (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{30.00 \text{ g}}{10.000 \text{ g}} \times 100\% = 30\%\end{aligned}$$

Jadi rendemen bobot kering daun ashitaba terhadap bobot basah adalah 30%

Lampiran 3. Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol daun ashitaba

Simplisia	Berat serbuk (g)	Etanol (ml)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun ashitaba	500	5000	71,5	14,3

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak etanol daun ashitaba} &= \frac{\text{Bobot ekstrak (g)}}{\text{Bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{71,5 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 14,3 \% \end{aligned}$$

Lampiran 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba

Berat kering (g)	Kadar (%)
2,0	6,5
2,0	6,0
2,0	5,0
Rata-rata±SD	5,9±0,76

Rata-rata penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba = $\frac{6,5+6,0+5,0}{3} = 5,9$

Jadi rata-rata penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba % yang berarti kurang dari 10%

Lampiran 5. Perhitungan dosis dan pembuatan larutan stok.

1. Larutan stok CMC 0,5 %

$$\frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{500 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 5 \text{ mg/ml}$$

Volume pemberian untuk tikus yang memiliki berat 200 g dengan larutan CMC 0,5 % adalah 1 ml.

2. Perhitungan propiltiourasil sebagai induksi peningkatan kadar trigliserida untuk hewan uji adalah 12,5 mg/200 g BB tikus.

$$\text{Dosis untuk tikus} = 12,5 \text{ mg/200g BB tikus}$$

$$\begin{aligned} \text{Dibuat larutan stok 1,25\%} &= 1,25 \text{ g/100 mL} \\ &= 1250 \text{ mg/ 100 mL} \\ &= 12,5 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Contoh perhitungan volume pemberian propiltiourasil untuk tikus 200 g sebagai berikut :

$$\text{Berat badan} = 200 \text{ g}$$

$$\text{Dosis untuk tikus} = \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 12,5 \text{ mg} = 12,5 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian} &= \frac{12,5 \text{ mg}}{12,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 1 \text{ ml/200 g BB} \end{aligned}$$

Timbang 1,25 g propiltiourasil lalu dilarutkan dengan aquadest hingga volume 100 ml. volume cairan yang diberikan peroral kepada tikus dengan BB 200 g sebanyak 1 ml/200 g BB.

3. Komposisi pembuatan induksi diet tinggi lemak yaitu 5 g lemak sapi dan 10 g kuning telur puyuh. Dari kedua komposisi tersebut dibuat emulsi lemak sebanyak 100 ml dan diberikan ke hewan uji dengan takaran pemberian sebanyak 2 ml/200 g BB tikus. Larutan ini dibikin selalu baru setiap harinya dengan cara 5 g lemak sapi dipanaskan kemudian tambahkan 10 g kuning telur yang sudah di haluskan tambahkan 100 ml air lalu aduk hingga homogen dan terbentuk emulsi.
4. Dosis gemfibrozil ditentukan berdasarkan faktor konversi dari manusia dengan dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 g

adalah 0,018. Dosis pemakaian gemfibrozil untuk manusia (70 kg) yaitu 600 mg/hari. Maka hasil konversi dosis gemfibrozil untuk tikus sebesar = $600 \text{ mg} \times 0,018 = 10,8 \text{ mg}/200 \text{ g}$ BB tikus.

Dosis untuk tikus = 10,8 mg/200 g BB tikus

Dibuat larutan stok 1,08% = 1,08 g/100 mL
= 1080 mg/ 100 mL
= 10,8 mg/mL

Contoh perhitungan volume pemberian untuk gemfibrozil sebagai berikut

Berat badan tikus = 200 g

Dosis untuk tikus = $\frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 10,8 \text{ mg} = 10,8 \text{ mg}$

Volume pemberian = $\frac{10,8 \text{ mg}}{10,8 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$
= 1 ml/200 g BB

Timbang 1,08 g gemfibrozil lalu dicampurkan ke dalam suspensi CMC dan aquadest hingga volume 100 ml. volume cairan yang diberikan peroral kepada tikus dengan BB 200 g sebanyak 1 ml/200 g BB

5. Dosis ekstrak daun ashitaba

Dosis yang digunakan berdasarkan dosis empiris daun ashitaba pada manusia dewasa 70 Kg sebesar 5 g berat kering (dalam 2 sendok teh). Dosis ekstrak diperoleh setelah dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi, besarnya rendemen pengeringan yang diperoleh dikonversi dengan dosis empiris manusia, kemudian dosis ekstrak dikonversikan ke tikus 200 g dengan faktor konversi 0,018.

- Berat daun ashitaba setelah di keringkan = 10 kg
- Setelah di oven = 3 kg
- Rendemen bobot kering = 30%
- Dosis empiris pada manusia 70kg = 5 g (bobot kering)
- Dosis ekstrak pada manusia = Rendemen ekstrak x
Berat kering dosis empiris
= $\frac{14,3\text{g}}{100} \times 5 \text{ g} = 0,715 \text{ g}$

- Dosis pada manusia di konversikan ke tikus 200 g dengan faktor konversi 0,018

$$\begin{aligned}
 &= 0,715 \text{ g} \times 0,018 \\
 &= 0,01287 \text{ g} / 200 \text{ g BB tikus} \\
 &= 0,01287 \text{ g} \times 5 \text{ g} \\
 &= 0,064 \text{ g} / \text{Kg BB tikus} \\
 &= 64 \text{ mg} / \text{Kg BB tikus}
 \end{aligned}$$

Sesuai dosis orientasi yang dilakukan sebelumnya dosis ekstrak etanol daun ashitaba sebesar 64 mg/Kg BB tikus mampu menurunkan kadar trigliserida pada tikus putih yang diinduksi hipertrigliseridemia. Maka, dosis yang akan diberikan pada tikus untuk penelitian jangka panjang adalah sebesar .

- a. Dosis pertama ($1/2 \times \text{DE}$) = $1/2 \times 64 \text{ mg} / \text{Kg BB tikus}$
= 32 mg/Kg BB tikus
- b. Dosis kedua ($1 \times \text{DE}$) = $1 \times 64 \text{ mg} / \text{Kg BB tikus}$
= 64 mg/Kg BB tikus
- c. Dosis Ketiga ($2 \times \text{DE}$) = $2 \times 64 \text{ mg} / \text{Kg BB tikus}$
= 128 mg/Kg BB tikus

Lampiran 6. Pengukuran berat badan hewan uji

	13-Mar-17	20-Mar-17 (T0)	03-April-17 (T1)	17-April-17 (T2)
Kode	(BB g)	(BB g)	(BB g)	(BB g)
K N.1	173	180	185	195
K N.2	171	177	182	194
K N.3	166	171	177	186
K N.4	165	170	175	184
K N.5	170	177	183	190
K (-).1	174	181	192	213
K (-).2	164	171	183	203
K (-).3	165	173	185	205
K (-).4	186	192	203	221
K (-).5	160	165	177	197
K (+G).1	184	189	201	212
K (+G).2	165	170	184	195
K (+G).3	184	191	202	213
K (+G).4	169	174	188	197
K (+G).5	174	180	191	199
AS 32.1	177	182	194	209
AS 32.2	167	174	184	199
AS 32.3	177	182	197	214
AS 32.4	169	176	188	203
AS 32.5	168	173	185	199
AS 64.1	169	176	187	199
AS 64.2	165	172	185	198
AS 64.3	176	183	193	208
AS 64.4	165	173	184	196
AS 64.5	175	181	193	206
AS 128.1	170	177	187	197
AS 128.2	175	182	195	205
AS 128.3	168	175	186	195
AS 128.4	164	170	181	190
AS 128.5	182	189	201	209

Lampiran 7. Hasil pengukuran kadar trigliserida serum darah tikus

Kelompok	Kadar Trigliserida (mg/dL)			Peningkatan (%)	Penurunan (%)
	(hari ke-0)	(hari ke-14)	(hari ke-28)		
Kelompok normal	84.21	85.60	88,32	1,62%	-3,18%
Kelompok normal	86.47	88.89	91,24	2,73%	-2,65%
Kelompok normal	79.70	81.48	83,94	2,19%	-3,02%
Kelompok normal	84.96	83.95	85,40	-1,21%	-1,73%
Kelompok normal	82.71	84.77	87,59	2,44%	-3,32%
Rata-rata	83.61	84.94	87,30	1,55%	-2,78%
SD	2.57	2.69	2.81	1,59%	0,64%
Kelompok negatif	83.46	172,84	152,55	51,71%	11,74%
Kelompok negatif	86.47	163,79	150,36	47,21%	8,19%
Kelompok negatif	84.96	160,49	151,82	47,06%	5,40%
Kelompok negatif	90.98	165,43	156,93	45,01%	5,14%
Kelompok negatif	90.23	183,54	153,28	50,84%	16,48%
Rata-rata	87.22	169,22	152,99	48,37%	9,39%
SD	3.28	9.19	2.45	2,81%	4,78%
Kelompok positif	93.23	158,02	100,00	41,00%	36,72%
Kelompok positif	81.20	162,96	100,73	50,17%	38,19%
Kelompok positif	84.96	155,56	102,92	45,38%	33,84%
Kelompok positif	90.98	172,02	107,30	47,11%	37,62%
Kelompok positif	93.23	158,85	97,08	41,31%	38,88%
Rata-rata	88.72	161,48	101,61	44,99%	37,05%
SD	5.40	6.46	3.28	3,90%	1,96%
kelompok dosis 32 mg	84,21	155,56	139,42	45,86%	10,38%
kelompok dosis 32 mg	81,95	160,49	129,93	48,94%	19,05%
kelompok dosis 32 mg	92,48	163,79	135,04	43,54%	17,55%
kelompok dosis 32 mg	86,47	189,30	137,23	54,32%	27,51%
kelompok dosis 32 mg	83,46	155,56	134,31	46,35%	13,66%
Rata-rata	85,71	164,94	135,18	47,80%	17,63%
SD	4.12	14.06	3.55	4,12%	6,48%
Kelompok dosis 64 mg	94,74	156,38	119,71	39,42%	23,45%
Kelompok dosis 64 mg	86,47	159,67	124,09	45,85%	22,29%
Kelompok dosis 64 mg	91,73	172,02	116,06	46,67%	32,53%
Kelompok dosis 64 mg	81,95	154,73	121,17	47,03%	21,69%
Kelompok dosis 64 mg	84,96	160,49	118,98	47,06%	25,87%
Rata-rata	87,97	160,66	120,00	45,21%	25,17%
SD	5.18	6.77	2.95	3,27%	4,42%
Kelompok dosis 128 mg	90,98	155,56	100,00	41,51%	35,71%
Kelompok dosis 128 mg	92,48	205,76	110,95	55,05%	46,08%
Kelompok dosis 128 mg	93,98	158,85	108,03	40,83%	31,99%
Kelompok dosis 128 mg	81,95	156,38	110,22	47,59%	29,52%
Kelompok dosis 128 mg	91,73	162,14	111,68	43,43%	31,12%
Rata-rata	90,23	167,74	108,18	45,68%	34,88%
SD	4.76	21.41	4.77	5,86%	6,66%

Lampiran 8. Hasil kadar trigliserida T0,T1 dan T2.

Kode	Abs	20 Mar 17	Abs	03 April 17	Abs	17 April 17
K N.1	0,112	84,21	0,104	85,60	0,121	88,32
K N.2	0,115	86,47	0,108	88,89	0,125	91,24
K N.3	0,106	79,70	0,099	81,48	0,115	83,94
K N.4	0,113	84,96	0,102	83,95	0,117	85,40
K N.5	0,110	82,71	0,103	84,77	0,120	87,59
K (-).1	0,111	83,46	0,210	172,84	0,209	152,55
K (-).2	0,115	86,47	0,199	163,79	0,206	150,36
K (-).3	0,113	84,96	0,195	160,49	0,208	151,82
K (-).4	0,121	90,98	0,201	165,43	0,215	156,93
K (-).5	0,120	90,23	0,223	183,54	0,210	153,28
K (+G).1	0,124	93,23	0,192	158,02	0,137	100,00
K (+G).2	0,108	81,20	0,198	162,96	0,138	100,73
K (+G).3	0,113	84,96	0,189	155,56	0,141	102,92
K (+G).4	0,121	90,98	0,209	172,02	0,147	107,30
K (+G).5	0,124	93,23	0,193	158,85	0,133	97,08
AS 32.1	0,112	84,21	0,189	155,56	0,191	139,42
AS 32.2	0,109	81,95	0,195	160,49	0,178	129,93
AS 32.3	0,123	92,48	0,199	163,79	0,185	135,04
AS 32.4	0,115	86,47	0,230	189,30	0,188	137,23
AS 32.5	0,111	83,46	0,189	155,56	0,184	134,31
AS 64.1	0,126	94,74	0,190	156,38	0,164	119,71
AS 64.2	0,115	86,47	0,194	159,67	0,170	124,09
AS 64.3	0,122	91,73	0,209	172,02	0,159	116,06
AS 64.4	0,109	81,95	0,188	154,73	0,166	121,17
AS 64.5	0,113	84,96	0,195	160,49	0,163	118,98
AS 128.1	0,121	90,98	0,189	155,56	0,137	100,00
AS 128.2	0,123	92,48	0,250	205,76	0,152	110,95
AS 128.3	0,125	93,98	0,193	158,85	0,148	108,03
AS 128.4	0,109	81,95	0,190	156,38	0,151	110,22
AS 128.5	0,122	91,73	0,197	162,14	0,153	111,68
Standart	0,266		0,243		0,274	

Lampiran 9. Hasil analisa normalitas data kadar trigliserida

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test-T0

		Trigliserida T0 (sebelum diinduksi)
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	87.2430
	Std. Deviation	4.50090
Most Extreme Differences	Absolute	.168
	Positive	.168
	Negative	-.163
Kolmogorov-Smirnov Z		.921
Asymp. Sig. (2-tailed)		.364

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test T1

		Trigliserida T1 (sebelum diinduksi)
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	164.8072
	Std. Deviation	12.23806
Most Extreme Differences	Absolute	.253
	Positive	.253
	Negative	-.205
Kolmogorov-Smirnov Z		1.266
Asymp. Sig. (2-tailed)		.081

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test T2

		Trigliserida T2 (sebelum diinduksi)
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	117.5427
	Std. Deviation	22.31490
Most Extreme Differences	Absolute	.104
	Positive	.104
	Negative	-.096
Kolmogorov-Smirnov Z		.568
Asymp. Sig. (2-tailed)		.904

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil uji one sample kolmogorov-smirnov test diperoleh nilai signifikansi yaitu $p > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang diperoleh terdistribusi normal

**Lampiran 10. Hasil analisis data kadar trigliserida pada hari ke-28 (T₂)
menggunakan *One Way Anova***

Test of Homogeneity of Variances

Trigliserida T2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.390	5	24	.850

ANOVA

Trigliserida T2

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14150.794	5	2830.159	234.303	.000
Within Groups	289.898	24	12.079		
Total	14440.692	29			

Multiple Comparisons

Kadar Trigliserida T2

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-65.69000*	2.19810	.000	-72.4864	-58.8936
	kelompok positif	-14.30800*	2.19810	.000	-21.1044	-7.5116
	kelompok dosis 32	-47.88800*	2.19810	.000	-54.6844	-41.0916
	kelompok dosis 64	-32.70400*	2.19810	.000	-39.5004	-25.9076
	kelompok dosis 128	-20.87800*	2.19810	.000	-27.6744	-14.0816
kelompok negatif	kelompok normal	65.69000*	2.19810	.000	58.8936	72.4864
	kelompok positif	51.38200*	2.19810	.000	44.5856	58.1784
	kelompok dosis 32	17.80200*	2.19810	.000	11.0056	24.5984
	kelompok dosis 64	32.98600*	2.19810	.000	26.1896	39.7824
	kelompok dosis 128	44.81200*	2.19810	.000	38.0156	51.6084
kelompok positif	kelompok normal	14.30800*	2.19810	.000	7.5116	21.1044
	kelompok negatif	-51.38200*	2.19810	.000	-58.1784	-44.5856
	kelompok dosis 32	-33.58000*	2.19810	.000	-40.3764	-26.7836
	kelompok dosis 64	-18.39600*	2.19810	.000	-25.1924	-11.5996
	kelompok dosis 128	-6.57000	2.19810	.062	-13.3664	.2264
kelompok dosis 32	kelompok normal	47.88800*	2.19810	.000	41.0916	54.6844
	kelompok negatif	-17.80200*	2.19810	.000	-24.5984	-11.0056
	kelompok positif	33.58000*	2.19810	.000	26.7836	40.3764
	kelompok dosis 64	15.18400*	2.19810	.000	8.3876	21.9804
	kelompok dosis 128	27.01000*	2.19810	.000	20.2136	33.8064

kelompok dosis 64	kelompok normal	32.70400*	2.19810	.000	25.9076	39.5004
	kelompok negatif	-32.98600*	2.19810	.000	-39.7824	-26.1896
	kelompok positif	18.39600*	2.19810	.000	11.5996	25.1924
	kelompok dosis 32	-15.18400*	2.19810	.000	-21.9804	-8.3876
	kelompok dosis 128	11.82600*	2.19810	.000	5.0296	18.6224
kelompok dosis 128	kelompok normal	20.87800*	2.19810	.000	14.0816	27.6744
	kelompok negatif	-44.81200*	2.19810	.000	-51.6084	-38.0156
	kelompok positif	6.57000	2.19810	.062	-.2264	13.3664
	kelompok dosis 32	-27.01000*	2.19810	.000	-33.8064	-20.2136
	kelompok dosis 64	-11.82600*	2.19810	.000	-18.6224	-5.0296

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Triglicerida T2

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
kelompok normal	5	87.2980				
kelompok positif	5		101.6060			
kelompok dosis 128	5		108.1760			
kelompok dosis 64	5			120.0020		
kelompok dosis 32	5				135.1860	
kelompok negatif	5					152.9880
Sig.		1.000	.062	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 11. Foto daun serbuk dan ekstrak ashitaba



Daun Ashitaba



Serbuk daun ashitaba



Ekstrak daun ashitaba

Lampiran 12. Foto alat dan bahan**Timbangan elektrik****foto alat evaporator****Foto alat *centrifuge*****Foto reagen trigliserida****Ayakan mesh 40****Botol maserasi**

Lampiran 13. Foto hewan uji, cara oral pada tikus, induksi hipertrigliserida, pengambilan sampel darah dan serum.



Foto pengambilan darah tikus



Foto sampel darah tikus



Foto cara pengoral ke tikus



Emulsi lemak sapi dan kuning telur

Lampiran 14. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun ashitaba**Flavonoid ekstrak ashitaba (+)****Saponin ekstrak ashitaba (+)****Alkaloid ekstrak ashitaba (+)****Tanin ekstrak ashitaba (+)**