

**PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK DAUN LAMPES (*Ocimum sanctum* L.) TERHADAP LUAS *FATTY STREAK* AORTA KELINCI
MODEL ATEROSKLEROSIS**

SKRIPSI

Oleh:

RISLAN FAIZ MUHAMMAD
NIM. 16910008



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK DAUN LAMPES (*Ocimum
sanctum* L.) TERHADAP LUAS *FATTY STREAK* AORTA KELINCI
MODEL ATEROSKLEROSIS**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)**

Oleh:

**RISLAN FAIZ MUHAMMAD
NIM. 16910008**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

2020

**PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK DAUN LAMPES (*Ocimum sanctum L.*)
TERHADAP LUAS *FATTY STREAK* AORTA KELINCI MODEL
ATEROSKLEROSIS**

SKRIPSI

Oleh:

RISLAN FAIZ MUHAMMAD
NIM. 16910008

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 04 Mei 2020

Pembimbing I,

Pembimbing II,

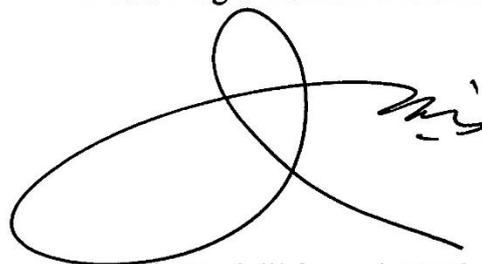


dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed
NIP. 19820924 200801 2 010



drg. Anik Listiyana, M.Biomed
NIP. 19800805 20091 2 2001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed
NIP. 19831024 201101 2 007

**PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK DAUN LAMPES (*Ocimum sanctum L.*)
TERHADAP LUAS *FATTY STREAK* AORTA KELINCI MODEL
ATEROSKLEROSIS**

SKRIPSI

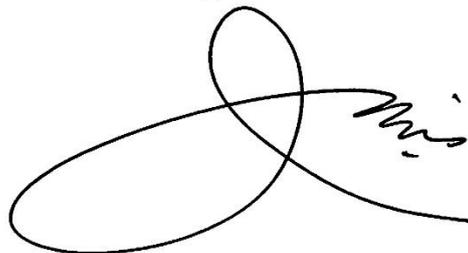
Oleh:

RISLAN FAIZ MUHAMMAD
NIM. 16910008

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima
Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)
Tanggal: 04 Mei 2020

Penguji Utama	<u>dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed</u> NIP. 19831024 201101 2 007	
Ketua Penguji	<u>drg. Anik Listiyana, M.Biomed</u> NIP. 19800805 20091 2 2001	
Sekretaris Penguji	<u>dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed</u> NIP. 19820924 200801 2 010	
Anggota Penguji	<u>Nur Toifah, M.Pd</u> NIP. 19810915 20180201 2 216	

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed
NIP. 19831024 201101 2 007

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rislana Faiz Muhammad

NIM : 16910008

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 4 Mei 2020

Yang membuat pernyataan,



Rislana Faiz Muhammad

NIM. 16910008

KATA PENGANTAR

Assalamua'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi in. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abd. Haris, M.Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp.B., Sp.BP-RE (K) dan dilanjutkan oleh Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati Prabowowati Wadjib, M.Kes., Sp.Rad (K) selaku, dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed, selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed dan drg. Anik Listyana, M.Biomed selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
5. Segenap sivitas akademika Program Studi Pendidikan Dokter, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.

6. Ayahanda KH. Undang Mukhlisin Alqurdi, S.Ag dan Ibunda Hj. Neneng Rita Faridah tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
7. Milan Karmila, S.Farm, Apt., Syifa Futuhatul Huda (Almh.), dan Marjan Muhamad Muchlida, S.Pd selaku kakak kandung penulis yang senantiasa memberikan bantuan baik berupa materiil maupun moril.
8. Yustika Permata Sari dan Dzulmanira Syafni Siregar selaku *partner* penelitian dalam penelitian skripsi ini yang telah melewati suka dan duka bersama-sama.
9. Teman-teman angkatan 2016 Program Studi Pendidikan Dokter yang telah mewarnai kisah selama di dunia perkuliahan.
10. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Aamin Yaa Rabbal 'Alamiin*
Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Penyakit Jantung Koroner	8
2.2 Aterosklerosis.....	13
2.2.1 Definisi Aterosklerosis dan Klasifikasi Lesi Aterosklerosis....	13
2.2.2 Patogenesis Aterosklerosis.....	16
2.3 <i>Fatty Streak</i>	21

2.4 Model Penelitian Aterosklerosis	23
2.5 <i>Ocimum sanctum</i> L.	27
2.5.1 Taksonomi <i>Ocimum sanctum</i> L.	27
2.5.2 Uji Fitokimia Daun <i>Ocimum sanctum</i> L.	29
2.5.3 Uji Toksisitas <i>Ocimum santum</i> L.	32
2.5.4 Aplikasi Terapeutik <i>Ocimum sanctum</i> L.	33
2.6 Radikal Bebas dan Antioksidan	38
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	41
3.2 Hipotesis Penelitian.....	43
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	44
4.1.1 Variabel Penelitian	44
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	44
4.3 Sampel Penelitian.....	45
4.4 Bahan Penelitian.....	47
4.5 Alat Penelitian.....	47
4.6 Definisi Operasional.....	48
4.7 Prosedur Penelitian.....	49
4.7.1 Langkah-Langkah Penelitian	49
4.7.1.1 Persiapan Penelitian	49
4.7.1.1.1 Adaptasi Hewan Coba.....	49
4.7.1.1.2 Pembuatan Ekstrak Daun Lampes	50
4.7.1.2 Perlakuan Penelitian	51

4.7.1.2.1 Pembuatan Hewan Coba Model Aterosklerosis	51
4.7.1.2.2 Pemberian Ekstrak Etanolik Daun Lampes	51
4.7.1.3 Terminasi Hewan Coba dan Preparasi Sampel	52
4.7.1.3.1 Terminasi dan Pembedahan Hewan Coba	52
4.7.1.3.2 Pengambilan Sampel Aorta Hewan Coba.....	52
4.7.1.3.3 Pembuatan Sediaan Preparat.....	53
4.7.1.3.4 Pewarnaan Preparat.....	54
4.7.1.4 Pengujian Sampel.....	55
4.7.2 Metode Pengumpulan Data	56
4.8 Alur Penelitian	57
4.9 Teknik Analisis Data.....	57
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Hasil Penelitian	59
5.1.1 Pengaruh Diet Aterogenik dan <i>Ocimum sanctum</i> L. terhadap Berat Badan Kelinci	59
5.1.2 Pengaruh Diet Aterogenik dan <i>Ocimum sanctum</i> L. terhadap Luas <i>Fatty Streak</i> pada Arkus Aorta Kelinci	60
5.2 Pembahasan.....	65
5.2.1 Pengaruh Ekstrak Etanolik Daun Lampes terhadap BB	65
5.2.2 Pengaruh <i>Ocimum sanctum</i> L. terhadap Luas <i>Fatty Streak</i> Kelinci Model Aterosklerosis	68
5.3 Integrasi Islam.....	74
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	79

6.2 Saran.....	79
DAFTAR PUSTAKA	80
LAMPIRAN.....



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Lokasi Infark Berdasarkan Sadapan EKG	11
Tabel 2.2 Perbandingan Metabolisme Lipid Manusia, Kelinci, dan Tikus...	26
Tabel 2.3 Uji Fitokimia Daun <i>Ocimum sanctum</i> L.....	29
Tabel 2.4 Kandungan Antioksidan pada <i>Ocimum sanctum</i> L.....	30
Tabel 2.5 Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun <i>Ocimum sanctum</i> L.....	33
Tabel 5.1 Rerata Luas <i>Fatty Streak</i> ($Mean \pm SD$) Arkus Aorta Kelinci	60
Tabel 5.2 Hasil <i>One Way ANOVA</i> Rerata Luas <i>Fatty Streak</i> Aorta Kelinci. 61	



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Dasar Plak Ateroma	14
Gambar 2.2 Tipe Lesi Aterosklerosis.....	15
Gambar 2.3 Disfungsi Endotel pada Aterosklerosis	17
Gambar 2.4 Efek Infiltrasi LDL terhadap Inflamasi pada Dinding Arteri....	18
Gambar 2.5 Perubahan Lesi Aterosklerosis	19
Gambar 2.6 Ruptur Plak Aterosklerosis.....	20
Gambar 2.7 Perbandingan <i>Vulnerable Plaque</i> dengan <i>Stable Plaque</i>	21
Gambar 2.8 Pembentukan <i>Fatty Streak</i> pada Lesi Aterosklerosis	22
Gambar 2.9 <i>Fatty Streak</i>	23
Gambar 2.10 Tanaman <i>Ocimum sanctum</i> L.....	28
Gambar 2.11 Gugus Kimia <i>Eugenol</i> (1-hidroksi-2-metoksi-4-alilbenzen)	30
Gambar 2.12 Jalur Siklooksigenase	36
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	41
Gambar 4.1 Alur Penelitian.....	55
Gambar 5.1 Grafik Rerata Kenaikan Berat Badan Kelinci	59
Gambar 5.2 Grafik Rerata Luas <i>Fatty Streak</i> Kelinci.....	61
Gambar 5.3 Gambaran Histopatologi <i>Fatty Streak</i> pada Aorta Kelinci	62
Gambar 5.3a Kelompok N	62
Gambar 5.3b Kelompok K(-)	62
Gambar 5.3c Kelompok P1	62
Gambar 5.3d Kelompok P2.....	62
Gambar 5.3e Kelompok P3	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data <i>Fatty Streak</i>	88
Lampiran 2. Data Berat Badan.....	88
Lampiran 3. Hasil Uji Normalitas Berat Badan <i>Pre</i> dan <i>Post</i> Perlakuan	89
Lampiran 4. Hasil <i>Paired Sample t test</i> BB <i>Pre</i> dan <i>Post</i> Perlakuan	89
Lampiran 5. Hasil Uji Normalitas Selisih Berat Badan	89
Lampiran 6. Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i> Selisih Berat Badan	90
Lampiran 7. Hasil Uji Normalitas Luas <i>Fatty Streak</i>	90
Lampiran 8. Hasil Deskriptif Luas <i>Fatty Streak</i>	90
Lampiran 9. Hasil Uji Homogenitas SPSS	91
Lampiran 10. Hasil Uji <i>One Way ANOVA</i>	91
Lampiran 11. Surat Keterangan Laik Etik	92
Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian.....	93

DAFTAR SINGKATAN

No.	Singkatan	Keterangan
1.	μM	Mikromolar
2.	apoB	Apolipoprotein B
3.	BNF	<i>Buffer Neutral Formalin</i>
4.	CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
5.	CK-MB	<i>Creatinine Kinase-Myocardial Band</i>
6.	cm	Sentimeter
7.	DMSO	Dimetil Sulfoksida
8.	EKG	Elektrokardiogram
9.	g	Gram
10.	GM-CSF	<i>Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
11.	HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
12.	Hz	Hertz
13.	IL	Interleukin
14.	ICAM-1	<i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
15.	kcal	Kilocalories
16.	kg	Kilogram
17.	IU	<i>International Unit</i>
18.	LAM	<i>Leucocyte Adhesion Molecule</i>
19.	LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
20.	Lp	Lipoprotein
21.	M-CSF	<i>Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
22.	MCP-1	<i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>

23. mg	miligram
24. mm	Milimeter
25. NO	Nitrit Oksida
26. NSTEMI	<i>Non-ST-Elevation Myocardial Infarction</i>
27. Ot	<i>Orientin</i>
28. oxLDL	<i>Oxidized LDL</i>
29. PBS	<i>Phosfat Buffer Saline</i>
30. PJK	Penyakit Jantung Koroner
31. PTM	Penyakit Tidak Menular
32. ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
33. Sig.	Signifikansi
34. STEMI	<i>ST-Elevation Myocardial Infarction</i>
35. TGF	<i>Transforming Growth Factor</i>
36. TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
37. Vc	<i>Vicenin</i>
38. VCAM-1	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
39. VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
40. WHO	<i>World Health Organization</i>

ABSTRAK

Muhammad, Rislan Faiz. 2020. PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK DAUN LAMPES (*Ocimum sanctum* L.) TERHADAP LUAS *FATTY STREAK* AORTA KELINCI MODEL ATEROSKLEROSIS. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed (II) drg. Anik Listiyana, M. Biomed

Kata Kunci : Penyakit jantung koroner, Aterosklerosis, *Fatty Streak*, dan Daun Lampes.

Aterosklerosis adalah etiologi penyakit jantung koroner (PJK) yang menyumbang angka mortalitas tertinggi pada kelompok penyakit tidak menular di Indonesia. Prosesnya diinisiasi oleh kenaikan lipid di dalam sirkulasi dan tingginya ROS (*Reactive Oxygen Species*) sehingga dapat membentuk *fatty streak* yang merupakan tipe lesi aterosklerosis awal. Tanaman lampes (*Ocimum sanctum* L.) terbukti dapat menurunkan kadar lipid, mengurangi ROS dan inflamasi, namun manfaat dalam mencegah perkembangan lesi aterosklerosis belum diketahui. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh daun lampes dalam menghambat peningkatan luas *fatty streak*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan desain *post test only control group* dan menggunakan 25 ekor kelinci yang dibagi menjadi 5 kelompok acak, yaitu kelompok normal (tanpa perlakuan), kontrol (-) (tanpa ekstrak daun lampes), perlakuan 1 (10 mg/kgBB ekstrak daun lampes), perlakuan 2 (25 mg/kgBB ekstrak daun lampes), dan perlakuan 3 (50 mg/kgBB ekstrak daun lampes). Kelinci diberi perlakuan diet aterogenik berupa lemak 3% dan kolesterol 2% selama 45 hari. Luas *fatty streak* diukur menggunakan *software ImageJ* dari hasil pengamatan preparat HE lesi arkus aorta menggunakan mikroskop Nikon Eclipse e200 dengan perbesaran 400x sebanyak 5 lapang pandang. Diperoleh hasil bahwa tidak ada perbedaan luas *fatty streak* antar setiap kelompok ($P>0,05$), namun terlihat adanya tren penurunan luas *fatty streak* sesuai penambahan dosis (kontrol (-) $5802,21+3690,41 \mu\text{m}^2$, P1 $5154,69+3990,79 \mu\text{m}^2$, P2 $4938,31+3690,18 \mu\text{m}^2$, dan P3 $3611,68+4092,96 \mu\text{m}^2$) walaupun secara statistik tidak bermakna ($P>0,05$). Berdasarkan hasil tersebut disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun lampes tidak dapat berpengaruh terhadap peningkatan luas *fatty streak*, namun terdapat kecenderungan penurunan sesuai dengan penambahan dosis.

ABSTRACT

Muhammad, Rislana Faiz. 2020. THE EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF HOLY BASIL LEAF (*Ocimum sanctum* L.) TO THE FATTY STREAK AREA OF ATHEROSCLEROSIS MODEL RABBIT. Thesis. Medical Department, Medical and Health Sciences Faculty, The Islamic State University Maulana Malik Ibrahim of Malang. Advisor: (I) dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed (II) drg. Anik Listiyana, M. Biomed

Keywords: Coronary Heart Disease, Atherosclerosis, Fatty Streak, and Holy Basil Leaf.

Atherosclerosis is the etiology of coronary heart disease (CHD) that contributes the highest mortality rate of non-communicable disease group in Indonesia. This process is initiated by the increase of circulating lipids and high ROS (Reactive Oxygen Species) so that it can form fatty streaks which are the earlier type of atherosclerotic lesions. The holy basil (*Ocimum sanctum* L.) has been shown to reduce lipid levels, ROS, and inflammation, but the benefits to prevent atherosclerotic lesions development are still unknown. This research purpose is to prove the effect of holy basil leaf to inhibit the increase of fatty streak area. This study was purely experimental research with a post test only control group design and used 25 rabbits which were divided into 5 random groups, namely the normal group (without treatment), negative control (without holy basil leaf extract), treatment 1 (10 mg/kgBB holy basil leaf extract), treatment 2 (25 mg/kgBB holy basil leaf extract), and treatment 3 (50 mg/kgBB holy basil leaf extract). Rabbits were given the atherogenic diet from 3% fat and 2% cholesterol for 45 days. Fatty streak area was measured using ImageJ software from the observation of aortic arch lesions using Nikon Eclipse e200 microscope with 400x magnification from five visual fields. The results showed that there was no difference in fatty streak area between each groups ($P > 0,05$), but there was a trend of decreasing fatty streak area according to dose addition according to the dose (negative control $5802.21 + 3690.41 \mu\text{m}^2$, P1 $5154.69 + 3990.79 \mu\text{m}^2$, P2 $4938.31 + 3690.18 \mu\text{m}^2$, and P3 $3611.68 + 4092.96 \mu\text{m}^2$) even though it was not statistically significant ($P > 0,05$). Based on these results it was concluded that the administration of holy basil leaf extract could not affect the increase in fatty streak area, but there was a tendency to decrease based on the dose addition.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Angka mortalitas pada kelompok penyakit tidak menular di dunia diperkirakan akan terus meningkat dan dapat mencapai 52 juta kematian di tahun 2030. Penyakit kardiovaskular menyumbang angka mortalitas terbanyak pada kelompok penyakit tidak menular (Mendis dan WHO, 2014). Pada tahun 2008, *World Health Organization* (WHO) menyebutkan terdapat 17,3 juta kematian yang diakibatkan oleh penyakit kardiovaskular dimana 7,3 juta (42.2%) diantaranya disebabkan oleh penyakit jantung koroner (PJK) (Mendis *et al.*, 2011). Prevalensi PJK di Indonesia tahun 2013 menurut Kemenkes RI berdasarkan diagnosis dokter adalah sebesar 0,5% atau sekitar 883.447 orang dengan estimasi penderita terbanyak terdapat di Provinsi Jawa Barat yaitu 160.812 orang (0,5%), sedangkan jumlah penderita paling sedikit terdapat di Provinsi Maluku Utara yaitu sebanyak 1.436 orang (0,2%). Adapun Provinsi Jawa Timur menempati urutan setelah Provinsi Jawa Barat, yaitu sebanyak 144.279 orang (0,5%) (Kemenkes, 2014).

Saat ini, salah satu fokus kajian riset di bidang kardiovaskular adalah pencegahan kejadian PJK. Penyakit jantung koroner merupakan penyakit yang disebabkan oleh tidak adekuatnya suplai darah dan oksigen ke miokardium akibat adanya lesi aterosklerosis pada arteri koroner (Tanto *et al.*, 2014). Menurut Mendis *et al.* (2011), aterosklerosis adalah proses inflamasi kronis yang memengaruhi pembuluh darah sedang dan besar pada sistem kardiovaskular. Aterosklerosis diinisiasi oleh kenaikan kadar lipid di dalam darah, dan tingginya kadar ROS (*Reactive Oxygen Species*) pada pembuluh darah yang dapat menimbulkan

disfungsi endotel. Hal ini menyebabkan LDL (*Low Density Lipoprotein*) semakin mudah masuk ke dalam tunika intima, dimana ROS akan memodifikasi LDL berupa oksidasi menjadi oxLDL (*oxidized LDL*) di ruang subendotel. Hasil oksidasi berupa oxLDL ini akan mengakibatkan aktivasi endotel yang ditandai dengan ekspresi dari selektin dan integrin. Ekspresi dari selektin dan integrin selanjutnya akan menarik leukosit untuk masuk ke dalam tunika intima dan diubah menjadi makrofag oleh GM-CSF (*Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor*) (Singh *et al.*, 2002).

Makrofag yang memfagosit oxLDL akan berubah menjadi sel busa, yang secara mikroskopis dapat dilihat sebagai makrofag intimal yang telah mati dan berisi ester kolesterol. Penumpukan sel busa selanjutnya akan memberikan gambaran berupa *fatty streak*. *Fatty streak* atau bercak perlemakan terdiri dari sel busa penuh lemak, namun belum mengganggu aliran darah. Lesi ini diawali oleh adanya titik kuning datar (*yellow dots*) dengan garis tengah yang kurang dari 1 mm dan kemudian menyatu membentuk goresan atau bercak yang memanjang sampai 1 cm atau lebih. *Fatty streak* jika dibiarkan maka akan berubah menjadi lesi aterosklerosis tingkat lanjut hingga menjadi ruptur dan menyebabkan PJK. (Kumar *et al.*, 2018; Singh *et al.*, 2002; Stary, 2000).

Penyakit jantung koroner dapat dicegah dengan cara mengurangi faktor risiko aterosklerosis melalui penurunan profil lipid, inhibisi ROS, dan inhibisi inflamasi yang dapat dicapai melalui modifikasi gaya hidup, seperti tidak merokok, diet sehat, dan berolahraga secara teratur, serta penggunaan agen farmakologis seperti statin. Statin merupakan obat kimia yang dapat dijadikan sebagai agen inhibisi pada PJK, namun memiliki efek samping yaitu peningkatan enzim hati,

peningkatan risiko diabetes melitus, miopati, dan gangguan ingatan pada pasien di atas usia 50 tahun (PERKI, 2013). Untuk menghindari efek samping ini, peneliti melakukan inovasi melalui pembuatan obat tradisional karena mudah didapatkan, murah, dan memiliki efek samping yang relatif lebih rendah (Kumala Sari, 2006). Penggunaan obat tradisional juga direkomendasikan WHO dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan maupun pengobatan penyakit, terutama pada penyakit degeneratif, penyakit kronis, dan kanker (World Health Organization, 2013). Penggunaan obat tradisional dapat dilakukan dengan memanfaatkan tanaman herbal.

Pemanfaatan tanaman sebagai obat herbal juga terdapat dalam Alquran Surat Asy-Syu'ara' ayat 7-8 sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۖ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ۗ (الشعراء: ۷-۸)

Artinya: *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik? Sungguh, pada yang demikian itu terdapat tanda (kebesaran Allah), tetapi kebanyakan mereka tidak beriman.”* (Q.S. Asy-Syu'ara (26):7-8) (Departemen Agama RI, 2005).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa sebagai manusia, kita harus berupaya untuk mempelajari bahan alam agar dapat memanfaatkannya dengan maksimal, salah satunya dengan mengembangkan obat herbal. Ayat lain menunjukkan bahwa Allah swt. telah menumbuhkan tanaman-tanaman yang menghidupkan, sebagai berikut:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا
 نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ قِنَاطٍ دَانِيَةً وَجَنَّتِ مِنْ أَعْنَابٍ
 وَالزَّيْتُونَ وَالرَّمَانَ مُشْتَبِهًا وَعَيْرٍ مُتَشَبِهًا أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي
 ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ۝ (الأنعام: ٩٩)

Artinya: "Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman." (Q.S. Al-An'am/6:99) (Departemen Agama RI, 2005).

Kata خَضِرًا berasal dari خضر-يخضر-خضرا yang berarti hijau. Menurut tafsir Ibn Katsir, kata tersebut berarti tanaman dan pepohonan yang hijau (Ibn Katsir, 2002; Yunus, 2010). Allah swt. menumbuhkan tanaman yang menghijau tentunya bukan merupakan sebuah kebetulan serta banyak hikmah dan manfaat yang bisa diambil darinya. Sebagai umat manusia, sudah sepantasnya kita mensyukuri apa yang telah Allah berikan dan ciptakan, salah satunya dengan memanfaatkan tanaman hijau sebagai obat herbal.

Salah satu tanaman yang diduga bermanfaat dalam pencegahan PJK adalah tanaman lampes (*Ocimum sanctum* L.). Tanaman lampes tersebar di hampir seluruh Indonesia karena dapat dibudidayakan maupun tumbuh secara liar (Sudarsono *et al.*, 2002). Masyarakat Indonesia sering mengonsumsi lampes (kemangi hutan) sebagai lalapan karena memiliki rasa dan bau yang khas serta mengandung berbagai macam khasiat di dalamnya (Hadipoentyanti dan Wahyuni, 2008). Manikandan *et al.* (2008) menyebutkan bahwa hampir seluruh bagian tanaman lampes dapat dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional, mulai dari daun, batang, bunga, biji, bahkan tanamannya secara utuh.

Kandungan utama tanaman lampes yang bersifat antioksidan adalah *eugenol* (1-hidroksi-2-metoksi-4-alilbenzen), tanin, asam askorbat, beta karoten, beta sitosterol dan asam palmitat. Daun lampes juga mengandung *orientin* (Ot) dan *vicenin* (Vc) yang diketahui dapat melindungi tubuh dari pengaruh radiasi melalui aktivitas antioksidannya (Basith, 2012; Singh *et al.*, 2012). *Eugenol* selain memiliki efek antioksidan, juga berperan sebagai antiinflamasi melalui aktivitas inhibitor siklooksigenase-1 hingga 97% pada konsentrasi 1000 μ M (Pattanayak *et al.*, 2010).

Penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa ekstrak daun lampes berperan dalam penurunan kolesterol secara signifikan serta menghambat oksidasi lipid yang dapat menyebabkan aterosklerosis (Rachmawati *et al.*, 2019). Penelitian Samak *et al.* (2007) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun lampes dapat menurunkan kadar lipid dalam darah, hati, dan aorta.

Kajian mengenai ekstrak lampes terhadap aterosklerosis dalam penelitian ini dilakukan pada hewan coba kelinci karena memiliki metabolisme lipoprotein dan lemak yang sama dengan manusia. Persamaan ini meliputi lipoprotein plasma

utama yang berupa LDL, HDL yang heterogen, rendahnya ekskresi asam empedu, dan sensitif terhadap diet kolesterol (Fan *et al.*, 2015). Penggunaan hewan kelinci dalam penelitian serupa masih jarang dilakukan di Indonesia, mayoritas yang digunakan adalah tikus sebagai hewan coba model aterosklerosis. Berdasarkan hasil studi literatur, tikus tidak dapat dijadikan hewan model aterosklerosis karena memiliki perbedaan metabolisme lipoprotein dengan manusia yang cukup signifikan. Perbedaan ini berupa HDL tikus yang homogen, dan kemampuan tikus mengekskresikan asam empedu yang berasal dari kolesterol jauh lebih tinggi daripada manusia dan kelinci (Fan *et al.*, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh ekstrak etanolik daun lampes dalam menghambat aterosklerosis dinilai dari luas *fatty streak* yang belum pernah dilakukan oleh penelitian-penelitian sebelumnya. Daun lampes dalam penelitian ini dilarutkan menggunakan etanol karena merupakan pelarut universal yang baik untuk ekstraksi. Etanol juga mampu melarutkan semua jenis senyawa, mulai dari senyawa nonpolar sampai dengan polar. Pelarut organik selain etanol memiliki potensi toksisitas yang tinggi (Saifudin *et al.*, 2011). Dengan digunakannya kelinci sebagai hewan coba, penelitian ini dapat memberikan keterbaruan metode penelitian dalam hal pembuatan hewan model aterosklerosis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis merumuskan masalah yaitu apakah pemberian ekstrak etanolik daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) dapat menghambat peningkatan luas *fatty streak* pada arkus aorta kelinci model aterosklerosis?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh ekstrak etanolik daun lampes terhadap aorta kelinci model aterosklerosis. Adapun tujuan khusus dari penelitian ini yaitu untuk membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanolik daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) dapat menghambat peningkatan luas *fatty streak* pada arkus aorta kelinci model aterosklerosis.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

- Memberikan sumbangan keilmuan mengenai pengaruh ekstrak etanolik daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) terhadap proses aterosklerosis pada kelinci model aterosklerosis

2. Manfaat Praktis

- Lembaga
 - o Sebagai sarana peningkatan reputasi institusi dengan cara menghasilkan penelitian-penelitian yang berkualitas.
 - o Sebagai dasar rujukan bagi penelitian-penelitian lanjutan di bidang aterosklerosis.
- Masyarakat
 - o Sebagai dasar pengembangan obat fitofarmaka untuk pencegahan penyakit yang berhubungan dengan aterosklerosis.
- Agama
 - o Membuktikan kebenaran firman Allah swt., sehingga diharapkan menambah keimanan bagi penulis atau pembaca.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Jantung Koroner

Penyakit jantung koroner atau disebut juga dengan penyakit arteri koroner merupakan penyakit yang utamanya disebabkan oleh penyempitan arteri koronaria sebagai akibat dari proses aterosklerosis atau spasme arteri, maupun keduanya (Yuliani *et al.*, 2014). Menurut Tanto *et al.* (2014), PJK adalah suatu keadaan yang disebabkan karena miokardium tidak menerima suplai darah dan oksigen dengan adekuat. Faktor risiko terjadinya PJK adalah tingkat *low density lipoprotein* (LDL) yang tinggi, rendahnya *high density lipoprotein* (HDL), merokok, hipertensi, dan diabetes melitus (Loscalzo, 2010).

Menurut WHO, PJK termasuk ke dalam kelompok penyakit tidak menular yang pada tahun 2008 menyebabkan 7,3 juta kematian di seluruh dunia dan diperkirakan akan terus meningkat dengan prediksi 52 juta kematian di tahun 2030 (Diasutik, 2016; Mendis *et al.*, 2011). Prevalensi PJK di Indonesia tahun 2013 menurut Kemenkes RI berdasarkan diagnosis dokter adalah sebesar 0,5% atau sekitar 883.447 orang. Estimasi penderita terbanyak penyakit jantung koroner terdapat di Provinsi Jawa Barat yaitu sebanyak 160.812 orang (0,5%), sedangkan jumlah penderita paling sedikit terdapat di Provinsi Maluku Utara yaitu sebanyak 1.436 orang (0,2%) (Kemenkes RI, 2014).

Global Burden of Disease memperkirakan terdapat 68% dari 751 juta jiwa yang tidak dapat melakukan kegiatan sehari-hari (disabilitas) akibat penyakit tidak menular (PTM) dan 84% dari insiden ini terjadi di negara berkembang. Penyakit jantung merupakan salah satu dari 5 penyakit tidak menular yang menyebabkan

disabilitas di negara berkembang. Dari 151,377 juta orang yang mengalami disabilitas akibat penyakit kardiovaskular, penyakit jantung koroner menyumbang angka 62,587 juta orang dari insiden tersebut (Mendis *et al.*, 2011).

Penyakit jantung koroner saat ini dapat diklasifikasikan menjadi dua, yaitu PJK asimtomatik, dan PJK simtomatik (Tanto *et al.*, 2014). Penyakit jantung koroner asimtomatik (*silent myocardial ischemia*) adalah jenis PJK yang tidak memberikan manifestasi klinis sehingga penderita tidak pernah mengeluh adanya rasa sakit pada bagian dada, baik saat istirahat maupun saat latihan. Hasil pemeriksaan fisik, *vital signs*, dan rontgen dada menunjukkan hasil yang normal, namun terdapat tanda iskemia saat dilakukan *exercise stress test* (Joewono dan Prabowo, 2003). Penyakit jantung koroner simtomatik diklasifikasikan menjadi angina pectoris stabil (kronis), dan sindrom koroner akut (Tanto *et al.*, 2014). Angina pectoris stabil adalah sindrom klinis berupa rasa tidak nyaman di dada seperti merasa berat, tertekan, tertindih, maupun sesak. Angina pectoris bersifat stabil jika keluhan tersebut distimulasi oleh stres fisik, emosional atau udara dingin, namun dapat hilang dengan istirahat atau pemberian nitroglicerine (Loscalzo, 2010; Tanto *et al.*, 2014).

Sindrom koroner akut dapat berupa : (1) angina pectoris tidak stabil , (2) *non-ST-elevation myocardial infarction* (NSTEMI) dan (3) *ST-elevation myocardial infarction* (STEMI) (Tanto *et al.*, 2014). Pada angina pectoris tidak stabil, keluhan khas angina dapat terjadi saat istirahat dengan durasi lebih dari 20 menit maupun aktifitas fisik yang sangat terbatas pada saat angina pertama. Keluhan ini sering disertai dengan adanya respon simpatis berupa keringat dingin, stimulasi vagal berupa mual dan muntah serta, adanya rasa lemas (Loscalzo, 2010;

Tanto *et al.*, 2014). Pemeriksaan EKG dalam 10 menit pertama menunjukkan adanya depresi segmen ST, horizontal atau *downsloping* dengan angka ≥ 0.05 mV pada ≥ 2 sadapan sesuai dengan regio dinding ventrikel. Dapat juga ditemukan adanya inversi gelombang T ≥ 0.1 mV dengan gelombang R dominan atau rasio R/S < 1. Namun pada kondisi tertentu, hasil EKG dapat menunjukkan nilai yang normal. Ciri khas angina pektoris tidak stabil yaitu tidak ditemukan adanya peningkatan marka jantung seperti troponin I/T, dan/atau *creatinin kinase myocardial band* (CK-MB) (Loscalzo, 2010; Tanto *et al.*, 2014).

Keluhan NSTEMI sama dengan angina pektoris tidak stabil, namun terdapat adanya peningkatan troponin I/T, dan/atau CK-MB 4-6 jam setelah onset serta tidak ada gambaran elevasi segmen ST pada EKG. Adapun keluhan pada pasien STEMI umumnya sama dengan jenis sindrom koroner akut yang lain, namun biasanya disertai dengan manifestasi klinis atipikal seperti nyeri di daerah penjalaran angina tipikal, sesak napas yang tidak dapat dijelaskan, gangguan pencernaan, atau rasa lemah mendadak. Keluhan STEMI sering ditemukan pada laki-laki, usia lanjut, dan memiliki riwayat angina atau PJK (PERKI, 2018; Tanto *et al.*, 2014).

Pemeriksaan fisik pada pasien STEMI biasanya ditemukan ansietas, keringat dingin, sesak, dan tanda Levine (pasien meletakkan genggam tangan di tempat nyeri). Terkadang ditemukan tekanan darah yang normal atau rendah, serta dapat ditemukan adanya tanda gagal jantung. Pemeriksaan EKG pada 10 menit pertama ditemukan adanya kenaikan segmen ST ≥ 0.1 mV pada ≥ 2 sadapan sesuai regio dinding ventrikel. Batasan elevasi dinaikkan menjadi ≥ 0.2 mV khusus sadapan V1-V3 pada pria berusia ≥ 40 tahun. Pada pria usia < 40 tahun, batasan elevasi sadapan V2-V3 dinaikkan lagi menjadi ≥ 0.25 mV sedangkan pada

perempuan, batasan elevasi diturunkan menjadi ≥ 0.15 mV tanpa memandang usia. Batasan elevasi segmen ST di sadapan V3R dan V4R adalah ≥ 0.05 mV, kecuali nilai ambang pada pria usia < 30 tahun lebih tepat ≥ 0.1 mV. Adapun nilai ambang ST elevasi pada sadapan V7-V9 adalah ≥ 0.5 mV. Pada pemeriksaan marka jantung, ditemukan peningkatan troponin I/T pada fase akut, dan/atau CK-MB sesuai dengan luas infark (PERKI, 2018; Tanto *et al.*, 2014).

Pemeriksaan penunjang yang dapat dilakukan untuk membantu menegakkan diagnosis PJK meliputi (1) Elektrokardiogram; (2) Marka Jantung; (3) Foto Polos Dada; (4) Laboratorium; (5) Ekokardiogram; (6) *Treadmill Test*. Pada Pemeriksaan EKG, 12 sadapan harus dilakukan dengan segera untuk semua pasien yang mengeluh nyeri dada atau keluhan lain yang merujuk pada iskemia. Jika curiga iskemia dinding inferior, dianjurkan untuk melakukan EKG pada sadapan V3R, V4R, V7-V9. Pada pasien angina yang mempunyai EKG awal nondiagnostik, harus dilakukan pemeriksaan pada sadapan V7-V9. Pemeriksaan ini sebisa mungkin dilakukan dalam 10 menit pertama sejak pasien datang ke UGD dan dianjurkan pengulangan jika keluhan angina timbul kembali (PERKI, 2018).

Tabel 2.1 Lokasi Infark berdasarkan Sadapan EKG (PERKI, 2018)

Sadapan dengan Deviasi Segmen ST	Lokasi Iskemia atau Infark
V1-V4	Anterior
V5-V6, I, aVL	Lateral
II, III, aVF	Inferior
V7-V9	Posterior
V3R, V4R	Ventrikel Kanan

Pada pemeriksaan marka jantung, troponin I/T atau CK-MB adalah penanda terjadinya nekrosis pada miosit jantung sehingga dapat digunakan untuk mendiagnosis infark miokard dimana sensitivitas maupun spesifisitas troponin I/T

lebih tinggi dari CK-MB. Walaupun demikian, peningkatan marka jantung tidak dapat digunakan untuk mengetahui penyebab nekrosis tersebut, melainkan hanya menunjukkan terjadinya nekrosis miosit (PERKI, 2018).

Kadar CK-MB atau Troponin I/T dalam 4-6 jam setelah onset akan menunjukkan kadar normal pada keadaan nekrosis miokard, sehingga dianjurkan untuk mengulang pemeriksaan 8-12 jam setelah terjadinya angina. Jika onset angina tidak dapat ditentukan, maka 6-12 jam setelah pemeriksaan pertama hendaknya mengulang pemeriksaan kedua. Peningkatan kadar CK-MB menggambarkan adanya kerusakan otot sekletal sehingga memiliki spesifisitas yang lebih rendah. CK-MB memiliki waktu paruh yang singkat (48 jam) sehingga dapat digunakan untuk mendiagnosis infark berulang maupun infark periprocedural (PERKI, 2018).

Pemeriksaan foto polos dada dilakukan untuk mendiagnosis banding, serta mengetahui komplikasi dan penyakit penyerta. Pemeriksaan ini dilakukan di UGD menggunakan alat portabel, karena pasien tidak boleh meninggalkan UGD. Adapun pemeriksaan laboratorium yang dilakukan dapat berupa tes darah rutin, elektrolit, fungsi ginjal, gula darah sewaktu, koagulasi darah dan panel lipid. Adanya peningkatan leukosit biasanya terlihat pada hari ke-2 setelah onset, berhubungan dengan proses inflamasi (PERKI, 2018; Wilkinson, 2006).

Pemeriksaan laboratorium panel lipid biasanya meningkat yang menunjukkan aterosklerosis sebagai penyebab infark miokard, sedangkan pemeriksaan elektrolit dapat menunjukkan adanya hipokalemi maupun hiperkalemi yang memengaruhi konduksi dan kontraktilitas otot jantung. Dapat juga dilakukan pemeriksaan analisis gas darah yang menunjukkan hipoksia atau proses penyakit paru akut maupun kronis. Pemeriksaan ekokardiogram dilakukan untuk

menentukan dimensi serambi, gerakan katup atau dinding ventrikular, dan fungsi maupun konfigurasi katup. Adapun untuk menentukan respon kardiovaskular ketika pasien beraktivitas berat sehingga dapat mengetahui kekuatan suplai oksigen dan aliran darah, dapat dilakukan *treadmill test* (PERKI, 2018; Wilkinson, 2006).

2.2 Aterosklerosis

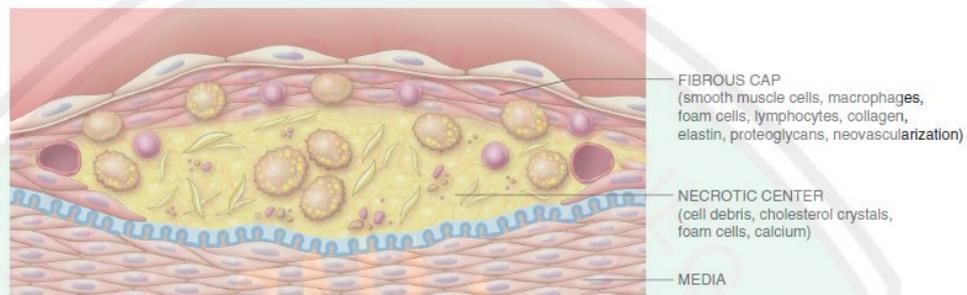
2.2.1 Definisi Aterosklerosis dan Klasifikasi Lesi Aterosklerosis

Penyakit jantung koroner didasari oleh adanya suatu proses aterosklerosis. Aterosklerosis berasal dari bahasa Yunani yaitu *athere* yang berarti bubur (akumulasi lipid) dan *sclerosis* yang berarti pengerasan, merupakan suatu proses inflamasi kronik yang terjadi pada arteri akibat adanya disfungsi endotel (Singh *et al.*, 2002; Tuttolomondo *et al.*, 2012). Aterosklerosis merupakan bentuk paling sering dari arteriosklerosis (Kumar *et al.*, 2018).

Proses aterosklerosis ditandai dengan adanya timbunan plak yang tersusun oleh kolesterol, lipid, fibrin, kalsium serta debris seluler pada tunika intima arteri. Hal ini dapat menyebabkan munculnya plak sehingga dapat terjadi obstruksi pembuluh darah dan penurunan suplai oksigen ke jaringan yang divaskularisasi oleh pembuluh darah tersebut (Aziz dan Yadav, 2016; Tuttolomondo *et al.*, 2012). Kumar *et al.* (2018) menyebutkan bahwa arteri elastis yang besar (aorta, arteri karotis dan iliaka) serta arteri muskular yang besar dan sedang (arteri koroner, renal dan popliteal) adalah pembuluh darah yang paling sering terlibat proses aterosklerosis. Efek yang ditimbulkan dari proses aterosklerosis bergantung pada ukuran pembuluh darah yang terlibat, stabilitas, dan derajat dari plak aterosklerosis.

Proses pembentukan lesi aterosklerosis (aterogenesis) merupakan segmentasi perkembangan plak aterosklerosis mulai dari arteri normal, lalu

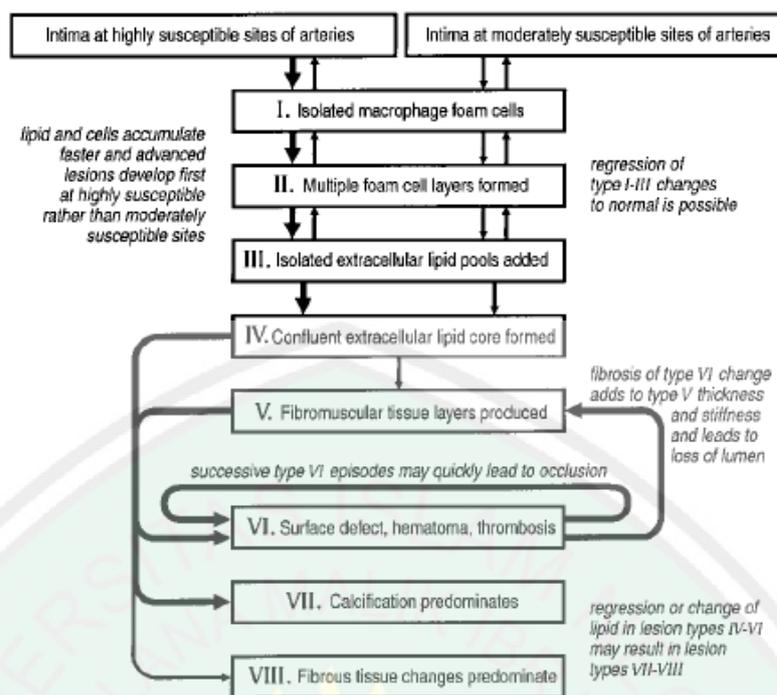
berkembang menjadi garit lemak (*fatty streak*), ateroma atau plak fibrosa (*fibrous plaque*), dan komplikasi lesi (Ross, 1999). Aterosklerosis ditandai dengan adanya atheroma pada tunika intima pembuluh darah, dan dapat menyebabkan oklusi mendadak saat terjadi ruptur. Plak ateroma merupakan lesi yang terdiri dari inti lipid lunak (terutama kolesterol dan kolesterol ester dengan nekrosis debris), dan ditutupi oleh kapsula fibrosa (Kumar *et al.*, 2018).



Gambar 2.1 Struktur Dasar Plak Ateroma

Gambar di atas menunjukkan lesi aterosklerosis yang sudah membentuk *fibrous cap* dan *necrotic center* di tunika intima arteri. *Fibrous cap* berisi sel otot polos, makrofag, sel busa, limfosit, kolagen, elastin, dan neovaskularisasi. *Necrotic center* berisi debris sel, kristal kolesterol, sel busa, dan kalsium (Kumar *et al.*, 2018).

American Heart Association membagi tahap perkembangan aterosklerosis menjadi delapan tipe. Tipe I-III merupakan lesi yang kecil, tidak terdapat obstruksi lumen dan tidak menimbulkan manifestasi klinis. Tipe IV-VI adalah lesi yang dapat menyebabkan obstruksi pada lumen arteri berukuran sedang dan mampu menimbulkan manifestasi klinis. Walaupun demikian, lesi dengan tipe IV-VI juga dapat timbul tanpa ada obstruksi lumen yang signifikan. Tipe VII-VIII yang sebelumnya dikenal dengan tipe Vb dan Vc, merupakan hasil dari regresi lipid lesi IV-VI, dimana dominasi kalsifikasi terdapat pada lesi tipe VII dan dominasi perubahan jaringan fibrosa terdapat pada lesi tipe VIII (Stary, 2000).



Gambar 2.2 Tipe Lesi Aterosklerosis

Perkembangan lesi aterosklerosis dibagi menjadi 8 tipe, mulai dari lesi awal hingga lesi lanjutan aterosklerosis (Stary, 2000).

Lesi tipe I yang merupakan lesi inisial ditandai dengan terbentuknya *foamy cell*/sel busa (perubahan minimal), sedangkan lesi tipe II ditandai dengan terbentuknya lapisan yang terdiri dari beberapa sel busa (*fatty streak*). Lesi tipe III dikenal dengan lesi menengah atau preatheroma dan berisi lipid ekstraseluler tanpa inti yang baik, sementara lesi tipe IV sudah terbentuk lipid ekstraseluler yang konfluen (atheroma atau *fibroplaque*). Lesi tipe V (fibroatheroma) berisi inti lipid yang memiliki kapsula fibrosa, baik dengan atau tanpa kalsifikasi, sedangkan pada lesi tipe VI terdapat fibroatheroma dengan defek kapsula fibrosa seperti hemoragik atau thrombosis. Lesi tipe VII dan tipe VIII adalah hasil dari regresi lipid lesi IV-VI, dimana dominasi kalsifikasi terdapat pada lesi tipe VII dan dominasi perubahan jaringan fibrosa terdapat pada lesi tipe VIII (Porwal *et al.*, 2016; Stary, 2000).

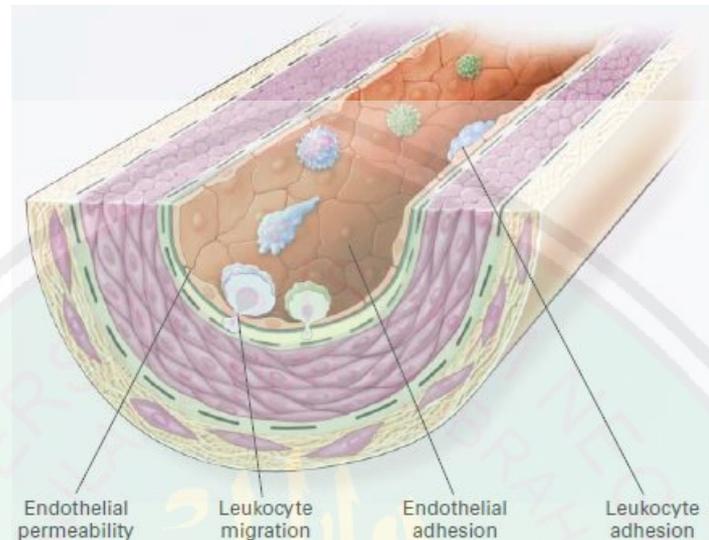
2.2.2 Patogenesis Aterosklerosis

Teori yang saat ini digunakan untuk menjelaskan patogenesis aterosklerosis adalah hipotesis respons terhadap cedera (*response-to-injury-hypothesis*) (Lintong, 2009). Hipotesis ini menyebutkan bahwa disfungsi endotel merupakan awal terjadinya proses aterosklerosis. Disfungsi endotel diawali oleh adanya cedera endotel kronik akibat tingginya kadar LDL dan radikal bebas yang disebabkan ketidakseimbangan antara produksi dan detoksifikasi oleh sistem antioksidan tubuh. Faktor risiko seperti merokok, hipertensi, diabetes melitus, dan dislipidemia diketahui dapat menyebabkan terjadinya disfungsi endotel (Ross, 1999; Sargowo, 2015).

Disfungsi endotel dapat menyebabkan penetrasi lipid dan sel inflamasi (monosit dan limfosit T) ke dalam tunika intima. *Low Density Lipoprotein* selanjutnya dioksidasi tanpa adanya perubahan pada apolipoprotein B-100 (*minimally modified LDL*). Oksidasi LDL di dalam tunika intima dapat menyebabkan aktivasi sel endotel, terutama pada aliran hemodinamik vaskular dengan *shear stress* yang rendah (Hansson, 2005; Sargowo, 2015). *Shear stress* yang rendah dapat menyebabkan endotel menurunkan produksi nitrit oksida (NO) dan enzim antioksidan (*superoxide dismutase*). Nitrit oksida bertindak sebagai vasodilator dan antiinflamator (Chairsabella, 2016).

Oksidasi LDL juga akan memicu respon inflamasi dan merangsang sel vaskular lokal untuk memproduksi kemokin *Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1) yang akan merekrut monosit ke dalam tunika intima, sitokin (IL-6, IL-8) dan *adhesion molecule* (*Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1), *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1), dan E selektin) yang menyebabkan

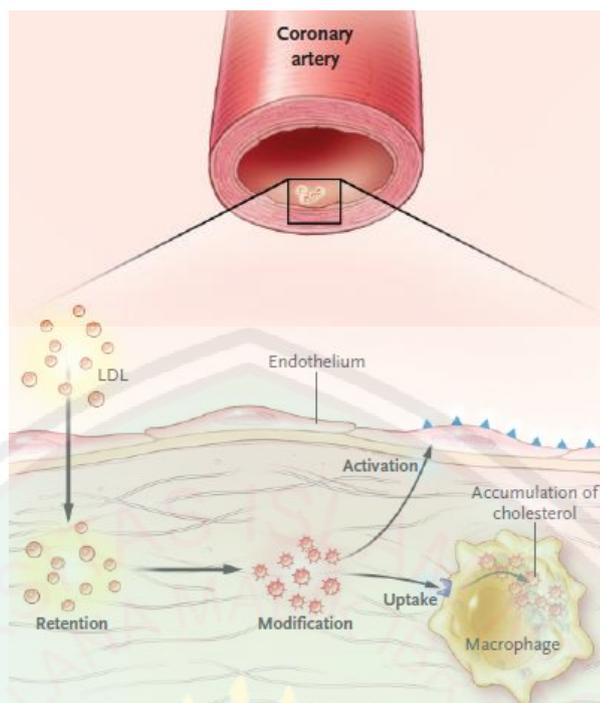
adhesi monosit dan limfosit T. Monosit selanjutnya bermigrasi ke ruang subendotel dan berubah menjadi makrofag akibat adanya *Macrophage-Colony Stimulating Factor* (M-CSF) yang disekresi oleh sel endotel dan sel otot polos (Ross, 1999).



Gambar 2.3 Disfungsi Endotel pada Aterosklerosis

Peningkatan permeabilitas endotel akan mempermudah migrasi leukosit ke dalam ruang subendotel sehingga terjadi adhesi leukosit pada endotel yang akan menyebabkan respon inflamasi dan membentuk lesi awal aterosklerosis (Ross, 1999).

Adhesi monosit dapat ditingkatkan dengan adanya IL-1 dan TNF yang dihasilkan oleh makrofag. Makrofag juga dapat menghasilkan ROS yang mengakibatkan oksidasi LDL dan melepaskan *growth factor* yang turut membantu terjadinya proliferasi sel-sel otot polos. Limfosit T, termasuk CD4⁺ dan CD8⁺ juga direkrut ke dalam ateroma melalui kemoaktraktan. Reaksi silang antara sel T dengan makrofag dapat mengaktivasi imunitas selular dan humoral yang merupakan karakteristik dari inflamasi kronik (Hansson, 2005; Lintong, 2009).



Gambar 2.4 Efek Infiltrasi LDL terhadap Inflamasi pada dinding Arteri

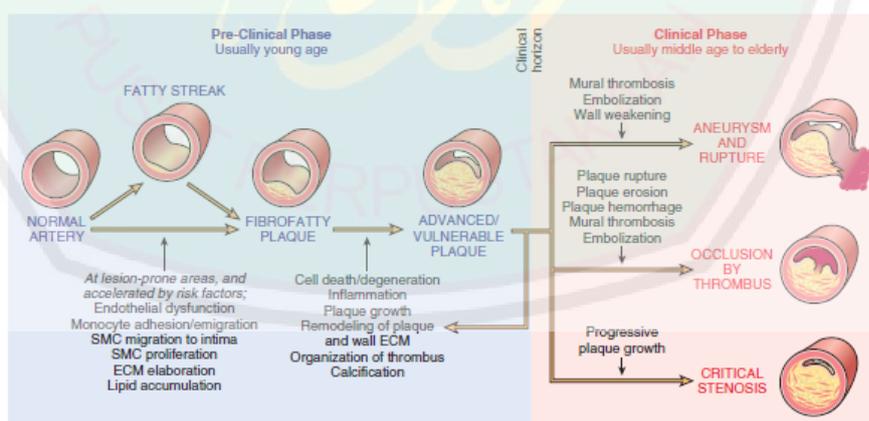
Infiltrasi LDL terjadi akibat meningkatnya permeabilitas endotel yang kemudian akan mengalami retensi dan modifikasi menjadi oxLDL. Hal ini akan memicu inflamasi dan aktivasi sel endotel yang akan rekrutmen monosit ke dalam ruang subendotel. Monosit dengan stimulasi berbagai macam kemokin selanjutnya berubah menjadi makrofag yang akan memfagosit LDL teroksidasi sehingga terjadi pembentukan sel busa (Hansson, 2005).

Monosit dan makrofag lebih lanjut akan merangsang peroksidasi LDL, sehingga LDL dapat teroksidasi dengan sempurna yang selanjutnya akan merangsang pembentukan *Leucocyte Adhesion Molecule* (LAM), kemokin, *growth factor*, proliferasi otot polos, menghambat vasodilatasi, dan meningkatkan produksi ROS. Oksidasi LDL yang sempurna ditandai dengan meningkatnya muatan negatif apolipoprotein B100 yang dikenali oleh *scavenger receptor* makrofag yang tidak mengenal *down regulation*, kemudian terjadi internalisasi untuk membentuk sel busa. Sel busa bersama monosit lipid laden dan limfosit T kemudian akan menyebabkan terjadinya pembentukan *fatty streak* (Lintong, 2009; Maiolino *et al.*, 2013; Sargowo, 2015).

Fatty streak dapat diubah menjadi ateroma *fibrofatty* yang matur dan lesi aterosklerosis yang progresif melalui proliferasi sel otot polos yang diakibatkan

oleh inflamasi kronik, dan deposisi matriks ekstraselular. Proliferasi sel otot polos dan sintesis matriks dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti *platelet-derived growth factor*, *fibroblast growth factor*, dan TGF- α . Sel otot polos dapat menyintesis matriks ekstraselular (kolagen) yang dapat menstabilkan plak aterosklerosis. Namun ketika terdapat aktivasi sel inflamasi di dalam atheroma, maka akan terjadi apoptosis sel otot polos dan pemecahan matriks yang menyebabkan plak menjadi tidak stabil (Kumar *et al.*, 2018).

Pada tahap stenosis aterosklerosis, *remodeling* tunika media cenderung mempertahankan diameter lumen dengan meningkatkan diameter pembuluh darah. Namun karena terbatasnya *remodeling*, pada akhirnya atheroma akan menghambat aliran darah. Walaupun kejadian ini paling sering terjadi akibat perubahan plak akut, hal ini dapat terjadi secara bertahap dimana *critical stenosis* menjadi titik kritis pada oklusi kronis yang menghambat aliran darah sehingga tidak dapat menyuplai jaringan dengan adekuat. Hal ini terjadi ketika pembuluh darah tersumbat sekitar 70% (Kumar *et al.*, 2018).

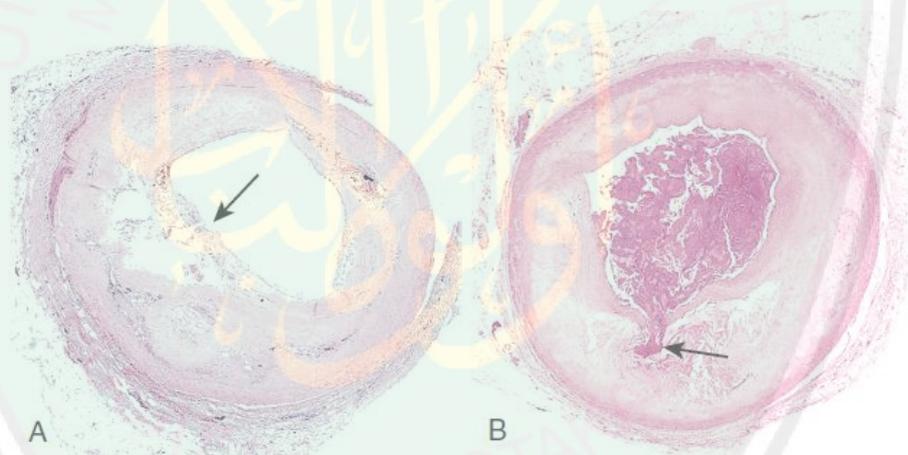


Gambar 2.5 Perubahan Lesi Aterosklerosis

Perkembangan lesi aterosklerosis dibagi menjadi dua tahap, yaitu tahap praklinis yang biasanya terjadi di usia muda, dan tahap klinis yang biasanya terjadi di usia dewasa hingga usia tua. Diawali dengan perubahan arteri normal yang membentuk *fatty streak* dan *fibrofatty plaque* akibat berbagai faktor risiko seperti disfungsi endotel, kemudian akan berubah menjadi plak tingkat lanjut akibat adanya degenerasi sel, inflamasi, kalsifikasi, remodeling plak, pembentukan trombus, dan pertumbuhan plak. Lesi ini selanjutnya dapat semakin parah ketika mengalami stenosis, oklusi, aneurisma, dan ruptur sehingga manifestasi klinis sudah dapat terlihat (Kumar *et al.*, 2018).

Ruptur atau erosi plak biasanya dipicu oleh thrombosis yang menyebabkan obstruksi vaskular sebagian atau total sehingga terjadi infark jaringan. Perubahan plak akut dibagi menjadi tiga kategori umum sebagai berikut: (1) Ruptur, yaitu melepaskan plak yang sangat trombogenik; (2) Erosi/ulserasi, yaitu melepaskan membran subendotel trombogenik ke dalam darah; (3) Perdarahan atheroma yang dapat memperluas volumenya (Kumar *et al.*, 2018).

Plak aterosklerosis bertanggungjawab pada terjadinya infark miokard atau sindrom koroner akut lain, walaupun seringnya asimtomatik. Namun seseorang yang memiliki plak aterosklerosis asimtomatik, berisiko mengalami penyakit arteri yang parah. Manifestasi klinis dipicu oleh trombosis pada lesi yang sebelumnya tidak menunjukkan oklusi luminal signifikan (Kumar *et al.*, 2018).

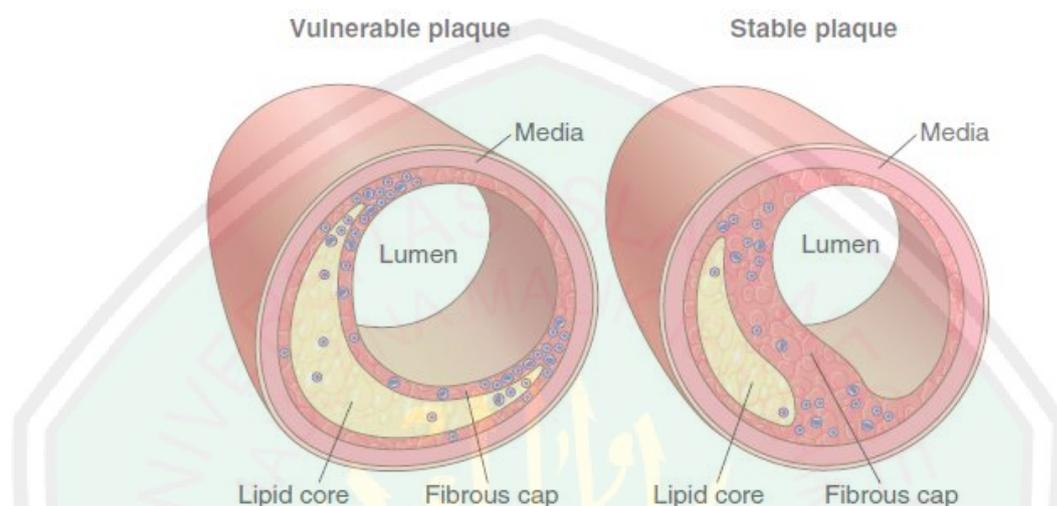


Gambar 2.6 Ruptur Plak Aterosklerosis

Gambar di atas menunjukkan rupturnya plak aterosklerosis tanpa trombus yang biasa ditemukan pada pasien dengan *sudden death* (A), dan rupturnya plak aterosklerosis dengan trombus yang ditunjukkan oleh anak panah hitam (B) (Kumar *et al.*, 2018).

Plak yang mengandung sel busa dan lipid ekstraselular dalam jumlah besar, memiliki kapsula fibrosa yang tipis (sedikit sel otot polos) dan mengandung banyak sel inflamasi berisiko tinggi untuk terjadi ruptur sehingga disebut sebagai *vulnerable plaques*. Kekuatan kapsula fibrosa tergantung pada keseimbangan sintesis dan degradasi dari kolagen, dimana sel otot polos berperan untuk

menyintesis kolagen pada plak aterosklerosis. Plak yang stabil ditandai dengan kapsul yang tebal dan inti lipid yang kecil, sedangkan plak yang tidak stabil ditandai dengan inti lipid lebih besar dengan kapsul yang tipis (Kumar *et al.*, 2018; Sargowo, 2015).



Gambar 2.7 Perbandingan *Vulnerable Plaque* dengan *Stable Plaque*

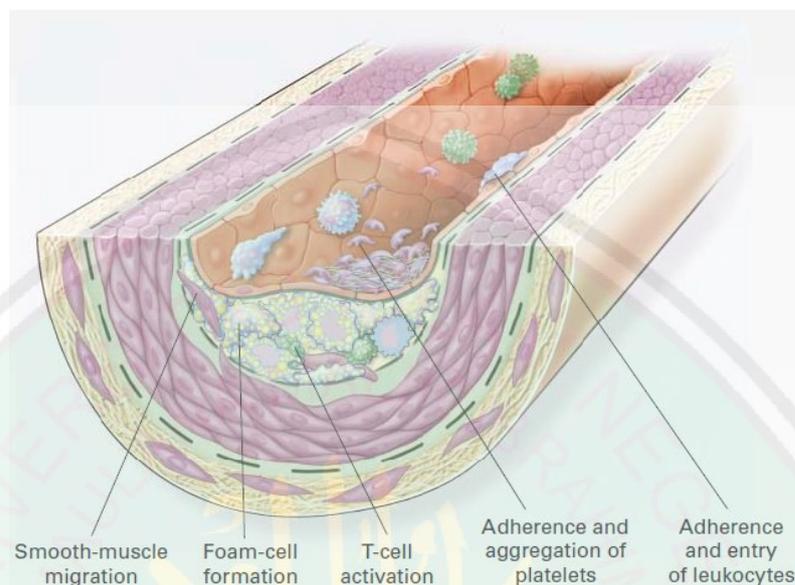
Terdapat *fibrous cap* tipis dan banyak sel inflamasi pada *vulnerable plaque*, sehingga plak akan lebih mudah untuk ruptur dan menimbulkan manifestasi klinis. Pada *stable plaque*, *fibrous cap* lebih tebal sehingga plak menjadi stabil dan tidak mudah ruptur (Kumar *et al.*, 2018).

2.3 *Fatty Streak*

Fatty streak adalah tipe lesi aterosklerosis paling awal yang muncul sepanjang hidup seseorang, tersering pada aorta bayi lebih dari 1 tahun dan anak kecil lebih dari 10 tahun. Pada tahap awal, *fatty streak* terdiri dari monosit lipid-laden, sel busa, dan limfosit T. Pada tahap selanjutnya, sel-sel otot polos juga akan ikut membentuk *fatty streak* yang distimulasi oleh *platelet-derived growth factor*, *fibroblast growth factor 2* dan *transforming growth factor β* (Kumar *et al.*, 2018; Ross, 1999).

Aktivasi limfosit T dimediasi oleh *tumor necrosis factor alfa* (TNF- α), interleukin-2 (IL-2) dan *granulocyte macrophage-colony stimulating factor* (GM-CSF). Pembentukan sel busa dimediasi oleh oxLDL, *macrophage colony-*

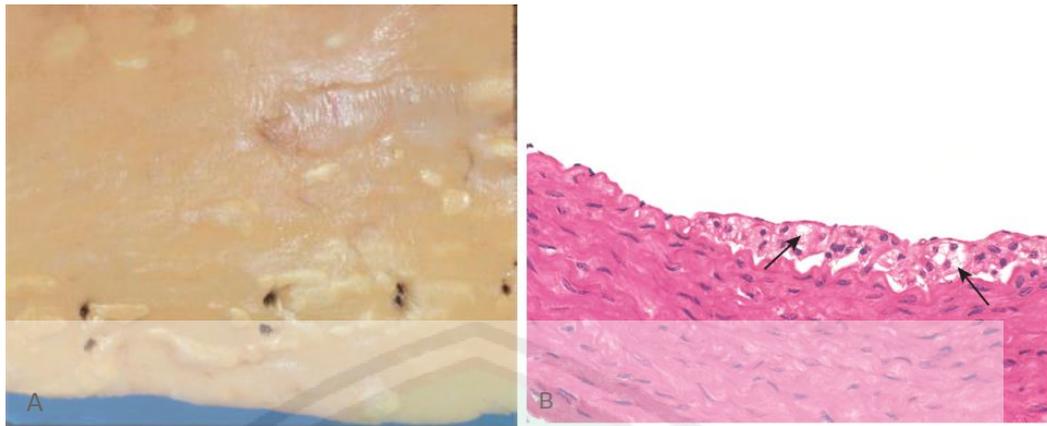
stimulating factor, TNF-alfa, dan interleukin-1 (IL-1). Adapun adhesi dan agregasi platelet distimulasi oleh integrin, *P-selectin*, fibrin, *thromboxane A₂*, *tissue factor* dan faktor lainnya (Ross, 1999).



Gambar 2.8 Pembentukan Fatty Streak pada Lesi Aterosklerosis

Tahap awal pembentukan *fatty streak* terdiri dari sel limfosit T, sel busa, dan monosit lipid laden. Pada tahap selanjutnya, sel otot polos juga terdapat dalam *fatty streak* (Ross, 1999).

Fatty streak atau bercak perlemakan terdiri dari sel busa penuh lemak yang tidak memiliki peninggian bermakna sehingga tidak mengganggu aliran darah. Lesi ini diawali oleh adanya titik kuning datar (*yellow dots*) dengan garis tengah yang kurang dari 1 mm, dan kemudian menyatu membentuk goresan atau bercak yang memanjang sampai 1 cm atau lebih. Walaupun demikian, tidak semua *fatty streak* akan berkembang menjadi plak aterosklerosis, namun *fatty streak* yang sudah terbentuk selama masa remaja memiliki risiko untuk berkembang menjadi plak aterosklerosis di kemudian hari (Kumar *et al.*, 2018).



Gambar 2.9 Fatty Streak

Fatty streak secara makroskopis dapat dilihat sebagai daerah berwarna kekuningan di permukaan dalam arteri yang tidak terdapat peninggian (A), sedangkan secara mikroskopis dapat dilihat sebagai penumpukan sel-sel busa di daerah subendotel yang ditunjukkan oleh panah hitam (B) (Butany, 2015; Kumar *et al.*, 2018).

Fatty streak secara mikroskopis terutama terdiri dari penumpukan sel busa, *smooth muscle cells*, dan limfosit T dalam jumlah yang lebih sedikit. Lipid pada *fatty streak* terdiri dari kolesterol ester (77%), kolesterol, dan fosfolipid. Asam lemak kolesterol ester yang utama adalah kolesterol oleat dan kolesterol linoleat (35% dan 26% dari asam lemak kolesterol ester total). Perkembangan *fatty streak* pada anak usia 2 sampai dengan 15 tahun umumnya terjadi di arkus aorta, aorta torasika desenden, dan aorta abdominal (Stary *et al.*, 1994).

2.4 Model Penelitian Aterosklerosis

Model hewan coba yang digunakan untuk penelitian terkait aterosklerosis harus memiliki metabolisme lipid dan patofisiologi kardiovaskular yang sama dengan manusia. Lesi aterosklerosis pada hewan coba harus berkembang secara bertahap (dari *fatty streak* menjadi plak yang mengalami kalsifikasi, ulserasi, hemoragik, dan trombosis) ketika diberikan diet aterosklerosis. Namun tidak ada hewan yang benar-benar memenuhi kriteria tersebut sehingga banyak hewan coba yang digunakan untuk mengilustrasikan lesi aterosklerosis dengan aspek yang berbeda (Moghadasian, 2002).

Kelinci merupakan hewan coba pertama dan terbaik untuk penelitian metabolisme lipoprotein maupun aterosklerosis. Pada tahun 1908, dokter Rusia yang bernama Ignatowski melakukan percobaan memberi makan kelinci dengan diet yang kaya akan protein hewani (susu, daging dan telur), dan diperoleh hasil terdapat penumpukan sel busa di lapisan tunika aorta (Fan *et al.*, 2015).

Anitschkow yang merupakan peneliti patologi dari Rusia menggunakan diet kolesterol yang dilarutkan ke dalam minyak sayur untuk menghasilkan lesi aterosklerosis. Hasilnya, lesi pada kelinci menunjukkan hasil yang serupa dengan lesi pada manusia, ditandai adanya peran kolesterol dalam perkembangan aterosklerosis (Steinberg, 2004).

Penelitian terdahulu menunjukkan kenaikan lipoprotein utama β -VLDL pada kelinci yang diberi diet kolesterol. Lipoprotein ini termasuk aterogenik karena kaya akan kolesterol dan dapat mengubah makrofag menjadi sel busa (Fan *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan (Watanabe *et al.*, (1985) menunjukkan bahwa pada tahap awal lesi aterosklerosis di aorta kelinci dengan diet kolesterol, terjadi rekrutmen sel busa yang berasal dari monosit pada tunika intima.

Hansson *et al.* (1991) melalui penelitiannya menunjukkan bahwa selain monosit, terdapat keterlibatan limfosit T pada lesi aterosklerosis kelinci dengan diet kolesterol yang mirip dengan manusia. Hasil ini membuktikan bahwa terdapat keterlibatan respon imun pada patogenesis aterosklerosis. Penelitian lain menyebutkan bahwa oksidasi β -VLDL dan LDL benar terjadi pada dinding arteri kelinci dengan diet kolesterol, yang memiliki peran penting dalam memicu ekspresi MCP-1 dan M-CSF selama perkembangan lesi (Fan *et al.*, 2015). Hasil-hasil penelitian ini menjadi dasar ditemukannya teori aterosklerosis bahwa kolesterol

plasma adalah faktor aterogenik yang penting (hipotesis inflamasi), dan sel inflamasi seperti makrofag dan T limfosit (hipotesis inflamasi) adalah komponen penting untuk perkembangan aterosklerosis (Moore dan Tabas, 2011).

Plasma manusia mengandung *LDL-like lipoprotein* yang disebut lipoprotein-a (Lp(a)) yang tidak terdapat pada plasma kelinci maupun tikus. Namun suatu penelitian menyebutkan bahwa apoB-100 kelinci dapat berikatan dengan apo(a) untuk membentuk partikel Lp(a) dan dapat meningkatkan perkembangan lesi aterosklerosis (Fan *et al.*, 2015). Selain itu, reseptor LDL hepatic pada manusia dan kelinci juga diatur sesuai dengan *uptake* kolesterol dalam hati. Reseptor VLDL yang terlibat dalam pembentukan sel busa diekspresikan dengan jumlah yang tinggi pada makrofag kelinci dan manusia, namun tidak pada mencit (Takahashi *et al.*, 2011).

Beberapa peneliti memilih untuk menggunakan tikus sebagai hewan coba karena lebih mudah dalam manipulasi genetik dan membutuhkan waktu yang relatif singkat untuk perkembangan lesi aterosklerosis (Getz dan Reardon, 2012). Dalam suatu penelitian yang dilakukan oleh Dr. Akira Ando bersama *Beecham Pharmaceutical Research Laboratories* terkait kompaktin (statin generasi pertama), menunjukkan hasil bahwa kompaktin tidak efektif dalam menurunkan kolesterol plasma pada tikus dan mencit, walaupun diberikan dosis tinggi (>500 mg/kg) (Brown dan Goldstein, 2004). Peneliti lain membuktikan bahwa kompaktin lebih efektif digunakan pada kelinci daripada ayam, kucing, anjing dan monyet, sedangkan pada hewan pengerat sangat tidak efektif (Fan *et al.*, 2015).

Tabel 2.2 Perbandingan Metabolisme Lipid Manusia, Kelinci, dan Tikus (Fan *et al.*, 2015)

	Human	Rabbit	Mouse
Major plasma lipoproteins	LDL	LDL	HDL
CETP	Abundant	Abundant	None
Hepatic apoB mRNA editing	No	No	Yes
apoB-48	Chylomicrons	Chylomicrons	VLDLs/LDLs and Chylomicrons
apoB-100	Can be bound to apo(a)	Can be bound to apo(a)	Cannot be bound to apo(a)
HDL	Heterogeneous	Heterogeneous	Homogeneous
apoAII	Dimer	Absent	Monomer
Hepatic LDL receptor activity	Down-regulated	Down-regulated	Usually high
VLDL receptor in macrophages	Yes	Yes	No
Hepatic lipase	High, liver-bound	Low, liver-bound	High, 70% in circulation
Cholesterol pool	Mainly from hepatic synthesis	Mainly from hepatic synthesis	Mainly from dietary origin
Excretion of bile acid	Low	Low	High
Response to a cholesterol diet	Sensitive	Sensitive	Resistant

Penelitian selanjutnya menemukan bahwa hewan pengerat (tikus, mencit, dan hamster) dengan manusia memiliki banyak perbedaan dalam metabolisme lipoprotein. *Cholesterol pool* pada manusia berasal dari sintesis *in vivo*, sedangkan pada hewan pengerat tergantung dietnya. Kemampuan tikus dan mencit dalam mengekskresikan garam empedu juga jauh lebih tinggi dibandingkan manusia dan kelinci (Fan *et al.*, 2015). ApoB-48 pada tikus diproduksi juga di dalam hati, sehingga VLDL dan LDL tikus tidak hanya mengandung apoB-100, tapi mengandung apoB-48 yang mengandung partikel yang dikatabolisasi lebih cepat daripada partikel apoB-100. Tidak seperti tikus, kelinci dan manusia hanya mengandung apoB-48 pada usus halus yang merupakan derivat kilomikron, dan tidak mengandung apoB-48 pada liver (Li *et al.*, 1996). ApoB-100 pada manusia dan kelinci dapat berikatan dengan apo(a) (protein utama pembentuk HDL) sehingga dapat meningkatkan perkembangan lesi aterosklerosis melalui penurunan HDL. Kelinci dan manusia juga sama-sama memiliki aktivitas CETP (*cholesteryl ester transfer protein*) plasma yang melimpah, dimana protein ini berfungsi untuk mengubah ester kolesterol pada HDL dengan trigliserida pada VLDL dan LDL (Fan *et al.*, 2015; Hall, 2016).

Terdapat 2 model kelinci yang biasa digunakan untuk penelitian aterosklerosis, yaitu kelinci *New Zealand White* dan *Japanese White*. Kelinci yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis *New Zealand White* (*Oryctolagus cuniculus*), berasal dari famili *Leporidae* dan ordo *Lagomorpha*. Keunggulan jenis kelinci ini yaitu pertumbuhannya cepat. Kelinci jenis ini memiliki karakteristik dada penuh, badan medium, kaki depan agak pendek, berbulu halus dan tebal, mata berwarna merah, telinga berwarna merah muda, dan mampu menghasilkan anak hingga 5-6 ekor setiap melahirkan. Konsentrasi plasma kolesterol kelinci betina dipengaruhi oleh estrogen dan lebih tinggi daripada kelinci jantan, sehingga kelinci jantan lebih sering digunakan untuk penelitian aterosklerosis (Fan et al., 2015; Kurniawati, 2017).

Kelinci dalam penelitian ini dijadikan model aterosklerosis dengan pemberian lemak 4-8% ditambah kolesterol 0,3-2% dari total pakan harian selama 45 hari. Lemak diperoleh dari pakan harian berupa merek Nova. Adapun kolesterol diperoleh dari otak sapi yang diblender. Kandungan kolesterol dalam 10 gram otak sapi adalah 2.100 mg. Pakan kelinci setiap hari yaitu sebanyak 60 g/kgBB, dengan rata-rata berat badan kelinci adalah 2 kg sehingga total kebutuhan pakan harian adalah 120 g. Berdasarkan angka tersebut, maka kebutuhan kolesterol setiap kelinci adalah 0,36-2,4 gram sehingga setiap kelinci diberikan otak sapi sebanyak 10 gram (Elnovreny, 2015; Fan et al., 2015).

2.5 *Ocimum Sanctum* L.

2.5.1 Taksonomi *Ocimum sanctum* L.

Nama *Ocimum sanctum* L. atau dikenal juga dengan *Ocimum tenuiflorum* merupakan salah satu tanaman obat yang populer di India dan sering disebut dengan

“*holy basil*”. Tanaman ini. dikenal dengan nama *Thulasi* atau *Visnupriya* di Sanskrit, *Thulasi* di Tamil dan *Tulasi* di Hindi, sedangkan di Indonesia dikenal dengan nama tanaman lampes (Shasany, 2016; Sudiati, 2013).

Tanaman lampes berdasarkan taksonomi dapat diklasifikasikan menjadi sebagai berikut (Monokesh *et al.*, 2013):

Kingdom : Plantae
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Lamiales
 Familia : Lamiaceae
 Genus : *Ocimum*
 Species : *Ocimum sanctum*



Gambar 2.10 Tanaman *Ocimum sanctum* L.

Tanaman *Ocimum sanctum* L. dikenal masyarakat sebagai tanaman lampes, dimana daunnya sering digunakan sebagai pelancar ASI, serta mengatasi demam dan masalah pencernaan (Badan Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional)

Secara morfologi, tanaman lampes merupakan tumbuhan semak yang tegak dengan tinggi 30-50 cm serta memiliki aroma yang kuat (Monokesh *et al.*, 2013). Daun yang dimiliki tanaman lampes merupakan daun tunggal, berwarna hijau, berbentuk bulat dengan ujung runcing atau tumpul. Tepi dari daun lampes ini

bergerigi dengan tulang daun menyirip, lebar 0,5-2,75 cm, dan panjang 0,75-7,5 cm serta terdapat rambut halus di kedua permukaannya. Bunga tanaman lampes memiliki susunan majemuk berkarang dengan ukuran 2,5-14 cm serta terdapat daun pelindung bertangkai pendek, berbentuk elips, atau bulat telur. Tanaman ini memiliki mahkota berwarna putih dan terdapat 3 bibir atas serta 2 bibir bawah. Tumbuhan ini juga memiliki akar tunggang dan biji yang bertipe keras serta berwarna cokelat tua (Sudiati, 2013).

2.5.2 Uji Fitokimia Daun *Ocimum sanctum* L.

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun kemangi. Uji fitokimia yang dilakukan oleh Rajesh *et al.* (2013) menunjukkan bahwa daun *Ocimum sanctum* L. berbagai senyawa kimia yang dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

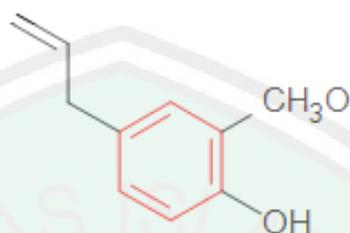
Tabel 2.3 Uji Fitokimia Daun *Ocimum sanctum* L. (Rajesh et al., 2013)

No.	Senyawa	Pereaksi	Observasi	Hasil
1.	Alkaloid	Tes Wagner	Endapan merah	+
2.	Tanin dan Fenol	Tes Lead	Warna hijau	+
3.	Terpenoid dan Fitosterol	Tes Salkowaski	Warna merah kecoklatan	+
3.	Saponin	<i>Foam Test</i>	Terdapat emulsi	+
4.	Flavonoid	<i>Ferric Chloride Test</i>	Endapan putih	+
5.	Glikosid		Terdapat cincin warna coklat	+
6.	Karbohidrat	Tes Fehling	Endapan oranye dan merah	+
7.	<i>Test for Lactones</i>	Tes Baljet	-	-
8.	<i>Test for Proteins</i>	Tes Biuret	-	-
9.	<i>Fixed Oils and Fatty Acid</i>	<i>Spot Test</i>	<i>Presence of spot</i>	+

Keterangan :
 + : Ditemukan
 - : Tidak ditemukan

Senyawa kimia yang terdapat pada bagian tanaman lampes secara keseluruhan adalah *anthol*, *triptofan*, *tarmin*, *1,8 sineol*, *apigenin*, *boron*, *sterol* dan

stigmaasterol. Terdapat juga kandungan kimia lain yaitu iskulin, magnesium, asam askorbat, magnesium, betasitosterol, histidin dan asam kafeat. Kandungan utama *Ocimum sanctum* yang bersifat antioksidan adalah *eugenol*, tanin, asam askorbat, beta karoten, beta sitosterol dan asam palmitat (Basith, 2012).



Gambar 2.11 Gugus Kimia *Eugenol* (1-hidroksi-2-metoksi-4-alilbenzen)

Daun lampes memiliki kandungan berupa flavonoid, asam kafeat, asam ursolat, glikosid, serta minyak atsiri yang mengandung *eugenol* (70,5%) sebagai komponen utama (Basith, 2012). Suatu penelitian menyebutkan bahwa *Orientin* (Ot) dan *vicenin* (Vc) merupakan flavonoid larut air yang terdapat di dalam daun lampes. Selain itu, Ot dan Vc memiliki efek sebagai antioksidan dan radioprotektan (Satyamitra *et al.*, 2014). Kandungan antioksidan yang terdapat di dalam tanaman *Ocimum sanctum* L. dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 2.4 Kandungan Antioksidan pada *Ocimum sanctum* L.

Ekstrak	TPC (mg/ml)	IT (mg/g)	UA (mg/g)	CA (mg/g)	EU (mg/g)	SA (mg/g)	RA (mg/g)
Daun	3,05 ± 0,12b	0,14 ± 0,09a	nd	0,19 ± 0,04d	0,70 ± 0,21a	0,54 ± 0,01a	0,25 ± 0,05d
Batang	2,5 ± 0,13c	0,13 ± 0,06a	0,06 ± 0,04a	0,12 ± 0,03e	0,44 ± 0,02b	nd	0,21 ± 0,13d
Infloresens	2,1 ± 0,16d	0,09 ± 0,04b	0,02 ± 0,01b	0,11 ± 0,01e	Nd	0,05 ± 0,05b	0,12 ± 0,04e
Kalus daun	4,0 ± 0,12a	nd	nd	0,38 ± 0,02a	Nd	nd	2,7 ± 0,09a
Kalus batang	3,1 ± 0,12b	nd	nd	0,27 ± 0,03b	Nd	nd	2,2 ± 0,11b
Kalus infloresens	2,6 ± 0,14c	nd	nd	0,22 ± 0,02c	Nd	nd	1,4 ± 0,02c

Data pada tabel di atas disajikan sebagai rata-rata ± standar deviasi dari 3 ulangan. TPC adalah *total phenolic content*, IT adalah *isothymusin*, UA adalah *ursolic acid*, CA adalah *carosic acid*, EU adalah *eugenol*, SA adalah *sinapic acid*, RA adalah *rosmarinic acid*, dan nd. adalah *not detected*. Tabel di atas menunjukkan bahwa kandungan antioksidan paling tinggi terdapat di bagian daun *Ocimum sanctum* L., terutama *eugenol* (Hakkim *et al.*, 2007).

Terdapat tiga golongan antioksidan utama pada ekstrak daun *Ocimum sanctum* L., yaitu asam fenolik, flavonoid dan tanin. Senyawa fenolik seperti eugenol memiliki kemampuan sebagai antioksidan melalui mekanisme HAT (*hydrogen atom transfer*) dengan mentransfer atom hidrogen dan mekanisme SET (*single electron transfer*) dengan mentransfer elektron. Mekanisme di atas bekerja dengan mentransfer atom hidrogen maupun elektron sehingga terjadi reduksi terhadap metal ion, radikal dan *carbonyls* yang menyebabkan ikatan kimia senyawa tersebut menjadi stabil (Aytul, 2010).

Flavonoid bekerja sebagai antioksidan dengan cara menghambat enzim yang bekerja dalam produksi anion superoksida. Antioksidan flavonoid dapat menekan terbentuknya ROS sebagai *chelating ion* dan meningkatkan kinerja aktivitas antioksidan tubuh. Flavonoid juga menyediakan sisi pengikat untuk radikal bebas berupa gugus katekol pada cincin B yang merupakan donor elektron yang baik, sehingga aktivitas antioksidan flavonoid sangat bergantung pada cincin B. Mekanisme ini berjalan dengan mentransfer sebuah elektron dan hidrogen ke radikal peroksil, hidroksi, dan peroksinitrit sehingga mampu menstabilkan radikal tersebut (Kumar dan Pandey, 2013).

Antioksidan dalam keadaan tertentu dapat berubah menjadi prooksidan yang mampu memicu peningkatan radikal bebas dan menyebabkan stres oksidatif. Prooksidan dapat terbentuk pada konsentrasi tertentu atau pemberian dosis tinggi serta adanya ion logam, sehingga perlu dilakukan uji toksisitas (Yordi et al., 2012).

2.5.3 Uji Toksisitas *Ocimum sanctum* L.

Toksisitas merupakan kemampuan suatu senyawa untuk dapat menimbulkan efek toksik pada suatu organisme, adapun senyawa yang menyebabkan toksisitas disebut dengan toksin (Hodgson, 2010). Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui apakah suatu senyawa dapat menimbulkan efek toksik atau tidak. Pengujian ini dibagi menjadi dua, yaitu uji toksisitas khusus dan uji toksisitas umum. Tujuan dilakukan uji toksisitas khusus yaitu untuk mengetahui secara rinci toksisitas sediaan, seperti uji mutagenik, uji teratogenik, maupun uji karsinogenik (Hodgson, 2010; Lu, 1995).

Adapun uji toksisitas umum dilakukan untuk mengetahui efek toksisitas keseluruhan suatu sediaan pada hewan coba. Uji toksisitas umum dibedakan menjadi uji toksisitas akut, subkronis dan kronis. Tujuan dilakukan uji toksisitas akut adalah untuk mengetahui efek toksik yang muncul maksimal 24 jam setelah pemberian senyawa dosis tunggal ataupun berulang. Uji toksisitas subkronis dilakukan untuk mengetahui efek toksik pada pemberian dosis berulang selama maksimal 10% dari total umur hewan coba. Adapun uji toksisitas kronis dilakukan untuk mengetahui efek toksik senyawa yang diberikan dengan dosis berulang selama seumur hidup hewan coba atau minimal 12 bulan (Lu, 1995; Lukito, 2014).

Uji toksisitas akut dapat dilakukan untuk menentukan *Lethal Dose 50* (LD_{50}) yang merupakan tolak ukur statistik setelah pemberian dosis tunggal untuk menunjukkan tingkatan dosis toksik sebagai data kuantitatif. LD_{50} adalah dosis suatu zat yang dapat memberikan kematian pada 50% hewan coba yang mengonsumsinya (Hodgson, 2010; Parasuraman, 2011). Nilai LD_{50} yang didapatkan berupa rentang dosis yang dikelompokkan menurut klasifikasi dari

Globally Harmonized System (GHS). Penelitian Prasetyo (2018) menunjukkan bahwa kisaran LD50 ekstrak etanol daun *Ocimum sanctum* L. adalah >2000 mg/kgBB yang termasuk kategori 5 GHS (*unclassified*) yaitu senyawa tidak toksik secara akut (Prasetyo, 2018). Berikut hasil penelitian Prasetyo (2018) pada mencit yang diberikan ekstrak etanol daun *Ocimum sanctum* L. dosis 2000 mg/kgBB sampai hari ke-14 perlakuan:

Tabel 2.5 Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun *Ocimum sanctum* L. (Prasetyo, 2018)

No.	Pengamatan	Mencit				
		1	2	3	4	5
1.	Piloereksi	-	-	-	-	-
2.	Konvulsi	-	-	-	-	-
3.	Tremor	-	-	-	-	-
2.	Nyeri	-	-	-	-	-
3.	Hipersalivasi	-	-	-	-	-
4.	Lakrimasi	-	-	-	-	-
5.	Mati	-	-	-	-	-

Keterangan :
 Mencit 1 : Berat badan 19 gram, dosis ekstrak yang diberikan 38 gram
 Mencit 2 : Berat badan 20 gram, dosis ekstrak yang diberikan 40 gram
 Mencit 3 : Berat badan 21 gram, dosis ekstrak yang diberikan 42 gram
 Mencit 4 : Berat badan 22 gram, dosis ekstrak yang diberikan 44 gram
 Mencit 5 : Berat badan 23 gram, dosis ekstrak yang diberikan 46 gram
 - : Tidak terjadi

2.5.4 Aplikasi Terapeutik *Ocimum sanctum* L.

Ocimum sanctum L. dilaporkan memiliki efek terapeutik pada beberapa penyakit seperti diabetes melitus, hiperkolesterolemia, penyakit jantung koroner, arthritis, maupun penyakit lainnya melalui kemampuan *Ocimum sanctum* L. yang berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan agen hipolipidemik (Prakash dan Gupta, 2005).

Suatu penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tanaman lampes secara signifikan dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti superoksida

dismutase dan katalase. Ekstrak tanaman lampes dapat menghambat hiperkolesterolemia yang diinduksi aktivitas peroksidase lipid eritrosit serta meningkatkan perlindungan pada aorta dari kerusakan akibat hiperkolesterolemia yang diinduksi peroksidase (Pattanayak *et al.*, 2010).

Penelitian lain dilaporkan bahwa ekstrak daun lampes memiliki aktivitas yang signifikan dalam menghambat OH *radical-induced deoxyribose degeneration* dan lebih baik daripada dimetil sulfoksida (DMSO). Asam oleanat dan asam ursolat dari *Ocimum Sanctum* L. terbukti dapat melindungi mikrosom hepar dari *adriamycin induced lipid peroxidation* (Uma Devi, 2001).

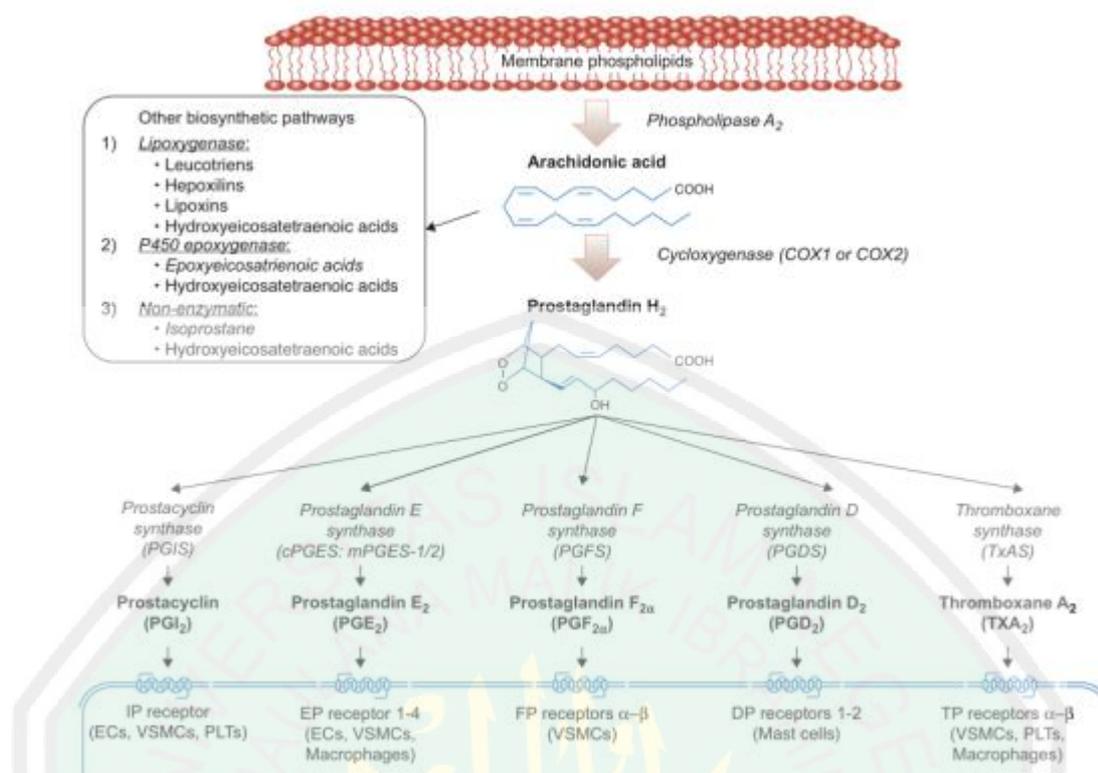
Orientin dan vicentin yang merupakan agen radioprotektif dari tanaman lampes menunjukkan efek inhibisi yang kuat pada *Fenton reaction-generated OH radical activity* secara *in vitro*. Pada pengujian *in vivo*, aktivitas antioksidan flavonoid ini ditunjukkan dengan penurunan radiasi yang diinduksi peroksidasi lemak pada hepar tikus secara signifikan. Efek ini kemungkinan disebabkan karena adanya *free radical scavenging* sebagai mekanisme utama tanaman lampes dalam melawan kerusakan jaringan dan induksi tumor (Uma, 2001).

Daun lampes mengandung *polyphenolic flavonoids* yang merupakan antioksidan kardioprotektif, berperan sebagai anti aterogenik dengan cara menurunkan kadar kolesterol plasma dan menghambat oksidasi LDL. Ekstrak daun lampes juga dapat menghambat proliferasi sel otot polos arteri, dan migrasi makrofag. Ekstrak daun lampes dapat mencegah terjadinya oksidasi LDL melalui efeknya sebagai antioksidan, *anti-lipidperoxidative*, dan peningkatan antioksidan endogen (Samak *et al.*, 2007).

Asam ursolat yang terkandung dalam ekstrak daun *Ocimum sanctum* menurut Balanehru dan Nagarajan (1991) memiliki aktivitas imunomodulator dan *tissue protector* sehingga dapat menghambat terjadinya peroksidasi lemak di mikrosomal hepar.

Selain sebagai antioksidan, senyawa yang diisolasi dari ekstrak *Ocimum sanctum* L. seperti *civsilineol*, *civsimavatine*, *isotimonin*, *apigenin*, *asam rosavinat* dan *eugenol* diketahui memiliki aktifitas antiinflamasi melalui inhibisi siklooksigenase. *Eugenol* menunjukkan 97% aktivitas inhibitor enzim siklooksigenase-1 (COX-1) pada konsentrasi 1000 μ M. *Civsilineol*, *civsimavatine*, *isotimonin*, *apigenin*, *asam rosavinat* secara berurutan menunjukkan angka 37, 50, 37, 65 dan 58% aktivitas inhibitor COX-1 pada konsentrasi 1000 μ M. Aktivitas antiinflamasi pada senyawa-senyawa ini sebanding dengan Ibuprofen, Naproxen dan Aspirin pada konsentrasi 10, 10, dan 1000 μ M (Pattanayak *et al.*, 2010). Selain berperan sebagai inhibitor COX-1, *eugenol* diketahui memiliki aktivitas inhibisi terhadap COX-2 pada konsentrasi 1000 μ M (Kelm *et al.*, 2000)

Siklooksigenase merupakan suatu enzim yang dapat mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin H₂ yang kemudian dimetabolisme lebih lanjut menjadi berbagai jenis prostanoid. Terdapat 2 jenis enzim siklooksigenase yaitu COX-1 yang dapat diekspresikan sel tanpa adanya stimulus, dan COX-2 yang diekspresikan akibat adanya stimulus inflamasi dan *shear stress* (Caughey *et al.*, 2001). Hasil utama metabolisme asam arakidonat oleh enzim COX-1 adalah TXA₂, sedangkan hasil utama metabolisme asam arakidonat oleh enzim COX-2 adalah PGI₂ dan PGE₂. Berikut merupakan jalur siklooksigenase pada metabolisme asam arakidonat (Majed dan Khalil, 2012; Smith *et al.*, 2011):



Gambar 2.12 Jalur Siklooksigenase

Salah satu cabang dari metabolisme asam arakidonat adalah melalui jalur siklooksigenase, yang dimediasi oleh enzim COX-1 dan/atau COX-2. Reseptor IP merupakan reseptor PGI₂ yang terdapat pada sel endotel, sel otot polos pembuluh darah, dan platelet. Reseptor EP merupakan reseptor yang terdapat pada sel endotel, sel otot polos pembuluh darah, dan makrofag. Reseptor FP merupakan reseptor PGF_{2α} pada sel otot pembuluh darah, sedangkan reseptor DP merupakan reseptor pada sel mast. Reseptor TP merupakan reseptor TXA₂ pada sel otot polos pembuluh darah, platelet, dan makrofag. PGI₂ berperan dalam relaksasi otot polos dan mencegah agregasi platelet, sedangkan PGE₂ berperan dalam homeostasis, pembentukan inflamasi, nyeri, aterosklerosis dan demam. PGF_{2α} berperan dalam persalinan, PGD₂ merupakan mediator inflamasi dan alergi, serta TXA₂ berperan dalam agregasi platelet dan vasokonstriksi (Majed dan Khalil, 2012; Smith *et al.*, 2011).

Suatu penelitian yang dilakukan Singh *et al.* (2002) menunjukkan bahwa asam linoleat dari tanaman lampes memiliki aktivitas antiinflamasi melalui inhibisi jalur siklooksigenase dan lipooksigenase dari metabolisme arakidonat. Ekstrak metanol dari tanaman lampes (500 mg/kg) juga memiliki efek antiinflamasi yang sebanding dengan 300 mg/kg sodium salisilat, yang diuji menggunakan *carrageenin-induced pedal edema* dan *cratonoil-induced granuloma and exudates* (Pattanayak *et al.*, 2010).

Ocimum sanctum L. juga dapat berperan sebagai agen hipolipidemik yang telah dibuktikan dengan penelitian bahwa diet ekstrak daun lampes pada kelinci *new zealand* terbukti dapat menurunkan serum kolesterol total, trigliserida, fosfolipid, dan kolesterol LDL, serta dapat meningkatkan kolesterol HDL dan *total fecal sterol contents* secara signifikan (Sarkar *et al.*, 1994). Penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian minyak dari ekstrak biji *Ocimum sanctum* L. secara signifikan dapat menurunkan serum kolesterol triasilgliserol, dan kolesterol LDL+VLDL (Pattanayak *et al.*, 2010). Efek antihiperlipidemik pada *Ocimum sanctum* L. juga sebanding dengan efek antihiperlipidemik pada obat simvastatin (Singh dan Chaudhuri, 2018)

Penelitian lain dilaporkan bahwa ekstrak etanol dari tanaman lampes secara signifikan dapat menurunkan glukosa darah, HbA1C (Hemoglobin A1C) dan urea, serta meningkatkan glikogen, hemoglobin dan protein. Suatu penelitian menunjukkan bahwa terdapat penurunan serum glukosa secara signifikan pada tikus yang diberi diet fruktosa dan ekstrak tanaman lampes selama 30 hari dibandingkan kelompok kontrol (Pattanayak *et al.*, 2010).

Gholap dan Kar (2004) menyebutkan bahwa tanaman lampes dapat menurunkan konsentrasi serum kortisol dan glukosa serta menunjukkan adanya efek antiperoksida. Tanaman lampes juga memiliki potensi dalam meregulasi kortikosteroid yang menginduksi diabetes melitus. Prakash dan Gupta (2005) menyebutkan bahwa rebusan air dari seluruh tanaman dapat menurunkan kadar glukosa, dan mengontrol diabetes melitus.

2.6 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan, bersifat tidak stabil, sangat reaktif, masa hidup pendek dan tergantung pada penangkapan elektron dari molekul lain. Sebagian golongan radikal bebas adalah *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). Contoh radikal bebas tersebut adalah radikal anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH^\cdot), radikal hidroperoksil (HO_2^\cdot), peroksil (RO_2^\cdot), klorin (Cl^\cdot), alkoksil (RO^\cdot), karbonat (CO_3^-), karbon dioksida (CO_2^-) dan nitrogen dioksida (NO_2^-). Anion superoksida dapat disintesis secara enzimatik yang dihasilkan oleh enzim NADPH oksidase di membran sel neutrofil, makrofag dan sel endotel, maupun non-enzimatik yang terjadi pada rantai transport elektron di mitokondria (Khaira, 2010).

Rantai transport elektron pada mitokondria akan menghasilkan radikal anion superoksida (O_2^-) yang didismutase menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan selanjutnya akan bereaksi membentuk radikal hidroksil (OH^\cdot). ROS merupakan bagian normal dalam regulasi, namun dapat menyebabkan kerusakan komponen seluler jika terjadi ketidakseimbangan homeostasis redoks di seluler yang dapat memicu timbulnya stres oksidatif (Werdhasari, 2014).

Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan yang ada di dalam tubuh. Keadaan stres oksidatif dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan hingga organ tubuh. Stres oksidatif dapat terjadi karena dua faktor, yaitu penurunan atau tidak adanya antioksidan enzimatik maupun non-enzimatik, dan adanya peningkatan radikal bebas endogen maupun eksogen. Enzim yang berperan dalam menurunkan radikal

bebas dalam tubuh adalah superoksida dismutase dan glutathion peroksidase, sedangkan antioksidan non-enzimatik yang dapat menurunkan radikal bebas berasal dari konsumsi antioksidan seperti vitamin C dan vitamin E (Pratiwi, 2010; Sargowo, 2015)

Kenaikan kadar ROS intraseluler atau stres oksidatif dapat dihasilkan dari paparan seluler berbagai bahan kimia atau fisika seperti radiasi ionisasi, logam berat, sitokin proinflamasi dan bahan xenobiotik. Peningkatan kadar ROS dapat memicu berbagai keadaan patologis seperti aterosklerosis, kanker, penyakit neurodegeneratif, dan penuaan karena ROS dapat menyebabkan peroksidasi lipid, modifikasi protein dan DNA (Pratiwi, 2010).

Peroksidasi lipid merupakan bentuk kerusakan oksidatif lemak tidak jenuh (*Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA)), diakibatkan oleh serangan terhadap lemak yang memiliki reaktivitas untuk menyerang atom hidrogen dari suatu gugus metilen. Penyerangan H^+ pada gugus metilen mengakibatkan terbentuknya elektron yang tidak berpasangan pada karbon (CH), karena atom hidrogen hanya memiliki satu elektron. Pada kondisi aerob, sebagian besar radikal karbon akan bereaksi dengan oksigen dan menghasilkan radikal peroksil yang dapat menyerang atom H dari molekul lemak yang lain sehingga membentuk karbon radikal baru dan akan menimbulkan reaksi berantai peroksidasi lemak (Niki *et al.*, 2005).

Selain berdampak pada peroksidasi lipid, peningkatan kadar ROS juga dapat memicu modifikasi dan akumulasi protein teroksidasi yang diamati pada berbagai disfungsi seluler. Modifikasi oksidatif pasca translasi protein diduga dapat menurunkan fungsi dan struktur, serta mendegradasi protein dari sel. Adapun dampak ROS terhadap kerusakan DNA yaitu selama bereaksi dengan guanin,

peroksinitrit membentuk 8-nitroguanin yang dapat menginduksi transversi G:C menjadi C:A jika stabilitas lesi pada DNA sangat rendah (Sargowo, 2015).

Stres oksidatif walaupun memberikan dampak yang buruk, namun dapat diatasi dengan meningkatkan kadar antioksidan. Antioksidan dapat menghambat oksidasi melalui reaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil (Pratiwi, 2010). Antioksidan terdiri dari dua jenis, yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen merupakan komponen protein dan enzim yang disintesis dari dalam tubuh, terdiri dari superoksida dismutase, katalase, dan protein yang berikatan dengan logam seperti transferin dan seruloplasmin. Adapun antioksidan eksogen berasal dari makanan yang terdiri dari vitamin, fenol atau polifenol dan mineral (Pratiwi, 2010).

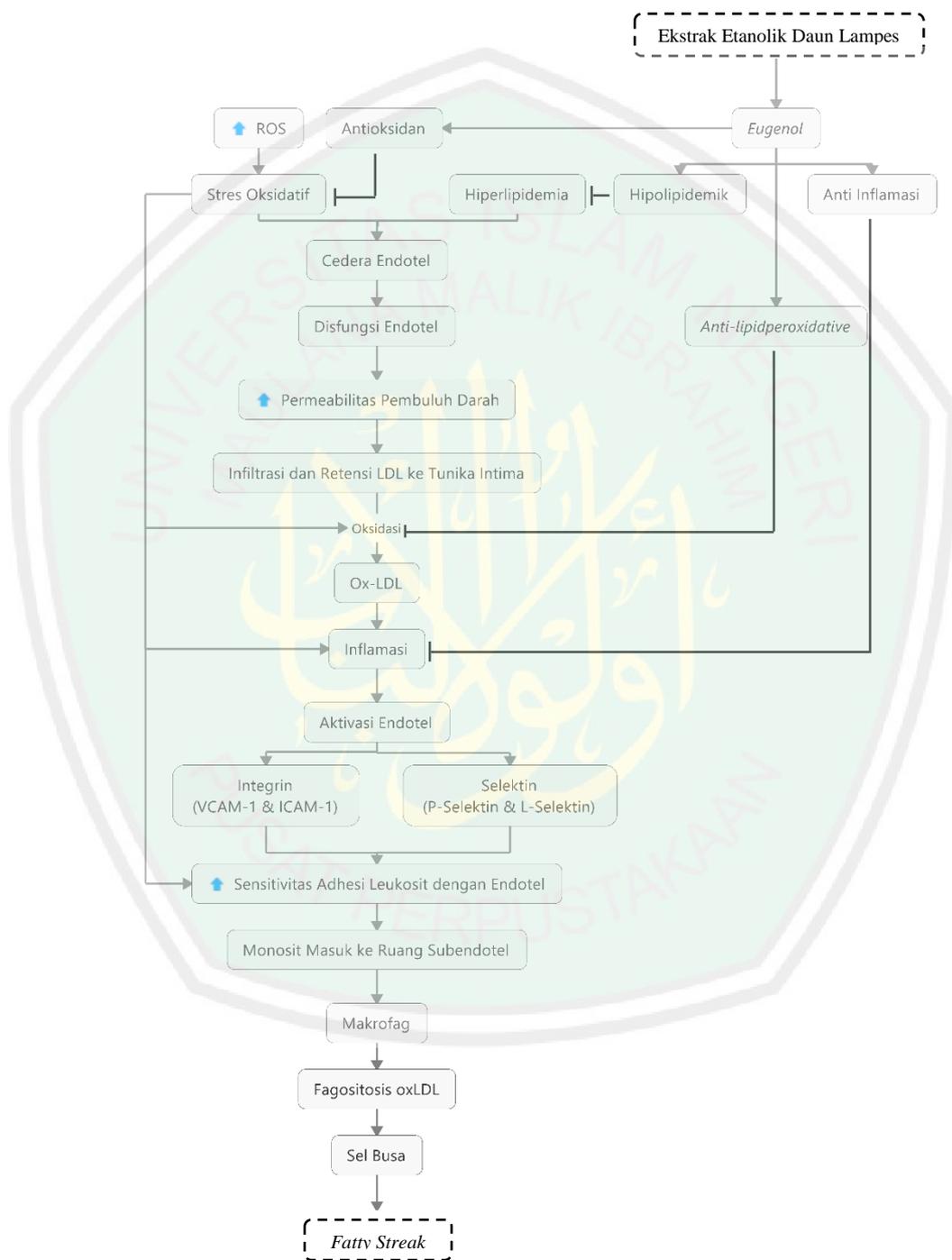
Terdapat tiga golongan antioksidan dalam tubuh, yaitu antioksidan primer untuk mencegah pembentukan radikal bebas sebelum sempat bereaksi seperti *Superoxide Dismutase* (SOD), *Gluthation Peroxidase* (GPx), dan enzim katalase. Adapun antioksidan sekunder berfungsi untuk menangkap radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai seperti vitamin C, E, Beta karoten ataupun yang lainnya, dan antioksidan tersier yang berfungsi untuk memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas (Pratiwi, 2010).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Berikut merupakan kerangka konsep dalam penelitian ini:

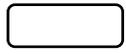


Gambar. 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan :



: Variabel yang diteliti



: Variabel yang tidak diteliti



: Stimulasi



: Inhibisi

Proses aterosklerosis diawali dengan adanya peningkatan kadar ROS yang dapat menyebabkan stres oksidatif akibat ketidakseimbangan dengan antioksidan. Kondisi stres oksidatif yang disertai dengan hiperlipidemia dapat menyebabkan terjadinya cedera endotel. Cedera endotel yang berlangsung kronik akan mengakibatkan terjadinya disfungsi endotel sehingga menimbulkan respons kompensatorik berupa peningkatan permeabilitas pembuluh darah. Meningkatnya permeabilitas pembuluh darah akan mengakumulasi LDL pada tunika intima pembuluh darah, diikuti terjadinya proses oksidasi LDL. Oksidasi LDL dapat menstimulasi terjadinya respon inflamasi di tunika intima yang akan mengaktifasi sel endotel. Aktivasi sel endotel akan menstimulasi integrin (VCAM-1 dan ICAM-1), dan selektin (P-Selektin dan L-Selektin) sehingga dapat meningkatkan sensitivitas adhesi leukosit dengan sel endotel. Hal ini akan menyebabkan masuknya monosit ke dalam ruang subendotel dan akan bertransformasi menjadi makrofag melalui rangsangan berbagai kemokin. Makrofag melalui *scavenger receptor* akan memfagosit oxLDL sehingga terbentuk sel busa. Sel busa bersama monosit lipid laden dan limfosit T kemudian akan menyebabkan terjadinya pembentukan *fatty streak*.

Berdasarkan penjelasan di atas, salah satu penyebab utama terjadinya proses aterosklerosis adalah akibat dari hiperlipidemia dan ketidakseimbangan kadar ROS

dengan antioksidan yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Ekstrak etanolik daun lampes memiliki kandungan utama berupa *eugenol* yang dapat berperan sebagai antioksidan sehingga diharapkan dapat mencegah terjadinya stres oksidatif. Selain itu, *eugenol* juga berperan sebagai agen hipolipidemik yang dapat mencegah terjadinya hiperlipidemia, sebagai *anti-lipidperoxidative* yang dapat mencegah terjadinya oksidasi LDL, dan sebagai anti inflamasi. Berdasarkan peran *eugenol* ini, diharapkan dapat mencegah perkembangan lesi aterosklerosis tahap awal, yaitu *fatty streak*.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- H₀ : Ekstrak etanolik daun lampes tidak dapat menghambat peningkatan luas *fatty streak* pada aorta kelinci model aterosklerosis secara histopatologi.
- H₁ : Ekstrak etanolik daun lampes dapat menghambat peningkatan luas *fatty streak* pada aorta kelinci model aterosklerosis secara histopatologi.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni dengan desain *post test only control group* (desain eksperimen sederhana), dimana terdapat dua kelompok yang dipilih secara acak. Satu kelompok dijadikan sebagai kelompok normal (tidak diberi perlakuan), sedangkan kelompok lain bertindak sebagai kelompok eksperimen (diberi perlakuan). Setelah perlakuan selesai, dilakukan pengukuran pada dua kelompok untuk membandingkan hasilnya sehingga efek dari perlakuan dapat diketahui (Sugiyono, 2010).

4.1.1 Variabel Penelitian

- Variabel independen dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanolik daun lampes.
- Variabel dependen dalam penelitian ini adalah gambaran luas *fatty streak* pada arkus aorta kelinci model aterosklerosis.

4.2 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai dari bulan November 2019 hingga Februari 2020 di beberapa tempat sebagai berikut:

- Adaptasi dan perawatan hewan coba dilakukan di *Animal House Program* Studi Pendidikan Dokter FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang,
- Ekstrak etanolik daun lampes dibuat di Lab. Fitokimia Program Studi Farmasi FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Pembuatan dan pewarnaan preparat aorta kelinci bertempat di Lab. Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diambil secara acak dari populasi terjangkau yaitu kelinci yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi meliputi: (1)Kelinci hidup hingga penelitian selesai, (2)Kelinci jenis *New Zealand*; (3)Jenis kelamin jantan; (4)Usia 4-6 bulan; (5) Berat Badan 1,5 – 3 kg. Adapun kriteria eksklusi dalam penelitian yaitu kelinci sakit dan mati sebelum penelitian berakhir.

Berdasarkan rumus Frederer, besar sampel penelitian memiliki nilai 1 agar mendapatkan data yang valid dan hasil optimal maka dilakukan replikasi sampel. Pada penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan yaitu satu kelompok normal, satu kontrol negatif, dan tiga kelompok perlakuan. Estimasi besarnya sampel yang digunakan penelitian sesuai dengan rumus Frederer, sebagai berikut:

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

dimana (p) adalah kelompok perlakuan, sedangkan (r) merupakan jumlah sampel setiap kelompok perlakuan.

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

$$4(r-1) \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 4,75$$

Berdasarkan rumus di atas, jumlah replikasi kelinci sebanyak dalam setiap kelompok yaitu sebanyak 4,75 ekor. Selanjutnya, besar sampel yang digunakan dihitung menggunakan Rumus *Resource Equation Method* sebagai berikut:

E (Besar sampel) = Jumlah total hewan coba – Jumlah kelompok perlakuan

$E = (\text{Jumlah replikasi} \times \text{Jumlah kelompok perlakuan}) - \text{Jumlah kelompok perlakuan}$

$$E = (4,75 \times 5) - 5 = 18,75 \text{ ekor}$$

Untuk mengantisipasi adanya kelinci yang *drop out* selama penelitian, maka diperlukan adanya kelinci cadangan dengan rumus koreksi besar sampel, sebagai berikut :

$$n' = [n/1-f]$$

keterangan :

n' = jumlah sampel penelitian

n = besar sampel yang dihitung

f = perkiraan proporsi *drop out*, sekitar 20% ($f = 0,2$)

Jumlah sampel dalam penelitian ini yaitu $n' = 4,75 / (1 - 0,2) = 5,93 \approx 6$.

Jumlah kelinci cadangan = Jumlah kelompok \times ($n' - \text{jumlah replikasi}$)

Jumlah kelinci cadangan = $5 (6 - 4,75)$

Jumlah kelinci cadangan = $5 (1,25) = 6,25$

Berdasarkan perhitungan di atas, jumlah sampel keseluruhan dalam penelitian ini adalah $18,75 + 6,25$ sehingga total kelinci yang digunakan adalah 25 ekor. Kelompok kelinci dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Kelompok 1 (Normal) adalah kelompok kelinci tanpa diet aterogenik dan tanpa ekstrak daun lampes.
- Kelompok 2 (Kontrol (-)) adalah kelompok kelinci yang diberi diet aterogenik namun tidak diberi ekstrak daun lampes
- Kelompok 3 (Perlakuan 1) adalah kelompok kelinci yang diberi diet aterogenik dan ekstrak daun lampes 10 mg/kgBB/hari

- Kelompok 4 (Perlakuan 2) adalah kelompok kelinci yang diberi diet aterogenik dan ekstrak daun lampes 25 mg/kgBB/hari.
- Kelompok 5 (Perlakuan 3) adalah kelompok kelinci yang diberi diet aterogenik dan ekstrak daun lampes 50 mg/kgBB/hari

4.4 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

- Bahan ekstraksi : Etanol 96%, serbuk daun lampes, air, kertas saring, *aluminium foil*
- Bahan pakan normal hewan : Kangkung, wortel, pelet *natural rabbit feed*
- Bahan diet hiperlipid : Otak sapi dan pelet Nova
- Bahan pembuatan preparat : *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%, alkohol 70%, 80%, 90%, 95% dan alkohol absolut, Xylol I dan Xylol II, dan parafin histoplast
- Bahan pewarnaan preparat : Zat pewarna Hematoksilin dan Eosin , Xylol I dan II, alkohol 80%, 90%, 100%, HCL 0,6%, dan entellan.

4.5 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Alat ekstraksi : *Beaker glass*, batang pengaduk, erlenmeyer, corong, kaca arloji, sendok tanduk, cawan porselen, *rotary vacuum evaporator*, *ultrasonic cleaner*, oven, dan neraca analitik
- Alat perawatan hewan coba : 25 kandang, 25 botol minum, 25 tempat makan

- Alat terminasi dan diseksi : Papan bedah, pin, pot organ yang berisi formalin 10%, eppendorf (darah), gunting bedah, pinset, gelas arloji, cawan petri, *beaker glass*, dan kertas label
- Alat pembuatan preparat : Talenan, pisau *scalpel*, pinset, saringan, *tissue casset*, mesin *processor* otomatis, mesin *vacuum*, mesin bloking, *freezer* (-20⁰C), mesin *microtome*, pisau *microtome*, *water bath* 46⁰C, *object glass*, *cover glass*, rak khusus untuk pewarnaan, dan oven 60⁰C
- Alat pengamatan preparat : Mikroskop cahaya binokuler merek nikon dan olympus

4.6 Definisi Operasional

1. Kelinci *New Zealand*

Kelinci *New Zealand* diperoleh dari Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya dengan karakteristik bulu berwarna putih bersih, mata berwarna merah, dan telinga berwarna merah muda.

2. *Ocimum sanctum* L.

Daun lampes diperoleh dari toko herbal Materia Medika, Batu berupa serbuk. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dengan etanol 96% menggunakan alat *ultrasonic cleaner* dan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE), lalu dilanjutkan evaporasi dengan *rotary vacuum evaporator*, dan dikeringkan menggunakan oven di Laboratorium Fitokimia Farmasi UIN Maliki Malang.

3. *Fatty Streak*

Fatty streak yang dianalisis dalam penelitian ini adalah dengan cara mengukur luasnya dari preparat yang diberikan pewarnaan HE. Cara

pengukuran adalah dengan memfoto preparat pada daerah tunika intima dengan pembesaran 400x, kemudian diukur luasnya dalam skala mikrometer.

4. Model Aterosklerosis

Model aterosklerosis dibuat dengan memberikan hewan coba diet hiperlipid aterogenik pakan Nova yang mengandung lemak min. 3% ditambah kolesterol 2% dari jumlah pakan harian. Komposisi pakan ini dapat membentuk lesi awal aterosklerosis selama 45 hari, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fan *et al.* (2015).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Langkah-Langkah Penelitian

4.7.1.1 Persiapan Penelitian

4.7.1.1.1 Adaptasi Hewan Coba

Hewan coba ditempatkan di suhu ruangan 22-23°C dengan suhu siang/malam siklus 12/12 jam di dalam kandang polietilene yang berisi 1 kelinci setiap kandang. Pada tahap adaptasi hewan coba ini, semua hewan coba diberikan akses bebas untuk makan dan minum selama 21 hari.

Pakan yang diberikan selama adaptasi hewan coba yaitu sebanyak 60g/kgBB/hari menggunakan pelet *natural rabbit feed* dengan kandungan *dry matter* 91,16%, *ash* 10,03%, *digestible energy* 2600 kcal/kg, *crude protein* 19,09%, *crude fat* 3,03%, *calcium* 12 g/kg, *phosphorus* 6 g/kg, *dl-methionine* 6 g/kg, *l-lysine* 8,2 g/kg, vitamin A 10000 IU/kg, vitamin D 150 IU/kg, vitamin E \geq 50 mg/kg, vitamin K 2 mg/kg. Setelah 21 hari, satu

kelompok kelinci tetap diberikan pakan normal sementara 4 kelompok lainnya diberikan diet hiperlipid.

4.7.1.1.2 Pembuatan Ekstrak Daun Lampes

Bahan utama yang digunakan adalah serbuk daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) kering yang diperoleh dari toko tanaman Materia Medika, Batu.

Berikut prosedur pembuatan ekstrak daun lampes :

- Simplisia ditimbang menggunakan neraca analitik
- Simplisia dimasukkan ke dalam *beaker glass*
- Simplisia dilarutkan menggunakan etanol 96% dengan perbandingan antara simplisia dan etanol 1:10
- Dilakukan ekstraksi simplisia dengan metode *UAE (Ultrasonic Assisted Extraction)* menggunakan alat *ultrasonic cleaner* selama 3 x 2 menit dengan panjang gelombang 20 – 2000 Hz
- Supernatan yang merupakan campuran etanol dengan zat aktif disaring memakai kertas saring untuk mendapatkan filtrat
- Semua filtrat hasil sonikasi dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam labu evaporasi.
- Dilakukan evaporasi untuk memisahkan pelarut etanol dengan ekstrak menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 45,4⁰C
- Hasil evaporasi dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40⁰C hingga terbentuk ekstrak yang padat.

4.7.1.2 Perlakuan Penelitian

4.7.1.2.1 Pembuatan Hewan Coba Model Aterosklerosis

Hewan coba dibuat menjadi model aterosklerosis dengan diberi diet hiperlipid selama 45 hari menggunakan pelet Nova yang mengandung lemak sebesar min. 3% ditambah dengan kolesterol sebesar 2% yang diperoleh dari otak sapi. Pemberian otak sapi diberikan dengan cara ditimbang terlebih dahulu, kemudian diblender dan disondekan kepada kelinci sebanyak 1x sehari.

4.7.1.2.2 Pemberian Ekstrak Etanolik Daun Lampes

Berikut merupakan prosedur pemberian ekstrak etanolik daun lampes :

- Ekstrak daun lampes yang sudah dikeringkan dan berbentuk padat, selanjutnya ditimbang menggunakan neraca analitik sesuai dengan kelompok dosis perlakuan
- Ekstrak kemudian dimasukkan ke dalam kapsul cangkang keras untuk diberikan kepada kelinci
- Kapsul diberikan dengan cara langsung dimasukkan ke dalam kelinci, dan diamati apakah kapsul benar-benar dimakan atau dimuntahkan kembali
- Kapsul yang berisi ekstrak diberikan 1 kali sehari, setiap jam 8.30 pagi setelah diberikan diet aterogenik pada jam 8 pagi.

4.7.1.3 Terminasi Hewan Coba dan Preparasi Sampel

4.7.1.3.1 Terminasi dan Pembedahan Hewan Coba

Pada hari ke-46 setelah diberi diet hiperlipid dan ekstrak daun lampes selama 45 hari, kelinci diterminasi dan dibedah menggunakan prosedur sebagai berikut:

- Kelinci dilakukan anestesi dengan inhalasi kloroform dan tunggu hingga mati
- Kelinci selanjutnya difiksasi pada papan badan menggunakan pin
- Kelinci dilakukan pembedahan mulai dari mencukur rambut kelinci bagian perut, dibersihkan dengan air diikuti dengan membuat sayatan pada bagian perut hingga dada memakai gunting bengkok
- Setelah organ dalam terpapar, arkus aorta diambil untuk dilakukan pengamatan.

4.7.1.3.2 Pengambilan Sampel Aorta Hewan Coba

Prosedur pengambilan sampel adalah sebagai berikut:

- Arkus aorta kelinci diambil melalui torakotomi setelah kelinci diterminasi
- Arkus aorta dicuci menggunakan aquades dan NaCl 0,9%
- Arkus aorta dikeringkan di atas kertas saring dan dipotong menjadi cincin dengan lebar 2 mm
- Cincin aorta diinkubasi dengan segera di dalam PBS (*Phosfat Buffer Saline*) lalu dipindahkan ke dalam pot organ yang berisi PBS + formalin 10%.

4.7.1.3.3 Pembuatan Sediaan Preparat

Berikut perumakan prosedur pembuatan sediaan preparat:

- Jaringan yang akan digunakan difiksasi dalam larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10% minimal selama 48 jam, hingga jaringan menjadi matang (mengeras)
- Dilakukan *trimming* untuk memotong tipis jaringan $\pm 0,5$ cm menggunakan pisau *scalpel* nomer 22-24
- Potongan tersebut dimasukkan ke dalam *tissue cassette*, lalu dimasukkan ke dalam *automatic tissue processor*
- Dilakukan dehidrasi untuk mengeluarkan air dari dalam jaringan dengan cara perendaman sampel di dalam etanol dengan konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, dan alkohol absolut) selama 2 jam pada masing-masing konsentrasi menggunakan *automatic tissue processor*.
- Dilakukan penjernihan (*clearing*) 2 tahap menggunakan Xylol I dan Xylol II untuk melarutkan alkohol dan parafin
- Dilakukan proses impregnasi atau infiltrasi yang merupakan proses pengisian parafin ke dalam pori-pori jaringan untuk mengeraskan jaringan agar mudah dipotong dengan pisau mikrotom. Parafin yang digunakan yaitu parafin histoplast
- Dilakukan *embedding* dan *blocking* yang merupakan proses penanaman jaringan ke dalam blok parafin menggunakan alat *tissue embedding console*

- Dilakukan *sectioning* (pemotongan) jaringan menggunakan alat *rotary microtome spencer* dengan ketebalan 4 – 5 mikrometer
- Jaringan diletakkan pada gelas objek, lalu disimpan di dalam inkubator dengan suhu 37⁰C selama 24 jam.

4.7.1.3.4 Pewarnaan Preparat

Preparat dalam penelitian ini diberikan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Adapun prosedur untuk melakukan pewarnaan preparat adalah sebagai berikut:

- Preparat histopatologi dideparafinisasi menggunakan larutan xylol I dan II sebanyak 2-3 kali celupan
- Preparat dilakukan rehidrasi menggunakan alkohol 100%, 90%, dan 80% secara berurutan, masing-masing 10 kali celupan
- Preparat dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan alkohol
- Dilakukan pewarnaan dengan memasukkan preparat ke dalam cat hematoksilin selama 1-5 menit
- Preparat dicuci dengan air mengalir
- Preparat dicelupkan ke dalam HCL 0,6% untuk dilakukan dekolorisasi sebanyak 1-2 kali celupan
- Preparat dicuci kembali dengan air mengalir
- Preparat direndam dalam air hingga warna berubah menjadi biru
- Dilakukan pewarnaan kedua dengan memasukkan preparat ke dalam cat eosin selama 3-5 menit
- Preparat dicuci dengan air mengalir

- Dilakukan rehidrasi menggunakan larutan alkohol 80%, 90%, dan 100% secara berurutan
- Preparat dicuci dengan air mengalir, dan dilap menggunakan kapas
- Preparat dimasukkan ke dalam xylol I dan I sebanyak 2-3 kali celupan, lalu dilap menggunakan kapas
- Dilakukan *mounting* menggunakan entelan sebanyak 1-2 tetes, dan ditutup dengan *cover glass*
- Preparat diberikan label, lalu di bawah mikroskop cahaya.

4.7.1.4 Pengujian Sampel

Parameter pada sampel penelitian ini dianalisis dengan mengukur luas *fatty streak* pada preparat aorta kelinci yang diberikan pewarnaan HE. Adapun prosedur pengukuran luas *fatty streak* adalah sebagai berikut:

- Preparat diamati di bawah mikroskop merek Nikon Eclipse E200 yang telah disambungkan pada komputer dengan perbesaran 400 kali dalam 5 lapang pandang. Daerah yang diamati adalah tunika intima
- Setelah menemukan gambaran *fatty streak*, preparat *dicapture* menggunakan *software* di dalam komputer Lab. Histologi
- Dilakukan kalibrasi pada *software imageJ* dengan mengklik *Analyze* pada *Menu Bar*, lalu angka *Distance in Pixels* diubah menjadi 1.044 (sesuai dengan foto preparat), kemudian angka *Known Distance* diubah menjadi 450 (sesuai dengan perbesaran 400x mikroskop Nikon), dan *Unit of Length* diubah menjadi μm sesuai dengan satuan yang diinginkan, lalu klik Ok.
- Dilakukan perhitungan luas *fatty streak* dengan menandai area *fatty streak*, lalu klik *Analyze* pada *Menu Bar*, kemudian klik *Measure* (Ctrl+M), dan

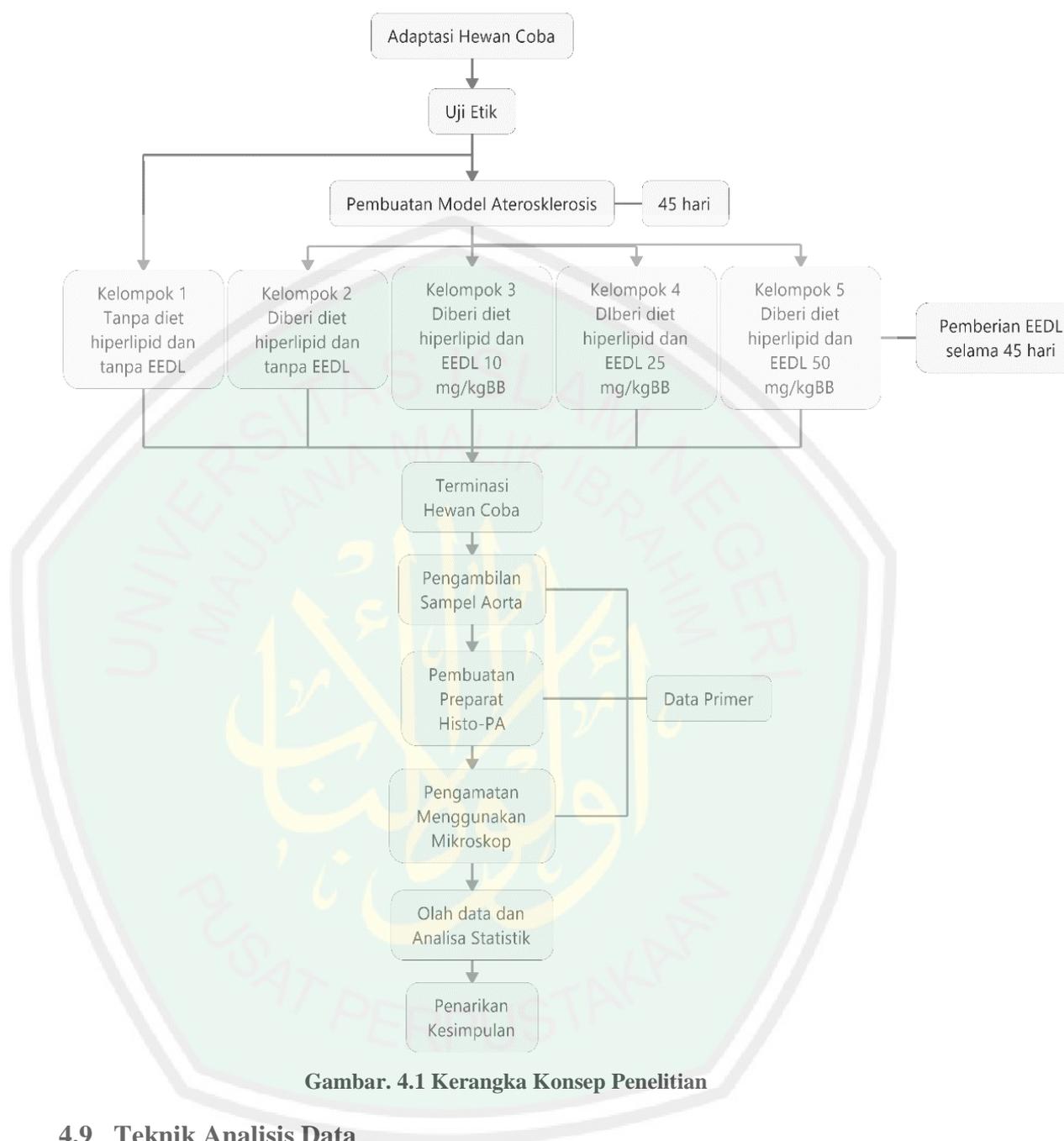
nilai luas *fatty streak* beserta standar deviasinya akan muncul pada tabel yang telah disediakan.

4.7.2 Metode Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan metode pengumpulan data berupa observasi serta jenis data kuantitatif dengan skala rasio berupa luas *fatty streak* pada preparat arkus aorta kelinci yang diberikan pewarnaan HE.



4.8 Alur Penelitian



Gambar. 4.1 Kerangka Konsep Penelitian

4.9 Teknik Analisis Data

Data disajikan secara deskriptif dan analitik. Data deskriptif disajikan dalam bentuk $mean \pm$ standar deviasi dari luas *fatty streak* masing-masing kelompok. Untuk mengetahui jenis analisis yang digunakan, dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas terlebih dahulu. Uji normalitas digunakan untuk mengetahui apakah

data penelitian terdistribusi normal atau tidak. Jika nilai $P > 0,05$ maka data berdistribusi normal dan dapat dilanjutkan dengan uji statistik parametrik yaitu *One Way Anova (Analysis of Variance)* dan uji korelasi *Pearson Product Moment*, sedangkan jika nilai $P < 0,05$ maka data tidak berdistribusi normal dan dapat dilanjutkan dengan uji statistik non-parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis*. Uji normalitas pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah setiap sampel kurang dari 50 kelinci.

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data sampel berasal dari populasi yang memiliki varians sama atau tidak. Uji homogenitas yang digunakan dalam ini berupa uji *Levene*. Jika nilai $P < 0,05$, maka setiap kelompok data berasal dari populasi dengan varians yang berbeda (tidak homogen). Nilai $P > 0,05$ menunjukkan setiap kelompok data berasal dari populasi dengan varians yang sama (homogen).

Data terdistribusi normal yang telah dilakukan uji *One Way Anova*, jika menunjukkan terdapat perbedaan maka dapat dilakukan uji *Post Hoc* berupa uji *Least Significance Different* (data homogen) atau uji *Games-Howell* (data tidak homogen). Adapun data terdistribusi tidak normal yang telah dilakukan uji *Kruskal Wallist*, dapat dilakukan uji *Post Hoc* berupa uji *Mann-Whitney*. Seluruh pengolahan data statistik dalam penelitian ini dilakukan menggunakan program SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) 24.0.

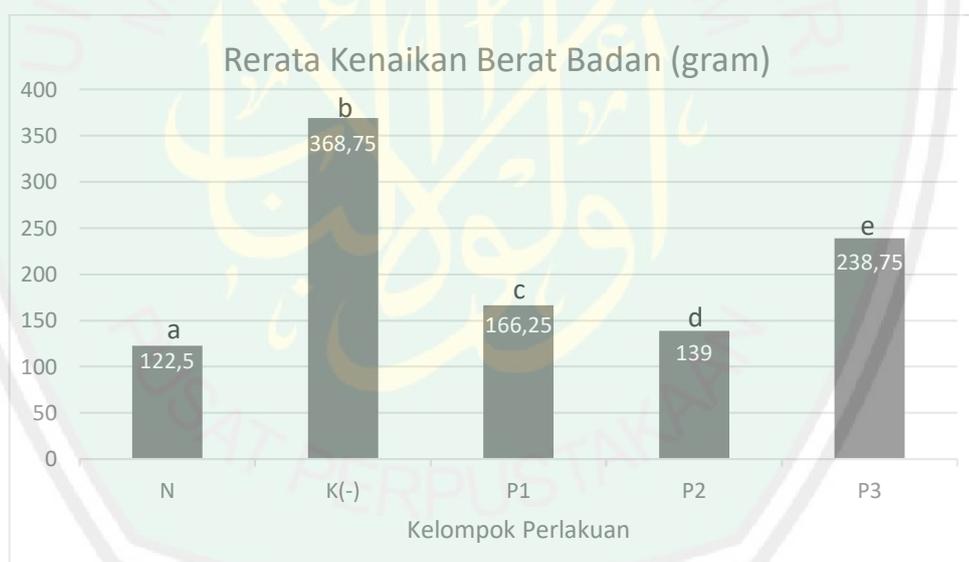
BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Pengaruh Diet Aterogenik dan *Ocimum sanctum* L. terhadap Berat Badan Kelinci

Berat badan kelinci pada setiap kelompok ditimbang sebanyak 2 kali, yaitu sebelum dan setelah diberi perlakuan. Data berat badan selanjutnya dilakukan uji normalitas dan diperoleh hasil bahwa data berat badan kelinci berdistribusi normal. Selanjutnya data berat badan dilakukan uji *paired sample t test* untuk membandingkan rata-rata berat badan sebelum dan setelah perlakuan di setiap kelompok. Berikut merupakan hasil dari uji *paired sample t test*:



Gambar 5.1 Grafik Rerata Kenaikan Berat Badan Kelinci

Grafik di atas menunjukkan rerata kenaikan berat badan kelinci masing-masing kelompok (sebelum dan sesudah perlakuan). N: Kelompok normal; K(-): Kontrol negatif; P(1, 2, 3) : Perlakuan dengan ekstrak etanolik daun lampes masing-masing 10, 25, dan 50 mg/kgBB. Huruf a dan b menunjukkan nilai $P < 0,05$, huruf c, d, dan e menunjukkan nilai $P > 0,05$.

Berdasarkan data di atas, kelompok normal dan kontrol(-) memperoleh nilai $P < 0,05$ yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara berat badan sebelum dan sesudah perlakuan. Adapun kelompok Perlakuan 1, Perlakuan

2, dan Perlakuan 3 memiliki nilai $P > 0,05$ yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada berat badan kelinci sebelum dan sesudah perlakuan. Setelah dilakukan uji *paired sample t test*, selisih berat badan dari setiap hewan coba dilakukan uji normalitas dan didapatkan nilai $P > 0,05$ yang menunjukkan data tidak berdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji statistik nonparametrik yaitu *Kruskal Wallis* yang bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan dari setiap kelompok. Pada uji *Kruskal Wallis*, diperoleh nilai P yaitu 0,262 ($> 0,05$) yang menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan dari selisih berat badan sebelum dan sesudah perlakuan dari setiap kelompok.

5.1.2 Pengaruh Diet Aterogenik dan *Ocimum sanctum L.* terhadap Luas *Fatty Streak* pada Arkus Aorta Kelinci

Luas *fatty streak* setiap kelinci diukur dalam 5 lapang pandang pandang pada perbesaran 400x menggunakan *software ImageJ* yang telah dilakukan kalibrasi sesuai dengan perbesaran mikroskop yang digunakan. Hasil dari perhitungan rata-rata luas *fatty streak* ditunjukkan pada Tabel 5.1 dan Gambar 5.1.

Tabel 5.1 Rerata Luas *Fatty Streak* ($Mean \pm SD$) Arkus Aorta Kelinci

No.	Kelompok	Luas <i>Faty Streak</i>
1.	N	2245,42 \pm 1007,15
2.	K(-)	5802,21 \pm 3690,41
3.	P1	5154,69 \pm 3990,79
4.	P2	4938,31 \pm 3690,18
5.	P3	3611,68 \pm 4092,96

Tabel 5.2 Hasil *One Way ANOVA* Rerata Luas *Fatty Streak* Arkus Aorta Kelinci

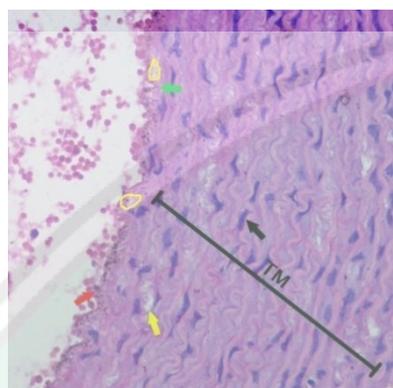
No.	Kelompok Perbandingan	Perbedaan Rerata	Nilai P	Signifikansi (P<0,05)
1.	N dengan K(-)	-3556,79600	0,170	-
2.	N dengan P1	-2909,27150	0,257	-
3.	N dengan P2	-2692,89072	0,293	-
4.	N dengan P3	-1366,26290	0,588	-
5.	K(-) dengan P1	647,52450	0,797	-
6.	K(-) dengan P2	863,90528	0,731	-
7.	K(-) dengan P3	2190,53310	0,389	-
8.	P1 dengan P2	216,38078	0,931	-
9.	P1 dengan P3	1543,00860	0,541	-
10.	P2 dengan P3	-1326,62783	0,599	-

Gambar 5.2 Grafik Rerata Luas *Fatty Streak* Kelinci

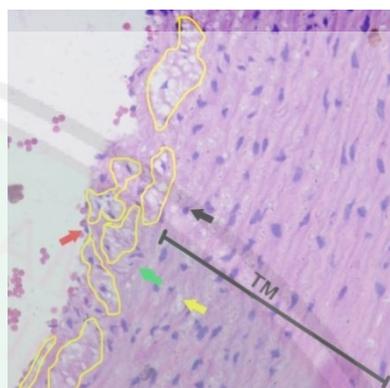
Grafik di atas menunjukkan *mean*+standar deviasi masing-masing kelompok. N: Kelompok normal; K(-): Kontrol negatif; P(1, 2, 3) : Perlakuan dengan ekstrak etanolik daun lampes masing-masing 10, 25, dan 50 mg/kgBB. Huruf a menunjukkan nilai $P > 0,05$.

Berdasarkan perhitungan statistik, diperoleh hasil bahwa nilai P pada uji normalitas kelompok N yaitu 0,301, K(-) 0,746, P1 0,302, P2 0,969, P3 0,137 dan nilai P uji homogenitas yaitu 0,268 ($P > 0,05$) yang menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen. Hasil ini memenuhi syarat dilakukannya uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan

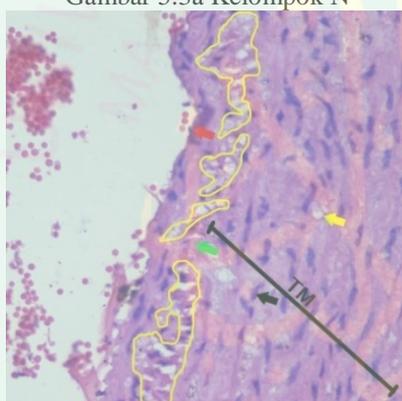
pada setiap kelompok. Pada uji *One Way ANOVA*, diperoleh nilai P yaitu 0,627 ($>0,05$) yang menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan dari rata-rata luas *fatty streak* setiap kelompok. Gambaran mikroskopis area *fatty streak* pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Gambar 5.3 di bawah ini:



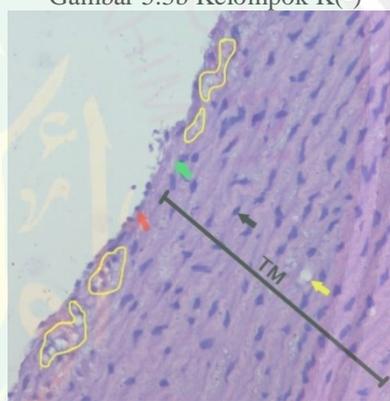
Gambar 5.3a Kelompok N



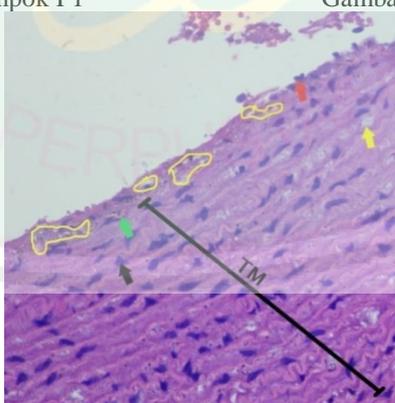
Gambar 5.3b Kelompok K(-)



Gambar 5.3c Kelompok P1



Gambar 5.3d Kelompok P2



Gambar 5.3e Kelompok P3

Gambar 5.3 Gambaran Histopatologi *Fatty Streak* pada Arkus Aorta Kelinci.

Gambar yang disajikan merupakan 1 lapang pandang dari masing-masing kelompok dengan pewarnaan H&E dan perbesaran 400x. Panah merah menunjukkan sel endotel, garis kuning menunjukkan *fatty streak*, panah hijau menunjukkan lamina elastika interna yang memisahkan tunika intima dengan tunika media (TM), panah kuning menunjukkan sel busa, dan panah hitam menunjukkan sel otot polos.

Gambar 5.3a menunjukkan adanya sel endotel dan gambaran *fatty streak* yang tipis pada tunika intima (dipisahkan oleh lamina elastika interna), disertai sel busa dan sel otot polos pada tunika media yang tersusun secara horizontal ke arah lumen aorta. Gambar 5.3b menunjukkan adanya sel endotel dan gambaran *fatty streak* yang sangat banyak sehingga tunika intima (dipisahkan oleh lamina elastika interna) mengalami penebalan dan kerusakan, disertai sel busa dan sel otot polos pada tunika media yang tersusun secara horizontal ke arah lumen aorta. Gambar 5.3c menunjukkan adanya sel endotel dan gambaran *fatty streak* yang lebih tipis dengan sedikit penebalan pada tunika intima (dipisahkan oleh lamina elastika interna) yang masih utuh, disertai sel busa dan sel otot polos pada tunika media yang tersusun secara horizontal ke arah lumen aorta. Gambar 5.3d menunjukkan adanya sel endotel dan gambaran *fatty streak* yang lebih tipis pada tunika intima (dipisahkan oleh lamina elastika interna) yang mengalami sedikit kerusakan namun terlihat adanya progresifitas menjadi normal, disertai sel busa dalam jumlah yang sedikit dan sel otot polos pada tunika media yang tersusun secara horizontal ke arah lumen aorta. Gambar 5.3e menunjukkan adanya sel endotel dan sedikit gambaran *fatty streak* pada tunika intima (dipisahkan oleh lamina elastika interna) yang masih utuh dan terlihat adanya progresifitas menjadi normal, disertai sel busa dan sel otot polos pada tunika media yang tersusun secara horizontal ke arah lumen aorta.

Fatty streak atau bercak perlemakan terdiri dari sel busa penuh lemak yang tidak memiliki peninggian bermakna sehingga tidak mengganggu aliran darah. Secara mikroskopis, *fatty streak* terdiri dari penumpukan sel busa, *smooth muscle cells* ataupun limfosit T dalam jumlah yang lebih sedikit (Kumar *et al.*, 2018; Stary *et al.*, 1994). Gambar 5.3 menunjukkan bahwa gambaran *fatty streak* paling tebal

terdapat pada gambar 5.3b (kelompok K(-)), sedangkan gambaran *fatty streak* paling sedikit terdapat pada gambar 5.3a (kelompok N). Adapun pada gambar 5.3c (kelompok P1) sudah terdapat penurunan *fatty streak* dibandingkan dengan kelompok 5.3b, namun masih lebih tebal daripada gambar 5.2d (kelompok P2) dan gambar 5.3e (kelompok P3).

Tabel 5.1 dan gambar 5.3 menunjukkan bahwa rata-rata luas *fatty streak* yang paling rendah yaitu kelompok N karena tidak diberikan diet aterogenik, sedangkan kelompok K(-) memiliki rata-rata luas *fatty streak* yang paling tinggi karena diberikan diet aterogenik namun tidak diberikan ekstrak *Ocimum sanctum* L. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian diet aterogenik dapat meningkatkan rata-rata luas *fatty streak* pada arkus aorta kelinci.

Data di atas juga menunjukkan bahwa rata-rata luas *fatty streak* pada kelompok P1, P2, dan P3 lebih rendah dibandingkan kelompok K(-) yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanolik daun lampes dapat menurunkan rata-rata luas *fatty streak* sesuai dengan dosis yang diberikan, walaupun tidak signifikan.

Total kelinci yang mati selama penelitian adalah 5 ekor (1 ekor setiap kelompok), sehingga kelinci yang hidup hingga penelitian selesai yaitu 20 ekor (4 ekor setiap kelompok). Jumlah kelinci hidup ini masih memberikan data yang valid karena berdasarkan perhitungan banyak sampel, jumlah minimal kelinci yang diperlukan dalam penelitian ini yaitu 18,75 ekor.

Kematian pada kelinci dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti lingkungan (iklim, angin dan suhu), sirkulasi udara dan kebersihan kandang. Kebersihan kandang merupakan hal yang sangat penting dalam perawatan kelinci,

karena dapat menimbulkan penyakit seperti diare dan skabies (Brahmantiyo *et al.*, 2018). Penelitian Brahmantiyo *et al.* (2018) menunjukkan bahwa penyebab tertinggi kematian kelinci pada penelitian tersebut disebabkan oleh diare dan mastitis. Adapun penyebab kematian kelinci dalam penelitian ini disebabkan karena diare dan skabies, sehingga perlu dilakukan peningkatan dalam hal higienitas kandang maupun lingkungan kelinci supaya kelinci juga tidak mengalami stres. Cheeke (1986) menyebutkan bahwa kelinci yang tumbuh di area tropis sangat mudah mengalami stres akibat temperatur udara di lingkungannya. Oleh karena itu, manajemen yang tepat sangat diperlukan untuk memantau kematian dan evaluasi penyakit sebelumnya.

5.2 Pembahasan

5.2.1 Pengaruh Ekstrak Etanolik Daun Lampes terhadap Berat Badan

Berat badan kelinci kelompok N sebelum dan setelah penelitian memiliki perbedaan yang signifikan dengan nilai $P < 0,003$, walaupun hanya diberikan pakan normal. Hal ini dapat disebabkan karena kelinci *New Zealand White* memiliki karakteristik pertumbuhan yang cepat, serta kualitas pakan yang diberikan pada kelinci mengandung zat yang dibutuhkan seperti protein, karbohidrat, lemak, mineral, vitamin, dan air sehingga dapat mengembangkan pekerjaan sel tubuh untuk proses-proses pertumbuhan yang berdampak pada meningkatnya berat badan kelinci secara signifikan (Hartadi *et al.*, 2005; Sarwono, 2003).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian diet atherogenik dapat memengaruhi berat badan kelinci, dibuktikan dengan hasil uji *paired sample t test* yang menunjukkan terdapat perbedaan berat badan kelinci sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok K(-) dengan nilai $P < 0,007$ (berbeda secara signifikan).

Hal ini dapat disebabkan oleh kelinci yang merupakan hewan sensitif terhadap diet atherogenik yang menginduksi aterosklerosis, karena kelinci tidak dapat meningkatkan ekskresi sterol, sehingga meningkatkan mobilisasi kolesterol ester yang kaya lipoprotein dari hepar menuju sirkulasi (Kolodgie *et al.*, 1996).

Lemak dalam makanan terdiri atas trigliserida dan kolesterol. Selain kolesterol yang berasal dari makanan, di dalam usus juga terdapat kolesterol dari hati yang diekskresi bersama asam empedu ke usus halus. Lemak ini lah yang disebut lemak eksogen. Trigliserida dan kolesterol dalam usus halus akan diserap ke dalam enterosit mukosa usus halus dimana trigliserida akan diserap sebagai asam lemak bebas sementara kolesterol sebagai kolesterol. Asam lemak bebas di dalam usus halus akan diubah lagi menjadi trigliserida, sedangkan kolesterol akan mengalami esterifikasi menjadi kolesterol ester dan keduanya bersama dengan fosfolipid dan apolipoprotein akan membentuk lipoprotein yang dikenal dengan kilomikron (Longo, 2012; Sudoyo *et al.*, 2006)

Kilomikron akan masuk ke saluran limfe dan akhirnya melalui duktus torasikus akan masuk ke dalam aliran darah. Trigliserida dalam kilomikron akan mengalami hidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase yang berasal dari endotel menjadi asam lemak bebas (*free fatty acids*). Asam lemak bebas disimpan sebagai trigliserida kembali di jaringan perifer (adiposa dan otot) (Longo, 2012; Sudoyo *et al.*, 2006). Kilomikron yang sudah kehilangan sebagian besar trigliserida akan menjadi kilomikron remnant dan dibawa ke hati. Kilomikron remnant yang sekarang bentuknya lebih kecil diperkaya dengan kolesterol ester dan trigliserida yang tersisa bersatu dengan membran, dan disekresikan kembali ke dalam sirkulasi

sebagai *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) atau dieksresikan ke dalam empedu sebagai kolesterol (Longo, 2012).

Asupan karbohidrat, lemak, dan protein menyediakan energi yang dapat digunakan untuk menjalankan berbagai fungsi tubuh atau disimpan untuk penggunaan selanjutnya. Kestabilan berat badan dan komposisinya selama waktu yang lama membutuhkan keseimbangan masukan energi dan pengeluarannya. Dalam penelitian ini, kelompok K(-) diberikan diet aterogenik yang tinggi lemak dan kolesterol sehingga terjadi peningkatan berat badan yang lebih tinggi. Lemak disimpan terutama di adiposit pada jaringan subkutan dan pada rongga intraperitoneal, walaupun hati dan jaringan tubuh lainnya sering kali menimbun cukup lemak (Hall, 2016).

Berbeda dengan kelompok N dan K(-), berat badan kelinci pada kelompok P1, P2 dan P3 tidak mengalami perubahan yang signifikan dari berat badan sebelum dan sesudah perlakuan dengan nilai P secara berurutan adalah 0,149, 0,465 dan 0,090. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Ocimum sanctum* L. dapat mencegah kenaikan berat badan secara signifikan. Hal ini sejalan dengan penelitian Satapathy *et al.* (2017) terkait uji klinis ekstrak *Ocimum sanctum* L. terhadap pasien obesitas yang menunjukkan bahwa pemberian 250 mg ekstrak *Ocimum sanctum* L. sebanyak 2 kali sehari selama 8 minggu dapat memperbaiki profil lipid, dan IMT (Indeks Masa Tubuh) secara signifikan. Kandungan daun *Ocimum sanctum* L. yang diketahui berhubungan dengan penurunan berat badan kelinci yaitu antioksidan yang dapat menurunkan kadar kolesterol, trigliserida, LDL, dan meningkatkan HDL melalui mekanisme penghambatan *3-Hydroxy-3methylglutaryl Coenzyme A* (HMG-CoA) reduktase yang berperan sebagai katalis

dalam pembentukan kolesterol. Hal ini akan menyebabkan penurunan proses pembentukan kolesterol, trigliserida, dan VLDL serta meningkatkan HDL dan *total fecal sterol contents* secara signifikan sehingga menurunkan jumlah adiposa subkutan ataupun viseral dalam tubuh (Rachmawati *et al.*, 2019). Perbedaan hasil berat badan kelinci dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti kondisi fisiologis kelinci akibat jenuh mendapatkan diet aterogenik dan kondisi organoleptik kelinci.

5.2.2 Pengaruh *Ocimum sanctum* L. terhadap Luas *Fatty Streak* Kelinci Model Aterosklerosis

Kelinci merupakan hewan yang sensitif terhadap aterosklerosis yang diinduksi oleh diet kolesterol karena kelinci tidak dapat meningkatkan ekskresi sterol, sehingga meningkatkan mobilisasi kolesterol ester yang kaya lipoprotein dari hepar menuju sirkulasi. Kondisi ini selanjutnya dapat meningkatkan lipoprotein aterogenik dan terjadi penurunan reseptor lipoprotein, sehingga dapat menimbulkan lesi aterosklerosis (Kolodgie *et al.*, 1996).

Salah satu bahan pangan diet aterogenik adalah otak sapi (10 gram otak sapi mengandung 2.100 mg kolesterol) dan pelet Nova (min. 3% lemak) (Elnovreny, 2015), yang mana keduanya digunakan dalam penelitian ini dan terbukti dapat digunakan untuk menginduksi hewan model aterogenik pada aorta kelinci. Hal ini dibuktikan berdasarkan hasil pengamatan preparat mikroskopis yang menunjukkan bahwa rata-rata luas area *fatty streak* kelompok diet aterogenik K(-) adalah 5802,21 μm^2 yang hasilnya lebih tinggi daripada rata-rata luas *fatty streak* kelompok N, yaitu 2245,42 μm^2 . Hasil di atas sesuai dengan penelitian Fan *et al.* (2015) dan Samak *et al.* (2007) yang menyebutkan bahwa diet aterogenik berupa 0,3-2% kolesterol

ditambah 4-8% lemak selama 45 hari dapat menyebabkan hiperkolesterolemia dan pembentukan lesi aterosklerosis di aorta.

Terbentuknya *fatty streak* ini dapat disebabkan karena konsumsi kolesterol dan lemak yang tinggi sehingga dapat menimbulkan kondisi hiperkolesterolemia dan hiperlipidemia. Hiperkolesterolemia selanjutnya akan menyebabkan stres oksidatif metabolik melalui peningkatan profil lipid dan penurunan antioksidan endogen (Samak *et al.*, 2007). Hiperlipidemia dapat meningkatkan radikal bebas oksigen dan menginaktivasi NO (*Nitrat Oxyde*). Kondisi ini dapat menyebabkan fungsi endotel menjadi terganggu dan menimbulkan perubahan kimiawi lemak sehingga terjadi oksidasi LDL (Maramis *et al.*, 2014). Oksidasi LDL juga dapat memicu respon inflamasi dan merangsang sel vaskular untuk memproduksi MCP-1, IL-6, IL-8, VCAM-1, ICAM-1, dan E-selektin yang dapat merekrut monosit ke dalam tunika intima, serta menyebabkan adhesi monosit dan limfosit T. Monosit kemudian akan berubah menjadi makrofag akibat adanya M-CSF yang disekresi sel endotel dan sel otot polos. *Low density lipoprotein* yang sudah teroksidasi secara sempurna kemudian akan berikatan dengan *scavenger receptor* makrofag sehingga jika terjadi terus menerus maka makrofag dapat akan berubah menjadi sel busa. Akumulasi sel busa bersama monosit lipid laden dan limfosit T selanjutnya akan membentuk *fatty streak* (Maramis *et al.*, 2014; Ross, 1999).

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun lampes tidak dapat menurunkan luas *fatty streak* pada aorta kelinci yang diamati secara histopatologi. Dalam hasil penelitian ini, perbedaan antar kelompok tidak signifikan secara statistik serta memiliki standar deviasi yang cukup tinggi. Terdapat beberapa faktor yang dapat memengaruhi hasil ini, diantaranya adalah kelemahan dari perawatan

dan pemberian perlakuan kepada kelinci, (2) kisaran dosis ekstrak daun lampes yang diberikan; (3) durasi waktu pemberian perlakuan ekstrak. Pembuatan hewan model kelinci aterosklerosis memerlukan teknik khusus dan higienitas yang tinggi, dimana pada saat penelitian ini terdapat beberapa kendala seperti pakan otak sapi yang tidak dapat masuk ke dalam mulut kelinci secara sempurna karena sulitnya melakukan sonde kepada kelinci, serta perbedaan jumlah pelet Nova yang dimakan oleh setiap kelinci. Jumlah konsumsi pakan kelinci sangat tergantung pada ukuran tubuh, sifat genetik (*breed*), suhu lingkungan, tingkat produksi, perkandangan, kualitas dan kuantitas pakan serta penyakit (Wahyu, 1985).

Selama penelitian, didapatkan beberapa kelinci yang mengalami sakit skabies sehingga nafsu makannya berkurang dan berpengaruh terhadap konsumsi diet atherogenik yang diberikan. Walaupun tidak bermakna secara statistik, namun jelas terlihat terdapat tren penurunan luas *fatty streak* dengan pemberian dosis. Penelitian Khanna *et al.* (2010) menggunakan variasi dosis yang lebih besar memang menghasilkan hasil yang lebih baik dilihat dari parameter trigliserida dan kolesterol total. Konsumsi obat perlu dieksplorasi lebih lanjut sampai mencapai dosis *steady state*, dimana hal ini dilakukan dengan memperlebar rentang dosis (Brunton *et al.*, 2006).

Dosis ekstrak yang diberikan pada penelitian ini juga kemungkinan mengalami beberapa proses selama administrasi, absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresinya. Administrasi dilakukan secara per oral menggunakan kapsul dimana kelinci mengunyah kapsulnya yang dapat menyebabkan jumlah ekstrak menjadi berkurang, serta kebiasaan kelinci yang sering memuntahkan sebagian kapsulnya. Ekstrak daun lampes selama proses distribusi kemungkinan tidak

diabsorpsi secara sempurna karena pemberian kapsul daun lampes diberikan hanya 30 menit setelah pemberian otak sapi, dimana menurut Noviani dan Nurilawati (2017) keberadaan makanan dalam lambung akan memperlambat waktu pengosongannya sehingga obat menjadi sulit untuk diabsorpsi. Menurut Singh *et al.* (2007), efek anti-inflamasi dari *Ocimum sanctum* L. dapat lebih cepat dicapai jika diberikan secara intraperitoneal karena tidak dipengaruhi oleh efek pengosongan lambung, *presystemic gastrointestinal* ataupun metabolisme pada usus. Namun belum ada data mengenai metabolisme serta ekskresi dari lampes ini sehingga bisa jadi dua faktor tersebut mengurangi kadar senyawa aktif dari lampes sehingga efek yang diberikan juga tidak optimal.

Mekanisme kerja obat dapat berlangsung secara cepat ataupun lambat, tergantung dari target kerjanya yang dibagi menjadi genomik dan metabolik. Salah satu mekanisme kerja daun lampes yang diketahui adalah anti inflamasi, dimana proses ini termasuk ke dalam target kerja metabolik sehingga membutuhkan proses yang lama untuk dapat memberikan hasil. Di samping itu, proses aterosklerosis merupakan proses yang berlangsung secara kronis dan melibatkan interaksi banyak sel sehingga hasil penelitian yang tidak signifikan dapat disebabkan durasi pemberian ekstrak daun lampes yang terlalu pendek (Paul *et al.*, 2012; Radji, 2005).

Ekstrak etanolik daun lampes memiliki kecenderungan untuk menurunkan luas *fatty streak* aorta kelinci sesuai penambahan dosis (10, 25 dan 50 mg/kgBB). Hasil ini sejalan dengan penelitian Samak *et al.* (2007) yang menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan, luas *fatty streak* menjadi semakin berkurang. Mekanisme daun lampes dapat menyebabkan penurunan *fatty streak* adalah berdasar pada kemampuannya menurunkan kadar lipid darah, liver dan aorta. Daun

lampes juga diketahui dapat meningkatkan ekskresi sterol fekal dan menghambat biosintesis kolesterol (Sarkar *et al.*, 1994). Efek farmakologis daun lampes utamanya disebabkan kandungan antioksidan yang ada di dalamnya. Terdapat tiga golongan antioksidan pada ekstrak daun *Ocimum sanctum* L., yaitu asam fenolik, flavonoid, dan tanin. Adapun komponen utama antioksidan pada daun *Ocimum sanctum* L. adalah minyak atsiri yang mengandung *eugenol* (70,5%) (Aytul, 2010; Basith, 2012).

Senyawa tersebut merupakan antioksidan kardioprotektif dan dapat mencegah proses aterosklerosis melalui inhibisi oksidasi LDL yang berperan penting dalam proses aterosklerosis (Fuhrman *et al.*, 2000). Selain melalui inhibisi oksidasi LDL, antioksidan tersebut diketahui dapat menghambat proliferasi sel otot polos, migrasi makrofag, dan dapat berperan sebagai antiinflamasi (Mojzisova dan Kuchta, 2001). Penelitian Sarkar *et al.* (1994) menunjukkan bahwa pemberian daun lampes dapat menurunkan serum profil lipid pada kelinci *new zealand white* normal. Penelitian Suanarunsawat dan Songsak (2005) juga menunjukkan bahwa pemberian serbuk daun lampes dapat menekan kenaikan serum profil lipid pada tikus diabetes. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kandungan minyak atsiri pada daun lampes.

Penelitian Suanarunsawat *et al.* (2011) menunjukkan bahwa hewan coba tikus yang diberikan diet tinggi kolesterol tanpa terapi *Ocimum sanctum* L. dapat menyebabkan degenerasi multifokal, nekrosis, dan disorientasi sel otot polos pada jaringan aorta. Hasil ini berbanding terbalik dengan kelompok yang diberikan terapi ekstrak *Ocimum sanctum*, dimana menunjukkan tidak terdapat lesi pada jaringan aorta. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa beberapa tanaman obat memiliki

kemampuan untuk menurunkan lipid serta memiliki aktivitas antioksidatif yang dapat menurunkan produksi lipid peroksida sehingga mampu mencegah terjadinya aterosklerosis dan melindungi organ yang berisiko dari hiperlipidemia (Panda dan Naik, 2009).

Hasil penelitian Suanarunsawat *et al.* (2011) membuktikan bahwa ekstrak *Ocimum sanctum* tidak hanya menurunkan lipid serum dan hepar, namun dapat menurunkan serum AST, ALT, LDH dan CK-MB. Selain itu, terjadi penekanan pada peroksidasi lipid, dimana aktivitas enzim antioksidan meningkat di jaringan hepar dan jantung pada tikus yang diberikan ekstrak *Ocimum sanctum*. Penelitian ini sejalan dengan berbagai penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, dimana ekstrak *Ocimum sanctum* L. dapat menghambat pembentukan *fatty streak* sesuai dengan dosis yang diberikan.

5.3 Integrasi Islam

Penyakit jantung koroner atau disebut juga dengan penyakit arteri koroner merupakan penyakit yang utamanya disebabkan oleh penyempitan arteri koronaria sebagai akibat dari proses aterosklerosis atau spasme arteri, maupun keduanya (Yuliani *et al.*, 2014). Faktor risiko terjadinya PJK adalah tingkat *low density lipoprotein* (LDL) yang tinggi, rendahnya *high density lipoprotein* (HDL), merokok, hipertensi, dan diabetes melitus (Loscalzo, 2010). Seseorang dapat memiliki kadar LDL yang tinggi ataupun terkena penyakit diabetes melitus dan hipertensi jika mempunyai pola hidup yang salah dan berlebihan. Kadar LDL yang tinggi dapat diakibatkan tingginya konsumsi makanan berlemak, penyakit diabetes melitus dapat disebabkan makan atau minum gula yang berlebihan dan hipertensi dapat disebabkan oleh mengonsumsi makanan asin secara berlebihan. Terkait dengan hal tersebut, Allah swt. telah melarang umat manusia untuk tidak berlebihan, sesuai dengan Q.S. Al-A'raf ayat 31 sebagai berikut :

﴿يٰۤاٰدَمُ خُذْ وَاٰدَمَ زِيْنَتَكَمۡ عِنۡدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوْا وَاشْرَبُوْا وَلَا تُسْرِفُوْا اِنَّهٗ لَا يُحِبُّ
الْمُسْرِفِيْنَ ۝۳۱﴾ (الأعراف: ٣١)

Artinya : “Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) mesjid, makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.” (Q.S. Al-A'raf (7):31) (Departemen Agama RI, 2005).

Ayat di atas sejalan dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa kelompok N yang tidak diberi diet tinggi lemak dan kolesterol memiliki rerata luas *fatty streak* paling rendah (2245,42 μm^2), sedangkan kelompok K(-) yang diberi diet

lemak dan kolesterol secara berlebihan memiliki rerata luas *fatty streak* paling tinggi (5802,21 μm^2). Oleh karena itu seseorang dengan pola hidup yang berlebihan, khususnya dalam hal mengonsumsi makanan tinggi lemak dan kolesterol memiliki risiko yang sangat tinggi terkena PJK di masa depan.

Penyakit jantung koroner termasuk ke dalam salah satu penyakit degeneratif yang mana risiko penyakit ini akan meningkat sejalan dengan peningkatan umur (Baras, 1994). Terkait dengan penyakit degeneratif, Allah swt. telah berfirman dalam Q.S. Ar-Ruum ayat 54 sebagai berikut:

﴿اللَّهُ الَّذِي خَلَقَكُمْ مِنْ ضَعْفٍ ثُمَّ جَعَلَ مِنْ بَعْدِ ضَعْفٍ قُوَّةً ثُمَّ جَعَلَ مِنْ بَعْدِ قُوَّةٍ ضَعْفًا وَشَيْبَةً يَخْلُقُ مَا يَشَاءُ وَهُوَ الْعَلِيمُ الْقَدِيرُ﴾ (الروم: ٥٤)

Artinya: “Allah, Dialah yang menciptakan kamu dari keadaan lemah, kemudian Dia menjadikan (kamu) sesudah Keadaan lemah itu menjadi kuat, kemudian Dia menjadikan (kamu) sesudah kuat itu lemah (kembali) dan beruban. Dia menciptakan apa yang dikehendaki-Nya dan Dialah yang Maha mengetahui lagi Maha Kuasa.” (Q.S. Ar-Ruum (30):54) (Departemen Agama RI, 2005).

Titik terlemah pada ayat di atas dapat diartikan sebagai jatuhnya seseorang ke dalam penyakit-penyakit degeneratif. Penyakit degeneratif merupakan suatu proses alamiah, namun terdapat beberapa faktor risiko yang dapat dimodifikasi seperti pengaturan pola konsumsi dan jenis makanan yang halal dan baik. Makanan yang baik bermakna pola konsumsinya sesuai dengan kebutuhan tubuh dan tidak berlebihan (Hardisman, 2010). Selain dengan pola konsumsi yang tidak berlebihan,

untuk mencegah terjadinya PJK dapat dilakukan pengobatan yang baik dan halal, sesuai dengan hadis nabi sebagai berikut:

إِنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ الدَّاءَ وَالِدَوَاءَ وَجَعَلَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءً فَتَدَاوَوْا وَلَا تَدَاوَوْا بِحَرَامٍ

Artinya: “*Sesungguhnya Allah telah menurunkan penyakit dan obatnya, demikian pula Allah menjadikan bagi setiap penyakit ada obatnya. Maka berobatlah kalian dan janganlah berobat dengan yang haram.*”

(H.R. Abu Dawud) (Syabir, 2005).

Hadis di atas menganjurkan manusia untuk melakukan pengobatan, karena Allah swt. telah menurunkan penyakit beserta obatnya. Namun pengobatan yang dilakukan tidak boleh dengan sesuatu yang haram, melainkan harus dengan sesuatu yang halal. Salah satu pengobatan yang halal dilakukan yaitu dengan menggunakan obat herbal, seperti ekstrak daun lampes. Daun yang dimiliki tanaman lampes merupakan daun tunggal, berwarna hijau, berbentuk bulat dengan ujung runcing atau tumpul. Tepi dari daun lampes ini bergerigi dengan tulang daun menyirip, lebar 0,5-2,75 cm, dan panjang 0,75-7,5 cm serta terdapat rambut halus di kedua permukaannya (Sudiati, 2013). Salah satu karakteristik daun lampes yaitu berwarna hijau, dimana tanaman yang berwarna hijau telah disebutkan Allah swt. dalam Q.S. Al-An'am ayat 99 sebagai berikut:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي

ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ۝ (الأنعام: ٩٩)

Artinya: "Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman." (Q.S. Al-An'am (6):99) (Departemen Agama RI, 2005).

Berdasarkan ayat di atas, Allah swt. telah menumbuhkan tanaman-tanaman yang menghijau dimana menurut tafsir Ibn Katsir, kata hijau ini berarti tanaman dan pepohonan yang hijau. Allah swt. tentu memberikan banyak hikmah dan manfaat dari tanaman yang berwarna hijau, salah satunya yaitu tanaman lampes yang ekstrak daunnya sudah dibuktikan dalam penelitian ini mampu mencegah peningkatan luas area *fatty streak*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa P1 dengan dosis 10 mg/kgBB ekstrak daun lampes memiliki rerata luas *fatty streak* sebesar 5154,69 μm^2 , P2 memiliki rerata luas *fatty streak* sebesar 4938,31 μm^2 dan P3 memiliki rerata luas *fatty streak* sebesar 3611,68 μm^2 . Berdasarkan data tersebut, pemberian ekstrak daun lampes dapat menghambat peningkatan *fatty streak* sesuai dengan dosis yang diberikan, walaupun secara statistik tidak signifikan.

Dalam penelitian ini, daun lampes dimanfaatkan melalui prosedur ekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) selama 3 x 2 menit dan panjang gelombang 20 – 2000 Hz. Tahap selanjutnya

dilakukan evaporasi untuk memisahkan pelarut etanol dengan ekstrak menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 45,4⁰C sebelum dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40⁰C hingga terbentuk ekstrak yang padat. Hasil ekstraksi selanjutnya dimasukkan ke dalam kapsul, sehingga akan memudahkan masyarakat untuk mengonsumsinya dan dapat menjadi solusi bagi orang yang tidak menyukai dedaunan atau lalapan.

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi kemajuan Islam, karena Islam harus maju dalam segala hal termasuk bidang kedokteran dan kesehatan. Penelitian ini dapat dijadikan dasar untuk penelitian selanjutnya sehingga diharapkan akan menghasilkan suatu produk berupa obat herbal yang sudah terstandarisasi dan dapat dikonsumsi oleh masyarakat, khususnya umat muslim. Dengan mengonsumsi ekstrak daun lampes, diharapkan umat muslim menjadi lebih sehat dan terhindar dari penyakit degeneratif seperti penyakit jantung koroner sehingga ketika umat islam menjadi sehat dan kuat, maka agama Islam pun akan menjadi lebih kuat dan generasi selanjutnya akan semakin kuat. Dengan adanya penelitian ini, menunjukkan bahwa umat muslim tidak hanya berurusan dengan agama saja, namun umat muslim juga dapat unggul di bidang lain seperti ilmu kedokteran dan kesehatan dapat memberikan manfaat bagi manusia.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Setelah dilakukan penelitian terkait pengaruh ekstrak etanolik daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) terhadap luas *fatty streak* kelinci model aterosklerosis, penulis dapat menyimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanolik daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) dapat menurunkan rata-rata luas *fatty streak* dibandingkan kelompok kontrol (-), namun tidak signifikan secara statistik. Rata-rata penurunan luas *fatty streak* kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol (-) adalah sebesar 11,16% untuk P1, 14,89% untuk P2, dan 37,75% untuk P3.

6.2 Saran

Adapun saran dari penulis agar penelitian ini dapat dikembangkan menjadi lebih baik lagi adalah sebagai berikut:

1. Perlu adanya perawatan kebersihan dan kesehatan kelinci yang lebih baik agar tidak banyak kelinci yang mati.
2. Dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan variasi dosis yang lebih besar.
3. Dapat dilakukan uji toksisitas ekstrak daun lampes terhadap hewan coba kelinci.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait potensi dari tanaman lampes sebagai pengobatan yang bersifat kuratif.

DAFTAR PUSTAKA

- Aziz, M., Yadav, K. 2016. Pathogenesis of Atherosclerosis A review. *IMedPub J.* 2, 1–6.
- Balanehru, S., Nagarajan, B. 1991. Protective Effect of Oleanolic Acid and Ursolic Acid Against Lipid Peroxidation. *Biochem Int.* 24, 981–990.
- Baras, F., 1994. *Mencegah Serangan Jantung dengan Menekan Kolesterol.* Gramedia, Jakarta.
- Basith, M.A., 2012. *Efek Nefroprotektor Ekstrak Daun Kemangi (Ocimum sanctum L.) terhadap Kerusakan Sel Ginjal Mencit (Mus musculus) yang Diinduksi Parasetamol.* Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Brahmantiyo, B., Raharjo, Y.C., Prasetyo, L.H., 2018. Production Performance of HyCole, New Zealand White Rabbits and Its Reciprocal. *J. Ilmu Ternak Dan Vet.* 22, 16.
- Brown, M., Goldstein, J. 2004. A Tribute to Akira Endo, Discoverer of a “Penicillin” for Cholesterol. *Atheroscler Suppl.* 5, 3–16.
- Brunton, L.L., Lazo, J.S., Parker, K.L., 2006. *Goodman Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics 11th ed.* Mc-Graw Hill, New York.
- Bui, Q.T., Prempeh, M., Wilensky, R.L. 2009. Atherosclerotic Plaque Development. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 41, 2109–2113.
- Chairsabella, M., 2016. *Perbandingan Ketebalan Intima Media Arteri Karotis antara Pasien Hipertensi dengan Diabetes Mellitus dan Tanpa Diabetes Mellitus.* Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Cheeke, P., 1986. Potentials of Rabbit Production in Tropical and Subtropical Agricultural Systems. *J Anim Sci.* 63, 1581–1586.
- Departemen Agama RI, 2005. *Alquran dan Terjemahannya.* CV. Penerbit Jumanatul Ali, Bandung.
- Diastutik, D. 2016. Proporsi Karakteristik Penyakit Jantung Koroner Pada Perokok Aktif Berdasarkan Karakteristik Merokok. *J. Berk. Epidemiol.* 4, 326–337.
- Elnovreny, J., 2015. *Analisis Perbedaan Komposisi Asam Lemak.* Tesis. Tidak Diterbitkan, Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara, Medan.

- Fan, J., Kitajima, S., Watanabe, T., Xu, J., Zhang, J., Liu, E., *et al.* 2015. Rabbit Models for The Study of Human Atherosclerosis: From Pathophysiological Mechanisms to Translational Medicine. *Pharmacol. Ther.* 146, 104–119.
- Fuhrman, B., Rosenblat, M., Hayek, T., Coleman, R., Aviram, M., 2000. Ginger Extract Consumption Reduces Plasma Cholesterol, Inhibits LDL Oxidation and Attenuates Development of Atherosclerosis in Atherosclerosis Apolipoprotein E-Deficient Mice. *J. Nutr.* 130, 1124–1231.
- Getz, G., Reardon, C. 2012. Animal Models of Atherosclerosis. *Arter. Thromb Vasc Biol.* 32, 1104–1115.
- Gholap, S., Kar, A. 2004. Hypoglycemic Effects of Some Plant Extracts are Possibly Mediated Through Inhibition in Corticosteroid Concentration. *Pharmazie.* 59, 876–878.
- Hadipoentyanti, E., Wahyuni, S. 2008. Keragaman Selasih (*Ocimum Spp.*) berdasarkan Karakter Morfologi Produksi dan Mutu Herba. *J. Littri.* 14, 141–148.
- Hall, J.E., 2016. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, 13th edition.* Elsevier, Philadelphia.
- Hakkim, F.L., Shankar, C.G., Girija, S. 2007. Chemical Composition and Antioxidant Property of Holy Basil (*Ocimum sanctum* L.) Leaves, Stems, and Inflorescence and Their in Vitro Callus Cultures. *J. Agric. Food Chem.* 55, 9109–9117.
- Hansson, G., Seifert, P., Olsson, G., Bondjers, G. 1991. Immunohistochemical Detection of Macrophages and T Lymphocytes in Atherosclerotic Lesions of Cholesterol-Fed Rabbits. *Arter. Thromb.* 11, 745–750.
- Hansson, G.K. 2005. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *N. Engl. J. Med.* 352, 1685–1695.
- Hardisman, 2010. Pencegahan Penyakit Degeneratif dan Pengaturan Makanan dalam Kajian Kedokteran dan Al-Quran. *Maj. Kedokt. Andalas.* 34, 39–50.
- Hartadi, H., Reksohadiprodjo, S., Tillman, A.D., 2005. *Tabel Komposisi Pakan untuk Indonesia.* Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ibnu Katsir, A.F.I. 2002. *Tafsir Ibnu Katsir.* Sinar Baru Al-Gesindo, Bandung.
- Ismawati, I., Oenzil, F., Yanwirasti, Y., Yerizel, E. 2017. Analisis Konsentrasi Low Density Lipoprotein Teroksidasi Serum pada Tahapan Aterosklerosis. *J. Kedokt. Brawijaya.* 29, 348–352.

- Joewono, B., Prabowo, P. 2003. *Ilmu Penyakit Jantung*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Kemenkes RI. 2014. *Info Datin Situasi Kesehatan Jantung*. Kemenkes RI, Jakarta Selatan.
- Khanna, N., Arora, D., Halder, S., Mehta, A.K., Garg, G.R., Sharma, S.B., *et al.*, 2010. Comparative Effect of *Ocimum sanctum*, *Commiphora mukul*, Folic Acid and Ramipril on Lipid Peroxidation in Experimentally-Induced Hyperlipidemia. *Indian J. Exp. Biol.* 48, 299–305.
- Kolodgie, F.D., Katocs, A.S., Largis, E.E., Wrenn, S.M., Cornhill, J.F., Herderick, E.E., *et al.*, 1996. Hypercholesterolemia in the Rabbit Induced by Feeding Graded Amounts of Low-Level Cholesterol: Methodological Considerations Regarding Individual Variability in Response to Dietary Cholesterol and Development of Lesion Type. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 16, 1454–1464.
- Kumala Sari, L.O.R. 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. *Maj. Ilmu Kefarmasian.* 3, 01–07.
- Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C., Perkins, J.A. (Eds.), 2018. *Robbins Basic Pathology, Tenth edition*. Elsevier, Philadelphia, Pennsylvania.
- Kurniawati, R., 2017. *Pengaruh Perbedaan Sumber Energi Pakan (Jagung dan Pollard) terhadap Respon Fisiologis Kelinci New Zealand White Betina*. Skripsi. Tidak Diterbitkan, Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang.
- Li, X., Catalina, F., Grundy, S., Patel, S. 1996. Method to Measure Apolipoprotein B-48 and B-100 Secretion Rates in an Individual Mouse: Evidence for A Very Rapid Turnover of VLDL and Preferential Removal of B-48- relative to B-100-Containing Lipoproteins. *J Lipid Res.* 37, 210–220.
- Lintong, P.M., 2009. Perkembangan Konsep Patogenesis Aterosklerosis. *J. Biomedik.* 1, 12–22.
- Longo, D.L. 2012. *Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th ed.* McGraw-Hill, New York.
- Loscalzo, J. 2010. *Harrison's Cardiovascular Medicine*. Mc-Graw Hill, New York.
- Maiolino, G., Rossitto, G., Caielli, P., Bisogni, V., Rossi, G.P., Calò, L.A. 2013. The Role of Oxidized Low-Density Lipoproteins in Atherosclerosis: The Myths and the Facts. *Mediators Inflamm.* 1–13.

- Manikandan, P., Vidjaya, L.P., Prathiba, D., Nagini, S. 2008. Combinatorial Chemopreventive Effect of *Azadirachta Indica* and *Ocimum Sanctum* on Oxidant-Antioxidant status, Cell Proliferation, Apoptosis and Angiogenesis in a Rat Forestomach Carcinogenesis Model. *Singapore Med J.* 49, 814–822.
- Maramis, R., Kaseke, M., Tanudjadja, G., 2014. Gambaran Histologi Aorta Tikus Wistar dengan Diet Lemak Babi setelah Pemberian Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*). *J. E-Biomedik.* 2, 431–435.
- Mendis, S., Puska, P., Norrving, B., World Health Organization, World Heart Federation, World Stroke Organization. 2011. *Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control*. World Health Organization in collaboration with the World Heart Federation and the World Stroke Organization, Geneva.
- Mendis, S., World Health Organization. 2014. Global Status Report on Non-Communicable Diseases 2014.
- Moghadasian, M. 2002. Experimental Atherosclerosis: a Historical Overview. *Life Sci.* 70, 855–865.
- Mojzisova, G., Kuchta, M., 2001. Dietary Flavonoids and Risk of Coronary Heart Disease. *Physiol Res.* 50, 529–535.
- Monokesh, K.S., Mamun, O.-R., Moshiul, A., Biplab, K.D., Fatema Binti Hafiz. 2013. Ethnomedicobotanical Study on *Ocimum sanctum* L. (Tulsi) - A Review. *Mintage J. Pharm. Med. Sci.* 2, 37–42.
- Moore, K.J., Tabas, I. 2011. Macrophages in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Cell.* 145, 341–355.
- Noviani, N., Nurilawati, V., 2017. *Bahan Ajar Keperawatan Gigi Farmakologi*. Kemenkes RI, Jakarta.
- Panda, V.S., Naik, S.R., 2009. Evaluation of Cardioprotective Activity of *Ginkgo biloba* and *Ocimum sanctum* in Rodents. *Altern. Med. Rev.* 14, 161–171.
- Pattanayak, P., Behera, P., Das, D., Panda, S. 2010. *Ocimum sanctum* Linn. A Reservoir Plant for Therapeutic Applications: An Overview. *Pharmacogn. Rev.* 4, 95.
- Paul, W.N., Boros, G. L., Go, V.L. 2012. Metabolic Pathways as Targets for Drug Screening. *Metabolomics. InTech.* 195-210.
- PERKI. 2018. *Pedoman Tatalaksana Sindrom Koroner Akut, 4th ed.* Centra Communication, Jakarta.

- PERKI. 2013. *Pedoman Tatalaksana Dislipidemia, 1st ed.* Centra Communication, Jakarta.
- Porwal, V., Khandelwal, S., Jain, D., Gupta, S. 2016. Histological Classification of Atherosclerosis and Correlation with Ischemic Heart Disease: A Autopsy Based Study. *Pac. Group E-J.* 3, 100–104.
- Prabawati, S.Y., Agustina, A.F. 2015. Pemanfaatan Bahan Alami Eugenol sebagai Zat Antioksidan. *Kaunia.* 11, 11–18.
- Prakash, P., Gupta, N. 2005. Therapeutic Uses of *Ocimum sanctum* Linn (Tulsi) with a Note on Eugenol and Its Pharmacological Actions: A Short Review. *Indian J Physiol Pharmacol.* 49, 125–131.
- Rachmawati, N.A., Wasita, B., Kartikasari, L.R. 2019. Basil Leaves (*Ocimum sanctum* Linn.) Extract Decreases Total Cholesterol Levels in Hypercholesterolemia Sprague Dawley Rats Model. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 546, 1-6.
- Radji, M., 2005. Pendekatan Farmakogenomik dalam Pengembangan Obat Baru. *Maj. Ilmu Kefarmasian.* 2, 1–11.
- Rohman, A., Sugeng, R. 2005. Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) secara In Vitro. *Maj. Farm. Indones.* 16, 136–140.
- Ross, R. 1999. Atherosclerosis - An Inflammatory Disease. *N. Engl. J. Med.* 340, 115–126.
- Rudijanto, A. 2007. The Role of Vascular Smooth Muscle Cells on The Pathogenesis of Atherosclerosis. *Acta Med Indones-Indones J Intern Med.* 39, 86–93.
- Saifudin, A., Rahayu, Teruna. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam.* Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Samak, G., Kedlaya, R., Rao, M., Vasudevan, D. 2007. Hypolipidemic Efficacy of *Ocimum sanctum* in the Prevention of Atherogenesis in Male Albino Rabbits. *Pharmacologyonline.* 2, 115–117.
- Sargowo, D. 2015. *Patogenesis Aterosklerosis.* UB Press, Malang.
- Sarkar, A., Lavania, S., Pandey, D., Pant, M., 1994. Changes in The Blood Lipid Profile after Administration of *Ocimum sanctum* (Tulsi) Leaves in The Normal Albino Rabbits. *Indian J Physiol Pharmacol.* 38, 311–312.
- Sarwono, B. 2003. *Kelinci Potong dan Hias.* Agromedia Pustaka, Jakarta.

- Satyamitra, M., Mantena, S., Nair, C., Chandna, S., Dwarakanath, B., Uma Devi, P. 2014. The Antioxidant Flavonoids, Orientin and Vicenin Enhance Repair of Radiation-Induced Damage. *Sch. J. Pharm. Pharmacol.* 1, 1-9.
- Satapathy, S., Das, N., Bandyopadhyay, D., Mahapatra, S.C., Sahu, D.S., Meda, M. 2017. Effect of Tulsi (*Ocimum sanctum* Linn.) Supplementation on Metabolic Parameters and Liver Enzymes in Young Overweight and Obese Subjects. *Indian J. Clin. Biochem.* 32, 357–363.
- Shasany, A.K. 2016. The Holy Basil (*Ocimum sanctum* L.) and its Genome. *Indian J. Hist. Sci.* 51, 343–350.
- Singh, D., Chaudhuri, P.K. 2018. A Review on Phytochemical and Pharmacological Properties of Holy Basil (*Ocimum sanctum* L.). *Ind. Crops Prod.* 118, 367–382.
- Singh, N., Verma, P., Pandey, B., Bhalla, M. 2012. Therapeutic Potential of *Ocimum sanctum* in Prevention and Treatment of Cancer and Exposure to Radiation: An Overview. *Int. J. Pharmaceutical Sci. Drug Res.* 4, 97–104.
- Singh, R., Mengi, S., Xu, Y.-J., Arneja, A., Dhalla, N. 2002. Pathogenesis of Atherosclerosis: A Multifactorial Process. *Exp Clin Cardiol.* 7, 40–53.
- Singh, S., Taneja, M., Majumdar, D.K. 2007. Biological Activities of *Ocimum sanctum* L. Fixed Oil - An Overview. *Indian J. Exp. Biol.* 45, 403–412.
- Stry, H.C. 2000. Natural History and Histological Classification of Atherosclerotic Lesions: An Update. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20, 1177–1178.
- Stry, H.C., Chandler, A.B., Glagov, S., Guyton, J.R., Insull, W., Rosenfeld, M.E., et al. 1994. A Definition of Initial, Fatty Streak, and Intermediate Lesions of Atherosclerosis. A Report From the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler. Thromb. J. Vasc. Biol.* 14, 840–856.
- Steinberg, D., 2004. Thematic Review Series: The Pathogenesis of Atherosclerosis. An Interpretive History of The Ccholesterol Controversy: Part I. *J. Lipid Res.* 45, 1583–1593.
- Suanarunsawat, T., Devakul Na Ayutthaya, W., Songsak, T., Thirawarapan, S., Pongshompoo, S. 2011. Lipid-Lowering and Antioxidative Activities of Aqueous Extracts of *Ocimum sanctum* L. Leaves in Rats Fed with a High-Cholesterol Diet. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 1–9.
- Suanarunsawat, T., Songsak, T. 2005. Anti-Hyperglycaemic and Anti-Deplipidaemic Effect of Dietary Supplement of White *Ocimum sanctum* Linn. Before and After STZ-induced Diabetes Mellitus. *Int J Diabetes Metab.* 13, 18–23.

- Sudarsono, Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I., Purnomo. 2002. *Tumbuhan Obat II (Hasil Penelitian, Sifat-Sifat, dan Penggunaannya)*. Pusat Studi Obat Tradisional Gadjah Mada, Jakarta.
- Sudiati, L. 2013. *Uji Aktivitas Antibakteri Kultur Kalus Daun Lampes (Ocimum sanctum L.) dengan Bakteri Uji E. Coli dan Staphylococcus aureus Melalui Metode Bioautografi*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sudoyo, A., Setiyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M., Setiati, S. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam* ed. 4. Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK UI, Jakarta.
- Sugiyono. 2010. *Statistik untuk Pendidikan*. Alfabeta, Bandung.
- Syabir, M.U. 2005. *Pengobatan Alternatif dalam Islam*. Grafindo, Jakarta.
- Syadza, M.N., Isnawati, M. 2014. Pengaruh Pemberian Jus Pare (*Momordica charantia* L.) dan Jus Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Peningkatan Kadar Kolesterol HDL (High Density Lipoprotein) Tikus Sprague Dawley Dislipidemia. *J. Nutr. Coll.* 3, 893-902.
- Takahashi, S., Ito, T., Zenimaru, Y., Suzuki, J., Miyamori, I., Takahashi, Masao, Takahashi, Masafumi, Ishida, Takafumi, Ishida, Tatsuro, Hirata, K., Yamamoto, T.T., Iwasaki, T., Hattori, H., Shiomi, M. 2011. Species Differences of Macrophage Very Low-Density-Lipoprotein (VLDL) Receptor Protein Expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 407, 656–662.
- Tanto, C., Liwang, F., Hanifati, S., Pradipta, E.A. 2014. *Kapita Selekta Kedokteran Jilid II, 4th ed.* Media Aesculapius, Jakarta.
- Tuttolomondo, A., Di Raimondo, D., Pecoraro, R., Arnao, V., Pinto, A., Licata, G. 2012. Atherosclerosis as an Inflammatory Disease. *Curr. Pharm. Des.* 18, 4266–4288.
- Uma Devi, P. 2001. Radioprotective, Anticarcinogenic and Antioxidant Properties of The Indian Holy Basil, *Ocimum sanctum* (Tulasi). *Indian J. Exp. Biol.* 39, 185–190.
- Wahyu, I. 1985. *Ilmu Nutrisi Unggas*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Watanabe, T., Hirata, M., Yoshikawa, Y., Nagafuchi, Y., Toyoshima, H. 1985. Role of Macrophages in Atherosclerosis. Sequential Observations of Cholesterol-Induced Rabbit Aortic Lesion by the Immunoperoxidase Technique Using Monoclonal Antimacrophage Antibody. *Lab Invest.* 53, 80–90.

Wilkinson. 2006. *Buku Saku Diagnosis Keperawatan Dengan Intervensi NIC dan Kriteria hasil NOC, 7th ed.* EGC, Jakarta.

World Health Organization (Ed.). 2013. *WHO Traditional Medicine Strategy. 2014-2023.* World Health Organization, Geneva.

Yuliani, F., Oenzil, F., Iryani, D. 2014. Hubungan Berbagai Faktor Risiko Terhadap Kejadian Penyakit Jantung Koroner Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *J. Kesehat. Andalas.* 3, 38.

Yunus, M. 2010. *Kamus Arab-Indonesia.* Mahmud Yunus wa Dzurriyatuhu, Jakarta.

Zuraida, Z., Sulistiyani, S., Sajuthi, D., Suparto, I.H. 2017. Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris R.Br*). *J. Penelit. Has. Hutan.* 35, 211–219.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data *Fatty Streak*

NO.	KELOMPOK	AREA (um ²)
1.	K1	1560,6
2.	K2	3243,56
3.	K3	1214,48
4.	K4	2963,03
5.	S1	1405,25
6.	S2	4235,57
7.	S3	9586,32
8.	S5	7981,72
9.	P1B	10220,5
10.	P1C	1912,12
11.	P1D	2013,67
12.	P1E	6472,47
13.	P2A	3611,68
14.	P2B	839,47
15.	P2D	9597,06
16.	P2E	5705,03
17.	P3A	2804,62
18.	P3B	1438,54
19.	P3C	604,98
20.	P3E	9598,58

Lampiran 2. Data Berat Badan

NO.	KELOMPOK	BB-PRE	BB-POST
1.	K1	1700,00	1800,00
2.	K2	1960,00	2100,00
3.	K3	3200,00	3300,00
4.	K4	2650,00	2800,00
5.	S1	2425,00	2850,00
6.	S2	2310,00	2800,00
7.	S3	2660,00	2900,00
8.	S5	2180,00	2500,00
9.	P1B	2707,00	2950,00
10.	P1C	2640,00	2700,00
11.	P1D	1930,00	2300,00
12.	P1E	2408,00	2400,00
13.	P2A	1750,00	2000,00
14.	P2B	1844,00	2100,00
15.	P2D	2950,00	2600,00
16.	P2E	2550,00	2950,00
17.	P3A	2083,00	2400,00
18.	P3B	2162,00	2500,00
19.	P3C	2550,00	2900,00
20.	P3E	2650,00	2600,00

Lampiran 3. Hasil Uji Normalitas Berat Badan *Pre* dan *Post* Perlakuan

Tests of Normality

Berat Badan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
AWAL N	,231	4	.	,948	4	,706
AKHIR N	,222	4	.	,954	4	,740
AWAL K(-)	,189	4	.	,978	4	,889
AKHIR K(-)	,333	4	.	,828	4	,163
AWAL P1	,235	4	.	,884	4	,355
AKHIR P1	,237	4	.	,942	4	,665
AWAL P2	,272	4	.	,894	4	,403
AKHIR P2	,259	4	.	,915	4	,511
AWAL P3	,261	4	.	,874	4	,313
AKHIR P3	,250	4	.	,927	4	,577

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 4. Hasil *Paired Sample t test* Berat Badan *Pre* dan *Post* Perlakuan

Paired Samples Test									
Paired Differences									
95% Confidence Interval of the Difference									
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper	t	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	AWAL K - AKHIR K	-122,50000	26,29956	13,14978	-164,34846	-80,65154	-9,316	3	,003
Pair 2	AWAL S - AKHIR S	-368,75000	110,78320	55,39160	-545,03079	-192,46921	-6,657	3	,007
Pair 3	AWAL P1 - AKHIR P1	-166,25000	172,29505	86,14752	-440,40987	107,90987	-1,930	3	,149
Pair 4	AWAL P2 - AKHIR P2	-139,00000	333,29266	166,64633	-669,34300	391,34300	-.834	3	,465
Pair 5	AWAL P3 - AKHIR P3	-238,75000	192,98251	96,49126	-545,82824	68,32824	-2,474	3	,090

Lampiran 5. Hasil Uji Normalitas Selisih Berat Badan

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
N	,304	4	.	,811	4	,123
K(-)	,194	4	.	,973	4	,860
P1	,231	4	.	,946	4	,690
P2	,380	4	.	,800	4	,103
P3	,407	4	.	,694	4	,010

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 6. Hasil Uji *Kruskal Wallis* Selisih Berat Badan

Test Statistics^{a,b}

Berat Badan	
Chi-Square	5,261
df	4
Asymp. Sig.	,262

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Kelompok

Lampiran 7. Hasil Uji Normalitas Luas *Fatty Streak*

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Luas Fatty Streak	K	,262	4	.	,871	4	,301
	S	,223	4	.	,955	4	,746
	P1	,284	4	.	,871	4	,302
	P2	,168	4	.	,992	4	,969
	P3	,328	4	.	,817	4	,137

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 8. Hasil Deskriptif Luas *Fatty Streak*

Descriptives

Luas Fatty Streak								
	N	Mean	Std.	95% Confidence Interval for Mean			Minimum	Maximum
			Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound		
K	4	2245,4180	1007,15160	503,57580	642,8151	3848,0209	1214,48	3243,56
S	4	5802,2140	3690,41035	1845,20518	-70,0524	11674,4804	1405,25	9586,32
P1	4	5154,6895	3990,78881	1995,39441	-1195,5461	11504,9251	1912,12	10220,50
P2	4	4938,3087	3690,17707	1845,08854	-933,5865	10810,2039	839,47	9597,06
P3	4	3611,6809	4092,96498	2046,48249	-2901,1397	10124,5015	604,98	9598,58
Total	20	4350,4622	3364,65132	752,35891	2775,7569	5925,1675	604,98	10220,50

Lampiran 9. Hasil Uji Homogenitas Luas *Fatty Streak*

Test of Homogeneity of Variances

Luas Fatty Streak

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,445	4	15	,268

Lampiran 10. Hasil Uji *One Way ANOVA* Luas *Fatty Streak*

ANOVA

Luas Fatty Streak

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32307749,080	4	8076937,269	,663	,627
Within Groups	182788942,200	15	12185929,480		
Total	215096691,300	19			

Lampiran 11. Surat Keterangan Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 006-KEP-UB-2020

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK DAUN LAMPES
(*Ocimum sanctum L.*) TERHADAP KADAR
KOLESTEROL DARAH, JUMLAH MAKROFAG, SEL
BUSA DAN KETEBALAN FATTY STREAK

PENELITI UTAMA : ERMIN RACHMAWATI

ANGGOTA : DZULMANIRA SYAFNI SIREGAR
RISLAN FAIS MUHAMMAD
YUSTIKA PERMATA SARI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM

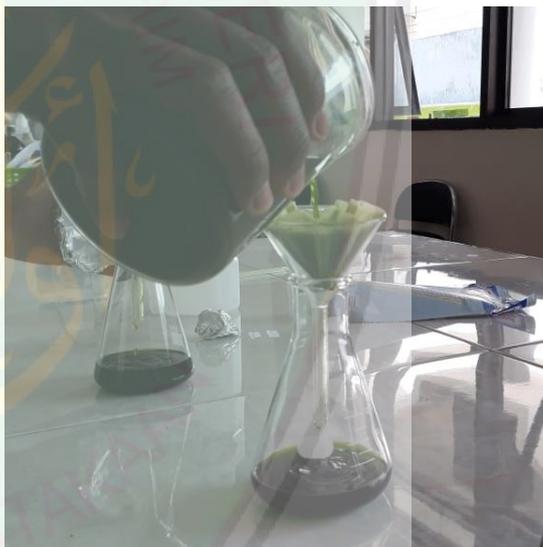
DINYATAKAN : LAIK ETIK

Matsig. 15 Januari 2020
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



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

Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian

	
<p>Penimbangan simplisia</p>	<p>Pencampuran dan pengadukan simplisia dengan etanol 96%</p>
	
<p>Proses sonikasi dengan UAE</p>	<p>Penyaringan hasil UAE</p>



Evaporasi menggunakan *rotary evaporator*



Hasil evaporasi



Hasil ekstraksi lampes



Ekstrak lampes dimasukkan kedalam kapsul



Penimbangan kapsul yang berisi ekstrak lampes



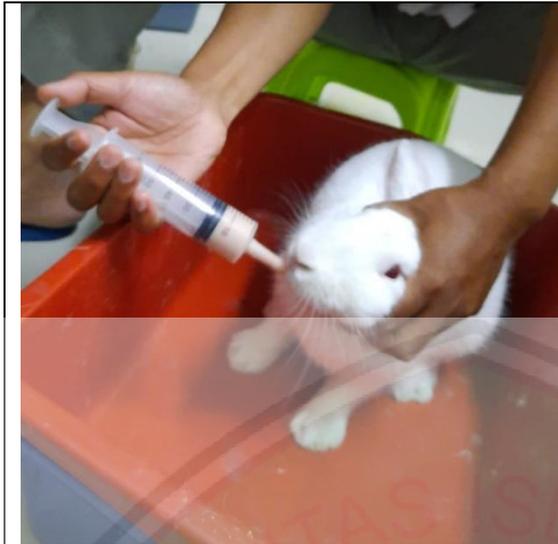
Kondisi kebersihan kandang kelinci



Penimbangan kelinci



Pakan standar



Pemberian otak sapi



Pakan pelet Nova



Pembiusan dan persiapan terminasi



Pembedahan dan pengambilan aorta dan organ kelinci