

**EFEK EKSTRAK METANOL DAUN BAYAM (*Amaranthus hybridus L*)  
TERHADAP KADAR HDL TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI  
DIET ATEROGENIK**

**TUGAS AKHIR**

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



Oleh :  
**Ferdian Musthafa**  
**NIM : 0910710072**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK EKSTRAK METANOL DAUN BAYAM (*Amaranthus hybridus L*)  
TERHADAP KADAR HDL TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI  
DIET ATEROGENIK

Oleh :

Ferdian Musthafa

NIM : 0910710072

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 20 Februari 2013

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Habiba Aurora. M.biomed

NIP. 19840628 200812 2 003

Penguji II/ Pembimbing I

Penguji III/ Pembimbing II

Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt. M.Si

NIP. 19540823 198103 2 001

drg.Prasetyo Adi, M.S.

NIP. 19560416 198303 1 003

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran

Prof. Dr.dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, M.Sc.Sp.Park

NIP. 19520410 198002 1 001

## Kata Pengantar

Segala puji dan syukur hanya bagi Allah SWT atas petunjuk dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Efek Ekstrak Metanol Daun Bayam (*Amaranthus hybridus L*) terhadap Kadar HDL Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Diet Aterogenik”.

Ketertarikan penulis mengangkat topik ini didasarkan pada kenyataan bahwa penyakit kardiovaskuler termasuk ke dalam salah satu penyebab kematian terbanyak pada negara maju maupun berkembang. Penyakit kardiovaskuler terjadi disebabkan terjadinya proses aterosklerosis pada pembuluh darah selama bertahun-tahun. Tingginya progresivitas lesi aterosklerosis disebabkan oleh pola makan tinggi lemak dan gaya hidup sendentari. Daun bayam sudah banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia sebagai makanan penyerta. Daun bayam memiliki efek meningkatkan kadar HDL darah sehingga progresivitas plak aterosklerosis dapat terhambat. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan mampu memberikan sumbangsih dalam pencegahan penyakit kardiovaskuler.

Banyak sekali pihak yang membantu dalam penulisan tugas akhir ini, sehingga dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Karyono S. Mintaroem, Sp.PA, selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc., SpPark, selaku kepala jurusan program studi pendidikan dokter Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

3. Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, M.Si sebagai pembimbing pertama yang telah meluangkan waktu untuk selalu memberikan bimbingan, ilmu, nasihat dan masukan-masukan selama pengerjaan Tugas Akhir ini.
4. drg. Prasetyo Adi, MS. sebagai pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu untuk selalu memberikan bimbingan, ilmu, nasihat dan masukan-masukan selama pengerjaan Tugas Akhir ini.
5. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Dr. Sri Winarsih, Apt. Msi.; dr. Soemardini M.Pd. atas bantuan serta kemudahan yang telah diberikan.
6. Bu Ferida, Mas memet dan semua staf lainnya dari Lab farmako, serta Mba Fitri dari Lab Biokimia, atas bantuan yang diberikan selama pengerjaan tugas akhir ini.
7. Keluarga besarku atas seluruh cinta, doa, dukungan dan perhatian yang selalu diberikan sampai akhir.
8. Teman-teman kelompok *Phytospy* Mas Agil, Tito, Abdul, Yusa dan teman-teman PD 2009 semua atas segala bantuan dukungan dan kebersamaanya dalam menyelesaikan tugas akhir.
9. Semua pihak yang telah membantu dan mendoakan demi suksesnya penyelesaian tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan Tugas Akhir ini masih sangat jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun, agar karya ini menjadi lebih sempurna. Akhir kata semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat.

Malang, 30 januari 2013

Penulis

## ABSTRAK

Musthafa, Ferdian. 2013. Pengaruh Efek Ekstrak Metanol Daun Bayam (*Amaranthus hybridus L*) Terhadap Kadar HDL Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Diet Aterogenik. Tugas Akhir. Program Studi Pendidikan Dokter. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, M.Si, (2). drg Prasetyo Adi M.S.

Penyakit Kardiovaskuler merupakan penyebab kematian terbanyak di dunia. Salah satu faktor resikonya adalah hiperlipidemia. Hiperlipidemia adalah gangguan metabolisme lipid yang memiliki karakteristik penurunan kadar HDL dalam darah. Ekstrak metanol daun bayam mengandung zat flavonoid rutin dan antosianin yang dapat meningkatkan kadar HDL darah. Studi ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus hybridus L*) dalam meningkatkan kadar HDL tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan diet aterogenik. Studi ini menggunakan *post test only control group design*. Sampel dipilih secara acak dan kemudian dibagi dalam lima kelompok yang masing-masing terdiri dari 6 tikus, yaitu kelompok Kontrol Negatif (diet normal), kelompok Kontrol Positif (diet aterogenik), kelompok Dosis I (diet aterogenik + ekstrak 20 mg/100gBB), kelompok Dosis II (diet aterogenik + ekstrak 40mg/100gBB), dan kelompok Dosis III (diet aterogenik + ekstrak 60mg/100gBB). Perlakuan diberikan selama 52 hari. Variabel yang diukur pada penelitian ini adalah kadar HDL serum melalui metode pengukuran spektrofotometri. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok dosis I (20mg/100gBB) merupakan kelompok dosis yang memiliki kadar HDL serum yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok dosis yang lain. Namun, hasil uji ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ( $p>0,05$ ) antar perlakuan kelompok dosis I, dosis II dan dosis III. Kesimpulan dari penelitian ini adalah tidak ada perbedaan kadar serum HDL antara tikus dengan diet normal dan diet aterogenik, peningkatan dosis ekstrak tidak mempengaruhi kadar HDL tikus.

Kata kunci: *Amaranthus hybridus L* (bayam), HDL, diet aterogenik.

## ABSTRACT

Musthafa, Ferdian. 2013. The Effect of Metanolic Extract of Spinach Leaves (*Amaranthus hybridus L*) by Oral to HDL levels of Wistar Strain Rats (*Rattus novergicus*) with Atherogenic Diet. Final Assignment, Medical program, medical faculty of Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, M.Si, (2) drg. Prasetyo Adi M.S.

Cardiovascular disease is the leading cause death worldwide. One of the main risk factors is hyperlipidemia. Hyperlipidemia is lipid metabolism disorder which is characterized by decreasing HDL cholesterol levels in the blood. Metanolic extract of spinach leaves contains Flavonoid substances namely rutin, and anthocyanin that can increase HDL cholesterol Levels. This study was intended to determine the effect of metanolic extract of spinach leaves (*Amaranthus hybridus L*) to elevate HDL levels of Wistar Strain Rat (*Rattus novergicus*) with atherogenic diet. This experimental study use post test only control group design. Samples were randomly selected and divided to five group that consisted of six rats each. The groups were negative control (normal diet), positive control (atherogenic diet), dose I (atherogenic diet + extract 20 mg/100gBB), dose II (atherogenic diet + extract 40/100gBB), and dose III (atherogenic diet + extract 60mg/100gBB/day) were given for 52 days. The measured variable was HDL serum used spectrophotometry. The result of this study indicated that dose I (20mg/100gBB) group had the most maximum HDL serum compared with the other groups. ANOVA test showed a insignificant differences between all groups ( $p>0,05$ ). The conclusion is there are no different HDL serum between normal diet and atherogenic diet, increasing extract dose dose not effect HDL serum rats .

Keywords: *Amaranthus hybridus L* (spinach), HDL, atherogenic diet

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul .....	i
Halaman Pengesahan .....	ii
Kata pengantar .....	iii
Abstrak .....	v
Abstract .....	vi
Daftar Isi .....	vii
Daftar Tabel.....	x
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Lampiran.....	xii
Daftar Singkatan.....	xiii
 <b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
Latar Belakang .....	1
Rumusan Masalah .....	4
Tujuan Penelitian.....	4
Manfaat Penelitian.....	4
 <b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Penyakit Kardiovaskuler.....	6
2.1.1 Gambaran Umum.....	6
2.1.2 Klasifikasi Penyakit Kardiovaskuler.....	6



2.1.3	Epidemiologi Penyakit Kardiovaskuler.....	7
2.2	Aterosklerosis.....	7
2.2.1	Morfologi Arteri.....	7
2.2.1.1	Tunika Intima.....	8
2.2.1.2	Tunika Media.....	8
2.2.1.3	Tunika Adventitia.....	9
2.2.2	Gambaran Umum.....	9
2.2.3	Faktor Resiko.....	10
2.2.4	Patogenesis Aterosklerosis.....	11
2.2.5	LDL Teroksidasi.....	13
2.3	Lipid.....	13
2.3.1	Gambaran Umum.....	13
2.3.2	Klasifikasi Lipid.....	13
2.3.3	Metabolisme Lipid.....	14
2.3.4	Kolesterol.....	15
2.3.4.1	Struktur, Biokimia dan Fungsi.....	15
2.3.4.2	Biosintesis Kolesterol.....	17
2.3.5	Lipoprotein.....	18
2.3.5.1	Struktur Lipoprotein.....	18
2.3.5.2	Apolipoprotein.....	19
2.3.5.3	Metabolisme Lipoprotein.....	19
2.3.5.4	HDL.....	22
2.3.5.4.1	Biosintesis HDL.....	22
2.3.5.4.2	Metabolisme HDL.....	23
2.4	Bayam.....	24

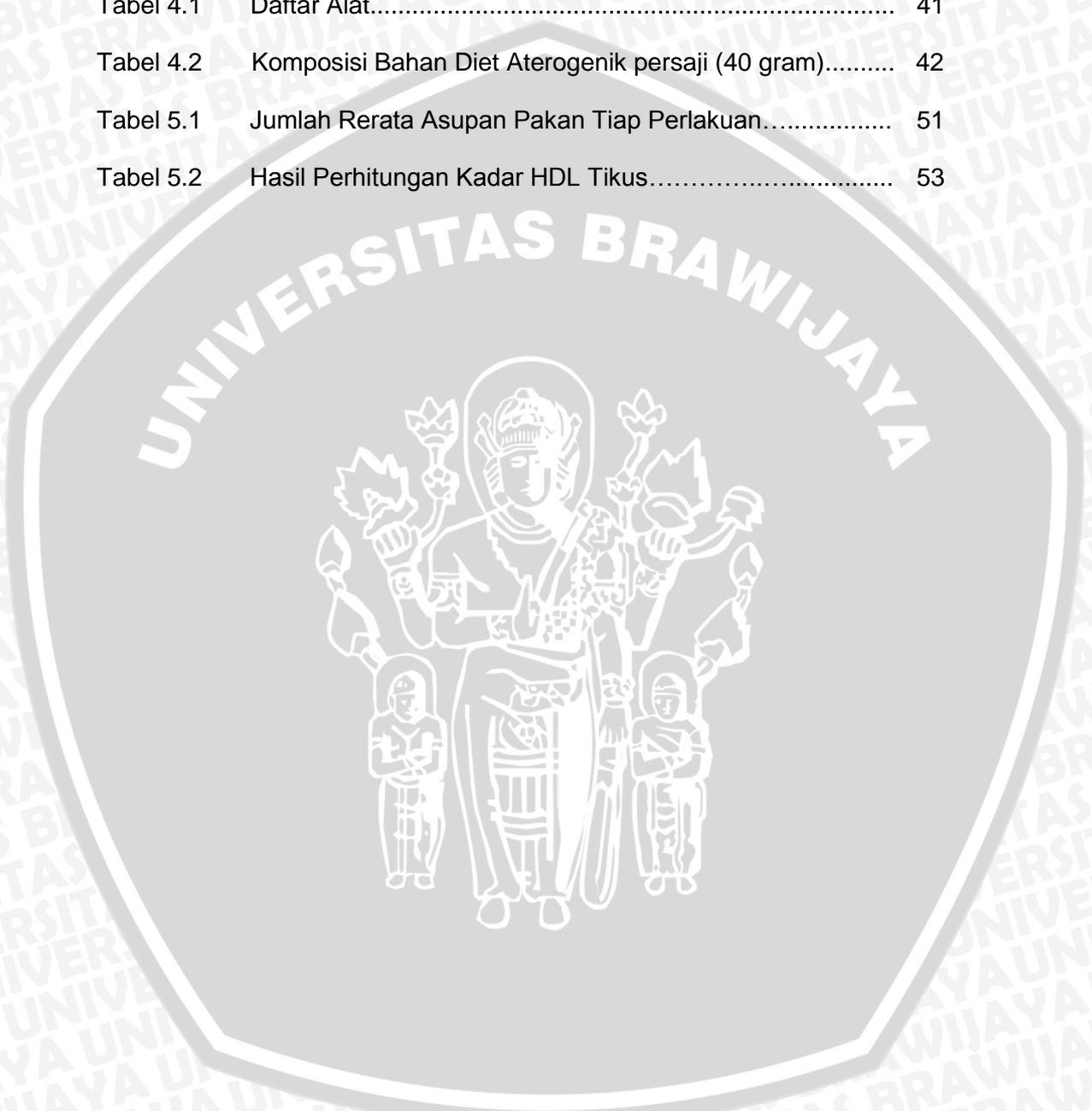
2.4.1	Klasifikasi.....	24
2.4.2	Morfologi dan Ekologi.....	25
2.4.3	Kandungan Kimia Daun Bayam.....	28
2.4.4	Komponen Peningkat HDL Serum.....	29
2.5	Cara-cara Ekstraksi Bahan Alam.....	30
2.5.1	Metode Ekstraksi.....	30
2.5.2	Pelarut.....	31
2.6	Diet Aterogenik.....	32
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP dan HIPOTESIS</b>		
3.1	Kerangka Konsep.....	34
3.2	Hipotesis Penelitian.....	36
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b>		
4.1	Desain Penelitian.....	37
4.2	Sampel Penelitian.....	37
4.3	Estimasi Besar Sampel.....	37
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	38
4.5	Variabel penelitian.....	39
4.5.1	Variabel Bebas.....	39
4.5.2	Variabel Tergantung.....	39
4.5.3	Variabel Kendali.....	39
4.6	Definisi Operasional.....	39
4.7	Alat dan Bahan.....	41
4.7.1	Alat.....	41
4.7.2	Bahan.....	41
4.7.2.1	Bahan Makanan Tikus.....	41

4.7.2.1	Bahan Ekstrak metanol Daun Bayam.....	42
4.8	Prosedur Penelitian.....	42
4.8.1	Persiapan Hewan Coba/ Aklimatisasi.....	42
4.8.2	Pembuatan Ekstrak Bayam.....	43
4.8.2.1	Persiapan Sampel Daun Bayam.....	43
4.8.2.2	Pembuatan Sediaan Ekstrak Daun Bayam....	43
4.8.3	Pengenceran Ekstrak Daun Bayam.....	44
4.8.4	Perlakuan.....	45
4.8.5	Pemeriksaan Kadar Serum HDL.....	45
4.9	Pengumpulan Data.....	47
4.10	Analisis Data.....	49
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN</b>		
5.1	Gambaran Ekstrak Bayam.....	50
5.2	Karakteristik Hewan Coba.....	50
5.2	Asupan Pakan.....	51
5.3	Kadar HDL Tikus.....	52
<b>BAB 6 PEMBAHASAN</b>		
6.1	Hewan Coba .....	56
6.2	Asupan Pakan Tikus.....	56
6.2	Pengaruh Ekstrak Bayam terhadap Kadar HDL Tikus.....	57
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN</b>		
7.1	Kesimpulan.....	63
7.2	Saran .....	63
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		64
<b>LAMPIRAN .....</b>		69



## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Daftar Alat.....	41
Tabel 4.2	Komposisi Bahan Diet Aterogenik persaji (40 gram).....	42
Tabel 5.1	Jumlah Rerata Asupan Pakan Tiap Perlakuan.....	51
Tabel 5.2	Hasil Perhitungan Kadar HDL Tikus.....	53

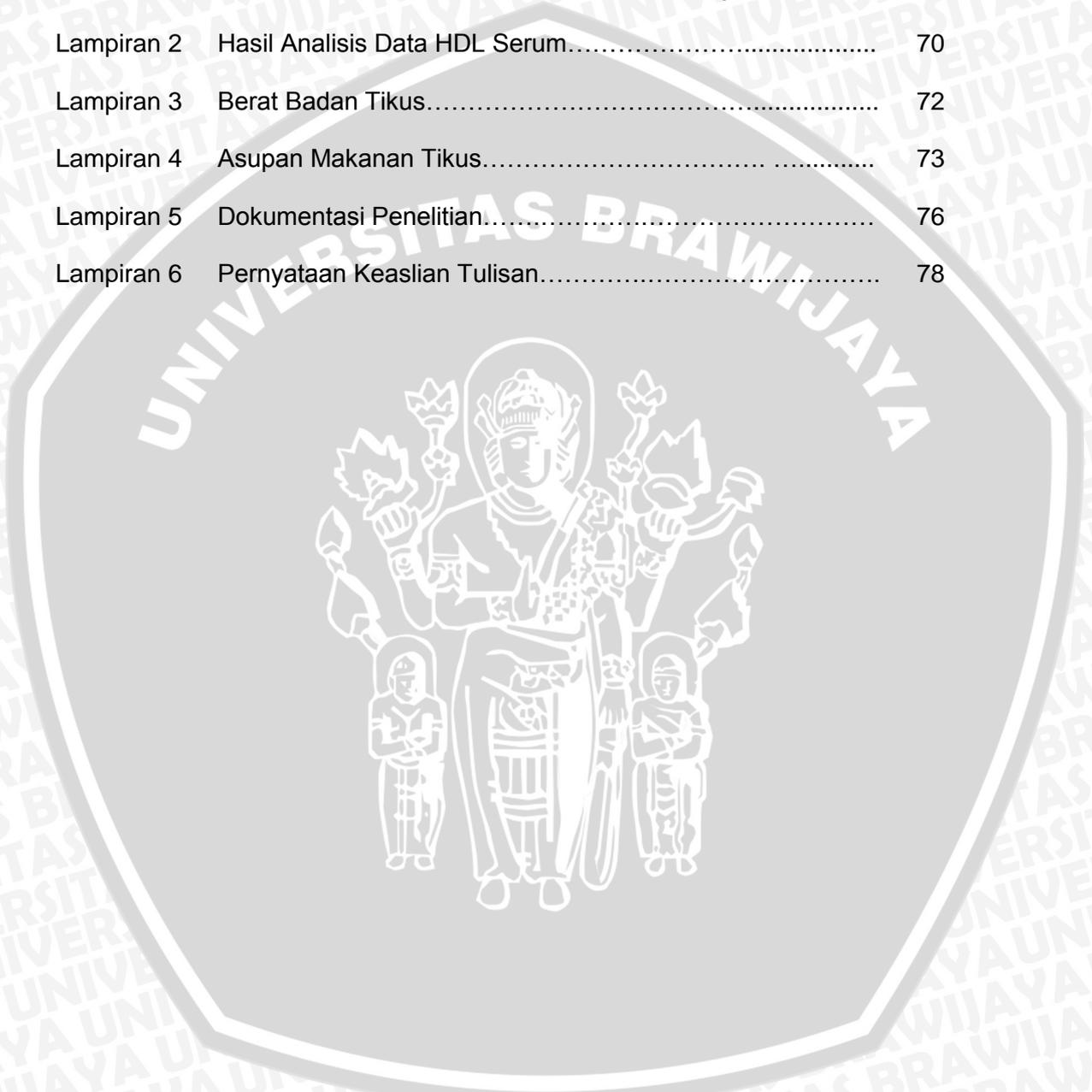


## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Histologi Arteri.....	8
Gambar 2.2	Aterosklerosis Arteri.....	10
Gambar 2.3	Struktur Kolesterol.....	16
Gambar 2.4	Struktur Lipoprotein.....	18
Gambar 2.5	Metabolisme Lipoprotein.....	20
Gambar 2.6	Bunga Daun dan Batang Bayam.....	25
Gambar 2.7	Struktur Flavonoid.....	28
Gambar 2.8	Jenis Flavonoid.....	28
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	34
Gambar 4.1	Diagram Alur Penelitian.....	48
Gambar 5.1	Rerata Asupan Pakan Diet Aterogenik Tikus.....	52
Gambar 5.2	Rerata Kadar HDL Serum Tikus Setelah Diberi Diet Aterogenik dan Ekstrak Metanol Daun Bayam.....	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil Analisis Data Asupan Pakan Diet Aterogenik.....	69
Lampiran 2	Hasil Analisis Data HDL Serum.....	70
Lampiran 3	Berat Badan Tikus.....	72
Lampiran 4	Asupan Makanan Tikus.....	73
Lampiran 5	Dokumentasi Penelitian.....	76
Lampiran 6	Pernyataan Keaslian Tulisan.....	78



## DAFTAR SINGKATAN

AHA	: America Heart Association
ANOVA	: Analysis Of Variance
CETP	: Cholesterol Ester Transfer Protein
HDL	: High Density Lipoprotein
LDL	: Low Density Lipoprotein
LCAT	: Lecithin Cholesterol Acyl Transfer Protein
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
Ox-LDL	: Oxidized Low Density Lipoprotein
SPSS	: Software Statistical Product And Service Solution
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein
IDL	: Intermediet Density Lipoprotein
WHO	: World Health Organization

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Penyakit kardiovaskuler merupakan salah satu penyebab kematian terbanyak pada negara maju. Dewasa ini, Perubahan pola hidup dan konsumsi masyarakat membuat kecenderungan peningkatan prevalensi penyakit ini pada negara-negara berkembang (Himapid, 2008). Pada tahun 2005, jumlah kematian akibat penyakit kardiovaskuler secara global mencapai 17.5 juta jiwa. Peningkatan terjadi sebesar 3.1 juta jiwa sejak tahun 1990 yang hanya berjumlah 14.4 juta jiwa. WHO memperkirakan pada tahun 2015 jumlah kematian akibat penyakit kardiovaskuler mencapai 20 juta jiwa (WHO, 2010). Di Negara maju khususnya Amerika terdapat sekitar 81.100.000 orang dewasa memiliki satu atau lebih penyakit kardiovaskuler dengan jumlah kematian 831.272 pada tahun 2006. Selain itu insiden tertinggi terjadi pada laki-laki dengan umur diatas 45 dan wanita pada saat setelah menopause (AHA, 2010).

Di Indonesia, berdasarkan SKRT (Survey kesehatan rumah tangga) 1995, SKRT 2001(Survey kesehatan rumah tangga) dan Riskesdas (Riset Kesehatan Dasar) 2007 proporsi kematian akibat penyakit tidak menular di Indonesia dalam 12 tahun mengalami peningkatan cukup tinggi dari 42% menjadi 60%. Sedangkan menurut Riskesdas 2007, stroke, hipertensi, penyakit jantung iskemik dan penyakit jantung lainnya merupakan penyakit tidak menular penyebab utama kematian. Dengan rincian jumlah penduduk umur 18 tahun keatas yang menderita hipertensi di Indonesia sebesar 31.7% dengan jumlah kasus kematian sebesar 6.8%, penyakit jantung sebesar 12.5% dengan jumlah kasus kematian

sebesar 9.7% dan stroke sebesar 8,3 per 1000 penduduk dengan jumlah kasus kematian sebesar 15.4% (Depkes, 2009).

Penyakit kardiovaskuler dapat muncul dan berkembang disebabkan adanya beberapa faktor. Dewasa ini disebutkan bahwa hiperlipidemia dan faktor diet merupakan penyebab utama meningkatnya insiden penyakit kardiovaskuler. Saat ini terjadi perubahan pola konsumsi masyarakat yang cenderung memilih lemak hewani. Lemak hewani mengandung asam lemak yang jenuh dengan kadar yang tinggi. Asam lemak jenuh dalam tubuh cenderung menaikkan kadar kolesterol LDL darah (Triyanto, 2009). LDL adalah salah satu lipoprotein dalam tubuh yang berfungsi mengangkut kolesterol dari liver ke seluruh tubuh. Kadar LDL yang tinggi dalam darah mengakibatkan akumulasi di dinding pembuluh darah. LDL yang berada dalam tunika media pembuluh darah akan mengalami oksidasi oleh radikal bebas atau difagosit makrofag dan membentuk sel busa. Sel busa inilah awal dari pembentukan plak aterosklerosis yang menjadi penyebab utama dari penyakit kardiovaskuler (Crowther, 2005).

Selain LDL, dalam tubuh manusia juga terdapat dua jenis lipid lainnya yaitu HDL dan Trigliserida. Trigliserida dalam jumlah yang normal memiliki fungsi untuk menyimpan energi dan cadangan energi ketika diperlukan oleh tubuh. begitu pula LDL yang bermanfaat untuk membawa lipid yang dibutuhkan sel-sel tubuh perifer untuk menjaga homeostatis tubuh. Tetapi tingginya TG dan LDL memiliki efek buruk pada tubuh, sedangkan HDL sangat bermanfaat bagi tubuh. HDL merupakan lipoprotein yang membawa kolesterol dari arteri menuju ke liver. Beberapa pakar bahkan percaya bahwa HDL dapat membawa kelebihan kolesterol dari plak aterosklerosis sehingga pertumbuhan plak dapat dihambat (AHA, 2012). Saat ini kondisi hiperlipidemia ditangani dengan upaya

nonfarmakologis berupa modifikasi diet, olahraga teratur dan penurunan berat badan. Sedangkan untuk penanganan farmakologis masih terfokus pada obat-obatan penurun kadar LDL, TG dan kolesterol total (Kreisberg *and* Oberman, 2003). Hal ini disebabkan sedikitnya jumlah obat-obatan yang terbukti efektif meningkatkan kadar HDL. Satu-satunya obat yang efektif meningkatkan kadar HDL adalah niasin. Dosis tinggi yang diperlukan untuk meningkatkan kadar HDL membuat konsumsi niasin rentan mengalami efek samping (Fogoros, 2011). Selain itu, beberapa penelitian mengungkapkan kombinasi niasin dan statin tidak signifikan menurunkan insiden penyakit kardiovaskuler (Carolo, 2011).

Bayam adalah salah satu sayuran yang umum dikonsumsi masyarakat Indonesia. Daun bayam memiliki nilai gizi tinggi. Ekstrak metanol daun bayam banyak mengandung flavonoid, *phytosterol*, lupeol, antosianin dan polifenol yang heterogen (Akubugwo *et al*, 2007). Flavonoid berupa zat rutin memiliki fungsi menghambat pembentukan plak aterosklerosis dengan meningkatkan sintesis HDL tubuh (Girija *et al*, 2011). Mekanisme Antosianin dalam meningkatkan kadar serum HDL adalah dengan mempengaruhi aktivitas *Cholesteryl ester transfer protein* (CETP) (Qin *et al*, 2009). Penelitian ini dilakukan untuk menguji efektivitas ekstrak metanol daun bayam dalam meningkatkan kadar HDL tikus wistar yang diberi diet aterogenik.

Pada penelitian ini digunakan ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus hybridus L*) karena diasumsikan di dalam ekstrak metanol tersebut akan terkandung bahan aktif yang diduga memiliki efek peningkatan HDL.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus hybridus L*) meningkatkan kadar HDL tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang telah diberi diet aterogenik?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan bahwa pengaruh pemberian ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus hybridus L*) meningkatkan kadar HDL tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang telah diberi diet aterogenik.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Menganalisis perbedaan kadar HDL antara tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet aterogenik dengan tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet normal.

1.3.2.2 Menganalisis hubungan antara peningkatan dosis ekstrak bayam (*Amaranthus hybridus L*) dengan kadar HDL tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet aterogenik

## 1.4 Manfaat Penelitian

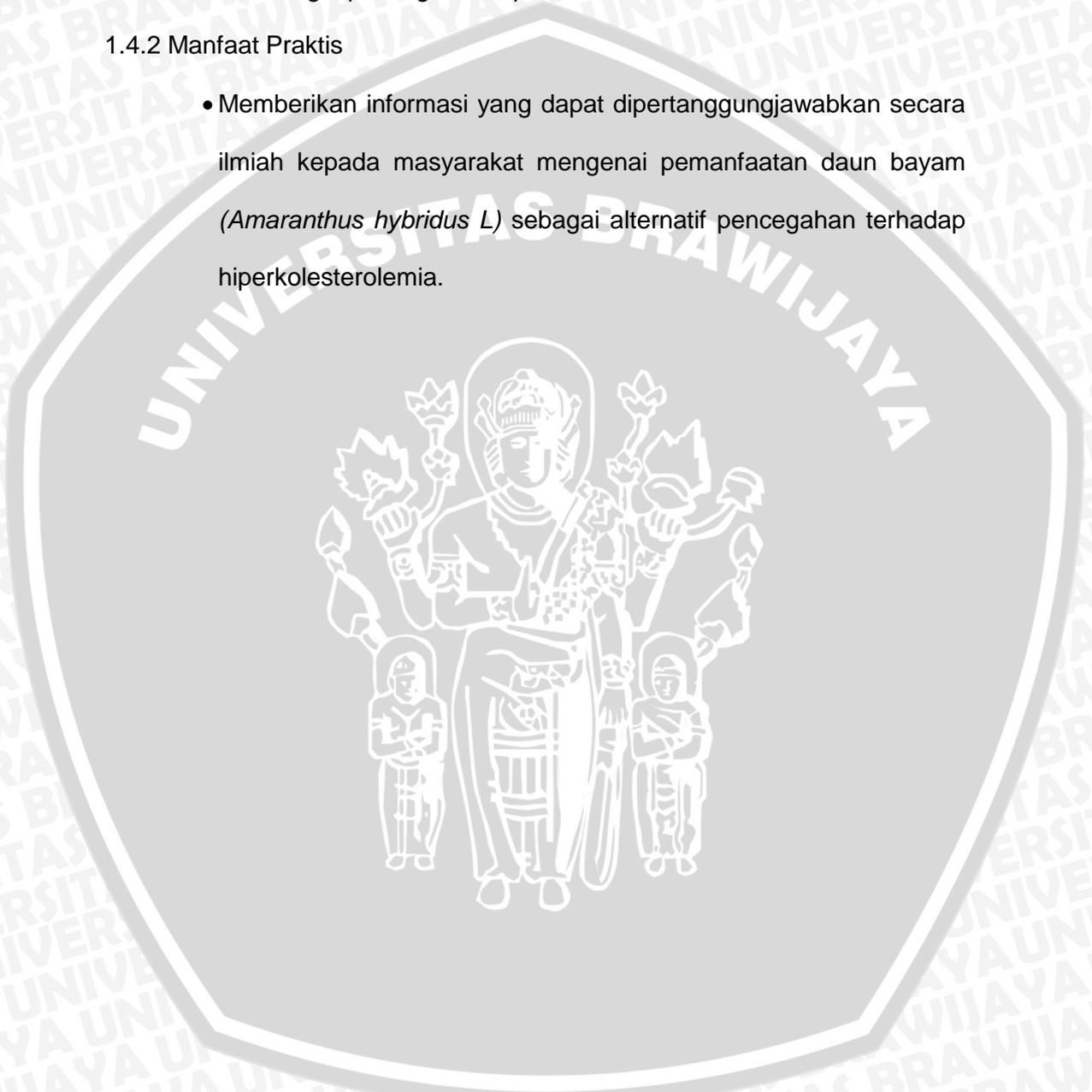
### 1.4.1 Manfaat Akademik

- Menambah wawasan ilmu pengetahuan bidang kedokteran khususnya mengenai manfaat ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus hybridus L*) terkait kolesterol.

- Memberi informasi untuk penelitian lebih lanjut mengenai manfaat ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus hybridus L*) sebagai pencegahan hiperkolesterolemia.

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

- Memberikan informasi yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah kepada masyarakat mengenai pemanfaatan daun bayam (*Amaranthus hybridus L*) sebagai alternatif pencegahan terhadap hiperkolesterolemia.



## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

**2.1 Penyakit Kardiovaskuler****2.1.1 Gambaran Umum**

Penyakit Kardiovaskuler adalah penyakit yang terjadi pada organ jantung, pembuluh darah otak dan perifer (WHO, 2011). Sebagian besar penyakit kardiovaskuler berhubungan dengan proses aterosklerosis pada dinding arteri (AHA, 2012).

**2.1.2 Klasifikasi Penyakit Kardiovaskuler**

Berdasarkan penyebabnya, penyakit kardiovaskuler terbagi menjadi 2 tipe, yaitu:

- a. Penyakit kardiovaskuler karena aterosklerosis.
  - Penyakit jantung coroner
  - Penyakit serebrovaskuler (*stroke*)
  - Penyakit dari aorta dan arteri, termasuk hipertensi dan penyakit pembuluh darah perifer
- b. Penyakit kardiovaskuler lainnya
  - Penyakit jantung kongenital
  - Penyakit jantung rematik
  - *Cardiomyopathies*
  - Aritmia jantung

### 2.1.3 Epidemiologi Penyakit Kardiovaskuler

Pada tahun 2008, jumlah kematian global mencapai 57 juta jiwa. 36 juta jiwa (63%) karena penyakit noninfeksi dan 17.3 juta jiwa (30%) karena penyakit kardiovaskuler. Diantara orang-orang dibawah 70 tahun, penyakit kardiovaskuler bertanggung jawab menyumbangkan angka kematian tertinggi (39%) karena penyakit noninfeksi. Dewasa ini, Jumlah kasus penyakit kardiovaskuler meningkat dua kali lipat pada Negara-negara dengan jumlah pendapatan kecil hingga menengah (WHO, 2011).

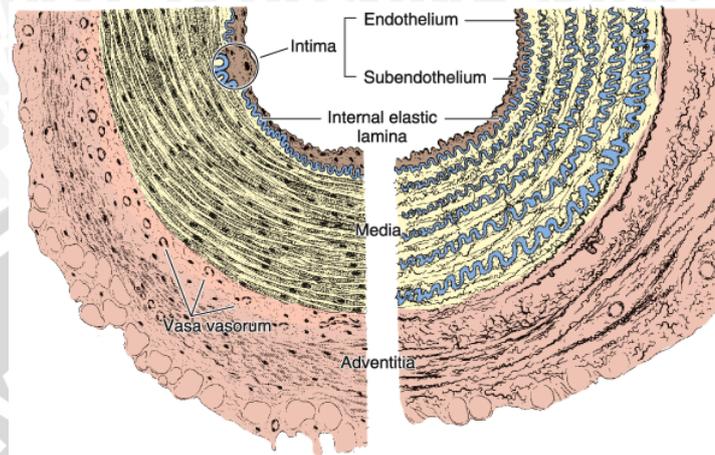
Berdasarkan *Global Burden of Disease*, 68% dari 751 juta jiwa hidup dengan kecacatan yang disebabkan oleh penyakit noninfeksi, dan 84% kecacatan terjadi di negara-negara dengan pendapatan kecil hingga menengah. Penyakit jantung menjadi salah satu kontributor kecacatan pada penderita lanjut usia. Stroke juga dilaporkan menjadi penyebab kecacatan terbanyak kedua setelah demensia. Penyakit kardiovaskuler bertanggung jawab menjadi penyebab kecacatan 151.377 juta kasus dimana 62.587 juta karena penyakit jantung koroner dan 46.591 juta karena penyakit serebrovaskuler (WHO, 2011).

## 2.2 Aterosklerosis

### 2.2.1. Morfologi Arteri

Dinding arteri normalnya terdiri dari tiga lapisan konsentrik yang mengelilingi lumen. Setiap lapisan tersebut memiliki perbedaan komposisi sel dan matriks ekstraselular. Lapisan yang paling dalam dan langsung berbatasan dengan lumen disebut tunika intima, lapisan yang berada ditengah-tengah disebut tunika media, dan lapisan yang berada paling luar disebut Tunika adventitia. Ketiga lapisan tersebut dipisah oleh lapisan elastin. Lamina elastika

interna yang memisahkan intima dari media dan lamina elastika eksterna yang memisahkan media dengan adventitia (Stoker *and* Keaney, 2004).



**Gambar 2.1 Histologi Arteri (Junqueira *and* Carneiro, 2005)**

#### **2.2.1.1. Tunika Intima**

Tunika intima terdiri dari satu lapis sel endotel yang disokong oleh jaringan ikat longgar pada lapisan subendotel tersusun atas sel otot polos. Sel endotel merupakan komponen sel utama yang membentuk pembatas fisik maupun fungsional diantara aliran darah dan stroma dinding arteri (Junqueira *and* Carneiro, 2005). Sel endotel meregulasi banyak proses, diantaranya trombosis, *vascular tone*, dan agregasi leukosit dengan yang lainnya (Stocker *and* Keaney, 2004). Lapisan elastika interna yang berada dalam tunika intima memiliki gap (fenestrasi) guna proses difusi zat-zat yang memberikan nutrisi pada sel-sel yang berada dalam lapisan yang lebih dalam (Junqueira *and* Carneiro, 2005).

#### **2.2.1.2. Tunika Media**

Tunika media utamanya terdiri dari lapisan kosentrik otot polos yang tersusun secara heliks. Didalam matriks tunika media, terdapat sejumlah serat

elastic, lamela, serat retikular (kolagen tipe 3), proteoglikan dan glikoprotein. Sel otot polos adalah sumber *selulae* dari matriks ekstraseluler lapisan ini (Junqueira *and* Carneiro, 2005).

### 2.2.1.3. Tunika Adventitia

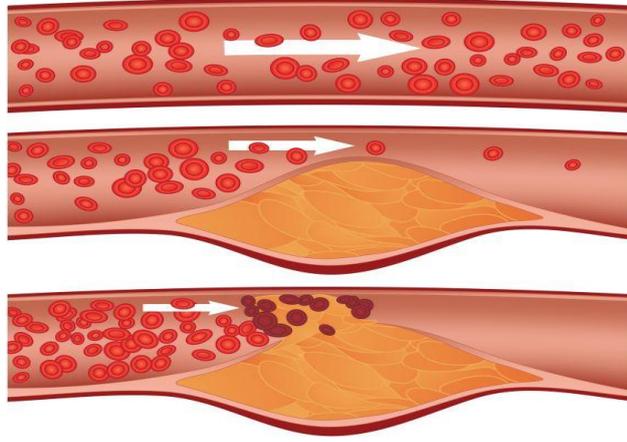
Tunika adventitia tersusun atas serat kolagen (tipe 1), elastin, otot polos, dan fibroblas. Sebagian besar jalur neuron pada pembuluh darah melalui lapisan ini (Stocker *and* Keaney, 2004). Lapisan adventitia secara bertahap menjadi jaringan ikat pada organ dimana pembuluh darah berada (Junqueira *and* Carneiro, 2005).

### 2.2.2. Gambaran Umum

Nama aterosklerosis berasal dari yunani, *athero* (berarti bubur atau pasta) dan *sclerosis* (keras). Istilah ini merujuk pada proses penimbunan lemak, kolesterol, produk-produk buangan, kalsium dan fibrin pada lapisan arteri. Aterosklerosis menyerang arteri besar dan medium, tetapi tipe dan tempat berkembangnya plak bervariasi pada setiap orang. Keadaan patologis ini berkembang lambat, tetapi progresif dan dapat terjadi sedari masa kecil (AHA, 2012).

Aterosklerosis adalah proses inflamasi yang mempengaruhi pembuluh darah dalam sistem kardiovaskuler. Ketika lapisan pada pembuluh darah (endotel) terekspos oleh peningkatan kadar kolesterol LDL dan zat-zat lain seperti radikal bebas, endotel menjadi permeabel terhadap limfosit dan monosit. Sel-sel tersebut bermigrasi kedalam lapisan dinding pembuluh darah. Kolesterol LDL yang semakin banyak tertarik untuk masuk kedalam lapisan endotel. Partikel

tersebut akan tertelan oleh monosit dan berkembang menjadi sel busa yang menjadi salah satu penyusun plak aterosklerosis (WHO, 2011).



**Gambar 2.2 Aterosklerosis Arteri (Vishnu, 2011)**

(gambar paling atas mendeskripsikan pembuluh darah normal, tidak adanya masa pada dinding pembuluh darah membuat darah mengalir dengan baik. Gambar kedua adalah proses awal terjadinya aterosklerosis, akumulasi masa pada dinding pembuluh darah menyebabkan terganggunya aliran darah, pada fase ini masih belum terbentuk gumpalan darah. Gambar ketiga merupakan fase lanjut dari proses aterosklerosis, penyempitan pembuluh darah stadium lanjut menyebabkan adanya gumpalan-gumpalan trombotis yang terjebak dalam celah penyempitan dan menyebabkan terjadinya obstruksi)

### 2.2.3. Faktor Resiko

Faktor resiko yang mendorong terjadinya aterosklerosis terbagi menjadi tiga faktor, yaitu:

- a. Faktor resiko perilaku
  - Merokok
  - Fisik yang tidak aktif
  - Diet yang tidak sehat
  - Konsumsi alkohol berlebihan
- b. Faktor resiko metabolik
  - Hipertensi
  - Diabetes

- Hiperlipidemia
- Obesitas
- c. Faktor resiko lainnya
  - Kemiskinan dan tingkat pendidikan yang rendah
  - Umur yang semakin tua
  - Gender
  - Genetik
  - Faktor psikologis
  - Faktro resiko lain (homosistein berlebihan) (WHO, 2011)

#### 2.2.4. Patogenesis Aterosklerosis

Aterosklerosis berawal ketika sel endotel mengalami ekspresi yang berlebihan pada molekul adesi (*vascular cell adhesion molecule-1/ VCAM-1*) sebagai respon terhadap aliran turbulensi pada keadaan serum *lipid profile* yang abnormal. Ekspresi VCAM-1 yang berlebihan mengundang monosit dan sel T ke tempat disfungsi endotel. Leukosit kemudian melepaskan *Monocyte Chemoattractant protein-1* (MCP-1), sehingga semakin memperbesar proses inflamasi dengan memanggil tambahan leukosit, meningkatkan aktivasi leukosit dalam tunika media dan menyebabkan proliferasi dan akumulasi otot polos pada ruangan subendotel. Sebagai respon terhadap sinyal yang diberikan oleh plak aterosklerosis awal yang telah terbentuk, monosit beradesi pada endotel dan bermigrasi melewati endotel dan membrana basalis dengan mengaktifasi enzim, salah satunya adalah *matrix metalloproteinase* (MMP) yang dapat mendegradasikan matriks jaringan ikat. Makrofag yang telah berkumpul melepaskan tambahan sitokin dan mulai bermigrasi melewati lapisan endotel

menuju tunika media pembuluh darah. Proses ini ditingkatkan oleh pelepasan *local Monocyte-colony stimulating factor* (M-CSF). M-CSF menyebabkan proliferasi monosit, aktivasi lokal monosit menyebabkan Progresivitas aterosklerosis yang termediasi oleh sitokin dan oksidasi LDL (Crowther, 2005).

Plak aterosklerosis semakin membesar seiring dengan akumulasi lipid di dalam sel busa yang terbentuk. Proliferasi sel otot polos yang bercampur dengan matriks intraselular membentuk *definitive fibrous plaque*. Beberapa plak dapat tumbuh lebih cepat karena adanya deposit LDL yang berasal dari sirkulasi dan membran sel darah merah akibat pendarahan intraplak (Crowther, 2005). Plak terus berkembang dan membentuk lapisan yang menyelimutinya. Lapisan ini disebut *fibrous cap* dan tersusun atas kolagen dan sel otot polos. Pada saat yang bersamaan makrofag yang ada dalam plak mengalami nekrosis, terbentuklah inti nekrosis yang dilapisi *fibrous cap*. Lesi ini membesar layaknya sel yang terus tumbuh dan akumulasi lipid dalam plak membuat menonjol kedalam lumen. Lumen yang semakin sempit menambah tekanan pada pembuluh darah. Hal ini semakin menipiskan lapisan *fibrous cap*. Ketika *fibrous cap* mengalami ruptur, fragmen lipid dan debris selular dilepaskan kedalam pembuluh darah. Didalam pembuluh darah, fragmen akan berinteraksi dengan agen trombogenik pada permukaan endotel. Akhirnya terbentuk trombus yang terbawa aliran darah dalam sirkulasi. Jika trombus cukup besar untuk menyumbat pembuluh darah pada jantung dan otak, maka terjadilah penyakit kardiovaskular seperti penyakit jantung koroner dan stroke (WHO, 2011).

### 2.2.5. LDL Teroksidasi

LDL teroksidasi memiliki beberapa macam aktivitas proaterogenik, yaitu:

- LDL oksidasi membantu makrofag untuk membentuk sel busa
  - Produk derivasi LDL Oks adalah kemotaktik untuk monosit dan set T tapi kemosstatik untuk makrofag jaringan
  - Produk derivasi LDL bersifat sitotoksik dan dapat menginduksi apoptosis
- LDL teroksidasi adalah memiliki sifat mitogenik untuk otot polos dan makrofag.
- LDL teroksidasi mengubah ekspresi gen pada sel vaskuler.
  - LDL teroksidasi dapat meningkatkan ekspresi reseptor *scavenger* makrofag. (Stocker *and* Keaney, 2004)

## 2.3. Lipid

### 2.3.1. Gambaran Umum

Lipid adalah sekelompok senyawa heterogen yang memiliki sifat tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut nonpolar. Lipid yang penting untuk tubuh diantaranya neutral fat (Trigliserida), fosfolipid, kolesterol, steroid, dan yang lainnya. Lipid penting dalam tubuh karena memiliki banyak peran dalam menjaga homeostatis tubuh (Murray *et al*, 2006).

### 2.3.2. Klasifikasi Lipid

Berdasarkan gugus penyusunya lipid terbagi menjadi 3, yaitu:

- Lipid sederhana, ester asam lemak dengan berbagai macam alkohol.

- Lemak: ester asam lemak dengan gliserol. Minyak adalah lemak dalam keadaan cair.
- Wax: ester asam lemak dengan alkohol monohidrat berberat molekul tinggi.
- Lipid kompleks: ester asam lemak yang mengandung gugus-gugus tambahan selain alkohol dan asam lemak.
  - Fosfolipid: Lipid yang mengandung tambahan gugus residu asam fosfor selain asam lemak dan alkohol. Lipid ini kebanyakan memiliki basa dengan kandungan nitrogen dan substituen lain. Misalnya alkohol pada *glycerophospholipid* adalah *glycerol* dan alkohol pada *sphingophospholipid* adalah *sphingosine*.
  - Glikolipid (Glycosphingolipid): lipid yang mengandung sebuah rantai asam lemak, sfingosin dan karbohidrat.
  - Kompleks lipid yang lain: lipid seperti sulfolipid dan aminolipid. Lipoprotein juga dapat dimasukkan dalam kategori ini.
- Prekursor dan lipid turunan: Kelompok ini mencakup asam lemak gliserol, steroid, alkohol lain, lemak aldehyd, badan keton, hidrokarbon, vitamin larut lemak, dan lemak (Murray *et al*, 2006).

### 2.3.3. Metabolisme Lipid

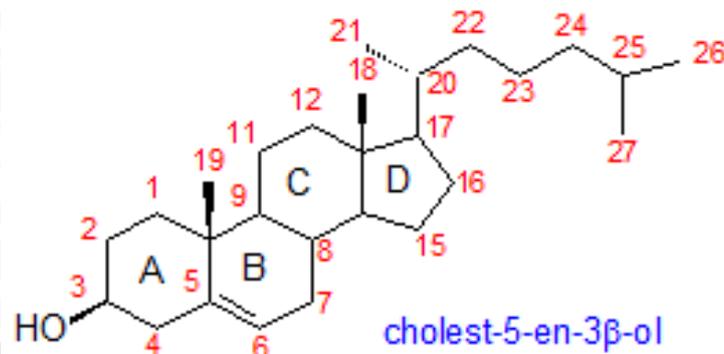
Lipid dalam tubuh diperoleh melalui jalur endogen dan eksogen. Lipid endogen merupakan lipid yang berasal dari sintesis kolesterol oleh hati, sedangkan lipid eksogen berasal dari luar tubuh melalui asupan makanan (Elis,

2011). Pada jalur eksogen, lipid yang terkandung dalam makanan dihidrolisis oleh enzim lipase, diemulsikan oleh asam empedu, diserap oleh usus dan dibawa menuju sirkulasi oleh kilomikron. Setelah mengalami proses hidrolisis dalam jaringan tubuh sistemik, sisa-sisa kilomikron dikirim langsung ke dalam hati untuk diproses. Sedangkan untuk jalur endogen lebih berkaitan dengan metabolisme lipoprotein (Fauci *et al*, 2008).

### 2.3.4. Kolesterol

#### 2.3.4.1. Struktur, Biokimia dan Fungsi

Kolesterol (cholest-5-en-3 $\beta$ -ol) memiliki rumus molekul C<sub>27</sub>H<sub>45</sub>OH. Molekul tersebut terdiri atas 3 regio, sebuah ekor hidrokarbon, sebuah struktur cincin dengan 4 cincin hidrokarbon, dan sebuah group hidroksil. Group hidroksil (OH) memiliki sifat polar, hal ini membuat kolesterol larut dalam air. 2 struktur atom ini membuat kolesterol termasuk ke dalam alkohol. 4 regio cincin kolesterol adalah tanda untuk semua hormon steroid (Seperti testosterone dan estrogen). Semua steroid dibentuk dari kolesterol. Cincin ini disebut cincin hidrokarbon karena setiap sudut dari cincin terdiri atas atom karbon dengan tambahan 2 atom hydrogen. Kombinasi dari struktur cincin steroid dan hidroksil (alkohol) membuat kolesterol termasuk ke dalam sterol. Ekor hidrokarbon terdiri atom dan hydrogen sama seperti pada cincin steroid. Kedua-duanya memiliki sifat nonpolar yang berarti dapat terurai lemak dan zat yang berminyak tetapi tidak dapat bercampur dengan air (Masterjohn, 2008).



**Gambar 2.3 Struktur Kolesterol (Christie, 2012)**

Kolesterol dapat ditemukan pada seluruh jaringan manusia, tetapi kebanyakan terdapat pada membran sel. Kolesterol yang tidak teresterifikasi memiliki proporsi tertinggi di plasma membran (30-50%), dimana mitokondria dan retikulum endoplasma memiliki kadar kolesterol yang rendah. Otak merupakan organ yang memiliki kadar kolesterol paling tinggi dibanding organ lain dengan presentasi 25% dari total kolesterol bebas tubuh. Sedangkan dalam darah, hanya glukosa yang memiliki konsentrasi lebih tinggi disbanding kolesterol (Christie, 2012).

Kolesterol memiliki peran struktural yang vital pada membran sel dan metabolisme lipid. Kolesterol juga merupakan prekursor biosintesis asam empedu, vitamin D dan hormon steroid (Glukokortikoid, estrogen, progesterone, androgen dan aldosterone). Selain itu, kolesterol memiliki peran pada perkembangan dan keberlangsungan aktivitas sistem saraf pusat, transduksi sinyal, dan perkembangan sperma. Spesifik membran protein atau proteolipid merupakan struktur vital pada perkembangan embrio ini juga memiliki hubungan kovalen dengan kolesterol (Christie, 2012).

#### 2.3.4.2. Biosintesis Kolesterol

Biosintesis kolesterol dapat dibagi menjadi 4 proses besar, yaitu:

- Pembentukan Mevalonat

Konversi dari asetil koA menjadi asetasetil koA dan menjadi 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (3-HMG CoA) sesuai dengan jalur biosintesis badan keton. Tetapi memiliki tempat sintesis berbeda yaitu dalam retikulum endoplasma halus. Proses selanjutnya 3-HMG dipotong dari CoA dan direduksi menjadi mevalonat dengan bantuan NADPH+H<sup>+</sup> (Koolman and Roehm, 2005).

- Pembentukan *Isopentenyl diphosphate*

Setelah mengalami fosforilasi, mevalonat mengalami dekarboksilasi menjadi *isopentenyl diphosphate* dengan memakai ATP (Koolman and Roehm, 2005).

- Pembentukan squalene

*Isopentenyl diphosphate* mengalami isomerisasi untuk membentuk *dimethylallyl diphosphate*. 2 molekul C<sub>5</sub> terkondensasi menghasilkan *geranyl diphosphate*, dan tambahan *isopentenyl diphosphate* menghasilkan *farnesyl diphosphate*. *Farnesyl diphosphate* mengalami proses dimerisasi untuk membentuk squalene (Koolman and Roehm, 2005).

- Pembentukan kolesterol

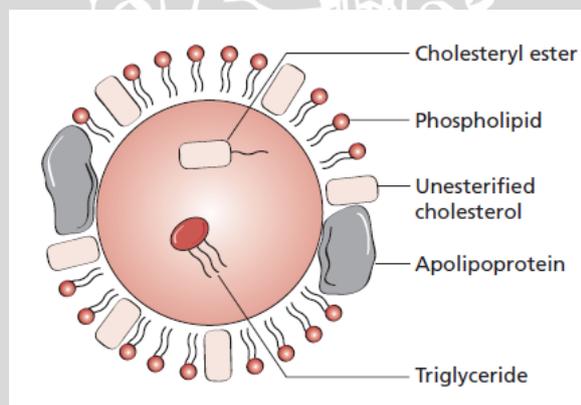
Squalene, isoprenoid linear, siklik, dengan O<sub>2</sub> dikonsumsi membentuk lanosterol (C<sub>30</sub> sterol). 3 group metil dipotong pada lanosterol untuk menghasilkan produk akhir kolesterol. Beberapa reaksi tersebut dikatalisir oleh sistem sitokrom P450 (Koolman and Roehm, 2005).

Jalur biosintesis kolesterol diatas terjadi seluruhnya di retikulum endoplasma halus. Energi yang dibutuhkan diperoleh dari derivate KoA yang telah digunakan dan ATP. Agen pereduksi pada pembentukan mevalonate dan squalene dan juga pada proses akhir sintesis kolesterol adalah  $\text{NADPH}^+ + \text{H}^+$  (Kolman *and* Roehm, 2005).

### 2.3.5. Lipoprotein

#### 2.3.5.1. Struktur Lipoprotein

Lipoprotein adalah agregat makromolekul lipid dan protein yang memiliki fungsi untuk mengangkut molekul lipid yang tidak terlarut dalam plasma. Komponen lipoprotein termasuk nonpolar lipid, trigliserida, kolesterol ester, polar lipid, fosfolipid dan kolesterol nonesterifikasi. Inti hidrophobic dari partikel lipoprotein mengandung nonpolar lipid. Lapisan *amphipilic* terdiri dari polar lipid dan apolipoprotein yang menghasilkan emulsi stabil pada inti (Rodes *et al*, 2007).



**Gambar 2.4 Struktur Lipoprotein (Rodes *et al*, 2007)**

Lipoprotein yang berada dalam plasma yaitu kilomikron, *very low density lipoprotein* (VLDL), *low density lipoprotein* (LDL), *intermediet density lipoprotein* (IDL) dan *high density lipoprotein* (HDL). Ukuran lipoprotein meningkat sesuai dengan kandungan trigliserida dan kolesterol ester dalam intinya, sebaliknya

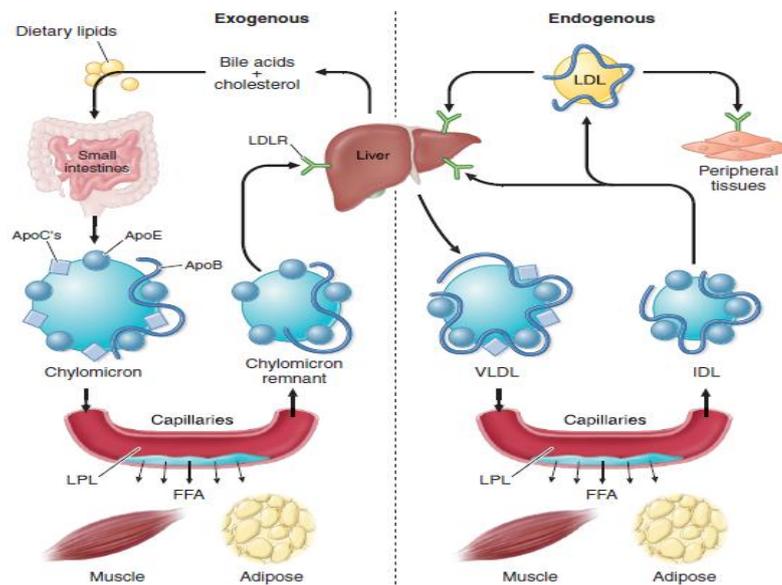
presentasi fosfolipid yang mengisi lapisan luarnya berkurang sebagai hasil dari penurunan dalam rasio permukaan dan volum. Densitas lipoprotein sebanding dengan kandungan protein dan berbanding terbalik dengan kandungan lipid (Rodes *et al*, 2007).

#### 2.3.5.2. Apolipoprotein

Apolipoprotein adalah protein yang memiliki sifat *amphiplicity* (Kemampuan untuk berinteraksi dengan lipid dan air). Sifat ini terjadi karena adanya  *$\alpha$ -helical secondary structure element* yang membedakan permukaan *hydrophobic* dan *hydrophilic*. Hal ini membuat apolipoprotein berfungsi untuk mengorientasikan pada permukaan lipid-air lipoprotein dan menstabilisasi partikel (Rodes *et al*, 2007).

#### 2.3.5.3. Metabolisme lipoprotein

Metabolisme lipoprotein dibagi menjadi dua jalur yaitu jalur metabolisme endogen dan jalur metabolisme eksogen. Jalur metabolisme eksogen adalah lipid yang berasal dari diet makanan yang diserap oleh intestin. Sedangkan jalur metabolisme endogen adalah lipid yang berasal dari hepar.



**Gambar 2.5 Metabolisme Lipoprotein (Fauci et al, 2008)**

(Gambar sebelah kiri adalah metabolisme eksogen, diet lipid dari makanan diproses oleh asam empedu dan enzim lipase di *intestine*, komponen lipid (TG dan asam lemak) yang telah dipisahkan dibawa oleh kilomikron menuju kapiler dan langsung disimpan di jaringan otot dan lemak. Sisa kilomikron dibawa kembali ke hati. Gambar sebelah kanan adalah metabolisme endogen. VLDL yang bersal dari hepar membawa komponen lipid dari hepar menuju kapiler dan diteruskan ke jaringan otot dan lemak. VLDL yang berkurang komponennya berubah menjdai IDL. IDLmemilki 2 jalur metabolisme yaitu langsung menuju hepar atau berubah menjadi LDL. LDL adalah produk akhir dimana lipoprotein ini bisa berada dalam jaringan dan mengalami akumulasi dalam pembuluh darah atau dibawa menuju hepar)

**a. Jalur Metabolisme Eksogen**

Makanan yang mengandung lipid akan mengalami proses agar dapat diserap tubuh. Triglicerida dalam makanan terhidrolisis oleh lipase pankreas dalam lumen intestin dan diemulsikan oleh asam empedu untuk membentuk misel. Sedangkan kolesterol dan retinol diesterifikasi (oleh tambahan asam lemak) dalam enterosit untuk membentuk kolesterol ester dan retinil ester. Asam lemak rantai panjang (lebih dari 12 karbon) bergabung menjadi trigliserida dan bersama-sama dengan apoB-48, kolesterol ester, retinil ester, fosfolipid dan kolesterol membentuk kilomikron (Fauci et al, 2008).



Nasen kilomikron disekresikan kedalam pembuluh limfe intestinal dan dikirim langsung ke sirkulasi. Jaringan perifer (khususnya jaringan adiposa, jantung, dan otot skeletal) yang dilewati oleh nasen kilomikron pada permukaan endotel kapilernya memiliki lipoprotein lipase yang terikat pada proteoglikan. Trigliserida kilomikron mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase, asam lemak bebas dilepaskan; apoC-II menjadi kofaktor dalam reaksi LPL ini. Asam lemak bebas yang telah dilepaskan diambil oleh miosit atau adiposit dan mengalami oksidasi atau reseterifikasi dan disimpan dalam trigliserida. Beberapa asam lemak berikatan dengan albumin dan dibawa menuju jaringan lain khususnya hepar (Fauci *et al*, 2008).

Partikel kilomikron mengecil secara progresif karena inti *hydrophobic* telah dihidrolisis dan lipid *hydrophilic* (Kolesterol dan fosfolipid) pada permukaan partikel dipindahkan ke HDL. Sehingga menghasilkan partikel kecil yang kaya kolesterol ester yang disebut kilomikron *remnant*. Kilomikron *remnant* kemudian diambil oleh hepar untuk diproses lebih lanjut (Fauci *et al*, 2008).

#### **b. Jalur Endogen**

Jalur endogen lipoprotein mengacu pada sekresi hepatik dan metabolisme VLDL menjadi IDL dan LDL. Partikel VLDL menyerupai kilomikron pada komposisi protein tetapi mengandung apoB-100 dibanding apoB-48 dan memiliki kolesterol terhadap trigliserida yang tinggi. Komponen-komponen VLDL (apoB-100, kolesterol ester, fosfolipid, vitamin E, dan trigliserida) membutuhkan aktivitas *microsomal transfer protein* untuk membentuk nasen VLDL (Fauci *et al*, 2008).

Setelah sekresi ke dalam plasma, VLDL mendapat beberapa apoE dan apoC. Trigliserida dihidrolisis oleh LPL khususnya di jaringan otot dan adiposa. VLDL *remnant* yang terus mengalami hidrolisis semakin mengecil membentuk IDL yang mengandung sejumlah kolesterol dan trigliserida yang sama. Liver mengambil 40-60% VLDL *remnant* dan IDL oleh *LDL receptor – mediated endocytosis* via ikatan dengan apoE. Sisa IDL mengalami *remodelling* oleh hepatic lipase membentuk LDL. Pada proses *remodelling* ini sebagian besar trigliserida dalam partikel dihidrolisis dan semua apolipoprotein kecuali apoB-100 ditransfer ke lipoprotein lain. Kolesterol dalam LDL menyusun 70% kolesterol plasma kolesterol. Sekitar 70% LDL yang berada dalam sirkulasi diambil hepar melalui *LDL receptor-mediated endocytosis* (Fauci *et al*, 2008).

#### 2.3.5.4. HDL

##### 2.3.5.4.1 Biosintesis HDL

###### a. Sintesis Apolipoprotein

Apolipoprotein HDL yang utama adalah apoA-I dan apoA-II dan keduanya diperlukan untuk biosintesis HDL yang normal. ApoA-I menyusun sekitar 70% protein HDL dan ada pada semua partikel HDL. ApoA-I disintesis oleh liver dan intestin. ApoA-II menyusun sekitar 20% partikel HDL manusia dan hanya disintesis oleh liver. ApoA-II juga dibutuhkan untuk biosintesis normal HDL. Overekspresi dari ApoA-I dapat meningkatkan level HDL-C dan menghambat perkembangan bahkan dapat meregresikan plak aterosklerosis. Sedangkan overekspresi ApoA-II meningkatkan level HDL-C serum, juga meningkatkan progresivitas aterosklerosis (Rader, 2006).

### b. Penerimaan lipid dan Maturasi

Apolipoprotein HDL yang baru disekresi memerlukan lipid (Fosfolipid dan kolesterol) untuk membentuk partikel HDL. Lipidasi dari apolipoprotein HDL terjadi setelah sekresi melalui jalur ABCA1. Meskipun ABCA1 diekspresikan di banyak jaringan, ABCA1 yang berada di liver dan intestine bertanggung jawab sebagai lipidasi yang utama bagi apolipoprotein HDL. Selain dari hepar dan intestin, HDL juga mendapat suplai lipid dari jaringan (miosit skletela adipose dan fibroblast kulit) dan lipoprotein (Trigliserida yang kaya lipoprotein) lainnya (Rader, 2006).

Perkembangan kematangan HDL membutuhkan esterifikasi kolesterol untuk membentuk kolesterol ester dan inti *hydrophobic* lipid dari HDL. HDL-CE dibentuk oleh aktivitas *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT). LCAT adalah suatu enzim yang berkaitan dengan HDL mengkatalis transfer asam lemak dari fosfolipid ke kolesterol bebas. Sehingga terbentuklah partikel HDL matang yang tersusun atas fosfolipid, kolesterol ester, kolesterol bebas, ApoA1 dan ApoAII (Rader, 2006).

#### 2.3.5.4.2 Metabolisme HDL dan *Cholesterol Reverse Transport*

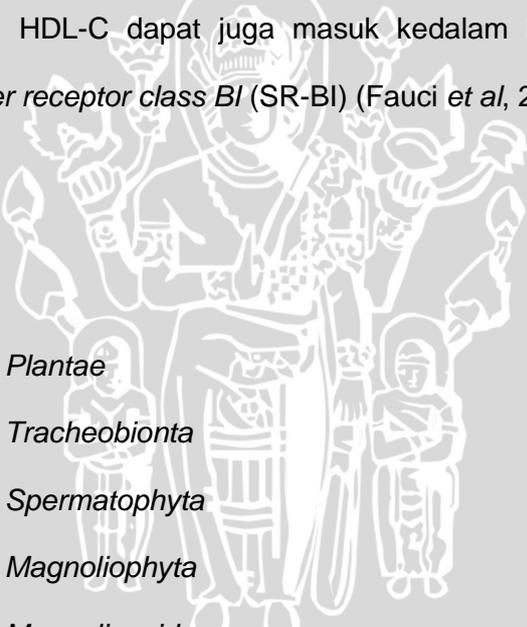
Kolesterol yang ada dalam tubuh dapat dimetabolisme dan dieksresikan secara efisien oleh hepatosit. Rute untuk eliminasi kolesterol adalah dengan dieksresikan kedalam empedu baik setelah konversi menjadi asam empedu maupun langsung. Kolesterol dalam sel perifer dipindahkan dari membran plasma ke liver melalui proses yang dimediasi oleh HDL yang disebut *Cholesterol reverse transport* (Fauci et al, 2008).

Partikel nasen HDL yang telah disintesis hepar dan intestine mendapatkan kolesterol tak teresterifikasi dan fosfolipid dari jaringan perifer. Setelah menyatu dalam partikel HDL, kolesterol mengalami esterifikasi oleh enzim LCAT. Tambahan kolesterol ester membuat bentuk HDL menjadi lebih speris. Apolipoprotein dan lipid juga ditransfer ke partikel dari permukaan kilomikron dan VLDL ketika lipolisis (Fauci et al, 2008).

HDL-C dibawa ke hepatosit oleh jalur langsung dan tidak langsung. HDL-C ditransfer ke lipoprotein yang memilki apoB yang ditukar dengan trigliserida oleh CETP. Kolesterol ester kemudian diambil dari sirkulasi oleh *LDL receptor mediated endocytosis*. HDL-C dapat juga masuk kedalam hepatosit dengan menggunakan *scavenger receptor class BI (SR-BI)* (Fauci et al, 2008).

## 2.4. Bayam

### 2.4.1. Klasifikasi



Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Hamamelidae</i>
Ordo	: <i>Caryophyllales</i>
Famili	: <i>Amaranthaceae</i>
Genus	: <i>Amaranthus</i>
Spesies	: <i>Amaranthus hybridus L</i>

(USDA, 2012)

Bayam memiliki nama latin *Amaranthus* sp. Istilah ini berasal dari bahasa Yunani *Everlasting* yang artinya abadi. Bayam berasal dari daerah Amerika yang memiliki iklim tropis khususnya Amerika Latin. Dahulu bayam hanya dikenal sebagai tanaman hias (Suriaji, 2009). Kini bayam telah menjadi tanaman pangan terutama bagi negara-negara berkembang dengan iklim tropis. Bayam masuk ke Indonesia pada abad XIX ketika lalu lintas perdagangan orang luar negeri masuk ke wilayah Indonesia (Supriyadi, 2003). Bayam memiliki nama lain sesuai daerahnya, senggang cucuk (Sunda), bayem eri (Jawa), ternyak lakek (Madura), bayem kerui (Lampung), prickly amaranth (Inggris) dan le xian cai (Cina) (Rachmadan, 2012).

#### 2.4.2. Morfologi dan Ekologi

Tanaman bayam di Indonesia dibagi menjadi 2 jenis, yaitu bayam liar dan bayam budidaya. 2 jenis bayam liar yang terkenal yaitu bayam tanah (*Amaranthus blitum*) dan bayam berduri (*Amaranthus spinosus*). Ciri utama bayam liar adalah batangnya berwarna merah dan daunnya kaku. Sedangkan untuk bayam budidaya dibedakan menjadi 2 macam, yaitu bayam cabut (*Amaranthus tricolor*) dan bayam tahun (*Amaranthus hybridus*) (Suriaji, 2009).



Gambar 2.6 Bunga, Daun dan Batang Bayam (Tenaglia, 2004)

(a) Bunga Bayam, (b) daun bayam, (c) batang bayam

Bayam merupakan tanaman perdu dengan tinggi kurang dari 1,5 meter. Sistem perakarannya menyebar pada kedalaman antara 20-40 cm, termasuk tanaman berbiji keping dua sehingga memiliki akar tunggang. Batang bayam mengandung air dan tumbuh tinggi diatas permukaan tanah. Untuk jenis *Amaranthus hybridus* memiliki cabang banyak dan dapat mengeras menjadi kayu. Percabangan akan melebar dan tumbuh tunas baru bila sering dilakukan pemangkasan (Fatimah, 2009).

Daun bayam umumnya berbentuk bulat dengan ujung agak meruncing serta memiliki urat-rat daun yang jelas. Warna daunnya bervariasi tergantung jenisnya. Dari berwarna merah, hijau muda, hijau tua, dan hijau keputih-putihan. *Amaranthus hybridus* memiliki daun berwarna hijau dengan dasar daun yang lebar. Bunga tanaman bayam tersusun tumbuh tegak, keluar dari ujung tanaman ataupun dari ketiak-ketiak daun. Bentuk bunga memanjang dengan perbungaan yang dapat berlangsung sepanjang musim atau tahun. Tanaman bayam memiliki sistem reproduksi generatif (melalui biji). Setiap tangkai bunga dapat menghasilkan ratusan hingga ribuan biji. Ukuran biji bayam sangat kecil, bentuknya bulat dan berwarna coklat tua mengkilat hingga hitam kelam (Fatimah, 2009).

Tanaman bayam dapat tumbuh dengan baik dengan kondisi iklim yang memadai, diantaranya:

- c. Keadaan angin yang tidak terlalu kencang, angin yang kencang dapat merusak tanaman.
- d. Daerah dataran tinggi dengan curah hujan tinggi (lebih dari 1.500mm/tahun).

- e. Daerah dengan cahaya sinar matahari yang cukup. Kebutuhan sinar matahari tanaman bayam cukup besar.
- f. Suhu udara yang sesuai berkisar antara 16-20°C
- g. Kelembapan udara yang cocok adalah antara 40-60%.

Kondisi tanah yang cocok untuk pertumbuhan tanaman bayam, diantaranya:

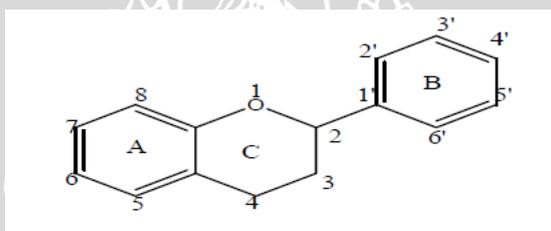
- Tanaman bayam membutuhkan tanah yang gembur, subur, dan terpenuhi unsur haranya untuk tumbuh dan berkembang.
- *PH* yang ideal adalah antara 6-7.
- Ketersediaan air harus terjaga. Tanaman bayam termasuk tumbuhan yang sensitif dengan keadaan air.
- Kemiringan lahan sekitar 15-45 derajat dengan ketinggian kurang lebih 2000 mdpl (Suraji, 2009).

Bayam merupakan jenis sayuran dengan berbagai manfaat untuk manusia. Masyarakat Indonesia pun sudah sejak lama memanfaatkan bayam sebagai sumber gizi dalam makanan dan sayuran. Daun bayam dapat dibuat berbagai jenis sayur mayur. Bahkan bayam dipromosikan sebagai makanan karena kandungan gizinya yang tinggi dan juga bermanfaat sebagai obat tradisional. Akar bayam dapat digunakan sebagai bahan obat disentri. Daun dan bunga bayam berkhasiat untuk mengobati asma dan eksim. Biji bayam digunakan sebagai pencampur penyeling terigu dalam pembuatan roti atau dibuat bubur biji bayam (Suraji, 2009).

### 2.4.3. Kandungan Kimia Daun Bayam

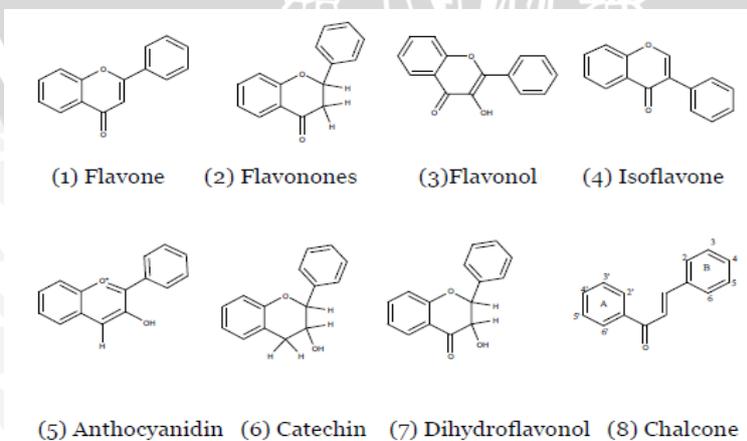
Senyawa utama yang terkandung dalam daun bayam adalah Flavonoid dan Antosianin (Akubugwo et al, 2007).

Flavonoid adalah Bioaktif poliphenol dengan berat molekul rendah yang memiliki peran yang vital bagi sel yang berfotosintesis. Flavonoid merupakan metabolit sekunder dengan karakteristik adanya nucleus flavan dan  $C_0C_8C_6$  Rantai karbon. Struktur dasar dari flavonoid adalah *nukleus 2-phenyl-benzo-γ-pyrane* yang terdiri dari dua cincin benzene (A dan B) terhubung melalui sebuah cincin *pyran* heterosiklik seperti gambar yang ditunjukkan dibawah ini.



Gambar 2.7 Struktur Flavonoid (Sandhar et al, 2011)

Flavonoid berbeda dalam susunan group *hydroxyl*, *methoxyl* dan *glycosidic* dan dalam ikatan antara cincin A dan B. Sebuah variasi pada cincin C membuat pembagian subclass. Berdasarkan struktur molekul, Flavonoid dapat dibagi menjadi delapan kelas.



Gambar 2.8 Jenis Flavonoid (Sandhar et al, 2011)

Dalam tumbuhan, Flavonoid ada dalam bentuk *O-glycosides* atau *C-Glycosides*. *O-Glycosides* memiliki Substitusi gula terikat pada  $-OH$  *aglycone*, biasanya pada posisi 3 atau 7, sebaliknya C-glukoside memiliki group gula terikat pada carbon *aglycone* biasanya 6-C atau 8-C (Sandhar *et al*, 2011).

Flavonoid terdistribusi luas pada kingdom tanaman. Flavonoid dapat ditemukan pada sayur-sayuran, buah-buahan, kacang, biji, batang, bunga teh, dll. Flavonoid memiliki aktivitas biologis berspektrum luas antara lain antioksidan, antiinflamasi, antiagregasi patelelet, antikanker, antialergi, antimikroba, dan antidiabetes (Sandhar *et al*, 2011). Flavonoid dapat diperoleh dengan cara melarutkan bagian tanaman (dalam penelitian ini daun bayam) dengan menggunakan ekstraksi metanol sebagai pelarut (Akubugwo *et al*, 2007).

Antosianin adalah pigmen yang memberi warna merah, ungu dan biru pada banyak buah, sayuran, kacang-kacangan dan bunga. Antosianin merupakan salah satu kelompok dari poliphenol dan memiliki struktur berdasarkan kation *2-phenylbenzopylium*. Antosianin yang ditemukan pada beberapa tumbuhan memiliki beberapa perbedaan. Perbedaan yang ada berkaitan dengan jumlah gugus hidroksil, jumlah dan sifat gula dan posisi ikatannya. Antosionin memiliki beberapa aktivitas dalam dunia kesehatan diantaranya antiinflamasi, kemopreventif kanker, antiobesitas dan vasoproteksi (Qin *et al*, 2011).

#### 2.4.4. Komponen Peningkat HDL Serum

Beberapa kandungan daun bayam yang memiliki potensi yang besar, antara lain:

Peningkatan kadar serum HDL oleh rutin disebabkan oleh aktivitasnya untuk meningkatkan kerja *Lecithin acyl transferase* (LCAT) (Girija *et al*, 2011).

LCAT adalah enzim yang bekerja mengkatalisir transfer residu asam lemak dari posisi sn-2 lecithin kolesterol untuk membentuk kolesterol ester dan *lysolecithin*. Selain itu rutin juga dapat menghambat aktivitas enzim enzim *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzim A reductase* (HMG CoA reduktase) (Kabiri *et al*, 2010). HMG koa reduktase adalah enzim kunci dalam sintesis kolesterol.

Antosianin bekerja pada *Cholesteryl ester transfer protein* (CETP) dalam tubuh. CETP berfungsi untuk mentransfer kolesterol ester dari HDL ke LDL dan TG. Antosianin menghambat kerja CETP yang akan meningkatkan kadar HDL serum (Barter *et al*, 2003).

## 2.5. Cara-cara Ekstraksi Bahan Alam

Ekstraksi adalah istilah farmakologi yang melibatkan pemisahan bagian yang aktif secara medis dari tumbuhan maupun jaringan hewan dari komponen yang inaktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai standar prosedur. Produk yang didapatkan dari tumbuhan relatif cairan murni, semisolid atau bubuk yang dimaksudkan hanya untuk oral atau penggunaan eksternal (ICS-UNIDO, 2008).

### 2.5.1. Metode Ekstraksi

#### a. Maserasi

Pada proses ini, keseluruhan atau bubuk yang masih mentah ditempatkan pada bejana tertutup bersama dengan pelarut pada suhu ruangan selama minimal 3 hari dengan pengadukan dan penggoncangan secara berkala sampai zat yang terlarut mengalami penguraian. Sisa hasil ekstraksi di campur dengan pelarut yang baru kemudian mengulang proses sebelumnya beberapa kali. Setelah itu, sisa paling akhir dari ekstraksi ditekan menggunakan tekanan mekanis

atau sentrifugasi untuk mengeluarkan zat terkahir yang masih dapat diambil (ICS-UNIDO, 2008).

b. Ekstraksi dengan ultrasound

Metode ini merupakan modifikasi dari metode maserasi dimana ekstraksi dibantu dengan penggunaan ultrasound. Bubuk yang akan diekstraksi dimasukan ke dalam vial dan diberikan gelombang ultrasound. Ultrasound dapat menginduksi stres mekanis pada sel dengan membuat rongga pada target. Kerusakan seluler meningkatkan kelarutan metabolit pada pelarut dan memberikan hasil yang lebih baik disbanding metode maserasi biasa (Mahdi *and* Altikriti, 2010).

c. Perkolasi

Material bubuk yang ada dicampurkan dengan pelarut pada mesin perkolator. Tambahan pelarut diberikan sampai meresap ke bagian bawah perkolator. Setelah itu biarkan zat yang ada terbawa oleh pelarut melewati penyaring yang ada pada perkolator (Mahdi *and* Altikriti, 2010).

d. Sokletasi

Material bubuk ditempatkan pada tudung selulosa dalam tempat ekstraksi yang ditempatkan diatas bejana pengumpul dibawah condenser refluks. Ketika pelarut yang telah mengalami kondensasi terakumulasi pada tudung dalam jumlah tertentu maka akan berpindah ke dalam bejana dibawahnya (Mahdi *and* Altikriti, 2010).

### 2.5.2. Pelarut

Pemilihan pelarut dalam prosedur ekstraksi menentukan keberhasilan penentuan aktivitas bioaktif dari material yang diteliti. Sifat pelarut yang ideal

diantaranya memiliki toksisitas yang rendah, mudah diuapkan dengan panas yang rendah, mengabsorpsi fisiologis cepat ekstraks, memili aktivitas menjaga zat aktif dalam ekstraksi, tidak menyebabkan ekstrak untuk mengadakan kompleksiasi maupun disosiasi dan tidak mengganggu *bioasay* (Das *et al*, 2009).

Studi-studi sebelumnya menemukan bahwa hasil ekstraksi dari senyawa *phenolic* dan flavonoid tergantung pada polaritas larutan (Turkmen *et al.*, 2006). Secara khusus, metanol telah secara luas diketahui lebih efisien untuk mengekstraksi *poliphenol* dengan berat molekul rendah disisi lain aceton merupakan pilihan terbaik untuk flavanol yang memilki berat molekul yang tinggi. Tetapi dari segi keamanan maupun toksisitas, etanol lebih dipilih sebagai pelarut dibanding bahan lainya (Dai *and* Mumper, 2010).

## 2.6. Diet Aterogenik

Diet aterogenik merupakan diet yang mengandung kolesterol tinggi (Norvahidah, 2009) yang dimaksudkan untuk membentuk kondisi hiperkolesterolemia dalam darah tikus sebagai suatu keadaan awal menuju pembentukan plak aterosklerosis (Murwani dkk, 2006). Diet ini diberikan setiap hari sebanyak 40 gram/hari/tikus dengan energi sebesar 146,82 kkal.

Pemberian diet aterogenik pada tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*) selama 8 minggu dapat meningkatkan kadar kolesterol darah yang dapat diidentifikasi dengan menghitung serum lipid profil tikus (Norvahidah, 2009) karena pada pakan tikus diet aterogenik diberikan penambah kolesterol, asam kolat, dan minyak babi. Asam kolat yang terdapat pada diet aterogenik berfungsi untuk meningkatkan kadar LDL plasma dan menurunkan kadar HDL, sedangkan

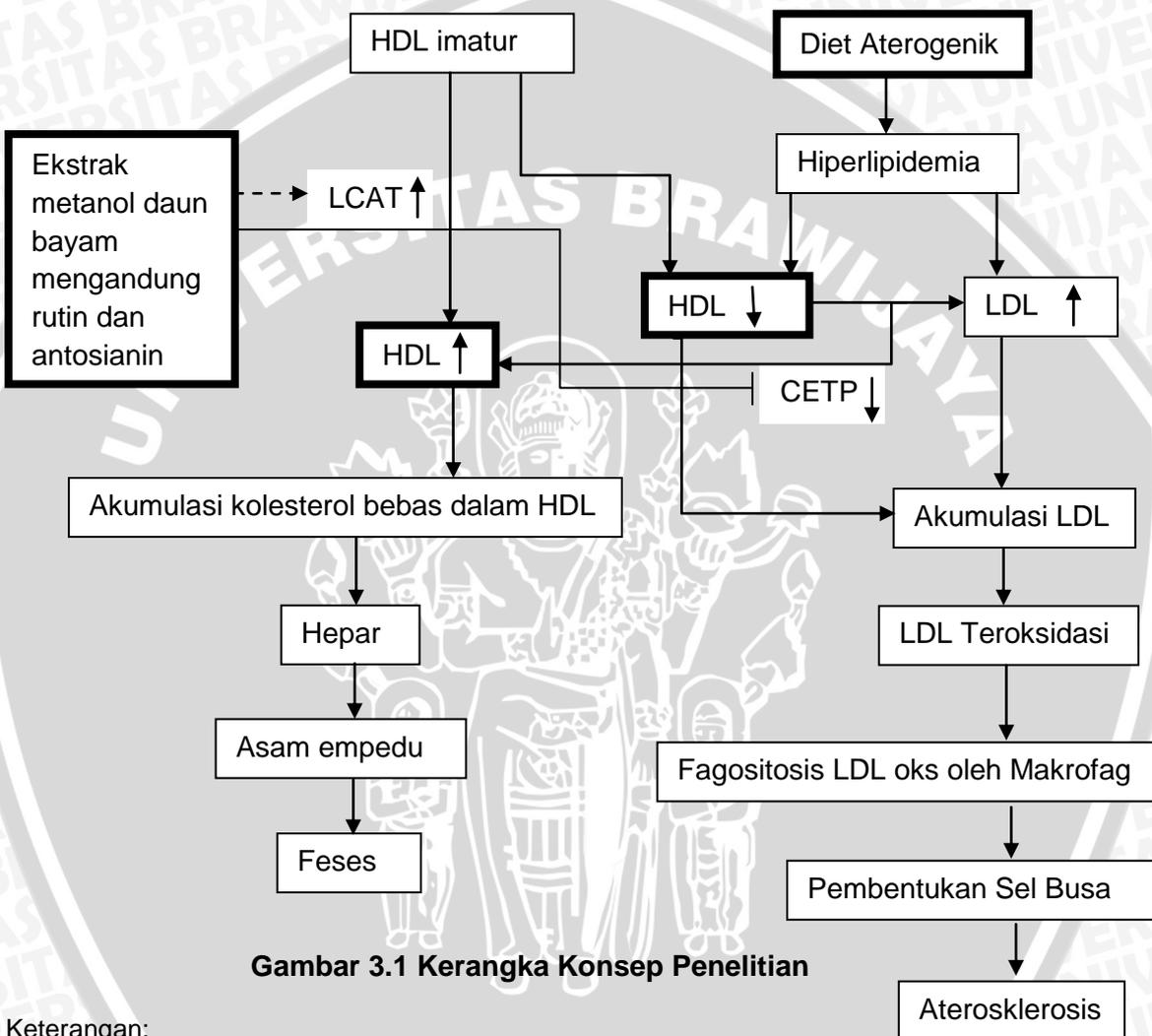
minyak babi, mempunyai kandungan kolesterol lebih tinggi dibandingkan dengan minyak hewani lainnya (Murwani dkk, 2006).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:

- = Varibel yang diteliti
- = Variable yang tidak diteliti
- = Proses/ efek
- = Meningkatkan
- ⊥ = Menghambat

Diet Aterogenik adalah diet dengan kadar kolesterol yang tinggi. Asupan diet aterogenik dalam jangka waktu kurang lebih 8 minggu dapat meningkatkan kadar lipid dalam darah yang dikenal dengan istilah hiperlipidemia. Kondisi hiperlipidemia memiliki karakteristik peningkatan kadar LDL dan penurunan kadar HDL dalam darah. LDL yang banyak dalam darah akan terakumulasi dalam tunika intima pembuluh darah setelah terjadi proses disfungsi endotel terlebih dahulu. Setelah itu, terjadi proses oksidasi LDL oleh radikal bebas yang diteruskan dengan fagositosis oleh makrofag yang ada pada tunika intima untuk membentuk sel busa. Akumulasi sel busa menyebabkan semakin meluasnya lesi membentuk Aterosklerosis. Pada diet normal, tidak terjadi peningkatan kadar lipid darah yang disebabkan rendahnya kandungan lemak. LDL tidak terakumulasi dalam tunika intima yang menyebabkan plak aterosklerosis tidak terbentuk.

HDL merupakan salah satu komponen penting untuk mengendalikan LDL dalam tubuh. Peningkatan HDL dapat menurunkan jumlah LDL yang ada dalam tubuh. Hal ini menyebabkan tidak adanya akumulasi LDL dalam pembuluh darah dan mencegah terjadinya aterosklerosis. Akumulasi kolesterol yang didapat HDL dari jaringan akan dibawa menuju hepat untuk dimetabolisme menjadi asam empedu dan deksresikan kedalam intestine bersama feses. Ekstrak metanol daun bayam memiliki kandungan rutin dan antosianin yang dapat meningkatkan HDL dalam tubuh.

Rutin dapat meningkatkan kadar serum HDL dengan meningkatkan aktivitas enzim *Lecithin acyl transferase* (LCAT) (Girija and Lakshman, 2011). LCAT adalah enzim yang berperan penting membalikan transport kolesterol. Enzim ini berikatan dengan *High density lipoprotein* (HDL-kolesterol) untuk

mengkatalisasi transfer residu asam lemak dari posisi sn-2 *Lecithin* kolesterol untuk membentuk kolesterol ester dan *lysolecithin*. Dengan demikian, peningkatan aktivitas enzim LCAT akan meningkatkan serum HDL (Emokpae *et al*, 2005).

Antosianin adalah pigmen terbesar dalam kingdom tanaman yang termasuk kedalam kategori *phytochemical*. Mekanisme antosianin dalam meningkatkan kadar serum HDL adalah dengan mempengaruhi aktivitas *Cholesteryl ester transfer protein* (CETP) (Qin *et al*, 2009). CETP adalah glikoprotein *hydrophobic* yang disekresikan oleh liver dan bersirkulasi dalam plasma. CETP berfungsi untuk mentransfer *cholesteryl ester* dari HDL ke LDL dan TG. Selain meningkatkan kadar LDL, CETP juga menambah aterogenitas LDL dengan membentuk *Small dense LDL* (Barter *et al*, 2003).

### 3.2 Hipotesis Penelitian

- 3.2.1 Kadar HDL pada tikus yang diberi diet aterogenik berbeda dengan tikus yang diberi diet normal.
- 3.2.2 Pada tikus yang diberi diet aterogenik semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun bayam maka akan semakin tinggi kadar serum HDL.

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental *posttest only control group design*. Subyek diambil secara random ke dalam kelompok-kelompok yang diekspos sebagai variable independen dan diberi posttest. Nilai-nilai posttes kemudian dibandingkan untuk menentukan efektivitas perlakuan. Objek penelitian (*Rattus Novergicus strain wistar*) berjenis kelamin jantan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Tiap kelompok perlakuan terdiri dari 6 ekor tikus.

#### 4.2 Sampel Penelitian

Pada penelitian ini digunakan hewan coba tikus wistar (*Rattus norvegicus*). Sampel yang dipakai adalah tikus wistar jantan yang berumur 5-6 minggu dengan berat badan 100-110 gram dalam kondisi sehat yang ditandai dengan gerakan yang aktif.

#### 4.3 Estimasi Besar Sampel

Dasar jumlah hewan coba untuk masing-masing perlakuan dapat dicari dengan rumus (David *and* Arkeman, 2008), yaitu:

$$[(np-1) - (p-1)] \geq 16$$

Keterangan : n: Jumlah pengulangan tiap perlakuan

p: Jumlah perlakuan

Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan (p), yaitu 1 kontrol positif, dan 3 kelompok perlakuan (dosis 20 mg/100gBB, 40mg/100gBB, dan 60mg/100gBB) sehingga didapatkan besar sampel

$$[(np-1) - (p-1)] \geq 16$$

$$[(4n-1) - (4-1)] \geq 16$$

$$(4n-1) - 3 \geq 16$$

$$(4n-1) \geq 19$$

$$4n \geq 20$$

$$n \geq 5$$

Jadi jumlah pengulangan tiap-tiap kelompok perlakuan pada penelitian ini adalah lebih dari atau sama dengan 5. Sebagai cadangan, 1 ekor tikus ditambahkan pada setiap kelompok perlakuan untuk mengantisipasi kemungkinan yang tidak diinginkan seperti kematian, kegagalan pengambilan sampel dan lain-lain. Jadi untuk 5 kelompok perlakuan dibutuhkan sebanyak 30 ekor tikus.

#### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April – juni 2012 di 2 tempat sebagai berikut:

- Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sebagai tempat pemeliharaan tikus dan pemberian perlakuan,
- Laboratorium Biokimia-Biomol Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sebagai tempat penyimpanan serum darah dan pengukuran kadar HDL serum.

## 4.5 Variabel Penelitian

### 4.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak metanol daun bayam dengan dosis 20 mg/100gBB, 40 mg/100gBB dan 60 mg/100gBB.

### 4.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar HDL serum tikus

### 4.5.3. Variabel Kendali

Variabel Kendali adalah variabel yang dapat dikendalikan oleh peneliti agar objek penelitian selalu terkendali dan dalam keadaan homogen. Variabel kendali dalam penelitian ini, yaitu : jenis tikus , umur tikus (5-6 minggu), jenis kelamin tikus (Jantan), berat badan awal (100-110), kondisi kesehatan, pemberian diet aterogenik (40 mg), kondisi lingkungan kandang dan pemberian ekstrak bayam dengan sonde (20 mg/100gBB, 40 mg/100gBB, 60 mg/100gBB).

## 4.6 Definisi Operasional

- Bayam yang digunakan adalah *Amaranthus hybridus L.* Bayam diperoleh dari pasar lokal sekitar kampus Universitas Brawijaya. Identifikasi spesies dilakukan oleh peneliti dengan membandingkan bagian-bagian bayam yang tersedia di pasar (daun, cabang tunas dan warnanya) dengan studi literatur yang digunakan sebagai sumber referensi. Bagian yang diambil adalah daun yang masih segar kemudian diekstrak menggunakan metode maserasi.

- Bahan pelarut ekstrak yang digunakan adalah metanol 96% yang diperoleh dari lab. Farmakologi FKUB.
- Perlakuan (intervensi) adalah pemberian ekstrak metanol daun bayam dengan dosis 20 mg/100g BB, 40 mg/100g BB dan 60 mg/100g BB secara peroral dengan sonde lambung. Pemilihan dosis tersebut berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan dengan menggunakan ekstrak metanol daun bayam dalam menghambat derajat inflamasi pada tikus.
- Pakan normal yang diberikan terdiri dari comfeed PARS 53% (dengan kandungan air 12 %, protein 11 %, lemak 4 %, serat 7 %, abu 8 %, Ca 1,1 %, fosfor 0,9 %, antibiotika, coccidiostat 53 %) dan tepung terigu 23,5 %, dan air 23,5 %.
- Diet atherogenik memiliki kandungan berupa pakan ayam/PARS 20 gram (50%), tepung terigu 10 gram (25%), kuning telur bebek 2 gram (5%), lemak kambing 4 gram (10%), minyak kelapa 0,4 gram (1%), minyak babi 3,55 gram (8,9%), asam kolat 0,05 gram (0,1%).
- Metode yang digunakan untuk mengukur kadar HDL serum adalah metode enzimatik dengan spektrofotometri. Pengukuran ini dilaksanakan di lab. Biokimia-biomol FKUB

## 4.7 Alat dan Bahan

### 4.7.1 Alat

Tabel 4.1 Daftar Alat

Keperluan	Alat Yang Diperlukan
Alat pemeliharaan hewan coba	Kandang dari kotak plastik, tutup kandang dari anyaman kawat, botol air, rak tempat meletakkan kandang
Alat pembuat ransum makanan binatang coba	Baskom plastik, timbangan, sarung tangan, gelas ukur
Alat pembedahan tikus	Pisau bedah, papan bedah, pinset, Potter- <i>Homogenizer</i> , tempat organ
Alat pembuatan ekstrak buah bayam	Neraca analitik, beaker glass 500mL, pisau botol 1 L, oven, blender, seperangkat evaporator vakum, alat pemanas air, labu penampun hasil ekstraksi, <i>rotary</i> evaporator, tabung pendingin, pompa vakum, tabung penampung metanol.
Alat pengenceran ekstrak bayam	Gelas ukur 100 ml, cawan porselin, pengaduk porselin, timbangan analitik
Alat pemberian ekstrak daun bayam kepada binatang coba	Sonde lambung
Alat pemeriksaan serum	Spuit 5 ml, falkon 15 ml, tabung apendof, kuffet, yellow tip, blue tip, rak tabung, tabung reaksi, spektrofotometer, mikropipet 1000 mikroliter, mikropipet 10 mikroliter

### 4.7.2 Bahan

#### 4.7.2.1 Bahan Makanan Tikus

Pakan tikus dewasa per ekor per hari adalah 40 gram. Dalam penelitian ini terdapat dua macam pakan tikus yaitu diet aterogenik dan diet normal.

Adapun komposisi pakan normal dan aterogenik akan dijelaskan sebagai berikut:

- Pakan normal yang terdiri dari comfeed PARS dan tepung terigu perbandingan 2 : 1 dengan ditambahkan air secukupnya. Diet normal diberikan 40 gram setiap hari per tikus. Kandungan gizi diet normal dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

- Diet aterogenik diberikan 40 gram setiap hari per tikus. Komposisi bahan diet aterogenik dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

**Tabel 4.2 Komposisi Bahan Diet Aterogenik persaji (40 gram)**

Bahan	Persentase (%)	Berat (Gram)
Comfeed PARS	50	20 gram
Tepung terigu	25	10 gram
Kuning telur bebek	5	2 gram
Lemak kambing	10	4 gram
Minyak kelapa	1	0.4 gram
Minyak babi	8.9	3.55 gram
Asam kolat	0.1	0.05 gram
<b>TOTAL</b>	100	40 gram

#### 4.7.2.2. Bahan Ekstrak Metanol Daun Bayam

Bahan untuk ekstraksi adalah bayam (*Amaranthus hybridus L*), pelarut metanol, natrium bikarbonat, aquades,

- Bahan Pembedahan Tikus : Formalin
- Bahan Pemeriksaan HDL : Serum tikus,

#### 4.8 Posedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi persiapan hewan coba/aklimatisasi, pembuatan ekstrak bayam, pengenceran ekstrak bayam, induksi aterosklerosis, penimbangan berat tikus dan pakan, pembedahan tikus, penghitungan kadar HDL serum tikus, dan pengolahan data.

##### 4.8.1 Persiapan Hewan Coba/ Aklimatisasi

Dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, anyaman kawat, sekam, botol minum, alat semprot, tempat makan, pakan *comfeed*, alcohol 70%, hewan uji tikus galur strain wistar,

dan seleksi tikus (usia, berat badan, jenis kelamin, kesehatan). Tikus diadaptasikan di dalam laboratorium farmakologi selama tujuh hari dan dibagi enam kelompok. Selama adaptasi, tikus diberi pakan standar (normal) yang terdiri dari comfeed PARS, tepung terigu, dan air.

#### **4.8.2. Pembuatan Ekstrak Bayam**

##### **4.8.2.1. Persiapan Sampel Daun Bayam**

- a. Daun bayam dalam kondisi baik dan segar dicuci dengan air untuk menghilangkan debu, tanah atau kotoran yang melekat.
- b. Daun bayam yang telah dibersihkan kemudian dirajang tipis-tipis.
- c. Daun bayam yang sudah dirajang dikeringkan dengan diberi angin yang cukup.

##### **4.8.2.2 Pembuatan Sediaan Ekstrak daun bayam**

Proses Ekstraksi:

- a. Sampel daun bayam yang telah dikeringkan ditimbang (200 g).
- b. Sampel kering tersebut dimasukkan kedalam gelas erlenmayer ukuran 1 liter.
- c. Kemudian direndam dengan metanol 96% hingga volumenya 900-1000 ml.
- d. Dikocok hingga benar-benar tercampur ( $\pm$  30 menit)
- e. Didiamkan selama 1 malam sampai mengendap.
- f. Proses ekstraksi ini dilakukan sampai hasil ekstraksi jernih.  
Kemudian hasil ekstraksi siap untuk dievaporasi.

Proses evaporasi:

- a. Diambil lapisan atas campuran metanol dengan zat aktif daun bayam yang sudah terlarut, lalu dimasukkan ke dalam labu evaporasi 1 liter.
- b. Labu Evaporasi dipasang pada Evaporator
- c. *Water bath* diisi dengan air sampai penuh.
- d. Semua rangkaian alat dipasangkan, termasuk rotary evaporator, pemanas *water bath* (diatur sampai suhu 64.7°C sesuai dengan titik didih metanol), lalu disambungkan dengan aliran listrik.
- e. Larutan metanol dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu.
- f. Ditunggu sampai aliran metanol berhenti menetes pada labu penampung
- g. Hasil yang diperoleh adalah ekstrak murni daun bayam berupa pasta sebanyak  $\pm 20$  cc.

#### 4.8.3. Pengenceran Ekstrak Daun bayam

Perhitungan ekstrak bayam berdasarkan pada dosis perlakuan dan rata-rata berat badan tikus setiap perlakuan. Setelah menghitung jumlah ekstrak yang dibutuhkan setiap dosis, kemudian mencairkannya dengan sedikit aquades ditambah natrium bikarbonat. Setiap pencairan dosis membutuhkan 60 ml aquades dengan asumsi setiap tikus mendapatkan 2 ml/ hari untuk 5 hari Hasil ekstrak dituangkan ke botol penampung ekstrak. Hasil pencairan ditempatkan di lemari pendingin.

#### 4.8.4. Perlakuan

Tikus dikelompokkan dalam 5 kelompok secara acak dan diberi perlakuan sesuai kelompoknya selama 52 hari. Pembagian kelompok perlakuan adalah sebagai berikut.

- Kelompok kontrol negatif (P0), dimana tikus hanya mendapatkan ransum standar peroral tanpa ekstrak daun bayam.
- Kelompok kontrol positif (P1), dimana tikus mendapat diet aterogenik peroral tanpa ekstrak metanol daun bayam.
- Kelompok perlakuan 1 (P2), dimana tikus mendapatkan diet aterogenik peroral dan ekstrak metanol daun bayam 20 mg/100gBB yang diberikan secara sonde.
- Kelompok perlakuan 2 (P3), dimana tikus mendapatkan diet aterogenik peroral dan ekstrak metanol daun bayam 40 mg/100gBB yang diberikan secara sonde.
- Kelompok perlakuan 3 (P4), dimana tikus mendapatkan diet aterogenik peroral dan ekstrak metanol daun bayam 60 mg/100gBB yang diberikan secara sonde.

#### 4.8.5. Pemeriksaan kadar HDL Serum

Kadar HDL serum sampel diukur setelah 52 hari perlakuan. Serum darah sampel darah diperiksa menggunakan spektrofotometri colometric. Dimana hewan coba dibius dengan eter hingga mati/pingsan, kemudian dibedah dan diambil darahnya dari jantung bagian ventrikel. Prosedur perhitungan kadar serum HDL menggunakan metode *precipitation of LDL, VLDL and chylomicrons*, cara kerjanya sebagai berikut:

a. Presipitasi

Presipitasi untuk pemeriksaan ini menggunakan teknik *semi micro* assays, dengan cara sebagai berikut:

- Persipan sampel serum 200  $\mu$ l dengan *HDL reagen diluted* 500  $\mu$ l dicampurkan dan diinkubasikan selama 10 menit pada suhu kamar.
- Kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm.
- Memisahkan supernatan yang bening dan presipitan, ambil 100  $\mu$ l supernatan dimasukkan kedalam kuvet.
- Tambahkan reagen kolesterol ke dalam kuvet sebanyak 1 ml dan diinkubasikan dalam waktu 20 menit pada suhu kamar.
- Operasikan alat spektrofotometri
- Persiapkan blanko yang berisi aquades 50  $\mu$ l dan standar 50  $\mu$ l ke dalam kuvet.
- Atur gelombang pada spektrofotometri dengan panjang gelombang  $\lambda = 500$  nm.
- Bersihkan kuvet blanko dengan tisu lalu Masukkan ke dalam alat spektrofotometri dan pencet tombol standar.
- Bersihkan kuvet sampel dengan tisu dan masukan ke dalam alat spektrofotometri.
- Lihat angka pada alat dan catat
- Lakukan pengulangan sampai semua sampel dan standar terhitung.

Hasil yang ada dihitung dengan menggunakan rumus:

$$C = \frac{A \text{ sampel}}{A \text{ standar}} \times C \text{ standar (200 mg/dl)}$$

Keterangan :

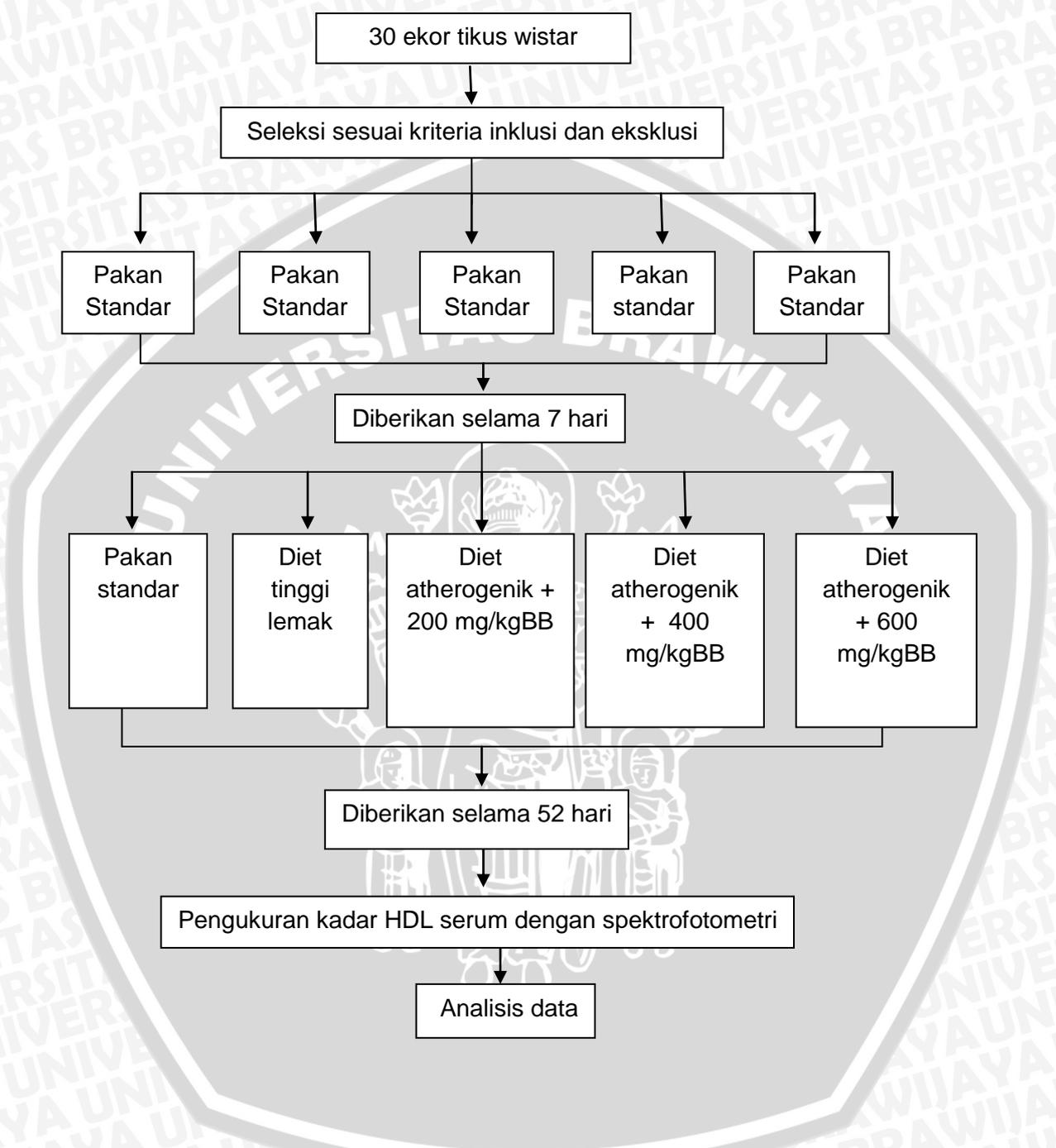
C = kadar kolesterol HDL (mg/dl)

A= serapan

(Kumala dan Orbayinah, 2012)

#### 4.9. Pengumpulan Data

- BB tikus ditimbang setiap seminggu sekali.
- Jumlah asupan makanan tiap tikus setiap harinya diperoleh dengan penimbangan berat makanan sebelum dan sesudah pemberian, 1 kali sehari selama penelitian.
- Rerata asupan makanan diperoleh melalui pembagian jumlah keseluruhan asupan dengan jumlah tikus coba untuk masing-masing kelompok perlakuan dan ditabulasikan dalam bentuk table
- Rerata kadar HDL serum diperoleh melalui pembagian jumlah keseluruhan kadar HDL dengan jumlah tikus coba untuk masing-masing kelompok perlakuan dan ditabulasikan ke dalam bentuk tabel.



Gambar 4.1 Diagram Alur Penelitian

#### 4.10. Analisis Data

Analistik statistik dengan *One Way ANOVA* dan korelasi regresi menggunakan SPSS 16.0. *One way ANOVA* digunakan untuk menguji apakah ada perbedaan pengaruh pada kelompok sampel yang diberikan perlakuan berupa diet normal, diet aterogenik dengan pemberian ekstrak daun bayam dosis I, II dan III. Sedangkan uji korelasi regresi digunakan untuk mengetahui besarnya pengaruh dan arah hubungan pemberian konsentrasi ekstrak metanol daun bayam dengan kadar HDL serum. Uji yang dilakukan pertama kali adalah melihat homogenitas data dengan uji homogenitas varian dan tingkat sebaran data dengan uji normalitas menggunakan program SPSS 16.0. Analisis dilakukan pada *confidence level* 95% ( $\alpha=0,05$ ). Apabila diperoleh  $p>0,05$  artinya tidak ada perbedaan yang signifikan sebaliknya bila  $p<0,05$  menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari perlakuan yang diberikan. Uji statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95% dengan  $\alpha = 0,05$ . Hasil uji statistik dinyatakan bermakna bila  $p < 0,05$ .

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Gambaran Ekstrak Bayam

Daun bayam dengan berat 2 kg dikeringkan sampai kandungan airnya menguap menjadi 200 gram. Ekstraksi dilakukan dua kali dibagi menjadi 100 gram daun bayam kering setiap kali ekstraksi. Hasil keseluruhan ekstrak adalah 20 cc pasta *crude extract* berwarna hijau tua kehitaman dengan asumsi konsentrasi bahan aktif 100 %. Daun bayam dalam bentuk pasta akan diencerkan sesuai dengan berat badan rerata tikus tiap kelompok, sehingga dosis yang diinginkan dapat tercapai.

#### 5.2 Karakteristik Hewan Coba

Pemilihan hewan coba pada penelitian ini adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin jantan, berumur 5-6 minggu dengan rerata berat badan 100-110 gram dan dalam kondisi yang sehat ditandai dengan dapat bergerak dengan aktif. Tikus dibagi dalam lima kelompok perlakuan dengan jumlah 6 ekor tiap perlakuan. Sehingga total jumlah tikus yang digunakan adalah 30 ekor.

Selama penelitian ini, beberapa tikus mengalami kematian dengan jumlah total 3 ekor. 2 ekor tikus pada kelompok perlakuan 2 (P3) diduga akibat aspirasi setelah penyondean. Sedangkan sisanya pada kelompok perlakuan 1 (P2) akibat sakit. Berdasarkan hal tersebut, maka data yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 4 data tiap kelompoknya.

### 5.3 Asupan Pakan

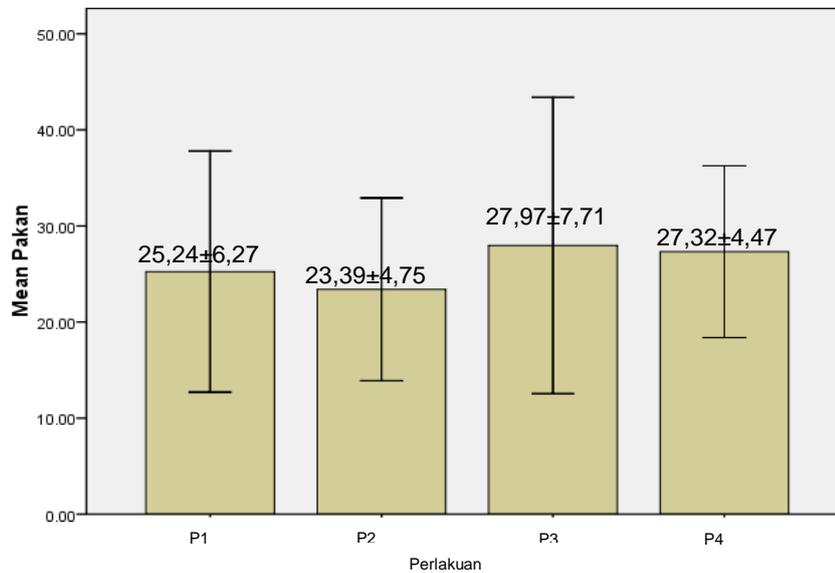
Asupan pakan tikus selama penelitian diketahui dari selisih antara jumlah pakan yang telah diberikan dengan sisa pakan. Diet normal maupun diet aterogenik diberikan sebesar 40 gram/hari. Rerata asupan pakan tiap perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.1.

**Tabel 5.1 Rerata Asupan Pakan Diet Aterogenik Tiap Perlakuan (gram)**

Pengulangan	Perlakuan			
	P1	P2	P3	P4
1	30,09	29,72	20,12	29,86
2	31,21	20,35	31,77	24,98
3	20,33	24,33	23,14	22,33
4	19,35	19,19	36,86	32,12
Rerata $\pm$ SD	25,24 $\pm$ 6,27	23,39 $\pm$ 4,75	27,97 $\pm$ 7,71	27,32 $\pm$ 4,47

Keterangan : P1 : diet aterogenik, P2 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 20 mg/100gBB, P3 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 40 mg/100gBB, P4 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 60 mg/100gBB.

Hasil rerata asupan pakan dan presentase konsumsi pakan yang diberikan pada setiap perlakuan dalam sehari menunjukkan nilai tertinggi pada kelompok P3 (diet aterogenik + ekstrak bayam 40 mg/100gBB) yaitu 27,97 $\pm$ 7,71 g/hari atau 69,93% dari pakan yang diberikan, sedikit berbeda dengan P4 (diet aterogenik + ekstrak bayam 60 mg/100gBB) yaitu 27,32 $\pm$ 4,47 g/hari. Asupan pakan terendah terjadi pada kelompok P2 (diet aterogenik + ekstrak bayam 20 mg/100gBB) yaitu 23,39 $\pm$ 4,75 g/hari atau 58,49% dari pakan yang diberikan. Sedangkan asupan P1 (diet aterogenik) berada diantara kelompok lainnya dengan 25,24 $\pm$ 6,27 g/hari.



**Gambar 5.1 Rerata Asupan Pakan Diet Aterogenik Tikus (gram)**

Keterangan : P1 : diet aterogenik, P2 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 20 mg/100gBB, P3 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 40 mg/100gBB, P4 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 60 mg/100gBB.

Uji Homogenitas dan normalitas masing-masing menunjukkan  $p > 0,05$  yang berarti data homogen dan distribusi normal. Analisis statistik *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pada rerata asupan pakan empat kelompok perlakuan ( $p = 0.696$ ). Sehingga dapat diasumsikan semua kelompok yang diberikan diet aterogenik memiliki asupan pakan yang sama.

#### 5.4 Kadar HDL Tikus

Sampel tikus yang ada pada penelitian ini tersisa empat ekor tiap perlakuan. Hal ini disebabkan selama dalam penelitian beberapa tikus mati sebelum dilakukan pengambilan darah. Berdasarkan penelitian mengenai

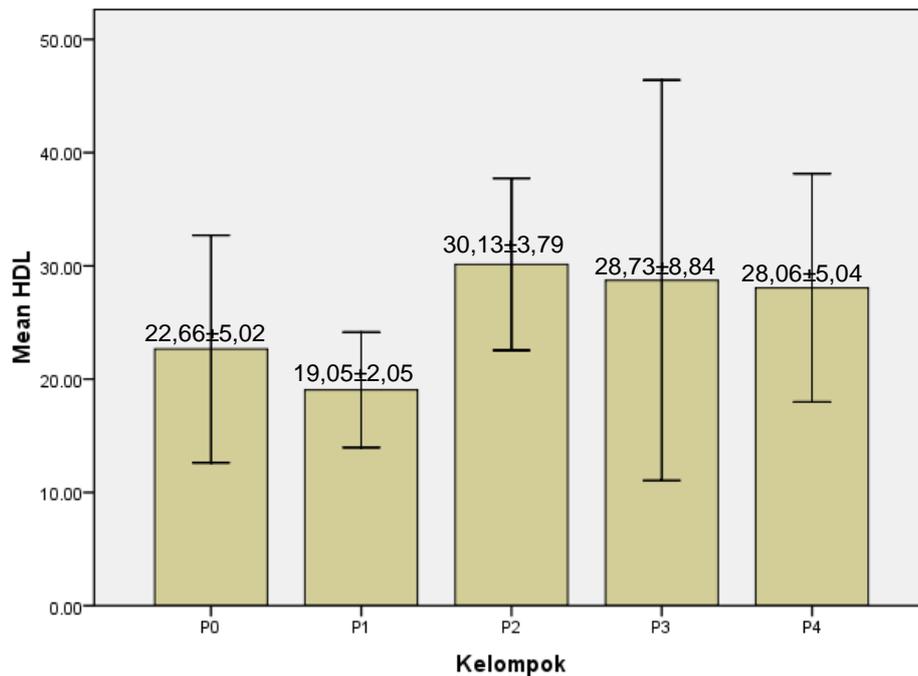
pengaruh pemberian ekstrak metanol daun bayam terhadap kadar HDL pada tikus yang diberi diet aterogenik selama 52 hari, didapatkan nilai kadar HDL yang telah dihitung dalam spektrofotometri seperti ditampilkan pada Tabel 5.2.

**Tabel 5.2 Hasil Perhitungan Kadar HDL Tikus (mg/dl)**

Pengulangan	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	21.62	15.39	30.99	37.71	22.11
2	25.96	21.32	27.44	16.98	26.26
3	15.99	19.74	35.14	27.64	30.01
4	27.05	19.74	26.95	32.58	33.86
Rerata $\pm$ SD	22.66 $\pm$ 5.02	19.05 $\pm$ 2.55	30.13 $\pm$ 3.79	28.73 $\pm$ 8.84	28.06 $\pm$ 5.04

**Keterangan:** P0 : diet normal, P1 : diet aterogenik, P2 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 20 mg/100gBB, P3 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 40 mg/100gBB, P4 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 60 mg/100gBB.

Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa pada kelompok tikus dengan pemberian diet normal (P0) memiliki rerata kadar HDL yaitu 22,66 mg/dl. Hal ini sesuai dengan kontrol normal pada kadar HDL penelitian lain (Harini dan Astirin, 2009). Pada pemberian diet aterogenik (P1) rerata kadar HDL tikus yaitu 19,05 mg/dl yang merupakan nilai rerata terendah dari semua kelompok perlakuan. Sebaliknya, pada pemberian diet aterogenik dan ekstrak metanol daun bayam 20 mg/100gBB didapatkan nilai rerata kadar HDL yaitu 30,13 mg/dl yang merupakan nilai tertinggi diantara kelompok perlakuan. Pada P3 (kelompok dengan pemberian diet aterogenik dan ekstrak metanol daun bayam 40 mg/100gBB) dan P4 (kelompok dengan pemberian diet aterogenik dan ekstrak metanol daun bayam 60 mg/100gBB) berturut-turut yaitu 28,73 mg/dl dan 28,06 mg/dl.

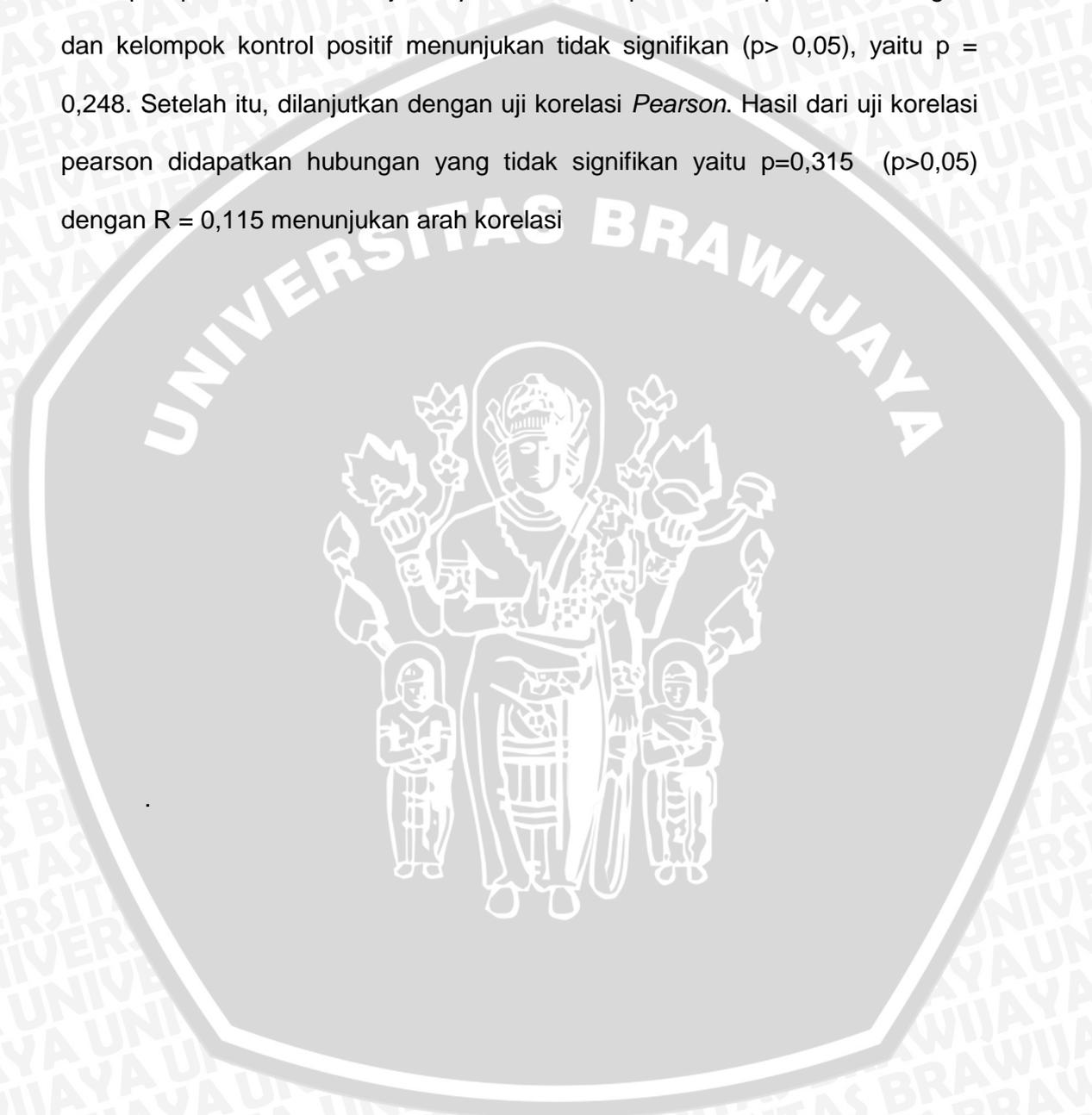


**Gambar 5.2 Rerata Kadar HDL Serum Tikus Setelah Diberi Diet Aterogenik dan Ekstrak Metanol Daun Bayam (mg/dl)**

**Keterangan:** P0 : diet normal, P1 : diet aterogenik, P2 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 20 mg/100gBB, P3 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 40 mg/100gBB, P4 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 600 mg/100gBB.

Data hasil pemeriksaan kadar HDL dianalisis menggunakan program *SPSS 16 for windows*. Uji statistik komparasi yang digunakan adalah *One Way ANOVA*, *Independent t-test* dan uji korelasi *pearson*. Sebelum menganalisis data hasil penelitian HDL menggunakan *One Way Anova*, harus dilakukan *Test Homogeneity of Variance* terlebih dahulu. Dari hasil *Test Homogeneity of Variances* didapatkan bahwa nilai kadar HDL tikus dalam keadaan homogen dengan nilai signifikan  $p > 0,05$  ( $p = 0,260$ ), begitu pula dengan tes normalitas *Saphiro-wilk* memiliki  $p > 0,05$  yang berarti persebaran data normal, sehingga memenuhi asumsi untuk dilakukan uji statistik *One Way ANOVA*.

Hasil uji statistik *One Way Anova* didapatkan hasil yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ), yaitu  $p = 0,056$  menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan antar kelompok perlakuan. Hasil uji *independent t-test* pada kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif menunjukkan tidak signifikan ( $p > 0,05$ ), yaitu  $p = 0,248$ . Setelah itu, dilanjutkan dengan uji korelasi *Pearson*. Hasil dari uji korelasi *pearson* didapatkan hubungan yang tidak signifikan yaitu  $p = 0,315$  ( $p > 0,05$ ) dengan  $R = 0,115$  menunjukkan arah korelasi



## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Hewan Coba

Hewan coba yang dipilih sebagai sampel dalam penelitian harus sesuai dengan kriteri inklusi setepat mungkin untuk memperkecil kemungkinan terjadinya bias pada hasil penelitian. Setiap sampel penelitian adalah tikus-tikus yang memiliki kesempatan yang sama untuk terpilih atau untuk tidak terpilih sebagai sampel (Sastroasmoro, 1995).

Rerata umur dan berat badan hewan coba tergolong homogen. Secara keseluruhan umur tikus yang digunakan sebagai sampel adalah dalam rentang 5-6 minggu. Sedangkan berat badan awal diukur homogenitasnya menggunakan *Test of Homogeneity of Variances* dengan hasil  $p = 0,250$  yang tergolong homogen ( $p > 0,05$ ). Adanya pengkondisian tersebut diharapkan dapat memperkecil kesempatan terjadinya bias pada hasil penelitian. Sehingga hanya perlakuan (diet normal, diet aterogenik dan ekstrak metanol daun bayam) yang diberikan pada saat penelitian dalam jangka waktu tertentu yang dapat mempengaruhi perubahan yang terjadi pada hewan coba.

#### 6.2 Asupan Pakan Tikus

Pada perhitungan analisis *intake* pakan tikus diet aterogenik dengan menggunakan analisis *One Way Anova* didapatkan hasil yang tidak signifikan ( $P > 0,05$ ), hal ini berarti semua kelompok tikus yang diberi diet aterogenik tidak berbeda secara signifikan. Sehingga untuk perlakuan diet aterogenik, semua perlakuan mendapatkan *intake* yang tidak jauh berbeda. Menurut Ali, dkk (2006)

Pemberian diet atherogenik selama 56 hari dapat membuat tikus mengalami hiperlipidemia dan menjadi aterosklerosis. Pada penelitian ini, walaupun terdapat selisih 4 hari tetapi masih dapat memberikan efek dalam membuat kondisi Aterosklerosis pada tikus.

### 6.3 Pengaruh Ekstrak Bayam Terhadap Kadar HDL Tikus

Hiperkolesterolemia memiliki salah satu ciri adanya penurunan kadar HDL dalam serum. HDL merupakan lipoprotein yang berperan membawa kolesterol dan Fosfolipid dari jaringan tubuh menuju hepar. Kolesterol yang berikatan dengan apoA-I dan apoA-II diubah menjadi kolesterol ester oleh enzim *Lecithin Cholesterol Acyltransferase* (LCAT). Setelah mengalami proses esterifikasi, kolesterol ester akan dibawa menuju hepar untuk dimetabolisme lebih lanjut. Proses pengembalian kolesterol dari jaringan perifer menuju hepar disebut *Cholesterol Reverse Transport* (Fauci *et al*, 2008). Peran vital lipoprotein ini dalam menjaga homeostatis tubuh, membuat HDL menjadi salah satu fokus utama dalam terapi hiperkolesterolemia. Peningkatan kadar kolesterol HDL dapat dilakukan dengan meningkatkan sintesis dalam tubuh. Beberapa zat dapat meningkatkan sintesis HDL melalui peningkatan enzim maupun prekursor bahan awal. Keduanya dapat mempengaruhi sintesis kolesterol HDL secara signifikan. Ekstrak metanol bayam memiliki kandungan flavonoid berupa rutin dan antosianin yang diharapkan mampu menjadi alternatif terapi tradisional pada penderita hiperlipidemia dengan parameter kadar HDL.

Hasil penelitian dianalisis menggunakan uji *One-Way Anova* menunjukkan bahwa kadar HDL pada semua kelompok perlakuan tidak ada perbedaan yang signifikan ( $p=0,056$ ). Meskipun begitu, hal berbeda ditunjukkan pada grafik rata-

rata kadar HDL (Gambar 5.2) dimana perbedaan terlihat jelas antara kelompok diet normal (P0), diet aterogenik (P1) dan variasi dosis ekstrak bayam (P1, P2, P3). Peningkatan terjadi pada pemberian variasi dosis melebihi kelompok diet normal maupun diet aterogenik saja.

Hasil analisis *Independent t-test* antara kelompok kontrol negatif dan kontrol positif menunjukkan hasil yang tidak signifikan  $p = 0,248$  ( $p > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian diet aterogenik pada tikus tidak memberikan efek yang diinginkan. Penyebabnya adalah asupan diet aterogenik yang tidak mencapai asupan minimal yang diperlukan tikus untuk mencapai kondisi hiperlipidemia. Perbedaan komposisi, tekstur, konsistensi dan aroma pakan normal dan pakan aterogenik membuat tikus yang diberikan pakan aterogenik tidak banyak mengkonsumsinya (Muwarni dkk, 2006).

Kelompok P2 (diet aterogenik + ekstrak bayam 20 mg/100gBB) memiliki kadar HDL paling tinggi diantara kelompok perlakuan lainnya yaitu 30,13 mg/dl dibandingkan kelompok P3 dan P4 (28,73 mg/dl dan 28,06 mg/dl). Hal ini bertentangan dengan hipotesis awal yang menyebutkan peningkatan dosis ekstrak bayam akan semakin meningkatkan kadar HDL serum tikus. Banyak faktor dapat menyebabkan perbedaan hasil dengan hipotesis awal penelitian yang berupa peningkatan dosis ekstrak dapat meningkatkan kadar HDL tikus.

Hasil analisis dengan uji korelasi diketahui bahwa pemberian daun bayam terhadap kadar HDL serum tikus ( $R=0,115$ ,  $p=0,315$ ) mempunyai korelasi yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) dengan arah korelasi yang positif.

Ekstrak metanol daun bayam memiliki berbagai macam variasi kandungan zat dengan jumlah tertentu. Flavonoid rutin diyakini sebagai zat utama dalam meningkatkan kadar HDL (Akubugwo *et al*, 2007). Rutin mempengaruhi

peningkatan aktivitas enzim *lecithin acyl transferase* sehingga terjadi peningkatan sintesis HDL. Enzim *lecithin acyl transferase* adalah suatu enzim yang bekerja mengubah kolesterol bebas menjadi kolesterol ester pada kolesterol HDL. Semakin banyak kolesterol ester yang terbentuk, maka HDL semakin banyak yang membawa kolesterol ke hepar (Emokpae *et al*, 2005). Selain itu, Rutin juga menghambat enzim HMG coa reduktase. HMG coa reduktase adalah enzim yang bekerja dalam pembentukan kolesterol (Kabiri *et al*, 2010). Sehingga diharapkan terjadi penurunan sintesis kolesterol. Antosianin berkerja menghambat enzim kolesterol ester transfer protein. Suatu enzim yang dapat mengkonversi kolesterol ester yang ada pada HDL untuk ditransfer menuju LDL. Penurunan aktivitas enzim ini dapat menjaga kadar HDL dalam menjaga homeostatis tubuh (Qin *et al*, 2009).

Penelitian ekstrak metanol daun bayam memberikan hasil tidak signifikan dalam meningkatkan kadar HDL. Kadar HDL yang tinggi pada kelompok P2 jika dibanding dengan kelompok lain dengan dosis yang lebih besar dapat disebabkan *intake* diet aterogenik yang lebih rendah dibanding kelompok P3. Hal ini mengakibatkan tidak maksimalnya proses hiperlipidemia yang terjadi. Diet yang tidak adekuat menyebabkan LDL tidak mengalami akumulasi sehingga aterosklerosis pun tidak dapat terbentuk. Faktor pemberian ekstrak dengan menggunakan sonde juga dapat berperan dalam menurunkan efek peningkatan kadar HDL pada kelompok P3 dan P4. Penyondean dilakukan manual oleh seorang laboran rentan oleh adanya faktor manusia. Urutan penyondean yang dilakukan setiap hari menempatkan kelompok P3 dan P4 diakhir proses. Sehingga proses penyondean untuk kedua kelompok tersebut tidak maksimal. Proses psikologis yang dialami oleh tikus kelompok P3 dan P4 dalam pemberian

intervensi mempengaruhi respon saat dilaksanakan penyondean, sebelum maupun sesudah proses tersebut. Tidak diketahuinya dosis minimal, dosis maksimum yang dapat ditolerir dan dosis letal membuat batas dosis yang digunakan dalam penelitian sulit ditentukan. Pada penelitian ini dosis yang ada mengacu pada penelitian sebelumnya, tetapi batasan-batasan pada dosis minimal maupun dosis letal masih belum diketahui. Selain itu, perbedaan perlakuan antara penelitian ini dengan penelitian pendahulu (Girija and Lakshman, 2011) dapat mempengaruhi hasil yang ada. Penelitian sebelumnya cenderung menggunakan triton untuk menimbulkan kondisi hiperlipidemia sedangkan pada penelitian ini digunakan pakan aterogenik. Perbedaan interaksi mungkin menyebabkan efektivitas dosis tidak optimal.

HDL dalam penelitian ini dihitung dengan menggunakan metode spektrofotometri. Beberapa prosedur riskan dan membutuhkan ketelitian harus dilakukan. Pengambilan sampel darah yang tidak hati-hati dapat membuat sel darah merah yang terambil akan mengalami lisis. Banyaknya sel darah merah yang mengalami lisis membuat serum yang dihasilkan menjadi tidak sempurna. Hal ini dapat mengganggu pembacaan kadar HDL pada spektrofotometri. Pada penelitian ini, beberapa serum yang telah disentrifugasi masih tetap berwarna merah. Hal ini mengindikasikan bahwa sampel mengalami lisis yang dapat mengganggu pembacaan pada spektrofotometri. Selain itu, sejumlah prosedur pengkondisian serum agar dapat terbaca oleh mesin spektrofotometri membutuhkan ketepatan jumlah dan waktu. Beberapa spesimen mungkin mengalami perlakuan yang tidak semestinya sehingga mengakibatkan hasil yang tidak sesuai dengan harapan. Adanya sampel yang mati sebelum hari yang telah ditentukan membuat beberapa data pada suatu kelompok perlakuan hilang.

Sampel yang mati berjumlah tiga ekor, satu tikus dari kelompok P2 (dosis ekstrak 20 mg/100gBB) mati karena sakit dan dua lainnya dari tikus kelompok P3 (dosis ekstrak 40 mg/100gBB) mati karena aspirasi ketika di sonde. Hal ini disebabkan pemberian ekstrak sonde jumlahnya tidak sesuai dengan volume maksimal lambung. Tikus dengan umur 5-6 minggu masih belum mencapai volume 2 cc. Sehingga ekstrak yang tidak tertampung membuat tikus mengalami aspirasi dan mengalami kematian.

Proses pengenceran ekstrak bayam berbentuk gel menjadi cair juga memiliki resiko karena menggunakan teknik manual. Untuk mendapatkan ekstrak bayam cair digunakan penggerus untuk mencampurkan gel dengan aquades. Padatnya gel membuat proses pencampuran menghabiskan waktu yang lama. Selain itu, beberapa gel ekstrak masih belum dapat bercampur dengan baik mengendap di dasar bejana. Hal ini mungkin mengurangi konsentrasi ekstrak yang diberikan pada sampel.

Penelitian-penelitian selanjutnya diharapkan menemukan dosis yang tepat dan akurat sehingga hubungan korelasi diantara variable yang ada memiliki kesesuaian. Selain itu, penggunaan tenaga professional dapat dilakukan pada prosedur-prosedur yang memiliki resiko tinggi guna meminimalisir kesalahan yang dapat terjadi. Penggunaan alat-alat yang berteknologi tinggi dapat dilakukan. Hal ini disebabkan prosedur yang harus dilakukan dalam mengoperasikan alat lebih mudah dan sederhana. Sensitivitas dan spesifiktas juga lebih tinggi dibanding alat-alat terdahulu. Penambahan spesies setiap kelompok dapat dilakukan untuk menghindari kehilangan sampel karena berbagai hal. Penggunaan alat pengencer otomatis dapat digunakan untuk menggantikan teknik manual yang biasa dilakukan tetapi memiliki resiko tinggi

pengurangan dosis yang dapat diberikan. Penyesuaian dosis sonde dengan kapasitas lambung tikus harus dilakukan untuk mencegah terjadinya kelebihan kapasitas lambung.



## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

7.1.1 Perbedaan kadar HDL antara tikus yang diberi diet aterogenik dengan diet normal tidak signifikan. Kadar HDL tikus yang diberi diet aterogenik adalah  $19.05 \pm 2.55$  mg/dl dan tikus yang diberi diet normal adalah  $22.66 \pm 5.02$  mg/dl.

7.1.2 Pada penelitian ini peningkatan dosis ekstrak tidak mempengaruhi kadar HDL tikus. Peningkatan kadar HDL tertinggi terdapat pada pemberian ekstrak bayam 200 mg/kgBB yaitu sebesar  $30.13 \pm 3.79$  mg/dl.

#### 7.2 Saran

- Diperlukan penelitian yang sama dengan tingkat ketelitian yang tinggi pada setiap prosedur yang ada dan penggunaan peralatan yang lebih baik untuk meminimalisir kesalahan yang dapat terjadi.
- Diperlukan penelitian lebih lanjut menggunakan perbandingan tikus yang diinduksi dengan diet aterogenik dan Triton sehingga perbedaan yang ada dapat identifikasi.
- Untuk penelitian selanjutnya pemberian sonde disesuaikan dengan kapasitas lambung tikus.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akubugwo, I. E., Obasi, N.A., Chinyere G.C, Ugbogu A. E. 2007. *Nutritional and Chemical Value of Amaranthus hybridus L. Leaves from Afikpo, Nigeria*. African Journal of Biotechnology Vol. 6 (24), pp. 2833-2839.
- Ali, M., Mulyani, S., Muliarta, K. 2006. Diet Aterogenik pada Tikus Putih ( *Rattus novergicus* Strain Wistar) sebagai Model Hewan Aterosklerosis. Jurnal Kedokteran Brawijaya. Vol. XXII. No.1.
- American Heart Association. 2010. *Heart Disease and Stroke Statistic-2010 Update : A Report From the American Heart Association*. Circulation. 121:e46-e215.
- American Heart Association. 2012. *Good VS Bad Cholesterol*, (online) ([http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/Cholesterol/AboutCholesterol/Good-vs-Bad-Cholesterol\\_UCM\\_305561\\_Article.jsp](http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/Cholesterol/AboutCholesterol/Good-vs-Bad-Cholesterol_UCM_305561_Article.jsp), diakses 20 Juli 2012)
- Barter, P.J., Brewer Bryan J., Jr, Chapman M. John, Hennekens Charles H., Rader Daniel J., Tall Alan R., 2003. *Cholesterol Ester Transfer Protein: A novel for Raising HDL and Inhibiting Atherosclerosis*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 23:160-167.
- Carolo, K. 2011. *Niacin-Statin Combo Offers No benefit, Study Finds*.(online) (<http://abcnews.go.com/blogs/health/2011/11/15/niacin-statin-combo-offers-no-clinical-benefit-says-study/>, diakses 12 desember 2012).
- Christie, W.W. 2012. *Sterols 1. Cholesterol and Cholesterol ester*, (online) (<http://lipidlibrary.aocs.org/lipids/cholest/index.htm>, diakses 8 agustus 2012).
- Crowther, Mark A. 2005. *Pathogenesis of Atherosclerosis*, (online) ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16304416](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16304416), diakses 20 Juli 2012).
- Dai, J. and Mumper R.J. *Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties*. *Molecules* 2010, (15): 7313-7352.
- Das, K., Tiwari R. K. S. dan Shrivastava D. K. *Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2010, 4(2): 104-111.
- David, Arkeman,H. 2008. Evaluation of The Oral Toxicity of Formldehyde in Rats. *Universa medicine*. 27: p.106-112.
- DEPKES. 2009. Profil Kesehatan Indonesia 2008. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, hal.29-62.

- Elis, P. D. 2011. Lemak Sebagai Sumber Energi Untuk Hidup, (online) (<http://sriporwati.blogspot.com/p/lemak-sebagai-sumber-energi-untuk.html>, diakses 12 desember 2012).
- Emokpa, M.A., Uadia, P.O., Osadolor, H.B., 2010. Lecithin : Cholesterol Acyl Transferase, Lipoproteinlipase and Lipoproteins in Adult Nigerians with Scickle Cell Disease. *African Journal of Biochemistry Research* Vo 4(2)pp 17-20.
- Fatima, S. 2009. Studi Kadar Klorofil dan Zat besi (fe) pada beberapoa Jenis Bayam Terhadap jumlah Eritrosit tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Anemia. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan. Fakultas Sain dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Fauci, A. S., Kasper, D.L., Longo, D. L., Hauser, S.L., Jameson J.L., Loscalzo Joseph. 2008. *Harrison's Principles of Internal medicine, 17<sup>th</sup> ed.*, McGraw-Hill Medical, Newyork city, p.
- Fogoros, N. R. 2011. Raising Your HDL Levels, (online) ([http://heartdisease.about.com/cs/cholesterol/a/raiseHDL\\_2.htm-richard](http://heartdisease.about.com/cs/cholesterol/a/raiseHDL_2.htm-richard), diakses 12 desember 2012).
- Girija, K., Lakhsman, K., Udaya, Chandrika, P. 2011. *Hypolipidemic Effect of Amaranthus caudatus L. in triton WR-1339 induced hyperlipidrmic Rats. Pharmacologyonline* 1: 84-91.
- Himapid, 2008. Epidemiologi PJK, (online) (<http://himapid.blogspot.com/2008/10/penyakit-kardiovaskuler-pkv-terutama.html>, diakses 20 juli 2012).
- Harini, M., Astirin, O.P. 2009. Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih(*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemik setelah perlakuan VCO. *Bioteknologi* 6 (2): 55-62.
- ICS, UNIDO.2008. *Extraction Technologies for medicinal and Aromatic Plants.* (online), ([www.ics.trieste.it/media/136881/df4312.pdf](http://www.ics.trieste.it/media/136881/df4312.pdf), diakses tanggal 11 januari 2012).
- Issac, B. 2011. *Common Side Effect of Cholesterol Drugs*, (online) (<http://www.pdrhealth.com/cholesterol/common-side-effects-of-cholesterol-drugs>, diakses 8 Agustus 2012).
- Junqueira, L.C., Carneiro, J. 2005. *Basic Histology: Text & Atlas, 11<sup>th</sup> ed.*, McGraw-Hill Medical, Newyork city, p.
- Koolman, J, Roehm, K.H. 2005. *Color Atlas of Biochemistry, 2<sup>nd</sup>ed.*, Thieme Publishing Group, Stuttgart, p.172-173.

- Kreisberg, R. A. and Oberman, A. 2003. *Medical management of Hyperlipidemia/Dyslipidemia. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 88(6):2445–2461.
- Kumaladewi, K, Orbayinah, S. 2012. Kadar HDL Pada Tikus Diet Tinggi Kolesterol Setelah pemberian Tempe Biji Karet. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Universitas Muhamadiyah Yogyakarta.
- Lenny, S. 2006. Isolasi dan Bioaktivitas Kandungan utama Kimia Puding Merah dengan Metoda Uji Brine Shrimps. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Universitas Sumatra Utara,
- Mahdi, S., Altikriti, y. 2010. *Extraction natural product*. (online) ([http://www.fkog.uu.se/course/a/biolakt/biolakt-old/BiolAkt%2020102/StudentpresentationerHT2010%20%28kopia%29/BiolAktHT2010\\_ExtraktionNatProd\\_Yassir\\_Suzan/Extraction%20of%20natural,2012\).%20products\\_files/](http://www.fkog.uu.se/course/a/biolakt/biolakt-old/BiolAkt%2020102/StudentpresentationerHT2010%20%28kopia%29/BiolAktHT2010_ExtraktionNatProd_Yassir_Suzan/Extraction%20of%20natural,2012).%20products_files/) diakses 12 Desember Page470.htm)
- Masterjohn, C. 2008. *The Structure of Cholesterol*, (online) ([http://www.cholesterol-and-health.com/cholesterol\\_structure.html](http://www.cholesterol-and-health.com/cholesterol_structure.html), diakses 8 Agustus 2012).
- Murray, R.K., granner, D.K., Rodwel, V.W. 2006. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 27<sup>th</sup> ed., McGraw-Hill Medical, Newyork city, p.
- Murwani, S, Mulyohadi, A, Muliarta, K. 2005. Diet Atherogenik pada Tikus Putih sebagai Model Hewan Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, vol XXII, No. 1.
- Norvahidah, A. 2009. *Pengaruh Pemberian Quercetin terhadap Pembentukan Foam Cell pada Tikus Wistar Jantan (Rattus Norvegicus) yang Diberi Diet Aterogenik*. Tugas Akhir tidak diterbitkan, Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
- Qin, C.G., Li, Y., Niu, W.N., Ding, Y, Shang, X.Y, Xu, C.L. 2011. *Composition Analysis and Structural Identification of Anthocyanins in Fruit of Waxberry*. *Czech J. Food Sci*. Vol. 29, No. 2: 171–180.
- Rachmadan. 2012. *Tanaman Bayam Duri*, (online) ([http://www.rachmadan.com/2012/04/tanaman-bayam-duri\\_18.html](http://www.rachmadan.com/2012/04/tanaman-bayam-duri_18.html), diakses 8 Agustus 2012).
- Rader, D. J., 2006. *Molecular Regulation of HDL metabolism and Function: Implication for Novel Therapies*. *J. Clin. Invest*. 116:3090–3100.
- Rizal. 2012. *Obat Aterosklerosis (Atherosclerosis)*, (online) (<http://www.jamugodog.com/obat-aterosklerosis-atherosclerosis.html>, diakses 20 Juli 2012).

- Rodes, J., Benhamou, J. P., Blei, A., Reichen, Juerg., Rizzeto, M. 2007. *The Textbook of Hepatology: From Basic Science to Clinical Practice*, 3<sup>rd</sup>ed., Wiley-Blackwell, New jersey, p. 133-142.
- Sandhar, H.K., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan, M., Sharma P. *A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids*. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 2011, 1(1):25-41.
- Sastroasmoro, S.1995. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Jakarta: Binarupa Aksara. 8-24.
- Stary, H. C., Chandler, A.B., Dinsmore, R. E., Fuster, V., Glagov, S., Insull, W. J., et al. *A Definition of Advanced Types of Atherosclerotic Lesions and a Histological Classification of Atherosclerosis*. *Circulation*. 1995; 92: 1355-1374.
- Stocker, R., Keaney, J.F. 2004. *Role of Oxidative Modification in Atherosclerosis*. *Physiol Rev*84: 1381–1478.
- Supriyadi, L, Bayuardi, W., Ratnasari, J, Rofiq, M, Wulansari, D., Pribadi, E.M. 2003. Sayuran bayam, (online) (<http://www.situshijau.co.id/tanaman/sayuran/b.htm>, diakses 8 Agustus 2012).
- Surijaji. 2009. Tanaman Bayam, (online) (<http://ajichrw.wordpress.com/2009/07/15/tanaman-bayam>, diakses 8 Agustus 2012).
- Syarkiah. 2008. *The Effect of Red Fruit (Pandanus conoideus oil) Toward The Formation of Foam Cell in Aorta of Wistar Strain Rat (Rattus norvegicus) with Atherogenic Diet*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. XXIV. No 1. April.
- Tenaglia, D. 2004. *Amaranthus hybridus* L, (online) ([http://www.missouriplants.com/Greenalt/Amaranthus\\_hybridus\\_page.html](http://www.missouriplants.com/Greenalt/Amaranthus_hybridus_page.html), dikases 8 Agustus 2012).
- Triyanto, B.J. 2009. *Hubungan Antara Asupan Lemak dan Asupan Kolesterol dengan Status Gizi Pada penderita jantung Koroner di Poliklinik Jantung RSUD dr. Moewardi Surakarta*. Tugas Akhir. Program Studi Diploma III Gizi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Turkmen, N, Velioglu, S, Sari, F, Polat, G. 2007. *Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea*. *Molecules* 12: 484-496.
- USDA, NRCS. 2012. *Classification for Kingdom Plantae Down to Species Amaranthus hybridus* L., (online)

<http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=profile&symbol=AMHY&display=31>, diakses 8 Agustus 2012).

Vishnu, K. *Condition & Disease : Cardiovascular system*, (online) <http://www.omnimedicalsearch.com/conditions-diseases/atherosclerosis-introduction-types.html>, diakses 8 Agustus 2012).

WHO. 2011. *Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control*. (online) ([whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564373\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564373_eng.pdf), diakses 20 juli 2012).

WHO. 2010. *World Health Organization Statistical Information System (WHOSIS)*, (online) ([www.who.int/entity/gho/publications/world\\_health\\_statistics/EN\\_WHS10\\_Full.pdf](http://www.who.int/entity/gho/publications/world_health_statistics/EN_WHS10_Full.pdf), diakses 20 Juli 2012).

Yatskievych, G. 2007. *Amaranthus hybridus L.*, (online) ([http://www.missouriplants.com/Greenalt/Amaranthus\\_hybridus\\_page.html](http://www.missouriplants.com/Greenalt/Amaranthus_hybridus_page.html), diakses 8 Agustus 2012).



## Lampiran 1. Hasil Analisis Data Asupan Pakan Tikus

### Uji Shapiro-wilk

#### Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Pakan 1	.283	4	.	.810	4	.121
2	.239	4	.	.920	4	.536
3	.235	4	.	.939	4	.645
4	.215	4	.	.950	4	.714

a. Lilliefors Significance Correction

### Uji Homogenitas

#### Test of Homogeneity of Variances

Pakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.165	3	12	.145

### Uji *One-Way* ANOVA

#### ANOVA

Pakan	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51.923	3	17.308	.490	.696
Within Groups	424.117	12	35.343		
Total	476.040	15			

**Lampiran 2. Hasil Analisis Data HDL Serum**

**Uji Homogenitas**

**Test of Homogeneity of Variances**

HDL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.470	4	15	.260

**Uji Shapiro-wilk**

**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
HDL 1	.245	4	.	.915	4	.507
2	.261	4	.	.896	4	.411
3	.201	4	.	.967	4	.826
4	.151	4	.	.995	4	.980
5	.357	4	.	.852	4	.232

a. Lilliefors Significance Correction

**Uji One-Way ANOVA**

**ANOVA**

HDL	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	351.368	4	87.842	2.934	.056
Within Groups	449.132	15	29.942		
Total	800.500	19			



- Kelompok kontrol negatif : kontrol Positif

**Group Statistics**

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
P1	1	22,6565	5,02357	2,51179
	2	19,0523	2,54630	1,27315

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-Test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
P1	Equal variances assumed	2,181	,190	1,280	6	,248	3,60316	2,81602	-3,28740	10,49372
	Equal variances not assumed			1,280	4,446	,263	3,60316	2,81602	-3,91552	11,12184

### Uji Korelasi Pearson

#### Descriptive Statistic

	Mean	Std. Deviation	N
HDL	25,725568	6,4908832	20
Kelompok	3,00	1,451	20

#### Correlation

		HDL	Kelompok
Pearson Correlation	HDL	1,000	,115
	Kelompok	,115	1,000
Sig. (1-tailed)	HDL	.	,315
	Kelompok	,315	.
N	HDL	20	20
	Kelompok	20	20

## Lampiran 3. Berat Badan Tikus

Tabel Berat Badan Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Kelompok	Tanggal			
	14 4 12	11 2 12	18 2 12	26 5 12
P0.1	101	104	110	125
P0.2	135	169	205	220
P0.3	109	122	130	159
P0.4	99	133	193	200
P0.5	87	104	136	145
P0.6	111	128	169	185
P1.1	122	144	183	204
P1.2	81	111	148	170
P1.3	88	98	125	142
P1.4	71	81	97	105
P1.5	61	75	89	95
P1.6	76	87	91	98
P2.1	87	108	140	155
P2.2	80	95	108	120
P2.3	77	93		
P2.4	104	115	125	119
P2.5	112	138	174	175
P2.6	77	94	122	137
P3.1	100	115	157	163
P3.2	102	123	153	163
P3.3	92	117		
P3.4	85	98	126	134
P3.5	104	127	168	174
P3.6	104	128		
P4.1	70	77	91	107
P4.2	80	95	112	140
P4.3	70	88	119	130
P4.4	60	73	99	110
P4.5	102	122	143	152
P4.6	68	87	120	128



Lampiran 4

ASUPAN MAKANAN TIKUS

Tanggal 14-28 April 2012

Kelo m- pok	Tanggal														
	14 4 12	15 4 12	16 4 12	17 4 12	18 4 12	19 4 12	20 4 12	21 4 12	22 4 12	23 4 12	24 4 12	25 4 12	26 4 12	27 4 12	28 4 12
P0.1	29	27	35	35	38	38	28	38	31	26	21	34	29	29	39
P0.2	26	20	35	35	24	38	27	38	22	30	24	36	38	36	41
P0.3	21	14	25	17	18	32	20	28	24	19	11	27	28	21	40
P0.4	9	7	21	14	13	22	23	19	20	23	12	21	23	26	30
P0.5	20	20	14	22	13	23	20	25	22	36	8	33	35	33	40
P0.6	27	34	35	35	38	38	38	38	38	38	38	38	38	35	48
P1.1	22	18	18	15	21	19	20	30	23	20	12	32	38	34	36
P1.2	37	38	34	26	30	37	32	35	29	28	23	31	19	16	23
P1.3	15	13	15	6	13	12	12	9	6	13	8	36	23	19	17
P1.4	12	8	10	12	12	13	10	10	13	11	6	12	13	12	9
P1.5	20	12	18	4	13	9	15	17	10	10	3	11	8	6	9
P1.6	21	21	19	17	16	19	15	25	17	14	10	20	13	8	13
P2.1	20	12	13	10	22	22	18	25	18	18	11	22	13	37	26
P2.2	16	7	15	9	14	24	9	24	27	20	16	38	28	34	18
P2.3	24	18	21	18	21	15	15	15	10	15	12	24	15	24	9
P2.4	11	13	7	10	20	14	14	16	6	14	8	16	21	29	14
P2.5	38	38	35	35	38	38	30	38	38	28	38	0	36	38	22
P2.6	9	10	5	13	15	14	8	18	22	16	9	16	8	36	8
P3.1	16	15	15	6	14	13	16	20	14	18	12	38	27	23	23
P3.2	12	23	18	13	23	16	19	37	14	22	11	38	37	33	33
P3.3	15	15	18	16	38	32	31	34	30	36	12	38	37	26	29
P3.4	16	13	12	6	17	17	12	16	14	12	7	38	23	13	19
P3.5	26	24	35	35	38	36	38	33	27	37	38	38	36	32	36
P3.6	17	15	21	16	18	18	13	22	20	37	20	38	38	32	36
P4.1	15	13	14	10	11	8	11	8	11	19	9	16	17	18	15
P4.2	14	13	17	13	19	14	20	18	19	18	8	20	18	9	21
P4.3	9	17	18	11	14	7	14	37	35	36	12	38	38	37	34
P4.4	13	12	14	5	10	11	13	11	7	14	9	12	12	5	10
P4.5	27	13	16	12	18	11	18	22	19	18	6	38	33	4	13
P4.6	14	18	28	21	15	34	18	35	18	29	18	36	25	18	26

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)

Tanggal 29 April-17 Mei 2012

Ke Lom pok	Tanggal														
	29 4 12	30 4 12	1 5 12	2 5 12	3 5 12	4 5 12	5 5 12	7 5 12	8 5 12	12 5 12	13 5 12	14 5 12	15 5 12	16 5 12	17 5 12
P0.1	26	36	22	25	38	20	32	30	29	37	13	19	45	22	16
P0.2	41	46	32	28	39	32	33	39	43	39	39	39	44	21	42
P0.3	27	34	24	24	26	18	20	25	22	32	13	17	30	16	25
P0.4	30	42	24	26	25	24	19	35	30	39	32	30	19	30	23
P0.5	41	38	29	41	36	31	31	35	40	39	38	15	17	16	38
P0.6	46	48	45	38	43	32	36	37	40	39	39	47	16	42	40
P1.1	33	39	36	19	22	22	23	35	26	39	34	33	38	42	40
P1.2	28	30	32	22	26	18	27	32	35	39	33	41	39	38	39
P1.3	24	20	15	8	17	12	18	25	14	36	14	18	37	7	33
P1.4	9	27	19	9	13	11	14	25	10	20	8	13	44	12	36
P1.5	6	10	8	5	10	8	11	2	7	15	8	13	43	2	7
P1.6	13	22	27	21	23	19	24	12	10	8	5	13	45	4	16
P2.1	30	20	25	26	28	25	29	23	30	40	35	34	40	44	41
P2.2	16	17	12	8	23	14	24	30	16	35	5	12	13	16	19
P2.3	19	12	11	16	19	13	21	15	19	10	14	-----	-----	-----	-----
P2.4	23	24	20	13	15	14	16	20	6	28	14	11	21	21	34
P2.5	34	35	54	35	33	30	34	38	35	40	40	38	38	45	34
P2.6	18	3	9	11	15	15	16	16	21	40	13	19	28	18	24
P3.1	13	3	10	12	11	13	11	20	18	28	12	17	23	14	38
P3.2	36	37	33	15	21	18	21	38	37	35	32	45	43	45	45
P3.3	37	36	38	35	35	24	34	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
P3.4	17	10	10	5	16	12	15	7	11	36	14	28	38	30	44
P3.5	36	38	59	39	32	31	31	38	36	40	40	38	31	45	45
P3.6	37	37	37	21	26	26	25	30	34	-----	-----	-----	-----	-----	-----
P4.1	14	13	11	9	14	10	13	2	11	9	4	11	14	13	20
P4.2	13	30	25	16	17	16	16	29	11	39	8	10	28	21	24
P4.3	36	38	34	26	20	19	18	36	31	40	39	38	38	43	44
P4.4	11	18	10	22	14	18	13	2	9	33	9	14	23	17	17
P4.5	26	30	32	18	25	27	24	16	13	35	9	20	27	18	41
P4.6	29	34	17	26	30	25	29	37	35	9	37	36	33	38	39

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)

Tanggal 18 Mei-1 Juni 2012

Ke Lom pok	Tanggal													
	18 5 12	19 5 12	20 5 12	21 5 12	22 5 12	23 5 12	24 5 12	25 5 12	27 5 12	29 5 12	30 5 12	31 5 12	1 6 12	
P0.1	16	19	33	10	5	32	18	14	44	27	31	23	19	
P0.2	42	20	41	39	34	24	24	10	23	35	29	41	42	
P0.3	25	15	42	20	15	25	30	20	44	28	33	23	19	
P0.4	23	31	40	30	17	23	16	13	42	27	23	34	29	
P0.5	38	22	35	20	11	33	10	35	21	22	37	22	25	
P0.6	40	34	39	40	41	25	25	10	30	43	25	21	35	
P1.1	40	44	55	25	30	15	38	33	38	45	44	23	22	
P1.2	39	42	32	35	40	16	18	15	39	39	40	41	25	
P1.3	33	42	18	34	30	25	34	17	37	32	21	18	21	
P1.4	36	44	15	20	25	35	40	20	44	18	41	27	33	
P1.5	7	14	37	15	19	17	5	15	16	30	19	12	19	
P1.6	16	15	12	16	17	19	21	25	35	34	40	36	20	
P2.1	41	43	43	40	44	41	43	27	45	45	32	39	44	
P2.2	19	32	20	21	30	20	18	16	25	36	27	27	24	
P2.3	----	----	-----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
P2.4	34	15	20	17	15	26	12	24	42	39	39	40	41	
P2.5	34	33	35	42	40	43	41	22	44	45	25	45	44	
P2.6	24	17	33	26	35	25	24	23	33	32	36	11	39	
P3.1	38	40	39	44	40	30	20	15	20	18	17	15	20	
P3.2	45	44	43	30	45	43	44	15	45	45	28	44	45	
P3.3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
P3.4	44	41	42	17	40	35	38	31	42	45	25	29	42	
P3.5	45	38	33	35	45	39	41	32	44	45	15	42	44	
P3.6	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
P4.1	20	34	17	19	30	31	21	5	17	15	16	12	16	
P4.2	24	17	27	23	42	35	35	33	44	31	34	31	38	
P4.3	44	44	44	37	44	37	43	18	44	45	40	45	39	
P4.4	17	22	18	16	25	20	11	23	15	22	16	12	17	
P4.5	41	42	31	21	44	39	10	19	40	45	42	44	43	
P4.6	39	41	37	35	40	40	35	31	45	45	24	39	21	

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)



Lampiran 5

Dokumentasi Penelitian



(Pembagian setiap kelompok tikus)



(Penimbangan Pakan)



(Pembedahan Tikus)



(Penimbangan Ekstrak)



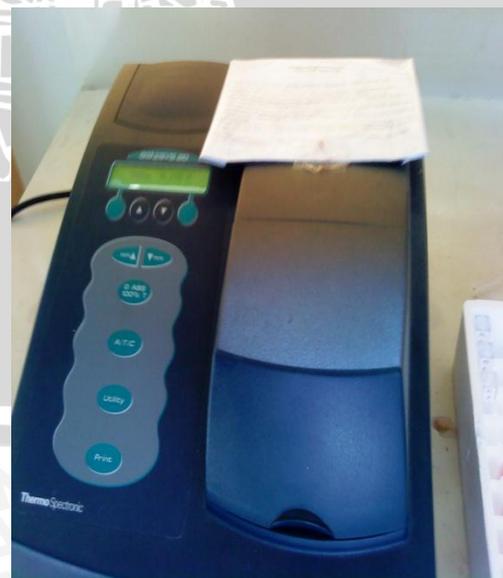
(Serum Sampel Tikus)



(Alat dan Bahan menghitung HDL)



(Serum siap di hitung di spektrofotometri)



(Alat Spektrofotometri)



## Lampiran 6

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Peneliti : Ferdian Musthafa

NIM : 0910710072

Judul : Efek Ekstrak Metanol Daun Bayam (*Amaranthus hybridus* L) terhadap Kadar HDL Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Diet Aterogenik.

Unit / Lembaga : Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

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

Malang, 20 Februari 2013

Ferdian Musthafa

NIM: 0910710072