

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa*)  
TERHADAP KADAR KOLESTEROL LDL PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)  
MODEL ATEROSKLEROSIS**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**



**Oleh:**

**Eileen Erica Mardiharto**

**NIM: 0910710064**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2012**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa*)  
TERHADAP KADAR KOLESTEROL LDL PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)  
MODEL ATEROSKLEROSIS**

Oleh :

Eileen Erica Mardiharto

NIM: 0910710064

Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 6 Agustus 2012

Dan dinyatakan lulus oleh:  
Penguji I

dr. Hidayat Sujuti, Ph.D. Sp.M  
NIP.196701231996011001

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

dr. Nanik Setijowati, M. Kes  
NIP.19650412 199601 2 001

Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes  
NIP. 19751125 200501 2 001

Mengetahui,  
Ketua Program Studi

Prof.Dr.dr. Teguh Wahyu Sardjono,DTM&H.,M.SC.,Sp.Par.K  
NIP. 19520410 198002 1001

## KATA PENGANTAR

Banyak orang tidak tahu bahwa mereka menderita aterosklerosis dan baru diketahui jika penyakit ini sudah menimbulkan komplikasi bahkan kematian, oleh sebab itu penyakit ini dikenal dengan nama "silent killer". Untuk itu perlu ada upaya pencegahan dan perbaikan pada individu dengan resiko terkena aterosklerosis atau individu yang sudah terkena aterosklerosis. Dari literatur, penulis mengetahui bahwa proses yang berperan dalam aterosklerosis adalah oksidasi dan inflamasi dan diketahui bahwa biji srikaya mengandung antioksidan dan antiinflamasi, oleh sebab itu penulis menggunakan ekstrak biji srikaya untuk mencegah aterosklerosis dan akhirnya terselesaikan tugas akhir yang berjudul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya (*Annona Squamosa*) terhadap Kadar Kolesterol LDL pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Model Aterosklerosis" untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar sarjana kedokteran. Maka dari itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus, buat penyertaan yang luar biasa dan kekuatan yang diberikan sehingga penulis mampu menyelesaikan tugas akhir dengan baik
2. Dr. dr. Karyono M, SpPA, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. dr. Nanik Setijowati, M.Kes selaku pembimbing pertama atas kesabaran dan masukan yang sangat membangun.

4. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes, selaku dosen pembimbing kedua atas segala bimbingan, saran dan ketelitiannya yang luar biasa.
5. dr. Hidayat Sujuti, Ph.D, Sp.M, selaku dosen penguji atas saran dan kritik sehingga dapat menyempurnakan tugas akhir ini.
6. Segenap Anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
7. Orang Tua dan adik-adik yang selalu memberikan dukungan dalam penyelesaian tugas akhir
8. Segenap Staf Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk segala bantuan yang sangat berharga dalam proses pembuatan tugas akhir ini
9. Teman-teman satu tim penelitian, khususnya Andriana N dan Raisa E.R
10. Andreas N Moekoe untuk semangat, dukungan dan doa yang selalu diberikan
11. Teman-teman dekat yang selalu memberi semangat
12. Kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian tugas akhir ini baik secara langsung maupun tidak langsung

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Semoga penulisan tugas akhir ini dapat berguna bagi yang membutuhkan.

Malang, 6 Agustus 2012

Penulis

## ABSTRAK

Mardiharto, Eileen, Erica. 2012. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya (Annona squamosa) terhadap Kadar Kolesterol LDL pada Tikus (Rattus norvegicus) Model Aterosklerosis*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Nanik Setijowati, M. Kes (2) Husnul Khotimah, S.Si, M. Kes

Aterosklerosis merupakan etiologi primer dari penyakit *Coronary Heart Disease* (CHD) atau Penyakit Jantung Koroner. LDL meningkatkan pengendapan kolesterol dan lemak di dinding pembuluh darah dan meningkatkan resiko penyakit jantung. Biji srikaya mengandung polifenol (flavonoid) sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang dapat mencegah terjadinya aterosklerosis. Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan bahwa ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa*) dapat menurunkan kadar LDL dan mengetahui dosis optimum ekstrak biji srikaya. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* pada hewan coba tikus wistar (*Rattus norvegicus*) dengan design *post test control group* dan menggunakan 5 kelompok tikus yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 tikus. Tikus kontrol diberi pakan standar dan tikus perlakuan diberi pakan aterogenik selama 50 hari bersamaan dengan ekstrak biji srikaya dengan dosis berbeda yaitu 0.5 mg/grBB, 1 mg/grBB dan 1.5mg/grBB. Analisis data dikerjakan dengan metode *one way Anova* dilanjutkan Post Hoc Tukey. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji srikaya menurunkan LDL secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dan penurunan ini kemungkinan disebabkan oleh polifenol (flavonoid) yang memodifikasi kolesterol hepar dan metabolisme lipoprotein melalui penurunan MTP dan enzim ACAT sehingga degradasi apoB meningkat dan menyebabkan penurunan sintesis dan sekresi VLDL yang akhirnya menurunkan LDL. Kesimpulan penelitian ini adalah bahwa ekstrak biji srikaya mampu menurunkan jumlah LDL pada tikus model aterosklerosis dan dosis optimum sebesar 1 mg/grBB.

Kata kunci: Aterosklerosis, Ekstrak biji srikaya, LDL.

## ABSTRACT

Mardiharto, Eileen, Erica. 2012. *Effect of Extracted Sugar-apple Seed (Annona squamosa) on LDL Cholesterol Levels in Rats (Rattus norvegicus) Model of Atherosclerosis*. Final Assignment, Medical Faculty of Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Nanik Setijowati, M. Kes (2) Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes.

Atherosclerosis is an etiology of Coronary Heart Disease (CHD). LDL increases cholesterol and fat deposition on arterial wall, leading to rising risk of heart disease. Sugars-apple (*Annona squamosa*) seed contains polyphenol as an antioxidant and antiinflammation, preventing the mechanism of atherosclerosis. The objectives of this experiment are to proof that extracted sugars-apple seed is able to reduce LDL level and to know the optimal dose of extracted sugars-apple seed. This in vivo experiment was done in 5 group of rats (*Rattus norvegicus*), 5 rats in each groups, and using post test control group design. Control negative group were fed with standard feed, and the other group were fed with atherogenic feed and extracted sugars-apple seed in different dose which is 0.5mg/gBW, 1mg/gBW, and 1.5mg/gBW for 50 days. Data was analyzed using one way Anova method, followed by Post Hoc Tukey. The results showed that the extracted sugars-apple seed reduces LDL significantly ( $p < 0.05$ ), this reduction is probably caused by polyphenol (flavonoid) which modifies hepatic cholesterol and lipoprotein metabolism through the reduction of MTP and ACAT enzyme. This leads to the rising of apoB degradation and so the synthesis and secretion of VLDL become reduced, this causes the reduction of LDL level. This conclude that extracted sugars-apple seed is able to reduce LDL level on atherosclerosis modelled rats, the optimal dose is 1mg/gBW.

Key Words: Atherosclerosis, *Extracted Sugar-apple seed*, LDL.

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak.....	v
Abstract.....	vi
Daftar Isi.....	vii
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Lampiran.....	xiii
Daftar Singkatan.....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Aterosklerosis.....	5
2.1.1 Pengertian Aterosklerosis.....	5
2.1.2 Morfologi Aterosklerosis.....	5
2.1.3 Patogenesis Aterosklerosis.....	7
2.1.4 Faktor Resiko Aterosklerosis.....	8



2.1.4.1	Faktor Resiko Tradisional.....	9
2.1.4.2	Faktor Resiko Terbaru.....	12
2.2	LDL.....	13
2.2.1	Pengertian LDL.....	13
2.2.2	Metabolisme Lipoprotein.....	13
2.2.2.1	Jalur Metabolisme Eksogen.....	13
2.2.2.2	Jalur Metabolisme Endogen.....	14
2.2.2.3	Jalur <i>Reverse Cholesterol Transport</i> .....	15
2.2.3	Reseptor LDL.....	17
2.2.4	Peran LDL dalam Aterosklerosis.....	18
2.3	Srikaya ( <i>Annona squamosa L</i> ).....	20
2.3.1	Karakteristik dan Taksonomi Srikaya.....	20
2.3.2	Biji Buah Srikaya.....	21
<b>BAB III</b>	<b>KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
3.1	Kerangka Konsep.....	24
3.2	Penjelasan Kerangka Konsep.....	25
3.3	Hipotesis Penelitian.....	25
<b>BAB IV</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>26</b>
4.1	Desain Penelitian.....	26
4.2	Sampel Penelitian.....	26
4.2.1	Estimasi Jumlah Pengulangan.....	26
4.2.2	Kriteria Inklusi.....	27
4.2.3	Kriteria Eksklusi.....	28



4.3 Variabel Penelitian.....	28
4.3.1 Variabel Bebas Penelitian.....	28
4.3.2 Variabel Tergantung Penelitian.....	28
4.4 Alur Kerangka Kerja Penelitian.....	29
4.5 Definisi Operasional.....	30
4.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	31
4.6.1 Alat dan Bahan Perawatan dan Pembuatan Ransum Makanan Tikus.....	31
4.6.2 Pembuatan Ekstrak Biji Srikaya.....	31
4.6.3 Pengukuran LDL.....	32
4.7 Prosedur Penelitian.....	33
4.7.1 Pembuatan Ransum Makanan.....	33
4.7.2 Pembuatan Ekstrak Biji Srikaya.....	33
4.7.3 Pengukuran LDL.....	35
4.8 Prosedur Pengumpulan dan Analisis Data.....	36
4.8.1 Pengumpulan Data.....	36
4.8.2 Analisa Data.....	36
<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....</b>	<b>38</b>
<b>BAB VI PEMBAHASAN.....</b>	<b>42</b>
<b>BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>46</b>
7.1 Kesimpulan.....	46
7.2 Saran.....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>47</b>

LAMPIRAN.....	53
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	58



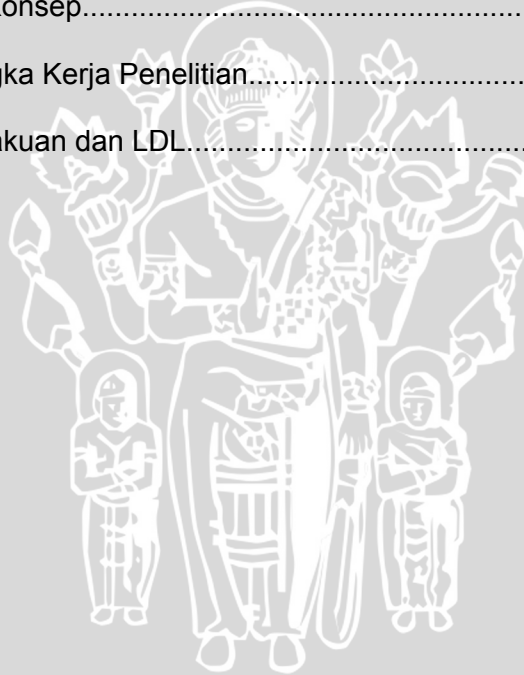
## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Faktor Resiko Aterosklerosis.....	8
Tabel 2.2 Kegunaan Bagian Tanaman Srikaya.....	21
Tabel 2.3 Bahan Aktif Tanaman Srikaya.....	23
Tabel 2.4 Kandungan Antioksidan dalam Ekstrak Biji Srikaya.....	23
Tabel 4.1 Komposisi Zat Gizi pada Pakan Tikus.....	33
Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Kadar Plasma LDL.....	38



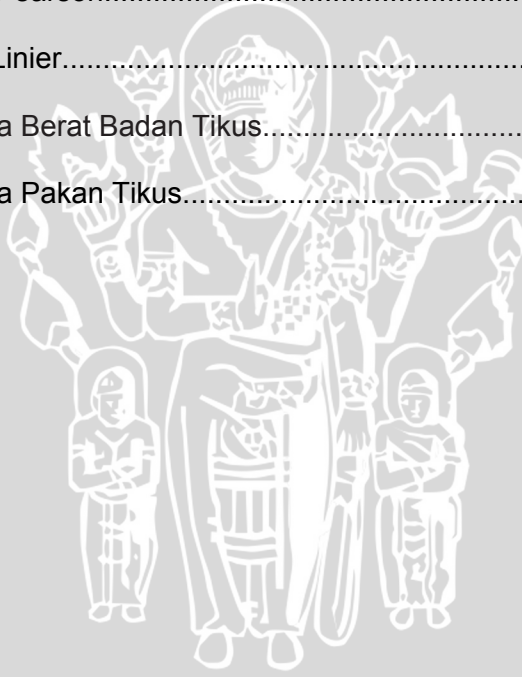
## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Diagram Interaksi Seluler di Aterosklerosis.....	6
Gambar 2.2 Metabolisme Eksogen dan Endogen Lipoprotein.....	16
Gambar 2.3 Gambar Biji Buah Srikaya.....	21
Gambar 2.4 Total Flavonoid dan Fenolik.....	23
Gambar 3.1 Kerangka Konsep.....	24
Gambar 4.1 Alur Kerangka Kerja Penelitian.....	29
Gambar 5.1 Grafik Perlakuan dan LDL.....	40



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 1 Test of Normality (Uji Normalitas Data).....	53
Lampiran 2 Test of Homogeneity of Variances (Uji Homogenitas Varian).....	53
Lampiran 3 Uji ANOVA ( <i>Analysis of Variance</i> ).....	53
Lampiran 4 Tukey HSD test.....	54
Lampiran 5 Homogenous Subsets.....	55
Lampiran 6 Uji Korelasi Pearson.....	55
Lampiran 7 Uji Regresi Linier.....	56
Lampiran 8 Grafik Rerata Berat Badan Tikus.....	57
Lampiran 9 Grafik Rerata Pakan Tikus.....	57



## DAFTAR SINGKATAN

AAA	: Aneurysm Abdominal Aorta
ABC-1	: Adenosine Triphospate-Binding Casette Transporter-1
ANOVA	: Analysis of Variance
BMI	: Body Mass Index
CAD	: Coronary Artery Disease
CETP	: Cholesterol Ester Transfer Protein
CHD	: Coronary Heart Disease
CVD	: Cardiovascular Disease
CVD	: Cerebral Vascular Disease
DNA	: Deoxy Ribonucleic Acid
FFA	: Free Fatty Acid
HDL	: High Density Lipoprotein
HED	: Human Equivalent Dose
IDL	: Intermediate Density Lipoprotein
LCAT	: Lethicin Cholesterol Acyltransferase
LDL	: Low Density Lipoprotein
LPL	: Lipoprotein lipase
MCP-1	: Monocyte Chemotactic Protein
MTP	: Microsomal Transfer Protein
NEFA	: Non-Esterified Fatty Acid
oxLDL	: Oxidized LDL
PAD	: Peripheral Artery Disease
ROS	: Reactive Oxygen Species
SR-B1	: Scavenger Receptor-B1
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit kardiovaskular (CVD) merupakan penyebab kematian paling umum di seluruh dunia. Sebelum 1900, penyakit infeksius dan malnutrisi merupakan penyebab kematian paling umum di seluruh dunia dan CVD bertanggungjawab terhadap kurang dari 10% dari seluruh kematian. Saat ini jumlah kematian akibat CVD sekitar 30% dari kematian di seluruh dunia, termasuk 40% di negara berpendapatan tinggi dan 28% di negara berpendapatan rendah sampai sedang (Fauci *et al.*, 2008). Angka kematian per 100.000 penduduk karena jantung iskemia di Indonesia jauh lebih tinggi dibandingkan dengan Amerika, hal ini disebabkan karena 50% penderita *Coronary Arterial Disease* (CAD) ditemukan pada kondisi lanjut sehingga tidak dapat ditangani secara optimal (Shah, 2007).

Aterosklerosis merupakan etiologi primer dari penyakit vaskuler seperti *Coronary Heart Disease* (CHD), *Cerebral Vascular Disease* (CVD), *Peripheral Artery Disease* (PAD) dan *Aneurysm Abdominal Aorta* (AAA) (Gotto, 2004). Aterosklerosis adalah penebalan tunika intima arteri dan penimbunan lemak yang mencirikan lesi yang khas dan merupakan penyebab beberapa penyakit (aneurisma, penyakit pembuluh arteri, penyakit jantung iskemik dan stroke) dan penyebab utama

kematian dan kecacatan di negara maju dan berperan pada penyakit jantung koroner yang merupakan proses aktif sejak dekade pertama kehidupan (Price dan Wilson, 2005).

Hiperkolesterol merupakan faktor klasik utama aterosklerosis (Ballantyne *et al.*, 2007) karena 30-40% bagian dari plak aterosklerosis tersusun oleh kristal kolesterol bebas, ester kolesterol, dan lipid teroksidasi (Howlett dan Moore, 2006). *Low-density lipoprotein* (LDL) secara cepat dimodifikasi di subendotelial menjadi LDL termodifikasi minimal dan sesudah itu menjadi LDL teroksidasi (oxLDL) (Cushing *et al.*, 1990). LDL teroksidasi akan meningkatkan ekspresi dan sintesa sitokin seperti MCP-1 dan IL-1 serta bersifat sitotoksik sehingga menyebabkan pembentukan sel busa dan inti plak aterosklerotik, memicu migrasi monosit dan menyebabkan inaktivasi faktor relaksasi endotel serta dapat memicu inflamasi (Goldstein dan Brown, 1977). Karena *Oxydized low density lipoprotein* (oxLDL) merupakan pemeran utama perkembangan aterosklerosis mulai tahap awal sampai tahap lanjut sehingga ditetapkan bahwa oxLDL plasma merupakan biomarker yang dapat digunakan dalam menetapkan diagnosis aterosklerosis (Ishigaki *et al.*, 2009).

*Annona squamosa* merupakan tanaman tradisional yang bagian-bagiannya banyak digunakan untuk menyembuhkan berbagai penyakit (Suresh *et al.*, 2006). Asal tanaman ini diketahui dari hutan di Amerika dan India Barat. Tanaman ini ditanam di Puerto Rico pada 1626, bangsa Spanyol membawanya menuju Filipina dan bangsa Portugis diduga mengenalkan tanaman ini di India sebelum 1590 (Morton, 1987). Sekarang tanaman ini dibudidayakan di hampir seluruh negara tropis dan subtropis (Tien *et al.*, 2004). Banyak biji buah yang tidak dapat dimakan dan



bukan merupakan bagian dari diet manusia, akan tetapi biji tersebut dapat melawan berbagai penyakit. Pada studi terkini, biji *Annona squamosa* diketahui mengandung antioksidan (Fischer, 1998) dan kandungan yang terdapat dalam biji srikaya juga terbukti menghambat sitokin proinflamasi (Srivastava, 2011). Bahan aktif utama dalam biji srikaya adalah squamosin atau neoanonin (Naqvi *et al.*, 2006).

LDL merupakan penyebab terjadinya aterosklerosis sedangkan beberapa komponen dalam ekstrak biji srikaya dapat menurunkan kadar LDL. Hal ini menjadi pertimbangan untuk melakukan penelitian “Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa*) terhadap Kadar Kolesterol LDL pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Model Aterosklerosis”

### 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak biji srikaya dapat menurunkan LDL pada tikus dengan diet tinggi lemak (aterogenik)?
2. Berapakah dosis optimum ekstrak biji srikaya untuk menurunkan LDL pada tikus dengan diet tinggi lemak?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Membuktikan apakah ekstrak biji srikaya dapat menurunkan kadar LDL.
2. Mengetahui dosis optimum ekstrak biji srikaya untuk menurunkan LDL.

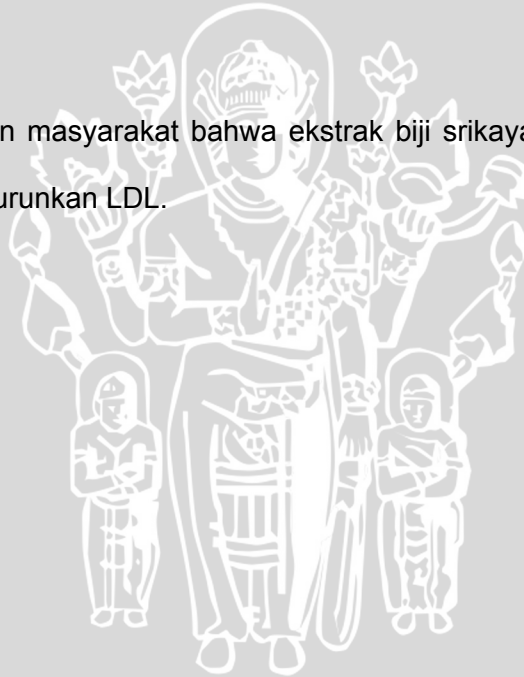
#### 1.4. Manfaat Penelitian

##### 1. Akademis

- a. Menambah wawasan tentang biji srikaya.
- b. Mengetahui potensi ekstrak biji srikaya untuk menurunkan LDL.
- c. Dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk menambah khasanah ilmu pengetahuan dalam bidang kesehatan tentang kegunaan ekstrak biji srikaya sebagai antihiperlipidemia.

##### 2. Masyarakat

Menambah pengetahuan masyarakat bahwa ekstrak biji srikaya merupakan bahan alam yang mampu menurunkan LDL.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Aterosklerosis

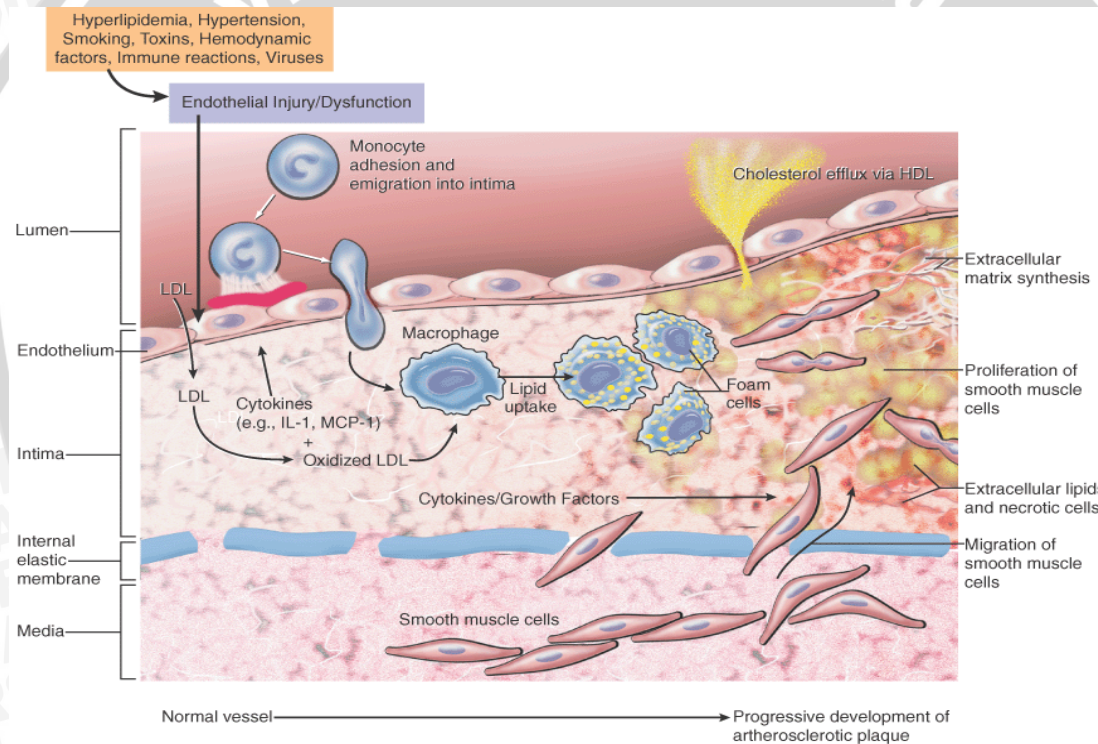
##### 2.1.1 Pengertian Aterosklerosis

Aterosklerosis ditandai dengan lesi intima yang disebut ateroma, atau plak ateromatosa atau *fibrofatty plaques*, yang menonjol ke dalam dan menyumbat lumen pembuluh, memperlemah media di bawahnya, dan mungkin mengalami penyulit serius. Aterosklerosis terutama mengenai arteri elastik (misal aorta, arteri karotis, dan arteri iliaka) serta arteri muskular besar dan sedang (misal arteri koronaria dan poplitea) (Robbins, 2007).

##### 2.1.2 Morfologi Aterosklerosis

Proses kunci pada aterosklerosis adalah penebalan intima dan proses penimbunan lemak yang menghasilkan ateroma. Ateroma (berasal dari kata Yunani untuk *gruel*, yaitu sejenis makanan terbuat dari gandum) atau plak ateromatosa terdiri atas lesi fokal meninggi yang berawal di dalam intima, memiliki inti lemak (terutama kolesterol dan ester kolesterol) yang lunak, kuning, dan grumosa serta dilapisi oleh selaput fibrosa putih yang padat. Plak ateromatosa disebut juga plak fibrosa, *fibrofatty*, lemak atau fibrolipid, tampak putih sampai kuning-putih menempel

di lumen arteri. Ukuran plak bervariasi dari garis tengah 0,3 sampai 1,5 cm tetapi kadang menyatu membentuk massa yang lebih besar. Lesi aterosklerotik biasanya hanya mengenai sebagian lingkaran dinding arteri dan membentuk bercak-bercak yang tersebar di sepanjang pembuluh. Lesi aterosklerotik awalnya bersifat fokal dan tersebar jarang, namun seiring dengan perkembangan penyakit lesi bertambah banyak dan difus (Robbins, 2007).



**Gambar 2.1. Diagram Interaksi Seluler di Aterosklerosis.**

Hiperlipidemia dan faktor lain menyebabkan luka di endotel menyebabkan adhesi platelet dan monosit, dan pelepasan faktor pertumbuhan. Sel busa dari plak ateromatosa dihasilkan dari makrofag dan sel otot polos via VLDL dan LDL modifikasi yang dikenali oleh reseptor scavenger (*oxLDL*) (Robbins, 2007).

### 2.1.3 Patogenesis Aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan suatu penyakit inflamasi dimana mekanisme imun berinteraksi dengan faktor resiko metabolik untuk mengawali, memperburuk, dan mengaktivasi lesi aterosklerosis pada sistem arteri (Akhtar dan Baskoro, 2010). Teori terjadinya aterosklerosis menggunakan teori respon terhadap luka. Luka pada endotel menyebabkan inflamasi vaskular dan respon fibroproliferatif. Penyebab luka pada endotel diantaranya LDL teroksidasi (*oxLDL*), agen infeksius, toksin termasuk toksin dari rokok, dan hiperglikemia. Monosit yang bersirkulasi menginfiltrasi intima pembuluh darah dan makrofag jaringan berperan sebagai sel pembawa dan membentuk *foam cell* pada aterosklerosis. Makrofag yang teraktivasi ini memproduksi banyak faktor yang melukai endotel (Boudi, 2009).

Lesi patologi yang paling awal adalah *fatty streak*. *Fatty streak* terdapat di aorta dan arteri koroner pada individu berusia 20 tahun dan merupakan hasil dari akumulasi serum lipoprotein pada intima pembuluh darah. *Fatty streak* ini akan membentuk plak fibrosa yang merupakan hasil dari akumulasi, migrasi dan proliferasi sel otot polos. Selanjutnya akan menyebabkan deposisi matriks jaringan ikat ekstraseluler dan membentuk fibrosa cap yang berisi *foam cell*, lipid ekstraseluler, dan debris nekrotik (Boudi, 2009).

Pertumbuhan plak fibrosa menyebabkan *remodelling* vaskular, penyempitan pembuluh darah secara progresif, abnormalitas pembuluh darah dan berkurangnya oksigen pada organ target. Pada perkembangannya, plak aterosklerosis membutuhkan jaringan pembuluh darahnya sendiri yang disebut *vasa vasorum* yang

dapat menyebabkan perdarahan dan berperan dalam progresi aterosklerosis (Boudi, 2009).

Rupturnya plak fibrosa yang disebabkan oleh lemahnya *fibrous cap* yang disebabkan karena adanya sel inflamasi dan makrofag yang mendegradasi kolagen. Plak yang ruptur ini menyebabkan pembentukan trombus, sumbatan pembuluh darah parsial atau total (Boudi, 2009).

#### 2.1.4 Faktor Resiko Aterosklerosis

Progresi aterosklerosis dipercepat oleh berbagai macam kondisi genetik dan faktor lingkungan. Tindakan pengobatan terhadap kondisi yang dapat disembuhkan dan menghindari hal-hal yang harus dihindari dapat menurunkan insiden infark miokard, stroke, dan komplikasi lain dari aterosklerosis (McPhee *et al.*, 2006).

**Tabel 2.1 Faktor Resiko Aterosklerosis** (Kumar dan Clark, 2006).

<b>Fix</b>
Umur
Jenis kelamin laki-laki
Riwayat keluarga positif
<b>Yang berpotensi dirubah dengan pengobatan</b>
Hiperlipidemia
Merokok
Hipertensi
Diabetes mellitus
Kurangnya olahraga
Faktor pembekuan darah (tingginya fibrinogen, faktor VII)
<i>C-reactive protein</i>
Homosisteinemia
Kepribadian
Obesitas
<i>Gout</i>
Pil kontrasepsi
Konsumsi alkohol jumlah besar

#### 2.1.4.1 Faktor Resiko Tradisional

##### 1. Usia

CAD meningkat bersamaan dengan usia. Aterosklerosis jarang pada anak-anak, kecuali pada hiperlipidemia familial, tapi biasanya bisa dideteksi di usia 20 dan 30 tahun. Lesi ateromatosa di orang tua sering mempunyai komplikasi berupa kalsifikasi.

##### 2. Jenis kelamin

Laki-laki mempunyai insiden CAD lebih tinggi daripada wanita premenopause. Tetapi setelah menopause, insiden ateroma pada wanita sama dengan pada pria. Hal ini dikarenakan wanita menopause kehilangan efek protektif estrogen.

##### 3. Riwayat keluarga

CAD sering ditemukan pada anggota keluarga dari keluarga yang sama. Riwayat keluarga positif ditujukan pada mereka yang menderita penyakit iskemia jantung sebelum usia 50 tahun.

##### 4. Merokok

Pada pria, resiko berkembangnya CAD berkaitan dengan jumlah rokok yang dikonsumsi. Sekitar 20% kematian dari CAD pada laki-laki dan 17% pada perempuan dikarenakan merokok. Terdapat bukti yang menunjukkan bahwa orang yang berhenti merokok akan mengurangi resiko terkena CAD sebesar 25%. Resiko CAD akibat merokok akan menurun mendekati normal setelah 10 tahun berhenti merokok.

##### 5. Diet dan obesitas

Diet tinggi lemak berkaitan dengan penyakit iskemia jantung seperti pada mereka yang mengkonsumsi antioksidan (buah dan sayur) dalam jumlah sedikit. Diperkirakan sekitar 30% kematian CAD karena diet yang tidak sehat. Perubahan diet seperti penurunan lemak terutama asupan lemak jenuh dan pengurangan asupan garam akan menurunkan CAD. Konsumsi buah dan sayur ditingkatkan 50% (sekitar 400g per hari). Perubahan pola diet merupakan pengaruh yang signifikan pada prevensi primer dan sekunder. Pasien dengan kelebihan berat badan dan obesitas meningkatkan resiko CAD dan diperkirakan menyebabkan 5% kematian akibat CAD pada laki-laki dan 6% pada perempuan obesitas (*Body Mass Index* lebih besar dari 30kg/m<sup>2</sup>). Kelebihan berat badan mempunyai arti jika lemak terpusat pada perut. Hal ini dikenal dengan obesitas sentral (*visceral fat*) dan dapat diidentifikasi dengan rasio tingginya pinggang terhadap pinggul. Penurunan berat badan dengan diet dan olahraga tidak hanya menurunkan insiden CVD tapi juga menurunkan resistensi insulin/diabetes. Kematian akibat CAD pada laki-laki sebesar 36% dan 38% pada perempuan dikarenakan kurangnya olahraga. Rekomendasi olahraga untuk dewasa meliputi jalan cepat, bersepeda dan naik tangga yang dilakukan minimum 30 menit sebanyak 5 hari atau lebih per minggu.

#### 6. Hipertensi

Hipertensi sistolik dan diastolik berpengaruh terhadap peningkatan resiko CAD. Konsumsi obat dan perubahan gaya hidup (penurunan berat badan, olahraga dan pengurangan asupan garam serta alkohol) dapat menurunkan tekanan darah secara efektif. Diperkirakan 14% kematian akibat CAD pada



laki-laki dan 12% pada perempuan dikarenakan kenaikan tekanan darah (sistolik  $\geq 140$ mmHg atau diastolik  $\geq 90$ mmHg)

#### 7. Hiperlipidemia

Kolesterol serum yang tinggi terutama berkaitan dengan rendahnya nilai HDL dan kenaikan TG berhubungan dengan ateroma koroner. Hiperkolesterolemia familial dikombinasi dengan hipertrigliseridaemia dan hiperlipidemia berhubungan dengan peningkatan aterosklerosis koroner. Pengukuran profil lipid (kolesterol total, LDL, HDL, dan TG) seharusnya dilakukan pada semua pasien secara rutin. Resiko CAD secara langsung berhubungan dengan level kolesterol serum. Level kolesterol serum dapat diturunkan dengan obat, olahraga dan diet. Kenaikan level kolesterol serum menyebabkan kematian pada laki-laki sekitar 45% sedangkan pada perempuan sebesar 47%.

#### 8. Diabetes Mellitus

Diabetes merupakan toleransi glukosa abnormal atau kenaikan glukosa puasa yang berhubungan kuat dengan penyakit vaskular. Diabetes meningkatkan resiko CAD. Penderita diabetes tipe 2 mempunyai resiko dua sampai 4 kali lebih besar untuk terkena CAD. Diabetes tidak hanya meningkatkan CAD tapi juga meningkatkan faktor resiko lain seperti meningkatkan level kolesterol dan tekanan darah serta obesitas.

#### 2.1.4.2 Faktor Resiko Terbaru

Studi epidemiologi mengidentifikasi adanya faktor resiko tambahan yang berpengaruh pada kejadian aterosklerosis, diantaranya:

1. Keadaan psikososial

Ada empat tipe faktor psikososial yang paling banyak ditemukan berhubungan dengan peningkatan resiko CAD: stress kerja, kurangnya dukungan sosial, depresi (termasuk kecemasan) dan kepribadian (terutama permusuhan).

2. Lipoprotein (a)

Lipoprotein (a) plasma yang tinggi berhubungan dengan CAD yaitu dapat meningkatkan resiko CAD.

3. Faktor koagulasi

Serum fibrinogen merupakan faktor *independent* CAD. Patofisiologinya level fibrinogen memediasi penyakit koroner melalui efeknya pada kaskade koagulasi, agregasi platelet, fungsi endotel dan proliferasi serta migrasi otot polos. Tingginya faktor koagulasi VII juga merupakan faktor resiko. Polimorfisme gen faktor VII meningkatkan resiko infark miokard.

4. Homosistein

Merupakan asam amino yang diregulasi oleh vitamin B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> dan folat, yang merupakan faktor lain yang berhubungan dengan aterosklerosis.

Peningkatan homosistein membuat H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan molekul oksigen reaktif lain meningkat, hal ini meningkatkan pembentukan LDL teroksidasi (Kumar dan Clark, 2006).

## 2.2 LDL

### 2.2.1 Pengertian LDL

LDL (*Low Density Lipoprotein*) merupakan suatu lipoprotein pengangkut dengan apoprotein B diluarnya. Bagian dalam fase lipid dari LDL mengandung  $\pm 1600$  molekul ester kolesterol dan 170 molekul trigliserida. Inti lipid dikelilingi oleh kulit lapisan tunggal yang terdiri dari  $\pm 700$  molekul fosfolipid dan 600 molekul kolesterol bebas (Wijaya, 1996). LDL atau lipoprotein densitas rendah fungsi utamanya adalah mengangkut kolesterol ke jaringan yang memerlukannya untuk membran sel dan sintesis metabolit. Sejumlah besar kolesterol darah dibawa oleh LDL. Penelitian menunjukkan bahwa LDL meningkatkan pengendapan kolesterol dan lemak di dinding pembuluh darah dan meningkatkan resiko penyakit jantung (Almatsier, 2004).

### 2.2.2 Metabolisme Lipoprotein

Metabolisme lipoprotein dibagi menjadi tiga jalur yaitu jalur metabolisme eksogen, endogen dan jalur *reverse cholesterol transverse*. Kedua jalur pertama berhubungan dengan metabolisme LDL dan trigliserid sedangkan jalur *reverse cholesterol transverse* mengenai metabolisme HDL (Sudoyo *et al.*, 2009).

#### 2.2.2.1 Jalur Metabolisme Eksogen

Makanan berlemak yang kita makan terdiri atas trigliserid dan kolesterol. Selain kolesterol yang berasal dari makanan, dalam usus juga terdapat kolesterol

dari hati yang diekskresi bersama empedu ke usus halus. Baik lemak di usus halus yang berasal dari makanan maupun yang berasal dari hati disebut lemak eksogen. Triglisierid dan kolesterol dalam usus halus akan diserap ke dalam enterosit mukosa usus halus. Triglisierid akan diserap sebagai asam lemak bebas sedangkan kolesterol sebagai kolesterol. Di dalam usus halus asam lemak bebas akan diubah lagi menjadi triglisierid dan kolesterol akan mengalami eksterifikasi menjadi kolesterol ester dan keduanya bersama fosfolipid dan apolipoprotein akan membentuk lipoprotein yang dikenal dengan kilomikron.

Kilomikron akan masuk saluran limfe dan akhirnya melalui duktus torasikus akan masuk ke dalam aliran darah. Triglisierid dalam kilomikron akan mengalami hidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase yang berasal dari endotel menjadi asam lemak bebas (*Free Fatty Acid* (FFA)=*non-esterified fatty acid* (NEFA)). Asam lemak bebas dapat disimpan sebagai triglisierid kembali di jaringan lemak (adiposa), tetapi bila terdapat dalam jumlah yang banyak sebagian akan diambil oleh hati menjadi bahan untuk pembentukan triglisierid hati. Kilomikron yang sudah kehilangan sebagian triglisierid akan menjadi kilomikron *remnant* yang mengandung kolesterol ester dan akan dibawa ke hati (Sudoyo *et al.*, 2009).

#### 2.2.2.2 Jalur Metabolisme Endogen

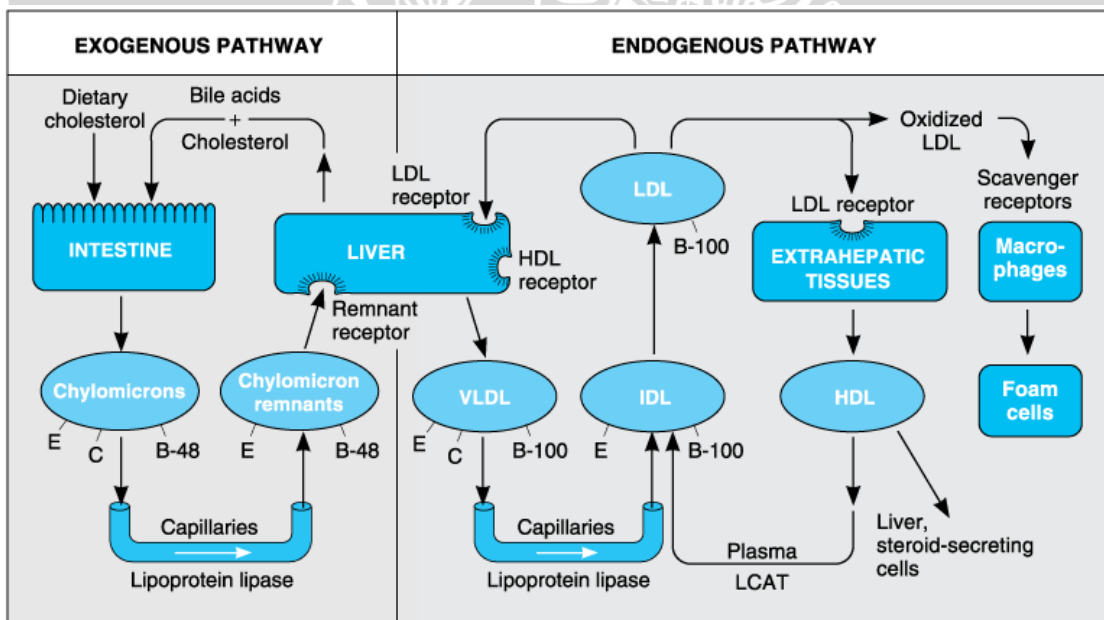
Triglisierid dan kolesterol yang disintesis di hati dan disekresi ke dalam sirkulasi sebagai lipoprotein VLDL. Apolipoprotein yang terkandung dalam VLDL adalah apolipoprotein B100. Dalam sirkulasi, triglisierid di VLDL akan mengalami hidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase (LPL) dan VLDL akan berubah menjadi IDL

yang akan mengalami hidrolisis dan berubah menjadi LDL. Sebagian dari VLDL, IDL dan LDL akan mengangkut kolesterol ester kembali ke hati. LDL adalah lipoprotein yang paling banyak mengandung kolesterol. Sebagian dari kolesterol di LDL akan dibawa ke hati dan jaringan steroidogenik lainnya seperti adrenal, testis dan ovarium yang mempunyai reseptor untuk kolesterol LDL. Sebagian lagi dari kolesterol LDL akan mengalami oksidasi dan ditangkap oleh reseptor *scavenger-A* (SR-A) di makrofag dan akan menjadi sel busa (*foam cell*). Makin banyak kadar kolesterol LDL dalam plasma maka makin banyak yang akan mengalami oksidasi dan ditangkap oleh makrofag. Jumlah kolesterol yang akan teroksidasi tergantung dari kadar kolesterol yang terkandung di LDL, beberapa keadaan mempengaruhi tingkat oksidasi seperti meningkatnya jumlah LDL kecil padat (*small dense LDL*) seperti pada sindrom metabolik dan diabetes mellitus. Kadar kolesterol HDL yang tinggi akan bersifat protektif terhadap oksidasi LDL (Sudoyo *et al.*, 2009).

### 2.2.2.3 Jalur *Reverse Cholesterol Transport*

HDL dilepaskan sebagai partikel kecil miskin kolesterol yang mengandung apolipoprotein A, C dan E dan disebut HDL *nascent*. HDL *nascent* berasal dari usus halus dan hati, mempunyai bentuk gepeng dan mengandung apolipoprotein A1. HDL *nascent* akan mendekati makrofag untuk mengambil kolesterol yang tersimpan dalam makrofag. Setelah itu HDL akan berubah menjadi HDL dewasa yang berbentuk bulat. Agar dapat diambil oleh HDL *nascent*, kolesterol dalam makrofag harus dibawa ke permukaan membran sel makrofag oleh transporter yang disebut *adenosine triphosphate-binding cassette transporter-1* (ABC-1).

Setelah mengambil kolesterol bebas dari sel makrofag, kolesterol bebas akan diesterifikasi menjadi kolesterol ester oleh enzim *lethicin cholesterol acyltransferase* (LCAT). Selanjutnya sebagian kolesterol ester yang dibawa HDL akan mengambil dua jalur, yang pertama adalah ke hati dan ditangkap oleh reseptor *scavenger* kelas B tipe 1 dikenal dengan SR-B1 sedangkan jalur kedua adalah ester kolesterol dalam HDL akan dipertukarkan dengan trigliserid dari VLDL dan IDL dengan bantuan *cholesterol ester transfer protein* (CETP). Dengan demikian fungsi HDL sebagai penyerap kolesterol dari makrofag mempunyai dua jalur yaitu langsung ke hati dan jalur tidak langsung melalui VLDL dan IDL untuk membawa kolesterol kembali ke hati (Sudoyo *et al.*, 2009).



**Gambar 2.2 Metabolisme Eksogen dan Endogen Lipoprotein**

Pada jalur eksogen, kilomikron kaya trigliserid berasal dari makanan yang akan diubah menjadi kilomikron remnant oleh lipoprotein lipase. Pada jalur endogen VLDL kaya trigliserida disekresikan oleh hepar dan diubah menjadi IDL lalu LDL yang kaya akan kolesterol ester. Beberapa LDL akan masuk ke subendotel arteri, dioksidasi lalu diambil oleh makrofag dan menjadi *foam cell* (McPhee *et al.*, 2006).

### 2.2.3 Reseptor LDL

Cara LDL memasuki sel:

1. Via reseptor LDL yang diregulasi kebutuhan kolesterol di tiap individu

Via reseptor → apo B100 berikatan dengan reseptor. Setelah berikatan, kompleks reseptor-LDL masuk ke dalam sel yang akan mengalami degradasi lisosom, reseptor kembali ke tempatnya di permukaan, apo B dihidrolisa menjadi asam amino pengganti dan *cholesteryl ester* akan dihidrolisa menjadi kolesterol bebas (untuk sintesis sel membran dan hormon steroid).

2. Lewat non-reseptor dan tergantung oleh konsentrasi LDL

LDL akan masuk melalui non reseptor. LDL akan berikatan dengan membran sel (bukan pada reseptor) dan beberapa dapat melalui pinositosis. Jalur ini menyebabkan peningkatan konsentrasi LDL ekstraseluler. Ketika level LDL tinggi, masuknya kolesterol ke sel lewat rute ini jumlahnya lebih besar daripada yang melalui reseptor LDL. Kondisi ini terjadi pada orang-orang barat yang mengkonsumsi makanan tinggi lemak dan yang mana hanya sepertiga yang dikatabolisme lewat reseptor dan duapertiganya melalui jalur non-reseptor. Di hiperkolesterolemia yang melalui jalur non-reseptor lebih banyak lagi.

3. Reseptor lain

LDL juga mungkin keluar dari sirkulasi lewat reseptor selain reseptor LDL klasik. Reseptor ini bertanggungjawab dalam LDL jumlah kecil tapi beberapa reseptor dengan makrofag lebih banyak menarik LDL yang akan menyebabkan aterosclerosis. Reseptor yang termasuk di dalamnya ada

reseptor scavenger dan reseptor *oxLDL* dimana makrofag mengambil LDL teroksidasi. Pengambilan oleh kedua reseptor ini mempercepat pembentukan sel busa yang menyebabkan *fatty streaks* dan terbentuknya lesi ateromatosa. Sebaliknya, pengambilan LDL tidak termodifikasi oleh makrofag melalui reseptor LDL menyebabkan pembentukan sel busa dalam jangka waktu yang lama (Science Press Internet Services, 2002).

#### 2.2.4 Peran LDL Dalam Aterosklerosis

Proses oksidasi adalah proses normal dari semua makhluk hidup yang pada akhirnya akan menghasilkan energi untuk manusia. Ada komponen tertentu di alam yang disebut katalis oksidan yang memungkinkan proses oksidatif untuk berjalan dengan aman, yaitu besi dan tembaga. Di saat muatan negatif dari besi dan tembaga dipindahkan ke oksigen untuk melepaskan energi, bentuk baru dari oksigen akan muncul. Bentuk baru tersebut adalah *Reactive Oxygen Species (ROS)* (Aneela *et al.*, 2011). ROS merupakan radikal bebas  $O_2$  dan mempunyai peranan pada sistem biologis (Rudolf, 2001). Selanjutnya setelah terbentuk ROS akan muncul proses destruktif yang memberi muatan pada komponen-komponen lain yang sebelumnya stabil untuk lebih lagi membentuk ROS. ROS (*Reactive Oxygen Species*) diperoleh dari adanya proses inflamasi, detoksifikasi, bahan kimia, radiasi, rokok, alkohol, polutan dan diet tinggi lemak. ROS membahayakan protein, membran dan DNA (*Deoxy Ribonucleic Acid*). Karena ROS diproduksi terus menerus melalui berbagai macam jalan, mekanisme untuk melawan ROS terus dikembangkan. Antioksidan merupakan molekul kecil yang dapat menginaktivasi



ROS dan menurunkan kerusakan sel yang diakibatkan oleh ROS. Proses oksidatif ini menyebabkan berbagai macam penyakit (Aneela *et al.*, 2011).

Oksidasi LDL *in vivo* ditunjukkan oleh kehadiran LDL teroksidasi (*oxLDL*) dan lipid teroksidasi di lesi aterosklerosis (Yla-Conxita De Castellarnau *et al.*, 2000) serta plasma level *oxLDL* yang lebih tinggi pada pasien dengan penyakit arteri koroner daripada pada pasien sehat (Holvoet, 1998). LDL secara cepat dimodifikasi menjadi *oxLDL* (Steinberg, 1989). Lepasnya antioksidan tampaknya menjadi langkah awal dalam modifikasi LDL (Esterbauer, 1987). Hal ini memperjelas dugaan bahwa sumbangan terbesar dalam modifikasi LDL meningkatkan lingkungan oksidasi (Steinberg, 1989). Sel endotel, sel otot polos, limfosit T, monosit dan makrofag dapat mengoksidasi LDL. Mekanisme ini adalah salah satu lintasan konversi LDL menjadi partikel aterogenik. Hal ini merupakan pemahaman tentang reaksi perubahan lipoprotein menjadi oksidatif dan efek biologis LDL teroksidasi (Haberland *et al.*, 1988). LDL yang teroksidasi merangsang respon inflamasi yang dimediasi oleh kemoatraktan dan sitokin seperti *monocyte colony-stimulating factor*, *intercellular adhesion molecule*, *platelet-derived growth factor*, interleukin-1, interleukin-6 (Malelak, 2012). Bukti-bukti kuat menyatakan bahwa LDL teroksidasi pada dinding arteri berperan dalam patogenesis penyakit aterosklerosis (Morel, 1984). Hiperkolesterolemia mengganggu fungsi endotel dengan meningkatkan produksi radikal bebas oksigen (Maitra dan Kumar V, 2007). Kombinasi proses terjadinya radikal bebas, infiltrasi LDL dan luka pada sel endotel akan memulai terjadinya aterosklerosis (Sargowo, 1997).

## 2.3 Srikaya (*Annona squamosa* L)

### 2.3.1 Karakteristik dan Taksonomi Srikaya

Kingdom: Plantae (Tumbuhan)

Subkingdom: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)

Super Divisi: Spermatophyta (Menghasilkan biji)

Divisi: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

Kelas: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)

Sub Kelas: Magnoliidae

Ordo: Magnoliales

Famili: Annonaceae

Genus: Annona

Spesies: *Annona squamosa* L (Sunarjono,2005).

Tumbuhan ini merupakan tumbuhan perdu, berumur panjang (perennial), mempunyai tinggi 2-5 m. Berakar tunggang, batang kayu, silindris, tegak, warna keabu-abuan, kulit tipis, permukaan kasar, percabangan simpodial, arah cabang miring ke atas. Daun tunggal, bertangkai pendek, tersusun berseling (alternate), warna hijau, bentuk memanjang, dengan panjang 6-17 cm, lebar 2,5-7,5 cm, helaian daun tipis kaku, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip dan permukaannya halus. Mempunyai bunga tunggal, muncul di ketiak daun dan ujung batang, bertangkai, berkelopak tebal berwarna hijau kekuningan. Mempunyai buah semu, bulat mengerucut, warna hijau berbedak putih, 5-10 cm, permukaan buah benjol-benjol, dengan biji berbentuk kepingan kecil - berwarna hitam mengkilat, dan

akan berbuah setelah berumur 3 - 5 tahun. Perbanyak secara generatif (biji)  
(Sunarjono,2005).



Gambar 2.3 Gambar Biji Buah Srikaya (Morton, 1987).

Tabel 2.2 Kegunaan Bagian Tanaman Srikaya (Vyas *et al.*,2012).

Bagian tanaman	Kegunaan
Daun	Antidiabetes, untuk mengobati histeria, pembengkakan
Akar	Pengobatan disentri, antidiabetes, penyakit sumsum tulang belakang
Buah	Astringent, haematinic, expectorant, untuk pengobatan anemia, sensasi terbakar
Batang	Untuk mencegah diare dan sebagai antikanker
Biji	Anti inflamasi, antitumor, analgesik

### 2.3.2 Biji Buah Srikaya

Studi terakhir menunjukkan banyaknya kegunaan ekstraksi *Annona squamosa*. *Annona squamosa* memiliki acetogenin dalam biji dan batangnya, yang

menunjukkan aktivitas antitumor dan komponen bioaktif lain di bagian-bagian lain. Di bijinya terdapat acetogenin diantaranya annonacin, annonacin A, annonastatin, asimicin, neoannonin B, squamocins A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O1, O2, squamostatins A, B, C, D, E, squamosten A, squamocenin, squamostolide, bullatacinone, annonsilin A, mosin B; cyclopeptides: annosquamosin A, cyclosquamosins A, B, C, D, E, F, G, squamins A, B, squamtin A (Lim, 2012).

Acetogenin yang terkandung dalam *Annona squamosa* mengatur ekspresi atau produksi satu atau lebih sitokin, kemokin atau biomarker kelainan metabolik diantaranya Makrofag CD36, *Monocyte Chemotactic Protein* (MCP-1) dan *Oxidized LDL* (Ox-LDL), dan ditemukan bahwa kandungan acetogenin dapat menyembuhkan inflamasi dan penyakit terkait imun (Gokaraju *et al.*, 2011).

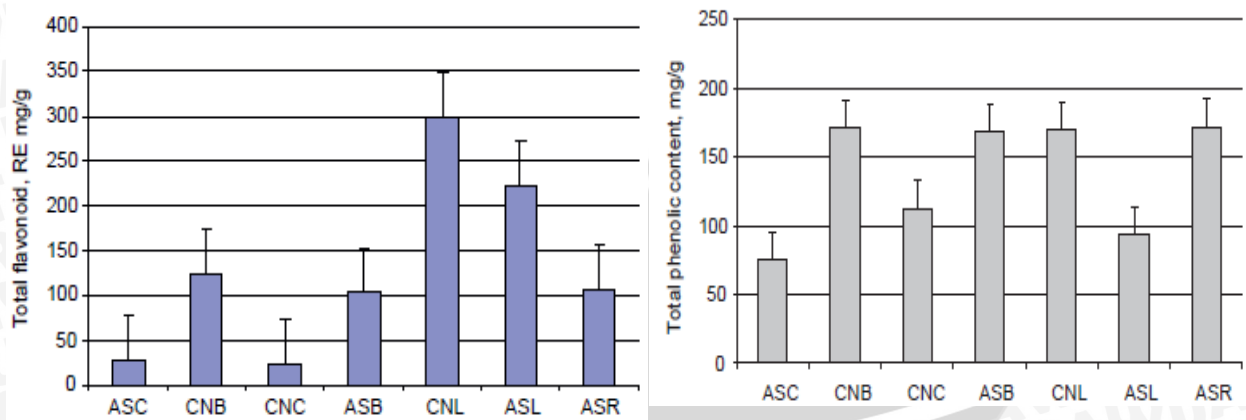
Polifenol ditemukan pada tanaman dan mempunyai peran penting dalam pigmentasi, reproduksi, pertumbuhan dan perlindungan terhadap patogen (Bravo, 1996). Polifenol telah diteliti secara *invivo* dan *invitro* mempunyai kemampuan sebagai antioksidan (De Logngeril *et al.*, 1996). Duapertiga polifenol merupakan flavonoid (Dell'Agli *et al.*, 2004). Kothari dan Sedhari dalam studinya menunjukkan bahwa ekstrak biji srikaya mengandung antioksidan (tabel 2.4) yaitu fenolik dan flavonoid (Mariod *et al.*, 2012). Polyphenol dapat menghambat CETP (Zern dan Fernandez, 2005) dan flavonoid dapat meningkatkan LCAT plasma secara signifikan. LCAT berhubungan dengan transpor kolesterol dari jaringan ekstrahepar ke hepar untuk didegradasi (Anila, 2002)

**Tabel 2.3 Bahan Aktif Tanaman Srikaya (Vyas et al., 2012).**

Bagian tanaman	Komposisi kimia
Biji	Annonastatin, asimicin, squamocin, minyak esensial seperti $\beta$ -farnesene, $\beta$ -pirene, $\alpha$ pirene, limorene dll
Daun	Alkaloid seperti aporphine, roemerine, norisocoryline, dll, rhamnoside, quercetin-3-o-glucoside
Batang	Acetogenin seperti 4-deoxyannoreticuline, annoreticuline-9, annosquamosins A,B, cyclopeptides, squamone, squamotacin, 2,4 cis dan trans squamoxinone
Akar	Liriodenine, norcorydine, isocorydine,, dll
Buah	Kaurane yipe diterpenes, (-)-ent-kaur-16-en-19-oic acid dan 16 $\alpha$ ,17-dihydroxy-ent-kauran-19-oic acid

**Tabel 2.4 Kandungan Antioksidan dalam Ekstrak Biji Srikaya (Kothari dan Seshadri, 2010).**

Biji	Ekstrak	Aktivitas antioksidan total	Kapasitas penangkal radikal DPPH	Total fenolik	Total flavonoid
A.squamosa	Heksana	268.75 $\pm$ 2.32	61.19 $\pm$ 0.19	24.45 $\pm$ 1.32	9.86 $\pm$ 0.22
	Aseton	229.29 $\pm$ 2.21	582.82 $\pm$ 4.27	29.95 $\pm$ 3.11	32.66 $\pm$ 8.13
	Chloroform-methanol	203.81 $\pm$ 9.31	647.42 $\pm$ 12.02	242.82 $\pm$ 5.08	23.15 $\pm$ 0.33
	Ethanol	427.14 $\pm$ 2.87	1925.91 $\pm$ 23.02	171.58 $\pm$ 7.31	42.44 $\pm$ 1.13
	Air	777.64 $\pm$ 15.05	3201.63 $\pm$ 27.31	208.7 $\pm$ 2.09	5.72 $\pm$ 0.38



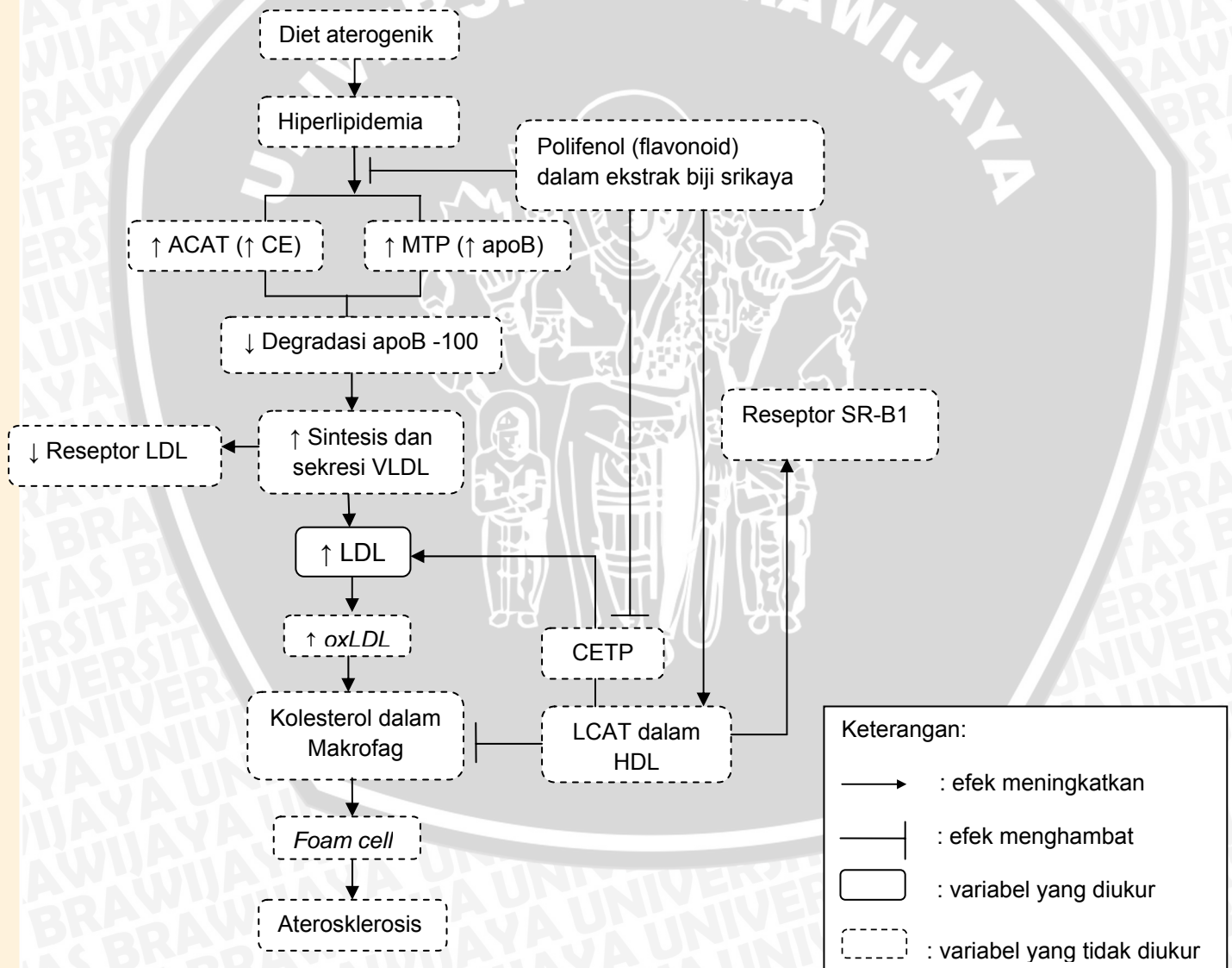
**Gambar 2.4 Total Flavonoid dan Fenolik.**

Daun *A.squamosa* (ASL), Batang *A.squamosa* (ASB), Akar *A.squamosa* (ASR), Biji *A.squamosa* (ASC) and Daun *C. nilotica* (CNL), Batang *C. nilotica* (CNB), and Biji *C. nilotica* (CNC) (Mariod et al., 2012).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1. Kerangka Konsep

### 3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Pemberian diet aterogenik menyebabkan keadaan hiperlipidemia. Keadaan hiperlipidemia menyebabkan peningkatan ACAT (*Asil Koa-Kolesterol Asil Transferase*) yang meningkatkan CE/ester kolesterol dan meningkatkan MTP (*Microsomal Transfer Protein*) yang meningkatkan apoB, keadaan ini menurunkan degradasi Apo B100 yang menyebabkan peningkatan sintesis dan sekresi VLDL. Peningkatan VLDL akan meningkatkan LDL dan menurunkan reseptor LDL sehingga menyebabkan jumlah LDL tetap tinggi. LDL yang meningkat akan meningkatkan LDL teroksidasi (*oxLDL*). *oxLDL* bertemu dengan makrofag akan membentuk *foam cell* dan menyebabkan aterosklerosis. Enzim LCAT (*Lethicin Cholesterol Acyltransferase*) dalam HDL berperan dalam pengambilan kolesterol dari makrofag dan mengubahnya menjadi ester kolesterol sedangkan enzim CETP (*Cholesterol Ester Transfer Protein*) menukarkan ester kolesterol dalam HDL dengan trigliserid dari VLDL dan IDL yang akan menyebabkan peningkatan LDL. Pemberian ekstrak biji srikaya yang mengandung polifenol (flavonoid) dapat menurunkan VLDL dan menghambat CETP sehingga jumlah LDL menurun dan meningkatkan LCAT sehingga kolesterol dalam makrofag berkurang. Jumlah LDL yang menurun akan memperkecil kemungkinan LDL menjadi LDL teroksidasi dan menjadi aterosklerosis.

### 3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa L*) pada tikus aterogenik dapat menurunkan kadar LDL tikus.

## BAB IV METODE PENELITIAN

### 4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian studi eksperimental *in vivo* pada hewan coba tikus wistar (*Rattus norvegicus*) dengan “*post test control group design*”, yaitu membandingkan hasil yang didapat setelah perlakuan dengan menggunakan kontrol positif dan negatif.

### 4.2 Sampel Penelitian

#### 4.2.1 Estimasi Jumlah Pengulangan

Penelitian ini membagi sampel dalam lima kelompok perlakuan, yaitu:

- a. Kelompok kontrol negatif: Sampel dengan kondisi tanpa diet aterogenik dan tanpa diberikan ekstrak biji srikaya
- b. Kelompok kontrol positif: Sampel dengan diet aterogenik tanpa diberi ekstrak biji srikaya.
- c. Kelompok dosis 1: Sampel dengan diet aterogenik yang diberi ekstrak biji srikaya 0,5mg/gr BB.
- d. Kelompok dosis 2: Sampel dengan diet aterogenik yang diberi ekstrak biji srikaya 1 mg/gr BB.



- e. Kelompok dosis 3: Sampel dengan diet aterogenik yang diberi ekstrak biji srikaya 1,5 mg/gr BB.

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini dihitung dengan rumus (Hanafi, 1995):

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

$$n - 1 \geq 15 : p$$

$$n \geq (15 : 5) + 1$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

p=perlakuan

n= jumlah sampel

Dalam rancangan penelitian ini diketahui jumlah perlakuan  $p=5$ , maka dari hasil perhitungan didapatkan sampel yang digunakan adalah  $n \geq 4$ . Jadi sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah lima ekor tikus per kelompok sehingga jumlah keseluruhan tikus yang digunakan adalah 25 ekor.

#### 4.2.2 Kriteria Inklusi

- Strain wistar
- Jenis kelamin jantan
- Berat badan  $\pm 200$  gram
- Berumur 6-8 minggu

#### **4.2.3 Kriteria Eksklusi**

Tikus yang tidak mau makan, kondisinya menurun dan sakit

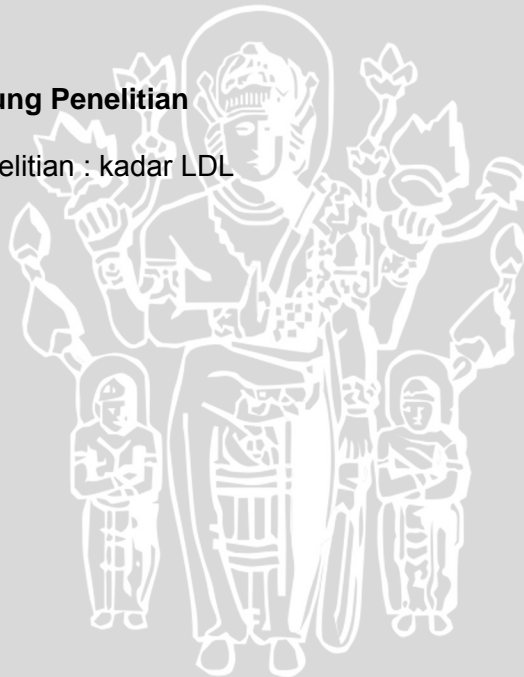
#### **4.3 Variabel Penelitian**

##### **4.3.1 Variabel Bebas Penelitian**

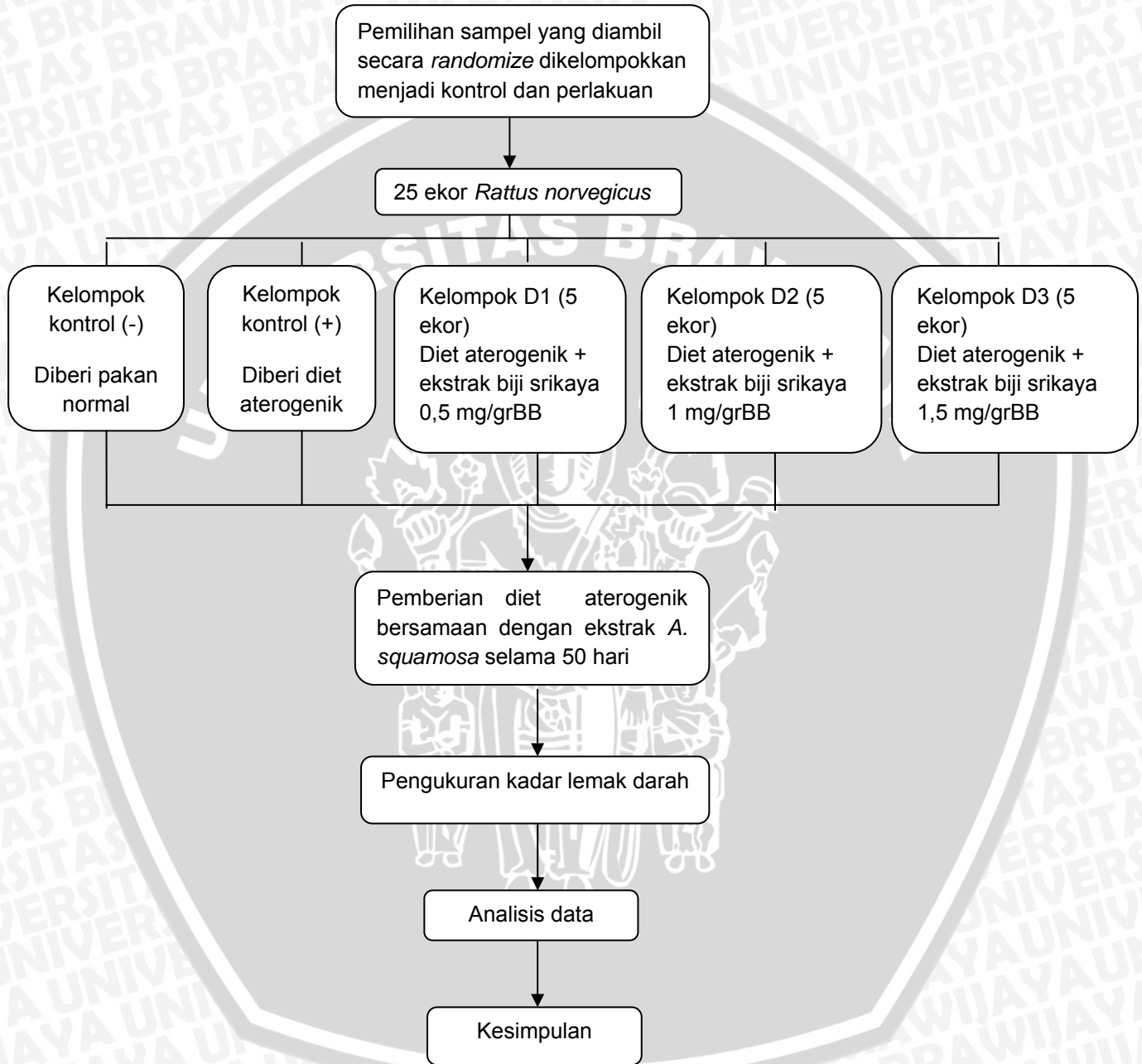
Variabel bebas penelitian adalah : dosis ekstrak biji srikaya dengan berbagai ukuran

##### **4.3.2 Variabel Tergantung Penelitian**

Variabel tergantung penelitian : kadar LDL



#### 4.4 Alur Kerangka Kerja Penelitian



Gambar 4.1 Alur Kerangka Kerja Penelitian

#### 4.5 Definisi Operasional

- a. Ekstraksi biji buah srikaya (*Annona squamosa L.*) dilakukan dengan teknik maseri melalui perendaman dan evaporasi dengan parameter volume dan skala ukur rasio.
- b. Ada empat kelompok utama lipoprotein yang mempunyai makna secara fisiologis dan diagnosa klinik, yaitu kilomikron yang berasal dari penyerapan triasilgliserol di usus, lipoprotein dengan densitas sangat rendah (VLDL) yang berasal dari hati untuk mengeluarkan triasilgliserol, lipoprotein dengan densitas rendah (LDL) yang memperlihatkan tahap akhir dalam katabolisme VLDL dan lipoprotein dengan densitas tinggi (HDL) yang terlibat di dalam metabolisme VLDL dan kilomikron serta pengangkutan kolesterol. Triasilgliserol merupakan unsur lipid yang dominan pada kilomikron dan VLDL, sedangkan kolesterol dan fosfolipid masing-masing dominan pada LDL dan HDL. Sejumlah penelitian dengan menggunakan VLDL yang berlabel apoB-100 memperlihatkan bahwa VLDL adalah prekursor IDL dan IDL adalah prekursor LDL. 30% LDL didegradasi di jaringan ekstrahepatik dan 70% di hepar. Terdapat korelasi positif antara insiden aterosklerosis koroner dan konsentrasi kolesterol LDL plasma (Murray *et al.*, 2003).
- c. Menurut Mulyohadi *et al.*, 2006, penelitian pada tikus (*Rattus norvegicus*) dengan pemberian pakan aterogenik (pakan ditambah kolesterol 2%, minyak babi 5% dan asam kolat 0.2%) dapat menginduksi hiperkolesterolemia (Mulyohadi *et al.*, 2006).

#### 4.6 Bahan dan Alat Penelitian

##### 4.6.1 Alat dan Bahan Perawatan dan Pembuatan Ransum Makanan Tikus

- a. Perawatan tikus: bak plastik berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm dengan tutup kandang terbuat dari kawat, botol air, sekam dan penimbangan berat badan dengan neraca Sartorius
- b. Pembuatan ransum makanan: alat pembuatan, timbangan, neraca analitik, baskom, pengaduk, gelas ukur, penggiling pakan, dan nampan, sedangkan bahannya adalah makanan tikus dewasa per ekor setiap hari sebesar 40 gram sebagai diet standar sedangkan pakan diet aterogenik sebesar 32 gram dengan komposisi seperti diet standar dan ditambahkan lemak dengan persentase tertentu.

##### 4.6.2 Pembuatan Ekstrak Biji Srikaya

Alat yang dibutuhkan pada pembuatan ekstrak biji srikaya adalah:

1. Oven
2. Timbangan (1)
3. Gelas erlenmeyer (2)
4. Corong gelas (1)
5. Kertas saring (1)
6. Labu evaporator (1)
7. Labu penampung etanol (1)
8. Evaporator (1)

9. Pendingin spiral/rotary evaporator (1)

10. Selang Water Pump (1)

11. Water pump

12. Water bath

13. Vacum pump (1)

Bahan yang digunakan adalah:

1. Biji srikaya

2. Etanol 96%

3. Aquades

4. Botol hasil ekstrak

#### 4.6.3 Pengukuran LDL

Alat-alat dan bahan yang digunakan dalam pengukuran profil lemak adalah:

1. Mesin Cobas Mira

2. Cuvet disposable

3. Cup dan rak reagen

4. Cup dan rak sampel

5. Mikro pipet 200 $\mu$ L

6. Mikro pipet 1000 $\mu$ L

7. Blue tip

8. Yellow tip

## 4.7 Prosedur Penelitian

### 4.7.1 Pembuatan Ransum Makanan

Diet standar diberikan sebesar 40 gram/hari, mengandung energi sebesar 105 kalori, protein 5.06 gram (19.3% dari total energi), lemak 0.93 gram (7.9% dari total energi) dan karbohidrat 19.06 gram (72.7% dari total energi) sedangkan diet aterogenik diberikan sebesar 32 gram/hari dengan kandungan energi sebesar 105 kalori, protein 4 gram (15.2% dari total energi), lemak 3 gram (25.8% dari total energi) dan karbohidrat 15.32 gram (58.4% dari total energi) (Syarkiah *et al.*, 2007). Tingginya kadar lemak pada diet aterogenik disebabkan adanya penambahan kolesterol sebanyak 2%, minyak babi 5% dan asam kolat 0.2% (Mulyohadi *et al.*, 2006).

**Tabel 4.1 Komposisi Zat Gizi pada Pakan Tikus** (Syarkiah *et al.*, 2007).

Kelompok diet	Kalori	Protein (%)	Lemak (%)	Karbohidrat (%)
Standar *)	262.5	19.3	7.9	72.7
Aterogenik *)	322.12	15.2	25.8	58.4

Keterangan: \*) per 100 gram bahan

### 4.7.2 Pembuatan Ekstrak Biji Srikaya

#### Proses pengeringan

1. Biji srikaya dicuci sampai bersih
2. Dioven dengan suhu 80°C atau dengan panas matahari sampai kering (bebas kandungan air)

### Proses ekstraksi

1. Setelah kering, dihaluskan dengan blender sampai halus
2. Ditimbang sebanyak 100 gr sampel kering ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 liter
3. Direndam dengan etanol sampai volume 900 ml
4. Dikocok sampai benar-benar tercampur ( $\pm$  30 menit)
5. Didiamkan 1 malam sampai mengendap
6. Lapisan atas/bagian pelarut diambil

### Proses evaporasi

1. Dimasukkan dalam labu evaporasi 1 liter
2. Dipasang labu evaporasi pada evaporator
3. Water bath diisi dengan air sampai penuh
4. Semua rangkaian alat termasuk rotary evaporator, pemanas water bath (diatur sampai  $90^{\circ}$ ) dipasang kemudian disambungkan dengan aliran listrik
5. Larutan etanol dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu
6. Ditunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung ( $\pm$  1,5 sampai 2 jam untuk 1 labu)
7. Hasil yang diperoleh kira-kira  $\frac{1}{2}$  dari bahan yang digunakan
8. Hasil ekstraksi dimasukkan dalam botol plastik
9. Disimpan dalam freezer



### 4.7.3 Pengukuran LDL

Pengukuran kadar kolesterol LDL dengan menggunakan alat Cobas Mira dengan langkah berikut:

4.7.3.1 Alat dihidupkan dengan menekan tombol stop kontak

4.7.3.2 Menunggu 15 menit hingga suhu dalam alat mencapai 37°C

4.7.3.3 Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan

4.7.3.4 Mesin dioperasikan dengan langkah sebagai berikut:

4.7.3.4.1 Melakukan pencucian alat

- a. Menekan tombol INFO, tombol numerik 6 (*wash*), tombol numerik 1 (*down*) dan tombol F1 (*start*).
- b. Menunggu sekitar 2 menit hingga pencucian oleh alat sebanyak 3 kali.
- c. Menekan F1 (*stop*) untuk menghentikan pencucian, tekan tombol STATUS untuk kembali ke menu awal.

4.7.3.2 Menggunakan alat

- a. Memasukkan reagen yang akan digunakan ke dalam cup reagen dan tempatkan di rak reagen yang telah disediakan.
- b. Memasukkan sampel ke dalam cup sampel dan letakkan di rak sampel sesuai nomor urutan.
- c. Meletakkan masing-masing rak ke tempat Cobas Mira yang telah tersedia.
- d. Alat siap untuk digunakan.

#### 4.7.3.4.3 Pemeriksaan sampel

- a. Menekan tombol ROUTINE, NO.SAMPEL, ENTER.
- b. Memasukkan KODE SAMPEL kemudian tekan tombol ENTER.
- c. Menekan tombol TEST/PARAMETER yang akan diperiksa yaitu Kolesterol Total, HDL, dan TG.
- d. Menunggu alat hingga memproses.
- e. Untuk melihat hasil tekan tombol INFO dan numerik 2

#### 4.7.3.5 Pengukuran Kadar LDL

Untuk mendapatkan kadar kolesterol LDL digunakan rumus Friedewald sebagai berikut:

$$\text{LDL} = \text{Kolesterol Total} - \text{HDL} - (\text{Trigliserida}/5)$$

### 4.8 Prosedur Pengumpulan dan Analisis Data

#### 4.8.1 Pengumpulan Data

Pengumpulan data pada penelitian ini adalah dengan memberikan diet atherogenik dan ekstrak biji srikaya selama 50 hari, kemudian tikus dibunuh, dibedah dan diambil darahnya untuk pengukuran kadar LDL.

#### 4.8.2 Analisa Data

Analisis data dilakukan terhadap pengukuran LDL menggunakan SPSS 16 untuk Windows XP. Dengan program ini pertama-tama dilakukan uji normalitas data

(Lampiran 1). Untuk menguji normalitas data digunakan metode analitik Kolmogorov-Smirnov dan Shapiro-Wilk, kemudian dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui apakah varians data sama. Untuk mengetahui varians data digunakan metode *Levene test*. Setelah data normal dan homogen, selanjutnya dilakukan uji statistik *Oneway Anova* untuk mengetahui apakah kelima kelompok memiliki rata-rata yang berbeda. Jika terdapat perbedaan rata-rata dilanjutkan dengan uji *Post hoc Tukey HSD* untuk mengetahui pasangan data yang berbeda (untuk melihat perbedaan dari tiap kelompok). Setelah itu dilakukan uji Korelasi-Regresi untuk mengetahui hubungan antara ekstrak biji srikaya dengan kadar kolesterol LDL tikus yang diberi diet aterogenik.



## BAB V

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental pada tikus (*Rattus norvegicus*) dengan model diet aterogenik. Lama pemberian pakan diet aterogenik bersamaan ekstrak biji srikaya selama 50 hari. Kelompok perlakuan yang ada yaitu kelompok kontrol negatif yaitu sampel dengan diet standar (tidak aterogenik) dan tanpa pemberian ekstrak biji srikaya, kelompok kontrol positif yaitu sampel dengan diet aterogenik tanpa pemberian ekstrak biji srikaya, kelompok dosis I yaitu sampel dengan diet aterogenik yang diberi ekstrak biji srikaya dosis 0,5mg/grBB, kelompok dosis II yaitu sampel dengan diet aterogenik yang diberi ekstrak biji srikaya dosis 1 mg/grBB dan kelompok dosis III yaitu sampel dengan diet aterogenik yang diberi ekstrak biji srikaya dosis 1,5 mg/grBB. Berikut adalah hasil pengukuran LDL tikus:

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Kadar Plasma LDL

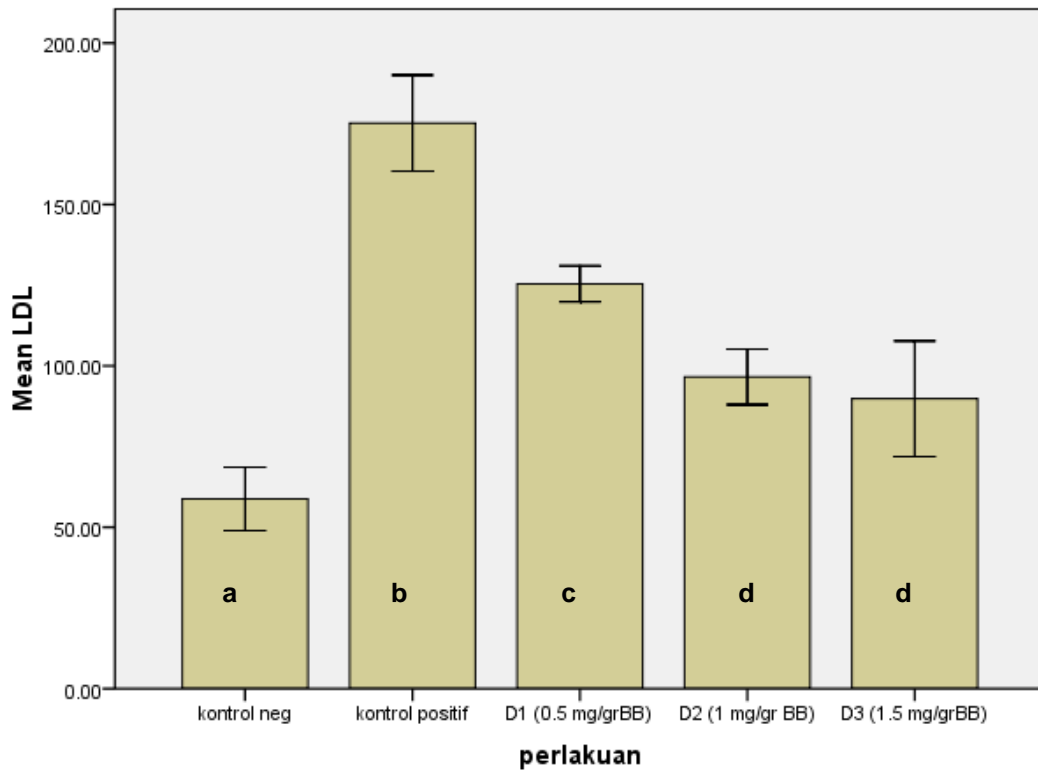
Sampel/ulangan	Kadar Kolesterol LDL				
	Kontrol negatif	Kontrol positif	Dosis 0.5mg/grBB	Dosis 1 mg/grBB	Dosis 1.5mg/grBB
1	65	158	126	87	89
2	50	179	126	103	80
3	52	168	121	92	79
4	54	173	120	93	80
5	73	198	134	108	121
Rerata	58.8	175.2	125.4	96.6	89.8

Data yang didapatkan dari hasil penelitian ini dianalisis dengan menggunakan program SPSS 16 untuk Windows XP. Dengan program ini pertama-tama dilakukan uji normalitas data (Lampiran 1). Untuk menguji normalitas data digunakan metode analitik Kolmogorov-Smirnov dan Shapiro-Wilk dan didapatkan  $p > 0.05$  pada semua kelompok maka data ini memiliki sebaran yang normal.

Kemudian dilakukan uji homogenitas (Lampiran 2) untuk mengetahui apakah varians data sama. Untuk mengetahui varians data digunakan metode *Levene test* dan didapatkan nilai  $p > 0.05$  yang berarti varians sama (tidak ada perbedaan varians antara kelompok yang dibandingkan)

Oleh karena data hasil penelitian memiliki distribusi normal dan homogen, maka dapat dilakukan pengujian *One-way ANOVA*. Uji ANOVA (*Analysis of Variance*) (Lampiran 3) dilakukan untuk menguji apakah kelima kelompok memiliki rata-rata (*mean*) yang berbeda. Dari hasil tes tersebut didapatkan hasil  $p < 0.05$  maka dapat ditarik kesimpulan kelompok data memiliki perbedaan rerata yang bermakna dan selanjutnya dilakukan analisis *post hoc* untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan bermakna

Analisis dilanjutkan dengan *Post hoc test* yang bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes ANOVA. Pada analisis ini digunakan *Tukey HSD* (Lampiran 4) dan dari analisis ini didapatkan ada beberapa kelompok yang berbeda secara signifikan. Untuk melengkapi hasil dari uji *Tukey* digunakan *Homogeneous Subsets* (Lampiran 5) dan didapatkan ada empat subset yang berbeda secara signifikan.



**Gambar 5.1 Grafik Perlakuan dan LDL**

Kontrol negatif dan kontrol positif menunjukkan perbedaan yang signifikan, sedangkan dari kelompok kontrol positif dibandingkan perlakuan dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak biji srikaya menurunkan LDL seiring dengan peningkatan dosis ekstrak yang diberikan. Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ( $p < 0.05$ )

Dari grafik diatas dapat dilihat bahwa adanya perbedaan yang signifikan antara 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif menunjukkan perbedaan yang nyata. Kelompok kontrol positif dengan dosis 1 (pemberian dosis 0.5mg/grBB), dosis 2 (dosis 1 mg/grBB) dan dengan dosis 3 (dosis 1.5 mg/grBB) masing-masing menunjukkan adanya penurunan LDL yang signifikan. Sedangkan kelompok dosis 2 dan kelompok dosis 3 menunjukkan penurunan LDL yang tidak terlalu banyak, hal ini kemungkinan disebabkan karena dosis biji srikaya sudah

maksimal pada dosis 2 (1 mg/grBB) sehingga jika diberikan dosis yang lebih besar dari 1 mg/grBB maka tidak menunjukkan adanya penurunan LDL yang lebih lagi.

Selanjutnya dilakukan uji korelasi *Pearson* (Lampiran 6) untuk melihat hubungan antara perlakuan (pemberian ekstrak biji srikaya) dan kadar LDL. Hasil korelasi yang didapatkan signifikan ( $p=0.001$ ) dengan hasil korelasi  $-0.775$  (korelasi sangat kuat) yang berarti 77.5% pemberian ekstrak berpengaruh pada penurunan kadar LDL.

Dari uji regresi linier (Lampiran 7) didapatkan persamaan  $y=139.533-35.6x$  dengan  $y=LDL$  dan  $x=dosis$  ekstrak srikaya. Contoh penggunaan persamaan pada pemberian dosis srikaya 1mg/grBB maka didapatkan LDL 103.933 mg/dl (sesuai dengan tabel 5.1). Suatu persamaan layak digunakan bila signifikansi Anova ( $p<0.05$ ) dan dari uji Anova yang dilakukan didapatkan  $p=0.01$  maka rumus tersebut dapat digunakan. Pada Model Summary menunjukkan hasil *Adjusted R Square* sebesar 57% yang artinya bahwa 57% penurunan LDL dipengaruhi oleh ekstrak biji srikaya sedangkan 43% nya dijelaskan oleh variabel-variabel lain yang tidak diteliti.

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Penelitian ini terdiri dari 5 macam perlakuan yaitu kelompok 1 (kontrol negatif) yang diberi pakan normal, kelompok 2 (kontrol positif) yang diberi pakan aterogenik, kelompok 3 sampai 5 adalah kelompok perlakuan yang diberi pakan aterogenik dan ekstrak biji srikaya dengan dosis yang berbeda (0.5, 1 dan 1,5 mg/grBB). Pemberian diet aterogenik dan ekstrak biji srikaya dilakukan selama 50 hari kemudian dilakukan pengukuran kadar lemak darah dan dilakukan analisis data.

Hasil dari kelompok kontrol negatif dan kontrol positif menunjukkan adanya perbedaan LDL yang signifikan, hal ini dikarenakan pada kelompok kontrol negatif diberi pakan normal, sedangkan pada kelompok kontrol positif diberikan pakan aterogenik. Pemberian pakan aterogenik dapat meningkatkan kadar LDL darah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Águila *et al.* (2002) dan Xia *et al.* (2010). Pemberian pakan aterogenik selama 8 minggu dapat meningkatkan kadar kolesterol darah dan menginduksi terbentuknya *foam cell* (sel busa) secara bermakna dan diet ini membuat lipoprotein menjadi aterogenik yaitu dengan menurunkan kadar HDL dan meningkatkan LDL plasma (Murwani *et al.*, 2006).

Hasil dari kelompok kontrol positif dengan D1 (dosis 0.5mg/grBB), D2 (dosis 1 mg/grBB) dan dengan D3 (dosis 1.5 mg/grBB) masing-masing menunjukkan



adanya penurunan LDL yang signifikan meskipun tidak dapat menurunkan sampai sama dengan kontrol negatif. Penurunan LDL dikarenakan polifenol dan metabolitnya memodifikasi kolesterol hepar dan metabolisme lipoprotein melalui mekanisme sebagai berikut: polifenol menurunkan aktivitas MTP dan ACAT yang mempengaruhi sekresi VLDL dan tanpa komponen lipid yang cukup terjadi degradasi apoB yang meningkat. Penurunan substrat secara signifikan membuat turunnya sintesis dan sekresi VLDL yang berakibat kaskade delipidasi terganggu dan menyebabkan penurunan LDL (Zern dan Fernandez, 2005). Flavonoid dan fenolik yang terdapat dalam ekstrak biji srikaya mempunyai korelasi linear dengan aktivitas antioksidan (Kothari dan Seshadri, 2010). Studi terhadap flavonoid dalam citrus yang dilakukan oleh Wilcox *et al* menunjukkan flavonoid meningkatkan reseptor LDL sebanyak lima kali dan meningkatkan kemampuan LDL untuk terikat pada reseptornya sebesar dua kali (Wilcox *et al.*, 2001). Dalam studinya, Steinberg menyatakan bahwa sel dinding arteri pada kultur mampu menyimpan antioksidan dalam jumlah cukup untuk mencegah pelepasan oksigen aktif atau untuk menghambat produksi oksidasi lemak seluler yang berperan penting dalam permulaan oksidasi lemak pada LDL (Steinberg, 1989).

Biji srikaya mengandung dan kandungan yang terdapat dalam biji srikaya yang terbukti menghambat sitokin proinflamasi adalah siklik peptida cyclosquamosin H&I, Squamin A and B, cyclosquamosin A,D,E dan cherimolacyclopeptide B (Srivastava, 2011).

Hasil dari D2 (dosis 1 mg/grBB) dibandingkan dengan D3 (dosis 1.5 mg/grBB) tidak menunjukkan adanya penurunan LDL yang signifikan. Hal ini

disebabkan karena penurunan LDL dengan dosis 1mg/grBB maupun dosis 1.5 mg/grBB hampir sama, sehingga dosis optimum dari ekstrak biji srikaya adalah sebesar 1 mg/grBB. Selain itu telah diketahui dosis toksik ekstrak biji srikaya menurut penelitian yang dilakukan oleh Aneela *et al*, tikus percobaan diberikan ekstrak biji srikaya yang berbeda sebesar 0.3 mg/grBB dan 2 mg/grBB. Setelah ekstrak diberikan melalui oral, diketahui pada hari ke 3 tikus yang diberi ekstrak annona dengan dosis sebesar 2 mg/grBB mengalami kematian. Hal ini mungkin disebabkan karena dosis toksik atau intoleransi akibat kondisi iklim setelah masuknya ekstrak tersebut. Sedangkan tikus yang diberi dosis 0.3 mg/grBB tetap hidup (Aneela *et al.*, 2011).

Penelitian yang kami lakukan merupakan penelitian tim. Hasil yang didapatkan oleh peneliti Andriana menunjukkan adanya pembentukan *foam cell* pada kelompok kontrol positif dan penurunan *foam cell* serta peningkatan HDL (*High-Density Lipoprotein*) pada kelompok yang diberi ekstrak biji srikaya. Parthasarathy dkk melaporkan bahwa masuknya HDL pada kultur sel endotel yang mengandung LDL dapat menghambat modifikasi LDL oleh makrofag (Parthasarathy, 1990). Hasil trigliserida yang dilakukan oleh peneliti Raisa juga menunjukkan adanya penurunan pada kelompok yang diberi ekstrak biji srikaya. Selanjutnya dari hasil pemeriksaan didapatkan penurunan glukosa darah, hal ini sesuai dengan studi yang dilakukan oleh Sangala *et al* yaitu pemberian ekstrak ethanol *Annona squamosa* sebesar 0.2 mg/grBB dapat menurunkan glukosa darah secara signifikan (Sangala *et al.*, 2011).

Menurut Shaw *et al*, dosis ekstrak biji srikaya pada tikus dalam penelitian jika dikonversikan pada manusia menggunakan rumus sebagai berikut (Shaw, 2007)

$$\text{HED (mg/kg)} = \text{dosis pada hewan coba (mg/kg)} \times \frac{6}{171}$$

Pemberian D1 (0.5 mg/grBB) dapat dikonversikan pada manusia sebesar 81 mg/kgBB, D2 (1 mg/grBB) diberikan pada manusia sebesar 162 mg/kgBB dan D3 (1.5 mg/grBB) diberikan pada manusia sebesar 243 mg/kgBB.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah tidak dilakukannya pemberian dosis diatas 1.5 mg/grBB sampai 2 mg/grBB sehingga tidak diketahui berapakah dosis maksimal yang dapat diberikan pada hewan coba.



## BAB VII

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

1. Ekstrak biji srikaya mampu menurunkan kadar LDL dalam darah pada tikus dengan diet tinggi lemak.
2. Dosis optimum ekstrak biji srikaya srikaya untuk menurunkan LDL pada tikus dengan diet tinggi lemak adalah 1 mg/grBB.

#### 7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek samping dari pemberian ekstrak biji srikaya.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membandingkan pengaruh biji srikaya dengan bagian lain srikaya seperti batang dan daun dalam pengaruhnya terhadap penurunan LDL.
3. Perlu dilakukan fraksinasi bahan aktif dalam biji srikaya sehingga penggunaan dosis tidak terlalu besar.

## DAFTAR PUSTAKA

Águila, M. B., Loureiro, C. C., Pinheiro, A. da R., Mandarim-de-Lacerda, C. A. 2002. *Lipid metabolism in rats fed diets containing different types of lipids*. *Arq. Bras. Cardiol.* 78: 32-8.

Akhtar, FM dan Baskoro, A. 2010. *Peran inflamasi pada proses aterosklerosis*. <http://arekkardiounair.blogspot.com/2010/10/peran-inflamasi-pada-proses.html>.

Almatsier, S. 2004. *Penuntun diet edisi baru*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, hal 150-151.

Aneela S, de S, Kanthal LK, Choudhury N.S.K, das BL and Sagar KV. 2011. *Acute oral toxicity studies of pongamia pinnata and annona squamosa on albino wister rats*. ISSN: 22312781.

Anila, N.R.V. 2002. *Flavonoids from Emblica officinalis and Mangifera indica—effectiveness for dyslipidemia*. Department of Biochemistry, University of Kerala, Karia\_attom, Tri\_andrum 695 581, Kerala, India. *Journal of Ethnopharmacology*. Accepted 5 October 2001.

Ballantyne, CM., O'Kee, JH., Gotto AM. 2007. *Dyslipidemia Essential*. Physician Press, New York.

Boudi, BF. 2009. *Atherosclerosis*. [www.eMedicine/CARDIOLOGY/Atherosclerosis and Risk Factors/150916-overview.html](http://www.eMedicine/CARDIOLOGY/AtherosclerosisandRiskFactors/150916-overview.html)

Bravo, L. 1998. *Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance*. *Nutr Rev*;56:317–33.

Cushing SD, Berliner JA, Valente AJ, Territo MC, Navab M, Parhami F et al. *Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:5134–5138.

De Logngeril M, Salen P, Martin JL, Mamelle N, Monjaud I, Touboul P, Delaye J. *Effect of a Mediterranean diet on the rate of cardiovascular complications in patients with coronary artery disease. Insights into the protective effect of certain nutrients.* J Am Coll Cardiol.1996;28:1103–8.

Dell'Agli M, Busciala A, Bosisio E. *Vascular effects of wine polyphenols.* Cardio Res. 2004;63:593–602.

Esterbauer, H., Jurgens, G., Quehenberger, O., and Koller, E. 1987. *J. Lipid Res.* 28, 495-509.

Fauci, SA., Braunwald Eugene., Kasper, DL., Hauser, SL., Longo, DL., Jameson, JL., Loscalzo Joseph. 2008. *Harrison Principle of Internal Medicine 17<sup>th</sup> edition.* McGraw Hill Companies: USA.

Ferri, N., Paoletti, R. and Corsini, A. 2006. *Biomarker for Atherosclerosis: Patophysiological Role and Pharmacological Modulation, Current Opinion Lipodology* 17: 495-501.

Fischer, N. (1998), "*Flavour components in selected exotic fruits*", Food Australia, Vol. 50 No. 4, pp. 165-8.

Gokaraju G.R., Golakoti T., Sengupta K., Bhupathiraju K. 2011. *Extracts, Fractions And Compositions Comprising Acetogenins And Their Applications.* Mumbai.

Goldstein JL and Brown MS. *The Low Density Lipoprotein Pathway and it's Relationship to Atherosclerosis.* Ann Rev Biochem. 1977, 56:259316.

Gotto, AM. 2004, *Contemporary Diagnosis and Management of Lipid Disorder, Handbooks in Health Care Co., Pennsylvania, USA.*

Haberland ME, Fong D, Cheng L. *Malondialdehyde altered protein occurs in atheroma of Watanabe heritable hyperlipidemi rabbits.* Science 1988, 241: 215218.

Hanafi,A. 1995. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi.* Raja Grafindo Persada, Jakarta.

Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, van den Werf F, Collen D. *Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. Circulation.* 1998;98: 1487–1494.

Howlett, GJ and Moore, KJ. 2006. *Untangling the Role of Amyloid in Atherosclerosis.* Current Opinion Lipodology 17:541-547.

Ishigaki Y., Oka Y., Katagiri H. 2009. *Circulating Oxidized LDL: a Biomarker And a Pathogenic Factor.* Current Opinion in Lipodology. October 2009; 20 (5): 363-369.

Kothari V and Seshadri S. *Antioxidant activity of seed extracts of Annona squamosa and Carica papaya.* Nutrition & Food Science Vol. 40 No. 4, 2010. pp. 403-408. Emerald Group Publishing Limited.

Kumar dan Clark. 2006. *Clinical medicine 6<sup>th</sup> edition.* Elsevier Inc. United Kingdom.

McPhee SJ, Lingappa V, Ganong W. 2006. *Pathophysiology of Disease: An Introduction to Clinical Medicine, Fifth Edition.* The McGraw-Hill Companies, Inc. USA.

Lees RS. 2005. *Hyperlipidemia and Atherosclerosis,* Harvard-MIT Division of Health Sciences and Technology HST, 151: Principles of Pharmacology

Lim T.K.,2012. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 1, Fruits,* DOI 10.1007/978-90-481-8661-7\_30, Springer Science and Business Media B.V.

Maitra A dan Kumar V. 2007. *Penyakit Genetik dan Anak dalam Buku Ajar Patologi Robbins edisi ke-7.* EGC; Jakarta.

Malelak, David A. 2012. *HIPERLIPIDEMIA.*  
<http://davidmalelak.blogspot.com/2012/03/hiperlipidemia.html>.

Mariod A.A., Abdelwahab S.I., Elkheir S., Ahmed J.M., Fauzi P.N.M., Chuen Ch.S., 2012. *Antioxidant activity of different parts from Annona squamosa, and Catunaregam nilotica methanolic extract*. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 11(3), 249-257.

Miyamoto, T., Yimoto, H., Takahashi, Y., Davey, M., Gibson IIFC, and GencoCA. 2006. *Pathogen-Accelerated Atherosclerosis Occurs Early After Exposure and Can Be Prevented vi Immunization*. Infection and Immunity, Feb: 1376-1380.

Morel, DW. Corleto PE. Chilsolm GM. *Endothelial and smooth muscle cells alter low density lipoprotein invitro by free radical oxidation*, Atherosclerosis 1984. 4;357-364.

Morton, J.F. Miami FL. *Fruits of warm climates*; J.F. Morton Publisher, Miami, Florida, USA. 1987, 69-72.

Mulyohadi A, Mulyani S, Muliarta K. *Diet Aterogenik pada Tikus Putih (Rattus norvegicus strain wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis*, Jurnal Kedokteran Brawijaya:2006:12(1).

Murray, Robert K, Granner DK, Rodwell VW. 2006. *Harper's Illustrated Biochemistry*, Brahm U (penterjemah), 2009, EGC, Jakarta, Indonesia, hal. 225-229.

Murwani S, Mulyohadi A, Ketut M. 2006. *Diet Aterogenik pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus strain wistar) sebagai Model Hewan Aterosklerosis*, Jurnal Kedokteran Brawijaya Vol XXII No.1, April, 2006, hal 7-9.

Parthasarathy, S., Khoo, J.C., Miller, E., Barnett, J., Wtitztum, J.L., Rajavashisth, T.B., Andalibi, A., Territo, M.C., Berliner, J.A., Navab, M., Fogelman, A.M., and Lusis, A.J. (1990) Nature 344, 254-257.

Price dan Wilson. 2005. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Volume 2 Edisi 6*. Jakarta:ECG.

Rudolf, S. (2001), "The benefits and hazards of antioxidants: controlling apoptosis and other protective mechanisms in cancer patients and the human population", Journal of American College of Nutrition, Vol. 20, pp. 464-72.



Naqvi S.N.H, Tariq R.M, Zafar S.M.N, and Attique M.R. *Efficacy of acorus calamus (ac) rhizome oil and annona squamosa (as) seed oil against sucking pests of cotton at ccri-multan as compared to mospilan and tamaron*. Pakistan j. Entomol. Karachi, 21 (1&2): 29-34, 2006.

Sangala R, Kodati DR ,Burra S,Gopu J, Dubasi A. 2011. *Evaluation of Antidiabetic Activity of Annona Squamosa Linn Seed in Alloxan – Induced Diabetic Rats*. Vol 2 p.100-106.

Sargowo, HD. 1997. *Peran Radikal Bebas dalam Patogenesis Aterosklerosis*. Jurnal Kardiologi Indonesia Vol XXIII No 3, Juli-September 1997.

Science Press Internet Services. 2002. *Lectures in clinical atherosclerosis and dyslipidemia: Metabolisme VLDL dan HDL*. [http://www.cmqlinks.com/asa/lectures/Part\\_2/lecture/3.html](http://www.cmqlinks.com/asa/lectures/Part_2/lecture/3.html).

Shah, PK. 2007. *Molecular Mechanisms of Plaque Instability*. Current Opinion in Lipidology 2005, 18:492-499.

Shaw SR, Nihal M, and Ahmad N. 2007. Dose translation from animal to human studies Revisited. *FASEB J*. 22, 659–661.

Srivastava S, Lal V.K dan Pant K.K. *Medicinal potential of Annona squamosa: At a glance*. Journal of Pharmacy Research 2011,4(12),4596-4598.

Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T.E., Khoo, J.C., and Witztum, J.L.1989 N. Engl. J. Med. 320, 915-924.

Steinberg, D. 1997. *Oxidative Modification of LDL And Atherogenesis*. Circulation: page 1062–1071.

Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. 2009. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III edisi V*. Interna Publishing: Jakarta.

Sunarjono, H. 2005. *Sirsak dan Srikaya, Budi Daya Untuk Menghasilkan Buah Prima*. Jakarta:Penebar Swadaya.

Suresh K; Mamoharan S; Panjamurthy K and Kavita., "Chemopreventive and antilipidperoxidative efficiency of *Annona squamosa* bark extract", Pakistan journal of Biological sciences;2006, 9(14); pp.2600- 2605.

Syarkiah, Fitri L.E, Pudjirahaju A. 2007. *Pengaruh Pemberian Minyak Buah Merah (Pandanus conoideus oil) Terhadap Pembentukan Foam Cell Pada Tikus Galur Wistar Yang Diberi Diet Aterogenik*, Jurnal Kedokteran Brawijaya Vol XXIV, No 1, April 2008.

Zern TL and Fernandez ML. *Recent Advances in Nutritional Sciences Cardioprotective Effects of Dietary Polyphenols*. Department of Nutritional Sciences, University of Connecticut, Storrs, CT 06269. 2005 American Society for Nutrition.

Vyas K, Manda H, Sharma RK, Singhal G. 2012. *An Update Review on Annona Squamosa*. International Journal of Pharmacy & Therapeutics, 3(2) page 107-118.

Wijaya, A. 1996. *Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan*, Forum Diagnosticum, Laboratorium Klinik Prodia.

Wilcox, L. J., Borradaile, N. M., de Dreu, L. E. & Huff, M. W. (2001) *Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenin and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP*. J. Lipid Res. 42:725-734.

Xia, D., Wu, X., Yang, Q., Gong, J., Zhang, Y. 2010. *Anti-obesity and hypolipidemic effects of a functional formula containing Prumus mume in mice fed high-fat diet*. Afr. J. Biotechnol. 9(16): 2463-7.

Tien YY, Chaing C, Chang CC, Seng WST, Kotwal S and Shyu YT. *Studies on the lactic-fermentation of sugar apple (Annona squamosa L.) puree*. Journal of Food and Drug analysis, 13(4), 2004, 377-381.

**LAMPIRAN 1**

**Tests of Normality**

perlakuan		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
LDL	kontrol neg	.287	5	.200 <sup>*</sup>	.878	5	.299
	kontrol positif	.199	5	.200 <sup>*</sup>	.964	5	.837
	D1 (0.5 mg/grBB)	.257	5	.200 <sup>*</sup>	.897	5	.393
	D2 (1 mg/gr BB)	.262	5	.200 <sup>*</sup>	.929	5	.587
	D3 (1.5 mg/grBB)	.318	5	.110	.706	5	.011

a. Lilliefors Significance Correction

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

**LAMPIRAN 2**

**Test of Homogeneity of Variances**

LDL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.120	4	20	.375

**LAMPIRAN 3**

**ANOVA**

LDL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	38468.560	4	9617.140	64.614	.000
Within Groups	2976.800	20	148.840		
Total	41445.360	24			

LAMPIRAN 4

Multiple Comparisons

LDL  
Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	kontrol positif	-116.40000*	7.71596	.000	-139.4890	-93.3110
	D1 (0.5 mg/grBB)	-66.60000*	7.71596	.000	-89.6890	-43.5110
	D2 (1 mg/gr BB)	-37.80000*	7.71596	.001	-60.8890	-14.7110
	D3 (1.5 mg/grBB)	-31.00000*	7.71596	.005	-54.0890	-7.9110
kontrol positif	kontrol negatif	116.40000*	7.71596	.000	93.3110	139.4890
	D1 (0.5 mg/grBB)	49.80000*	7.71596	.000	26.7110	72.8890
	D2 (1 mg/gr BB)	78.60000*	7.71596	.000	55.5110	101.6890
	D3 (1.5 mg/grBB)	85.40000*	7.71596	.000	62.3110	108.4890
D1 (0.5 mg/grBB)	kontrol negatif	66.60000*	7.71596	.000	43.5110	89.6890
	kontrol positif	-49.80000*	7.71596	.000	-72.8890	-26.7110
	D2 (1 mg/gr BB)	28.80000*	7.71596	.010	5.7110	51.8890
	D3 (1.5 mg/grBB)	35.60000*	7.71596	.001	12.5110	58.6890
D2 (1 mg/gr BB)	kontrol negatif	37.80000*	7.71596	.001	14.7110	60.8890
	kontrol positif	-78.60000*	7.71596	.000	-101.6890	-55.5110
	D1 (0.5 mg/grBB)	-28.80000*	7.71596	.010	-51.8890	-5.7110
	D3 (1.5 mg/grBB)	6.80000	7.71596	.900	-16.2890	29.8890
D3 (1.5 mg/grBB)	kontrol negatif	31.00000*	7.71596	.005	7.9110	54.0890
	kontrol positif	-85.40000*	7.71596	.000	-108.4890	-62.3110
	D1 (0.5 mg/grBB)	-35.60000*	7.71596	.001	-58.6890	-12.5110
	D2 (1 mg/gr BB)	-6.80000	7.71596	.900	-29.8890	16.2890

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

**LAMPIRAN 5**

**LDL**

Tukey HSD

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol negatif	5	58.8000			
D3 (1.5 mg/grBB)	5		89.8000		
D2 (1 mg/gr BB)	5		96.6000		
D1 (0.5 mg/grBB)	5			1.2540E2	
kontrol positif	5				1.7520E2
Sig.		1.000	.900	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**LAMPIRAN 6**

**Correlations**

		Perlakuan	LDL
Perlakuan	Pearson Correlation	1	-.775**
	Sig. (2-tailed)		.001
	N	15	15
LDL	Pearson Correlation	-.775**	1
	Sig. (2-tailed)	.001	
	N	15	15

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

**LAMPIRAN 7**

**Variables Entered/Removed<sup>b</sup>**

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Perlakuan <sup>a</sup>		Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: LDL

**Model Summary<sup>b</sup>**

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.775 <sup>a</sup>	.601	.570	12.72953

a. Predictors: (Constant), Perlakuan

b. Dependent Variable: LDL

**ANOVA<sup>b</sup>**

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	3168.400	1	3168.400	19.553	.001 <sup>a</sup>
	Residual	2106.533	13	162.041		
	Total	5274.933	14			

a. Predictors: (Constant), Perlakuan

b. Dependent Variable: LDL

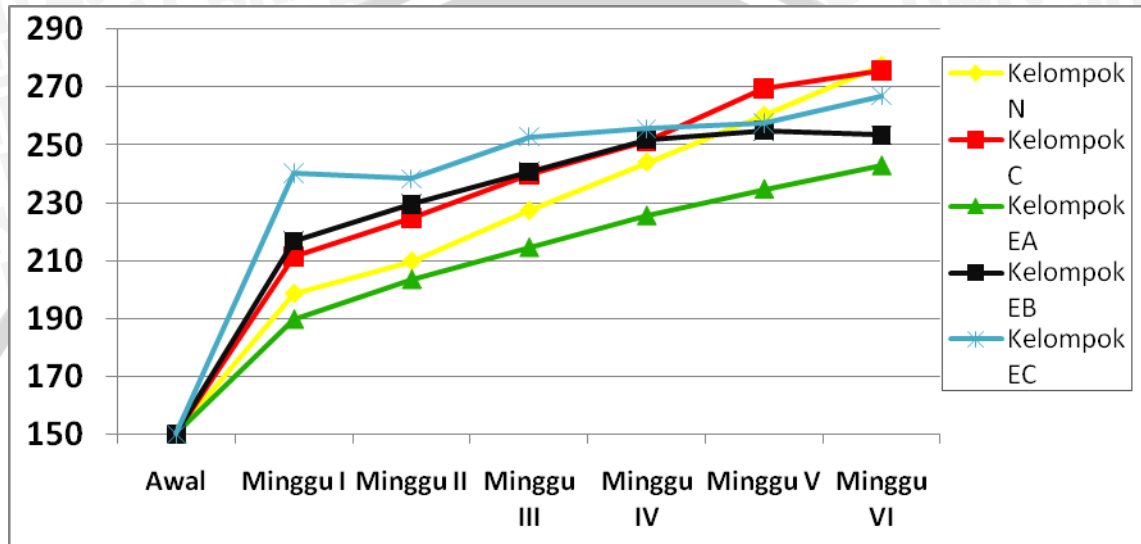
**Coefficients<sup>a</sup>**

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	139.533	8.696		16.046	.000
	Perlakuan	-35.600	8.051	-.775	-4.422	.001

a. Dependent Variable: LDL

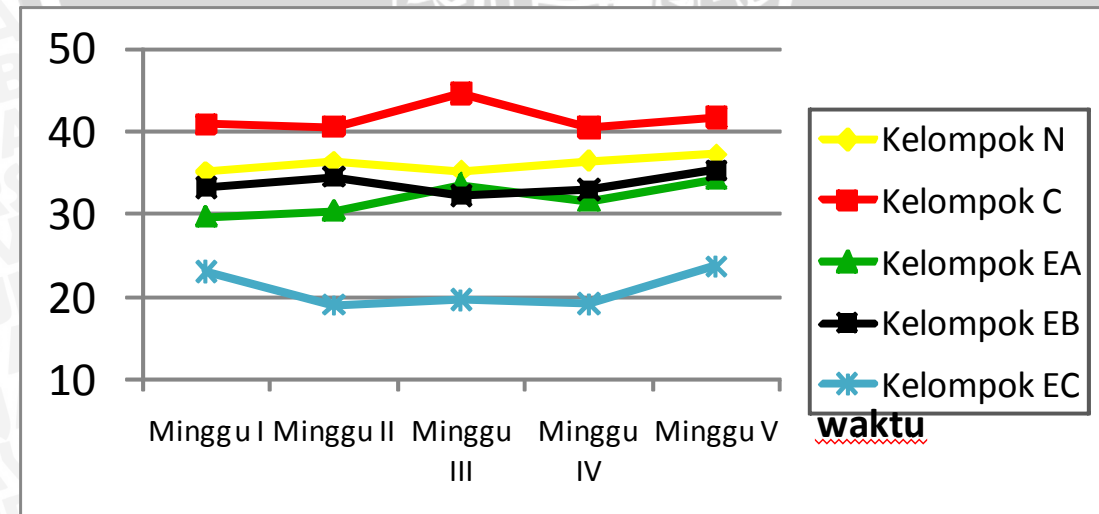
LAMPIRAN 8: Grafik Rerata Berat Badan Tikus

Berat badan (gram)



LAMPIRAN 9: Grafik Rerata Pakan Tikus

Pakan Tikus (gram)



**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Eileen Erica Mardiharto

NIM : 0910710064

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 06 Agustus 2012

Yang membuat pernyataan

Eileen Erica Mardiharto

NIM. 0910710064





