

ISSN : 1411-8327

Jurnal Veteriner

JURNAL KEDOKTERAN HEWAN INDONESIA

Vol 12 No 2 Juni 2011

Efikasi Piperazine terhadap
Toxocara Vitulorum pada Pedet Kerbau

Respons Peristalsis Usus Halus
yang Diinfeksi *Eimeria magna*

Preservasi Ovarium Domba
dan Pengaruhnya terhadap Morfologi

Siklus Estrus Berdasarkan Sitologi Vagina
dan Hormon pada Rusa Timor

Urinalisis Menggunakan *Dipstick* pada Sapi Bali
Kualitas Tulang yang Diberi Ekstrak Sipatah-patah

Ubijalar Ungu Menurunkan Kolesterol
dan Meningkatkan Antioksidan

Tepung Rumput Laut Menaikkan
Kadar Superoksida Dismutase Ginjal

Perilaku Harian Simpai dalam Kandang Penangkaran

Analisis RAPD Agen Zoonosis *E.coli* O157:H7

Karakteristik dan Patogenisitas
Streptococcus agalactie Ikan Nila

Diakreditasi Dirjen Dikti SK No 65a/DIKTI/Kep/2008 Tanggal 15 Desember 2008

Vol 12, No 2 Juni 2011
Terakreditasi Dirjen Dikti
S.K. No. 65a/DIKTI/Kep/2008

Jurnal Veteriner

Jurnal Kedokteran Hewan Indonesia
(Terbit : Maret, Juni, September, Desember)

ISSN : 1411-8327
Website : ejournal.unud.ac.id
Jurnal Tiga Bulanan



Sabri, anjing pelacak bom dianugrahi gelar pahlawan dan memperoleh tanda jasa Purple Cross dari negara Australia. Sabri, anjing labrador hitam pemberani sempat tiga belas bulan hilang setelah unitnya kocar-kacir diserang Taliban. Upaya pencarian pun tanpa hasil. Sampai suatu saat angkatan bersenjata Amerika Serikat menemukan Sabri hidup dengan sembilan luka tembak di tubuhnya bersama keluarga Afganistan yang menampungnya.

PEMIMPIN UMUM : I WAYAN BATAN **DEWAN REDAKSI** : NYOMAN MANTIK ASTAWA (KETUA), IDA BAGUS ARKA, NYOMAN SADRA DHARMAWAN, IWAN H. UTAMA, I GUSTI NGURAH KADE MAHARDIKA, I KETUT PUJA, I KETUT SUATHA, TJOK GDE OKA PEMAYUN, ROOSTITA L. BALIA, I KETUT BERATA, **REDAKTUR PELAKSANA** : I NYOMAN SUARTHA & I G M KRISNA ERAWAN, **SEKRETARIS REDAKSI** : I NYOMAN SUARSANA, **STAF REDAKSI** : I WAYAN SUARDANA, I GUSTI NGURAH SUDISMA, AIDA LOUISE TENDEN ROMPIS, NI GUSTIAGUNGAYU SUARTINI, I MADE SUKADA, ANAK AGUNG SAGUNG KENDRAN, ANAK AGUNG AYU MIRAH ADI, I MADE KARDENA. **TATA USAHA** : PUDJI RAHARDJO, WERDI SUSARI. **KANTOR REDAKSI & ALAMAT SURAT** : KLINIK HEWAN FKH UNUD, Jl. Raya Sesetan Gg. Markisa 6 Banjar Gaduh, Denpasar - Bali. **PENERBIT** : FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN, UNIVERSITAS UDAYANA BEKERJA SAMA DENGAN PERHIMPUNAN DOKTER HEWAN INDONESIA. **REKENING** : NOMOR 0118628705 A/N drh. I NYOMAN SUARTHA, M.Si BNI CABANG DENPASAR **DICETAK OLEH**: PERCETAKAN PELAWA SARI, JL. ANTOSURA 33 DENPASAR

Setiap naskah yang dikirim ke redaksi untuk dipublikasikan dalam Jurnal Veteriner akan dipandang sebagai karya asli penulis dan bila diterima, naskah tersebut tidak diperkenankan dipublikasikan lagi secara keseluruhan ataupun sebagian tanpa seijin Jurnal Veteriner.

DAFTAR ISI

Vol 12, No 2 Juni 2011
Terakreditasi Dirjen Dikti
S.K. No. 65a/DIKTI/Kep/2008

Jurnal Veteriner

Jurnal Kedokteran Hewan Indonesia
Indonesian Veterinary Journal

ISSN : 1411-8327
Website : ejournal.unud.ac.id
Terbit sejak 18 Desember 2000

Naskah Asli Original Article

- FADJAR SATRIJA, YUSUF RIDWAN, ELOK B. RETNANI**
Efficacy Of Piperazine Dihydrochloride Against *Toxocara Vitulorum* In Buffalo Calves
(EFIKASI PIPERAZIN DIHIDROKLORIDA TERHADAP CACING *Toxocara vitulorum*
PADA PEDET KERBAU) 77-82
- AMELIA HANA, SOESANTO MANGKOEWDJOJO, SITI ISRINA OKTAVIA SALASIA,
DWILILIEK KUSINDARTA**
Respons Peristalsis dan Neuron Mienterik Nitrergik Usus Halus Kelinci yang Diinfeksi
Eimeria magna
THE RESPONSE OF SMALL INTESTINE PERISTALSIS AND NEURONS MYENTERIC NITRERGIC
OF RABBIT INFECTED BY EIMERIA MAGNA 83-90
- BAYU ROSADI, M. AGUS SETIADI, DONDIN SAJUTHI, ARIEF BOEDIONO**
Preservasi Ovarium Domba dan Pengaruhnya terhadap Morfologi Folikel
(THE OVARY PRESERVATION AND ITS EFFECT ON THE MORPHOLOGY OF EWE FOLLICLES) 91-97
- WILMIENTJE MARLENE MESANG NALLEY, RISTIKA HANDARINI, MUHAMMAD RIZAL,
RADEN H.SARIFIANTINI, TUTY LASWARDI YUSUF DAN BAMBANG PURWANTARA**
Penentuan Siklus Estrus Berdasarkan Gambaran Sitologi Vagina dan Profil Hormon
pada Rusa Timor
(DETERMINATION OF THE ESTROUS CYCLE BASED ON VAGINAL CYTOLOGY AND HORMONE
PROFILE IN TIMOR HIND) 98-106
- IWAN HARJONO UTAMA, EVI MARIETI HUTAGALUNG, I WAYAN PUSPA ARI LAXMI,
IGUSTI MADE KRISNA ERAWAN, SRI KAYATI WIDYASTUTI, LUH EKA SETIASIH,
KETUT BERATA, IDA BAGUS K. ARDANA**
Urinalisis Menggunakan Dua Jenis *Dipstick* pada Sapi Bali
(URINALYSIS USING TWO KIND OF DIPSTICKS IN BALI CATTLE) 107-112
- SABRI MUSTAFA, NURHIDAYAT, KOESWINARNING SIGIT,
BAMBANG PONTJO PRISOERYANTO, WASMEN MANALU**
Kualitas Tulang Tikus Betina Normal yang Diberi Ekstrak Sipatah-patah
pada Masa Pertumbuhan
THE QUALITY OF BONE GROWTH OF FEMALE RATS FED SUPPLEMENTED
WITH SIPATAH-PATAH EXTRACTS DURING GROWING PERIOD 113-119
- IMADE JAWI, KETUT BUDIASA**
Ekstrak Air Umbi Ubijalar Ungu Menurunkan Total Kolesterol serta Meningkatkan
Total Antioksidan Darah Kelinci
WATER EXTRACT OF PURPLE SWEET POTATO TUB DECREASE TOTAL CHOLESTEROL
AND INCREASE TOTAL ANTIOXIDANT IN THE BLOOD OF RABBIT 120-125
- TUTIK WRESDIYATI, ANS BUDI HARTANTA, DAN MADE ASTAWAN**
Tepung Rumput Laut *Eucheuma Cottonii* Menaikkan Level Superoksida Dismutase
Ginjal Tikus Hiperkolesterolemia
(SEAWEED EUCEUMA COTTONII INCREASED THE LEVEL OF SUPEROXIDE
DISMUTASE IN KIDNEY OF HYPERCHOLESTEROLEMIC RATS) 126-135
- WIRDATETI, HADI DAHRUDDIN**
Perilaku Harian Simpai (*Presbytis melalophos*) dalam Kandang Penangkaran
(THE DAILY ACTIVITY BEHAVIOUR OF PRESBITYS MELALOPHOS IN CAPTIVE) 136-141
- IWAYAN SUARDANA, WAYAN TUNAS ARTAMA, WIDYAASMAR, DAN BUDI SETIADI DARYONO**
Studi Epidemiologi Agen Zoonosis *Escherichia coli* O157:H7 melalui Analisis
Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD)
(EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF ZOONOTIC AGENT *Escherichia coli* O157:H7
BY RANDOM AMPLIFICATION OF POLYMORPHIC DNA ANALYSIS) 142-151
- ESTI HANDAYANI HARDI, SUKENDA, ENANG HARRIS, ANGELA MARIANA LUSIASTUTI**
Karakteristik dan Patogenisitas *Streptococcus agalactiae* Tipe β -hemolitik dan Non-hemolitik
pada Ikan Nila
CHARACTERIZATION AND PATHOGENICITY OF BETA AND NON HAEMOLYTIC
Streptococcus agalactiae IN CULTURED NILA TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) 152-164

Tepung Rumput Laut (*Eucheuma Cottonii*) Menaikkan Level Superoksida Dismutase (Sod) Ginjal Tikus Hiperkolesterolemia

(SEAWEED *EUCHEUMA COTTONII* INCREASED THE LEVEL OF SUPEROXIDE
DISMUTASE [SOD] IN KIDNEY OF HYPERCHOLESTEROLEMIC RATS)

Tutik Wresdiyati¹, Ans Budi Hartanta², Made Astawan²

¹Laboratorium Histologi, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

Jl. Agathis Kampus IPB Dramaga Bogor 16680,

Telp : 0251-8626064, Fax : 0251-8629464, e-mail:tutikwr@indo.net.id

²Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB

ABSTRAK

Aktivitas antioksidan superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase telah dilaporkan menurun pada kondisi hiperkolesterolemia. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa peranan tepung rumput laut (*Eucheuma cottonii*) dalam menaikkan kandungan antioksidan cooper, zinc-superoksida dismutase (Cu,Zn-SOD) di jaringan ginjal tikus hiperkolesterolemia. Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus jantan galur Wistar, yang dibagi menjadi empat kelompok perlakuan ; (1) kelompok kontrol negatif (A), (2) dan (3) adalah kelompok hiperkolesterolemia yang masing-masing mendapat perlakuan tepung rumput laut sebanyak 5% (B) dan 10% (C), dan (4) kelompok hiperkolesterolemia sebagai kelompok kontrol positif (D). Perlakuan dilakukan selama 35 hari. Kondisi hiperkolesterolemia (>130 mg/dL), kecuali kelompok A, diperoleh dengan pemberian pakan yang mengandung kolesterol sebanyak 1% dan air minum *ad libitum* selama 40 hari. Analisis serum terhadap kadar kolesterol total dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan. Jaringan ginjal diambil pada akhir masa perlakuan, dan diproses menggunakan metode standar embedding dengan paraffin. Potongan jaringan diwarnai dengan teknik imunohistokimia terhadap Cu,Zn-SOD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan tepung rumput laut berpengaruh terhadap kadar kolesterol total serum ke level normal, meningkatkan kadar kolesterol serum, memperbaiki kerusakan jaringan ginjal, dan meningkatkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD di ginjal tikus hiperkolesterolemia. Serat pangan dan aktivitas antioksidan dalam tepung rumput laut 10% memberikan efek lebih baik dibandingkan yang 5%.

Kata-kata kunci : Superoksida dismutase (SOD), rumput laut (*Eucheuma cottonii*), ginjal, hiperkolesterolemia, imunohistokimia

ABSTRACT

Hypercholesterolemia condition was reported can decrease activities of antioxidant superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxide. This study was conducted to observe the role of seaweed (*Eucheuma cottonii*) powder in increasing the level of antioxidant cooper, zinc-superoxide dismutase (Cu,Zn-SOD) in kidney tissues of hypercholesterolemic rats. Twenty male Wistar rats were used in this study. Those rats were divided into four groups ; (1) Negative control group (A), (2) and (3) were hypercholesterolemic groups that were treated with 5% (B), and 10% (C) of seaweed powder, and (4) Hypercholesterolemic group as positive control (D). The treatment was carried out for 35 days. Hypercholesterolemia condition (>130 mg/dl), except for group A, was achieved by feeding the rat with commercial diet containing 1% cholesterol and drinking water *ad libitum* for 40 days. Serum total cholesterol was analyzed both before and after treatment. Rat kidneys were taken at the end of treatment, and processed by using paraffin embedding standard method. The tissues were then stained using immunohistochemical technique to Cu,Zn-SOD. The results showed the seaweed powder decreased serum total cholesterol, increased caecum cholesterol, repaired alteration of kidney tissues, and increased the level of antioxidant Cu,Zn-SOD in the kidney of hypercholesterolemic rats. Dietary fibers and antioxidant activity of 10% seaweed powder was better than the of 5%.

Key words : Superoxide dismutase (SOD), seaweed-*Eucheuma cottonii*, kidney, hypercholesterolemia, immunohistochemistry

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskuler yang paling sering menyerang usia produktif adalah penyakit jantung koroner (PJK) dan gangguan yang mendasari terjadinya PJK adalah aterosklerosis. Faktor resiko utama yang memengaruhi timbulnya PJK adalah peningkatan kadar kolesterol hingga melebihi 200mg/dL, yang disebut hiperkolesterolemia (Marinetti 1990). Hal tersebut biasanya diikuti dengan tingginya kadar *low density lipoprotein* (LDL), yang mudah teroksidasi. Hasil samping oksidasi LDL adalah radikal bebas. Sehingga pada kondisi hiperkolesterolemia terbentuk radikal bebas yang berlebihan. Hal inilah yang menyebabkan antioksidan intrasel superoksida dismutase menurun seperti yang dilaporkan oleh Wresdiyati *et al.*, (2006a; 2006b).

Pada kondisi stres oksidatif, level radikal bebas yang sangat tinggi dapat bereaksi dengan makromolekul sel seperti DNA, protein, dan lemak yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan makromolekul tersebut (Valko *et al.*, 2006; 2007). Kerusakan tersebut dapat berlanjut dengan terjadinya beberapa penyakit dan proses degenerasi seperti ketuaan dan karsinogenesis (Halliwell dan Gutteridge, 1998). Kondisi stress oksidatif harus segera ditangani untuk mengurangi dampak yang ditimbulkan. Salah satu indikator keberhasilan penanganan kondisi stres oksidatif adalah status antioksidan intrasel atau antioksidan endogen, yang meliputi *catalase*, *glutathione peroxidase*, dan *superoxide dismutase*.

Sel-sel penghasil *superoxide dismutase* telah berhasil dideteksi pada jaringan manusia, tikus, dan *Macaca fascicularis* (Dobashi *et al.*, 1989; Wresdiyati dan Makita 1997; Wresdiyati *et al.*, 2003; Wresdiyati, 2008). Profil antioksidan *superoxide dismutase* (SOD) telah dilaporkan menurun pada kondisi patologis seperti stres, diabetes melitus, dan hiperkolesterolemia (Wresdiyati *et al.*, 2002; Wresdiyati, 2003; Wresdiyati *et al.*, 2003; Wresdiyati *et al.*, 2006a; 2006b). Srivastava *et al.*, (2007) melaporkan Cu,Zn-SOD menurun pada jantung tikus yang mengalami stres oksidatif.

Rumput laut merupakan salah satu kekayaan alam Indonesia. Hampir 70% wilayah Indonesia terdiri dari laut yang pantainya kaya akan berbagai jenis sumber hayati, di antaranya adalah rumput laut. Rumput laut termasuk jenis alga, yang dikelompokkan menjadi empat

kelas, yaitu alga hijau (*Chlorophyceae*), alga hijau biru (*Cyanophyceae*), alga coklat (*Phaeophyceae*) dan alga merah (*Rhodophyceae*) (Winarno, 1990). Rumput laut jenis *Euचेuma cottonii* termasuk dalam alga merah yang banyak ditemukan di Indonesia (Winarno, 1996). Komponen penting rumput laut adalah serat pangan yang tinggi. Telah dilaporkan rumput laut merah (*Callophylliss japonica*) juga mengandung antioksidan (Kang *et al.*, 2005). Diet tinggi serat pangan dapat menurunkan konsentrasi kolesterol serum penderita hiperkolesterolemik, menurunkan kebutuhan insulin pada penderita diabetes, menurunkan konsentrasi trigliserida serum bagi penderita hipertrigliseridemia, mempunyai efek pengobatan terhadap penderita obesitas, menurunkan resiko atherosklerosis dan beberapa kanker tertentu (Astawan, 1999; Astawan *et al.*, 2003). Anderson *et al.*, (1994) juga melaporkan bahwa serat pangan menurunkan konsentrasi kolesterol.

Penelitian ini merupakan upaya dalam mengatasi penurunan antioksidan *superoxide dismutase* pada kondisi hiperkolesterolemia. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi profil kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD, secara imunohistokimia, pada jaringan ginjal tikus hiperkolesterolemia yang diberi tepung rumput laut. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar dalam upaya mengatasi kelainan antioksidan intrasel terutama Cu, Zn-SOD pada kondisi hiperkolesterolemia.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Tepung Rumput Laut

Bahan yang digunakan adalah rumput laut spesies *Euचेuma cottonii* yang diperoleh dari Lampung. Pembuatan tepung rumput laut (TRL) meliputi tahapan: perendaman, pencucian dan penirisan, pengecilan ukuran menggunakan *grinder* (3 menit), pengeringan dan penggilingan. Pengeringan butiran rumput laut menggunakan *drum dryer* pada suhu $\pm 90-100^{\circ}\text{C}$, tekanan 4 Bar. Penggilingan dengan *disc mill* berukuran 40 *mesh*, dan dihasilkan tepung rumput laut.

Analisis Tepung Rumput Laut

Analisis yang dilakukan pada tepung rumput laut meliputi:

Tabel 1. Komposisi ransum tikus yang digunakan (Sumber : dimodifikasi dari AOAC, 1995)

Bahan (%)	Kelompok Perlakuan			
	A	B	C	D
Kasein	10,5	10,5	10,5	10,5
Minyak jagung	7,9	7,9	7,9	7,9
Tepung rumput laut	-	5	10	-
Selulosa	1	1	1	1
Mineral mixture	4,8	4,8	4,8	4,8
Vitamin mixture	1	1	1	1
Air	3,8	3,8	3,8	3,8
Kolesterol	-	1	1	1
Maizena	71	65	60	70

Keterangan : Kelompok A : 0 % kolesterol, 0 % TRL
 Kelompok B : 1 % kolesterol, 5 % TRL
 Kelompok C : 1 % kolesterol, 10 % TRL
 Kelompok D : 1 % kolesterol, 0 % TRL

- Analisis proksimat (kadar air, abu, lemak, protein, dan karbohidrat) (AOAC, 1995).
- Analisis kadar *dietary fiber* (kadar *dietary fiber* larut, tidak larut dan total *dietary fiber* pada tepung rumput laut) (Asp *et al.*, 1983).

Formulasi Ransum, Perlakuan Hewan Percobaan, dan Sampling

Sejumlah 20 ekor tikus jantan (galur Wistar) dewasa (200±5 g) dibagi dalam 4 kelompok perlakuan, yaitu (1) kelompok kontrol negatif (A), (2) dan (3) adalah kelompok hiperkolesterolemia yang diberi pakan 5 % (B) dan 10% (C) tepung rumput laut, dan (4) kelompok kontrol positif atau kelompok hiperkolesterolemia yang tidak diberi tepung rumput laut (D). Peningkatan kolesterol dilakukan dengan pemberian ransum yang mengandung kolesterol 1% selama 40 hari (Wresdiyati *et al.*, 2006a; 2006b). Setelah tercapai kondisi hiperkolesterolemia (> 130 mg/dl), tikus kelompok B dan C selain mendapatkan ransum yang mengandung 1% kolesterol juga diberi tambahan 5% dan 10% TRL. Sedangkan tikus kelompok kontrol positif (D) tetap diberi perlakuan dengan ransum yang mengandung 1% kolesterol untuk mempertahankan kondisi hiperkolesterolemik. Komposisi ransum yang digunakan pada setiap kelompok perlakuan tertera pada Tabel 1. Ransum diberikan secara *ad libitum* selama 35 hari. Selama perlakuan dilakukan penimbangan bobot badan tikus percobaan dan konsumsi ransum.

Pada akhir masa percobaan, dilakukan sampling darah tikus percobaan untuk dilakukan analisis kolesterol total. Sekum juga diambil untuk analisis kadar kolesterol digesta. Sedangkan jaringan ginjal tikus percobaan disampling untuk dianalisis histopatologi dan kandungan Cu, Zn-SOD secara imunohistokimia.

Analisis Kolesterol Serum dan Digesta

Darah yang diperoleh kemudian disentrifuse untuk mendapatkan serumnya, dan kemudian dilakukan analisis kadar kolesterol total dengan metode enzimatis menggunakan kit komersial (Boehringer).

Pemrosesan dan Pewarnaan Jaringan (Hematoxylin eosin dan Imunohistokimia terhadap Cu, Zn-SOD)

Setelah disampling, jaringan ginjal dari keempat kelompok hewan difiksasi dalam larutan Bouin selama 24 jam, yang kemudian diikuti dengan proses dehidrasi dengan alkohol bertingkat sebelum dilakukan *embedding* dalam paraffin. Potongan jaringan (5µm) selanjutnya diproses dengan pewarnaan umum hematoksilin eosin (HE) dan pewarnaan imunohistokimia terhadap sel-sel penghasil *copper*, *zinc-superoxide dismutase* (Cu,Zn-SOD). Pewarnaan umum HE (Kiernan, 1992) dilakukan untuk mengetahui morfologi umum jaringan ginjal. Sedangkan pewarnaan imunohistokimia terhadap Cu, Zn-SOD (Wresdiyati *et al.*, 2003)

menggunakan antibodi monoclonal Cu, Zn-SOD (Sigma S2147) untuk mendeteksi kandungan antioksidan Cu, Zn-SOD pada jaringan ginjal.

Pengamatan dilakukan terhadap produk reaksi positif pada sitoplasma sel tubuli renalis dengan membandingkan intensitas warna coklat yang terbentuk dan distribusinya pada seluruh bagian setiap preparat yang diamati. Intensitas warna coklat tersebut menunjukkan kandungan Cu, Zn-SOD, warna coklat yang semakin tua dan semakin merata berarti mengandung semakin banyak Cu, Zn-SOD.

Observasi dan Analisis Data

Hasil pengukuran kadar kolesterol darah dan kolesterol digesta pada keempat kelompok perlakuan disusun sebagai rancangan acak lengkap yang dianalisis dengan Sidik Ragam (Anova). Apabila perlakuan memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0.05$) atau sangat nyata ($P < 0.01$), maka dilanjutkan dengan uji beda lanjut Duncan untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda satu sama lain (Steel dan Torrie, 1986).

Tabel 2. Hasil analisis kimiawi tepung rumput laut (% bk)

Parameter	Kandungan
Kadar air (%)	20.97
Kadar abu (%)	5.11
Kadar protein (%)	5.43
Kadar lemak (%)	1.47
Kadar karbohidrat (%)	87.99
Kadar serat pangan larut (%)	38.77
Kadar serat pangan tidak larut (%)	43.17
Kadar serat pangan total (%)	81.94

Tabel 3. Bobot badan dan konsumsi ransum tikus selama percobaan.

Kelompok	Perlakuan	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Konsumsi ransum per hari (gram)
A	0% kol, 0% TRL	95.0	255.0	12.22
B	1% kol, 5% TRL	97.0	250.0	15.24
C	1% kol, 10% TRL	96.0	253.0	16.19
D	1% kol, 0% TRL	100.0	252.0	10.46

Keterangan: Kelompok A : 0 % kolesterol, 0 % TRL
 Kelompok B : 1 % kolesterol, 5 % TRL
 Kelompok C : 1 % kolesterol, 10 % TRL
 Kelompok D : 1 % kolesterol, 0 % TRL
 TRL : tepung rumput laut

Potongan jaringan yang sudah diwarnai dengan HE diamati secara deskriptif terhadap morfologi umum jaringan ginjal. Sedangkan jaringan ginjal hasil pewarnaan imunohistokimia diamati secara kualitatif terhadap kandungan *copper, zinc-superoxide dismutase* (Cu, Zn-SOD). Semua jaringan ginjal didokumentasikan dengan mikroskop foto (Nikon E6000). Produk reaksi yang berwarna coklat pada sel-sel penghasil Cu, Zn-SOD diamati distribusinya per lapang pandang di jaringan ginjal dengan pembesaran 400x. Data yang didapat dari keempat kelompok perlakuan dibandingkan secara kualitatif untuk mendapatkan kesimpulan bagaimanakah profil kandungan Cu, Zn-SOD pada jaringan ginjal tikus hiperkolesterolemia dengan atau tanpa pemberian tepung rumput laut.

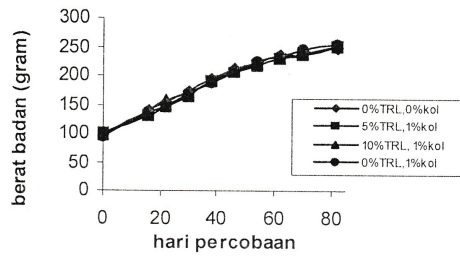
HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kimia Tepung Rumput Laut

Analisis kimiawi yang dilakukan terhadap tepung rumput laut meliputi kadar air, abu, lemak, protein, karbohidrat, serat pangan dan iodium. Hasil analisis disajikan pada Tabel 2.

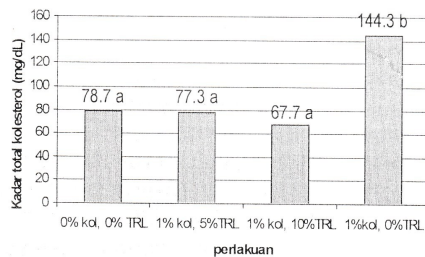
Bobot Badan Hewan Percobaan

Percobaan dilaksanakan selama 82 hari yang dibagi menjadi tiga tahapan kegiatan. Tahap pertama semua tikus diadaptasikan menggunakan ransum standar selama 7 hari. Tahap kedua, tikus mengalami masa peningkatan kolesterol selama 40 hari kecuali grup kontrol negatif. Tahap ketiga, yaitu masa perlakuan, tikus diberi ransum berbeda sesuai dengan perlakuannya masing-masing, selama 35 hari. Hasil pengamatan terhadap pertambahan berat badan tikus tiap-tiap perlakuan disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 1.



Keterangan :
 hari ke 1-7 : masa adaptasi,
 hari ke 8-47 : masa peningkatan kolesterol
 hari ke 48-82 : masa perlakuan
 —◆— 0% TRL, 0% kol, —■— 5%TRL, 1% kol,
 —▲— 10%TRL, 1% kol, —●— 0%TRL, 1%kol,

Gambar 1. Grafik pertambahan berat badan tikus selama percobaan



Gambar 2. Kelompok tikus hiperkolesterolemia yang diberi tepung rumput laut menunjukkan kadar total kolesterol lebih rendah dibandingkan kelompok tikus hiperkolesterolemia yang tidak diberi tepung rumput laut.

Selama percobaan berlangsung terjadi kenaikan bobot badan yang berbeda untuk setiap perlakuan. Kenaikan bobot badan tertinggi diperoleh pada perlakuan kontrol negatif (A) sebesar 160 gram, diikuti 10% TRL (C) sebesar 157 gram, 5% TRL (B) sebesar 153 gram, dan kontrol positif (D) sebesar 152 gram. Namun dari hasil tersebut tidak terdapat perbedaan bobot badan yang signifikan di antara grup perlakuan selama percobaan. Hal ini menunjukkan bahwa konsumsi rumput laut tidak menurunkan pertambahan bobot badan tikus.

Konsumsi ransum per hari dari grup 10% TRL adalah yang paling tinggi sebesar 16,19 gram, diikuti grup 5% TRL sebesar 15,24 gram, kontrol negatif sebesar 12,22 gram, dan kontrol positif sebesar 10,46 gram. Konsumsi ransum biasanya sangat dipengaruhi oleh kecukupan

kebutuhan energi dari tikus tersebut. Tikus akan berhenti makan apabila kebutuhan energinya telah tercukupi. Oleh karena ketersediaan zat-zat gizi lebih rendah (terutama energi) akibat kandungan serat yang tinggi, maka tikus berusaha memenuhi kebutuhan zat-zat gizinya dengan mengkonsumsi ransum lebih banyak. Terbukti pada grup tikus yang mendapat perlakuan serat lebih rendah, memiliki konsumsi ransum yang juga lebih rendah, demikian sebaliknya.

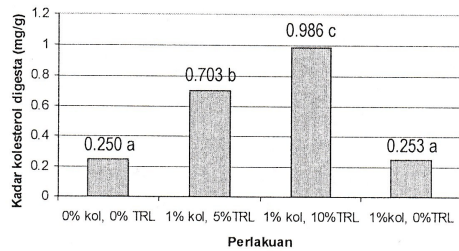
Kadar Total Kolesterol Serum

Analisis kadar total kolesterol serum disajikan pada Gambar 2. Pada gambar tersebut dapat ditunjukkan bahwa tikus yang diberi 10% TRL mempunyai kadar kolesterol serum paling rendah (67,7 mg/dl), diikuti 5% TRL (77,3 mg/dl), grup kontrol negatif (78,7 mg/dl), dan grup kontrol positif (144,3 mg/dl).

Dengan kata lain, dibandingkan grup kontrol positif (ransum mengandung 1% kolesterol dan tanpa TRL), maka penambahan 5% dan 10% TRL ke dalam ransum mampu menurunkan kolesterol serum masing-masing sebesar 46,43% dan 53,08%. Sedangkan bila dibandingkan dengan kontrol negatif (ransum tanpa kolesterol dan tanpa TRL), masing-masing terjadi penurunan sebesar 1,78% dan 13,98%.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa penambahan TRL ke dalam ransum berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap penurunan kadar total kolesterol serum tikus. Dengan uji lanjut Duncan, ternyata perlakuan kontrol negatif, penambahan 5% dan 10% TRL masing-masing memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap kontrol positif. Sedangkan bila dibandingkan dengan kontrol negatif, maka penambahan 5% dan 10% TRL tidak memberikan perbedaan yang nyata. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan 5% dan 10% TRL ke dalam ransum mampu menurunkan kadar kolesterol tikus hiperkolesterolemia.

Penurunan kadar kolesterol pada tikus yang mendapatkan ransum TRL disebabkan oleh beberapa faktor. Penyerapan kolesterol dari usus halus menurun akibat gerak laju digesta yang semakin cepat, pada kondisi ransum yang mengandung serat pangan yang tinggi seperti TRL. Hal ini sudah dibuktikan pada manusia bahwa jika gerak laju digesta dipercepat dari normal 7 jam menjadi 4 – 5 jam, maka penyerapan kolesterol yang mula-mula 35 – 43% turun menjadi 21 – 27%. Serat pangan selain



Gambar 3. Pemberian tepung rumput laut (TRL) menunjukkan dapat meningkatkan kadar kolesterol digesta tikus percobaan

dapat mengikat kolesterol secara langsung, juga mengikat asam empedu intraluminal dan menghambat sirkulasi enterohepatik asam empedu. Mekanisme ini akan memacu kehilangan kolesterol dengan cara meningkatkan pengeluaran kolesterol asam empedu melalui feses. Anderson *et al.* (1994) melaporkan bahwa aksi utama yang menyebabkan penurunan penyerapan kolesterol pada ransum berserat tinggi adalah akibat meningkatnya ekskresi lemak, asam empedu, dan kolesterol.

Mekanisme lain penurunan kolesterol disebabkan oleh meningkatnya produksi asam propionat sebagai hasil metabolisme serat pangan oleh mikroba usus. Asam propionat ini akan menekan aktivitas enzim *b-hidroksi-b-metil glutaryl-CoA reduktase* (HMG-CoA reduktase) sehingga biosintesis kolesterol terhambat (Harianto, 1996).

Kadar Kolesterol Digesta

Kadar kolesterol digesta tikus pada akhir perlakuan menunjukkan konsentrasi tertinggi pada kelompok hiperkolesterolemia yang diberi 10% TRL (0.986 mg/g) diikuti oleh kelompok perlakuan 5% TRL (0.703 mg/g), kelompok kontrol negatif (0.253 mg/g), dan kelompok hiperkolesterolemia atau kontrol positif (0.250 mg/g) (Gambar 3). Hasil analisis statistik menunjukkan pemberian 5% dan 10% TRL secara nyata mampu meningkatkan kadar kolesterol digesta. Peningkatan kadar kolesterol digesta terjadi karena adanya pengikatan kolesterol oleh serat larut yang berasal dari TRL.

Adanya serat dalam saluran pencernaan akan mengikat kolesterol di usus sehingga terjadi akumulasi kolesterol dalam usus, tepatnya di dalam digesta. Semakin banyak serat yang dikonsumsi maka semakin banyak pula kolesterol yang mampu diikat oleh serat,

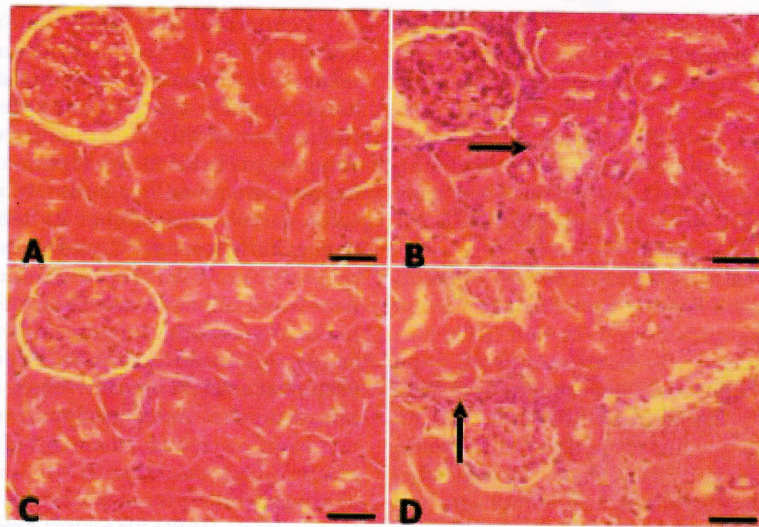
sehingga kolesterol yang terkandung di dalam digesta juga lebih banyak. Peningkatan jumlah kolesterol dalam digesta sejalan dengan penurunan kecernaan bahan kering ataupun kolesterol itu sendiri. Kolesterol yang terdapat dalam digesta tidak saja berasal dari makanan tetapi juga dari asam empedu yang diikat oleh serat (Lairon *et al.*, 1985).

Morfologi Jaringan Ginjal.

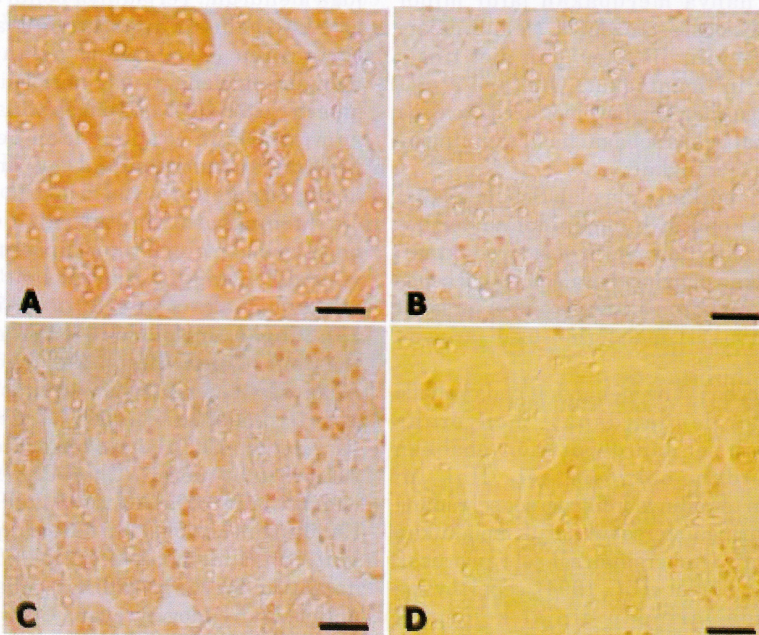
Morfologi umum pada jaringan ginjal tikus kelompok kontrol negatif yang diwarnai dengan HE menunjukkan inti sel tubuli renalis mengambil warna basofilik, sedangkan bagian sitoplasmanya mengambil warna asidofilik. Pada jaringan ginjal kelompok hiperkolesterolemia yang tidak mendapatkan perlakuan TRL menunjukkan beberapa sel tubuli renalis ginjal mengalami degenerasi hingga nekrosis, serta adanya infiltrasi sel radang dalam jumlah banyak pada jaringan interstisial. Pada kelompok hiperkolesterolemia yang diberi TRL 5% dan 10% menunjukkan gambaran histologi jaringan ginjal yang membaik dibandingkan pada kelompok hiperkolesterolemia, seperti terjadinya penurunan jumlah sel yang mengalami degenerasi maupun jumlah infiltrasi sel radang. Perlakuan TRL 10% menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan TRL 5% (Gambar 4).

Kandungan Cu, Zn-SOD pada jaringan ginjal.

Pada pewarnaan imunohistokimia terlihat sel-sel penghasil Cu, Zn-SOD pada jaringan ginjal tikus memberikan reaksi positif terhadap antioksidan tersebut. Produk reaksi positif terhadap Cu, Zn-SOD yang memberikan warna coklat terlihat baik pada sitoplasma maupun inti sel tubuli renalis, serta daerah medulla. Berdasarkan hasil pengamatan kualitatif terhadap kandungan antioksidan Cu, Zn-SOD menunjukkan adanya penurunan pada jaringan ginjal tikus kelompok hiperkolesterolemia (kontrol positif) dibandingkan kelompok kontrol negatif. Penurunan tersebut terlihat dari semakin banyaknya sel yang memberikan reaksi positif lemah, yaitu produk reaksi yang berwarna coklat lebih pucat. Penurunan kandungan Cu, Zn-SOD tersebut terlihat baik pada sel tubuli proksimalis maupun sel tubuli distalis. Sedangkan pada kelompok hiperkolesterolemia yang diberi TRL 5% maupun 10% menunjukkan kandungan Cu, Zn-SOD jaringan ginjal lebih tinggi dibandingkan pada kelompok



Gambar 4. Fotomikrograf jaringan ginjal tikus perlakuan yang diwarnai dengan HE. A=0% kolesterol & 0% TRL, B=1% kolesterol & 5%TRL, C=1% kolesterol & 10%TRL, D=1% kolesterol & 0%TRL, —> = peradangan, Skala=25mm



Gambar 5. Fotomikrograf jaringan ginjal tikus perlakuan yang diwarnai secara imunohistokimia terhadap Cu, Zn-SOD. A=0% kolesterol & 0% TRL, B=1% kolesterol & 5%TRL, C=1% kolesterol & 10%TRL, D=1% kolesterol & 0%TRL. —> SOD (superoksida dismutase) Skala=25mm

kontrol positif. Peningkatan tersebut terlihat dari semakin banyaknya sel yang memberikan reaksi positif kuat, yaitu produk reaksi yang berwarna coklat lebih tua. Namun, peningkatan kandungan Cu, Zn-SOD tersebut belum setinggi pada kelompok kontrol negatif. Peningkatan kandungan Cu, Zn-SOD tersebut lebih baik pada pemberian TRL 10% dibandingkan TRL 5% (Gambar 5).

Wresdiyati *et al.*, (2006a; 2006b) melaporkan bahwa pada kondisi hiperkolesterolemia kandungan antioksidan Cu, Zn-SOD pada hati dan ginjal tikus percobaan menurun, yang dibarengi dengan kejadian degenerasi sel serta peradangan pada jaringan tersebut. Hal ini menunjukkan tingginya produksi radikal bebas pada kondisi hiperkolesterolemia. Radikal bebas tersebut terbentuk sebagai hasil sampingan dari beberapa reaksi yang meningkat pada kondisi hiperkolesterolemia. Beberapa reaksi tersebut melibatkan aktivitas beberapa enzim, seperti 7 α -hidroksilase, sitokrom P-450 oksidase, lipid b-oksidasase, dan xantin oksidoreduktase.

Pada kondisi normal, lipid b-oksidasasi di peroksisom hanya merupakan jalur minor untuk mengoksidasi asam lemak. Namun dalam kondisi kelaparan, diabetes, dan diet tinggi lemak, jalur ini meningkat (Orellana *et al.*, 1992). Sehingga pada kondisi hiperkolesterolemia jumlah radikal bebas sebagai hasil samping b-oksidasasi juga meningkat.

Telah dilaporkan pula oleh Scheuer *et al.*, (2000) pada kondisi hiperlipidemia terjadi peningkatan aktivitas xantin oksidoreduktase, yang merupakan penghasil utama radikal bebas oksigen. Peningkatan aktivitas enzim tersebut terjadi di semua sel tubuh termasuk di jaringan ginjal.

Radikal bebas yang meningkat pada kondisi hiperkolesterolemia dapat menyerang makromolekul sel dan dapat menyebabkan degenerasi dan nekrosis sel. Hal ini menyebabkan terjadinya infiltrasi sel-sel radang pada lokasi jaringan tersebut untuk melakukan opsonisasi atau pembersihan sel-sel yang rusak (Tizard, 1982; Forest *et al.*, 1994), seperti yang terlihat pada jaringan ginjal kelompok hiperkolesterolemia (D). Pada kondisi jumlah radikal bebas tinggi maka diperlukan antioksidan tubuh yang tinggi pula untuk menetralsirnya. Sehingga pada kondisi hiperkolesterolemia, pada penelitian ini, terjadi penurunan antioksidan tubuh Cu, Zn-SOD pada jaringan ginjal.

Pemberian TRL pada kelompok hiperkolesterolemia menunjukkan mampu mengatasi kerusakan jaringan dan penurunan kandungan Cu, Zn-SOD pada jaringan ginjal. Hal ini karena TRL mengandung serat pangan yang tinggi (Tabel 2). Serat pangan dalam TRL mampu menurunkan kadar total kolesterol tikus percobaan (Gambar 2) dengan cara (a) meningkatkan pengeluaran kolesterol dan asam empedu melalui feses (Gambar 3), (b) menurunkan penyerapan kolesterol dari usus halus akibat gerak laju digesta yang semakin cepat, (c) meningkatkan produksi asam propionat sebagai hasil metabolisme serat oleh mikroba usus. Asam propionat tersebut akan menekan aktivitas enzim *b-hidroksi-b-metil glutaryl-CoA reduktase* (HMG-CoA reduktase) sehingga biosintesis kolesterol terhambat (Harianto, 1996). Hal-hal tersebut akan berakibat pada penurunan kadar total kolesterol tubuh yang berpengaruh pada pengurangan aktivitas reaksi-reaksi yang terlibat pada sintesis asam empedu dari kolesterol. Radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil sampingnya juga menurun. Terjadinya penurunan jumlah radikal bebas dapat mengurangi proses terjadinya kerusakan jaringan, serta mengurangi penggunaan antioksidan endogen seperti Cu, Zn-SOD. Sehingga perlakuan tepung rumput laut dapat mempertahankan kandungan antioksidan Cu, Zn-SOD pada jaringan ginjal.

Meningkatnya antioksidan Cu, Zn-SOD pada jaringan ginjal tikus hiperkolesterolemia yang diberi tepung rumput laut juga karena adanya mekanisme lain yaitu adanya kandungan antioksidan pada rumput laut tersebut. Telah dilaporkan beberapa jenis rumput laut mempunyai aktivitas antioksidan, seperti rumput laut merah *Callophyllis japonica* (Kang *et al.*, 2005), agaro-oligosaccharides dari rumput laut merah (Chen *et al.*, 2006), dan rumput laut coklat Tasco (Saker *et al.*, 2004). Kandungan antioksidan dalam tepung rumput laut dapat membantu antioksidan endogen dalam memerangi radikal bebas, sehingga antioksidan endogen seperti Cu, Zn-SOD dapat dipertahankan kandungannya seperti yang terlihat pada jaringan ginjal kelompok TRL 5% (B) dan kelompok TRL 10% (C) hasil penelitian ini. Pemberian TRL 10% memberikan efek yang lebih baik karena mengandung serat pangan dan antioksidan yang lebih banyak dibandingkan dengan TRL 5%.

SIMPULAN

Pemberian tepung rumput laut *Eucheuma cottonii* sebanyak 5% dan 10% pada tikus hiperkolesterolemia (a) tidak berpengaruh terhadap jumlah konsumsi ransum dan bobot badan tikus percobaan, (b) menurunkan kadar total kolesterol serum masing-masing sebesar 46.43 dan 53,08%, (c) meningkatkan kadar kolesterol digesta masing-masing sebesar 177.9 dan 289.7%, (d) memperbaiki kerusakan dan peradangan pada jaringan ginjal, (e) meningkatkan kandungan antioksidan Cu, Zn-SOD ginjal. Pemberian 10% tepung rumput laut memberikan efek lebih baik dibandingkan dengan 5%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian yang dibiayai oleh Proyek Penelitian Fundamental dari Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, No. 026/SPPPP/PP-PM/DP3M/IV/2005, a.n. Tutik Wresdiyati.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson H. 1994. Effects of carbohydrates on the excretion of bile acids, cholesterol, and fat from the small bowel. *Am J Clin Nutr* 59 (suppl) : 785.
- AOAC. 1995. Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemistry, Washington, D.C.
- Asp NG, Johansson CG, Hallmer H, Siljestrom M. 1983. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *J Agric Food Chem* 31 : 476-482
- Astawan M. 1999. *Perlunya Konsumsi Serat Pangan untuk Pencegahan Berbagai Penyakit Degeneratif*. Manual Kuliah Pangan, Gizi dan Kesehatan. Bogor. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, FATETA, IPB.
- Astawan, M., Kusnandar F., and Subarna. 2003. The addition of *Eucheuma cottonii* Seaweed to Increase Iodine and Dietary Fiber Contents of Noodles and Some Indonesian Traditional Snacks. 2003. Proceeding of the 8th Asean Food Conference, 8-11 October 2003, Hanoi, Vietnam.
- Chen H, Yan X, Zhu P, Lin J. 2006. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of agaro-oligosaccharides in vitro and in vivo. *Nutr J* 2:5-31.
- Dobashi K, Asayama K, Kato K, Kobayashi M, Kawaoi A. 1989. Immunohistochemical localization and quantitative analysis of superoxide dismutase in rat tissue. *Acta Histochem Cytochem*. 22:351-365.
- Forrest VJ, Kang YH, Mc Clain DE, Robinson DH, Ramakrishnan N. 1994. Oxidative stress apoptosis prevented by trolox. *Free Rad Biol Med* 16: 675-683.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1998. *Free radicals in biology and medicine*. 3rd Ed. Oxford. Clarendon Press. P. 301
- Harianto. 1996. Manfaat serat makanan. *Sadar Pangan dan Gizi* 5(2) : 4-5.
- Kang KA, Bu HD, Park DS, Go GM, Jee Y, Shin T, Hyun JW. 2005. Antioxidant activity of ethanol extract of *Callophyllis japonica*. *Phytother Res* 19:506-510.
- Kiernan JA. 1992. *Histological and Histochemical Methods. Theory and Practice*. 2nd ed. New York. Pergamon Press.
- Lairon D, Lafont H, Vigne JL, Nalbone G, Leonardi J, Hauton JC. 1985. Effect of dietary fibers and cholestyramine on the activity of pancreatic lipase in vitro. *Am J Clin Nutr* 42:629-638.
- Marinetti GV. 1990. *Disorder of Lipid Metabolism*. New York. Plenum Press.
- Orellana M, Fuentes O, Rosenbluth H, Lara M, Valdes E. 1992. Modulation of rats liver peroxisomal and microsomal fatty acids oxidation by starvation. *FEBS* 310: 193-196.
- Saker KE, Fike JH, Veit H, Ward DL. 2004. Brown seaweed- (Tasco) treated conserved forage enhances antioxidant status and immune function in heat-stressed wether lambs. *J Anim Physiol Nutr (Berl)*. 88:122-130
- Scheuer H, Gwinner W, Hohbach J, Grone EF, Brandes RP, Malle E, Olbricht CJ, Walli AK, Grone HJ 2000. Oxidant stress in hyperlipidemia-induced renal damage. *Am J Physiol Renal Physiol* 278:F63-74.
- Srivastava S, Chandrasekar B, Gu Y, Luo J, and Prabhu SD. 2007. Downregulation of CuZn-superoxide dismutase contributes to β -adrenergic receptor-mediated oxidative stress in the heart. *Cardiovas Res* 74:445-455.

- Steel RGD, Torrie JH. 1986. *Principles and Procedures of Statistics, A Biometrical Approach*. Singapore. McGraw-Hill Book Co.
- Tizard I. 1982. *Pengantar Immunologi Veteriner*. Jakarta. UI Press. Pp. 151.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, and Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J of Biochem & Cell Biol* 39:44-84.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, and Mazur M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 160:1-40.
- Winarno FG. 1990. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Jakarta. Sinar Pustaka Harapan.
- Wresdiyati T, Makita T. 1997. Immunocytochemical localization of Cu, Zn-SOD (Cooper, zinc-superoxide dismutase) in the renal tubules and glomerulus of rat kidney. *Mol Biol Cell* 8:342.
- Wresdiyati T, Mamba K, Adnyane IKM, Aisyah US. 2002. The effect of stress condition on the intracellular antioxidant copper, zinc-superoxide dismutase in the rat kidney : an immunohistochemical study. *Hayati* 9(3):85-88.
- Wresdiyati T, Lelana RPA, Adnyane IKM, Noor K. 2003. Immunohistochemical study of superoxide dismutase (SOD) in the liver of diabetic experiment *Macaca fascicularis*. *Hayati* 10:61-65
- Wresdiyati. 2003. Immunohistochemical study of oxygen-free radical scavenger superoxide dismutase (Cu,Zn-SOD) in the liver of rats under stress condition. *Biota*. 8:107-112
- Wresdiyati T, Astawan M, Hastanti LY. 2006a. Profil imunohistokimia antioksidan superoksida dismutase (SOD) pada jaringan hati tikus di bawah kondisi hiperkolesterolemia. *Hayati* 13: 85-89.
- Wresdiyati T, Astawan M, Nurwati VD. 2006b. Kondisi hiperkolesterolemia turunkan level antioksidan superoksida dismutase (SOD) pada jaringan ginjal tikus : suatu kajian imunohistokimia. *J Sain Vet* 24:168-176
- Wresdiyati. T. 2008. The profile of antioxidant superoxide dismutase (SOD) in the tissues of macaques (*Macaca fascicularis*) : an immunohistochemical study. Proceeding the 3th International Meeting on Asian Zool Wildlife Medicine and Conservation (AZWMC). IPB International Convention Center-Bogor, August 19-20, 2008.