

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS
TERHADAP JUMLAH SEL BUSA (FOAM CELL) PADA
AORTA ABDOMINALIS TIKUS PUTIH (RATTUS
NORVEGICUS) STRAIN WISTAR DENGAN DIET TINGGI
LEMAK**

TUGAS AKHIR

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



**Oleh :
Citra Ayu Lestari
NIM. 0910714029**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2012

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS
TERHADAP JUMLAH *FOAM CELL* PADA AORTA ABDOMINALIS
TIKUS (*RATTUS NORVEGICUS*) WISTAR DENGAN DIET TINGGI
LEMAK

Oleh :

Citra Ayu Lestari

NIM : 0910714029

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 12 Desember 2012

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Sudiarto, MS

NIP. 194609131980021001

Pembimbing I/Penguji II

drg. Prasetyo Adi, MS
NIP. 195604161983031003

Pembimbing II/Penguji III

dr. Cholid Tri Tjahjono, M.Kes, Sp.JP.
NIP. 19620724 198903 1 002

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran,

Prof.Dr.dr. Teguh W. Sardjono, DMT&H.,M.Sc.,SpParK
NIP. 19520410 198 002 1 001

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji Syukur ke Hadirat Allah Yang Maha Kuasa, Maha Pengasih dan Maha Penyayang, karena hanya dengan berkat dan rahmat-Nya, penulisan tugas akhir ini dapat selesai. Tugas akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada program pendidikan dokter umum Universitas Brawijaya Malang.

Ketertarikan penulis terhadap topik ini didasarkan atas maraknya penggunaan propolis di masyarakat didukung oleh penelitian-penelitian mengenai manfaat propolis dalam kehidupan sehari-hari. Oleh karena itu, penulis ingin mengetahui apakah propolis dapat digunakan untuk menurunkan jumlah sel busa yang merupakan lesi awal aterosklerosis.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang luar biasa kepada :

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, SpPA., selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. drg. Prasetyo Adi, MS., selaku dosen pembimbing pertama yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis dengan sabar dan senantiasa memberi semangat selama penulisan tugas akhir ini.
3. dr. Cholid Tri Tjahjono, M.Kes, Sp.Jp., selaku dosen pembimbing kedua yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis selama penulisan tugas akhir ini.
4. dr. Sudiarto, MS, selaku penguji atas saran dan kritik yang telah diberikan sehingga dapat menyempurnakan tugas akhir ini.
5. dr. Arliek Rio Julia, M.kes dan dr. Imam Sarwono, Sp.PA., yang telah membimbing penulis dalam identifikasi histologi sel busa.

6. Mas Memet dan Bu Ferida selaku staf Laboratorium Farmakologi FK-Unibraw untuk keahlian dan kesabarannya dalam membantu pelaksanaan penelitian.
7. Mas Anton selaku staf Laboratorium Anatomi Histologi FK-Unibraw untuk keahlian dan ketelatenannya dalam membantu pelaksanaan penelitian.
8. Segenap Anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya khususnya Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt. dan dr. Soemardini, MPd. Serta Mbak Betty, Mas Mijan di ruang TA.
9. Terimakasih kepada papa dan mama serta kakak dan adikku yang selalu memberikan dukungan terus-menerus agar karya tulis ini cepat selesai.
10. Sahabat-sahabat dan orang terdekatku yaitu: Savitri Budi, Yunneke Renna, Oktavinayu, Arwinda, Yulianda, Raras, dan Yennie yang telah memberi semangat yang luar biasa dalam pengerjaan tugas akhir ini.
11. Terimakasih kepada Muhammad Reza Wijoyo atas semangat, dukungan, dan doa sehingga tugas akhir ini dapat diselesaikan.
12. Teman-teman pendidikan dokter angkatan 2009 yang selalu kompak dan memberikan suasana yang menyenangkan dalam menuntut ilmu.
13. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu selama ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Akhir kata penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan saran yang membangun untuk penulis sangat penulis harapkan. Semoga tugas akhir ini dapat diterima dan akan bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca yang membutuhkannya.

Malang, Desember 2012

Penulis

ABSTRAK

Lestari, Citra Ayu. 2012. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis terhadap Jumlah Foam Cell (Sel Busa) pada Aorta Abdominalis Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Strain Wistar) dengan Diet Tinggi Lemak.** Tugas akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) drg. Prasetyo Adi, MS. (2) dr. Cholid Tri Tjahjono, M.Kes, Sp.JP.

Penyakit jantung koroner dan pembuluh darah yang lebih dikenal dengan *Cardiovascular Disease* (CVD) merupakan penyebab kematian utama di dunia. Salah satu usaha untuk mengurangi risiko penyalit jantung koroner adalah dengan mengonsumsi makanan yang kaya antioksidan. Propolis mengandung antioksidan diantaranya flavonoid, polifenol, dan quercetin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan yang terkandung dalam propolis dalam menghambat pembentukan *foam cell* pada dinding aorta tikus putih (*Rattus norvegicus* Strain Wistar) yang diberi diet tinggi lemak. Penelitian ini menggunakan studi *true eksperimental*, dilakukan pada 25 ekor tikus Wistar jantan yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Kelompok 1 adalah tikus diberi diet normal saja, kelompok 2 tikus diberi diet tinggi lemak saja, sedangkan kelompok 3 sampai 5 (3 kelompok) diberi diet tinggi lemak dan ekstrak propolis dengan dosis berbeda (15, 30, dan 45 mg/kgBB) secara peroral dengan sonde setiap hari sekali sampai 59 hari. Pemberian diet normal pada kelompok 1 dan diet tinggi lemak pada kelompok 2, 3, 4, dan 5 diberikan selama 59 hari. Uji statistik Mann Whitney menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah sel busa yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak propolis. Uji korelasi Spearman menunjukkan adanya hubungan yang erat antara dosis ekstrak dengan penurunan jumlah sel busa (Korelasi, $r = -0,408$; $p < 0,05$). Kesimpulan penelitian ini yaitu ekstrak propolis mampu menurunkan jumlah sel busa pada dinding aorta abdominalis tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar dengan diet tinggi lemak.

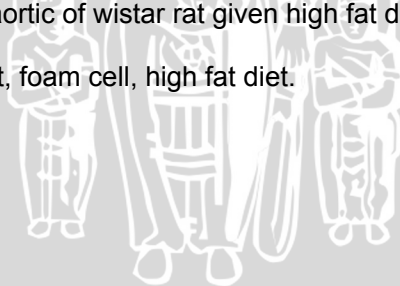
Kata kunci : ekstrak propolis, sel busa, diet tinggi lemak.

ABSTRACT

Lestari, Citra Ayu. 2012. **Effect of Giving Propolis Extract to the Amount of Foam Cell at Abdominal Aortic of Rat (*Ratus norvegicus*) Strain Wistar Given High Fat Diet**. Final Assignment, Medical Faculty of Brawijaya. Conselors : (1) drg. Prasetyo Adi, MS. (2) dr. Cholid Tri Tjahjono, M.Kes, Sp.JP.

Cardiovascular disease is one of the main cause of death in the world. One effort to decrease the risk of cardiovascular disease is by consuming the food which is rich of antioxidant. Propolis contains antioxidant such as Flavonoid, Polifenol, and Quercetin. This research aims to know the potentiality of antioxidant in the propolis to restrain the formation of foam cell at the aortic wall of rat given high fat diet. This research uses true experimental study, done to 25 male wistar rat which are divided randomly into 5 groups. The first group is the rats that are given normal diet only. The second group is the rats that given high fat diet. Meanwhile the third, fourth, and the fifth group are the rats that are given high fat diet and propolis extract with different doses, orally once a day, which is done in 59 days. The normal diet given to the first group and the high fat diet given to the second, third, fourth, and fifth group are also given in 59 days. Mann Whitney statistical test shows that there is a significant decrease of the amount of foam cell along with the increase of propolis extract dose. Spearman correlation test shows that there is strong enough corelation between propolis extract and the decrease of the amount of foam cell (correlation: $r = -0,408$; $p < 0,05$). From the research, it can be concluded that propolis extract is able to decrease the amount of foam cell at abdominal aortic of wistar rat given high fat diet.

Keywords : propolis extract, foam cell, high fat diet.



DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak.....	v
Abstract.....	v
Daftar Isi	vi
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar	xi
Daftar Grafik.....	xii
Daftar Lampiran.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Hiperlipidemia.....	6
2.1.1 Pengertian Hiperlipidemia	6
2.1.2 Lipid dan Lipoprotein.....	6
2.1.3 Klasifikasi Hiperlipidemia.....	10
2.1.4 Manifestasi Hiperlipidemia	11
2.2 Aterosklerosis.....	13

2.2.1 Definisi Aterosklerosis.....	13
2.2.2 Faktor Resiko Aterosklerosis.....	14
2.2.3 Patogenesis Aterosklerosis.....	14
2.3 Diet Tinggi Lemak	22
2.4 Propolis	24
2.4.1 Pengertian Propolis	24
2.4.2 Kandungan Propolis.....	24
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	29
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	29
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep.....	30
3.3 Hipotesis Penelitian.....	31
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	32
4.1 Jenis dan Desain Penelitian	32
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	32
4.3 Subyek Penelitian.....	32
4.4 Variabel Penelitian.....	33
4.5 Definisi Operasional.....	34
4.6 Alat dan Bahan.....	35
4.7 Prosedur Penelitian.....	36
4.7.1 Persiapan.....	36
4.7.2 Pembuatan Tikus Wistar Model Hiperlipidemia.....	37
4.7.3 Pemberian Ekstrak Etanol Propolis.....	38
4.7.4 Proses Pembedahan Tikus.....	39
4.7.5 Pembuatan <i>Slide</i> Aorta.....	39
4.7.6 Pengecatan dan Pembacaan <i>Foam Cell</i>	40

4.8 Analisa Hasil Penelitian.....	41
4.9 Alur Kerja.....	42
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	43
5.1 Hasil Penelitian.....	43
5.2 Analisis Data.....	47
BAB 6 PEMBAHASAN.....	49
BAB 7 PENUTUP.....	52
DAFTAR PUSTAKA.....	53
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	57
DAFTAR LAMPIRAN	58



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Karakteristik lipoprotein plasma.....	7
Tabel 2.2	Kadar lipid serum normal.....	11
Tabel 2.3	Faktor resiko untuk aterosklerosis.....	14
Tabel 2.4	Kandungan propolis.....	25
Tabel 5.1	Rerata jumlah sel busa.....	46
Tabel 5.1	Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney	48



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Proses Pembentukan Aterosklerosis.....	16
Gambar 2.2	Oksidasi LDL dan Pembentukan <i>Foam Cell</i>	19
Gambar 2.3	Gugus Fenol.....	26
Gambar 2.4	Struktur Umum Flavonoid.....	27
Gambar 2.5	Struktur Umum Quercetin.....	28
Gambar 5.1	Aorta abdominalis salah satu kelompok kontrol (-)	43
Gambar 5.2	Aorta abdominalis salah satu kelompok kontrol (+)	44
Gambar 5.3	Aorta abdominalis salah satu kelompok perlakuan 1	44
Gambar 5.4	Aorta abdominalis salah satu kelompok perlakuan 2.....	45
Gambar 5.5	Aorta abdominalis salah satu kelompok perlakuan 3	45

DAFTAR GRAFIK

Grafik 5.1	Grafik hubungan antara kelompok perlakuan dengan rerata jumlah sel busa aorta abdominalis	46
------------	--	----

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Uji Normalitas.....	58
Lampiran 2	Uji Homogenitas.....	58
Lampiran 3	<i>Kruskal-Wallis Test</i>	58
Lampiran 4	<i>Mann-Whitney Test</i>	59
Lampiran 5	<i>Non Parametric Correlation</i>	62
Lampiran 6	Analisa Deskriptif.....	63



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Saat ini telah terjadi pergeseran atau perubahan pola penyakit penyebab mortalitas dan morbiditas di kalangan masyarakat, ditandai dengan perubahan pola penyakit infeksi menjadi penyakit-penyakit degeneratif dan metabolik. Kecenderungan ini tidak semata-mata akibat usia lanjut tetapi juga menyerang orang-orang lebih muda. Salah satu faktor yang memungkinkan adalah gaya hidup, mulai dari pola makan yang tidak seimbang, sampai kurangnya aktivitas olahraga (Nainggolan dan Cornell, 2005).

Kemajuan teknologi informasi dan ekonomi menyebabkan terjadinya perubahan gaya hidup masyarakat, perubahan tersebut, juga terjadi pada pola makan. Kecenderungan mengkonsumsi makanan berkolesterol tinggi dan berlemak beresiko menyebabkan peningkatan kadar lipid dalam darah yang kita kenal dengan istilah hiperlipidemia. Gambaran yang paling sering didapatkan berupa peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL, serta penurunan kadar HDL (Siti, 2009)

Diet tinggi lemak dan kolesterol terdiri dari komponen kolesterol, asam kolat, dan minyak babi. Berdasarkan penelitian (Murwani dkk, 2006), kandungan diet tinggi lemak, dimana lemak tersebut merupakan lemak yang teroksidasi dan dapat meningkatkan *fatty streak* di pembuluh aorta karena dengan mengonsumsi diet tinggi lemak secara berkelanjutan dapat meningkatkan resiko terjadinya aterosklerosis (Kadek, 2011).

Istilah hiperlipidemia menyatakan peningkatan kolesterol dan atau trigliserida serum di atas batas normal. Kasus dengan kadar tinggi yang

disebabkan oleh gangguan sistemik disebut sebagai hiperlipidemia sekunder. Penyebab utama hiperlipidemia adalah obesitas, asupan alkohol yang berlebihan, diabetes mellitus, hipotiroidisme dan sindrom nefrotik. Hiperlipidemia akibat predisposisi genetic terhadap kelainan metabolisme lipid disebut sebagai hiperlipidemia primer (Aaronson, 2007).

Kondisi hiperlipidemia yang berkelanjutan memicu terbentuknya aterosklerosis yang menjadi dasar meningkatnya penyakit kardiovaskuler. Hiperlipidemia menyebabkan sekitar 18% penyakit serebrovaskuler dan sekitar 56% penyakit jantung iskemik di seluruh dunia (Nafisah, 2010).

Secara morfologi, atherosklerosis terdiri atas lesi-lesi fokal yang terbatas pada arteri dan jaringan elastis berukuran besar dan sedang. Hal ini berawal dari adanya kerusakan endotel vaskuler, yang memiliki beberapa faktor resiko seperti tingginya kadar kolesterol dan trigliserida di dalam darah (Price and Wilson, 2006). Asupan makanan yang mengandung lemak akan mengalami pemecahan menjadi asam lemak bebas, trigliserida, fosfolipid dan kolesterol. Sebagian trigliserida akan ditumpuk dalam jaringan lemak dan kolesterol dibuang kedalam empedu sebagai asam empedu. Sebagian akan berikatan dengan protein tertentu yang disebut dengan Apoprotein-B membentuk *very low density lipoprotein* (VLDL) kemudian VLDL oleh enzim lipoprotein diubah menjadi *low density lipoprotein* (LDL). Kadar LDL yang tinggi akan menumpuk di lapisan dalam (tunika intima) pembuluh darah. Di tunika intima LDL akan mengalami oksidasi lebih lanjut. LDL yang teroksidasi akan meningkatkan molekul adhesi pada sel endotel dan menurunkan kemampuan endotel untuk melepaskan *nitric oxide* dan zat anti koagulasi lainnya. Sehingga monosit dan lipid yang beredar

mengalami penumpukkan ditempat yang mengalami kerusakan (Badruzzaman, 2000).

Sel busa (*foam cell*) adalah sel besar penuh lemak yang terutama berasal dari monosit darah (makrofag jaringan), tetapi sel otot polos juga dapat memakan lemak tubuh untuk menjadi sel busa. Masa lemak yang ada pada *foam cell* terutama berupa kolesterol ester dan kolesterol, yang berasal dari oksidasi dari LDL yang mengendap di pembuluh darah (Robbins, 2003).

Propolis merupakan substansi bersifat resin yang dikumpulkan oleh lebah *Apis Mellifera* dari pucuk daun pada berbagai jenis tanaman yang berbeda. Lebah mencampur resin tersebut dengan substansi dari polen dan jenis-jenis enzim saliva aktif yang berbeda-beda. Enzim disekresikan oleh kelenjar yang terletak dalam kepala dan dada insekta (termasuk lebah). Lebah memanfaatkan propolis untuk beberapa hal, antara lain: (1) dalam jumlah kecil ditambahkan pada lilin, (2) untuk melapisi sarang lebah dengan sebagai konstruksi, perawatan, dan proteksi sarang, (3) pelapis ruangan-ruangan tempat ratu meletakkan telur, sehingga larva yang menetas kelak akan terlindungi dari penyakit.

Propolis mengandung presentase tinggi senyawa isoflavonoids 3-hydroxy-8, 9-dimethoxypterocarpan, dan medicarpin. Kandungan isoflavin dalam propolis memiliki aktivitas antimikroba, antifungal, antikanker, osteoporosis, antioksidan, meningkatkan kesehatan, astringent, anti-ulcer, choleric, spasmolytic, anaesthetic. (Silva, 2007). Propolis mengandung senyawa aromatik, flavonoid, quercettinterpenoid, dan gula. Selain itu, terdapat juga mineral Fe, Ca, Mg, K, Na, dan Zn (Ankova, 2009). Propolis alami mengandung sejumlah asam amino seperti valin, isoleusin, leusin,

prolin, alanin, dan glisin yang berperan dalam pembentukan sel-sel tubuh (Pereira, 2003).

Kandungan propolis yang disebutkan diatas terutama kandungan flavonoid yang tinggi diasumsikan dapat menjadi antioksidan dan mempengaruhi kadar LDL dan HDL sehingga dapat mengurangi peningkatan kolesterol dan trigliserida serum serta mempengaruhi proses pembentukan *foam cell*. Bila proses pembentukan *foam cell* dapat dihambat oleh propolis maka kemungkinan resiko terjadinya atherosklerosis juga dapat diturunkan.

Berdasarkan data yang telah diuraikan di atas maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian propolis terhadap jumlah *foam cell* pada tunika intima aorta tikus putih (*Rattus Novergiccus Strain Wistar*) yang diberi diet tinggi lemak.

1.2 Rumusan masalah

Apakah pemberian propolis dapat mempengaruhi jumlah sel busa (*foam cell*) pada pada tunika intima aorta tikus putih (*Rattus Novergicus Strain Wistar*) yang diberikan diet tinggi lemak?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek propolis pada jumlah *foam cell* pada pada tunika intima aorta tikus putih (*Rattus Novergiccus Strain Wistar*) yang diberi diet tinggi lemak.

1.3.2 Tujuan khusus

1.3.2.1 Menghitung jumlah *foam cell* pada pada tunika intima aorta tikus putih (*Rattus Novergiccus Strain Wistar*) yang diberi diet normal.

1.3.2.2 Menghitung jumlah *foam cell* pada pada tunika intima aorta tikus putih (*Rattus Novergiccus Strain Wistar*) yang diberi diet tinggi lemak.

1.3.2.3 Menghitung jumlah *foam cell* pada pada tunika intima aorta tikus putih (*Rattus Novergiccus Strain Wistar*) yang diberi diet tinggi lemak dengan penambahan berbagai dosis ekstrak propolis.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

14. Dapat menambah pengetahuan tentang manfaat ekstrak propolis pada Hiperlipidemia.
15. Dapat mengetahui pengaruh ekstrak ethanol terhadap jumlah *foam cell* pada pada tunika intima aorta.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Memberikan pilihan kepada masyarakat untuk memanfaatkan propolis sebagai nutrisi alternatif untuk penderita hiperlipidemia.
2. Memperkenalkan kepada masyarakat bahwa propolis dapat sebagai nutrisi alternatif yang bermanfaat untuk mencegah proses aterosklerosis.

BAB 2

Tinjauan Pustaka

2.1 Hiperlipidemia

2.1.1 Pengertian

Hiperlipidemia adalah bila terdapat peningkatan dari salah satu atau lebih dari kolesterol, kolesterol ester, fosfolipid, atau trigliserid. Kadar lipid yang abnormal dapat berkontribusi pada penyakit jantung koroner, *peripheral vascular disease*, stroke, dan problem kesehatan lainnya. Pasien dengan hiperlipidemia juga memiliki hiperkolesterolemia, hipertrigliseridemia, atau gabungan dari keduanya (Braunwald, 2001).

Hiperkolesterolemia adalah suatu peningkatan dari total kolesterol (TC) dengan kadar trigliserid yang normal. Hal ini biasanya berhubungan dengan peningkatan kolesterol-LDL karena kolesterol-LDL membawa kurang lebih 65-75% dari total kolesterol plasma (Braunwald, 2001).

Hipertrigliseridemia terjadi bila adanya kenaikan trigliserid (TG), dimana hal ini merupakan faktor resiko independen untuk penyakit jantung koroner. Walaupun pengobatan untuk hipertrigliseridemia bergantung pada penyebab kenaikan trigliserid dan tingkat keparahannya, tujuan terapi utama adalah untuk mencapai target kolesterol-LDL yang optimal (Braunwald, 2001).

2.1.2 Lipid dan Lipoprotein

Di dalam darah kita ditemukan tiga jenis lipid yaitu kolesterol, trigliserid, dan fosfolipid. Oleh karena sifat lipid yang susah larut dalam lemak, maka perlu dibuat bentuk yang terlarut. Untuk itu dibutuhkan suatu zat pelarut yaitu suatu protein yang dikenal dengan nama apolipoprotein atau apoprotein. Pada saat ini dikenal sembilan jenis apoprotein yang diberi nama secara alfabetis yaitu Apo A,

Apo B, Apo C, dan Apo E. Senyawa lipid dengan apoprotein ini dikenal dengan nama lipoprotein. Setiap jenis lipoprotein mempunyai Apo tersendiri. Sebagai contoh VLDL, IDL, dan LDL mengandung Apo B100, sedang Apo B48 ditemukan di kilomikron (ADAM, 2009).

Setiap lipoprotein akan terdiri atas kolesterol (bebas atau ester), trigliserid, fosfolipid, dan apoprotein. Lipoprotein berbentuk sferik dan mempunyai inti trigliserid dan kolesterol ester dan dikelilingi oleh fosfolipid dan sedikit kolesterol bebas. Apoprotein ditemukan pada permukaan lipoprotein (Adam, 2009).

Setiap lipoprotein berbeda dalam ukuran, densitas, komposisi lemak, dan komposisi apoprotein. Dengan menggunakan ultrasentrifusi, pada manusia dapat dibedakan enam jenis lipoprotein yaitu *high density lipoprotein* (HDL), *low density lipoprotein* (LDL), *intermediate density lipoprotein* (IDL), *very low density lipoprotein* (VLDL), kilomikron, dan lipoprotein a kecil (Lp(a) (Adam, 2009).

Tabel 2.1 karakteristik lipoprotein plasma berdasarkan densitasnya

Lipoprotein	Densitas g/cm ³	Lipid Utama	Diameter (nm)	Apolipoprotein menurut urutan yang terpenting
HDL	1,21-1,063	Kolesterol ester	7.5-10.5	A-1, A-II, C, E
LDL	1,063-1,019	Kolesterol ester	21.5	B-100
IDL	1,019-1,006	Kolesterol ester, trigliserid	25-3	B-100, C, dan E
VLDL	< 1,006	Trigliserid	39-100	B-100, C, E
Kilomikron	< 1'006	Trigliserid	60-500	B-48, C, A-I, A-II, A-IV
Lp (a)	1,04-1,08	Kolesterol ester	21-30	B-100, Lp (a)

Metabolisme lipoprotein dapat dibagi atas tiga jalur yaitu jalur metabolisme eksogen, jalur metabolisme endogen, dan jalur *reverse cholestreol*

transport. Kedua jalur pertama berhubungan dengan metabolisme kolesterol–LDL dan trigliserid, sedang jalur *reverse cholestreol transport* khusus mengenai kolesterol-HDL (Adam, 2009).

2.1.2.1 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 berasal dari hati disebut lemak eksogen. Trigliserid dan kolesterol dalam usus halus akan diserap ke dalam eritrosit mukosa usus halus. Trigliserid akan diserap sebagai asam lemak bebas sedang kolestrerol akan mengalami esterifikasi menjadi kolesterol ester dan keduanya bersama dengan fosfolipid dan apolipoprotein akan membentuk lipoprotein yang dikenal dengan nama kilomikron.

Kilomikron ini akan masuk ke saluran limfe dan akhirnya melalui duktus torasikus akan masuk ke dalam aliran darah. Trigliserid 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 trigliserid kembali di jaringan lemak (adiposa), tetapi bila terdapat dalam jumlah yang banyak sebagian akan diambil oleh hati menjadi bahan untuk pembentukan trigliserid hati. Kilomikron yang sudah kehilangan sebagian besar trigliserid akan menjadi kilomikron remnant yang mengandung kolesterol ester dan akan dibawa ke hati.

2.1.2.2 Jalur Metabolisme Endogen

Trigliserid dan kolesterol yang disintesis di hati dan disekresi ke dalam sirkulasi sebagai lipoprotein VLDL. Apolipoprotein yang terkandung dalam VLDL

adalah apolipoprotein B100. Dalam sirkulasi trigliserid di VLDL akan mengalami hidrolisis oleh enzim *lipoprotein lipase* (LPL), dan VLDL berubah menjadi IDL yang juga akan mengalami hidrolisis dan berubah kembali 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 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 makin banyak yang akan mengalami oksidasi dan ditangkap oleh sel 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 melitus; dan kadar kolesterol-HDL dimana semakin tinggi kadar kolesterol HDL akan bersifat protektif terhadap oksidasi LDL.

2.1.2.3 Jalur Reverse Cholesterol Transport

HDL dilepaskan sebagai partikel kecil miskin kolesterol yang mengandung apolipoprotein (apo) 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 di makrofag. HDL *nascent* berubah menjadi HDL dewasa yang berbentuk bulat. Agar dapat diambil oleh HDL *nascent*, kolesterol (kolesterol bebas) dibagikan dalam dari makrofag harus dibawa ke permukaan

membran sel makrofag oleh suatu *transporter* yang disebut *adenosine triphosphate-binding cassette transporter-1* atau disingkat ABC-1.

Setelah mengambil kolesterol bebas dari sel makrofag, kolesterol bebas akan diesterifikasi menjadi kolesterol ester oleh enzim *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT). Selanjutnya sebagian kolesterol ester yang dibawa oleh HDL akan mengambil dua jalur. Jalur pertama ialah ke hati dan ditangkap oleh *scavenger receptor class B type 1* dikenal dengan SR-B1. Jalur kedua adalah kolesterol ester 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.

2.1.3 Klasifikasi Hiperlipidemia

Klasifikasi Dislipidemia dapat berdasarkan atas primer yang tidak jelas penyebabnya dan sekunder yang mempunyai penyakit dasar seperti pada sindroma nefrotik, diabetes melitus, hipotiroidisme. Selain itu klasifikasi dislipidemia dapat juga dibagi berdasarkan profil lipid yang menonjol, seperti hiperkolesterolemia, hipertrigliseridemia, *isolated low HDL-cholesterol*, dan dislipidemia campuran (Adam, 2009).

Kapan disebut lipid normal, sebenarnya sulit dipatok pada satu angka, oleh karena normal untuk seseorang belum tentu normal untuk orang lain yang disertai faktor risiko koroner multipel. Walaupun demikian National Cholesterol Education Program Adult Panel III (NCEP-ATP III) telah membuat suatu batasan yang dapat dipakai secara umum tanpa melihat faktor risiko koroner seseorang (Adam, 2009).

Tabel 2.2. Kadar Lipid Serum Normal

Klasifikasi kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan trigliserid menurut NCEP ATP III 2001 mg/dl	
<u>Kolesterol total</u>	
<200	Optimal
200-239	Diinginkan
≥240	Tinggi
<u>Kolesterol LDL</u>	
<100	Optimal
100-129	Mendekati optimal
130-159	Diinginkan
160-189	Tinggi
≥190	Sangat tinggi
<u>Kolesterol HDL</u>	
<40	Rendah
≥60	Tinggi
<u>Trigliserid</u>	
<150	Optimal
150-199	Diinginkan
200-499	Tinggi
≥500	Sangat tinggi

2.1.4 Manifestasi Hiperlipidemia

Tidak ada gejala yang berhubungan dengan dislipidemia, biasanya diketahui setelah pemeriksaan rutin (*general check up*). Kadang-kadang abnormalitas lipid didiagnosa pertama kali setelah seseorang menderita infark miokardium atau stroke. Hiperlipidemia merupakan faktor resiko utama aterosklerosis dan aterosklerosis sendiri merupakan proses penyakit yang mempengaruhi sirkulasi koroner, serebral, dan perifer (Cipla, 2005).

2.1.4.1 Disfungsi Endotel

Sebagai regulator utama homeostasis vaskuler, endotel berfungsi mempertahankan keseimbangan antara vasodilatasi dan vasokonstriksi, menstimulasi maupun menghambat proliferasi dan migrasi sel otot polos, serta mengatur keseimbangan antara trombogenesis dan fibrinolisis. Jika keseimbangan ini rusak maka akan terjadi disfungsi endotel yang dapat menyebabkan kerusakan dinding arteri. Disfungsi endotel ini dianggap sebagai pertanda awal terjadinya aterosklerosis (Davignon and Ganz, 2004).

2.1.4.2 Penyakit Jantung Koroner (PJK)

Etiologi aterosklerosis adalah multifaktor, tetapi hubungan sebab akibat hiperlipidemia dan aterosklerosis telah ditemukan pada banyak studi dan penelitian. Telah ditunjukkan bahwa menurunkan kadar LDL plasma secara mencolok akan menurunkan resiko klinis PJK selanjutnya, baik pada pasien yang mempunyai PJK ringan maupun pada pasien yang tidak menderita PJK. Oksidasi LDL dalam arteri diperlukan untuk perkembangan aterogenesis. LDL dibagi menjadi dua yaitu *small dense* LDL dan *large buoyant* LDL. *Small dense* LDL bersifat lebih aterogenik atau lebih toksik terhadap endotelium, yang kemudian akan memicu proses aterosklerotik. Sedangkan *large buoyant* LDL bersifat tidak toksik terhadap dinding pembuluh darah dan kurang memicu perkembangan aterosklerosis. Peningkatan TG juga dapat meningkatkan resiko PJK. Namun kilomikron dan VLDL tidak bersifat aterogenik secara langsung karena kolesterol ini terlalu besar untuk penetrasi ke dalam arteri. Namun produk katabolik dari kilomikron dan VLDL bersifat aterogenik (Cipla, 2005)

2.1.4.3 Peripheral Artery Disease (PAD)

Peripheral artery disease merupakan manifestasi tersering dari aterosklerosis, dimana lumen arteri dari ekstremitas yang lebih distal menjadi tersumbat oleh plak aterosklerosis. Konsentrasi lipoprotein yang tinggi mempunyai peran penting dalam perkembangan PAD (Cipla, 2005).

2.1.4.4 Stroke

Stroke disebabkan baik oleh oklusi maupu perdarahan pada arteri yang memberi vaskularisasi sistem saraf pusat dan menyebabkan infark. Pembentukan ateroma merupakan sumber patogenesis stroke tromboembolik. Pada suatu penelitian menunjukkan bahwa dislipidemia LDL yang tinggi, penurunan kadar HDL dan peningkatan TG merupakan faktor resiko untuk stroke tromboembolik (Cipla, 2005).

2.2 Aterosklerosis

2.2.1 Definisi 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 dibawahnya, dan mungkin mengalami penyulit serius. Aterosklerosis terutama mengenai arteri elastik (misal, aorta, arteri karotis, dan arteri iliaka) serta arteri muskular yang besar dan sedang (misal arteria koronaria dan poplitea) (Robbins, 2007).

Di arteri kecil, ateroma dapat menyumbat lumen, mengganggu aliran darah ke organ distal, dan menyebabkan jejas iskemik. Selain itu, plak aterosklerotik dapat mengalami kerusakan dan memicu terjadinya trombus yang semakin menghambat aliran darah. Di arteri besar plak bersifat destruktif, menggerogoti tunika media di dekatnya dan memperlemah dinding pembuluh

darah yang terkena, menyebabkan aneurisma yang dapat pecah. Selain itu ateroma luas bersifat rapuh, sering menghasilkan embolus ke sirkulasi distal (Robbins, 2007).

2.2.2 Faktor Resiko Aterosklerosis

Tabel 2.3 Faktor Resiko untuk Aterosklerosis

Resiko Mayor	Resiko Minor, Tidak Pasti, atau Tidak Terukur
Tidak dapat dimodifikasi	
Pertambahan usia	Kegemukan
Lelaki	Kurang gerak
Riwayat keluarga	Stres
Kelainan genetik	Defisiensi estrogen pasca menopause
Dapat dikendalikan	
Hiperlipidemia	Asupan karbohidrat tinggi
Merokok	lipoprotein (a)
Diabetes	Asupan lemak trans
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>

Hiperlipidemia adalah faktor resiko utama untuk aterosklerosis. Sebagian besar bukti secara spesifik menunjukkan hiperkolesterolemia. Komponen utama kolesterol serum total yang menyebabkan peningkatan resiko adalah kolesterol lipoprotein berdensitas rendah (LDL). Sebaliknya peningkatan kadar lipoprotein berdensitas tinggi (HDL) menurunkan resiko. HDL diperkirakan berperan dalam memobilisasi kolesterol dari ateroma yang sudah ada dan memindahkannya ke hati untuk diekskresikan ke empedu (Robbins, 2007).

2.2.3 Patogenesis Aterosklerosis

Beberapa konsep dan teori telah diajukan dalam usaha menjelaskan patogenesis terjadinya aterosklerosis yaitu teori inflamasi dengan beberapa konsep:

1. Infiltrasi lipid subendotel

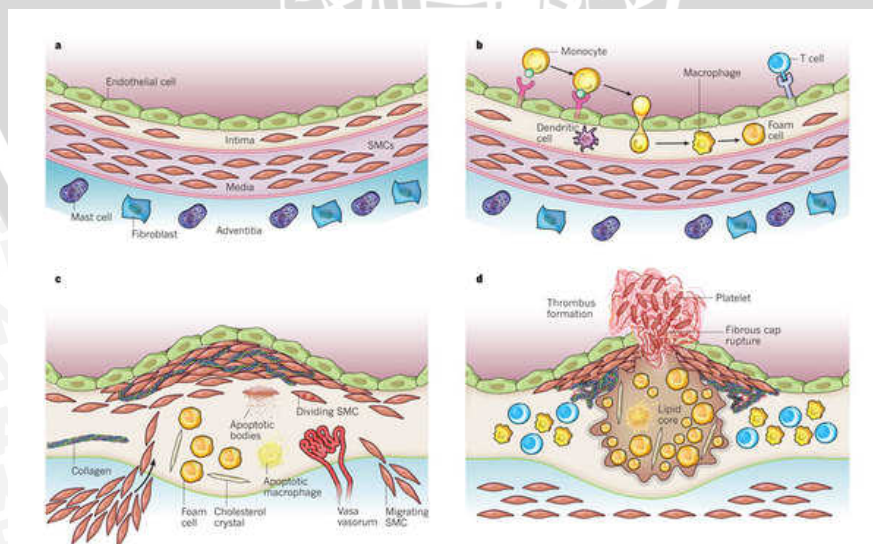
2. Kerusakan endotel arteri
3. Radikal bebas
4. Imunologi

Proses aterosklerosis awal dimulai oleh disfungsi atau injuri vaskuler/endotel diikuti oleh pengerahan limfosit, pembentukan makrofag, deposisi lipid, proliferasi sel-sel otot polos (melalui faktor mitogenik), dan sintesa matriks ekstraseluler. Interaksi dari semua faktor-faktor ini membentuk karakteristik plak aterosklerotik (Sargowo, 1997).

Radikal bebas bisa terbentuk dari beberapa reaksi yang terjadi pada sel makrofag sel endotel, sel miosit, walaupun tubuh bisa mereaksi untuk membentuk antioksidan baik dalam bentuk enzimatis maupun non enzimatis. Bukti-bukti yang kuat menyatakan bahwa LDL dioksidasi pada dinding arteri dan berperan dalam patogenesis penyakit vaskuler aterosklerosis. Kombinasi proses terjadinya radikal bebas, infiltrasi LDL, dan luka pada sel endotel akan memulai terjadinya aterosklerosis dimana tingkat kejadiannya terdapat beberapa tingkat dari awal, menengah dan lanjut. Aterosklerosis yang terbentuk akan mengakibatkan bangunan dalam bentuk ateroma maupun trombus yang berperan sebagai proses iskemia maupun sindrom koroner akut. Pada proses melawan proses radikal bebas yang terbentuk berupa superoksid, hidroksil maupun peroksida, tubuh secara otomatis telah bereaksi sebagai antioksidan yang berupa: superoksidadismutase (SOD), katalase, glutathion reduktase serta ambilan dari luar seperti vitamin C, E, dan β Caroten (Sargowo, 1997).

Hiperkolesterolemia sendiri diyakini mengganggu fungsi endotel dengan meningkatkan produksi radikal bebas oksigen. Radikal ini menonaktifkan oksida nitrat, yaitu faktor *endothelial-relaxing* utama. Apabila terjadi hiperlipidemia

kronis, lipoprotein tertimbun di dalam lapisan intima di tempat meningkatnya permeabilitas endotel. Pemajanan terhadap radikal bebas dalam sel endotel dinding arteri menyebabkan terjadinya oksidasi LDL-C, yang berperan dan mempercepat timbulnya plak ateromatosa. Oksidasi LDL-C diperkuat oleh kadar HDL-C yang rendah, diabetes melitus, defisiensi estrogen, hipertensi, dan adanya riwayat merokok. Sebaliknya kadar HDL-C yang tinggi bersifat protektif terhadap timbulnya CAD (*coronary artery disease*) bila terdiri atas sedikitnya 25% kolesterol total. Hiperkolesterolemia memicu adhesi monosit, migrasi selotot polos subendotel, dan penimbunan lipid dalam makrofag dan sel-sel otot polos. Akhirnya, deposisi lipid dan jaringan ikat mengubah bercak lemak ini menjadi ateroma lemak fibrosa matur. Ruptur menyebabkan inti bagian dalam plak terpajan dengan LDL-C yang teroksidasi dan meningkatnya perlekatan elemen sel, termasuk trombosit. Akhirnya deposisi lemak dan jaringan ikat mengubah plak fibrosa menjadi ateroma, yang dapat mengalami perdarahan, ulserasi, kalsifikasi atau trombus, dan menyebabkan infark miokardium (Price and Wilson, 2002).



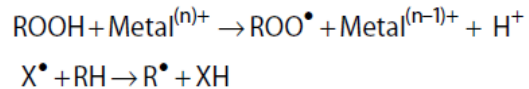
Gambar 2.1 Proses Pembentukan Aterosklerosis (Libby et al, 2011)

2.2.3.1 Peroksidasi Lipid

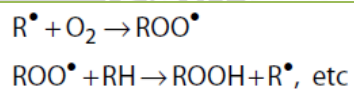
Peroksidasi lipid adalah sumber radikal bebas. Peroksidasi (auto-oksidasi) lipid yang terpajan oleh oksigen bertanggung jawab pada kerusakan jaringan in vivo. Peroksidasi ini dapat menjadi penyebab kanker, aterosklerosis, dan penuaan. Efek merugikan diperkirakan disebabkan oleh radikal bebas ($\text{ROO}^\bullet$, $\text{RO}^\bullet$, $\text{OH}^\bullet$) yang dihasilkan sewaktu terbentuknya peroksida dari asam lemak yang terdapat pada asam lemak tidak jenuh ganda alami. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas secara terus menerus dan peroksidasi lebih lanjut (Murray et al, 2006).

Terdapat tiga fase terjadinya peroksidasi lipid yaitu inisiasi, propagasi, terminasi.

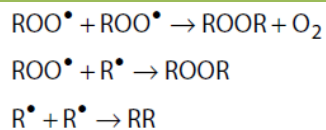
(1) Inisiasi



(2) Propagasi



(3) Terminasi



Untuk mengendalikan dan mengurangi peroksidasi lipid, baik manusia dan aktifitasnya menggunakan antioksidan. Antioksidan terbagi menjadi dua kelas: (1) antioksidan preventif yang mengurangi laju inisiasi reaksi berantai; dan (2) antioksidan pemutus-rantai yang mengganggu propagasi reaksi berantai di

atas. Antioksidan preventif mencakup katalase dan peroksidase lain misalnya glutathion peroksidase yang beraksi dengan ROOH; selenium yang merupakan komponen esensial glutathion peroksidase dan mengatur aktivitasnya serta *chelator* ion logam. Antioksidan pemutus-rantai yang utama adalah superoksida dismutase yang bekerja dalam sitosol untuk menangkap radikal bebas superoksida ($O_2^{\cdot-}$); urat; dan vitamin E yang bekerja pada membran sel untuk menangkap radikal bebas $ROO^{\cdot}$. Peroksidasi juga dikatalis in vivo oleh senyawa heme dan oleh lipoksigenase yang terdapat di trombosit dan leukosit (Murray et al, 2006).

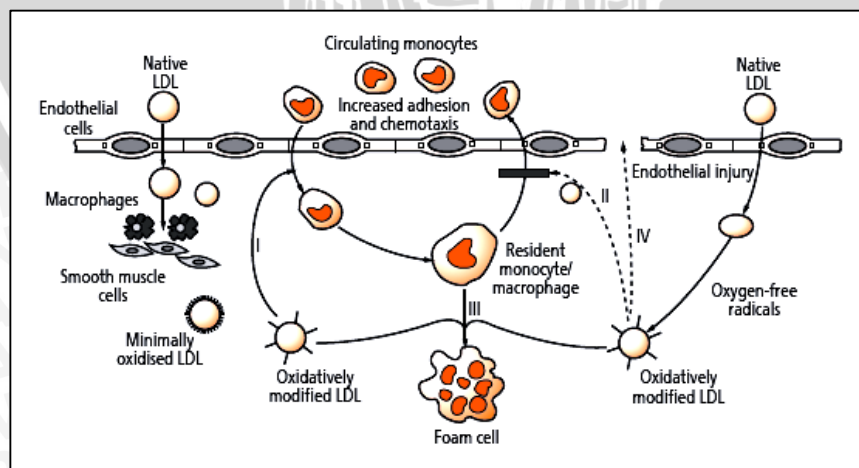
2.2.3.2 Oksidasi LDL dan Peran LDL dalam Aterosklerosis

LDL dapat dioksidasi melalui berbagai cara, diantaranya dengan mediasi ion metal, lipoksigenase, myeloperoksidase dan karena *reactive oxygen species*. Oksidasi LDL oleh ion metal menyebabkan penurunan afinitas reseptor LDL dan meningkatnya afinitas *scavenger receptor*. Lipoksigenase dihasilkan oleh sel endotel dan monosit atau makrofag. Kondisi hiperglikemi menyebabkan *up-regulation* dari lipoksigenase dan menyebabkan peningkatan adhesi monosit pada endotel dimana ini merupakan proses kunci utama aterogenesis. Myeloperoksidase disekresi oleh makrofag yang teraktifasi sehingga terjadi peningkatan *reactive species* yang kemudian mengkonversi LDL menjadi bentuk aterogenik. LDL yang teroksidasi inilah yang kemudian difagosit dan didestruksi oleh makrofag yang akhirnya membentuk *foam cell*. NO (*nitric oxide*) adalah radikal bebas yang dilepaskan oleh berbagai sel vaskuler. Radikal NO berinteraksi dengan anion superoksida yang kemudian berubah bentuk menjadi radikal hidroksil ($OH^{\cdot}$) yang mengoksidasi LDL (Mertens and Holvoet, 2001).

Kejadian yang memacu perkembangan *fatty streak* adalah akumulasi, retensi, dan oksidasi LDL yang kemudian menginduksi endotel untuk mengekspresikan molekul adhesi seperti *intercellular adhesion molecules 1* (ICAM-1) dan *vascular adhesion molecules* (VCAM-1) sehingga terjadi adhesi dan infiltrasi monosit ke dinding arteri dan berkontribusi pada pembentukan bercak lemak (*fatty streak*). LDL yang teroksidasi juga menstimulasi endotel untuk mensekresikan *monocyte chemotactic protein 1* (MCP-1) yang menginduksi infiltrasi monosit ke lapisan subendotel. Karena LDL yang teroksidasi adalah inhibitor potenterhadap motilitas makrofag, ia dapat memacu retensi makrofag pada dinding arteri (Mertens and Holvoet, 2001).

2.2.3.3 Pembentukan *Foam Cell*

Pembentukan *foam cell* pada makrofag yang kemudian berlanjut menjadi bercak lemak merupakan proses kunci pada tahap awal proses aterosklerosis, dimana pembentukannya melibatkan ekspresi banyak gen yang memodulasi transformasi makrofag menjadi *foam cell*. Pembentukan *foam cell* dikarenakan adanya induksi dari LDL termasuk LDL teroksidasi atau *minimally modified LDL* (MM-LDL) (Sashkin et al, 2005).



Gambar 2.2 Oksidasi LDL dan pembentukan *Foam Cell* (Cipla, 2005)

Sel busa (*foam cell*) adalah sel besar penuh lemak yang terutama berasal dari monosit darah (makrofag jaringan), tetapi sel otot polos juga dapat memakan lemak tubuh untuk menjadi sel busa. Masa lemak yang ada pada *foam cell* terutama berupa kolesterol ester dan kolesterol, yang berasal dari oksidasi dari LDL yang mengendap di pembuluh darah (Robbins, 2003). Apabila terpajan dengan LDL-C yang teroksidasi, makrofag menjadi sel busa, yang beragregasi dalam lapisan intima, yang terlihat makroskopik sebagai bercak lemak (Price and Wilson, 2002).

Penebalan intima disebabkan oleh akumulasi dari *foam cell* disertai migrasi dan proliferasi sel otot polos yang kemudian menghasilkan penyempitan lumen arteri. LDL yang teroksidasi dapat menginduksi vasokonstriksi arteri melalui inhibisi produksi NO dan menstimulasi ekspresi endotelin sehingga memperparah penyempitan lumen arteri (Mertens and Holvoet, 2001).

2.2.3.4 Peran HDL dalam Mencegah Aterosklerosis

Navab et al mengemukakan bahwa lipid aktif pada LDL atau MM-LDL dibentuk melalui tiga tahapan. Tahap pertama adalah pembentukan LDL melalui produk metabolik asam linoleat dan asam arakhidonat dibantu oleh hidroperoksida. Dimana hidroperoksida merupakan prekursor molekular untuk proses inisiasi peroksidasi lipid. Tahap yang kedua adalah membuat LDL berada di lapisan subendotel dan akumulasi LDL yang dipicu adanya *reactive oxygen species* pada dinding arteri. Tahapan yang ketiga adalah oksidasi fosfolipid LDL secara non-enzimatik yang kemudian menginduksi adhesi monosit, kemotaksis, dan diferensiasi menjadi makrofag.

HDL dan apolipoprotein utamanya atau apo AI, menghambat ketiga tahap pembentukan MM-LDL. Apo AI dan enzim paraoxonase, yaitu enzim yang

berkaitan dengan HDL, menyebabkan LDL resistan terhadap oksidasi. Paraoxonase juga menyebabkan HDL resisten terhadap oksidasi sehingga menjaga kemampuan HDL dalam induksi *reverse cholesterol transport* (Navab et al, 2000)

Beberapa penelitian lain juga menyebutkan bahwa enzim lain terkait HDL seperti *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT) juga mencegah akumulasi lipid yang teroksidasi pada LDL. Saat MM-LDL muncul, ia menghambat aktifitas LCAT plasma dan kemudian menghambat metabolisme LDL dan *reverse cholesterol transport* (Vohl et al, 1999)

Pada fase inflamasi awal dari proses aterosklerosis juga meliputi pembentukan PAF (*platelet activating factor*) dan PAF-like *oxidized phospholipids* yang terdapat pada LDL yang menyebabkan fosfolipid teroksidasi. PAF adalah lipid mediator poten yang menstimulasi makrofag untuk memproduksi anion superoksida yang berkontribusi pada proses aterosklerosis. PAF dan PAF-like *oxidized phospholipids* ini di-nonaktifkan oleh PAF-AH (*PAF-acetylhydrolase*), suatu enzim yang dilepaskan oleh monosit, makrofag, platelet, eritrosit, limpa, dan hepar. PAF-AH secara dominan berkaitan dengan HDL (Subbanagounder et al, 1999).

Rendahnya konsentrasi HDL-C berkaitan dengan oksidasi lipoprotein dan disfungsi endotel. HDL dapat berikatan dengan reseptor spesifik, *scavenger receptor class BI*, menjaga konsentrasi kolesterol yang terdapat pada *caveole* makrofag dengan memacu pengambilan kolesterol ester dan juga mencegah LDL yang teroksidasi menginduksi deplesi kolesterol pada *caveole* (Uittenbogaard et al, 2000). HDL juga menghambat ekspresi berlebihan dari ICAM-I dan VCAM-I pada permukaan sel endotel (Theilmeier et al, 2000).

2.3 Diet Tinggi Lemak

Jenis lemak harus dipertimbangkan ketika memilih diet tinggi lemak untuk studi menggunakan hewan coba. Banyak diet tinggi lemak yang digunakan dalam penelitian di laboratorium menggunakan hewan coba mengandung lemak lebih jenuh seperti lemak babi, lemak sapi, atau minyak kelapa dan diet ini cukup mampu merangsang obesitas pada strain hewan coba yang rentan. Karena diet lemak tidak jenuh tidak dapat menyebabkan obesitas, peningkatan berat badan sebanyak diet lemak jenuh dan sensitivitas insulin pada diet ini tetap baik, maka banyak diet tinggi lemak di laboratorium menggunakan lemak jenuh. Oleh karena itu perlu menambahkan informasi tentang jenis lemak yang digunakan dalam suatu penelitian agar peneliti lain dapat membandingkan datanya (Gajda, 2008).

Diet tinggi lemak yang digunakan di laboratorium biasanya mengandung 32% - 60% kalori dari lemak. Dari sudut pandang nutrisi, diet 60% kcal dari lemak sudah termasuk diet ekstrim pada manusia. Oleh karena itu diet jenis tersebut sering digunakan untuk menginduksi obesitas pada tikus percobaan (Gajda, 2008).

Model hewan coba telah menunjukkan efek dari fruktosa, lemak dan kolesterol dalam perkembangannya menuju sindroma metabolik termasuk dislipidemia dan resistensi insulin. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa diet fruktosa dalam model hewan coba hamster dapat menginduksi resistensi insulin dan dislipidemia metabolik (Taghibiglou et al. 2000). Studi awal di laboratorium telah menunjukkan bahwa penambahan lemak dan kolesterol untuk diet fruktosa lebih memperburuk fenotipe ini, menyebabkan dislipidemia lebih besar. Kolesterol terutama memiliki efek yang kuat dibandingkan diet tinggi fruktosa ataupun diet tinggi lemak.

Diet tinggi lemak memberikan efek tidak hanya pada satu jaringan saja tetapi juga jaringan-jaringan lain seperti hipotalamus, jaringan lemak, otot jantung dan pada keturunan selanjutnya. Meskipun demikian, diet tinggi lemak juga memberikan efek yang positif bagi jaringan lain. Namun hal tersebut bergantung pada jenis asam lemak yang terkandung dalam diet tinggi lemak tersebut.

Diet tinggi lemak pada saat kehamilan mempengaruhi sistem metabolisme fetus, sensitivitas insulin fetus. Hasil penelitian oleh McCurdy et al pada monyet menunjukkan bahwa pada awal trimester ke 3 terjadi peningkatan stress oksidatif di hepar seiring terjadinya non alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Diet tinggi lemak ternyata juga menyebabkan peningkatan aktivitas enzim-enzim glukoneogenesis di hepar (McCurdy et al, 2009)

Diet tinggi lemak berdampak pada jaringan lemak. Diet tinggi lemak meningkatkan infiltrasi makrofag dan limfosit T ke dalam cadangan lemak (Heilbronn et al, 2008; Nishimura et al, 2009; Kintscher et al, 2008). Respon inflamasi yang diakibatkan oleh diet tinggi lemak juga disertai dengan perubahan komposisi jaringan, aktivasi apoptosis dan gangguan metabolisme lemak dan perubahan sensitivitas terhadap insulin (Swindell et al, 2010).

Meskipun banyak penelitian menunjukkan bahwa diet tinggi lemak memberikan efek negatif pada berbagai jaringan, jenis komposisi asam lemak pada diet tinggi lemak tersebut juga berpengaruh. Diet tinggi lemak dengan komposisi asam lemak omega 3 dibuktikan dapat menurunkan progresivitas kanker kolon, prostat dan payudara (Boudreau et al, 2001; Rose, 1997; Rose dan Connolly, 1999; Rose dan Connolly, 1997). Namun mekanisme bagaimana asam lemak ini dapat mempengaruhi proses karsinogenesis kanker pankreas dan progresivitas kanker lainnya masih belum jelas (Strouch et al, 2010).

2.4 Propolis

2.4.1 Pengertian Propolis

Propolis merupakan suatu substansi yang mengandung resin dan lilin lebah yang dikumpulkan dari tanaman, terutama bunga dan pucuk daun. Propolis digunakan untuk menutup ruang-ruang heksagonal pada sarang lebah mulai dari jalan masuk hingga pusat sarang yang steril. Propolis menjadi lapisan antiseptik dan melindungi sarang lebah sehingga dapat tumbuh menjadi lebah dewasa yang sehat. Selain itu propolis juga mempunyai efek mumifikasi. (Susanti, 2010)

Untuk membuat propolis dibutuhkan berbagai bahan dasar yang berasal dari berbagai jenis tumbuhan yang dikumpulkan lebah madu. Pada negara-negara Eropa serta berbagai daerah di Asia dan Amerika Utara, tumbuhan favorit lebah madu untuk membuat propolis adalah tanaman Poplar (*Populus spp.*). Lebah madu akan mengambil eksudat resin dari pucuk tanaman tersebut. Sedangkan pada daerah tropis dan subtropis, tanaman Poplar sulit tumbuh, sehingga lebah madu harus mencari resin dari tumbuhan lain. Keanekaragaman ini menyebabkan betapa bervariasinya komposisi propolis dan hingga kini masih terus ditemukan komposisi-komposisi baru dari propolis (Suranto, 2010).

2.4.2 Kandungan Propolis

Komposisi propolis sebagian besar (45-55%) adalah resin. Selain itu propolis juga mengandung lilin dan asam lemak, pollen, minyak esensial, mineral vitamin, serta zat organik lain (Wade, 2005). Resin, sebagai komposisi terbanyak pada propolis, telah banyak dikenal sebagai zat yang berkhasiat sebagai anti peradangan dan antioksidan. Resin mengandung sekitar 40% flavonoid, fenol, dan berbagai bentuk asam (Susan, 2005).

Tabel 2.4 Kandungan propolis

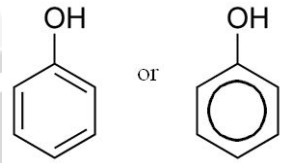
No	Parameter Uji	Hasil Uji		Satuan
		2	3	
1	Alkaloid sebagai Quinine	635,45	369,18	ppm
2	Flavonoid equivalen rutin	957,17	893,14	ppm
3	Polifenol	9,93	10,02	%
4	Saponin	4,53	1,11	%
5	Tanin	0,56	0,49	%
6	Quercetin	151,03	105,84	ppm
7	Caffeine	<50,00	<50,00	ppm

Propolis mengandung presentase tinggi senyawa isoflavonoids 3-hydroxy-8, 9-dimethoxypterocarpan, dan medicarpin. Kandungan isoflavin dalam propolis memiliki aktivitas antimikroba, antifungal, antikanker, osteoporosis, antioksidan, meningkatkan kesehatan, astringent, anti-ulcer, choleretic, spasmolytic, anaesthetic. (Silva, 2007). Propolis mengandung senyawa aromatik, flavonoid, quercettinterpenoid, dan gula. Selain itu, terdapat juga mineral Fe, Ca, Mg, K, Na, dan Zn (Ankova, 2009). Propolis alami mengandung sejumlah asam amino seperti valin, isoleusin, leusin, prolin, alanin, dan glisin yang berperan dalam pembentukan sel-sel tubuh (Pereira, 2003). Propolis juga kaya akan kandungan vitamin B₁, vitamin B₂, vitamin B₃, dan vitamin B₆.

2.4.2.1 Polifenol

Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Zat ini memiliki tanda khas yaitu memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya, juga termasuk molekul dengan cincin fenol tunggal seperti asam fenolat dan fenol alkohol. Polifenol dibagi menjadi beberapa kelas berdasarkan jumlah cincin fenol

yang tersusun pada strukturnya. Kelompok utama dari polifenol diantaranya adalah: flavonoid, asam fenolat, fenol alkohol, dan lignan (Aviram, 1996).



Gambar 2.3. Gugus Fenol

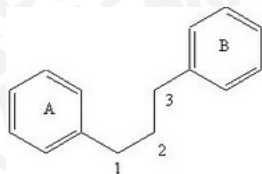
2.4.2.2 Manfaat Polifenol

Polifenol dikenal sebagai antioksidan poten yang melindungi lipoprotein terhadap oksidasi. Pada studi *in vivo*, polifenol dapat berikatan dengan partikel LDL, dan LDL yang berikatan dengan polifenol tersebut menjadi lebih resistan terhadap oksidasi dibanding *native* LDL, menghambat agregasi LDL, dan menurunkan pembentukan *foam cell*. Antioksidan tidak hanya berikatan dengan partikel LDL tetapi juga berakumulasi pada sel endotel yang dapat menghambat oksidasi yang dimediasi oleh makrofag. Dari mekanisme diatas dapat disimpulkan bahwa polifenol dapat menghambat proses aterosklerosis (Aviram, 1996).

2.4.2.3 Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Sugrani, Agestia Waji, 2009).

Senyawa flavonoid adalah senyawa yang mempunyai struktur C6-C3-C6. tiap bagian C6 merupakan cincin benzen yang terdistribusi dan dihubungkan oleh atom C3 yang merupakan rantai alifatik, seperti ditunjukkan pada Gambar 2.5. (Sugrani, Agestia Waji, 2009).



Gambar. 2.4. Struktur Umum Flavonoid

2.4.2.4 Manfaat Flavonoid

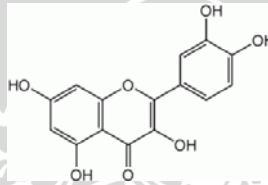
Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid bertindak sebagai *scavenger* radikal hidroksi dan superoksida dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Aktivitas antioksidannya dapat menjelaskan mengapa flavonoid tertentu merupakan komponen aktif tumbuhan yang digunakan secara tradisional untuk mengobati gangguan fungsi hati (Robinson, 1995).

Flavonoid dapat meningkatkan sistem glutation (GSH) sebagai antioksidan seluler dan menangkal oksigenase seluler. Flavonoid juga dilaporkan dapat menghambat enzim seluler yang berkaitan dengan oksidasi mediasi sel seperti fosfolipase A2, siklooksigenase, GSH reduktase, xanthine oksidase, dan NADPH oksidase (Aviram, 1996).

Propolis mengandung flavonoid yang dapat meningkatkan produksi apo A1. Penelitian mengenai efek flavonoid terhadap kadar kolesterol HDL, didapatkan bahwa flavonoid dapat menaikkan kadar kolesterol HDL dengan cara meningkatkan produksi apo A1. Apo A1 bertugas sebagai kofaktor enzim untuk LCAT serta sebagai ligand untuk interaksi dengan reseptor lipoprotein dalam jaringan pada HDL. Dengan adanya peningkatan apo A1 diharapkan dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL serum. HDL yang mengandung apo A1 bersifat protektif terhadap aterosklerosis (Guillame, 2006).

2.4.2.5 Quercetin

Quercetin adalah salah satu zat aktif kelas flavonoid yang secara biologis amat kuat. Bila vitamin C memiliki antioksidan 1 maka quercetin memiliki aktivitas antioksidan 4,7. Flavonoid merupakan sekelompok besar antioksidan bernama polifenol yang terdiri atas antosianidin, biflavon, katekin, flavanon, flavon, flavonol. Quercetin adalah senyawa kelompok flavonol terbesar, quercetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60%-75% dari flavonoid (Sugrani, Agestia Waji, 2009).



Gambar. 2.5 Struktur umum Quercetin

2.4.2.6 Manfaat Quercetin

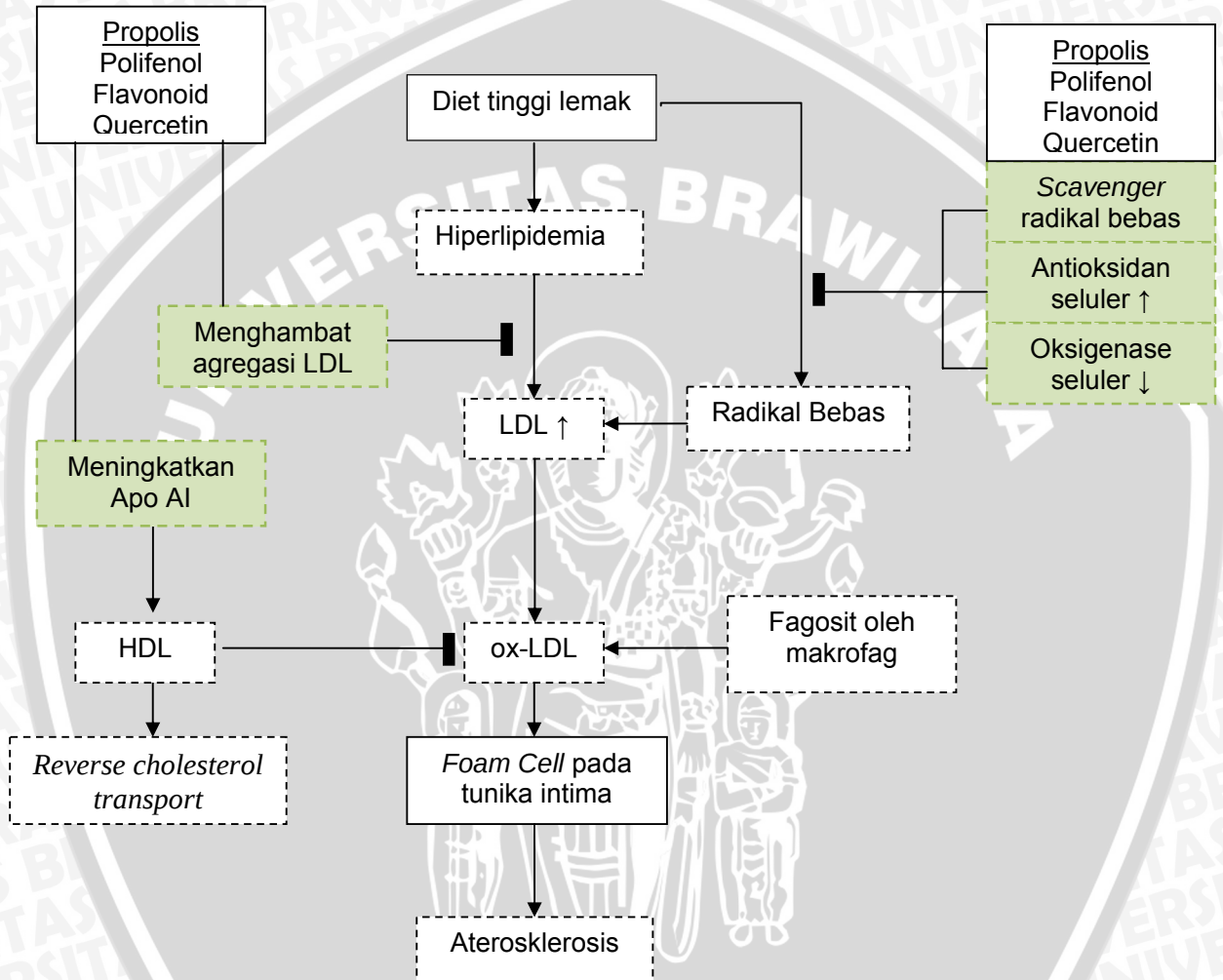
Quercetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degeneratif dengan cara mencegah terjadinya peroksidasi lemak. Quercetin memperlihatkan kemampuan mencegah proses oksidasi dari LDL kolesterol dengan cara menangkap radikal bebas dan menghelat ion logam transisi (Sugrani, Agestia Waji, 2009).

Penelitian mengenai efek flavonoid morin, quercetin, serta asam nikotinat terhadap kadar lipid tikus yang diberi diet hiperlipidemia, didapatkan bahwa terjadi peningkatan kadar kolesterol HDL, penurunan kadar kolesterol LDL dan trigliserida (Ricardo *et al*, 2001). Sedangkan pada penelitian lain dikatakan bahwa quercetin dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL sampai 28,6% pada tikus yang diberi diet tinggi lemak (Yugarani .T, 1992)

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :



: Variabel yang diteliti



: Variabel yang tidak diteliti



: Meningkatkan



: Menghambat



: Mekanisme zat aktif

3.2. Penjelasan Kerangka Konsep

Pada penelitian ini, tikus (*Rattus Norvegicus strain Wistar*) yang diberi perlakuan diet tinggi lemak memicu terjadinya kondisi hiperlipidemia dan menginduksi terbentuknya *foam cell* secara bermakna. Sebagai penatalaksanaannya akan diberikan beberapa dosis berbeda dari ekstrak ethanol propolis untuk membuktikan efek propolis terhadap penurunan jumlah *foam cell* pada tikus dalam suatu periode tertentu.

Diet tinggi lemak meningkatkan kadar LDL (*low density lipoprotein*) dalam plasma jika dikonsumsi secara berlebihan dalam jangka waktu lama. Peningkatan kadar LDL memungkinkan terjadinya oksidasi LDL yang disebabkan oleh radikal bebas yang dihasilkan makan tinggi lemak.

Foam cell dihasilkan dari oksidasi LDL yang difagosit oleh makrofag yang terjadi di tunika intima arteri. *Foam cell* akan semakin terakumulasi berkaitan dengan kondisi hiperlipidemia dan rendahnya kadar HDL (*high density lipoprotein*). Akumulasi dari *foam cell* yang memuat LDL dalam endotel arteri merupakan dasar dari proses aterosklerosis.

Dengan pemberian propolis yang mengandung polifenol termasuk flavonoid dan quercetin diharapkan dapat melindungi dinding pembuluh darah dengan menghambat agregasi LDL pada dinding pembuluh darah, sebagai antioksidan yang menghambat oksidasi LDL, dan meningkatkan aktifitas HDL melalui meningkatkan produksi apo-AI sehingga propolis diharapkan dapat mempengaruhi pembentukan *foam cell* dan menghambat proses aterosklerosis.

3.3. Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak propolis dapat menurunkan jumlah sel busa (*foam cell*) pada dinding aorta abdominalis tikus wistar (*Rattus Novergicus Strain Wistar*) yang diberikan diet tinggi lemak.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental *in vivo* dengan menggunakan desain penelitian *Control Group Post Test Design*. Pada penelitian ini, hewan coba dibagi dalam 5 kelompok, yaitu perlakuan 1 (diet normal), perlakuan 2 (diet tinggi lemak), perlakuan 3 (diet tinggi lemak + ekstrak propolis 15 mg/kgBB), perlakuan 4 (diet tinggi lemak + ekstrak propolis 30 mg/kgBB). Perlakuan 5 (diet tinggi lemak + ekstrak propolis 45mg/kgBB). Setelah 59 hari diobservasi dan dibandingkan jumlah *foam cell*-nya pada semua kelompok.

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pemeliharaan hewan coba selama penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Untuk pemeriksaan darah dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian dilakukan selama 2 bulan.

4.3 Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah tikus putih galur wistar yang diambil secara random.

Kriteria inklusi:

- Tikus jantan
- Berbadan sehat tampak aktif
- Umur 8-12 minggu
- Berat badan 150-200 g

Estimasi jumlah perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus:

$$\{(np - 1) - (p - 1)\} \geq 16 \quad (\text{Sastroasmoro, 1995})$$

Keterangan:

n = jumlah sampel tiap perlakuan

p = jumlah perlakuan

Jumlah perlakuan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

$$\{(np - 1) - (p - 1)\} \geq 16$$

$$\{(5n - 1) - (5 - 1)\} \geq 16$$

$$5n - 5 \geq 16$$

$$5n \geq 21$$

$$n \geq 4,2 \text{ perlakuan}$$

Dengan demikian, akan digunakan 5 ekor tikus untuk setiap kelompok perlakuan.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak propolis yang terdiri dari 3 dosis. Penentuan besarnya dosis yang akan diberikan pada hewan coba ditentukan oleh adanya efek antioksidan terhadap tubuh tikus wistar. Karena belum ada eksplorasi dosis propolis yang berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol total, maka dilakukan percobaan penentuan dosis propolis yang berpengaruh terhadap kadar kolesterol total tikus dengan diet tinggi lemak.

Berdasarkan penelitian Bazo, *et al.* 2002 tentang pengaruh pemberian propolis terhadap pencegahan karsinogenesis kolon, dosis yang digunakan adalah 10 mg/ kgBB/ hari, 30 mg/ kgBB/ hari, dan 90 mg/ kgBB/ hari. Dari

penelitian tersebut dapat disimpulkan dosis efektif adalah 30 mg/kgBB tikus. Dosis ini mampu menekan proses perkembangan preneoplastik melalui mekanisme antioksidan. Sedangkan menurut penelitian dari Firman Jaya *dkk.* 2006, tentang pengaruh pemberian ekstrak propolis terhadap sistem kekebalan tubuh, dosis propolis yang dipakai adalah 9 mg/hari, 12 mg/hari dan 15 mg/hari. Dari penelitian tersebut dapat disimpulkan dosis efektif adalah 9 mg/ kgBB/ hari. Dasar pemberian propolis adalah adanya efek antioksidan terhadap sistem kekebalan tubuh. Apabila dosis tersebut dikonversikan dalam berat badan tikus 200 gram, maka dosis propolis yang digunakan adalah :

$$\text{dosis 1} = \frac{1000 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 9 \text{ mg/ hari} = 45 \text{ mg/kgBB/hari (dosis efektif)}$$

$$\text{dosis 2} = \frac{1000 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 12 \text{ mg/ hari} = 60 \text{ mg/kgBB/hari}$$

$$\text{dosis 3} = \frac{1000 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 15 \text{ mg/ hari} = 75 \text{ mg/kgBB/hari}$$

Oleh karena itu berdasarkan kedua penelitian di atas dosis propolis yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan deret hitung, yaitu:

P1 : 15 mg/ kgBB/ hari

P2 : 30 mg/ kgBB/ hari

P3 : 45 mg/ kgBB/ hari

4.4.2 Variabel Terikat

Jumlah *foam cell* pada tunika intima aorta tikus.

4.5 Definisi Operasional

1. Propolis *Apis mellifera* adalah bahan resin yang melekat pada bunga, pucuk dan kulit kayu, yang menempel pada lebah *Apis mellifera*. Propolis ini didapatkan dari Peternakan Lebah “Rimba Raya”, Jalan Dr. Wahidin No. 8, Lawang.

2. Ekstrak Propolis adalah propolis *Apis mellifera* yang diekstrak dengan teknik maserasi menggunakan ethanol 70% di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang
3. Tikus Wistar
Tikus yang digunakan adalah dari galur wistar dengan jenis kelamin jantan, berumur 8-12 minggu, dan berat badan 150-200 gr, yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang.
4. Diet tinggi lemak
Diet tinggi lemak adalah diet dengan komposisi PARS 50%, tepung terigu 25%, kolesterol 1%, asam cholat 0,05%, minyak babi 2,5%, dan air 21,4 %, yang diberikan pada tikus per hari selama 8 minggu (Ali dan Ketut, 2004).
5. Parameter yang digunakan adalah jumlah *foam cell*. Yakni banyaknya bentukan makrofag berisi lemak (lipid) dan ditemukan berupa *fatty streaks*. Berdasarkan pengecatan *foam cell* pada preparat dengan hematoksilin eosin, di lapisan intima aorta tikus wistar jantan yang diobservasi melalui mikroskop cahaya pembesaran 400x, dengan 10 kali lapangan pandang dengan satuan cell/count.

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1 Alat

1. Alat untuk pemeliharaan tikus : baik plastik berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm, kandang tikus dari kawat dengan ukuran 36,5 cm x 28 cm x 15,5 cm, botol air, sekam.
2. Alat untuk pembuatan ransum makanan tikus : timbangan, neraca analitik, baskom, pengaduk, gelas ukur, penggilingan pakan, nampan.

3. Alat untuk pembacaan dan perhitungan jumlah *foam cell* : Preparat, slide glass, water bath, mikrotom rotari, mikroskop dengan pembesaran 400x.

4.6.2 Bahan Penelitian

4.6.2.1 Bahan pakan tikus

Pada beberapa penelitian yang pernah dilakukan diketahui bahwa komposisi diet normal yang diberikan adalah PARS 53,87%, tepung terigu 26,94% dan air sebesar 19,18%. Sedangkan untuk diet tinggi lemak yang diberikan berupa PARS 50%, tepung terigu 25%, kolesterol 1%, asam cholat 0,1%, minyak babi 2,5%, dan air sebanyak 21,4% (Ketut dan Ali, 2004)

4.6.2.2 Bahan Pemeriksaan *Foam Cell*

1. Alkohol 96%
2. Eosin
3. Hematoksilin
4. Formalin
5. Aseton
6. Xylol
7. Parafin
8. Entellan atau canada balsem

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan

4.7.1.1 Persiapan Hewan Coba

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar didapatkan dari Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.

2. Awal percobaan semua tikus ditimbang berat badannya kemudian dilakukan randomisasi agar setiap tikus mempunyai peluang yang sama untuk mendapatkan perlakuan.
3. Sebelum perlakuan, tikus diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 7 hari. Selama itu, tikus diberi diet standar. Pemberian pakan tikus (diet standar) dan minuman diberikan secara *ad libitum*.
4. Pada masa adaptasi berat badan tikus ditimbang yaitu pada saat awal adaptasi dan sesudah adaptasi, agar dapat dipantau bahwa berat badan tikus tidak mengalami penurunan dan berada dalam kondisi yang baik.

4.7.1.2 Pembuatan Pakan Standar

Pakan standar tikus Wistar adalah diet normal berupa konsetrat PARS 53,87%, tepung terigu 26,94%, dan air sebesar 19,18% (Ali dan Ketut, 2004).

Bahan makanan:

- Jumlah makanan rata-rata 25 g/hari untuk setiap tikus
- Pakan normal mengandung konsentrat PARS 53,87% dan tepung terigu 26,94% dan air sebesar 19,18%.
- Pemberian diberikan secara *ad libitum*.

4.7.2 Pembuatan Tikus Wistar Model Hiperlipidemia

4.7.2.1 Pemberian Pakan Tinggi Lemak (*High Fat Diet*)

Pakan tinggi lemak yang diberikan berupa PARS 50%, tepung terigu 25%, kolesterol 1%, asam cholat 0,05%, minyak babi 2,5% dan air sebesar 21,4% (Ali dan Ketut, 2004).

Bahan makanan:

- Jumlah makanan rata-rata 25 g/hari untuk setiap tikus

- Diet tinggi lemak yang terdiri dari PARS 50%, tepung terigu 25%, kolesterol 1%, asam cholat 0,05%, minyak babi 2,5%, dan air sebesar 21,4%.

Berdasarkan penelitian Zhang (2008) yang dimodifikasi, pemberian pakan dilakukan secara *ad libitum* selama 8 minggu.

4.7.3 Pemberian Ekstrak Etanol Propolis

4.7.3.1 Proses Ekstraksi Propolis

Proses ekstraksi yang digunakan adalah teknik maserasi dan menggunakan pelarut etanol.

Proses ekstraksi

1. Propolis ditimbang sebanyak 100 gr sampel kering ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 liter
2. Direndam dengan etanol sampai volume 900 ml
3. Dikocok sampai benar-benar tercampur ($\pm$ 30 menit)
4. Didiamkan 1 malam sampai mengendap
5. Lapisan atas/bagian pelarut diambil, disaring menggunakan kertas saring

Proses evaporasi

1. Diambil lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif yang sudah terambil
2. Dimasukkan dalam labu evaporasi 1 liter
3. Dipasang labu evaporasi pada evaporator
4. Water bath diisi dengan air sampai penuh
5. Semua rangkaian alat termasuk rotary evaporator, pemanas water bath (diatur sampai 90°) dipasang kemudian disambungkan dengan aliran listrik
6. Larutan etanol dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu

7. Ditunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung ($\pm$ 1,5 sampai 2 jam untuk 1 labu)
8. Hasil yang diperoleh kira-kira $\frac{1}{2}$ dari bahan yang digunakan
9. Hasil ekstraksi dimasukkan dalam botol plastik
10. Disimpan dalam freezer

4.7.3.2 Pemberian Ekstrak Propolis pada Tikus

Ekstrak propolis diberikan setiap hari pada kelompok perlakuan I (15 mg/kgBB tikus), II (30 mg/kgBB tikus), dan III (45 mg/kgBB tikus) secara peroral dengan menggunakan sonde lambung selama 59 hari.

4.7.4 Proses Pembedahan Tikus

Cara pembedahan untuk pengukuran variabel penelitian adalah sebagai berikut:

1. Tikus dianastesi terlebih dahulu dengan chloroform per inhalasi.
2. Tikus dibaringkan pada permukaan meja yang keras yang dialasi sterofoam. Kaki dan tangan tikus difiksasi dengan jarum pentul pada alas sterofoam.
3. Thorax dan abdomen tikus dibuka dengan memotong dinding abdomen (kulut dan peritoneum) pada aksis median. Pembukaan abdomen diperluas ke arah lateral sehingga organ-organ dalam rongga abdomen terlihat.
4. Dilakukan pengambilan plasma darah tikus yang diambil dari bilik jantung dengan menggunakan jarum suntik.

4.7.5 Pembuatan Slide Aorta

1. Aorta direndam dalam larutan formalin selama 18-24 jam
2. Cuci dengan Air mengalir selama 15 menit

3. Kemudian dimasukkan ke larutan aseton 1 jam x 4 untuk proses dehidrasi, dilanjutkan xylol 30 menit x 4 untuk *clearing*, lalu parafin cair 1 jam x 3 untuk proses impreginasi.
5. Blok dengan parafin blok dan diamkan hingga membeku.
6. Tempel blok pada alas cekam dan dinginkan dengan es balok selama 15 menit.
7. Blok pada alas cekam diletakkan pada mikrotom rotari dan dilakukan penyayatan sesuai tujuan (4 μ m)
8. Sayatan kemudian diambil dengan menggunakan kuas kecil dan dicelupkan pada *water bath* dengan suhu 30°C yang sebelumnya sudah dicampur dengan gelatin, dicelupkan perlahan hingga preparat merentang.
9. Rentangan preparat diambil dengan gelas objek dan didiamkan selama 24 jam agar merekat kuat.

4.7.6 Pengecatan dan Pembacaan *Foam Cell*

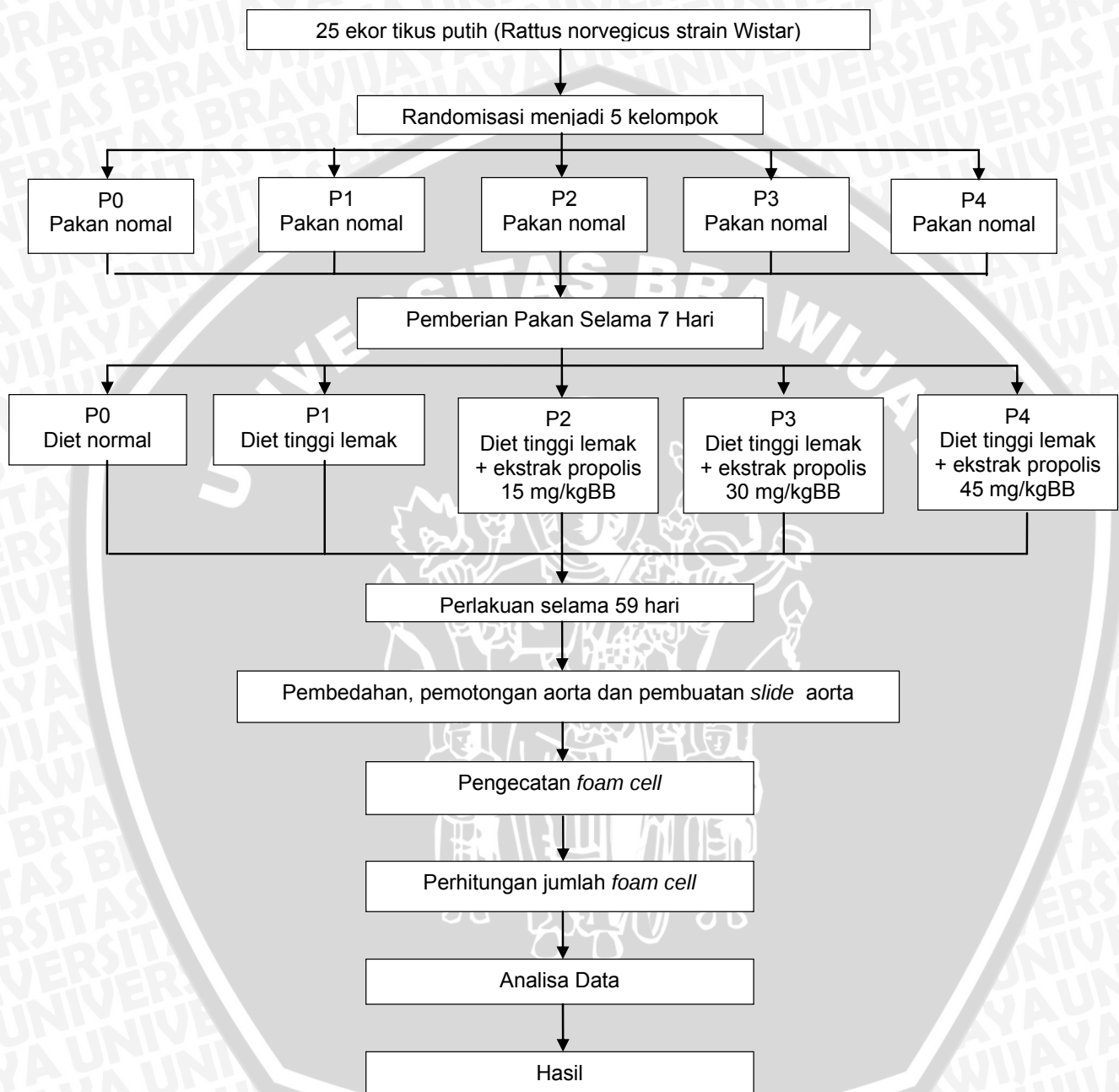
1. Gelas objek yang sudah tertempel preparat dimasukkan ke dalam xylol dan kemudian ke dalam alkohol 96% masing-masing selama 15 menit, 3x pengulangan.
2. Kemudian gelas objek dicuci dengan air mengalir selama 15 menit.
3. Preparat dimasukkan ke dalam Hematoksin selama 15 menit, lalu dibilas dengan air mengalir selama 15 menit.
4. Preparat dimasukkan ke larutan litium karbonat ± 20 detik, lalu dibilas kembali dengan air mengalir selama 15 menit.
5. Preparat dimasukkan ke dalam Eosin selama 10-15 menit, kemudian alkohol 96% selama 15 menit x 3, dan xylol selama 15 menit x 3.

6. Kemudian preparat ditutup dengan cover glass dengan tambahan entellan atau canada balsem.
7. Preparat siap diamati di mikroskop dan dihitung jumlah sel busanya.
8. Pengamatan preparat menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x pada aorta abdominalis tikus.
9. Penghitungan secara kuantitatif jumlah *foam cell* pada aorta abdominalis tikus dilakukan dengan pengulangan sebanyak 10 kali lapangan pandang kemudian diambil reratanya.

4.8 Analisa Hasil Penelitian

Data mengenai jumlah sel busa (*foam cell*) pada dinding aorta abdominalis tikus Wistar disajikan dalam bentuk tabel dan grafik kemudian dianalisis secara deskriptif. Data jumlah *foam cell* yang telah dikumpulkan, diolah dengan cara tabulasi. Berdasarkan tabulasi tersebut, dilakukan uji statistik dengan menggunakan SPSS, yaitu dengan menggunakan *Kruskal Wallis* untuk melihat perbedaan jumlah *foam cell* pada dinding aorta abdominalis tikus pada taraf perlakuan. Apabila dari uji *Kruskal Wallis* terdapat perbedaan, maka dapat dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui dimana letak perbedaan dari 5 perlakuan yang diberikan. Uji statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95% dengan $\alpha = 0,05$. Hasil uji statistik dinyatakan bermakna bermakna bila $p < 0,05$. Uji statistik dilanjutkan dengan uji regresi untuk mengetahui hubungan antara dosis ekstrak propolis dengan jumlah *foam cell* pada dinding aorta tikus Wistar.

4.9 Alur Kerangka Kerja Penelitian



Skema Alur Kerangka Kerja Penelitian

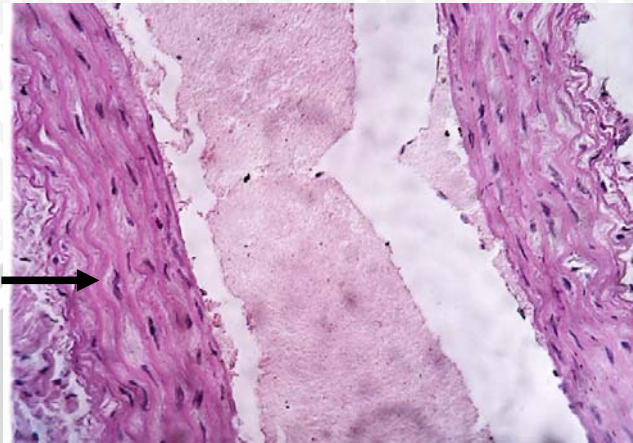
BAB 5**HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN****5.1 Hasil Penelitian**

Penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok K- adalah tikus diberi diet normal saja (kontrol negatif), kelompok K+ tikus diberi diet tinggi lemak saja (kontrol positif), sedangkan kelompok P1, P2, dan P3 diberi diet tinggi lemak dan asupan ekstrak propolis dengan dosis berbeda (15, 30, 45 mg/kgBB) secara peroral dengan sonde setiap hari selama 59 hari. Selama pemberian ekstrak propolis, diet ketiga kelompok (P1, P2, dan P3) tetap diberikan diet tinggi lemak. Setelah 59 hari, dilakukan pembedahan dan observasi dari perbandingan jumlah sel busa pada semua kelompok.

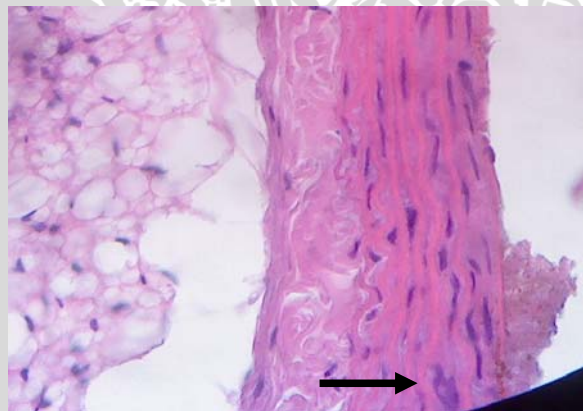
Data jumlah sel busa pada dinding aorta abdominalis lima kelompok dihitung dan diukur dari hasil pengecatan HE. Hasil pengecatan dengan HE ditampilkan pada gambar 5.1 hingga 5.5. Tanda panah menunjukkan sel busa (*foam cell*).



Gambar 5.1. Aorta abdominalis salah satu kelompok kontrol negatif. Pewarnaan *Hematoksilin Eosin* pembesaran 400x

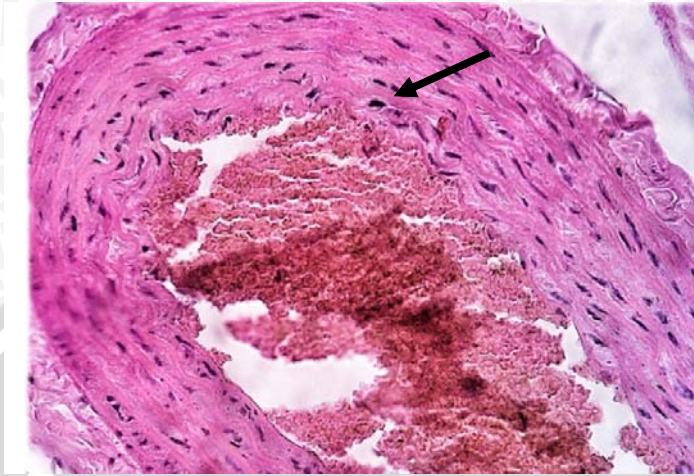


Gambar 5.2. Aorta abdominalis salah satu kelompok kontrol positif. Pewarnaan *Hematoksilin Eosin* pembesaran 400x

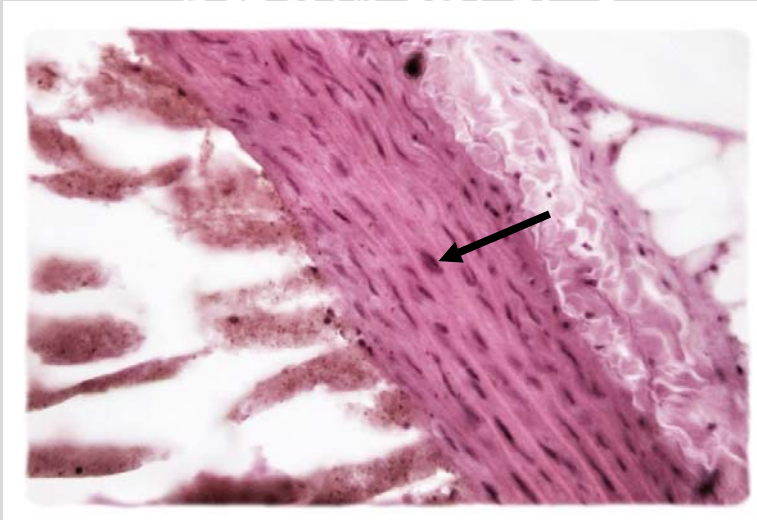


kelompok Perlakuan 1. Pewarnaan *Hematoksilin Eosin* pembesaran 400x

Gambar 5.3
Aorta
abdominalis
salah satu



Gambar 5.4 Aorta abdominalis salah satu kelompok Perlakuan 2. Pewarnaan *Hematoksilin Eosin* pembesaran 400x



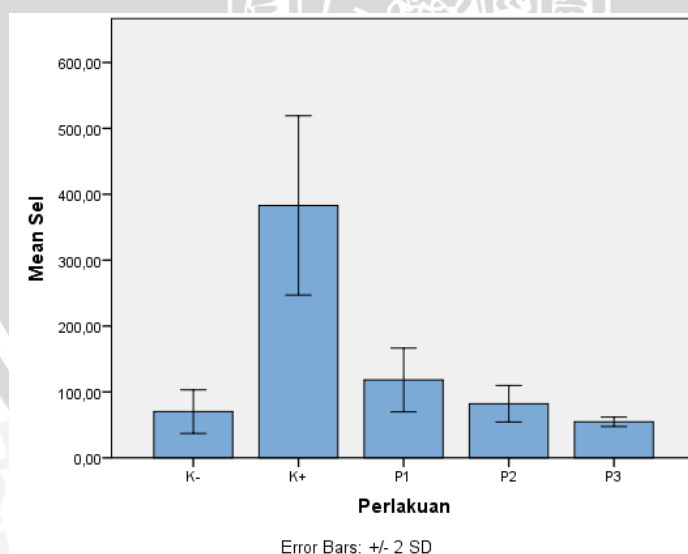
Gambar 5.5 Aorta abdominalis salah satu kelompok Perlakuan 3. Pewarnaan *Hematoksilin Eosin* pembesaran 400x

Perincian rerata jumlah sel busa ditampilkan pada tabel 5.1. Rerata dihitung dengan cara menjumlahkan semua jumlah sel busa yang diamati dengan mikroskop dari 10 lapang pandang, kemudian dijumlah dan diambil rerata pada masing-masing kelompok lalu dijumlahkan atau dikurangi dengan standar deviasi.

Tabel 5.1 Rerata Jumlah Sel Busa pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan

Kelompok Perlakuan	1	2	3	4	5
	Diet Normal	Diet Tinggi Lemak	Pemberian Ekstrak Propolis		
			15 mg/kgBB	30 mg/kgBB	45 mg/kgBB
n (jumlah)	5	5	5	5	5
Rata-rata Jumlah Sel Busa	70,20	383,00	118,20	82,20	54,60

Tabel 5.1 menunjukkan bahwa rerata jumlah sel busa pada kelompok perlakuan kontrol negatif (diet normal saja) adalah 70,20 sel. Rerata jumlah sel busa kelompok perlakuan kontrol positif (diet tinggi lemak saja) adalah 383,00 sel. Rerata jumlah sel busa kelompok perlakuan 1 (diet tinggi lemak dan ekstrak propolis 15 mg/kgBB) adalah 118,20 sel. Rerata jumlah sel busa kelompok perlakuan 2 (diet tinggi lemak dan ekstrak propolis 30 mg/kgBB) adalah 82,20 sel. Rerata jumlah sel busa kelompok perlakuan 3 (diet tinggi lemak dan ekstrak propolis 45 mg/kgBB) adalah 54,60 sel.



Grafik 5.1 Grafik hubungan antara kelompok perlakuan dengan rerata jumlah sel busa aorta abdominalis. K - = kontrol negatif ; K + = kontrol positif, P1= perlakuan 1; P2 = perlakuan 2; P3 = perlakuan 3

Grafik 5.1 menunjukkan bahwa jumlah sel busa tertinggi adalah kelompok kontrol positif (diet tinggi lemak saja) yaitu 383,00 sel, dan jumlah sel busa yang terendah adalah kelompok perlakuan 3 (diet tinggi lemak disertai pemberian ekstrak propolis 45 mg/kgBB) yaitu 54,60 sel.

5.2 Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan SPSS 18 untuk Windows. Data jumlah sel busa pada aorta abdominal tikus terlebih dahulu diuji untuk normalitas dan homogenitasnya sebagai uji pra-syarat agar bisa dilakukan uji beda parametrik *One way anova*. Jika dari hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov menunjukkan distribusi data yang normal ($p > 0,05$) dan uji homogenitas menyatakan bahwa data penelitian homogen ($p > 0,05$), maka dapat dilakukan uji beda parametrik *One way anova*. Berdasarkan hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov*, distribusi data jumlah sel busa tidak normal ($p = 0,025$) dan berdasarkan hasil uji homogenitas, data tidak homogen ($p = 0,000$), sehingga data jumlah sel busa tidak dapat dianalisis dengan uji beda *one way anova* dan dilakukan uji beda non parametrik *Kruskal Wallis* sebagai pengganti uji *one way anova*.

Sama halnya dengan uji beda parametrik *one way anova*, uji non parametrik *Kruskal Wallis* dilakukan guna mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah sel busa setelah terpapar oleh ekstrak propolis dengan berbagai dosis. Dikatakan terdapat perbedaan jumlah sel yang bermakna jika $p < 0,05$. Dari uji beda *Kruskal Wallis*, terdapat perbedaan yang bermakna atau signifikan jumlah sel busa setelah terpapar oleh ekstrak propolis pada berbagai konsentrasi ($p = 0,000$) atau dengan kata lain perbedaan konsentrasi ekstrak mengakibatkan perbedaan jumlah sel busa pada dinding aorta abdominalis tikus.

Selanjutnya dilakukan uji multi komparasi Mann Whitney guna melihat apakah terdapat perbedaan jumlah sel busa antara tiga macam dosis yang berbeda. Adapun ringkasan dari uji multi komparasi ini tercantum dalam tabel dibawah ini:

Tabel 5.2 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney

Perlakuan	K+	K-	P1	P2	P3
K+		0.009*	0.009*	0.009*	0.008*
K-	0.009*		0.016*	0.347	0,113
P1	0.009*	0.016*		0.028*	0.008*
P2	0.009*	0.347	0.028*		0.008*
P3	0.008*	0.113	0.029*	0.008*	

Keterangan: * = signifikan.

Terdapat perbedaan jumlah sel busa yang bermakna pada semua kelompok perlakuan jika dibandingkan antar kelompok perlakuan (lihat tabel di atas, $p < 0,05$). Dengan kata lain terdapat penurunan jumlah sel busa yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak propolis.

Uji korelasi non parametrik Spearman menunjukkan nilai signifikansi (P -value) = 0,000 ($p < 0,05$) dan *correlation coefficient* -0,408 yang berarti terdapat korelasi bermakna antara dua variabel (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah sel busa). *Spearman correlation coefficient* (r) bernilai negatif berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin tinggi dosis/konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah sel busa, serta menunjukkan korelasi yang sangat kuat ($r > 0,799$). Note : r = *correlation coefficient*, shows the strength of correlation. Weak correlation ($r < 0,500$), moderate correlation ($r = 0,500-0,599$), strong correlation ($r = 0,600-0,799$), very strong correlation ($r > 0,799$).

BAB 6

PEMBAHASAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak *propolis Apis mellifera* terhadap jumlah sel busa (*foam cell*) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang diberi perlakuan diet tinggi lemak untuk menginduksi terjadinya lesi aterosklerosis, menggunakan metode *Control Group Post Test Design*. Setelah perlakuan selama 59 hari, diharapkan lesi aterosklerosis sudah terbentuk sehingga diperoleh data jumlah sel busa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak propolis dapat menurunkan jumlah sel busa baik pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 yang diberi diet tinggi lemak dan ekstrak propolis dalam dosis yang berbeda. Pada grafik 5.1 terlihat penurunan rata-rata jumlah sel busa dari kelompok perlakuan K+ (kontrol positif) menuju kelompok P1 (59 hari diet tinggi lemak disertai pemberian ekstrak propolis 15 mg/kgBB) dan terus terjadi penurunan pada kelompok perlakuan P3 (59 hari diet tinggi lemak disertai pemberian ekstrak propolis 15 mg/kgBB). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak propolis dapat menurunkan jumlah sel busa pada dinding aorta dimungkinkan karena penurunan jumlah LDL oksidasi sehingga mengurangi pembentukan sel busa dan juga mengurangi disfungsi endotel akibat jejas yang ditimbulkan LDL teroksidasi (Yeon Kim et al, 1997)

Pada aterosklerosis terjadi gangguan integritas lapisan media dan intima pembuluh darah, sehingga menyebabkan terbentuknya ateroma yang diawali dengan pembentukan sel busa. Hipotesis respon cedera diperkirakan bahwa

langkah awal dari aterosklerosis adalah cedera yang kemudian menyebabkan disfungsi dari endotel arteri dengan meningkatnya permeabilitas dari monosit. (Robbins, 2007).

Terjadinya disfungsi endotel sehingga menyebabkan penurunan kemampuan endotel dalam memproduksi NO, yang kemudian perannya digantikan oleh makrofag. Salah satu fungsi NO adalah menghambat oksidasi LDL dan sebagai anti oksidan. Penurunan NO mengakibatkan oksidasi LDL meningkat yang menimbulkan penumpukan sel busa, juga terjadi produksi radikal bebas berlebihan yang memicu peningkatan oksidasi LDL. (Yeon Kim et al, 1997)

Propolis mulai sering digunakan dalam masyarakat sebagai suplemen antioksidan tubuh karena menurut penelitian bahwa propolis mengandung senyawa golongan flavonoid, polifenol, dan quercetin (Wade, 2005) yang dapat menangkal radikal bebas, menghambat agregasi dan oksidasi LDL, serta meningkatkan jumlah HDL dengan cara meningkatkan pembentukan Apo A1 (Aviram, 1996). HDL dan apolipoprotein utamanya atau apo AI, menghambat ketiga tahap pembentukan LDL. Apo AI dan enzim paraoxonase, yaitu enzim yang berkaitan dengan HDL, menyebabkan LDL resistan terhadap oksidasi. Paraoxonase juga menyebabkan HDL resisten terhadap oksidasi sehingga menjaga kemampuan HDL dalam induksi *reverse cholesterol transport* (Navab et al, 2000).

Hasil penelitian pada *Post Hoc Test (Mann Whitney)* diperoleh data bahwa ada perbedaan bermakna antara kelompok Kontrol Positif dan kelompok Perlakuan 3 ($p=0,008$). Antara kelompok Kontrol Positif dengan Kontrol Negatif, Perlakuan 1 dan Perlakuan 2 juga didapatkan adanya perbedaan yang

bermakna ($p=0.09$). Hasil yang signifikan juga didapatkan antara kelompok Kontrol Negatif dengan Perlakuan 1 ($p=0.16$), namun tidak signifikan antara Kontrol Negatif dengan Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 ($p=0.347$ dan $p=0.113$). Hasil yang signifikan juga didapatkan dari perbedaan antara kelompok Perlakuan 1 dengan Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 ($p=0.28$ dan $p=0.29$). Antara kelompok Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 juga didapatkan perbedaan yang bermakna ($p=0.08$).

Penurunan jumlah sel busa pada kelompok perlakuan membuktikan bahwa hipotesis awal penelitian yaitu ekstrak propolis dapat menurunkan jumlah sel busa terbukti benar. Namun penelitian ini memiliki beberapa kelemahan mengingat jenis propolis yang beraneka ragam sehingga potensi antioksidan yang terkandung di dalamnya juga bervariasi (Pereira, 2003). Selain itu adanya kemungkinan kesalahan teknis dalam pemberian diet tinggi lemak dan sonde ekstrak propolis. Tikus dengan bobot 150-200 gram adalah sangat kecil bila dibandingkan dengan bobot manusia sehingga tidak relevan jika begitu saja diaplikasikan. Walaupun demikian penelitian ini cukup bermanfaat untuk dijadikan sebagai masukan baru atau informasi tambahan bagi penelitian-penelitian berikutnya serta bagi masyarakat yang menggunakan ekstrak propolis sebagai suplementasi.

BAB 7**PENUTUP****7.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Ekstrak propolis dapat menurunkan jumlah sel busa pada dinding aorta abdominalis tikus (*Rattus norvegicus*) wistar dengan diet tinggi lemak.
2. Dosis efektif pemberian ekstrak propolis untuk menurunkan jumlah sel busa pada dinding aorta abdominalis tikus (*Rattus norvegicus*) wistar dengan diet tinggi lemak adalah 45 mg/kgBB.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan pada penelitian ini adalah :

1. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek dan toksisitas samping pemberian ekstrak propolis terutama pada dosis yang lebih tinggi.
2. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis ekstrak propolis yang efektif untuk manusia sebelum dapat diterapkan di masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- Aaronson, Philip I., Jeremy P.T. Ward. 2007. At a Glance Sistem Kardiovaskular. Juwalita Surapsari (penterjemah), 2010, Erlangga, hal. 78-79.
- Adam, John MF. Dislipidemia. Dalam : Sudoyo Aru W, Setiyohadi Bambang, Alwi Idrus dkk. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III, Edisi V, Jakarta : 2009. hal 1984-1987.
- Ali M, Ketut M, 2004. *Optimalisasi Diet Tinggi Lemak pada Tikus Model Atherogenik*. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 3(2): p15-21.
- Ankova, V.S.B., S.L. Caastro and M.C.M. Arcucci. 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Journal of Apidologie* 31 (2000) 3-15.
- Aviram, Michael, Bianca Fuhrman. 1998. Polyphenolic Flavonoid Inhibit Macrophage-mediated Oxidation of LDL and Attenuate Atherogenesis. *Atherosclerosis* vol 137, p: S45-S50.
- Badruzzaman. *Hipertensi, Stroke, Jantung Koroner, Bisa Sembuh Permanen Dengan Surfaktan Dari Bahan Alam*, (<http://www.isfinational.or.id/pt-isfi-penerbitan/126/477>. Diakses 10 Desember 2011).
- Boudreau MD, Sohn KH, Rhee SH, Lee SW, Hunt JD, Hwang DH. 2001. *Suppression of tumor cell growth both in nude mice and in culture by n-3 polyunsaturated fatty acid: mediation through cyclooxygenase-independent pathways*. *Cancer Res*;61:1386-1391.
- Braunwald, E., Hauser, S.L., Fauci, A.S., Longo, D.L., Kasper, D.L., Jameson, J.L., ed. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 15 ed. 2001, McGraw-Hill: New York.
- Cipla, 2005. *Dyslipidemia*. Essence Series, Essential Information in Brief: Dyslipidemia, p.3-12.
- Davignon, Jean and Ganz, Peter. Role of Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis. *Circulation Journal*, 2004; III-27 - III-32.
- Fithriani, Nafisah Ayu. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Bawang Merah (*Allium ascalonicum*) Terhadap Kadar Trigliserida Serum Tikus Wistar Hiperlipidemia, (Online), (http://eprints.undip.ac.id/23613/1/Nafisah_Ayu.pdf, diakses tanggal 5 Desember 2011 pukul 21.00 WIB)
- Gajda, Angela.M. 2008. *High Fat Diets-Induced Obesity Models*. (online), (<http://www.researchdiets.com/OSD/DIDM/obesity.htm>, diakses tanggal 21 desember 2011).

- Guillaume R, Sonia P, Patrick C, Simone L, Benoit L, Charles C. 2006. *Favourable Impact of Lowcalorie Cranberry Juice Consumption on Plasma HDL-cholesterol Concentrations in Men*. British Journal of Nutrition. Vol 96, 357-364.
- Heilbronn LK, Campbell LV. 2008. *Adipose tissue macrophages, low grade inflammation and insulin resistance in human obesity*. CurrPharm Des 14:1225-30.
- Kintscher U, Hartge M, Hess K, Foryst-Ludwig A, Clemenz M, et al. 2008. *T lymphocyte infiltration in visceral adipose tissue: a primary event in adipose tissue inflammation and the development of obesity-mediated insulin resistance*. ArteriosclerThrombVascBiol 28:1304-10.
- Koo, H., P. L. Rosalen, J. A. Cury, Y. K. Park and W. H. Bowen. 2002. *Effects of Compounds Found in Propolis on Streptococcus mutans Growth and on Glucosyltransferase Activity*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, May 2002, Vol. 46(5) pp. 1302-1309.
- Kaal, J., 1991. *Natural Medicine from Honey Bees (Apitherapy)*, first ed., Kaal's Printing House Amsterdam Denh Haa : 9-64
- Libby, Peter, Paul M Ridker, Goran Hansson. 2011. Progress and Challenges in Translating the Biology of Atherosclerosis. *Nature J.* 473: 317-326
- McCurdy Carrie E, Bishop Jaclyn M, William Sarah M, Grayson Bernadette E, Smith M Susan, Friedman Jacob E, Groven Kevin L. 2009. *Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates*. J Clin Invest. 2009; 119 (2): 323-335.
- Mertens, Ann and Paul Holvoet. 2001. Oxidized LDL and HDL: Antagonist in Atherothrombosis. *FASEB J.* 15: 2073-2084.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, and V.W. Rodwell. 2006. *Biokimia Harper*. Edisi 27. Jakarta. EGC. Diterjemahkan Oleh A. Hartono.
- Nainggolan, Olwin., Cornelis Adimunca. 2005. *Diet Sehat dengan Serat*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Pemberantasan Penyakit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI. Jakarta No. 147 (www.kalbefarma.com/cdk) diakses tanggal 21 November 2011.
- Navab, M., Hama, S. Y., Anantharamaiah, G. M., Hassan, K., Hough, G. P., Watson, A. D., Reddy, S. T., Sevanian, A., Fonarow, G. C., and Fogelman, A. M. (2000) Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps 2 and 3. *J. Lipid Res.* 41, 1495–1508

- Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamasitha H, et al. 2009. *CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity*. *Nat Med* 15:914-20.
- Price, Sylvia A. and Wilson, Loraine M. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. EGC, Jakarta, hal 576-577.
- Program, N.C.E., *Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adults Treatment Panel III)*. 2001, National Institute of Health.
- Pereira, A.D.S., B. Bichalho and F.R.D. Neto 2003. Comparison of Propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula*. *Journal of Apidologie* Vol. 34 (2003) 291-298.
- Ricardo K, Oliveira T, Nagem TJ, Pinto A, Oliveira M, Soares J. 2001. *Effect of Flavonoids Morin; Quercetin and Nicotinic Acid on Lipid Metabolism of Rats Experimentally Fed with Triton*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. Vol 44 no.3.
- Robbins, Stanley, Ramzi S. Cotran, Vinay Kumar. 2003. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Brahm U. Pendit, 2004. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sargowo Djanggan. 1997. Peran Radikal Bebas dalam Patogenesis Aterosklerosis. *Jurnal Kardiologi Indonesia*. Vol XXII No.3.
- Sashkin, Pavel, Bojan Dragulev, and Klaus Ley. 2005. Macrophage Differentiation to Foam Cell. *Current Pharmateucal Design* vol 11, p: 3061-3072.
- Sastroasmoro, Sudigdo. 1995. *Dasar-dasar Metodology Penelitian Klinis*. Jakarta. Binarupa Aksara.
- Silva, B.B., P. L. Rosalen, J.A. Cury, M. Ikegaki, V.C. Souza, A. Esteves and S.M. Alencar. 2007. Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine Journals* Vol 10.
- Subbanagounder, G., Leitinger, N., Shih, P. T., Faull, K. F., and Berliner, J. A. (1999) Evidence that phospholipid oxidation products and/or platelet-activating factor play an important role in early atherogenesis : in vitro and In vivo inhibition by WEB 2086. *Circ. Res.* 85, 311–318.
- Sugrani Andis dan Resi Agestia Waji. 2009. *Makalah Kimia Organik Bahan Alam Flavonoid (Quercetin)*. Makasar: Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.
- Suranto A. *Dahsyatnya Propolis untuk Menggempur Penyakit*. PT Agro Media Pustaka. 2010. Jakarta.

Susan E., et al. *Allergic Contact Dermatitis from Propolis : Composition of propolis*. University of Minnesota. 2005. Minneapolis.

Susanti T, dkk. *Bukti Khasiat dari Lab. Trubus*. 2010

Suseno, Dedy. 2009. *Aktivitas Antibakteri Propolis Trigona spp. pada Dua Konsentrasi Berbeda Terhadap Cairan Rumen Sapi*, (Online), (<http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/12572/G09dsu1.pdf>), diakses tanggal 3 Januari 2012 pukul 15.00 WIB)

Strouch M, Ding Y, Salabat M, Grippo P. 2010. A high omega-3 fatty acid diet mitigates murine pancreatic precancer development. *J Surg Res*; doi: 10.1016/j.jss.2009/04.022.

Swindell William R, Johson A, Gudjonson JE. 2010. *Transcriptional Profiles of Leukocyte Population provide a tool for Interpreting Gene Expression Pattern Associated with High fat Diet in Mice*. *PLoS One* 5(7): e11861.

Theilmeier, G., De Geest, B., Van Veldhoven, P. P., Stengel, D., Michiels, C., Lox, M., Landeloos, M., Chapman, M. J., Ninio, E., Collen, D., Himpens, B., and Holvoet, P. (2000) HDL-associated PAF-AH reduces endothelial adhesiveness in apoE2/2 mice. *FASEB J.* 14, 2032–2039.

Uittenbogaard, A., Shaul, P. W., Yuhanna, I. S., Blair, A., and Smart, E. J. (2000) High density lipoprotein prevents oxidized low density lipoprotein-induced inhibition of endothelial nitric- oxide synthase localization and activation in caveolae. *J. Biol. Chem.* 275, 11278–11283.

Vohl, M. C., Neville, T. A., Kumarathasan, R., Braschi, S., and Sparks, D. L. (1999) A novel lecithin-cholesterol acyltransferase antioxidant activity prevents the formation of oxidized lipids during lipoprotein oxidation. *Biochemistry* 38, 5976 –5981.

Wade, C. 2005. *Can Bee Propolis Rejuvenate The Immune System?* www.thenaturalshopper.com/buy-beesupplements. Diakses tanggal 11 Desember 2011

Yeon Kim., Sang Won Choi., Shin Kyo Chung. Antioxidative Flavonoids from the Garlic. *Journal Food Science and Biotechnology*.9.No.4: 199-203.1997.

Yugarani T, Tan BK, The M, Das NP. 1992. *Effects of Polyphenolic Natural Products on The Lipid Profiles of Rats Fed High Fat Diets [homepage on the Internet]*. U.S. National Library of Medicine. [cited 2011 Dec 20]; vol 27(3): 181-6.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Citra Ayu Lestari
NIM : 0910714029
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, 9 Desember 2012

Yang membuat pernyataan

Citra Ayu Lestari
NIM. 0910714029

Lampiran 1. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Sel
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	141,6400
	Std. Deviation	128,75004
	Absolute	,296
Most Extreme Differences	Positive	,296
	Negative	-,226
Kolmogorov-Smirnov Z		1,479
Asymp. Sig. (2-tailed)		,025

a. Test distribution is Normal.

Lampiran 2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Sel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8,716	4	20	,000

Lampiran 3. Kruskal-Wallis Test

Ranks

		N	Mean Rank
Sel	K-	5	8,80
	K+	5	23,00
	P1	5	17,40
	P2	5	11,80
	P3	5	4,00
	Total	25	

Test Statistics^{a,b}

	Sel
Chi-Square	20,287
df	4
Asymp. Sig.	,000

Lampiran 4. Mann-Whitney Test

Ranks			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K-	5	3,00	15,00
Sel K+	5	8,00	40,00
Total	10		

Test Statistics ^a	
	Sel
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

Ranks			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K-	5	3,20	16,00
Sel P1	5	7,80	39,00
Total	10		

Test Statistics ^a	
	Sel
Mann-Whitney U	1,000
Wilcoxon W	16,000
Z	-2,402
Asymp. Sig. (2-tailed)	,016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,016 ^b

Ranks			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K-	5	4,60	23,00
Sel P2	5	6,40	32,00
Total	10		

Test Statistics^a

	Sel
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	23,000
Z	-,940
Asymp. Sig. (2-tailed)	,347
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,421 ^b

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K-	5	7,00	35,00
Sel P3	5	4,00	20,00
Total	10		

Test Statistics^a

	Sel
Mann-Whitney U	5,000
Wilcoxon W	20,000
Z	-1,586
Asymp. Sig. (2-tailed)	,113
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,151 ^b

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K+	5	8,00	40,00
Sel P1	5	3,00	15,00
Total	10		

Test Statistics^a

	Sel
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K+	5	8,00	40,00
Sel P2	5	3,00	15,00
Total	10		

Test Statistics^a

	Sel
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K+	5	8,00	40,00
Sel P3	5	3,00	15,00
Total	10		

Test Statistics^a

	Sel
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,643
Asymp. Sig. (2-tailed)	,008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
P1	5	7,60	38,00
Sel P2	5	3,40	17,00
Total	10		

Test Statistics^a

	Sel
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	17,000
Z	-2,193
Asymp. Sig. (2-tailed)	,028
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,032 ^b

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
P1	5	8,00	40,00
Sel P3	5	3,00	15,00
Total	10		

Test Statistics ^a	
	Sel
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,643
Asymp. Sig. (2-tailed)	,008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

Ranks			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
P2	5	8,00	40,00
Sel P3	5	3,00	15,00
Total	10		

Test Statistics ^a	
	Sel
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,643
Asymp. Sig. (2-tailed)	,008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

Lampiran 5. Non Parametric Correlation

Correlations			
		Perlakuan	Sel
Perlakuan	Correlation Coefficient	1,000	-,408*
	Sig. (2-tailed)	.	,043
	N	25	25
	Correlation Coefficient	-,408*	1,000
Sel	Sig. (2-tailed)	,043	.
	N	25	25

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

0,043 signifikansinya. Karena <0,05 jadi signifikan

(r) = 0,408 adalah koefisien korelasi

Lampiran 6. Analisa Deskriptif

Descriptives

Sel

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	5	70,2000	16,54388	7,39865	49,6581	90,7419
K+	5	383,0000	68,00368	30,41217	298,5623	467,4377
P1	5	118,2000	24,20124	10,82312	88,1502	148,2498
P2	5	82,2000	13,84558	6,19193	65,0084	99,3916
P3	5	54,6000	3,57771	1,60000	50,1577	59,0423
Total	25	141,6400	128,75004	25,75001	88,4946	194,7854

Descriptives

Sel

	Minimum	Maximum
K-	45,00	89,00
K+	323,00	485,00
P1	88,00	143,00
P2	69,00	104,00
P3	49,00	59,00
Total	45,00	485,00