



**EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.)
MENURUNKAN KADAR ALKALI FOSFATASE TELUR
AYAM BEREMBRIO YANG DIINDUKSI ETANOL**

SKRIPSI

Oleh

**Nabela Karima Putri
NIM 152010101110**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.)
MENURUNKAN KADAR ALKALI FOSFATASE TELUR
AYAM BEREMBRIO YANG DIINDUKSI ETANOL**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Nabela Karima Putri
NIM 152010101110**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, serta hidayah-Nya kepada saya, serta Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi teladan saya dalam segala tindakan;
2. Kedua orang tua saya, Bapak Hasanuddin Aziz dan Ibu Etty Suharti, serta kakak kandung saya, Mutia Arafani Meirina, yang tak henti-hentinya memberi dukungan, semangat, nasihat, dan motivasi untuk mengejar mimpi-mimpi saya;
3. Guru-guru saya dari masa kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah memberikan ilmunya untuk mendidik saya menjadi pribadi yang lebih baik;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas kesempatan untuk menimba ilmu dan menjadi bagian dari keluarga besar ini.

MOTO

Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada di antara keduanya dengan sia-sia.
(terjemahan surat *Saad* ayat 27)^{*)}



^{*)}Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Jakarta: Magfirah Pustaka

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Nabela Karima Putri

NIM : 152010101110

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Menurunkan Kadar Alkali Fosfatase Telur Ayam Berembrio yang Diinduksi Etanol” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 10 Januari 2019

Yang menyatakan,

Nabela Karima Putri
NIM 152010101110

SKRIPSI

**EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.)
MENURUNKAN KADAR ALKALI FOSFATASE TELUR
AYAM BEREMBRIO YANG DIINDUKSI ETANOL**

Oleh

**Nabela Karima Putri
152010101110**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Suryono, Sp.JP FIHA

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Heni Fatmawati, M.Kes, Sp.Rad

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Menurunkan Kadar Alkali Fosfatase Telur Ayam Berembrio yang Diinduksi Etanol” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Jum’at, 18 Januari 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Anggota I,

dr. Pulong Wijang Pralampita, Ph.D.
NIP 760018009

dr. Ika Rahmawati S., M. Biotech.
NIP 19840819 200912 2 0003

Anggota II

Anggota III,

dr. Suryono, Sp.JP. FIHA
NIP 196710112000031001

dr. Heni Fatmawati, M.Kes, Sp.Rad.
NIP 197602122005012001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

dr. Supangat, M.Kes, Ph.D, Sp.BA.
NIP 19730424 199903 1 002

RINGKASAN

Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Menurunkan Kadar Alkali Fosfatase Telur Ayam Berembrio yang Diinduksi Etanol; Nabela Karima Putri, 152010101110; 2019; 52 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Kerusakan hepar menjadi penanda penting untuk keberlangsungan hidup suatu organisme. Mortalitas akibat penyakit hepar mencapai angka 1 juta jiwa atau sekitar 2% dari keseluruhan kematian pada tahun 2010 dengan salah satu penyebab terbanyak yaitu penggunaan alkohol. Mekanisme kerusakan hepar akibat alkohol terjadi karena etanol dari luar tubuh menyebabkan peningkatan *homocysteine* hepar. Metabolisme *Homocysteine* menjadi *cysteine* menyebabkan penurunan glutathion sulfhidril (GSH). Selain itu, etanol meningkatkan radikal bebas dengan metabolisme lipid peroksidase, mengaktivasi xantin oksidase, dan sitokrom P450-2E1 (CYP2E1). GSH yang menurun menyebabkan ketidakseimbangan oksidan-antioksidan sehingga mengakibatkan jumlah radikal bebas tubuh terus meningkat. Radikal bebas menyebabkan stres oksidatif yang mengaktivasi cPKCs, mengubah fungsi dan struktur yang berhubungan dengan pembentukan empedu sehingga mengganggu sekresi bilier dan terjadi retensi zat membentuk empedu. Radikal bebas dari etanol dapat menyebabkan kerusakan hepatosit yang disebabkan oleh rusaknya membran lipid, protein, dan DNA hepatosit. Adanya kolestasis dan kerusakan hepatosit menyebabkan peningkatan kadar ALP.

Ketidakeimbangan oksidan-antioksidan menyebabkan tubuh membutuhkan antioksidan dari luar tubuh untuk mengurangi efek penurunan antioksidan alami tubuh. Tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki banyak senyawa antioksidan seperti alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, saponin, tannin, dan vitamin C. Oleh karena itu, perlu diteliti pengaruhnya pada telur ayam berembrio yang diinduksi etanol. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun

kelor (*Moringa oleifera* L.) untuk menurunkan kadar ALP telur ayam berembrio yang diinduksi etanol.

Jenis penelitian ini merupakan *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Penelitian menggunakan sampel berjumlah 25 telur ayam fertil yang diambil dari populasinya menggunakan teknik *simple random sampling*. Selanjutnya, dilakukan adaptasi sampel selama 11 hari di inkubator dengan suhu 37 °C bertempat di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Telur dikelompokkan menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok berjumlah 5 butir telur. Kelompok kontrol (K) tidak diberi perlakuan apapun karena kelompok ini menjadi acuan kadar ALP normal telur fertil. Kelompok K₍₋₎ diberikan etanol dosis 10%, sedangkan kelompok P₁, P₂, dan P₃ diberikan etanol 10% dan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan dosis masing-masing 0,5 µg/mL, 5 µg/mL, 50 µg/mL di *air sac* telur. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak daun kelor, sedangkan variabel terikatnya adalah kadar ALP. Analisis data yang digunakan adalah *One Way ANOVA* untuk membandingkan kadar ALP antar kelompok dan uji *Post Hoc* yaitu LSD (*Least Significance Different*) untuk mengetahui antar kelompok manakah yang memiliki kadar ALP berbeda.

Hasil penelitian didapatkan kadar rata-rata ALP kelompok kontrol sebesar 13,55 U/L, kelompok yang hanya diberi etanol 10% sebesar 28,87 U/L, kelompok yang diberi etanol 10% dan ekstrak daun kelor 0,5 µg/mL sebesar 28,48 U/L, kelompok yang diberi etanol 10% dan ekstrak daun kelor 5 µg/mL sebesar 22,90 U/L, serta kelompok yang diberi etanol 10% dan ekstrak daun kelor 50 µg/mL sebesar 15,04 U/L. Hasil analisis data didapatkan data yang terdistribusi normal dan homogen lalu dilanjutkan dengan analisis *One Way ANOVA* yang menunjukkan hasil yang signifikan dengan $p=0,032$ ($p<0,05$). Hasil uji *Post Hoc* LSD menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok yang diberi etanol dengan kelompok yang diberi etanol dan ekstrak daun kelor dosis 50 µg/mL sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dapat menurunkan kadar enzim alkali fosfatase telur ayam berembrio yang diinduksi etanol.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga peneliti dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Menurunkan Kadar Alkali Fosfatase Telur Ayam Berembrio yang Diinduksi Etanol”. Skripsi ini diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Supangat, M.Kes, Ph.D., Sp.BA. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Suryono, Sp.JP FIHA selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Heni Fatmawati, M.Kes, Sp.Rad. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. dr. Pulong Wijang Pralampita, Ph.D selaku Dosen Penguji Utama dan dr. Ika Rahmawati S., M. Biotech. selaku Dosen Penguji Anggota yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Mbak Nuris selaku Analis Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan Pak Budi selaku penanggung jawab UPT Pertanian dan Peternakan Politeknik Negeri Jember yang banyak membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini;
5. Kedua orang tua saya, Bapak Hasanuddin Aziz dan Ibu Etty Suharti yang selalu memberikan do'a, kasih sayang, dukungan, semangat, dan motivasi untuk menjadikan saya pribadi yang lebih baik;
6. Kakak kandung saya, Mutia Arafani Meirina yang telah memberikan do'a dan motivasi untuk saya;
7. Rekan penelitian saya, Fais Dina Artika dan Britta Fatika Sari yang memberikan semangat dan motivasi selama penelitian;

8. Seluruh keluarga besar TBM Vertex yang telah menjadi rumah dan keluarga saya di Jember semoga tetap jaya;
9. Teman-teman angkatan 2015 yang sedang berjuang bersama untuk meraih gelar sarjana kedokteran;
10. Sahabat-sahabat saya, Farah Adiba Lutfiana, Maulidia Annisa Hilmah, Niken Widyawati, Farda Hakimah, Rizka Ulfiana, Tamima Amin, Diyah Rosalina, Nidya Restika Pratama, Arnoveminisa Farinendya, Shofiana Tauqiya, Sofiannisa Achmadila, Diana Eki Cahyani, Amalia Zain Alvionia, dan Sabrina Nur Faizah yang memberikan semangat dan memotivasi saya untuk segera menyelesaikan skripsi ini;
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebut satu per satu, terima kasih atas bantuannya.

Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Jember, Januari 2019

Penulis

DAFTAR ISI

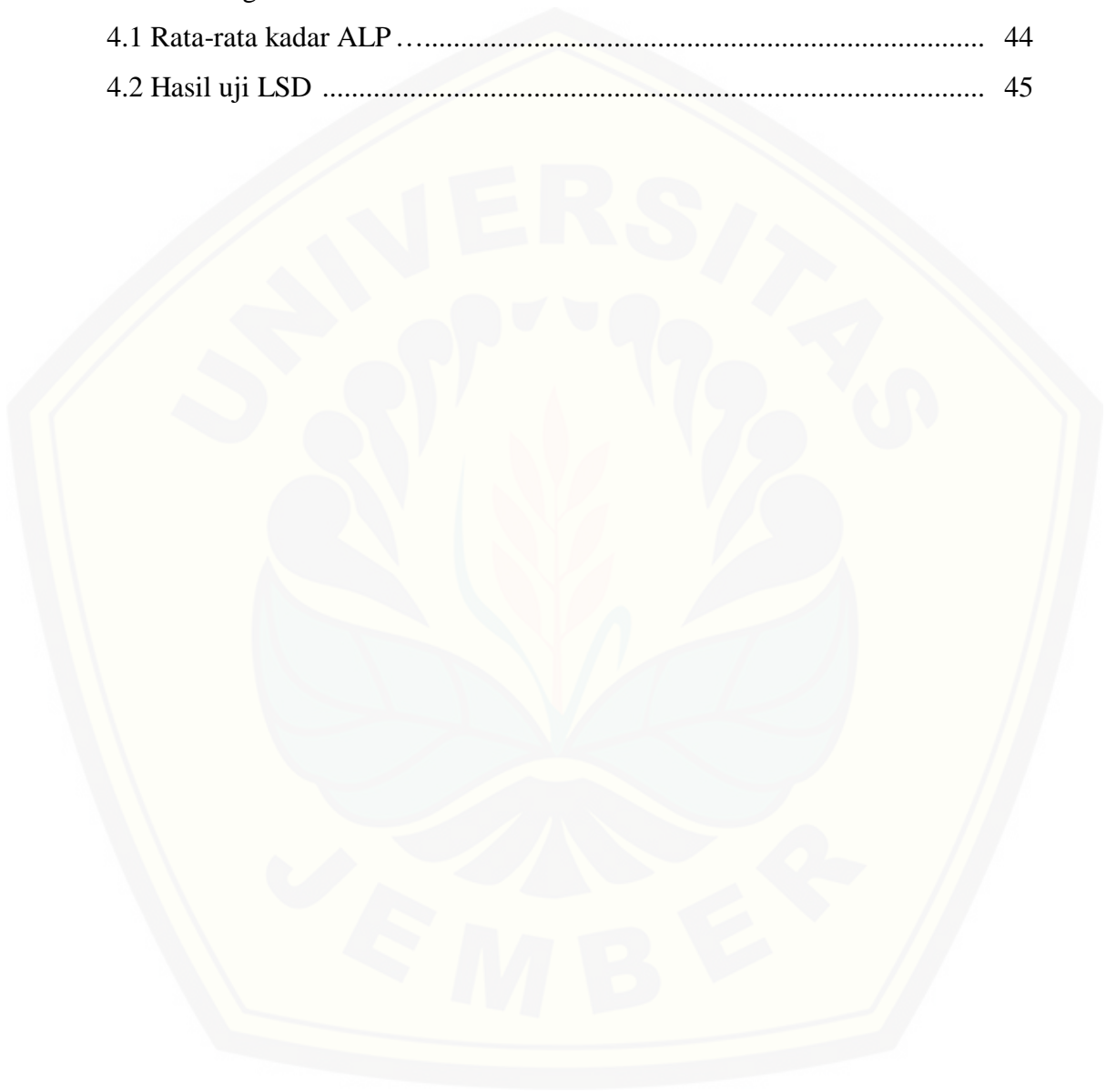
| | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN SAMPUL | i |
| HALAMAN JUDUL | ii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | ii |
| HALAMAN MOTO | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN | v |
| HALAMAN PEMBIMBINGAN | vi |
| HALAMAN PENGESAHAN | vii |
| RINGKASAN | viii |
| PRAKATA | x |
| DAFTAR ISI | xii |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR GAMBAR | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvii |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| 2.1 Embrio Ayam | 5 |
| 2.1.1 Anatomi Telur Ayam Berembrio | 5 |
| 2.1.2 Perkembangan Embrio Ayam | 6 |
| 2.2 Hepar Embrio Ayam | 14 |
| 2.2.1 Anatomi | 14 |
| 2.2.2 Histologi | 16 |
| 2.3 Cairan Amnion | 18 |
| 2.4 Alkali Fosfatase | 20 |
| 2.5 Radikal Bebas | 21 |
| 2.6 Etanol | 23 |

| | |
|---|-----------|
| 2.7 Mekanisme Etanol Menyebabkan Kerusakan Hepar | 24 |
| 2.8 Antioksidan..... | 25 |
| 2.9 Daun Kelor | 26 |
| 2.7.1 Klasifikasi Daun Kelor | 27 |
| 2.7.2 Kandungan dan Nutrisi Daun Kelor | 27 |
| 2.7.3 Sifat Farmakologi Daun Kelor | 28 |
| 2.7.4 Fitokimia Daun Kelor | 28 |
| 2.10 Kerangka Konseptual | 30 |
| 2.11 Hipotesis Penelitian | 32 |
| BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN | 33 |
| 3.1 Jenis Penelitian | 33 |
| 3.2 Rancangan Penelitian | 33 |
| 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian | 34 |
| 3.3.1 Kriteria Inklusi | 34 |
| 3.3.2 Kriteria Eksklusi..... | 35 |
| 3.4 Tempat dan Waktu Penelitian | 35 |
| 3.5 Variabel Penelitian | 35 |
| 3.5.1 Variabel Bebas | 35 |
| 3.5.2 Variabel Terikat | 35 |
| 3.5.2 Variabel Terkendali | 35 |
| 3.6 Definisi Operasional | 36 |
| 3.6.1 Ekstrak Daun Kelor | 36 |
| 3.6.2 Kadar ALP | 36 |
| 3.6.3 Model Percobaan | 36 |
| 3.6.4 Dosis dan Frekuensi Pemberian Etanol | 37 |
| 3.7 Alat dan Bahan Penelitian | 37 |
| 3.7.1 Alat Penelitian | 37 |
| 3.7.2 Bahan Penelitian | 37 |
| 3.8 Prosedur Penelitian | 38 |
| 3.8.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor | 38 |
| 3.8.2 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Kelor | 38 |

| | |
|--|-----------|
| 3.8.3 Perlakuan terhadap Telur Ayam | 39 |
| 3.8.4 Pengambilan Sampel | 39 |
| 3.8.5 Penghitungan Kadar ALP Serum | 39 |
| 3.9 Analisis Data | 40 |
| 3.10 Alur Penelitian | 41 |
| 3.10.1 Skema Pembuatan Ekstrak Daun Kelor | 41 |
| 3.10.2 Skema Perlakuan terhadap Telur Ayam | 42 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN | 43 |
| 4.1 Jenis Penelitian | 43 |
| 4.1.1 Hasil Ekstrak Etanol Daun Kelor | 43 |
| 4.1.2 Hasil Kadar ALP | 43 |
| 4.2 Analisis Data | 45 |
| 4.3 Pembahasan | 46 |
| BAB 5. PENUTUP | 49 |
| 5.1 Kesimpulan | 49 |
| 5.2 Saran | 49 |
| DAFTAR PUSTAKA | 50 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Perkembangan embrio ayam | 13 |
| 2.2 Kandungan ekstrak etanol daun kelor | 28 |
| 4.1 Rata-rata kadar ALP | 44 |
| 4.2 Hasil uji LSD | 45 |



DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| 2.1 Anatomi telur ayam berembrio | 5 |
| 2.2 Perkembangan embrio ayam tahap 1-6 | 6 |
| 2.3 Perkembangan embrio ayam tahap 7-13 | 7 |
| 2.4 Perkembangan embrio ayam tahap 14-15 | 8 |
| 2.5 Perkembangan embrio ayam tahap 16-18 | 9 |
| 2.6 Perkembangan embrio ayam tahap 19-23 | 9 |
| 2.7 Perkembangan embrio ayam tahap 24-26 | 10 |
| 2.8 Perkembangan embrio ayam tahap 27-45 | 11 |
| 2.9 Irisan membujur embrio ayam usia 4 hari inkubasi | 15 |
| 2.10 Organ-organ dalam embrio ayam | 16 |
| 2.11 Histologi hepar embrio ayam | 18 |
| 2.12 Perbedaan struktur ekstraembrionik embrio ayam | 19 |
| 2.13 Jumlah protein pada cairan amnion embrio ayam dan manusia | 20 |
| 2.14 Daun <i>Moringa oleifera</i> L. | 27 |
| 2.15 Kerangka konseptual penelitian | 30 |
| 3.1 Skema rancangan penelitian | 33 |
| 3.2 Skema pembuatan ekstrak daun kelor | 41 |
| 3.3 Skema perlakuan terhadap telur ayam | 42 |
| 4.1 Histogram rata-rata ALP | 44 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| 3.1 Perlakuan telur ayam berembrio | 55 |
| 3.2 Pembuatan ekstrak daun kelor | 56 |
| 3.3 Pemeriksaan kadar ALP | 57 |
| 3.4 Persetujuan etik penelitian | 58 |
| 3.5 Rekomendasi bebas plagiasi | 60 |
| 4.1 Hasil kadar ALP | 61 |
| 4.2 Hasil uji normalitas data | 62 |
| 4.3 Hasil uji homogenitas data | 62 |
| 4.4 Hasil uji <i>One Way ANOVA</i> | 62 |
| 4.5 Hasil uji <i>Post-Hoc LSD</i> | 63 |

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kerusakan hepar menjadi penanda penting untuk keberlangsungan hidup suatu organisme mengingat hepar merupakan organ metabolik terbesar dan terpenting dalam sistem organ manusia maupun hewan (Snell, 2012). Secara garis besar, hepar memiliki fungsi metabolisme makronutrien dan detoksifikasi zat-zat toksik yang masuk ke dalam tubuh (Price *et al.*, 2006). Hepar rentan mengalami berbagai gangguan metabolik, toksik, mikroba, dan sirkulasi sehingga apabila terjadi gangguan sirkulasi darah serta aliran empedu, gangguan fungsi hepar dapat mengancam nyawa (Kumar *et al.*, 2007).

Berdasarkan data *Global Burden of Disease* tahun 2010, mortalitas akibat penyakit hepar mencapai angka 1 juta jiwa atau sekitar 2% dari keseluruhan kematian tahun 2010 dengan penyebab terbanyak yaitu penggunaan alkohol serta infeksi virus hepatitis B dan C yang berujung pada kejadian sirosis hepatis (Mokdad *et al.*, 2014). Menurut *Global Status Report on Alcohol and Health* tahun 2014, pengguna alkohol dengan usia lebih dari 15 tahun di seluruh dunia mengkonsumsi sekitar 6,2 liter alkohol, sedangkan di Asia Tenggara sebanyak 3,4 liter alkohol tiap tahunnya (WHO, 2014). Di Indonesia sendiri angka pengguna alkohol masih cukup tinggi. Menurut data dari Riskesdas tahun 2007, terdapat 4,6% masyarakat Indonesia mengkonsumsi alkohol dalam waktu satu tahun terakhir dengan prevalensi usia terbanyak yaitu 15-24 tahun (Depkes RI, 2008).

Alkohol dapat menyebabkan kerusakan pada hepar dengan melewati serangkaian proses pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terus bertambah melebihi jumlah antioksidan seluler hepar seperti glutathione (GSH) (Berning *et al.*, 2013). Hal ini menyebabkan kerusakan sel hepar serta gangguan sirkulasi empedu sehingga menyebabkan kenaikan kadar enzim-enzim hepar (Pal *et al.*, 2011; Wuri, 2016). Selain menyebabkan kerusakan pada hepar tikus (Ozaras *et al.*, 2003), kadar ROS tinggi juga menimbulkan kerusakan hepar embrio ayam (Berning *et al.*, 2013). Embrio ayam seringkali dipilih untuk dijadikan model dalam penelitian toksikologi dan teratologi karena selain murah

dan mudah didapat, peneliti dapat mengamati secara langsung perkembangan embrio di dalam telur dengan metode *candling*, sehingga dapat memberikan perlakuan yang sesuai dengan tahapan perkembangan yang diinginkan (Kishore *et al.*, 2009).

Perkembangan hepar embrio ayam mirip dengan perkembangan hepar embrio mamalia namun dalam waktu yang lebih singkat (Yokouchi, 2005). Hepar pada embrio ayam mulai terbentuk pada hari ke-3 sampai hari ke-4 kehidupan (Patten, 1920). Secara mikroskopis, hepatosit pada embrio ayam mulai terlihat pada hari ke-4 (Suksaweang *et al.*, 2003). Terdapat berbagai enzim yang dapat dijadikan parameter kerusakan hepar, salah satunya adalah alkali fosfatase (ALP) (Rochling, 2001). Peningkatan kadar ALP dapat dijadikan penanda adanya penyakit kolestasis hepar, yang biasanya diikuti dengan peningkatan bilirubin terkonjugasi (Lui, 2017). Kadar ALP embrio ayam dapat diperiksa salah satunya dengan menggunakan cairan amnion embrio (Hitesh, 2014). Beberapa penelitian sebelumnya menduga bahwa kenaikan aktivitas enzim ALP hepar dan cairan amnion disebabkan karena ROS berpengaruh pada sel hepar yang memungkinkan enzim tersebut keluar menuju cairan amnion melalui kebocoran sel darah merah (Syed *et al.*, 2015).

Dewasa ini diketahui banyak tanaman tradisional memiliki kandungan antioksidan tinggi untuk menghambat radikal bebas, salah satunya adalah tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) (Sreelatha, 2009). Kelor merupakan tanaman yang mudah didapat karena kemampuannya untuk hidup dengan baik di lingkungan tropis maupun subtropis. Tanaman ini dijuluki sebagai “*Miracle Tree*” karena hampir keseluruhan bagian tanaman daun kelor mulai dari akar, batang, hingga daun memiliki manfaat yang baik bagi kesehatan (Wright *et al.*, 2017). Dari beberapa bagian tumbuhan tersebut, daun kelor memiliki total antioksidan flavonoid lebih banyak dari bagian lainnya (Shih *et al.*, 2011). Berdasarkan uji fitokimia, diketahui bahwa daun kelor (*Moringa oleifera* L.) memiliki banyak senyawa antioksidan, seperti alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, saponin, tannin, dan vitamin C (Okumu *et al.*, 2016). Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik untuk meneliti manfaat ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) pada

embrio ayam yang diinduksi etanol. Parameter yang diamati adalah kadar ALP pada cairan amnion embrio ayam.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dapat menurunkan kadar alkali fosfatase telur ayam berembrio yang diinduksi etanol?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum pada penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) pada embrio ayam yang diinduksi etanol.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus pada penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) untuk menurunkan kadar alkali fosfatase telur ayam berembrio yang diinduksi etanol dibandingkan dengan kontrol negatif.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi ilmiah mengenai kegunaan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) untuk menurunkan kadar ALP telur ayam berembrio yang diinduksi etanol.

1.4.2 Manfaat bagi Peneliti

Mendapatkan informasi dan wawasan mengenai pemanfaatan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) untuk menurunkan kadar alkali fosfatase cairan amnion embrio ayam.

1.4.3 Manfaat bagi Masyarakat

Penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai pemanfaatan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) untuk menurunkan kadar alkali fosfatase.

1.4.4 Manfaat bagi Pengambil Kebijakan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan masukan informasi dalam menyusun kebijakan dan strategi program-program kesehatan untuk menurunkan angka morbiditas dan mortalitas akibat peningkatan kadar alkali fosfatase.

1.4.5 Manfaat bagi Institusi

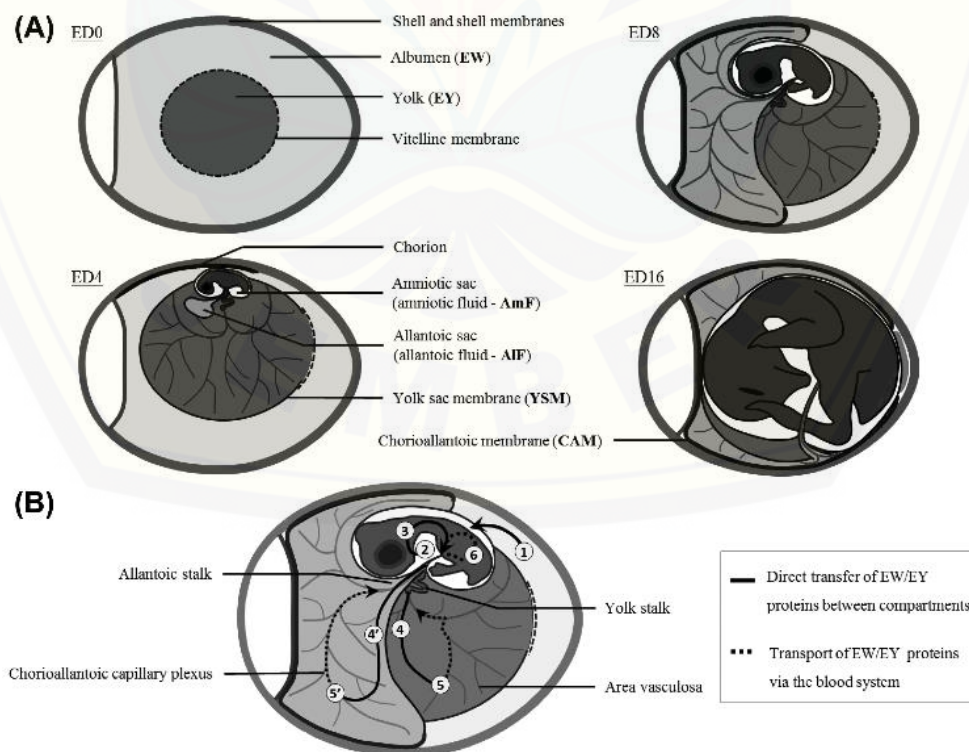
Menjadi tambahan informasi bagi peneliti selanjutnya untuk meneliti variabel lain terkait pemanfaatan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) untuk menurunkan kadar alkali fosfatase.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Embrio Ayam

2.1.1 Anatomi Telur Ayam Berembrio

Pada awal perkembangannya, telur ayam terdiri atas cangkang telur, albumin, dan *yolk sac*. Didalamnya terkandung semua nutrisi yang diperlukan untuk mendukung perkembangan embrio diluar tubuh induknya. Selama masa perkembangannya, embrio ayam membutuhkan struktur tambahan untuk menunjang fungsi vitalnya, yaitu organ pernapasan dan pencernaan, yang pada tahap ini belum berfungsi secara maksimal. Struktur-struktur tersebut yaitu *amniotic*, *allantoic*, dan *yolk sac*. Struktur ini juga ditemukan pada unggas, reptil, dan mamalia namun memiliki peran yang berbeda pada spesies ovipar dan vivipar. Pada hari ke-5 sampai hari ke-6, *allantoic sac* mulai menyatu dengan *chorion* ke beberapa area membentuk *chorioallantoic membrane* (CAM). Struktur ekstraembrionik embrio ayam dapat dilihat pada Gambar 2.1 (Da Silva *et al.*, 2017).

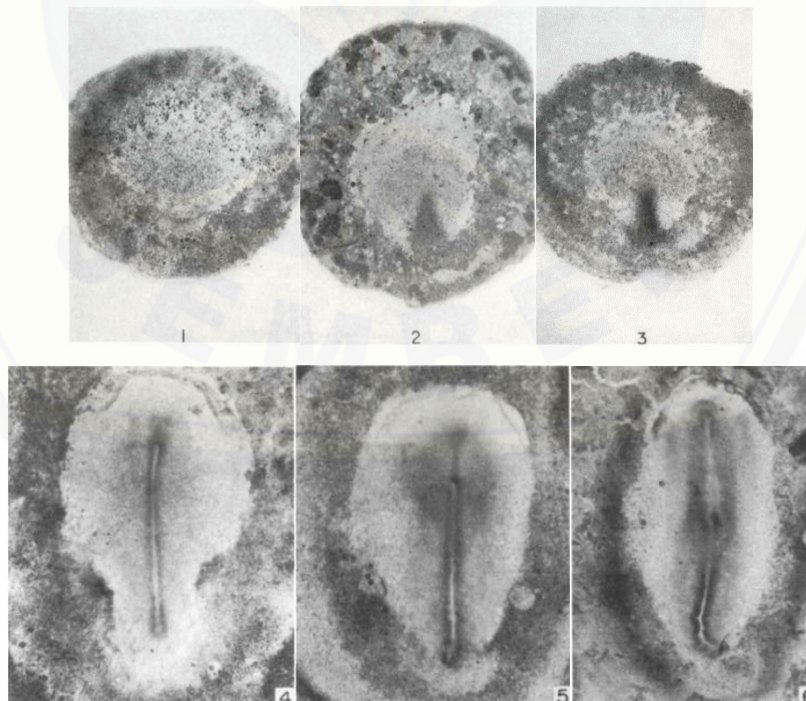


Gambar 2.1 Anatomi telur ayam berembrio (Sumber: Da Silva *et al.*, 2017)

2.1.2 Perkembangan Embrio Ayam

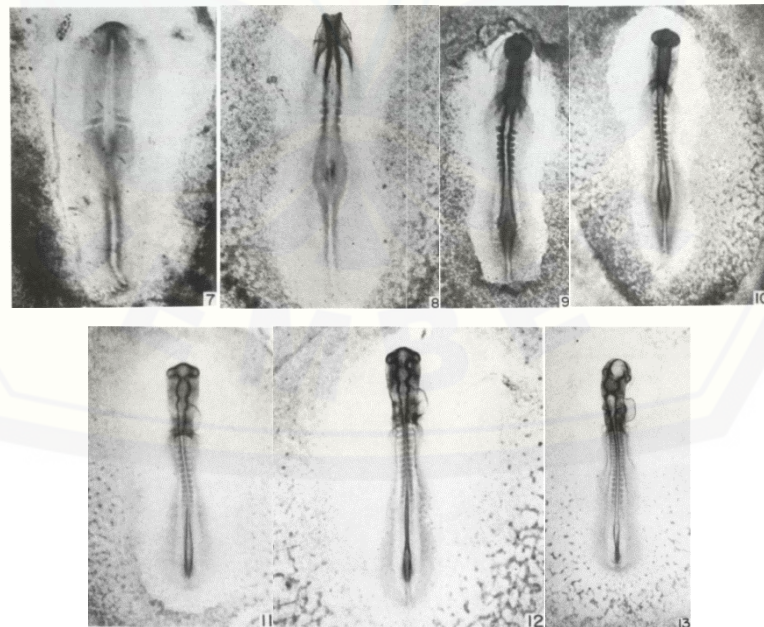
Pada tahun 1951, Viktor Hamburger dan Howard Hamilton membuat tahap perkembangan embrio ayam dari kombinasi foto dan gambar yang didapat dari peneliti lain yang saat ini dikenal sebagai *Hamburger-Hamilton Stages*. Tahapan ini dimulai dari tahap telur fertil sampai embrio ayam yang siap menetas. Gambaran ini penting untuk mengetahui dan memperkirakan umur embrio ayam yang masih dalam tahap perkembangan (Doty, 2011).

Pada tahap ke-1 perkembangan embrio, stria primitif masih belum terlihat namun pelindung embrio sudah tampak. Pada tahap ke-2, yaitu pada masa inkubasi 6-7 jam, stria primitif mulai nampak. Pada tahap ke-3, sekitar 12-13 jam masa inkubasi, terdapat stria primitif namun lekuk primitifnya belum nampak. Pada tahap ke-4, stria primitif memanjang sehingga cekungan primitif, lubang primitif, dan nodus Hensen sudah dapat terlihat. Pada tahap ke-5, sekitar 19-22 jam inkubasi, *notochord* terlihat di bawah nodus Hensen. Pada tahap ini kepala embrio mulai terbentuk. Pada tahap ke-6, lipatan kepala sudah terlihat, namun somite belum terbentuk. Perkembangan tahap ke-1 sampai ke-6 dapat dilihat pada Gambar 2.2 (Hamburger *et al.*, 1951).



Gambar 2.2 Perkembangan embrio ayam tahap 1-6 (Sumber: Hamburger *et al.*, 1951)

Pasangan *somite* yang pertama mulai nampak pada tahap ke-7 bersamaan dengan lipatan neural dekat dengan kepala. Pada tahap ke-8, terdapat 4 pasang *somite* dan pulau-pulau darah yang muncul di bawah blastoderm. Tujuh pasang *somite* dan vesikula optika terlihat pada tahap ke-9. Sepuluh pasang *somite* dan tiga vesikula primer otak sudah terlihat pada tahap ke-10. Pada tahap ke-11, sekitar 40-45 jam inkubasi, lima *neuromere* atau segmen dari otak yang berkembang mulai terlihat di otak belakang. Pada tahap tersebut, *neuropore* mulai menutup sedangkan vesikula optika mengerut. Pada tahap ke-12, yaitu 45-49 jam inkubasi, enam belas pasang *somite* sudah terlihat dan *neuropore anterior* telah menutup. Pada tahap ini kepala mulai berputar ke kiri dan vesikula optika primer menjadi menunjukkan perbedaan. Selain itu, jantung berbentuk seperti huruf S dan otak depan tertutup sempurna oleh lekukan kepala amnion sampai pada tahap berikutnya. Terdapat sembilan belas pasang *somite* pada tahap ke-13, kepala hampir sepenuhnya berputar ke kiri, dan *telencephalon* membesar. Pada tahap ini, lekungan kepala amnion sudah menutup otak depan, tengah, dan lubang anterior otak belakang dengan sempurna. Perkembangan tahap ke-7 sampai ke-13 dapat dilihat pada Gambar 2.3 (Hamburger *et al.*, 1951).



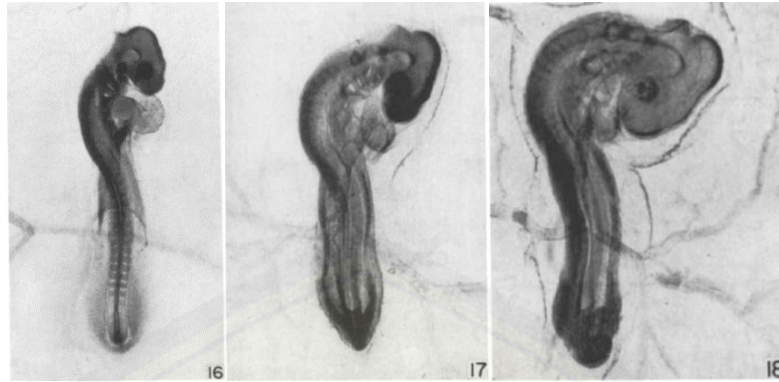
Gambar 2.3 Perkembangan embrio ayam tahap 7-13 (Sumber: Hamburger *et al.*, 1951)

Tahap ke-14, yaitu sekitar 50-53 jam inkubasi, terbentuk dua puluh dua pasang *somite*. Setelah tahap tersebut, pasangan-pasangan *somite* sulit untuk dibedakan. Lengkungan dan celah cabang mulai terbentuk dan amnion menutupi 7 sampai 10 pasang *somite* pada tahap tersebut. Setelah inkubasi 55 jam, tahap ke-15 dimulai dan amnion menutupi sampai 14 pasang *somite*. Perkembangan tahap ke-14 sampai ke-15 dapat dilihat pada Gambar 2.4 (Hamburger *et al.*, 1951).



Gambar 2.4 Perkembangan embrio ayam tahap 14-15 (Sumber: Hamburger *et al.*, 1951)

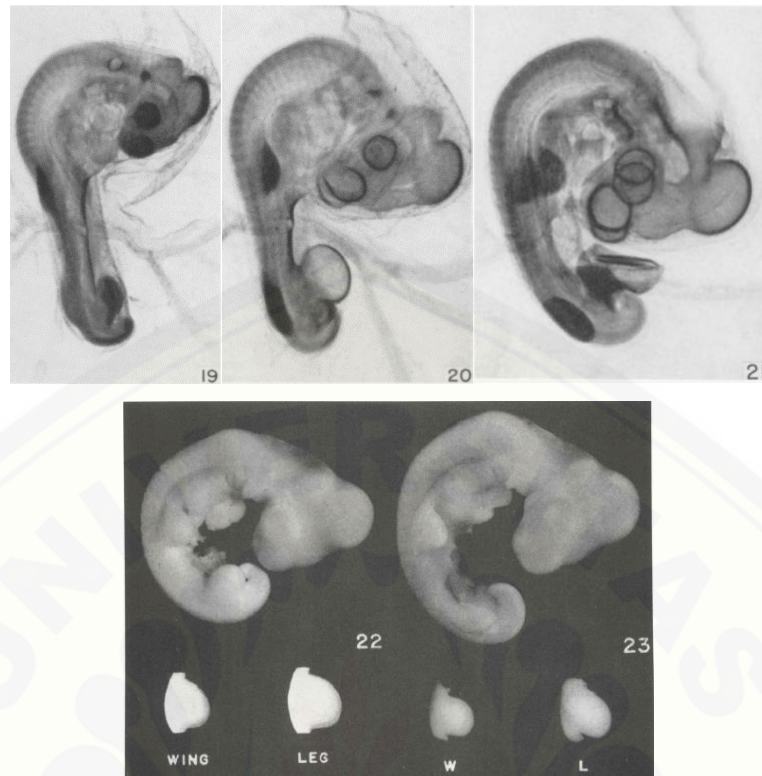
Selama tahap ke-16, sekitar 51-56 jam inkubasi, sayap dan tunas ekor mulai terlihat dan amnion menutupi kedelapan belas pasang *somite*. Tunas anggota gerak mulai terlihat pada tahap ke-17, sekitar 52-64 jam inkubasi. Amnion meluas ke seluruh embrio kecuali pasangan *somite* ke dua puluh delapan sampai tiga puluh enam. Pada tahap ini, lubang nasal terbentuk. Pada tahap ke 18, yaitu 65-69 jam inkubasi, *allantois* mulai terbentuk. Tunas kaki terlihat lebih besar daripada tunas sayap dan amnion menutupi embrio sepenuhnya pada tahap ini. Perkembangan tahap ke-16 sampai ke-18 dapat dilihat pada Gambar 2.5 (Hamburger *et al.*, 1951).



Gambar 2.5 Perkembangan embrio ayam tahap 16-18 (Sumber: Hamburger *et al.*, 1951)

Pada tahap ke-19, atau sekitar 69-72 jam inkubasi, pasangan-pasangan *somite* memanjang ke ekor. Mata tidak berpigmen dan tunas ekor melengkung ke kepala pada tahap tersebut. Allantois menjadi vesikuler pada tahap ke-20, yaitu sekitar 70-72 jam inkubasi. Pada tahap ini pigmen mata masih redup dan *branchial arch* kedua memanjang melewati *branchial arch* ketiga (Gambar 2.6, 20). Pada tahap ke-21, sekitar 72-84 jam inkubasi, allantois mulai membesar dan memanjang ke kepala dan tunas anggota gerak. Pada tahap ke-22, yaitu sekitar 84 jam inkubasi, pigmen mata mulai muncul dan *somite* sepenuhnya memanjang menuju ekor. Setelah sekitar 96 jam inkubasi, embrio memasuki tahap ke-23 dimana pada tahap ini tunas anggota gerak sepanjang lebar tubuh. Perkembangan tahap ke-19 sampai ke-23 dapat dilihat pada Gambar 2.6 (Hamburger *et al.*, 1951).

Pada perkembangan embrio hari ke-4 sampai 4,5 atau tahap ke-24, tunas anggota gerak lebih panjang dari lebar tubuh dan telapak kaki mulai terbentuk. Pada tahap ke-25, yaitu hari ke-4,5 sampai 5, siku dan lutut ayam telah terbentuk. Setelah 5 hari inkubasi, atau tahap ke-26, embrio ayam memiliki tiga jari dan anggota gerak yang terus memanjang. Perkembangan tahap ke-24 sampai ke-26 dapat dilihat pada Gambar 2.7 (Hamburger *et al.*, 1951).

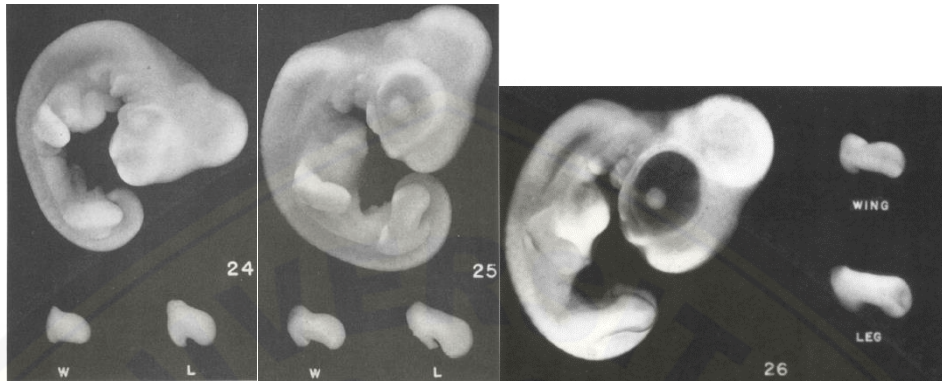


Gambar 2.6 Perkembangan Embrio Ayam Tahap 19-23 (Sumber: Hamburger *et al.*, 1951)

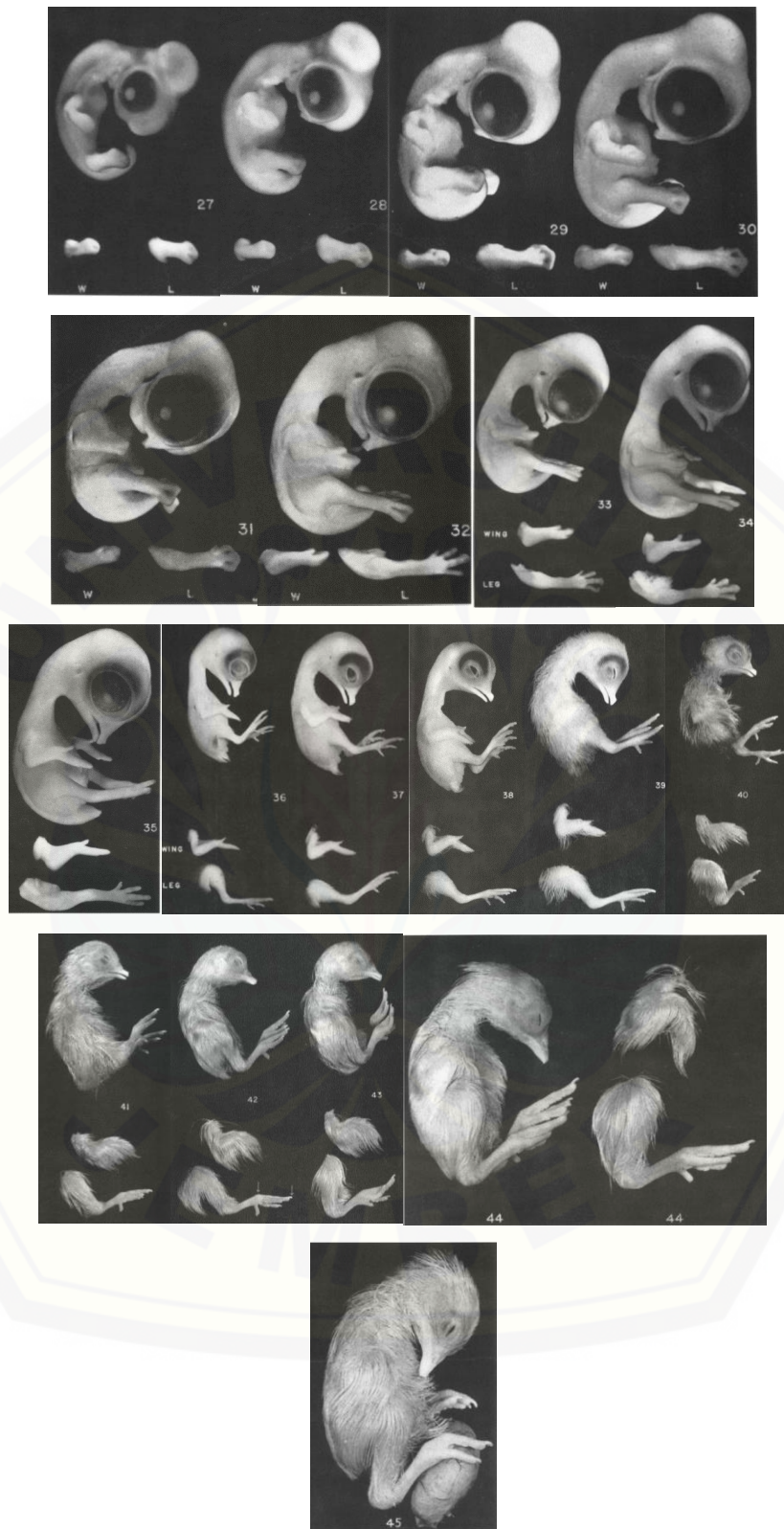
Pada tahap ke-27, inkubasi hari ke-5 sampai 5,5, pembentukan paruh mulai terlihat. Paruh embrio ayam mulai berkembang dan jari-jari kaki menjadi lebih menonjol pada hari ke-5,5-6 atau tahap ke-28. Pada tahap ke-29, yaitu pada hari ke-6 sampai 6,5 inkubasi, sayap membengkok pada siku dan sela-sela jari kaki mulai terbentuk jaring. Pada tahap ke-30, yaitu pada hari ke-6,5-7, gigi mulai terbentuk, perkembangan anggota gerak hampir selesai, dan bulu mulai tumbuh. Pada tahap ke-31-39, pertumbuhan bulu terlihat progresif. Tahap ke-40 sampai 45, paruh ayam semakin besar dan kaki semakin panjang. Setelah 21 hari perkembangan, atau tahap ke-46, ayam menetas dari telur. Perkembangan tahap ke-27 sampai ke-46 dapat dilihat pada Gambar 2.8 (Hamburger *et al.*, 1951).

Selain tahap perkembangan embrio ayam secara umum yang dirangkum oleh Hammilton-Hamburger, Kusumawati *et al.* (2016) juga meneliti perkembangan embrio ayam. Ras ayam yang diteliti adalah ayam Jawa super yang merupakan persilangan antara ayam kampung jantan (*Gallus gallus domesticus*)

dan ayam ras petelur betina (*Lohmann brown*). Tahapan ini diurutkan berdasarkan usia embrio ayam, dapat dilihat pada Tabel 2.1.



Gambar 2.7 Perkembangan embrio ayam tahap 24-26 (Sumber: Hamburger *et al.*, 1951)



Gambar 2.8 Perkembangan Embrio Ayam Tahap 27-45 (Sumber: Hamburger *et al.*, 1951)

Tabel 2.1 Perkembangan embrio ayam

| Waktu Inkubasi | Hasil Pengamatan Embrio |
|----------------|--|
| 12-15 jam | stria primitif mulai terlihat memanjang dari bagian posterior dan mulai terbentuk cekungan primitif |
| 18-22 jam | stria primitif telah mencapai panjang maksimal |
| 23-26 jam | lipatan kepala di anterior dan somite mulai terlihat dengan jelas, proamnion, lipatan kepala, area opaca, dan area pelusida terlihat dengan jelas, serta somite, pulau darah, batas mesoderm, dan foregut mulai terlihat |
| 30-33 jam | jumlah somite berkembang sebanyak tujuh pasang, perkembangan vesikula optika, jantung yang berada sedikit ke kanan, dan pembagian 3 vesikel otak (<i>procencephalon</i> , <i>mesencephalon</i> , dan <i>rhombencephalon</i>) yang sudah mulai jelas |
| 48-52 jam | embrio mulai memperlihatkan perbedaan spesifik disbanding umur sebelumnya karena bagian anterior memutar ke arah kanan. Lubang auditorius mulai terbuka, jantung membentuk huruf S, lekukan kepala amnion menutupi seluruh region <i>telencephalon</i> , <i>diencephalon</i> , dan <i>mesencephalon</i> , serta plat oral, batang mata, dan tuba neural yang sudah mulai terbentuk |
| 64-69 jam | tunas sayap dan tunas kaki mulai terbentuk dan semakin besar ukurannya seiring dengan penambahan waktu inkubasi. tunas kaki ukurannya akan lebih besar dibandingkan dengan tunas sayap, jantung sudah dapat dibedakan antara antrium dan ventrikel, tuba neural semakin berkembang menjadi korda neural, pembagian otak semakin berkembang menjadi <i>telencephalon</i> , <i>diencephalon</i> , <i>mesencephalon</i> , dan <i>rhombencephalon</i> , mata mulai mengalami pigmentasi, tunas ekor akan mulai menekuk ke arah depan tubuh |
| 5 hari | plat jari baru terlihat di umur lima hari dan cekungan antar digiti terbentuk mulai umur enam hari. Pada umur lima hari inkubasi, tungkai memanjang terutama pada bagian proksimal dimana garis anterior dan posterior memanjang secara parallel, sebaliknya perubahan bentuk tubuh sangat sedikit, tunas sayap dan kaki memiliki ukuran panjang dan lebar yang sama |
| 6 hari | paruh mulai terlihat dengan jelas, segmen digiti sudah terbentuk, digiti dua dan tiga mulai memanjang, serta pembengkokan pada persendian sayap dan kaki mulai terbentuk, adanya perkembangan lubang telinga yang berupa lubang besar, bagian dinding <i>diencephalon</i> mengecil |
| 7 hari | organ sudah berkembang cukup lengkap. Paruh tumbuh lebih <i>prominent</i> dengan <i>papilla sclera</i> pada bagian dorsal, sayap dan kaki sudah berkembang lengkap, folikel bulu tumbuh pada permukaan dorsal tubuh mulai dari brachial hingga lumbo-sacral |
| 8-10 hari | kaki dan sayap sudah mulai tampak, serta jantung sudah sempurna pada rongga thorax, membrane niktitan mulai muncul pada umur 9 hari, dan paruh mulai mengeras pada umur 10 hari inkubasi |
| 10-12 hari | membran niktitan mulai menutupi mata dan terjadi diferensiasi pada kaki ketiga |
| 13-14 hari | tunas bulu sudah mulai tumbuh, dan kelopak mata sudah menutup secara sempurna |
| 15 hari | ukuran paruh=4 mm, ukuran jari kaki ketiga=7 mm, ukuran tubuh=48 mm, ukuran sayap=17 mm, panjang kaki ayam=29 mm |
| 16 hari | ukuran paruh=5 mm, ukuran jari kaki ketiga=8 mm, ukuran tubuh=51 mm, ukuran sayap=19 mm, panjang kaki ayam=30 mm |
| 17 hari | ukuran paruh=5 mm, ukuran jari kaki ketiga=8 mm, ukuran tubuh=58 mm, ukuran sayap=23 mm, panjang kaki ayam=34 mm |
| 18 hari | ukuran paruh=6 mm, ukuran jari kaki ketiga=10 mm, ukuran tubuh=61 mm, ukuran sayap=25 mm, panjang kaki ayam=40 mm |
| 19 hari | ukuran paruh=6 mm, ukuran jari kaki ketiga=10 mm, ukuran tubuh=64 mm, ukuran sayap=25 mm, panjang kaki ayam=43 mm |
| 20 hari | ukuran paruh=5 mm, ukuran jari kaki ketiga=11 mm, ukuran tubuh=66 mm, ukuran sayap=28 mm, panjang kaki ayam=45 mm |
| 21 hari | ayam menetas |

Sumber: Kusumawati *et al.* (2016).

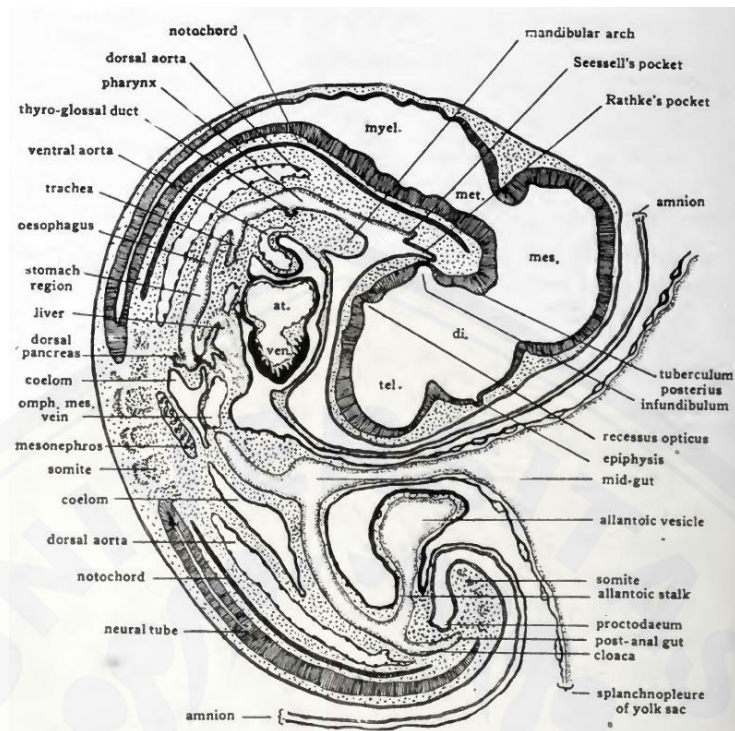
2.2 Hepar Embrio Ayam

2.2.1 Anatomi

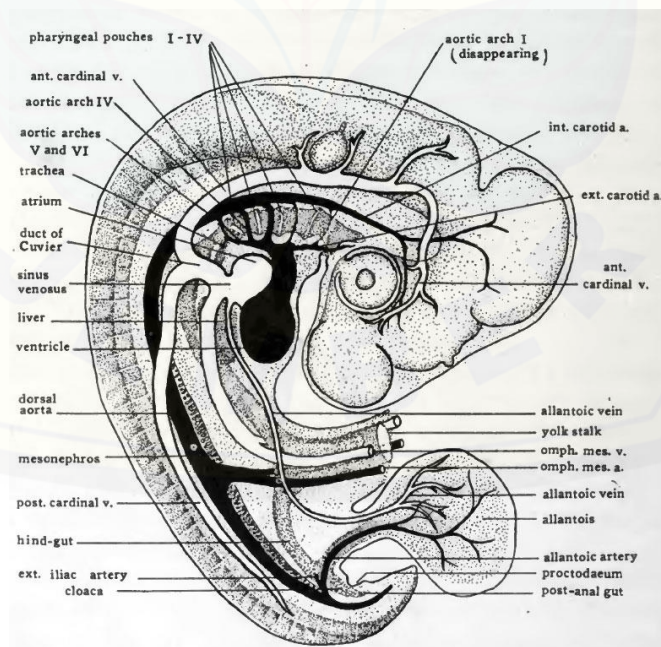
Pada semua vertebrata, hepar muncul sebagai divertikulum dari dinding usus di bagian ventral dan lambung di bagian kaudal. Pada embrio ayam, divertikulumnya tampak sebagai bagian dari usus yang didapatkan dari tepi portal intestinal anterior. Hasilnya, envaginasi hepar tampak sekilas pada bibir portal intestinal dan tumbuh ke anterior dimana vena omphalomesenterika memasuki sinus venosus. Setelah penutupan lengkap pada usus, divertikulum hepar menetap pada posisinya di bagian ventral dinding usus. Pada embrio usia 4 hari, envaginasi hepar tumbuh membentuk deretan sel yang terus membelah sehingga memiliki massa yang lebih besar (Gambar 2.9) (Patten, 1920).

Porsio proksimal dari envaginasi hepar tetap menyambung ke usus dan berfungsi sebagai duktus hepatikus. Duktus ini mengalami diferensiasi regional dan nantinya membentuk saluran empedu, saluran sistik dan hepatik, serta kantung empedu. Deretan sel yang berasal dari divertikulum akan menjadi unit sekretoris hepar (tubulus hepar) (Patten, 1920).

Saat portal intestinal berpindah ke arah kaudal seiring dengan pemanjangan *foregut*, porsio proximal dari vena-vena omphalomesenterika menjadi satu di tengah. Penyatuan tersebut memanjang ke kaudal dekat dengan *yolk stalk* (Gambar 2.10). Pada tahap perkembangan ini, hepar dikelilingi oleh penyatuan porsio dari vena-vena omphalomesenterika. Hubungan dari vena-vena omphalomesenterika dengan hepar menunjukkan bagaimana bagian proksimal dari sirkulasi *vitelline afferent* terlibat dalam pembentukan sirkulasi portal hepatik (Patten, 1920).



Gambar 2.9 Irisan membujur embrio ayam usia 4 hari inkubasi (Sumber: <https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/file:patten043.jpg>)



Gambar 2.10 Organ-organ dalam embrio ayam (Sumber: <https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/File:Patten047.jpg>)

2.2.2 Histologi

Interaksi epitel mesenkimal sangat penting dalam tahap induksi, morfogenesis, diferensiasi, dan regenerasi pada semua organ berepitel, termasuk hepar. Selama masa induksi, endoderm hepatic (endoderm usus bagian ventral) embrio ayam di ditentukan oleh beberapa *growth factor*. *Growth factor* ini diproduksi oleh *cardiac mesoderm* seperti *fibroblast growth factor 1* (FGF1), FGF2, dan FGF8 (Suksaweang *et al.*, 2003).

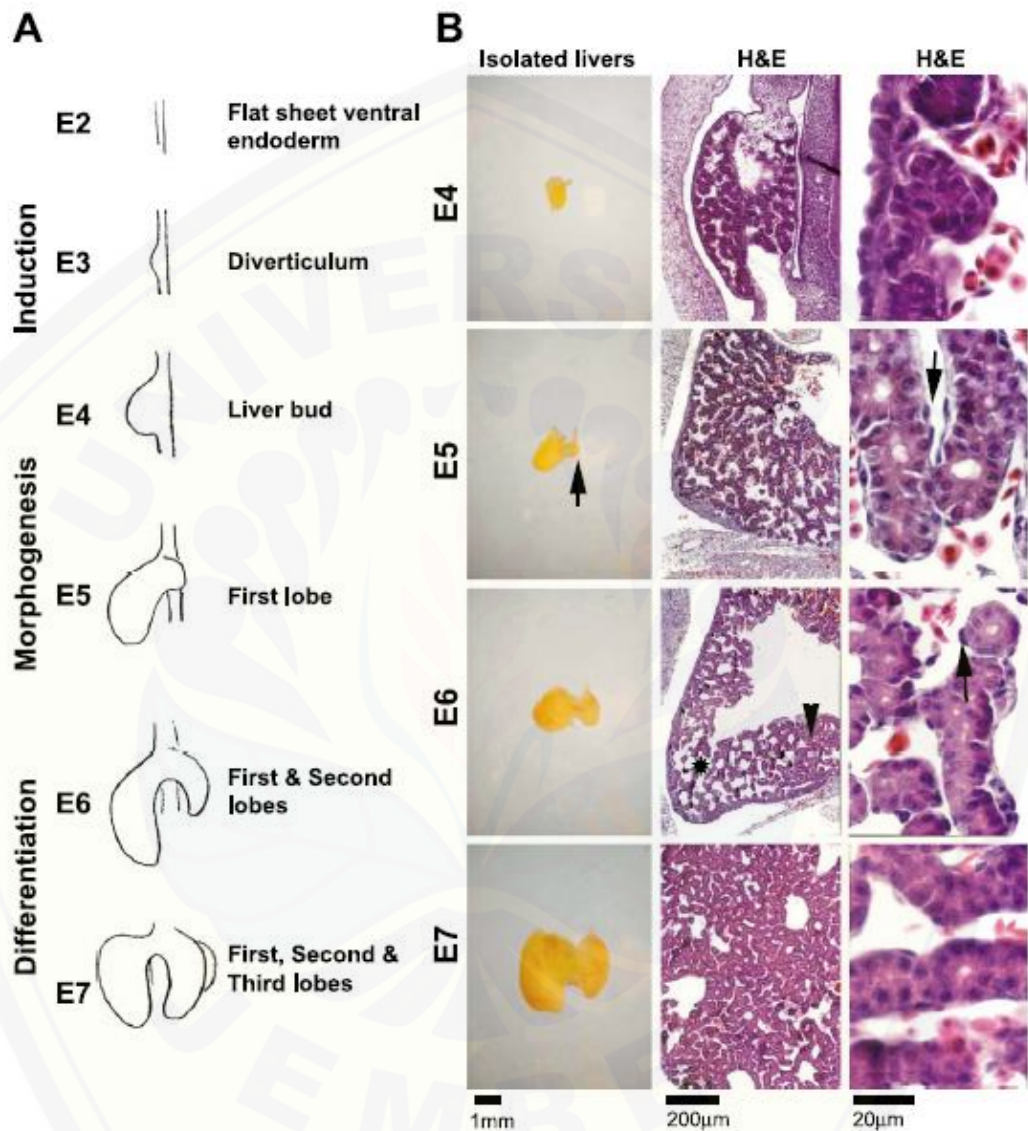
Setelah tahap induksi, hepatosit dan sel-sel biliaris terbentuk dari endodermal hepatoblas multipoten. Endoderm hepatic tertentu berproliferasi dan membentuk *hepatic cords* yang merupakan parenkim hepar setelah berdiferensiasi dan mendapat ekspresi gen spesifik. *Hepatic cord* adalah unit yang membangun hepar dimana pembentukannya sangat penting untuk proses kimia, metabolisme, dan produksi protein serum sebagai parameter fungsi hepar (Suksaweang *et al.*, 2003).

Hepar terbentuk dari beberapa lobus dengan bentuk dan ukuran spesifik. Ukuran hepar dikontrol dengan ketat selama perkembangan embrio hingga dewasa. Apabila terdapat cedera atau kehilangan bagian organ (misal setelah *partial hepatectomy*), ukuran hepar dapat kembali melalui proses regenerasi selama 10 hari. β -catenin *pathway* diketahui merupakan protein yang meregulasi sifat multiplikasi sel dalam tahap morfogenesis (Suksaweang *et al.*, 2003).

Gambaran histologis hepar embrio ayam dapat dilihat pada Gambar 2.11. Gambar 2.11 (A) merupakan gambaran skematik dari perkembangan hepar embrio ayam mulai hari kedua sampai hari ketujuh inkubasi. Gambar 2.11 (B) menunjukkan gambaran morfologi hepar yang telah diisolasi dan gambaran histologis hepar yang telah diberi pewarnaan hematoxylin dan eosin (H&E) dengan perbesaran 10 dan 100 kali (Suksaweang *et al.*, 2003).

Preparat dengan pewarnaan H&E (Gambar 2.11, B) menunjukkan adanya kenaikan jumlah hepatosit yang membentuk *hepatic cord* seiring dengan bertambahnya usia embrio. Pada gambar E5 (*isolated livers*), panah menunjukkan pembentukan baru dari lobus hepar yang kedua. Pada gambar E5 (H&E kedua), panah menunjukkan endothelium. Pada gambar E6 (H&E pertama), tanda bintang

menunjukkan sinusoid besar, kepala panah menunjukkan sinusoid kecil, dan panah menunjukkan endotelium (Suksaweang *et al.*, 2003).

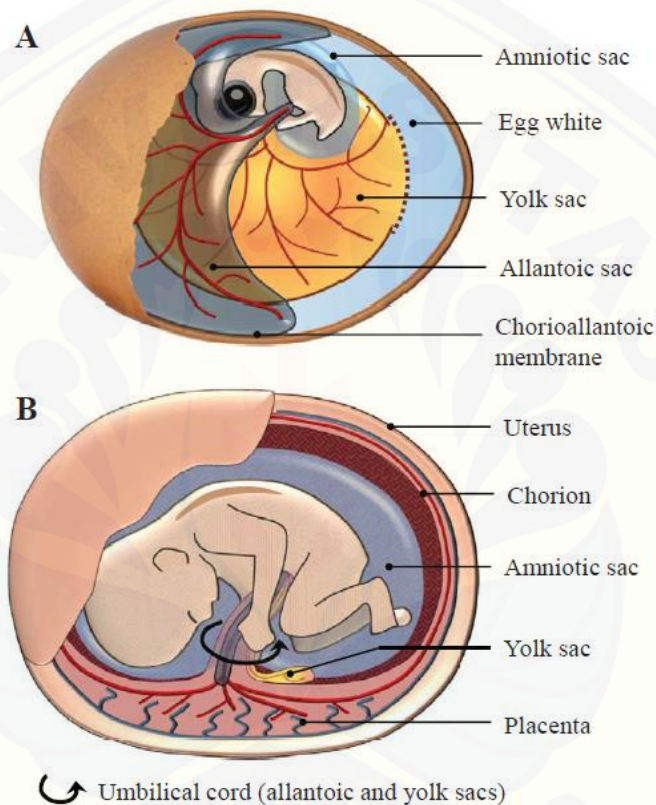


Gambar 2.11 Histologi hepar embrio ayam (Sumber: Suksaweang *et al.*, 2003)

2.3 Cairan Amnion

Cairan amnion merupakan salah satu struktur ekstraembrionik pada mamalia maupun unggas yang mengisi kantung amnion (Gambar 2.12). Cairan amnion berfungsi untuk melindungi embrio dari syok mekanik, dehidrasi, atau

adesi ke membran ekstraembrionik lain. Selain itu cairan amnion juga berfungsi sebagai sumber nutrisi untuk embrio. Cairan amnion menyediakan lingkungan yang sesuai untuk mendukung perkembangan embrio dengan pH sekitar 7,1 sampai 7,3; suhu yang stabil; dan stimulasi sensoris untuk embrio (mengecap, meraba, dan mendengar) (DaSilva *et al.*, 2018).

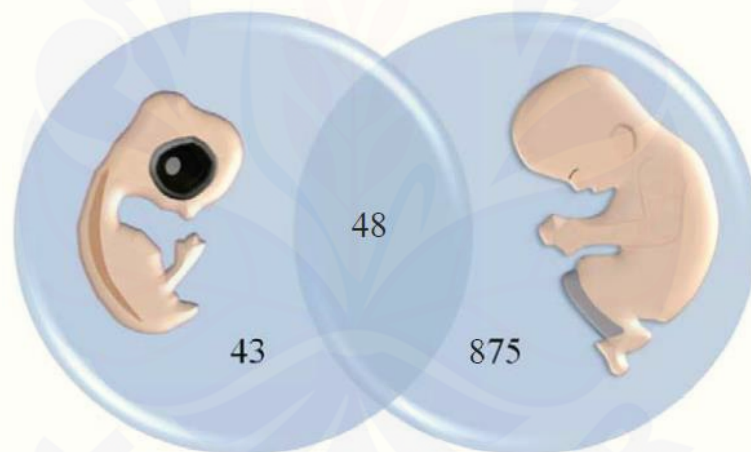


Gambar 2.12 Perbedaan struktur ekstraembrionik embrio ayam (A) dan manusia (B) (Sumber: DaSilva *et al.*, 2018)

Berbeda dengan cairan amnion manusia, cairan amnion embrio ayam tidak mengandung hasil ekskresi sistem urinaria dari embrio ayam. Hal ini dikarenakan struktur anatomi yang dimiliki oleh embrio ayam menyebabkan urin embrio dikeluarkan melalui kantong allantois. Perbedaan lainnya yaitu pada perkembangan embrio ayam hari ke-12, protein dari putih telur (albumin) sebagian besar memasuki kantong amnion, dimana protein dari albumin akan

diabsorpsi per-oral oleh embrio ayam sebagai sumber asam amino yang mendukung pertumbuhannya sampai masa penetasan (DaSilva *et al.*, 2018).

Berdasarkan data dari Cho *et al.* (2007), diketahui terdapat 923 protein yang dapat diidentifikasi pada cairan amnion manusia. Dari 923 protein tersebut, 48 protein yang sama ditemukan di cairan amnion embrio ayam (Gambar 2.13). Berdasarkan kesamaan komposisi protein ini, beberapa fungsi pada cairan embrio manusia juga dimiliki oleh cairan amnion embrio ayam, seperti: 1) Fungsi metabolisme dan transpor vitamin, lipid, dan hormon, 2) Fungsi respon imun, 3) Fungsi hemostasis dan homeostasis. Selain itu pemeriksaan gen cairan amnion embrio ayam menunjukkan terdapat protein cairan amnion yang berpengaruh pada perkembangan embrio seperti proliferasi sel, proses adhesi, dan migrasi sel (DaSilva *et al.*, 2018).



Gambar 2.13 Jumlah protein pada cairan amnion embrio ayam dan manusia (Sumber: DaSilva *et al.*, 2018)

2.4 Alkali Fosfatase

Alkali fosfatase terdapat pada banyak jaringan, terutama hepar, tulang, mukosa usus, dan plasenta. Pada umumnya, peningkatan ALP terjadi karena adanya kolestasis, obstruksi intrabiliar, dan ekstrabiliar (Vroon *et al.*, 1990). Pemeriksaan kadar ALP digunakan untuk mengetahui apakah terdapat penyakit pada hepar (hepatobiliar) maupun tulang (Sutedjo, 2007).

ALP hepar terletak pada membran sinusoid sehingga terlibat dalam fungsi transportasi hepar. Peningkatan sintesis ALP dapat diamati pada keadaan kolestasis, dengan adanya peningkatan konsentrasi asam empedu yang disebabkan oleh obstruksi intrahepatik maupun ekstrahepatik dari sistem biliaris. Sedangkan ALP tulang erat kaitannya dengan kalsifikasi karena hidrolisis *pyrophosphate* yang menghambat mineralisasi tulang (Vroon., *et al*, 1990).

Nilai kadar ALP hepar bisa mencapai nilai sangat tinggi (sampai 20 kali lipat nilai normal) pada sirosis biliar primer, juga keadaan yang disertai struktur hepar yang tidak normal, penyakit radang, regenerasi, dan obstruksi saluran empedu ekstrahepatik. Peningkatan kadar ALP sampai 3 kali lipat dapat ditemui pada penyakit hepar oleh alkohol, hepatitis kronik aktif, dan hepatitis yang disebabkan oleh virus (Kosasih *et al.*, 2008).

Di Indonesia, kadar ALP umumnya diukur menggunakan metode kolorimetri menggunakan alat (contohnya fotometer atau spektrofotometer) manual atau analizer kimia otomatis. Elektroforesis isoenzim ALP dilakukan untuk membedakan ALP hepar dan tulang. Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan yaitu serum atau plasma heparin. ALP pada manusia memiliki nilai normal 30-120 U/L (Kee, 2007).

Sama seperti manusia, ALP juga ditemukan pada jaringan beberapa unggas, termasuk ayam. ALP ditemukan pada jaringan tulang, ginjal, usus, dan hepar embrio ayam. Peningkatan kadar ALP hepar embrio ayam diduga karena adanya kerusakan jaringan (Khosravi *et al.*, 2018). Nilai normal ALP embrio ayam tergantung pada metode dan jenis spesimen yang digunakan (Vroon *et al.*, 1990). Spesimen yang digunakan berupa cairan amnion (Mastan, 2007; Hitesh, 2014; Khosravi, 2018) maupun serum darah dari vena jugularis embrio ayam (Prasek, 2013). Pada beberapa penelitian sebelumnya, nilai normal ALP pada kelompok kontrol telur ayam yang diberi normal salin adalah 6,94 U/L (Hitesh, 2014), 6,61 U/L (Khosravi, 2018), dan 8,1 U/L (Mastan, 2007).

2.5 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, juga diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron tidak berpasangan. Senyawa oksigen reaktif ini terbentuk dalam tubuh, dipicu berbagai macam faktor. Radikal bebas terbentuk saat komponen makanan diubah menjadi energi tubuh melalui proses metabolisme. Pada proses ini, terjadi perpindahan elektron, sehingga mudah terbentuk radikal bebas, seperti anion superoksida, hidroksil, dan lain sebagainya. Radikal bebas juga terbentuk dari senyawa lain yang awalnya bukan merupakan radikal bebas, namun mudah berubah menjadi radikal bebas, seperti hidrogen peroksida, ozon, dan lain sebagainya. Kedua kelompok senyawa tersebut sering diistilahkan sebagai Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Winarsi, 2007).

Radikal bebas adalah suatu molekul atau senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Karena adanya elektron tidak berpasangan inilah, menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan. Apabila elektron terikat oleh senyawa radikal bebas tersebut memiliki sifat ionik, maka dampak yang timbul tidak terlalu berbahaya. Namun, apabila elektron terikat dengan radikal bebas merupakan senyawa berikatan kovalen, maka berbahaya karena ikatan tersebut digunakan secara bersamaan pada orbital terluarnya. Biasanya, senyawa yang memiliki ikatan kovalen yaitu molekul-molekul yang besar, seperti lipid, protein, maupun DNA. Semakin besar ukuran biomolekul mengalami kerusakan, maka semakin parah pula akibatnya. Hal ini menyebabkan kerusakan sel yang berdampak pada struktur dan fungsinya sehingga mengganggu sistem kinerja organ secara umum (Winarsi, 2007).

Target utama radikal bebas yaitu protein, asam lemak tak jenuh, lipoprotein, serta unsur DNA termasuk karbohidrat. Dari tiga molekul tersebut, yang dianggap paling rentan terhadap serangan radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh. Serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya menyebabkan terjadinya reaksi berantai, kemudian menghasilkan senyawa radikal baru. Efek reaktivitas senyawa radikal bebas bisa bermacam-macam, seperti kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, sampai kanker (Sadikin,

2001). Beberapa penelitian menunjukkan senyawa radikal bebas menyebabkan kerusakan sistem organ manusia. Senyawa radikal bebas dalam tubuh manusia merusak asam lemak tak jenuh ganda membran sel. Hal ini menyebabkan dinding sel menjadi rapuh. Senyawa oksigen reaktif ini juga merusak bagian pembuluh darah sehingga meningkatkan pengendapan kolesterol yang akibatnya akan menimbulkan aterosklerosis (Estenbauer *et al.*, 1991). Senyawa ini juga merusak basa DNA sehingga mengacaukan sistem informasi genetika dan berlanjut pada pembentukan sel-sel kanker (Halliwell *et al.*, 1991). Jaringan lipid juga dirusak oleh senyawa radikal bebas sehingga terbentuk peroksida, yang memicu timbulnya penyakit degeneratif. Selain itu, kerusakan molekul protein oleh senyawa radikal bebas akan menimbulkan penyakit katarak (Diplock, 1991). Radikal bebas terus terbentuk dalam tubuh manusia seiring bertambahnya usia, baik melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi, dan akibat pengaruh dari luar tubuh, seperti paparan polusi, asap rokok, ultraviolet, dan lain sebagainya (Winarsi, 2007).

2.6 Etanol

Salah satu jenis alkohol yang banyak digunakan di bidang industri minuman beralkohol adalah etanol (C_2H_5OH). Etanol merupakan suatu molekul kecil, larut air, dan diserap sempurna oleh saluran pencernaan (Brothers, 2011). Uap etanol juga diserap melalui paru-paru. Kadar puncak alkohol dalam darah dicapai dalam 30 menit apabila pengguna dalam keadaan puasa. Distribusi alkohol dalam tubuh cepat, sedangkan konsentrasi dalam jaringan kurang lebih sama dengan konsentrasi plasma (Lee, 1998). Lebih dari 90% alkohol yang dikonsumsi dioksidasi dalam hati, sisanya diekskresikan dalam paru-paru dan urin (Geokas, 1981).

Etanol dapat mengganggu proses glukoneogenesis hepar, mengakibatkan penurunan produksi glukosa dari glikogen. Hal ini menyebabkan peningkatan produksi laktat dan penurunan oksidasi asam lemak. Akibatnya, timbunan lemak meningkat pada sel hepar. Walaupun pada orang normal hal ini bersifat reversibel,

namun apabila terlalu sering terpajan etanol, beberapa perubahan berat pada hepar akan muncul, termasuk hepatitis yang diinduksi oleh alkohol, perivenular sklerosis, dan sirosis didapatkan pada sekitar 15% pasien yang sering mengkonsumsi alkohol (Schuckit, 2009).

2.7 Mekanisme Etanol Menyebabkan Kerusakan Hepar

Etanol dari luar tubuh menyebabkan peningkatan *homocysteine* otak dan hepar yang teratogenik pada embrio ayam. *Homocysteine* diubah menjadi *cystathione* dibantu oleh *cystathione β -synthase*. Selanjutnya, *cystathione* diubah menjadi *cysteine* yang menyebabkan penurunan glutathion sulfhidril (GSH). Selain itu, etanol meningkatkan radikal bebas dengan metabolisme lipid peroksidase, mengaktivasi xantin oksidase dan sitokrom P450-2E1 (CYP2E1) (Berning, 2013).

GSH merupakan antioksidan non-enzimatik intraseluler yang multifungsional. GSH banyak ditemukan pada sitosol, nukleus, dan mitokondria. Peran GSH melawan stress oksidatif yaitu menjadi kofaktor beberapa enzim detoksifikasi untuk melawan stres oksidatif, misalnya *glutathione peroxidase* (GPx), *glutathione transferase*, dan lain sebagainya. Selain itu, GSH berperan pada transpor asam amino melalui membran plasma, mengikat langsung radikal hidroksil dan oksigen tunggal, detoksifikasi hydrogen peroksida dan lipid peroksida dengan mengkatalisis kerja dari *glutathione peroxidase*, dan meregenerasi antioksidan penting, yaitu vitamin C dan E menjadi bentuk aktifnya (Valko *et al.*, 2006)

GSH yang menurun menyebabkan ketidakseimbangan oksidan-antioksidan dimana hal ini mengakibatkan jumlah radikal bebas tubuh terus meningkat. Radikal bebas menyebabkan keadaan stres oksidatif yang mengaktivasi Ca^{2+} dependent protein kinase isoform (cPKCs). cPKCs mengubah fungsi dan struktur yang berhubungan dengan pembentukan empedu, misalnya kanalikuli transporter, sitoskeleton, dan komponen *tight junctional* sehingga mengganggu sekresi bilier dan terjadi retensi zat membentuk empedu. Hal ini yang menyebabkan terjadinya kolestasis (Pal *et al.* 2011; Wuri, 2016).

Radikal bebas dari etanol menyebabkan kolestasis maupun kerusakan hepatosit yang disebabkan rusaknya membran lipid, protein dan DNA hepatosit. Mekanisme induksi etanol menyebabkan kolestasis belum dapat diketahui dengan jelas, namun diduga karena keterlibatan kompresi radikal bebas intrahepatik biliaris atau adanya intervensi *basolateral uptake* dan transport intraseluler asam empedu (Tung *et al.*, 1999). Adanya kolestasis dan kerusakan hepatosit ini menyebabkan peningkatan kadar ALP (Vroon *et al.*, 1990).

2.8 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul relatif kecil, namun mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan mencegah pembentukan radikal itu sendiri. Selain itu, antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul-molekul yang sangat reaktif. Dengan demikian kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi, 2007).

Tubuh manusia mempunyai sistem antioksidan untuk mencegah reaktivitas radikal bebas, yang secara berkelanjutan dibentuk tubuh. Apabila jumlah senyawa oksigen reaktif melebihi jumlah antioksidan yang dimiliki tubuh, maka kelebihanannya menyerang komponen lipid, protein, maupun DNA, sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stres oksidatif. Namun, reaktivitas radikal bebas dapat dihambat dengan: (1) mencegah maupun menghambat pembentukan radikal bebas yang baru; (2) menginaktivasi dan memotong rantai radikal bebas; (3) memperbaiki kerusakan akibat radikal bebas. Antioksidan dapat berupa enzim (contohnya superoksida dismutase atau SOD, katalase, dan glutathion peroksidase), vitamin (contohnya vitamin A, C, E, dan β -karoten), dan senyawa lain (contohnya flavonoid, albumin, bilirubin, seruloplasmin, dan lain sebagainya) (Winarsi, 2007).

Antioksidan dapat bersifat enzimatis maupun non-enzimatis. Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan primer terhadap stres oksidatif. Enzim-enzim tersebut merupakan metaloenzim yang aktivitasnya sangat bergantung ada

tidaknya ion logam. Sedangkan antioksidan non-enzimatis merupakan antioksidan yang berupa senyawa nutrisi maupun non-nutrisi. Antioksidan non-enzimatis disebut sebagai antioksidan sekunder karena bisa didapatkan dari asupan bahan makanan, misalnya vitamin A, C, E, dan β -karoten. Selain itu, glutathion, flavonoid, bilirubin, albumin, dan asam urat juga merupakan antioksidan non-enzimatis. Senyawa-senyawa ini berfungsi menangkap senyawa oksidan serta mencegah terjadinya reaksi berantai radikal bebas (Winarsi *et al.*, 2003).

2.9 Daun Kelor

Moringa oleifera atau yang biasa kita sebut sebagai tanaman kelor adalah salah satu spesies dari famili *Morogaceae* yang paling banyak dikenal dan dimanfaatkan. Pohonnya memiliki tinggi antara 5-10 meter. Daun *Moringa oleifera* berwarna hijau muda, berbulu, dan berukuran sekitar 30-60 cm dengan banyak daun-daun kecil (Gambar 2.14). Bunga *Moringa oleifera* biseksual dan aromatik dengan lima kelopak berwarna putih atau krem (Liu *et al.*, 2018).

Moringa oleifera berasal dari India selatan dan tersebar dan terdistribusi luas karena ketahanannya terhadap kekeringan. *Moringa oleifera* termasuk tanaman liar dan dapat ditemukan pada seluruh dataran. Tanaman ini tumbuh subur di daerah dengan iklim tropis yang lembab maupun kering dan panas. Hal ini menyebabkan tanaman kelor dapat dibudidayakan di daerah dengan curah hujan tinggi maupun rendah (Shih *et al.*, 2011). *Moringa oleifera* juga disebut sebagai “*The Miracle Tree*” atau pohon keajaiban karena hampir setiap bagian dari tanaman kelor memiliki manfaat. *Moringa olerifera* terkenal banyak memiliki manfaat, baik di bidang pangan, obat-obatan, produk kehutanan, dan lain sebagainya (Liu *et al.*, 2018).

2.9.1 Klasifikasi Daun kelor

Kingdom : Plantae

Divisio : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Ordo : Brassicales

Famili : Moringaceae

Genus : Moringa

Species : *Moringa oleifera* L.



Gambar 2.14 Daun *Moringa oleifera* L. (Sumber: Adegbite *et al.*, 2016)

2.9.2 Kandungan Nutrisi Daun Kelor

Beberapa penelitian menunjukkan daun *Moringa oleifera* mengandung protein yang tinggi. Selain protein, daun *M. Oleifera* juga terdapat asam amino, asam lemak tak jenuh, serta vitamin-vitamin dalam jumlah besar, seperti vitamin A, vitamin B (asam folat, pyridoxine, nicotinic acid), vitamin C, vitamin D, dan vitamin E. Zat-zat mineral lain seperti zat besi, zinc, kalsium, kalium juga terkandung dalam daun *Moringa oleifera*. Selain itu, daun *Moringa oleifera* juga mengandung karotenoid tinggi, seperti β -carotene dan xanthine (Liu, *et al.* 2018). Kandungan daun kelor dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.2 Kandungan ekstrak etanol daun kelor

| Kandungan Kimia | Ekstrak Etanol Daun Kelor |
|---|---------------------------|
| Moisture (g/100 g) | 10,74 ± 0,05 |
| Serat (g/100 g) | 11,23 ± 0,16 |
| Lemak (g/100 g) | 7,76 ± 0,21 |
| Protein (g/100 g) | 9,38 ± 0,23 |
| Gula (g/100 g) | 56,33 ± 0,27 |
| Energi (kkal) | 332,68 ± 0,06 |
| Mg (mg/100 g) | 25,64 ± 0,25 |
| Zn (mg/100 g) | 1,63 ± 0,021 |
| Mn (mg/100 g) | 5,21 ± 0,12 |
| Cu (mg/100 g) | 0,88 ± 0,52 |
| Vitamin C (mg/100 g) | 245,13 ± 0,46 |
| Vitamin A (β -carotene) (mg/100 g) | 13,48 ± 0,51 |
| Vitamin E (mg/100 g) | 16,80 ± 0,24 |
| Total fenolik (mg GAE/g) | 48,35 ± 0,05 |
| Total flavonoid (mg/g) | 35,64 ± 0,07 |

Sumber: Sadek *et al.* (2017)

2.9.3 Sifat Farmakologi Daun Kelor

Beberapa tahun terakhir, banyak penelitian berfokus pada sifat farmakologi daun kelor. Telah banyak diketahui bahwa daun kelor merupakan agen efektif dari berbagai macam antioksidan. Ekstrak daun kelor telah diteliti menunjukkan efek anti-proliferatif sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Sifat antioksidan yang dimiliki oleh ekstrak daun kelor juga bermanfaat sebagai *antiatherosclerotic*, *neuroprotectant*, *antiinflammatory*, *cardioprotective*, *hepatoprotective*, dan *anti-ulcer activity* (Liu *et al.*, 2018).

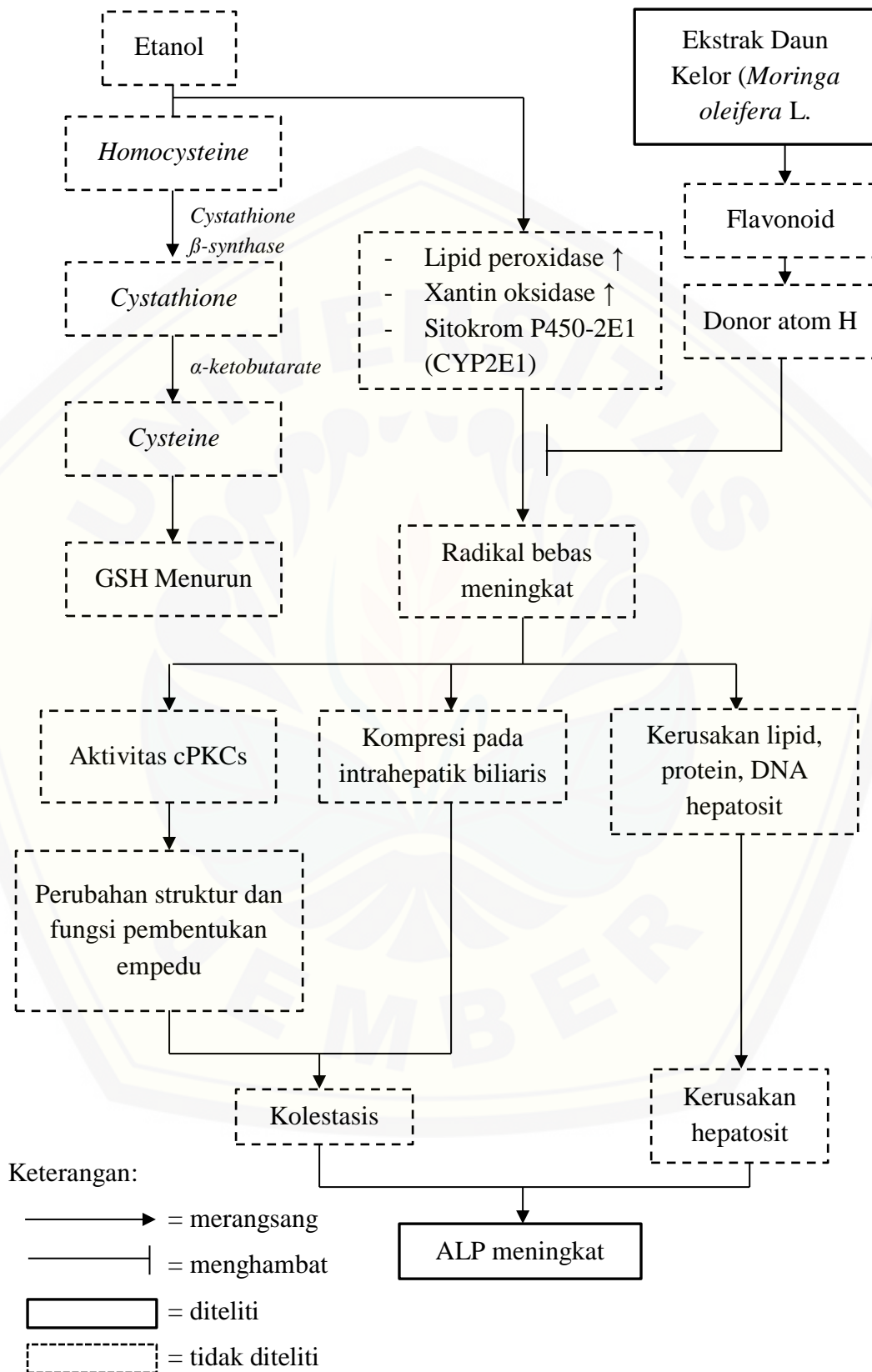
2.9.4 Fitokimia Daun Kelor

Beberapa senyawa ditemukan pada *M. Oleifera*, yaitu *phenolic acid*, *gallic acid*, *chlorogenic acid*, *ferulic acid*, *glucosinolates*, *flavonoid*, *quercetin*, *vanillin*, dan *kaempferol*, dimana semuanya memiliki peran masing-masing. Ekstrak daun *M. Oleifera* sendiri memiliki kandungan tinggi pada senyawa *chlorogenic acid*, *quercetin*, dan *kaempferol*. Daun *M. Oleifera* juga mengandung *phenolic acid*, *flavonoid*, *glucosinolates*, dan *isothiocinates* (Liu *et al.*, 2018). Berdasarkan uji fitokimia oleh Okumu *et al* (2016), diketahui bahwa daun kelor (*Moringa oleifera*

L.) memiliki banyak senyawa antioksidan, seperti alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, saponin, tannin, dan vitamin C (Okumu *et al.*, 2016).



2.10 Kerangka Konseptual



Gambar 2.15 Kerangka konseptual penelitian

Kerangka konseptual Gambar 2.15 menunjukkan metabolisme etanol menyebabkan kerusakan hepar. Etanol dari luar tubuh menyebabkan peningkatan *homocysteine* hepar yang teratogenik pada embrio ayam. *Homocysteine* diubah menjadi *cystathione* dibantu oleh *cystathione β -synthase*. Selanjutnya, *cystathione* diubah menjadi *cysteine* yang menyebabkan penurunan dari glutation sulfhidril (GSH). Selain itu, etanol meningkatkan radikal bebas melalui jalur metabolisme lipid peroksidase, mengaktivasi xantin oksidase dan sitokrom P450-2E1 (CYP2E1). Penurunan GSH menyebabkan ketidakseimbangan oksidan-antioksidan sehingga mengakibatkan jumlah radikal bebas dalam tubuh terus meningkat. Radikal bebas menyebabkan keadaan stres oksidatif yang mengaktivasi cPKCs, mengubah fungsi dan struktur yang berhubungan dengan pembentukan empedu sehingga mengganggu sekresi bilier dan terjadi retensi zat membentuk empedu. Hal ini menyebabkan terjadinya kolestasis. Radikal bebas dari etanol menyebabkan kolestasis karena keterlibatan kompresi radikal bebas pada intrahepatik biliaris atau adanya intervensi *basolateral uptake* dan transport intraseluler dari asam empedu maupun kerusakan hepatosit yang disebabkan rusaknya membran lipid, protein dan DNA hepatosit. Adanya kolestasis dan kerusakan hepatosit ini yang menyebabkan peningkatan kadar ALP. Senyawa antioksidan dalam ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) termasuk di dalamnya flavonoid diharapkan menurunkan kadar ALP melalui mekanisme donor atom hidrogen.

2.11 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dapat menurunkan enzim alkali fosfatase telur ayam berembrio yang diinduksi etanol.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis ekperimental murni (*true experimental laboratories*), bertujuan mengetahui suatu pengaruh atau gejala yang muncul akibat adanya perlakuan tertentu (Notoatmodjo, 2005).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *post-test only control group design*. Rancangan penelitian ini memilih kelompok penelitian yang dilakukan secara acak baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan, dimana setelah dipilih maka kelompok perlakuan dilakukan intervensi dan kelompok kontrol tidak, setelah itu melakukan pengukuran melalui *post-test* untuk membandingkan antara kedua kelompok (Hidayat, 2010). Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah telur ayam berembrio berusia 1 hari diperoleh dari peternak ayam berlokasi di Politeknik Negeri Jember. Sampel yang digunakan pada penelitian ini diambil dengan teknik *simple random sampling* dari populasi telur fertil yang kemudian dibagi menjadi 5 kelompok. Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus Federer, yaitu:

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

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

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

$$4r - 4 \geq 15$$

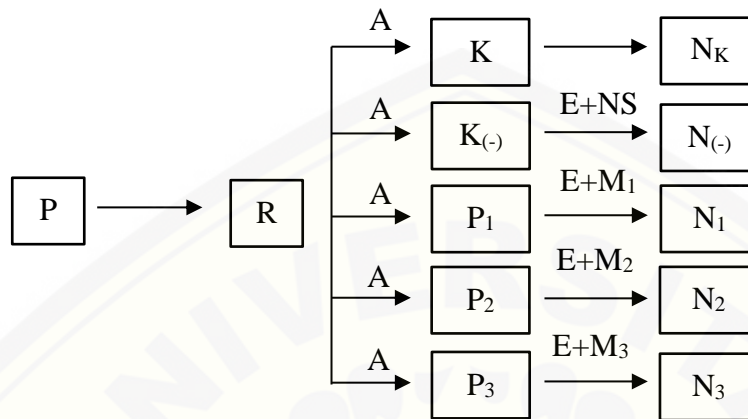
$$4r \geq 19$$

$$r \geq 4,75$$

t = jumlah perlakuan

r = banyaknya sampel yang dibutuhkan setiap kelompok perlakuan

Berdasarkan rumus tersebut, sampel yang dibutuhkan sebanyak 5 butir telur ayam berembrio untuk 5 kelompok sehingga jumlah sampel yang digunakan sebanyak 25 butir telur ayam berembrio.



- P : Populasi
 R : Randomisasi
 A : Adaptasi pada hari ke-1 sampai hari ke-11
 K : Kelompok kontrol
 K(-) : Kelompok kontrol negatif
 P₁ : Kelompok perlakuan 1
 P₂ : Kelompok perlakuan 2
 P₃ : Kelompok perlakuan 3
 E : Injeksi etanol 10% di *air sac* telur ayam pada hari ke-12
 NS : Pemberian normal salin
 M₁ : Pemberian ekstrak daun kelor 0,5 µg/mL di *air sac* telur ayam pada hari ke-13
 M₂ : Pemberian ekstrak daun kelor 5 µg/mL di *air sac* telur ayam pada hari ke-13
 M₃ : Pemberian ekstrak daun kelor 50 µg/mL di *air sac* telur ayam pada hari ke-13
 N_K : Nilai kadar ALP K
 N(-) : Nilai kadar ALP K(-)
 N₁ : Nilai kadar ALP P₁
 N₂ : Nilai kadar ALP P₂
 N₃ : Nilai kadar ALP P₃

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

3.3.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi sampel pada penelitian ini adalah

- Telur ayam fertil berusia satu hari
- Telur utuh, cangkang tidak rusak

3.3.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi sampel pada penelitian ini adalah

- a. Telur ayam tidak fertil
- b. Telur rusak

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan telur, pembuatan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.), dan pemeriksaan kadar ALP embrio telur ayam. Waktu pelaksanaan selama bulan November-Desember 2018.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) pada embrio telur ayam.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar alkali fosfatase (ALP) embrio telur ayam.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah:

- a. Pemeliharaan telur ayam
- b. Dosis dan frekuensi pemberian etanol

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) adalah hasil ekstraksi daun kelor menggunakan pelarut etanol 96%. Metode yang digunakan untuk mendapat ekstrak ini menggunakan metode maserasi (Kumala, 2016). Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) diberikan pada *air sac* telur ayam fertil setelah 1 hari induksi etanol 10%. Dosis ekstrak daun kelor yang digunakan sebesar 0,5 µg/mL; 5 µg/mL; dan 50 µg/mL.

3.6.2 Kadar ALP

Kadar alkali fosfatase (ALP) merupakan kadar yang digunakan untuk menunjukkan efektivitas ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) untuk menurunkan kadar ALP embrio ayam. Enzim ALP diukur menggunakan serum embrio ayam yang diambil dari cairan amnion embrio menggunakan *disposable syringe* sebanyak 1 mL (Hitesh, 2014). Kadar enzim ALP tersebut menunjukkan seberapa banyak sel hepatosit, membran sinusoid, dan kanalikuli yang rusak. Jika kadar enzimnya tinggi, menunjukkan semakin besarnya kerusakan hepar (Wuri, 2016). Kadar ALP diukur menggunakan metode IFCC (*International Federation of Clinical*) dengan mengambil cairan amnion embrio lalu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit (Hitesh, 2014). Hasil sentrifugasi diambil serumnya sebanyak 10 µL, kemudian dicampur dengan reagen ALP sebanyak 500 µL, lalu diamati hasil kadar ALP pada alat *semi-automated biochemistry analyzer*.

3.6.3 Model Percobaan

Model percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah telur ayam fertil yang merupakan persilangan dari ayam jantan ras kampung (*Gallus gallus domesticus*) dan ayam betina ras petelur (*Lohmann brown*). Pemeliharaan dilakukan di inkubator dalam suhu 37 °C selama 11 hari sebelum perlakuan. Telur ayam berjumlah 5 butir pada tiap kelompok perlakuan, sehingga keseluruhan terdapat 25 telur dalam penelitian ini.

3.6.4 Dosis dan Frekuensi Pemberian Etanol

Etanol yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol dengan konsentrasi 10% sebanyak 0,25 mL pada tiap telur yang diuji (N'nanle, 2017). Etanol diinjeksikan pada *air sac* telur pada hari ke-12 menggunakan *disposable syringe*.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah

- a. Alat untuk adaptasi telur adalah inkubator;
- b. Alat untuk pembuatan ekstrak daun kelor adalah blender, beaker, timbangan/neraca, evaporator, inkubator, kertas saring, corong, dan pengaduk;
- c. Alat untuk pemberian etanol dan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) adalah *beaker glass*, pengaduk, *disposable syringe*, plester;
- d. Alat untuk pengambilan cairan amnion telur adalah *disposable syringe* dan *handscoon*;
- e. Alat untuk pengukuran kadar ALP adalah *dispossable tube*, tabung reaksi, tabung *ependorf*, *semi-automated biochemistry analyzer*, vortex, rak, mikropipet, *blue tip*, dan *yellow tip*.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah

- a. Bahan untuk ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) adalah daun kelor dan etanol 96%;
- b. Bahan untuk injeksi adalah alkohol 10%, ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.), dan normal salin;
- c. Bahan untuk pengukuran kadar ALP adalah reagen ALP kit merk DIALAB D00523 dan serum cairan amnion embrio.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pembuatan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.)

Daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dicuci bersih dengan air, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 2-4 hari, lalu dihaluskan dengan blender. Daun kelor yang sudah dihaluskan dimaserasi dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:4, didiamkan selama 24 jam kemudian disaring, residu dimaserasi lagi sampai filtrat jernih (bisa sampai 5 kali penyaringan). Setelah jernih, filtrat dikumpulkan menjadi satu lalu dimasukkan ke *waterbath* untuk dipekatkan dan diuapkan oleh *waterbath* dengan suhu 60 °C sampai didapatkan ekstrak semi kental (Kumala, 2016).

3.8.2 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.)

Untuk membuat ekstrak daun kelor sesuai dosis yang diinginkan (N'nanle, 2017), dilakukan dengan cara:

- a. Membuat dosis 500 µg/mL (Larutan A), yaitu dengan 20 mL normal salin ditambah dengan 10 mg ekstrak daun kelor kemudian dihomogenisasi dengan vortex;
- b. Untuk membuat dosis 50 µg/mL (Larutan B), Larutan A diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambah normal salin 9 mL dalam tabung reaksi;
- c. Untuk membuat dosis 5 µg/mL (Larutan C), Larutan B diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambah normal salin 9 mL dalam tabung reaksi;
- d. Untuk membuat dosis 0,5 µg/mL (Larutan D), Larutan C diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambah normal salin 9 mL dalam tabung reaksi.

3.8.3 Perlakuan terhadap telur ayam

Perlakuan terhadap media telur ayam terdiri atas beberapa tahapan:

- a. Telur pada hari ke-0 dicuci dan diusap menggunakan alkohol 70%;
- b. Telur diinkubasi selama 11 hari pada suhu 37 °C dengan kelembaban 60-80%;

- c. Telur diinjeksi etanol 10% ke dalam *air sac* keseluruhan telur pada hari ke-12. Kemudian tempat injeksi ditutup dengan plester;
- d. Inkubasi kembali selama 24 jam;
- e. Injeksikan ekstrak daun kelor 100 μL dengan dosis 0,5 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, dan 50 $\mu\text{g/mL}$ pada masing masing kelompok telur pada lubang yang sama pada hari ke-13. Tempat injeksi ditutup dengan plester;
- f. Inkubasi hingga saat pengambilan data yaitu hari ke-15.

3.8.4 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan pengambilan cairan amnion embrio sebanyak 1 mL menggunakan *disposable syringe* pada embrio berusia 15 hari dan diletakkan dalam tabung. Selanjutnya cairan tersebut disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serumnya (Hitesh, 2014).

3.8.5 Penghitungan Kadar ALP Serum

Berdasarkan rekomendasi dari *International Federation of Clinical (IFCC)*, prinsip pengujian ALP menggunakan prinsip *Colorimetric*, yaitu dengan adanya magnesium dan zink, *4-nitrophenyl phosphate* akan diuraikan oleh fosfatase menjadi fosfat dan *4-nitrophenol*. *4-nitrophenol* yang dihasilkan berbanding lurus dengan aktivitas ALP katalitik.

Kadar ALP diukur menggunakan alat *semi-automated biochemical analyzer* merek Biolyzer. Reagen untuk pengukuran ALP menggunakan ALP mod.IFCC kit merek DIALAB D00523 yang diproduksi di Austria. Berikut ini adalah prosedur untuk memeriksa kadar ALP:

- a. Siapkan alat dan bahan;
- b. Ambil cairan amnion embrio kemudian sentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, lalu ambil serumnya;

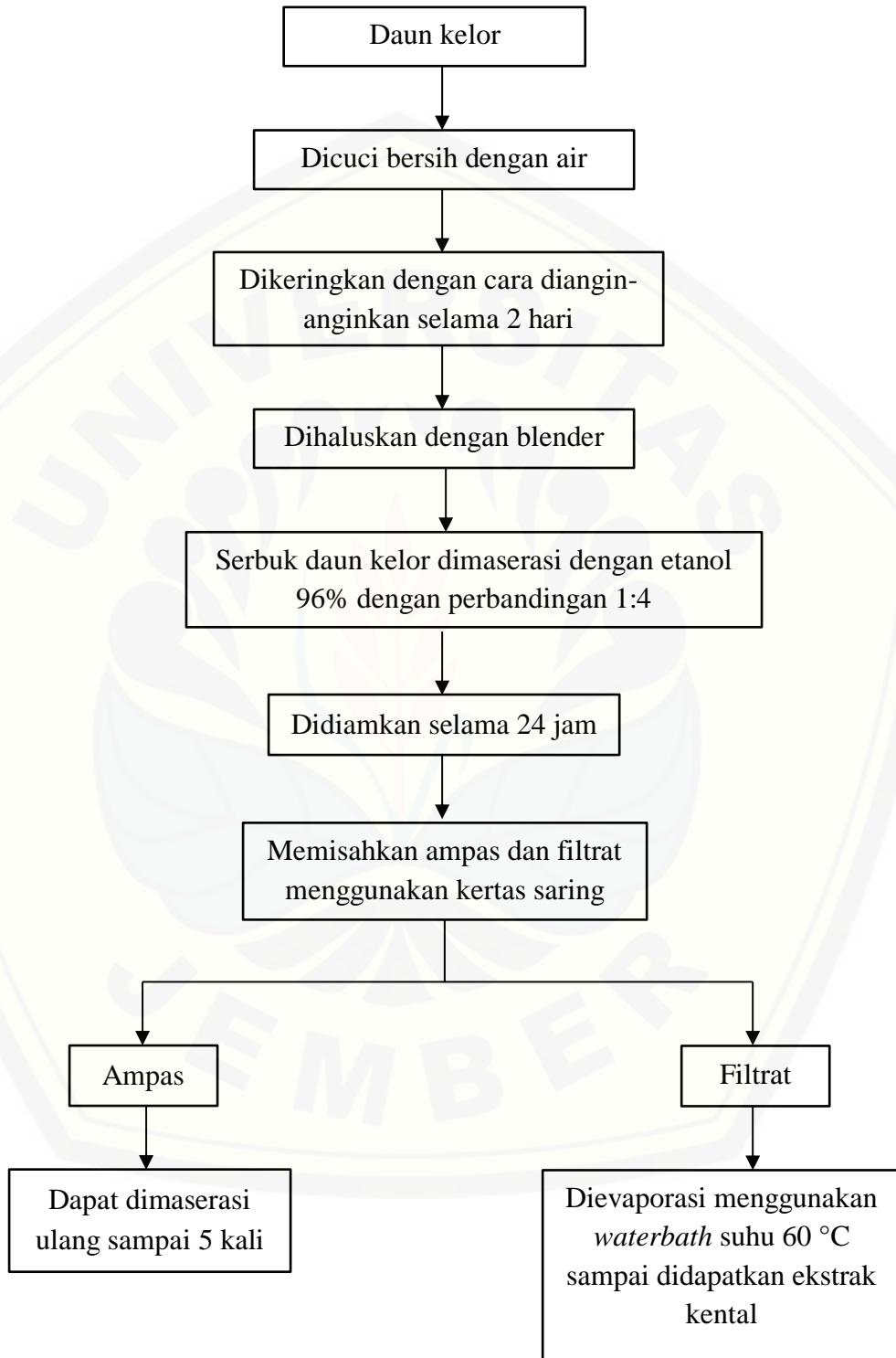
- c. Siapkan reagen, yaitu dengan mencampur reagen 1 (2-Amino-2-Methyl-1-Propanol, magnesium asetat, zinc sulfat, HEDTA) dan reagen 2 (p-Nitrophenolphosphate)
- d. Isi 25 tabung reaksi dengan masing-masing tabung berisi reagen sebanyak 500 μL ;
- e. Letakkan tabung yang berisi reagen tersebut ke dalam *waterbath* dengan suhu 37 $^{\circ}\text{C}$;
- f. Ukur $\Delta A/\text{min}$ *blank* dengan cara mencampur 10 μL aquades dengan 500 μL reagen dalam tabung reaksi, kemudian campur sampai homogen, lalu masukkan ke *semi-automated biochemical analyzer* dan amati absorbansi yang muncul;
- g. Ukur $\Delta A/\text{min}$ sampel dengan cara mencampur 10 μL sampel dengan 500 μL reagen, kemudian campur sampai homogen, lalu masukkan ke *semi-automated biochemical analyzer* dan amati kadar ALP yang muncul.

3.9 Analisis Data

Data yang didapat dianalisis secara komputerisasi dibantu dengan *software* program statistik SPSS 25.0. Uji statistik penelitian ini menggunakan uji *One Way ANOVA* karena jumlah perlakuan lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan. Sebelum melakukan uji tersebut, dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel <50 dan uji *Levene* untuk mengetahui homogenitas. Setelah data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* ($p < 0,05$) dan dilakukan analisis *Post Hoc*.

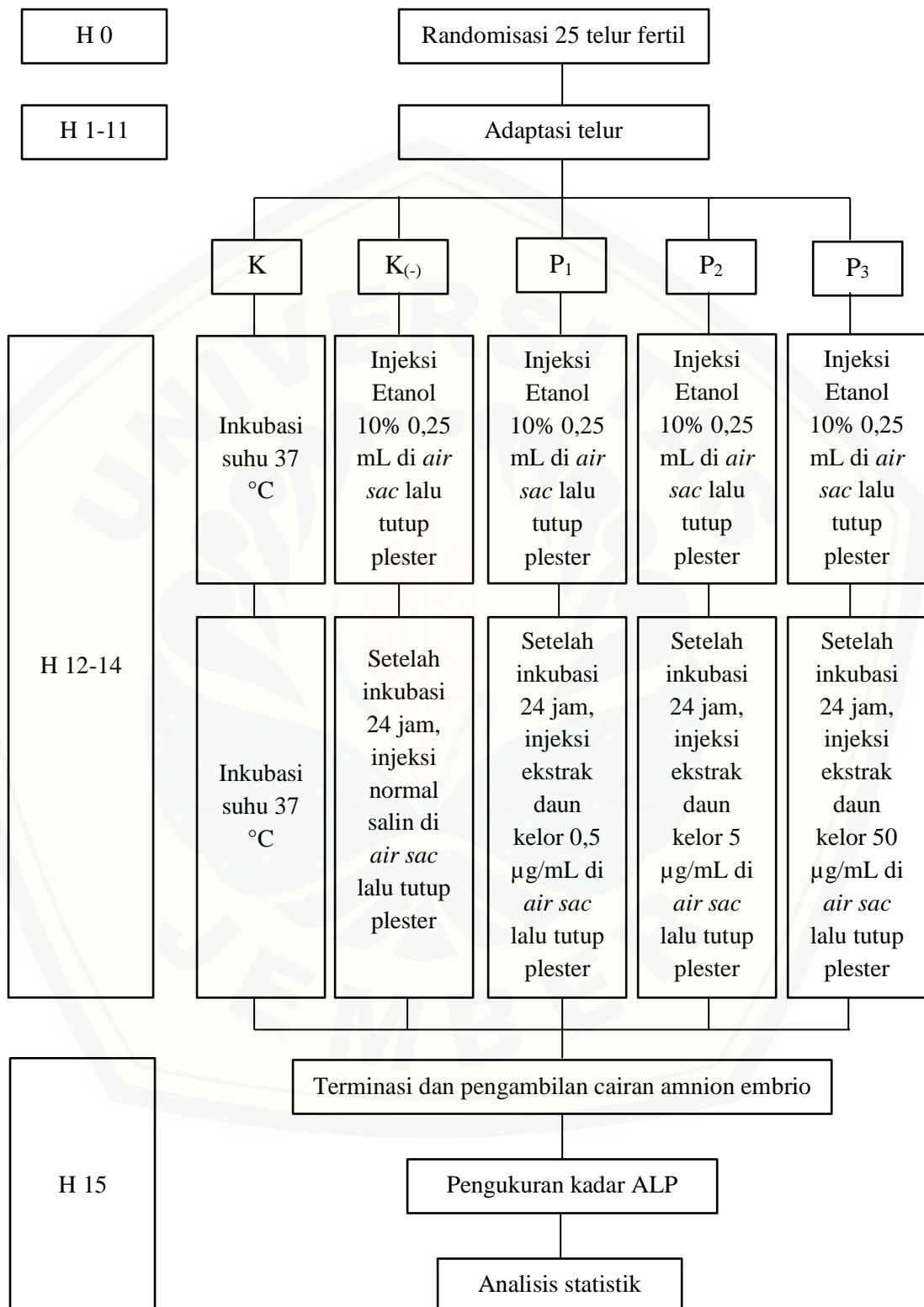
3.10 Alur Penelitian

3.10.1 Skema Pembuatan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.)



Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.)

3.10.2 Skema Perlakuan terhadap Telur Ayam



Gambar 3.3 Skema perlakuan terhadap telur ayam

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dapat menurunkan kadar enzim alkali fosfatase telur ayam berembrio yang diinduksi etanol.

5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan yang diperoleh pada penelitian ini, saran dari peneliti adalah sebagai berikut.

1. Perlu dipastikan telur ayam fertil yang dijadikan sampel memiliki karakteristik dan perlakuan yang sama.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek hepatoprotektor daun kelor (*Moringa oleifera* L.) pada embrio ayam dengan parameter yang lebih spesifik.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap kadar alkali fosfatase telur ayam berembrio yang diinduksi etanol dengan penambahan dosis ekstrak agar dapat dianalisis dosis efektifnya.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap hepatotoksisitas etanol pada model percobaan lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Adegbite, O. A., Omolaso B., Seriki S. A., dan Shatima C. 2016. Effects of *Moringa oleifera* Leaves in Hematological Indices in Humans. *Annals of Hematologi and Oncology*. 3(8): 1107
- Berning, E. J., Bernhardson, N., Coleman, K., Farhat, D. A., Gushrowski, C. M., Lanctot, A., Maddock, B. H., Michels, K. G., Mugge, L. A., Nass, C. M., Yearsley, S. M., dan Miller Jr., R. R. 2013. Ethanol and/or Taurine-Induced Oxidative Stress in Chick Embryo. *Journal of Amino Acids*.
- Brothers, E. 2011. Pediatric Ethanol Toxicity. State University of New York Downstate Medical Center. <http://emedicine.medscape.com/article/155050-overview#a0104> (Diakses pada 26 September 2018).
- Chandrakar, M., Raipure, R., Manwar, N., dan Chandrakar, S. 2010. Effect of Ethanol on Glucose, Protein, Cholesterol, and Calcium Level in the Amniotic Fluid of Chick Embryo. *An International Quarterly Journal of Life Sciences*. 5(2): 189-191.
- Da Silva, M., Dombre, C., Brionne, A., Monget P., Chesse, M., De Pauw, M., Mills, M., Combes-Soia, L., Labas, V., Guyot, N., Nys, Y., dan Rehault-Godbert, S. 2018. Proteomic Specificities of the Chicken Amniotic Fluid: The Unique Features of Proteins Depicting the Chicken Amniotic Fluid.
- Da Silva, M., Labas, V., Nys, Y., dan Rehault-Godbert, S. 2017. Investigating Proteins and Proteases Composing Amniotic and Allantoic Fluids during Chicken Embryonic Development. *Poultry Sciences*. 96:2931-2941.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2007.
- Diplock, A. T. 1991. Antioxidant Nutrients and Disease Prevention: an Overview. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 53: 314-321.
- Doty, M. 2011. Hamburger-Hamilton Staging Series (1951). *Embryo Project Encyclopedia*. <http://embryo.asu.edu/handle/10776/2280>. Diakses pada 20 Desember 2018.
- Estenbauer, H., Rothemeder, M. D., dan Waeg, G. 1991. Role of Vitamine E in Preventing the Oxidant of Low Density Lipoprotein. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 53: 314-321.
- Ezejindu, D. N., Chinweife, K. C., dan Ihentuge, C. J. 2013. The Effects of Moringa Extract on Liver Enzymes of Carbon Tetrachloride Induced

- Hepatotoxicity in Adult Wister Rats. *The International Journal of Engineering and Science*. 2(7): 54-49.
- Geokas, M., Lieber C., French S., Halsted, C. 1981. Ethanol, the Liver, and the Gastrointestinal Tract. *Ann Intern Med*. 95:198-211.
- Halliwell, B. dan Guteridge, J. M. C. 1991. Free Radical in Biology and Medicine. Oxford: Clarendon Press.
- Hamburger, V. dan Hamilton, H. L. 1951. A Series of Normal Stages in the Development of the Chick Embryo. *Journal of Morphology*. Vol. 55 No. 1.
- Hidayat A.A. 2010. Metode Penelitian Kesehatan Paradigma Kuantitatif. Jakarta: Heath Books.
- Hitesh, U. S. 2014. Hepatoprotective Effects of Herbal Drug on Adriamycin Induced Toxicity in Developing Chick Embryos. *American Journal of Advanced Drug Delivery*.
- Kee, J. L-F. 2007. Memahami Teori dan Praktik Biokimia Dasar Medis. Jakarta: EGC.
- Khosravi, A., Sharifi, I., Tavakkoli, H., Derakhshanfar, A., Keyhani, A. R., Salari, Z., Mosallanejad, S. S., dan Bamorovat, M. 2018. Embryonic Toxicopathological Effects of Meglumine Antimoniate Using a Chick Embryo Model. *Plos One*. 13(5).
- Kishore, R. K., Sudhakar, D., dan Parthasarathy, P. R. 2009. Embryo Protective Effect of Pomegranate (*Punica granatum L.*) Fruit Extract in Adriamycin-induced Oxidative Stress. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*. 46:106-111.
- Kosasih, E. N. 2008. Tafsiran Hasil Pemeriksaan Laboratorium Klinik. Jakarta: Karisma Publishing Group.
- Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L. 2007. Buku Ajar Patologi Robbins: Edisi 7 Volume 2. Alih bahasa oleh Pendit, B. Jakarta: EGC.
- Kusumawati, A., Febriany, R., Hananti, S., Dewi, M. S., dan Istiyawati, N. 2016. Perkembangan Embrio dan Penentuan Jenis Kelamin DOC (*Day-Old-Chicken*) Ayam Jawa Super. *Jurnal Sain Veteriner*. 34(1).
- Lee, N. dan Charles, E. 1998. Alkohol. Dalam Katzung. *Farmakologi Dasar dan Klinik* Edisi VI. EGC: Jakarta.

- Lui, F. 2017. Laboratory Tests in Liver Failure. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*.
- Mastan, N., Prasad, U. V., dan Parthasarathy, P. R. 2007. Protective Effect of *Bacopa Monniera* L. on Cytarabine Induced Biochemical Changes in Chick Embryo. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 22(1): 122-127.
- Mokdad, A. A., Lopez, A. D., Shahrzad, S., Lozano, R., Mokdad, A. H., Stanaway, J., Murray, C. J.L., dan Naghavi, M. 2014. Liver Cirrhosis Mortality in 187 Countries between 1980 and 2010: A Systematic Analysis. *BMC Medicine*. 12:145.
- N'nanle, O., Tete-Benissan, A., Tona, K., Teteh, A., Voemesse, K., Decuypere, E., dan Gbeassor, M. 2017. Effect of *In Vivo* Inoculation of *Moringa oleifera* Leaves Extract on Hatchability and Chicken Growth Performance. *European Poultry Science*. 81.
- Notoatmodjo, S. 2005. Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta: Rineka Cipta Nursalam.
- Okumu, M. O., Mbaria, J. M., Kanja, L. W., Gakuya, D. W., Kiama, S. G., dan Ochola, F. O. 2016. Phytochemical Profile and Antioxidant Capacity of Leaves of *Moringa oleifera* (Lam) Extracted using different solvent systems. *Journal of Pharmacology and Phytochemistry*. 5(4): 302-308.
- Ozaras, R., Tahan, V., Aydin, S., Uzun, H., Kaya, S., Senturk, H. 2003. N-acetylcysteine Attenuates Alcohol-induced Oxidative Stress in the Rat. *World Journal Gastroenterol*. 9(1):125-128.
- Pal, S., Ghatak, S., dan Chowdhury. 2011. Implications of Oxidative Stress in Pathogenesis of Cholestasis. *Tropical Gastroenterology*.
- Patten B. M. 1920. The Early Embryology of the Chick. Philadelphia: P: Blakiston's Son and Co.
- Prasek, M., Sawosz, E., Jaworski, S., Grodzik, M., Ostaszewska, T., Kamaszewski, M., Wierzbicki, M., dan Chwalibog. 2013. Influence of Nanoparticles of Platinum on Chicken Embryo Development and Brain Morphology. *Nanoscale Research Letters*. 8:251.
- Price, S. A., Wilson, L. M. 2006. Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Jakarta: EGC.
- Rochling, F. A. 2001. Evaluation of Abnormal Liver Tests. *Clinical Cornerstone: Liver Disorders*. Vol.3 No. 6.

- Saalu, L. C., Ogunlade, B., Ajayi, G. O., Oyewopo, A. O., Akunna, G. G., dan Ogunmodede, O. S. 2012. The Hepatoprotective Potentials of *Moringa oleifera* Leaf Extract on Alcohol-induced Hepatotoxicity in Wistar Rats. *American Journal Biotechnology and Molecular Sciences*. 2(1): 6-14.
- Sadek, K. M., Abouzed, T. K., dan Nasr, S. 2017. The Chemo-prophylactic efficacy of an Ethanol *Moringa oleifera* Leaf Extract Against Hepatocellular Carcinoma in Rats. *Pharmacology Biology*. 55(1): 1458-1466.
- Sadikin, M. 2001. Aktivitas Daya Tangkap Radikal Polifenol dalam Daun Teh. *Majalah Jurnal Indonesia*. 53-58.
- Schuckit, M. A. 2009. Alcohol-use disorder. *Lancet*. 373:492-501.
- Shih, M-C., Chang, C-M., Kang, S-M., dan Tsai, M-L. 2011. Effect of Different Parts (Leaf, Stem, and Stalk) and Seasons (Summer and Winter) on the Chemical Compositions and Antioxidant Activity of *Moringa oleifera*. *International Journal of Molecule Sciences*. 12: 6077-6088.
- Snell, R. S. 2012. Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem. Alihbahasa oleh Sugiharto, L. Jakarta: EGC.
- Sreelatha, S. dan Padma, P. R. 2009. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Moringa oleifera* Leaves in Two Stages of Maturity. *Plant Foods Human Nutrition*. 64:303-311.
- Suksaweang, S., Lin, C-M., Jiang, T-X., Hughes, M. W., WidELITZ, R. B., dan Chuong, C-M. 2004. Morphogenesis of Chicken Liver: Identification of Localized Growth Zones and the Role of β -catenin/Wnt in Size Regulation. *Developmental Biology*. 266:109-122.
- Sutedjo, A. Y. 2007. Mengenal Penyakit melalui Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Yogyakarta: Amara Books.
- Syed, M. I., Sohail, Md., Ilah, A., dan Ismeail, S. A. A. 2015. Androgaphis Paniculata Nees's Protective Role on Cytarabine Induced Oxidative Damage in Chick Embryo. *International Journal of Life Sciences Research*. Vol. 3(1): 45-49.
- Tung, B. Y. dan Carithers Jr, R. L. 1999. Cholestasis and Alcoholic Liver Disease. *Clinics in Liver Disease*. Vol. 3 No. 3.
- Valko, M, Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., dan Telser J. 2006. Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Human Disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 39:44-84.

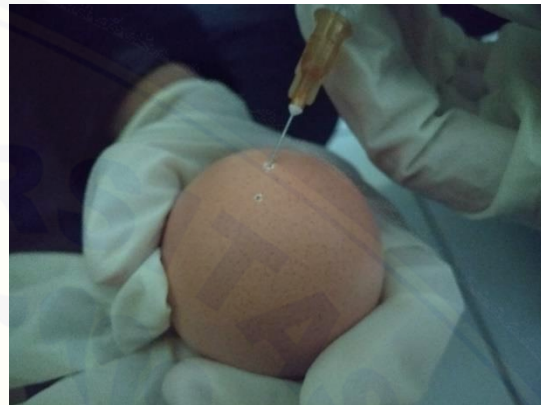
- Vroon, D.H. dan Israili, Z. 1990. Alkaline Phosphatase and Gamma Glutamyltransferase. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations 3rd Edition*. Boston: Butterworths.
- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius.
- World Health Organization. 2014. Global Status Report on Alcohol and Health. WHO Library Cataloguing-in-Publication-Data.
- Wright, R. J., Lee, K. S., Hyacinth, H. I., Hibbert, J. M., Reid M. E., Wheatley A. O., dan Asemota H. N. 2017. *Plants*. 6:48.
- Wuri, S. M. 2016. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar ALP Serum Mencit yang Diinduksi Isoniazid. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Yokouchi, Y. 2005. Establishment of a Chick Embryo Model for Analyzing Liver Development and a Search for Candidate Genes. *Develop. Growth Differ.* 47:357-366.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Perlakuan Telur Ayam Berembrio



Adaptasi Telur Ayam Fertil



Induksi Etanol



Induksi Ekstrak



Terminasi



Pengambilan Cairan Amnion

Lampiran 3.2 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)



Daun kelor



Daun kelor dihaluskan



Serbuk halus daun kelor



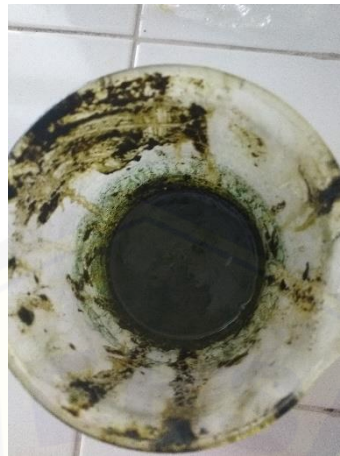
Maserasi



Penyaringan ekstrak



Evaporasi dengan *waterbath*



Hasil ekstrak daun kelor

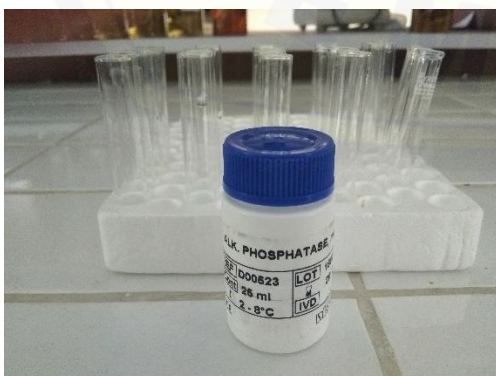
Lampiran 3.3 Pemeriksaan Kadar ALP



Cairan Amnion Embrio Ayam



Sentrifuge untuk memisahkan serum



Reagen ALP



Semi-automated biochemistry analyzer

Lampiran 3.4 Persetujuan Etik Penelitian

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember
68121 – Email : fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA
Nomor : 1.224/H25.1.11/KE/2018

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

EFEK EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera L.*) TERHADAP KADAR ALKALI FOSFATASE PADA TELUR AYAM BEREMBRIO YANG DIINDUKSI ETANOL

Nama Peneliti Utama : Nabela Karima Putri
Name of the principal investigator

NIM : 152010101110

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 26-12-2018
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

Penelitian dapat dilanjutkan, dengan memperhatikan :


- ~ pembuangan limbah medis ^{dan limbah B3} agar tidak mencemari lingkungan
- ~ mohon diperhatikan Kalibrasi alat dan kontrol kualitas pemeriksaan kadar alkali fosfatase

Jember, 26 - 12 - 2018

Reviewer



Nama: dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Lampiran 3.5 Rekomendasi Bebas Plagiasi

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jl. Kalimantan 1/37 Kampus Tegal Boto. Telp. (0331) 337877, Fax (0331) 324446
Jember 68121.

REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI

Nomor : 22 /H25.1.11/KBSI/2018

Komisi bimbingan Skripsi dan Ilmiah, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya peningkatan kualitas dan originalitas karya tulis ilmiah mahasiswa berupa skripsi, telah melakukan pemeriksaan plagiasi atas skripsi yang berjudul :


EFEK EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP KADAR ALKALI FOSFATASE PADA TELUR AYAM BEREMBRIO YANG DIINDUKSI ETANOL

Nama Penulis : Nabela Karima Putri
NIM. : 152010101110
Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

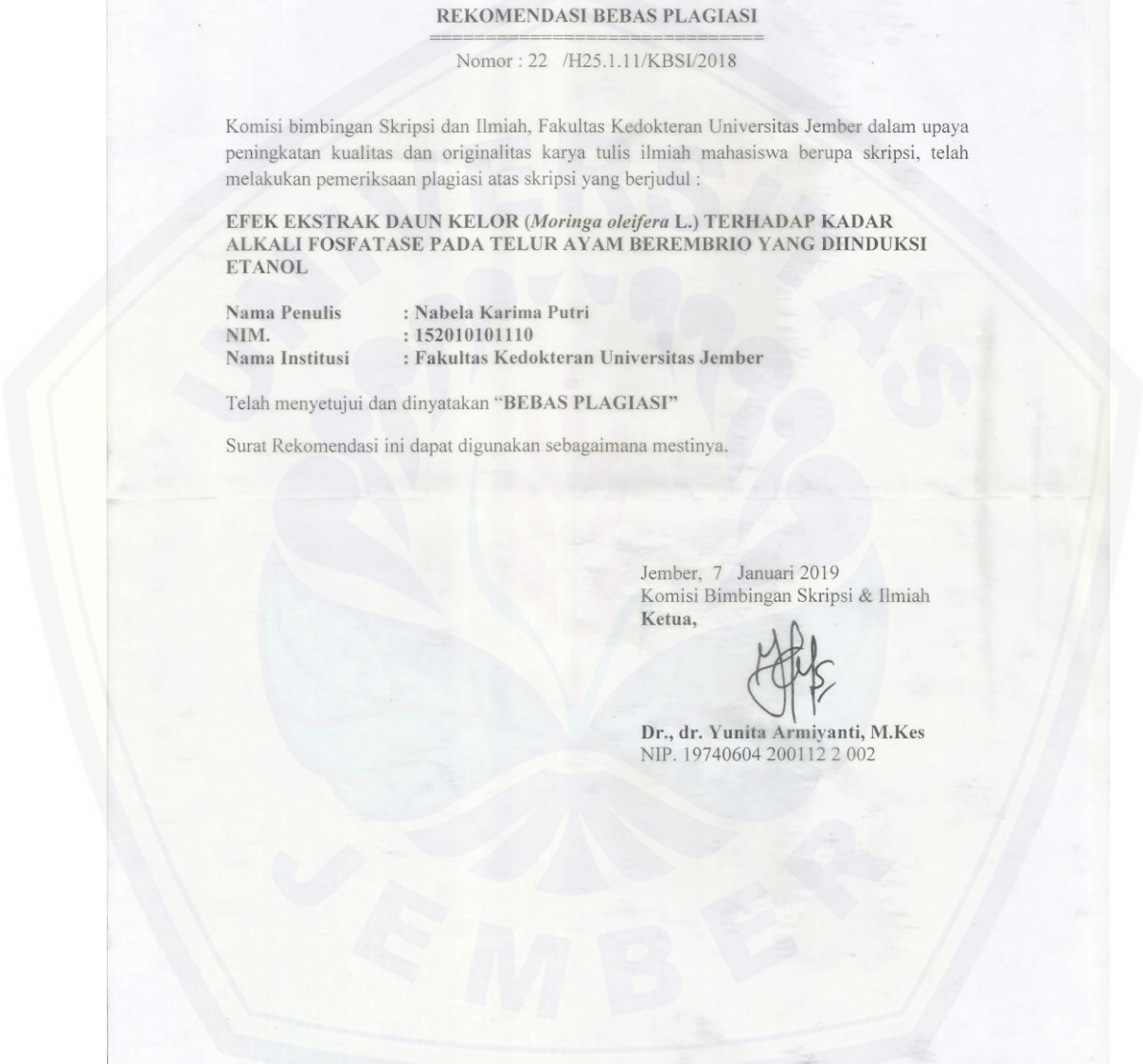
Telah menyetujui dan dinyatakan "BEBAS PLAGIASI"

Surat Rekomendasi ini dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 7 Januari 2019
Komisi Bimbingan Skripsi & Ilmiah
Ketua,



Dr., dr. Yunita Armiyanti, M.Kes
NIP. 19740604 200112 2 002



Lampiran 4.1 Hasil Kadar ALP

| Kelompok | Sampel | Kadar ALP (U/L) |
|------------------|--------|-----------------|
| K | 1 | 14,9 |
| | 2 | 24,7 |
| | 3 | 8,15 |
| | 4 | 4,33 |
| | 5 | 15,65 |
| K ₍₋₎ | 1 | 25,7 |
| | 2 | 19,34 |
| | 3 | 36,72 |
| | 4 | 28,54 |
| | 5 | 34,03 |
| P ₁ | 1 | 31,8 |
| | 2 | 15,54 |
| | 3 | 27,29 |
| | 4 | 28,18 |
| | 5 | 39,6 |
| P ₂ | 1 | 25,88 |
| | 2 | 8,58 |
| | 3 | 23,17 |
| | 4 | 40,09 |
| | 5 | 16,81 |
| P ₃ | 1 | 12,11 |
| | 2 | 5,22 |
| | 3 | 18,14 |
| | 4 | 28,78 |
| | 5 | 10,97 |

Lampiran 4.2 Hasil Uji Normalitas Data (*Saphiro Wilk*)

| | | Tests of Normality | | | | | |
|-----|----------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
| | Kelompok | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| ALP | normal | ,194 | 5 | ,200* | ,963 | 5 | ,826 |
| | etanol | ,174 | 5 | ,200* | ,972 | 5 | ,888 |
| | kelor 1 | ,246 | 5 | ,200* | ,961 | 5 | ,813 |
| | kelor 2 | ,200 | 5 | ,200* | ,979 | 5 | ,929 |
| | kelor 3 | ,229 | 5 | ,200* | ,945 | 5 | ,702 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 4.3 Hasil Uji Homogenitas Data (*Levene*)

| | | Test of Homogeneity of Variances | | | |
|-----|--------------------------------------|----------------------------------|-----|--------|------|
| | | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| ALP | Based on Mean | ,234 | 4 | 20 | ,916 |
| | Based on Median | ,196 | 4 | 20 | ,938 |
| | Based on Median and with adjusted df | ,196 | 4 | 17,163 | ,937 |
| | Based on trimmed mean | ,235 | 4 | 20 | ,915 |

Lampiran 4.4 Hasil Uji *One Way Anova*

| ANOVA | | | | | | |
|-------|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| ALP | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| | Between Groups | 1047,840 | 4 | 261,960 | 3,266 | ,032 |
| | Within Groups | 1604,156 | 20 | 80,208 | | |
| | Total | 2651,995 | 24 | | | |

Lampiran 4.5 Hasil Uji *Post-Hoc* LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALP

LSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------|--------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| normal | etanol | -15,32000* | 5,66420 | ,014 | -27,1353 | -3,5047 |
| | kelor 1 | -14,93600* | 5,66420 | ,016 | -26,7513 | -3,1207 |
| | kelor 2 | -9,36000 | 5,66420 | ,114 | -21,1753 | 2,4553 |
| | kelor 3 | -1,49800 | 5,66420 | ,794 | -13,3133 | 10,3173 |
| etanol | normal | 15,32000* | 5,66420 | ,014 | 3,5047 | 27,1353 |
| | kelor 1 | ,38400 | 5,66420 | ,947 | -11,4313 | 12,1993 |
| | kelor 2 | 5,96000 | 5,66420 | ,305 | -5,8553 | 17,7753 |
| | kelor 3 | 13,82200* | 5,66420 | ,024 | 2,0067 | 25,6373 |
| kelor 1 | normal | 14,93600* | 5,66420 | ,016 | 3,1207 | 26,7513 |
| | etanol | -,38400 | 5,66420 | ,947 | -12,1993 | 11,4313 |
| | kelor 2 | 5,57600 | 5,66420 | ,337 | -6,2393 | 17,3913 |
| | kelor 3 | 13,43800* | 5,66420 | ,028 | 1,6227 | 25,2533 |
| kelor 2 | normal | 9,36000 | 5,66420 | ,114 | -2,4553 | 21,1753 |
| | etanol | -5,96000 | 5,66420 | ,305 | -17,7753 | 5,8553 |
| | kelor 1 | -5,57600 | 5,66420 | ,337 | -17,3913 | 6,2393 |
| | kelor 3 | 7,86200 | 5,66420 | ,180 | -3,9533 | 19,6773 |
| kelor 3 | normal | 1,49800 | 5,66420 | ,794 | -10,3173 | 13,3133 |
| | etanol | -13,82200* | 5,66420 | ,024 | -25,6373 | -2,0067 |
| | kelor 1 | -13,43800* | 5,66420 | ,028 | -25,2533 | -1,6227 |
| | kelor 2 | -7,86200 | 5,66420 | ,180 | -19,6773 | 3,9533 |

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