

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperlipidemia adalah istilah umum bagi peningkatan konsentrasi semua lipid dalam plasma meliputi trigliserida dan kolesterol. Lipoprotein yang berperan penting dalam kondisi hiperlipidemia ini adalah kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan kadar HDL (*High Density Lipoprotein*). Kondisi hiperlipidemia akan terjadi peningkatan kadar LDL dan penurunan kadar HDL (Ghosh, *et al.*, 2006). Hiperlipidemia dapat menyebabkan aterosklerosis, penyakit kardiovaskuler, dan stenosis aorta (Mansjoer, *et al.*, 2005).

Hiperlipidemia pada hewan sering disebabkan oleh pola pemberian pakan terhadap hewan kesayangan dengan pakan berlemak dan kadar kolesterol tinggi yang melebihi kebutuhan tubuh sehari-hari (Lichtenstein, 2006). Prasetyo *et al* (2007) menyatakan bahwa pemberian diet tinggi lemak yaitu kuning telur dapat meningkatkan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, trigliserida, dan menurunkan kadar kolesterol HDL. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian komposisi pakan diet tinggi lemak dengan komposisi kuning telur 10% dan lemak babi 5% pada hewan coba tikus putih mampu menaikkan kadar kolesterol sebesar 91% dan menaikkan kadar trigliserida sebesar 87% (Hendra *et al*, 2011).

Tercatat 23,7 % anjing di Jepang didiagnosa mengalami hiperlipidemia pada tahun 2012. Studi terbaru menunjukkan bahwa kejadian hiperlipidemia pada *miniature schnauzer* sering terjadi pada umur >6 tahun dengan presentase > 80% (Xenoulis, 2011). Secara umum, kolesterol darah pada anjing dianggap meningkat

apabila kadarnya melebihi 300 mg/dl. Trigliserida darah anjing mengalami peningkatan yaitu mencapai 150-400 mg/dl pada kasus hiperlipidemia (Larry and Francis, 2011).

Saat ini berbagai cara dilakukan untuk menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL antara lain dengan obat, baik obat sintetik maupun dengan pengobatan tradisional (John, 2006). Daun suji (*Pleomele angustifolia*) memiliki kandungan antioksidan yang tinggi seperti saponin, klorofil dan flavonoid. Menurut Aldi *et al* (2011) menjelaskan bahwa daun suji dapat bermanfaat antara lain untuk pengobatan antianafilaksis dan sebagai obat luar untuk mengatasi beri-beri. Akar daun suji digunakan untuk mengatasi gonorrhea. Kandungan flavonoid daun suji dapat meningkatkan aktivitas *lipoprotein lipase* yang berperan dalam proses degradasi trigliserida menjadi asam lemak bebas sehingga dapat menurunkan jumlah kilomikron dan nantinya menurunkan kadar LDL dalam darah (Roza *et.al*, 2007). Flavonoid sebagai antioksidan juga dapat meningkatkan kadar HDL yaitu antioksidan mampu meningkatkan aktivitas LCAT (*Lechitin Cholesterol Acyl Transferase*), dimana LCAT merupakan enzim yang dapat mengkonversi kolesterol bebas menjadi ester kolesterol yang lebih hidrofobik, sehingga dapat berikatan dengan partikel lipoprotein untuk membentuk HDL baru (Aprilia, 2010). Saponin yang ada pada daun suji akan mengikat lemak yang terdapat dalam lumen usus dan membentuk senyawa kompleks yang tidak larut dan tidak dapat diserap oleh mukosa usus sehingga lemak yang diubah menjadi kilomikron mengalami penurunan (Hu *et al.*, 2004).

Berdasarkan banyaknya daun suji yang tumbuh di lingkungan masyarakat dan mengandung bahan aktif antioksidan yang tinggi, serta mengacu pada penelitian (Aldi *et al*, 2015; Prangdimurti, 2007) yang menyebutkan bahwa daun suji (*Pleomele angustifolia*) mengandung 28,89% kuersetin (flavonoid) dan 73,25% klorofil dalam basis basah serta saponin. Maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh preventif dari ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) terhadap kadar LDL dan HDL pada darah mencit (*Mus musculus*) hiperlipidemia dengan diinduksi diet lemak tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

- 1) Apakah ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) dapat menghambat peningkatan kadar LDL pada mencit (*Mus musculus*) model hiperlipidemia setelah diinduksi diet lemak tinggi ?
- 2) Apakah ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) dapat menghambat penurunan kadar HDL pada mencit (*Mus musculus*) hiperlipidemia setelah diinduksi diet lemak tinggi ?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

- 1) Hewan model yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) yang diperoleh dari Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran UMM, mencit jantan sejumlah 20 ekor, berumur 2-3 bulan, berat badan 20-30 g dan penggunaan

hewan model mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Brawijaya dengan No: 534-KEP-UB (**Lampiran. 1**).

- 2) Daun suji (*Pleomele angustifolia*) yang digunakan diperoleh dari UPT. Materia Medica Batu dan dideterminasi di UPT. Materia Medica Batu, dapat dilihat pada **Lampiran 2**. Diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%. Perlakuan dengan ekstrak daun suji menggunakan 3 variasi dosis yaitu 600 mg/kg BB, 900 mg/kg BB, 1200 mg/kg BB. Diberikan melalui sonde lambung selama 21 hari (Aldi, *et al*, 2015).
- 3) Diet lemak tinggi yang diberikan pada mencit (*Mus musculus*) terdiri dari lemak babi 5% dan kuning telur puyuh 10%. Pemberian diet lemak tinggi dilakukan selama 14 hari (Hendra, *et al*, 2011) (**Lampiran 4**).
- 4) Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar LDL dan HDL darah mencit (*Mus musculus*). Kadar HDL dan LDL darah diukur dengan alat ukur Spektrofotometer (Suryaatmadja dan Silman, 2006).

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui peran preventif ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) berpengaruh terhadap penghambatan peningkatan kadar LDL pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi diet lemak tinggi.
2. Mengetahui peran preventif ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) berpengaruh terhadap penghambatan penurunan kadar HDL pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi diet lemak tinggi.

1.5 Manfaat Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Manfaat teoritis

Memberikan tambahan pengetahuan dan menjelaskan bukti empiris pemberian ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) berpengaruh terhadap kadar LDL dan HDL pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi diet lemak tinggi sehingga dapat diterapkan dalam kehidupan sehari-hari.

2. Manfaat praktis

Apabila terbukti bahwa pemberian ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) berpengaruh terhadap kadar LDL dan HDL pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi diet lemak tinggi, maka diharapkan penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya yang lebih lengkap dan lebih baik.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hiperlipidemia

2.1.1 Definisi

Hiperlipidemia adalah istilah umum bagi peningkatan konsentrasi semua lipid dalam plasma meliputi trigliserida, kolesterol dan lain-lain. Lipoprotein yang berperan penting dalam kondisi hiperlipidemia ini adalah kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan kadar HDL (*High Density Lipoprotein*). Kondisi hiperlipidemia akan terjadi peningkatan kadar LDL dan penurunan kadar HDL (Ghosh, *et.al.*, 2006). Hiperlipidemia dibedakan menjadi dua yaitu hiperlipidemia primer dan hiperlipidemia sekunder. Hiperlipidemia primer merupakan hiperlipidemia yang terjadi akibat predisposisi genetik atau keturunan. Hiperlipidemia sekunder merupakan akibat penyakit lain misalnya diabetes mellitus. Profil lipid yang berperan penting penyebab hiperlipidemia diantaranya adalah kadar *high-density lipoprotein* (HDL) darah yang rendah, *low-density lipoprotein* (LDL) yang tinggi, kolesterol total meningkat, dan trigliserida darah meningkat (Ghosh *et.al.*, 2006).

Lipid disorder merupakan penyakit yang biasanya menyerang pada anjing, keadaan ini paling sering timbul karena penyebab sekunder seperti diabetes mellitus. Sedangkan penyebab primer *lipid disorder* disebabkan karena hiperlipidemia dan hiperkolesterolemia. Secara umum, kolesterol total darah pada anjing dianggap meningkat apabila kadarnya melebihi 300 mg/dl. Trigliserida darah anjing mengalami peningkatan yaitu mencapai 150-400 mg/dl pada kasus hiperlipidemia (Larry and Francis, 2011).

Hiperlipidemia pada hewan sering disebabkan oleh pola pemberian pakan terhadap hewan kesayangan dengan pakan berlemak dan kadar kolesterol tinggi yang melebihi kebutuhan tubuh sehari-hari (Lichtenstein, 2006). Faktor-faktor yang dapat menyebabkan hiperlipidemia pada hewan antara lain yaitu obesitas, pakan tinggi lemak dan faktor genetik seperti pada *Miniature schnauzer* (anjing) dan *Himalayan* (kucing) (Larry and Francis, 2011).

Tercatat 23,7 % anjing di Jepang didiagnosa mengalami hiperlipidemia pada tahun 2012. Beberapa ras anjing dan kucing memiliki kerentanan terhadap penyakit ini, dilaporkan bahwa di Amerika Serikat ditemukan 32,8% dari 192 ekor anjing *miniature schnauzer* mengalami hiperlipidemia. Studi terbaru menunjukkan bahwa kejadian hiperlipidemia pada *miniature schnauzer* sering terjadi pada umur >6 tahun dengan presentase > 80% (Xenoulis, 2011).

Gejala klinis hiperlipidemia pada anjing yang sering ditemukan adalah muntah, diare serta *abdominal pain* (Remillard, 2014). Larry and Francis (2011) menambahkan bahwa beberapa hewan kesayangan biasanya tidak memperlihatkan gejala klinis meskipun konsentrasi lipid dalam darahnya meningkat.

Ditemukan tiga jenis lipid dalam darah yaitu kolesterol, trigliserida, dan fosfolipid. Sifat lipid yang susah larut dalam lemak perlu dibuat dalam bentuk yang terlarut, sehingga dibutuhkan suatu zat transport yaitu protein yang dikenal dengan nama apolipoprotein atau apoprotein. Terdapat 9 jenis apoprotein yaitu Apo A, Apo B, Apo C dan Apo E. Senyawa lipid dengan apoprotein ini dikenal dengan nama lipoprotein. Setiap lipoprotein terdiri atas kolesterol (bebas atau ester), trigliserida, fosfolipid dan apoprotein. Lipoprotein mempunyai inti

trigliserid dan kolesterol ester dan dikelilingi oleh fosfolipid dan sedikit kolesterol bebas. Apoprotein ditemukan pada permukaan lipoprotein. Peningkatan jumlah lipoprotein secara otomatis juga terjadi peningkatan jumlah lipid (Adam, 2006). Dalam sebuah studi terbaru, pemberian makanan yang mengandung kolesterol pada tikus dapat meningkatkan kolesterol plasma total, trigliserida dan LDL, dan menurunkan kadar HDL (Agarwal dan Stringer, 2005).

2.1.2 Lipid

Lipid merupakan senyawa organik yang kaya energi dan dipergunakan untuk metabolisme tubuh. Lipid yang penting seperti kolesterol, trigliserida, fosfolipid, dan asam lemak adalah unsur-unsur yang terkandung dalam plasma. Lipid-lipid tersebut berikatan dengan protein agar dapat diangkut ke dalam sirkulasi. Kolesterol bebas maupun ester, trigliserida, dan fosfolipid berikatan dengan protein tertentu yang disebut apoprotein membentuk senyawa lipoprotein. Pembawa utama trigliserida dalam plasma adalah kilomikron dan VLDL. Sekitar 60-70% kolesterol diangkut oleh LDL dan 15-25% diangkut oleh HDL (Larry and Francis, 2011).

Lipoprotein adalah protein-protein yang mengikat dan mengangkut lemak, seperti lipid dan trigliserida dalam darah. Lipoprotein digolongkan berdasarkan kandungan lipid dan protein, fungsi transport, dan mekanisme penghantaran lipid. HDL sering disebut sebagai “kolesterol baik” sedangkan LDL dan VLDL disebut sebagai “kolesterol jahat”. Menurut Adam (2005) ada 5 karakteristik lipoprotein yang dibagi menjadi kilomikron, VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*), IDL (*Intermediate Density Lipoprotein*), LDL (*Low Density Lipoprotein*), dan HDL

(*High Density Lipoprotein*) seperti yang dijelaskan pada **tabel 2.1**. Lipoprotein tersebut dapat berubah menjadi jenis lipoprotein yang lain dengan bantuan enzim seperti LPL (*Lipoprotein Lipase*) dan LCAT (*Lecithin Cholesterol Acyl Transferase*) (Stringer, 2006).

Tabel 2.1Karakteristik Lipoprotein

Lipoprotein	Densitas	Lipid Utama	Diameter (mm)	Apolipoprotein Menurut urutan yang terpenting
HDL	1,21-1,063	Ester Kolesterol	7,5-10,5	A-I, A-II, C, E
LDL	1,063-1,019	Ester Kolesterol	21,5	B-100
IDL	1,019-1,006	Ester Kolesterol	25-30	B-100, C, E
VLDL		Trigliserid	39-100	B-100, C, E, B-48, A-
Kilomikron		Trigliserid	60-500	I, A-II, A-IV

Sumber : Adam (2007)

Protein pada lipoprotein dikenal sebagai apolipoprotein yang bertanggung jawab terhadap pengangkutan lipid dan kolesterol (Richardson *et al.*, 2005). Metabolisme lipoprotein dimulai ketika lemak diabsorpsi di usus dan dikemas ke dalam bentuk yang lebih besar. Lipoprotein mengalami lipolisis menjadi sisa kilomikron yang diambil oleh hati melalui reseptor apoE. Hati mensekresi VLDL setelah melalui lipolisis partikel ini diubah menjadi LDL. HDL disintesis oleh hati dan usus. Menurut Mayer *and* Harvey (2004) kadar kolesterol pada anjing normalnya sebesar 110-266 mg/dL dan kadar trigliserida normal sebesar 20-112 mg/dL seperti yang ditunjukkan pada **tabel 2.2**.

Tabel 2.2 Nilai Profil Lipid

Spesies	Kadar Kolesterol (mg/dL)	Kadar Trigliserida (mg/dL)
Anjing	110-266	20-112
Kucing	38-186	10-114
Kuda	50-143	4-44
Babi	36-54	-
Kambing/ Domba	50-140	-
Tikus	30-140	26-145

Sumber : Mayer and Harvey (2004)

Hewan memiliki nilai profil lipid yang berbeda-beda (**Tabel 2.2**), hal ini dipengaruhi oleh umur, spesies serta pakan yang diberikan. Perbedaan menurut spesies disebabkan beberapa faktor seperti perbedaan dalam hal pakan yang dikonsumsi, aktifitas tubuh dan respon individu terhadap seluruh metabolisme lipid di dalam tubuhnya (Mayer *and* Harvey, 2004).

2.1.3 Kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) Akibat Hiperlipidemia

Peningkatan kadar LDL terjadi pada penderita hiperlipidemia. LDL merupakan lipoprotein yang mengangkut 70% kolesterol dalam tubuh. LDL dibentuk sebagian besar oleh VLDL. Partikel LDL mengandung trigliserida sebanyak 10% dan kolesterol sebanyak 50% dengan lipid inti dominan kolesterol ester dan hanya memiliki Apo B. Trigliserida dan kolesterol disintesis di hati dan disekresi ke dalam sirkulasi sebagai lipoprotein VLDL dengan apolipoprotein B-100. Dalam sirkulasi, trigliserida di VLDL mengalami hidrolisis oleh enzim *lipoprotein lipase* (LPL) berubah menjadi IDL yang mengalami hidrolisis dan berubah menjadi LDL. Trigliserida yang banyak di VLDL bertukar dengan kolesterol ester dari LDL menghasilkan LDL yang kaya trigliserida tetapi kurang kolesterol ester. Trigliserida yang dikandung oleh LDL akan dihidrolisis oleh

enzim *Hepatic Lipase* (HL) menghasilkan LDL yang kecil tetapi padat, yang dikenal dengan *small dense* LDL (Adam, 2005).

LDL berfungsi membawa kolesterol ke jaringan perifer untuk dipecah menjadi energi atau disimpan. Reseptor LDL di dalam hepar mengeluarkan LDL dari sirkulasi sehingga peran reseptor ini penting dalam pengaturan kadar kolesterol dalam darah. LDL berfungsi mengirimkan kolesterol ke jaringan ekstra-hepatik seperti; sel korteks adrenal, ginjal, otot, dan limfosit. Sel tersebut mempunyai reseptor LDL di permukaannya. LDL melepaskan kolesterol di dalam sel untuk pembentukan hormon steroid dan sintesa dinding sel. Sel fagosit dari sistem retikuloendotel menangkap dan memecah LDL. Bila sel-sel mati maka kolesterol terlepas dan diikat oleh HDL. Enzim *Lecithin Cholesterol Acyl Transferase* (LCAT) menyebabkan kolesterol berikatan dengan asam lemak, dikembalikan ke VLDL dan LDL. Sebagian diangkut ke hati dan diekskresi ke empedu (Suryaatmaja dan Silman, 2006).

2.1.4 Kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) Akibat Hiperlipidemia

Kadar HDL akan mengalami penurunan pada penderita hiperlipidemia. *High Density Lipoprotein* digunakan untuk mengangkut kolesterol berlebihan dari seluruh jaringan tubuh untuk dibawa ke hati. Kolesterol HDL mempunyai peranan yang penting pada keadaan hiperlipidemia sehingga kadarnya di dalam darah dapat dijadikan salah satu sasaran terapi penderita hiperlipidemia. Setelah disekresikan ke dalam darah, HDL akan mengalami perubahan-perubahan serta akan menyerap kolesterol dari permukaan sel dan lipoprotein lain, yang akan mengubahnya menjadi ester kolesterol. Ester kolesterol kemudian akan

dikembalikan ke hati, sehingga HDL dikatakan berperan dalam pengangkutan balik kolesterol (*reverse cholesterol transport*). Dengan demikian, HDL merupakan lipoprotein pembersih kelebihan kolesterol dalam jaringan (Malloy and Kane, 2001).

High Density Lipoprotein mengambil kelebihan kolesterol dan fosfolipid yang ada di dalam aliran darah, serta sebagai media transport kolesterol bebas dari jaringan perifer ke hati untuk dikatabolisme dan diekskresi (Almatsier, 2003). Kolesterol HDL berdiameter 7,5-10,5 nm dengan densitas 1,21-1,063 g/cm³, inti lipidnya adalah kolesteril ester, serta memiliki apolipoprotein seperti apoA-I, apoA-II, apoC, dan apoE. HDL mengandung 50% lemak dan 50% protein, dimana 90% proteinnya adalah apoA-I (Frohlich *et al.*, 2002).

Malloy and Kane (2001) menyatakan metabolisme HDL terjadi di hati. Organ ini membentuk HDL dari lipid di limfe dan plasma. Kolesterol bebas dan fosfolipid di permukaan kilomikron dan VLDL diangkut ke HDL. Kolesterol bebas yang diangkut oleh HDL ini akan diesterifikasi oleh LCAT.

2.2 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) termasuk mamalia pengerat yang cepat berkembang biak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya cukup besar serta sifat anatomisnya dan fisiologisnya terkarakteristik dengan baik. Mencit yang sering digunakan dalam penelitian di laboratorium merupakan hasil perkawinan tikus putih "*inbreed*" maupun "*outbreed*". Hasil perkawinan sampai generasi 20 akan dihasilkan strain-strain murni dari mencit (Akbar, 2010).

Berdasarkan Akbar (2010), mencit yang digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian adalah *Mus musculus* yang memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Phylum : Chordata
Sub pylum : Vertebrata
Class : Mammalia
Ordo : Rodentia
Family : Muridae
Genus : Mus
Species : *Mus musculus*



Gambar 2.1 *Mus musculus* (Akbar, 2010)

Mencit (*Mus musculus*) memiliki ciri-ciri berupa bentuk tubuh kecil, berwarna putih seperti yang terlihat pada **gambar 2.1**. Kondisi ruang untuk pemeliharaan mencit (*Mus musculus*) harus selalu bersih, kering dan jauh dari kebisingan. Suhu ruang pemeliharaan juga harus dijaga kisarannya antara 18-19°C serta kelembaban udara antara 30-70%. Mencit jantan dewasa dengan umur 35-60 hari memiliki berat badan 18-35 g. Lama hidupnya 1-2 tahun, dapat mencapai 3 tahun. Jumlah anak mencit rata-rata 6-15 ekor dengan berat lahir antara 0,5-1,5 g, umur dewasa kelamin sekitar 4-6 minggu (Akbar, 2010).

Kebutuhan pakan mencit berkisar antara 4-5 g/ekor/hari, sedangkan kapasitas lambung mencit adalah 1 ml. Kebutuhan nutrisi standart mencit yaitu 20-25% protein, 5-10% lemak, 2,5% serat kasar dan 45-60% karbohidrat (Kusumawati, 2004).

Mencit dapat digunakan dalam penelitian karena pertimbangan hewan tersebut memiliki beberapa keuntungan yaitu apabila dibandingkan dengan mamalia lainnya mencit memiliki daya reproduksi yang tinggi. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan mencit yang berumur 2-3 bulan berjenis kelamin jantan. Menurut Ganong (2005) mencit jantan memiliki hormon estrogen yang sedikit, sehingga tidak dapat mempengaruhi perlakuan. Kondisi biologi mencit jantan lebih stabil dari mencit betina yang kondisinya dipengaruhi oleh hormon dan masa siklus estrus (Muliani, 2011). Kadar kolesterol mencit normalnya berkisar antara 26,0 – 82,4 mg/dL, sedangkan kadar trigliserida mencit normalnya berkisar antara 142 – 171 mg/dL (Kusumawati, 2004).

2.3 Daun Suji (*Pleomele angustifolia*)

2.3.1 Taksonomi Daun Suji

Kedudukan taksonomi tanaman suji menurut Sari (2005) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotiledoneae
Sub kelas	: Liliidae
Ordo	: Liliales
Family	: Liliaceae
Genus	: <i>Pleomele</i> atau <i>Dracaena</i>
Spesies	: <i>Pleomele angustifolia</i> atau <i>Dracaena angustifolia</i> N. E.B

2.3.2 Morfologi

Daun suji (*Pleomele angustifolia*) sudah sejak lama digunakan sebagai pewarna alami. Tanaman ini merupakan tanaman tropis, aman dikonsumsi, dan memiliki flavor yang mild. Suji tumbuh tersebar dari India, Birma (Myanmar), Indo-Cina, Cina bagian selatan, Thailand, Jawa, Filipina, Sulawesi, Maluku, New Guinea dan Australia bagian utara. Suji tumbuh subur hingga ketinggian 1000 mdpl dan menyukai daerah pegunungan atau dekat aliran air (sumur, sungai kecil). Tanaman ini sudah banyak ditanam di pekarangan rumah penduduk atau ditanam sebagai pagar hidup, namun belum ditanam dalam skala besar atau perkebunan (Sari, 2005).



Gambar 2.2 Daun Suji (Sari, 2005)

Tanaman daun suji berwarna hijau dengan ujung runcing seperti terlihat pada **gambar 2.2**. Daun suji termasuk tanaman perdu serta memiliki daun tunggal berseling dengan ujung meruncing dengan panjang 16-20 cm dan lebar 3-4 cm seperti yang dijelaskan pada **tabel 2.3**.

Tabel 2.3 Deskripsi tanaman daun suji (*Pleomele angustifolia*)

Bagian	Deskripsi
Habitus	Perdu
Batang	Tegak, berkayu, beralur melintang
Daun	Tunggal berseling, lanset ujung meruncing, panjang 16-20 cm, lebar 3-4 cm, pertulangan sejajar, hijau tua.
Bunga	Majemuk, di ujung cabang, bentuk tandan, putih keunguan.
Buah	Bulat, diameter \pm 1 cm, hijau.
Biji	Bulat, putih bening.
Akar	Tunggang, putih kotor.

Sumber : Sari (2005).

Daun suji (*Pleomele angustifolia*) banyak digunakan sebagai bahan pewarna hijau pada makanan. Selain memberikan pewarna hijau, daun suji juga memberikan aroma harum yang khas. Akar tanaman suji digunakan untuk mengatasi gonorrhoe, daunnya digunakan sebagai obat luar untuk mengatasi beri-beri dan getah daun digunakan untuk menebalkan rambut. Daunnya juga digunakan untuk mewarnai minyak sayur dan menghijaukan makanan serta getah daunnya digunakan sebagai zat warna untuk mengecat. Pucuk yang direbus dari tanaman *Pleomele angustifolia* dimakan sebagai sayuran. Tanaman ini terkenal sebagai tanaman hias dan sebagai tanaman pagar. Daun *Pleomele angustifolia* juga berkhasiat sebagai obat beri-beri dan akarnya sebagai obat kencing nanah (Sari, 2005).

2.3.3 Kandungan Daun Suji

Daun suji juga memiliki fungsi fisiologis bagi tubuh. Prangdimurti (2005) menyatakan bahwa daun suji memiliki efek antioksidan dan daya

hipokolesterolemik dalam sistem pencernaan *in vivo* tikus Sprague Dawley. Efek ini dikarenakan kandungan klorofilnya yang tinggi. Daun suji merupakan tanaman tropis, aman dikonsumsi. Daun suji juga mengandung saponin dalam jumlah banyak serta flavonoid .

1. Flavonoid

Flavonoid termasuk senyawa fenolik dan merupakan salah satu senyawa antioksidan, zat aktif flavonoid yang terkandung dalam daun suji adalah kuersetin. Kuersetin adalah senyawa turunan dari flavonoid yang termasuk senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam (Prangdimurti, 2007). Kadar kuersetin total dari ekstrak daun suji yang diuji menggunakan kromatografi lapis tipis adalah 28,89%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun suji mengandung senyawa flavonoid yang cukup tinggi (Aldi *et al*, 2015).

Flavonoid merupakan antioksidan yang potensial untuk mencegah pembentukan radikal bebas. Flavonoid memiliki efek dapat menurunkan kadar kolesterol (Roza *et.al*, 2007). Flavonoid berfungsi meningkatkan kadar vitamin C dalam sel, menekan tingkat kerusakan pada pembuluh darah dan melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas (Lau, 2009). Kuersetin merupakan salah satu senyawa antioksidan yang mampu menghambat terbentuknya LDL-oks yang menempel pada endotel dengan menangkap radikal bebas (Agrawal, 2011). Kuersetin menangkap radikal bebas dengan cara melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya. Pemberian atom hidrogen ini akan menyebabkan radikal bebas menjadi stabil dan berhenti melakukan gerakan ekstrim, sehingga tidak merusak lipid, protein dan DNA (Lee *et al.*,2005). Asmariansi dan Probosari

(2012) menjelaskan bahwa flavonoid sebagai antioksidan berperan dalam menekan terjadinya oksidasi LDL sebagai hasil reaksi inflamasi. Flavonoid juga dapat berperan sebagai antioksidan yang dapat menekan pelepasan radikal O_2 yang reaktif sehingga menekan terjadinya kerusakan sel endotel dengan menghambat inisiasi dari reaksi rantai oksidasi dan sebagai anti inflamasi yang dapat menghambat reaksi inflamasi.

Flavonoid menurut Prangdimurti (2007) dapat menurunkan kadar kolesterol terutama trigliserida dengan meningkatkan aktivitas *lipoprotein lipase* yang berperan dalam hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas yang dapat digunakan tubuh, sehingga sisa kilomikron yang masuk ke hepar lebih sedikit.

Flavonoid sebagai antioksidan dalam meningkatkan kadar HDL dengan cara meningkatkan aktivitas LCAT (*Lechitin Cholesterol Acyl Transferase*). LCAT merupakan enzim yang dapat mengkonversi kolesterol bebas menjadi ester kolesterol yang lebih hidrofobik, sehingga dapat berikatan dengan partikel lipoprotein untuk membentuk HDL baru (Aprilia, 2010).

2. Saponin

Saponin mengandung busa stabil apabila dilarutkan dalam air, sehingga dapat mempengaruhi substans yang larut dalam lemak pada pencernaan. Saponin mempunyai sifat pengemulsi yang dapat menstabilkan antar minyak dan air serta mempunyai kapasitas yang tinggi untuk melarutkan monogliserida. Berdasarkan aktivitas tersebut saponin dikatakan dapat meningkatkan emulsifikasi pada pencernaan (Cheeke, 2001).

Menurut Roza *et.al* (2007) saponin memiliki efek dapat menurunkan kadar kolesterol. Saponin yang ada pada daun suji akan mengikat lemak yang terdapat dalam lumen usus dan membentuk senyawa kompleks yang tidak larut dan tidak dapat diserap oleh mukosa usus dan kemudian diekskresikan lewat feses (Hu *et al.*, 2004).

3. Klorofil

Klorofil merupakan pigmen hijau yang ditemukan pada tanaman. Klorofil mempunyai kemampuan yang unik dalam mengkonfersi energi matahari di dunia menjadi energi kimiawi melalui fotosintesis serta tumbuhan membuat karbohidrat dari CO² dan air melalui fotosintesis ini. Daun suji memiliki kandungan klorofil di atas rata-rata klorofil daun. Rata-rata daun memiliki kandungan klorofil sebesar 1%, sedangkan daun suji memiliki klorofil sebesar 1,4% (basis kering). Perhitungan basis basah kandungan klorofil daun suji adalah sebesar 73,25% atau sebesar 3773,9 ppm. Klorofil berperan sebagai zat warna hijau pada daun ini. Klorofil ini larut dalam lipida dan air, dan cukup sensitif terhadap panas (Prangdimurti, 2007).

Menurut Prangdimurti (2005), klorofil yang terkandung dalam daun suji menunjukkan kemampuan antioksidatif secara *in vitro* dan *ex vivo*, serta daya hipokolesterolemik secara *in vivo*. Hsu *et al.*,(2005) menjelaskan klorofil terdiri dari kompleks porifin dan fitol. Porifin merupakan senyawa siklik yang dibentuk melalui gabungan 4 cincin pirol dan sifat-sifat fotodinamik pada porifin dapat digunakan pada pengobatan tipe kanker tertentu. Fitol adalah suatu jenis alkohol yang bersifat hidrofobik, menyebabkan molekul ini efektif mengikat lemak dan

mengeluarkannya melalui sistem ekskresi. Hal ini menyebabkan penurunan kadar timbunan lemak dalam darah.

2.4 Diet Lemak Tinggi

Hiperlipidemia pada hewan coba dilakukan dengan diet lemak tinggi dengan komposisi kuning telur 10% dan lemak babi 5%, kemudian ditambah kan pakan standart hingga 100%. Berdasarkan penelitian yang sebelumnya menyatakan bahwa pemberian komposisi pakan diet tinggi lemak dengan komposisi kuning telur puyuh 10% dan lemak babi 5% pada tikus putih mampu menaikkan kadar kolesterol sebesar 91% dan menaikkan kadar trigliserida sebesar 87% mulai pada hari ke-14 (Hendra *et al.*, 2011).

Lemak yang digunakan berasal dari minyak babi yang setiap 100 gram mengandung asam palmitat (16:0) 26 g, asam stearat (18:0) 14 g, asam oleat (18:1) 44 g, asam linoleat (18:3) 10 g (Zamora, 2005). Minyak babi pada usus mencit (*Mus musculus*) akan diresintesis menjadi trigliserida dan didistribusikan dalam bentuk kilomikron (Gibney *et al.*, 2002). Pemberian kuning telur untuk meningkatkan kadar kolesterol serum. Telur merupakan sumber kolesterol yang tinggi karena setiap 10 g kuning telur puyuh mengandung 3640 mg kolesterol. (Umami,2009).

Pemberian diet lemak tinggi dapat menghambat aktifitas enzim LCAT, dimana LCAT merupakan enzim yang berfungsi untuk mengkonversi kolesterol bebas menjadi kolesterol ester agar dapat berikatan dengan apolipoprotein untuk membentuk HDL baru. Sehingga apabila kerja LCAT dihambat, maka akan

menghambat pembentukan HDL baru, sehingga kolesterol dalam LDL tidak mampu dibawa HDL kembali ke hepar (Lewis *et al*, 2005).

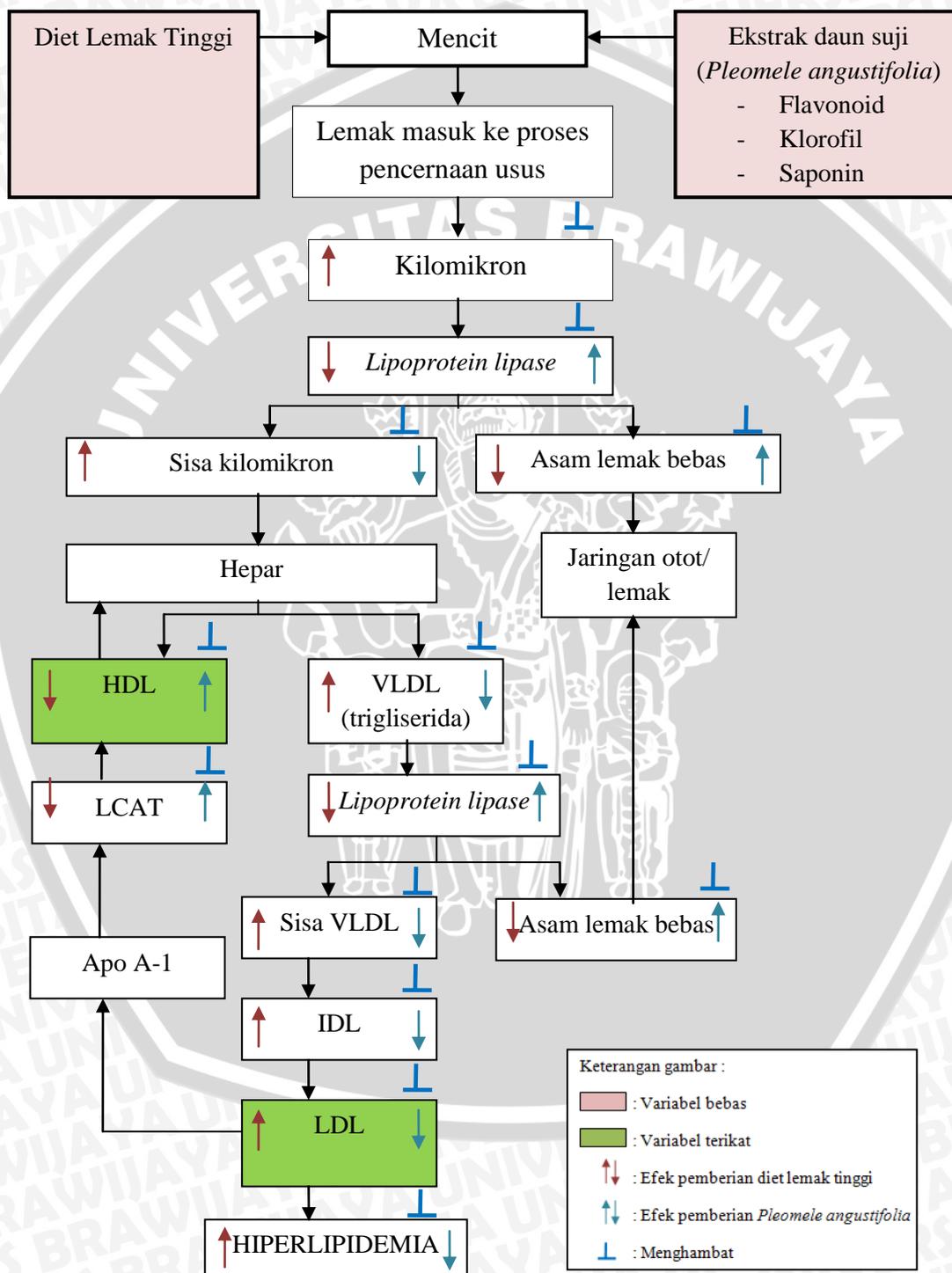
Diet lemak tinggi dapat menyebabkan hiperlipidemia yang ditandai dengan peningkatan kadar LDL dalam darah, dimana LDL merupakan lipoprotein yang paling banyak mengandung kolesterol. Sebagian kolesterol dalam LDL akan dibawa ke hepar dan jaringan lainnya yang mempunyai reseptor untuk LDL dan sebagian lagi akan mengalami oksidasi. Untuk pada kondisi hiperlipidemia tubuh berusaha menyeimbangkan kolesterol LDL dengan cara mengubah kolesterol yang ada di hepar menjadi asam empedu. Semakin banyak kadar kolesterol LDL dalam plasma makin banyak yang akan mengalami oksidasi dan ditangkap oleh sel makrofag (Murray, 2003). Pada kondisi hiperlipidemia tubuh berusaha menyeimbangkan kadar LDL dengan cara mengubah kolesterol yang ada di hepar menjadi asam empedu. Reaksi tersebut dikatalisis oleh 7 α -hidroksilase, yakni suatu enzim mikrosomal yang memerlukan oksigen, NADPH dan sitokrom P-450 oksidase dalam mensintesis empedu. Ikatan antara oksigen dan NADPH akan menghasilkan anion superoksidasi (O_2^-), dan sitokrom P-450 sebagai katalisator akan mempercepat terbentuknya anion superoksidasi (O_2^-). Semakin meningkatnya sintesis asam empedu, maka kebutuhan oksigen, NADPH dan sitokrom P-450 juga semakin meningkat, sehingga menyebabkan peningkatan pembentukan radikal bebas anion superoksidasi atau ROS. *Reactive Oxygen Species* ini akan mengoksidasi LDL menjadi LDL-oksidasi (Wresdiyati; et al, 2006).

Kadar kolesterol tinggi dan pekat di dalam darah akan menyebabkan kolesterol lebih banyak melekat pada dinding pembuluh darah pada saat transportasi dilakukan. Kolesterol yang melekat perlahan-lahan akan mudah melakukan tumpukan-tumpukan lalu mengendap pada dinding pembuluh darah sehingga dapat menyebabkan pengecilan diameter pembuluh darah dan kerusakan sel endotel pembuluh darah. Kerusakan endotel terjadi akibat adanya respon inflamasi akibat LDL oksidasi. Kerusakan sel endotel menyebabkan penurunan fungsi sel endotel dalam mensintesa lipoprotein lipase (Davis, 2005).

Menurut Mansjoert *et al* (2005), kerusakan sel endotel akan menyebabkan terjadi penyakit arterosklerosis atau penumpukan lemak dalam arteri. Penumpukan lemak dalam arteri nantinya diikuti dengan trombus pada pembuluh darah sehingga menyebabkan stenosis aorta pada pembuluh darah dan akhirnya menyebabkan terjadinya gangguan penyakit kardiovaskular.

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Pemberian pakan diet tinggi lemak secara terus menerus yaitu lemak babi dan kuning telur dapat menyebabkan terjadinya hiperlipidemia. Hiperlipidemia adalah peningkatan semua komponen lipid meliputi kolesterol dan trigliserida. Lemak yang masuk ke dalam tubuh akan langsung menuju ke proses pencernaan usus. Lemak terdiri dari kolesterol, trigliserida, fosfolipid yang tidak larut dalam darah. Lemak akan berikatan dengan apoprotein yang disebut lipoprotein agar dapat larut dalam darah. Di dalam usus, lemak dikemas dalam bentuk kilomikron agar dapat diangkut ke dalam jaringan. Karena lemak dalam usus tinggi, juga akan menyebabkan peningkatan kilomikron, peningkatan kilomikron tidak diikuti dengan peningkatan enzim LPL (*Lipoprotein lipase*), dimana enzim LPL berfungsi untuk hidrolisis trigliserida di kilomikron menjadi asam lemak bebas dan sisa kilomikron. Sehingga akan menyebabkan penurunan produksi asam lemak bebas yang masuk ke jaringan otot dan jaringan adiposa, asam lemak bebas nantinya akan digunakan sebagai energi dan menyebabkan peningkatan sisa kilomikron yang masuk ke hepar.

Dalam hepar, kilomikron disintesa menjadi VLDL dan ApoB dan menjadi HDL oleh Apo A-I dan Apo A-II. Peningkatan VLDL menyebabkan peningkatan IDL diikuti dengan peningkatan LDL. *Low Density Lipoprotein* (LDL) berfungsi untuk mengedarkan kolesterol ke sel dan jaringan untuk dipecah menjadi energi atau disimpan. Kelebihan LDL akan dibawa kembali lagi ke hepar oleh HDL dengan bantuan LCAT untuk dikatabolisme dan dieksresi di hepar. Peningkatan LDL menyebabkan LDL tidak terkompensasi semua untuk dibawa ke hepar oleh HDL, sehingga kadar LDL tinggi dalam darah. Penurunan kadar HDL dalam

darah disebabkan karena pemberian diet lemak tinggi secara terus menerus yang dapat meningkatkan jumlah radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas nantinya akan menghambat kerja dari Apo A-1, dimana Apo A-1 merupakan apolipoprotein yang membantu dalam pembentukan HDL baru, sehingga apabila aktivitas dari Apo A-1 dihambat maka akan terjadi penurunan pembentukan HDL. Peningkatan jumlah LDL dalam darah serta penurunan jumlah HDL akan menyebabkan terjadinya hiperlipidemia.

Daun suji (*Pleomele angustifolia*) mengandung antioksidan yaitu flavonoid, saponin dan klorofil yang dapat mempengaruhi beberapa reaksi dalam tubuh. Pemberian daun suji pada mencit (*Mus musculus*) dilakukan sebagai tindakan pencegahan (preventif) terhadap hiperlipidemia. Pemberian preventif ekstrak daun suji yang mengandung saponin dan klorofil dapat mengikat lemak yang ada dalam usus, sehingga pembentukan lemak jadi kilomikron jumlahnya menjadi lebih sedikit. Flavonoid yang terkandung dalam daun suji dapat menghambat peningkatan kadar kolesterol tubuh terutama kadartrigliserida, dengan cara meningkatkan aktivitas enzim LPL (*lipoprotein lipase*) yang berperan dalam proses hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas. Sehingga akan meningkatkan produksi asam lemak bebas dan menghambat peningkatan sisa kilomikron, yang nantinya akan diikuti dengan menghambat peningkatan VLDL dan diikuti penghambatan peningkatan LDL dalam darah. Penghambatan peningkatan jumlah LDL juga dipengaruhi karena penghambatan penurunan kadar HDL. Flavonoid sebagai antioksidan mampu menghambat penurunan kadar HDL dengan cara meningkatkan aktivitas LCAT (*Lechitin Cholesterol Acyl*

Transferase). LCAT merupakan enzim yang dapat mengkonversi kolesterol bebas menjadi ester kolesterol yang lebih hidrofobik, sehingga dapat berikatan dengan partikel apolipoprotein untuk membentuk HDL baru. Antioksidan juga dapat menghambat penurunan kadar HDL dengan cara meningkatkan produksi Apo A1. Apo A1 bertugas sebagai kofaktor enzim untuk LCAT serta sebagai ligand untuk interaksi dengan reseptor lipoprotein dalam jaringan HDL, sehingga dapat menghambat penurunan kadar HDL serum. Flavonoid juga dapat berperan sebagai antioksidan yang dapat menekan pelepasan radikal O_2 yang reaktif sehingga menekan terjadinya kerusakan sel endotel serta menekan terjadinya oksidasi LDL sebagai hasil reaksi inflamasi.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah ada, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah sebagai berikut ini :

1. Pemberian ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) dapat menghambat peningkatan kadar LDL pada mencit (*Mus musculus*) setelah diinduksi dengan diet lemak tinggi.
2. Pemberian ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) dapat menghambat penurunan kadar HDL pada mencit (*Mus musculus*) setelah diinduksi dengan diet lemak tinggi.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Universitas Muhammadiyah Malang, Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan UPT. Materia Medica Batu. Waktu penelitian yaitu pada bulan April sampai Juni 2016.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang hewan coba mencit berupa bak plastik dan tutup kandang dari kawat, botol minum mencit, *box* pakan, sekam berupa parutan kayu halus, tempat makan mencit, alat sonde lambung mencit, *glove*, masker, *disposable syringe* 1 ml, *disposable syringe* 3 ml, timbangan digital, gelas ukur, kompor listrik, toples bertutup, corong gelas, botol, tabung erlenmeyer, *rotary evaporator*, *shaker* digital, kamera digital, *cholesterol test strip*, *centrifuge*, tabung *vacutainer* tutup merah, tabung *ependorf*, Spektrofotometer, *bekker glass* dan mortir.

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan, ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*), lemak babi, kuning telur, *aquadest*, alkohol 70%, etanol 70%, kapas, pakan normal mencit BR-1 *Comfeed*, serum darah mencit, HDL *cholesterol* kit, *cholesterol* kit, LDL *cholesterol* kit.

4.3 Tahapan Penelitian

1. Kerangka penelitian dan preparasi hewan model mencit.
2. Perhitungan dosis daun suji.
3. Pembuatan ekstrak daun suji.
4. Pemberian ekstrak daun suji sebagai pencegahan hiperlipidemia pada mencit.
5. Pemberian diet hiperlipidemia dan pemberian ekstrak daun suji.
6. Pengukuran kadar kolesterol total menggunakan alat *test strip cholestrerol*.
7. Pembedahan dan pengambilan serum darah mencit.
8. Pengukuran kadar HDL dan LDL.
9. Analisis data.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Kerangka Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba dalam penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dapat dilihat pada **tabel 4.1**.

Tabel 4.1. Rancangan Kelompok Penelitian

Kelompok perlakuan	Keterangan
Kelompok K-	kontrol negatif
Kelompok K+	Mencit dengan diet lemak tinggi
Kelompok P.1	Mencit dengan ekstrak daun suji 600 mg/kg BB + diet lemak tinggi
Kelompok P.2	Mencit dengan ekstrak daun suji 900 mg/kg BB + diet lemak tinggi
Kelompok P.3	Mencit dengan ekstrak daun suji 1200 mg/kg BB + diet lemak tinggi

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : preventif ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) (600 mg/kg BB, 900 mg/kg BB, 1200 mg/kg BB) dan induksi diet lemak tinggi

Variabel terikat : Kadar LDL darah dan kadar HDL darah

Variabel kontrol : Mencit jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 20-30 g, kandang mencit, pakan normal BR-1 *comfeed*.

Sampel penelitian menggunakan mencit sebagai hewan percobaan. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan mencit jantan sejumlah 20 ekor, berumur 2-3 bulan dan berat badan 20-30 g. Hewan coba diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari untuk menyesuaikan kondisi di laboratorium.

Penentuan jumlah sampel minimal menggunakan rumus statistik seperti berikut (Kusriningrum, 2008) :

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

Perhitungan banyaknya ulangan sebagai berikut :

		Keterangan
$P(n-1) \geq 15$		
$5(n-1) \geq 15$		P : Jumlah kelompok perlakuan
$5n - 5 \geq 15$		n : Jumlah ulangan yang diperlukan
$5n \geq 20$		
$n \geq 4$		

Berdasarkan perhitungan statistik dalam penelitian ini menggunakan 20 ekor mencit yang terdiri dari 5 kelompok perlakuan, dan menggunakan 4 ulangan yang berarti dalam 1 kelompok perlakuan terdapat 4 ekor mencit.

4.4.2 Persiapan Hewan Percobaan

Persiapan adaptasi mencit dilakukan sebagai tindakan penyesuaian keadaan mencit terhadap lingkungan laboratorium. Penyesuaian tersebut dilakukan selama 7 hari dengan pemberian pakan BR-1 *comfeed* dan minum secara *ad libitum* tanpa diberikan perlakuan tambahan apapun. Mencit kemudian dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdapat 4 mencit di dalamnya. Kandang mencit berukuran 17,5 cm x 23,75 cm x 17,5 cm berbahan plastik dengan tutup besi serta lantai kandang yang mudah dibersihkan. Perawatan mencit dilakukan di Laboratorium Biomedik FK UMM.

Pemberian pakan selama masa adaptasi berupa pakan standar sesuai kebutuhan yaitu 4-5 gram/ekor/hari dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Kebutuhan basal lemak mencit adalah sebesar 5-10%. Adapun kandungan dari BR-1 *Comfeed* yaitu 20-22 % protein, 5-7% lemak, 3 % serat kasar, 5-7% abu, 0,9-1,1% Ca dan phosphor 0,6-0,8%. Mencit dikandangkan sesuai kelompok perlakuan dan dipelihara pada ruang bersuhu 26-27°C dengan kelembaban ruang 83%.

4.4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Suji

Pembuatan ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Menggunakan pelarut etanol yang dapat mengikat bahan aktif antioksidan yang terkandung dalam daun suji (*Pleomele angustifolia*). Proses pembuatan ekstrak etanol daun suji (*Pleomele angustifolia*) dapat dilakukan dengan 2 langkah kerja seperti yang dilakukan

dalam penelitian Musa *et al* (2007). Pembuatan ekstrak daun suji dapat dilihat di

Lampiran 4.

1. Proses Ekstraksi

Daun suji (*Pleomele angustifolia*) dipisahkan dari tangkainya, kemudian dilakukan penyortiran dan dibersihkan dari kotoran yang masih melekat. Selanjutnya, daun suji (*Pleomele angustifolia*) dikeringkan dengan cara dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40-60⁰ C. Daun suji (*Pleomele angustifolia*) yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian ditimbang dengan timbangan analitik. Daun suji (*Pleomele angustifolia*) yang sudah kering tersebut dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer berukuran 1 liter. Kemudian direndam dengan larutan etanol 70% dan dikocok di atas shaker digital dengan kecepatan 50 rpm selama ± 30 menit. Kemudian dibiarkan semalam atau 24 jam sampai mengendap. Kemudian diambil lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif yang sudah tercampur dengan penyaringan menggunakan kertas saring.

2. Proses Evaporasi

Ekstrak yang dihasilkan dievaporasi diatas waterbath selama 2 jam. Larutan etanol kemudian dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu dan ditunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung (± 2 jam). Kemudian hasil ekstraksi dimasukkan dalam botol dan disimpan pada *refrigerator*.

4.4.4 Perlakuan Menggunakan Ekstrak Daun Suji

Terapi ekstrak daun suji diberikan setiap hari selama 21 hari, mencit diberi ekstrak daun suji selama 7 hari pertama sebagai preventif tanpa diberi diet lemak tinggi. Pemberian ekstrak daun suji bersamaan dengan diet lemak tinggi dilakukan selama 14 hari setelah pemberian ekstrak daun suji pada 7 hari pertama, ekstrak daun suji diberikan 2 jam sebelum induksi diet lemak tinggi. Diberikan setelah 2 jam dikarenakan proses pengosongan lambung mencit adalah selama 2 jam, sehingga diharapkan lambung mencit sudah kosong ketika pemberian diet lemak tinggi. Perlakuan menggunakan ekstrak daun suji dibagi menjadi 3 dosis yaitu ekstrak daun suji 600 mg/kg BB, ekstrak daun suji 900 mg/kg BB, dan ekstrak daun suji 1200 mg/kg BB. Penghitungan dosis mengacu pada penelitian sebelumnya bahwa ekstrak daun suji menunjukkan dosis efektif ekstrak daun suji sebesar 900 mg/kg BB (Aldi *et al*, 2015). Perhitungan dosis preventif ekstrak daun suji dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

4.4.5 Perlakuan Mencit (*Mus musculus*) dengan Induksi Diet Lemak Tinggi

Pemberian diet lemak tinggi dilakukan dengan cara mencampurkan 10% kuning telur dengan 5% lemak babi, presentase dihitung terhadap kebutuhan normal pakan mencit yaitu 4 g/ekor/hari. Dicampurkan kuning telur yang sudah direbus dengan minyak babi yang sudah dipanaskan terlebih dahulu. Campuran lemak babi dan kuning telur tersebut diberikan secara sonde lambung menggunakan alat sonde mencit, setelah 2 jam dilakukan penyondean ekstrak daun suji. Pemberian diet lemak tinggi diberikan sebanyak 0,6 g/ekor mencit dari komposisi 0,2 g lemak babi dan 0,4 g kuning telur, diberikan selama 14 hari.

Pakan normal mencit yaitu BR-1 *Comfeed* diberikan 3,4 g/ekor mencit ke dalam tempat pakan setelah pemberian diet lemak tinggi. Perhitungan pemberian diet lemak tinggi dapat dilihat pada **Lampiran 6**. Hal ini berdasarkan penelitian Hendra *et al* (2011) bahwa pemberian kuning telur 10% dan lemak babi 5% dapat meningkatkan kadar kolesterol dan trigliserida pada hewan coba pada hari ke -14.

4.4.6 Pengambilan Serum Darah Mencit (*Mus musculus*)

Pengambilan serum darah mencit dilakukan pada hari ke-22. Pengambilan serum darah mencit diambil melalui jantung dengan menggunakan *disposable syringe* 1 ml. Darah ditampung pada tabung *vacutainer* kemudian diletakkan miring 45° dan dibiarkan mengendap pada suhu kamar selama 30 menit, kemudian dilakukan *sentrifugasi* untuk mendapatkan serum darah. Sentrifugasi dilakukan selama 15 menit pada kecepatan 1500-2000 rpm, kemudian serum yang terbentuk dipisahkan dengan endapannya menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* untuk pengukuran kadar LDL dan HDL (Megasari, 2009). Prosedur pengambilan serum darah mencit dapat dilihat pada **Lampiran 7**.

4.4.6.1 Pengukuran Kadar HDL dan LDL Mencit (*Mus musculus*)

Serum darah yang telah diambil dilakukan pengukuran kadar HDL, trigliserida, dan kolesterol total. Kadar kolesterol HDL dan LDL yang diukur didapatkan hasil dalam satuan mg/dL. Pengukuran kadar HDL dan LDL mencit (*Mus musculus*) dilakukan sesudah mencit diberikan perlakuan. Alat ukur yang digunakan adalah Spektrofotometer Biosystem S.A.Costa Brava 30.08030 dengan panjang gelombang 500 nm (Suryaatmadja dan Silman, 2006). Prosedur

pengukuran kadar HDL dan LDL serum dapat dilihat pada **Lampiran 8 dan Lampiran 9**.

4.5 Analisa Data

Data hasil pemeriksaan kadar HDL dan LDL dianalisa secara kuantitatif menggunakan uji statistik dengan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*). Uji statistik jenis *one-way ANOVA (Analysis of Variance)* dengan dengan $\alpha = 0,05$. Untuk mengetahui perbedaan lebih lanjut antar perlakuan dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Tukey (Latif, 2000).



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Preventif Ekstrak Daun Suji (*Pleomele angustifolia*) Terhadap Penghambatan Peningkatan Kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) pada Mencit (*Mus musculus*) Hasil Induksi Diet Lemak Tinggi.

Hasil pengukuran kadar LDL darah pada kelompok mencit perlakuan (**Lampiran.10**) yang dianalisis statistik menggunakan *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) 20.0 dengan uji *Oneway* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Tukey (**Lampiran.10**) menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) seperti pada (**Tabel 5.1**). Uji homogenitas menunjukkan hasil variabel dependen homogen diterima dan pada uji normalitas menunjukkan hasil distribusi normal (**Lampiran.10**). Uji *Oneway* ANOVA menunjukkan hasil signifikansi 0,000 yaitu dibawah 0,05 sehingga data yang diperoleh merupakan data yang signifikan.

Tabel 5.1 Rata-Rata Kadar LDL pada Mencit (*Mus musculus*)

Kelompok Perlakuan	Rata-rata kadar LDL (mg/dL) \pm SD	Presentase Penurunan dan Peningkatan kadar LDL pada Masing-Masing Kelompok Perlakuan (%)	
		Penurunan terhadap (K+)	Peningkatan terhadap (K-)
Kontrol negatif (K-)	12,25 \pm 0,957 ^a	-	-
Kontrol positif (K+)	28,75 \pm 2,500 ^c	-	57,4
Perlakuan 1 (P.1) dosis 600 mg/kg BB	18,00 \pm 1,633 ^b	37,4	-
Perlakuan 2 (P.2) dosis 900 mg/kg BB	14,00 \pm 0,816 ^a	51,4	-
Perlakuan 3 (P.3) dosis 1200 mg/kg BB	27,00 \pm 2,160 ^c	6,1	-

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil uji statistik *Oneway* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa data yang diperoleh adalah signifikan dengan $p < 0,05$. Pada uji Tukey menunjukkan adanya perbedaan notasi dari hasil *post hoc* uji Tukey yang ditunjukkan pada **Tabel 5.1**. Hasil uji tukey menunjukkan bahwa rata-rata kadar LDL yang terendah terdapat pada kontrol negatif. Kadar LDL pada kelompok mencit kontrol negatif merupakan kadar LDL darah mencit dalam kondisi normal. Hal ini sesuai dengan penelitian Herwiyarirasanta (2010) yang menyebutkan atasan normal kadar LDL mencit sebesar 2-27 mg/dL. Adam (2005) menjelaskan bahwa metabolisme lipid secara normal yaitu trigliserida dan kolesterol yang disintesis di hati dan disekresi ke dalam sirkulasi sebagai lipoprotein VLDL oleh apolipoprotein B-100. Dalam sirkulasi, trigliserida di VLDL mengalami hidrolisis oleh enzim *lipoprotein lipase* (LPL) menjadi asam lemak bebas dan sisa VLDL kemudian berubah menjadi IDL yang mengalami hidrolisis dan berubah menjadi LDL. Trigliserida yang banyak di VLDL bertukar dengan kolesterol ester dari LDL menghasilkan LDL yang kaya trigliserida tetapi kurang kolesterol ester. LDL berfungsi membawa kolesterol ke jaringan perifer untuk dipecah menjadi energi atau disimpan. Reseptor LDL di dalam hepar mengeluarkan LDL dari sirkulasi sehingga peran reseptor ini penting dalam pengaturan kadar kolesterol LDL dalam darah. Sehingga kadar LDL normal di dalam sirkulasi darah.

Kadar kolesterol LDL tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol positif. Rata-rata kadar LDL pada perlakuan kontrol positif menunjukkan peningkatan dibandingkan dengan perlakuan kontrol negatif. Kontrol positif adalah kelompok

mencit yang diberi diet lemak tinggi selama 14 hari tanpa pemberian preventif ekstrak daun suji sebelumnya. Persentase kadar LDL mencit hiperlipidemia mengalami peningkatan sebanyak 57,4 % terhadap mencit kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa diet lemak tinggi mampu meningkatkan kadar LDL sebagai salah satu lipoprotein penting yang berperan dalam kondisi hiperlipidemia. Hal ini sesuai dengan Prasetyo *et al* (2007) dan Hendra *et al* (2011) yang menyebutkan bahwa pemberian diet tinggi lemak pada hewan coba tikus putih mampu menaikkan kadar kolesterol total, kadar trigliserida, dan kadar LDL. Asupan pakan yang mengandung kolesterol tinggi menyebabkan terjadinya penumpukan molekul kolesterol di dalam hati (Hendra *et al*, 2011).

Hiperlipidemia pada hewan sering disebabkan oleh pola pemberian pakan terhadap hewan kesayangan dengan pakan berlemak dan kadar kolesterol tinggi yang melebihi kebutuhan tubuh sehari-hari (Lichtenstein, 2006). Larry dan Francis (2011) menyebutkan bahwa faktor-faktor yang dapat menyebabkan hiperlipidemia pada hewan antara lain yaitu obesitas, pakan tinggi lemak dan faktor genetik. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa pemberian komposisi pakan diet tinggi lemak dengan komposisi kuning telur 10% dan lemak babi 5% pada hewan coba tikus putih mampu menaikkan kadar kolesterol sebesar 91% dan menaikkan kadar trigliserida sebesar 87% (Hendra *et al*, 2011).

Pemberian diet lemak tinggi secara terus menerus dapat menyebabkan terjadinya hiperlipidemia dan meningkatkan kadar LDL darah. Lemak tinggi yang masuk ke dalam tubuh akan langsung menuju ke saluran cerna. Di dalam usus, lemak dikemas dalam bentuk kilomikron agar dapat diangkut kedalam jaringan,

karena jumlah lemak yang masuk kedalam usus tinggi maka menyebabkan peningkatan jumlah kilomikron. Sehingga menyebabkan peningkatan sisa kilomikron yang masuk kedalam hati dan penurunan produksi asam lemak bebas yang masuk ke jaringan otot dan jaringan adiposa. Di dalam hati, kilomikron disintesa menjadi VLDL dan HDL. Peningkatan VLDL menyebabkan peningkatan IDL yang diikuti dengan peningkatan LDL. Tingginya LDL menyebabkan LDL tidak terkompensasi semua untuk dibawa kembali lagi ke hati, sehingga menyebabkan kadar LDL tinggi di dalam darah (Suryaatmaja dan Silman, 2006).

Pemberian ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) memberikan pengaruh dapat menghambat peningkatan kadar LDL pada serum mencit (*Mus musculus*), hal ini ditunjukkan pada kelompok (P.1), (P.2) yang memiliki rata-rata kadar LDL yang lebih rendah dari mencit kontrol positif. Perlakuan P.1 didapatkan pada hasil uji Tukey menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif, tetapi masih terdapat perbedaan notasi hasil uji tukey terhadap kelompok kontrol negatif. Persentase kadar LDL mencit yang diberi preventif dengan dosis 600 mg/kg BB mengalami penurunan sebesar 37,4%. Hal ini menunjukkan perlakuan kelompok (P.1) dengan dosis 600 mg/kg BB mampu menghambat peningkatan kadar LDL pada hewan coba.

Pada uji Tukey kelompok (P.2) terdapat perbedaan yang sangat signifikan dengan kontrol positif, hal ini membuktikan bahwa kelompok (P.2) dapat menghambat peningkatan kadar LDL pada hewan coba yang diberi diet lemak tinggi. Persentase kadar LDL mencit yang diberi preventif dengan dosis 900

mg/kg BB mengalami penurunan sebesar 51,4%. Hal ini menunjukkan perlakuan kelompok (P.2) dengan dosis 900 mg/kg BB paling mampu dalam menghambat peningkatan kadar LDL pada hewan coba.

Penghambatan peningkatan kadar LDL hewan coba dikarenakan pemberian preventif ekstrak daun suji yang mengandung antioksidan tinggi. Pemberian preventif ekstrak daun suji yang mengandung saponin dan klorofil dapat mengikat lemak yang ada dalam usus, sehingga pembentukan lemak jadi kilomikron jumlahnya menjadi lebih sedikit (Prandimurti, 2005). Flavonoid yang terkandung dalam daun suji dapat menghambat peningkatan kadar kolesterol tubuh terutama kadar trigliserida, dengan cara meningkatkan aktivitas enzim LPL (*lipoprotein lipase*) yang berperan dalam proses hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas. Sehingga akan meningkatkan produksi asam lemak bebas dan menghambat peningkatan sisa kilomikron, yang nantinya akan diikuti dengan menghambat peningkatan VLDL dan diikuti penghambatan peningkatan LDL dalam darah. Asam lemak bebas dalam jaringan lemak dan otot nantinya akan diubah menjadi energi untuk digunakan dalam tubuh (Lamson, 2000).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok (P.3) memberikan rata-rata kadar LDL yang paling tinggi dibanding kelompok preventif lainnya. Persentase kadar LDL mencit yang diberi preventif dengan dosis 1200 mg/kg BB mengalami penurunan sebesar 6,1%. Hasil uji Tukey menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol positif. Rata-rata LDL kelompok (P.3) hampir mendekati kontrol positif, hal ini bisa disebabkan bahwa

pemberian dosis 1200 mg/kg BB kurang mampu menghambat peningkatan kadar LDL hewan coba.

Hal ini kemungkinan pada pemberian dosis 1200 mg/kg BB ekstrak daun suji menyebabkan terjadinya peningkatan aktivitas prooksidan yang berakibat toksik pada tubuh. Hal ini ditunjang dengan belum adanya penelitian mengenai LD50 dari daun suji (*Pleomele angustifolia*). Kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam daun suji yaitu flavonoid, saponin dan klorofil. Menurut Tapas *et al* (2008), flavonoid memiliki toksisitas yang sangat rendah untuk hewan. LD50 dari senyawa flavonoid sendiri adalah sebesar 2000-10.000 mg/ekor tikus. Sedangkan LD50 dari senyawa saponin adalah sebesar 200 mg/kg BB (Diwan *et al*, 2000). Menurut Murray *et al* (2006) menyebutkan bahwa besarnya konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dalam tubuh dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan sering hilang bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan.

Reaksi antioksidan yang bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi adalah sebagai berikut : (Gerster,1997)



Dalam sel normal terdapat keseimbangan oksidan dan antioksidan, namun dapat bergeser ke arah prooksidan ketika kadar antioksidan sangat tinggi sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan oksigen yang toksik atau anion superoksida atau ROS (Gordon, 1990). Peningkatan anion superoksida menyebabkan stres oksidatif sehingga menyebabkan kerusakan sel endotel dan menyebabkan

penurunan produksi enzim *lipoprotein lipase*. Penurunan enzim *lipoprotein lipase* akan diikuti dengan peningkatan sisa kilomikron sehingga menyebabkan peningkatan kadar LDL dalam darah. Sehingga pada dosis 1200 mg/kg BB tidak menunjukkan efek preventif yaitu penghambatan peningkatan kadar LDL, tetapi menunjukkan hasil yang hampir sama dengan kontrol positif.

Berdasarkan hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun suji dengan dosis 900 mg/kg BB memberikan hasil yang lebih baik dalam menghambat peningkatan kadar LDL dibandingkan dengan kelompok (P.1) dan (P.3). Hal ini dikarenakan kelompok perlakuan (P.2) memiliki rata-rata kadar LDL yang paling mendekati kelompok kontrol negatif, dan pada uji Tukey menunjukkan adanya perbedaan yang sangat signifikan ($P < 0,05$) terhadap kelompok kontrol positif.

5.2 Pengaruh Preventif Ekstrak Daun Suji (*Pleomele angustifolia*) Terhadap Penghambatan Penurunan Kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) pada Mencit (*Mus musculus*) Hasil Induksi Diet Lemak Tinggi.

Pemeriksaan kadar kolesterol HDL dilakukan pada akhir penelitian menggunakan spektrofotometer. Hasil pengukuran kadar HDL darah pada kelompok mencit perlakuan (**Lampiran.12**) yang dianalisis statistik menggunakan *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) 20.0 dengan uji *Oneway* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Tukey (**Lampiran.12**) menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) seperti pada (**Tabel 5.2**). Hasil uji homogenitas menunjukkan hasil variabel dependen homogen diterima dan pada uji normalitas menunjukkan hasil distribusi normal (**Lampiran.12**). Hasil *Oneway* ANOVA menunjukkan hasil signifikansi 0,001 yaitu dibawah 0,05 sehingga data yang diperoleh merupakan data yang signifikan.

Tabel 5.2 Rata-rata kadar HDL pada mencit (*Mus musculus*)

Kelompok Perlakuan	Rata-rata kadar HDL (mg/dL) \pm SD	Presentase Penurunan dan Peningkatan Kadar HDL pada Masing-Masing Kelompok Perlakuan (%)	
		Peningkatan terhadap (K+)	Penurunan terhadap (K-)
Kontrol negatif (K-)	181,75 \pm 14,523 ^b	-	-
Kontrol positif (K+)	148,00 \pm 10,801 ^a	-	18,6
Perlakuan 1 (P.1) dosis 600 mg/kg BB	164,00 \pm 8,756 ^{ab}	10,8	-
Perlakuan 2 (P.2) dosis 900 mg/kg BB	180,00 \pm 13,736 ^b	21,6	-
Perlakuan 3 (P.3) dosis 1200 mg/kg BB	151,75 \pm 2,754 ^a	2,5	-

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan.

Hasil uji statistik *Oneway* ANOVA pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar kolesterol HDL tertinggi terdapat pada kontrol negatif, sedangkan yang terendah terdapat pada kelompok kontrol positif. Presentase kadar HDL mencit kontrol positif mengalami penurunan sebanyak 18,6 % terhadap mencit kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian diet lemak tinggi dapat menyebabkan penurunan kadar HDL dalam serum hewan coba mencit. Diet lemak tinggi menyebabkan peningkatan jumlah kilomikron yang tidak diikuti dengan peningkatan kadar HDL. Diet lemak tinggi dapat menyebabkan penurunan HDL dengan cara menekan sintesis HDL melalui penurunan kadar apolipoprotein A-1 yang merupakan prekursor pembentukan HDL (Hairunnisa, 2008).

Pemberian ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) yang mengandung antioksidan memberikan pengaruh dapat menghambat penurunan kadar HDL pada hewan coba mencit. Hal ini ditunjukkan pada perlakuan (P.1) dan (P.2) yang memiliki rata-rata kadar HDL yang lebih tinggi dari kontrol positif. Presentase kadar HDL mencit (P.1) mengalami peningkatan sebesar 10,8% terhadap mencit kontrol positif dan hasil uji Tukey menunjukkan pada perlakuan (P.1) tidak ada perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif. Presentase kadar HDL mencit (P.2) mengalami peningkatan sebanyak 21,6% terhadap mencit kontrol positif dan hasil uji Tukey menunjukkan pada perlakuan (P.2) terdapat perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif. Hal ini berarti (P.1) dengan dosis 600 mg/kg BB ekstrak daun suji mampu menghambat penurunan kadar HDL pada hewan coba mencit tetapi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif. Sedangkan (P.2) dengan dosis 900 mg/kg BB ekstrak daun suji mampu menghambat penurunan kadar HDL pada hewan coba mencit dan menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif.

Mekanisme antioksidan flavonoid sebagai antioksidan dalam meningkatkan kadar HDL yaitu antioksidan mampu meningkatkan aktivitas LCAT (*Lechitin Cholesterol Acyl Transferase*). LCAT merupakan enzim yang dapat mengkonversi kolesterol bebas menjadi ester kolesterol yang lebih hidrofobik, sehingga dapat berikatan dengan partikel lipoprotein untuk membentuk HDL baru (Aprilia, 2010). Penelitian mengenai efek antioksidan terhadap kadar HDL didapatkan bahwa antioksidan dapat menaikkan kadar HDL, hal itu otomatis antioksidan dapat menghambat penurunan kadar HDL pada

pemberian diet lemak tinggi. Antioksidan dapat menghambat penurunan kadar HDL dengan cara meningkatkan produksi Apo A1. Apo A1 bertugas sebagai kofaktor enzim untuk LCAT serta sebagai ligand untuk interaksi dengan reseptor lipoprotein dalam jaringan HDL, sehingga dapat menghambat penurunan kadar HDL serum (Murray, 2003).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan (P.3) memberikan hasil kadar HDL yang rendah. Presentase kadar HDL mencit (P.3) mengalami peningkatan sebanyak 2,5% terhadap mencit kontrol positif dan pada uji Tukey menunjukkan pada perlakuan (P.2) menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif. Hal ini berarti perlakuan (P.1) dengan dosis 1200 mg/kg BB ekstrak daun suji kurang mampu dalam menghambat penurunan kadar HDL pada hewan coba mencit.

Hal ini kemungkinan pada pemberian dosis 1200 mg/kg BB ekstrak daun suji menyebabkan terjadinya peningkatan aktivitas prooksidan yang berakibat toksik pada tubuh. Hal ini ditunjang dengan belum adanya penelitian mengenai LD50 dari daun suji (*Pleomele angustifolia*). Kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam daun suji yaitu flavonoid, saponin dan klorofil. Menurut Tapas *et al* (2008), flavonoid memiliki toksisitas yang sangat rendah untuk hewan. LD50 dari senyawa flavonoid sendiri adalah sebesar 2000-10.000 mg/ekor tikus. Sedangkan LD50 dari senyawa saponin adalah sebesar 200 mg/kg BB (Diwan *et al*, 2000). Menurut Murray *et al* (2006) menyebutkan bahwa besarnya konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dalam tubuh dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan sering hilang bahkan antioksidan

tersebut menjadi prooksidan. Reaksi antioksidan yang bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi adalah sebagai berikut : (Gerster,1997)



Dalam sel normal terdapat keseimbangan antara oksidan dan antioksidan, namun dapat bergeser ke arah prooksidan ketika kadar antioksidan sangat tinggi sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan oksigen yang toksik atau anion superoksida (O_2^-) (Gordon, 1990). Peningkatan anion superoksida menyebabkan stres oksidatif sehingga menghasilkan radikal bebas yang akan menghambat kerja dari apolipoprotein A-1 dalam membentuk HDL baru.

Berdasarkan hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun suji dengan dosis 900 mg/kg BB memberikan hasil yang lebih baik dalam menghambat penurunan kadar HDL dibandingkan dengan kelompok (P.1) dan (P.3). Kelompok perlakuan (P.2) memiliki rata-rata kadar HDL yang paling mendekati kelompok kontrol negatif, dan pada uji Tukey menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) terhadap kelompok kontrol positif.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Preventif ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) dapat menghambat peningkatan kadar LDL pada mencit (*Mus musculus*) model hiperlipidemia hasil induksi diet lemak tinggi.
2. Preventif ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) dapat menghambat penurunan kadar HDL pada mencit (*Mus musculus*) model hiperlipidemia hasil induksi diet lemak tinggi.
3. Dosis ekstrak daun suji sebesar 900 mg/kg BB adalah dosis optimal yang dapat menghambat peningkatan kadar LDL dan menghambat penurunan kadar HDL pada mencit (*Mus musculus*) model hiperlipidemia hasil induksi diet lemak tinggi.

6.2 Saran

Diperlukan penelitian lanjutan terhadap senyawa aktif ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia*) yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang paling berperan dalam pencegahan hiperlipidemia serta penelitian lanjutan untuk mengetahui nilai toksistas LD50 daun suji (*Pleomele angustifolia*).

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, J.F.M. 2005. Meningkatkan Kolesterol HDL Paradigma Baru Penatalaksanaan Dislipidemia. *J. Med. Nus.* 26: 200-204.
- Adam, J.F.M. 2006. *Dislipidemia*. Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Agarwal, A and Stringer. 2005. Oxidative stress and antioxidants in maleinfertility: a difficult balance. *IJRM* 3:1-8.
- Akbar. B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press. Jakarta. Hal 6-7.
- Aldi. Y., Syafrudin. M dan Elisma. 2015. Aktivitas Ekstrak Daun Suji (*Dracaena angustifolia* Roxb.) sebagai Antianafilaksis Kutan Aktif pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. Vol. 01. No. 02. Hal 150-158.
- Almatsier, S. 2003. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 63-69.
- Aprila, F. 2010. Aktivitas Ekstrak Etanol Ketan Hitam untuk Menurunkan Kadar Kolesterol. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol. 5 No. 2.
- Asmariansi W.G dan Probosari. 2012. Pengaruh Pemberian Buah Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Kadar Kolesterol LDL dan HDL pada tikus *Sprague Dawley* dengan hiperkolesterolemia. *Journal of Nutriron College*. 2012;1(1): 256-268.
- Davis. 2005. Atherosclerosis an inflammatory process. *Journal Insur Med*. 2005; 37:72-5.
- Diwan, F.H., Abdel, H dan Mohammed, S.T. 2000. Effect Saponin on Mortality and Histopathological Changes In Mice. *East Mediterr Health J*. Vol : 6(2-3) : 345-51.
- Frolich, Jiri, J. H, Pritchard, P., Haydn. 2002. *A Guide for Physician: HDL*. <http://www.healthyheart.org/Education/hdl/hdl-contents.htm>(28 November 2015).
- Ganong,W.F. 2005. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Terjemahan Edisi ke-22*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Gerster. H. 1997. Vitamin A-functions, Dietary Requirements and Safety in Humans. *International Journal Vitamin Nutrition Res*. Vol 67. Hal 71-90.

- Ghosh J, Mishra TK, Rao YN, Aggarwal SK. 2006. Oxidized LDL, HDL cholesterol, LDL cholesterol levels in patients of coronary artery disease. *Journal of Indian J Clin Biochem.* 21(1):181-4.
- Gibney, M. J., Vorster, H. H., Kok, F. J. 2002. Introduction to human nutrition. In: Gibney, M. J., Vorster, H. H., Kok, F. J (eds). *Blackwell Science*. England: Oxford. 92-114.
- Gordon, M. 1990. The Mechanism of Antioxidant Action in Vitro. In Hudson. B.J.F. (Ed.) *Food Antioxidant. Elsevier Applied Science*. New York. Hal : 1-18.
- Hairunnisa, M. 2008. Pengaruh Pemberian Buah Pare (*Momordicacharantia*) Terhadap Kadar HDL dan LDL Kolesterol Serum Tikus Jantan Strain Wistar yang diberi Diet Tinggi Lemak [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Hendra, P., Wijoyo. Y, Fenty dan Dwiastuti. R. 2011. Optimasi Lama Pemberian Dan Komposisi Formulasi Sediaan Diet Tinggi Lemak Pada Tikus Betina, *Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat*. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Herwiyarirasanta, B.A. 2010. Effect of Black Soybean Extract Supplementation in Low Density Lipoprotein Level of Rats (*Rattus norvegicus*) With High Fatty Diet. *Science Article Universitas Airlangga*. Surabaya.
- Hu. J., Hendrich. Y and Murphy. P.A. 2004. Soyasaponin I and Sapogenol B have Limited Absorption by Caco-2 Intestinal Cells and Limited Bioavailability in Women. *Journal Nutr.* 134 : 1867-1873.
- Hsu, C.Y., Yang. C.M., Chao. P.Y and Hu. S.P. 2005. Effect of Chlorophyll-related Compounds on Hydrogen Peroxide Induced DNA damage Within Human Lymphocyte. *Journal Agric Food Chemistry*. Vol 53. No 7. Ppl 2746-2750.
- John, M. F. A. 2006. Dislipidemia. In: Sudoyo, A.W., Setiahadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M., Setiati, S. (eds). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid 3*. FKUI press., Jakarta.
- Kusriningrum, R.S. 2008. *Perancangan Percobaan*. Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair. Surabaya. 3:15.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Lamson. D.W and Brignall. M. 2000. Antioxidants and cancerIII: Quercetin. *Alternative Medicine Review*. Vol. 05. No.03. Hal 196-208.

- Larry P. T and Francis W.K. 2011. *Hyperlipidemia : Presence of Large Amount of Lipids in the Blood*. John Willey & Sons. New York.
- Latif, M. 2000. *Teknik Analisis Data Kuantitatif*. Makalah diklat Action Research Mahasiswa STAIN Jember.
- Lau, E. 2009. *Healty Express Super Sehat dalam 2 Minggu*. PT Gramedia Pustaka. Jakarta.
- Lee. S.J.K., Umamo., Shibamoto and Lee. 2005. Identification of Volatile Components in *Basil Ocimum basilicum* and Thyme Leaves *Thymus vulgaris* and their Antioxidant Properties. *Food Chemistry*. Vol. 91. Hal 131-137.
- Lichtenstein. A.H. 2006. *Diet and Lifestyle Recommendations Revision 2006 : A Scientific Statement From the American Heart Association Nutrition Committe*. *Circulation*. 114. Hal 82- 96.
- Malloy, M. J. and Kane J. P. 2001. Disorder of lipoprotein metabolism. In: Greenspan, F.S., and Gardner, D.G. *Basic and Clinical Endocrinology. Lange Medical Books/Mc-Graw Hill*. 721.
- Mansjoer, A., Triyanti, K., Savitri, R., Wardhani, W. I., Setiowulan, W., Tiara, A. D. 2005. Hiperlipidemia. In: Mansjoer, A., Triyanti, K., Savitri R., Wardhani, W. I, Setiowulan, W. (eds). *Kapita Selektta Kedokteran Jilid I, Edisi Ketiga*. Media Aesculapius., Jakarta.
- Mayer. D. J and Harvey. J.W. 2004. *Veterinary Laboratory Medicine : Interpretation and Diagnosis*. Shounders. Philadelphia.
- Megasari, N. 2009. Pengaruh Lama Stresdan diet Aterogenik Terhadap Pembentukan Foem Cell pada Arteri Koroner Jantung Tikus Putih (*Rattus norvegicus* galur *Sprague Dawley*) Jantan. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Muliani, H. 2011. Pertumbuhan Mencit (*Mus musculus*) Setelah Pemberian Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. Vol. XIX. No. 01. Maret 2011.
- Murray R, Daryl K. Granner. 2003. *Biokimia Harper*, edisi 25. Jakarta :Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2003
- Musa, K.Y, A. Ahmed, G. Ibrahim, O.E. Ojonugwa, M. Bisalla, H. Musa and U.H. Danmalam. 2007. Toxicity Studies on the Methanolic Extract of *Portulaca oleracea L.* (Farm. Portulacaceae). *Journal of Biological Sciences* 7(7): 1293-1295, 2007.
- Prangdimurti, E, D. Muchtadi, M.Astawan, F.R. Zakaria. 2005. The effect of extraction solution and incubation time on chlorophyll solubility and

antioxidant capacity of suji (*Pleomele angustifolia* N.E.Brown) leaf extract. *Pre-proceeding of 9th ASEAN Food Conference Jakarta*, 8-10 August 2005.

Prangdimurti. E. 2007. Kapasitas Antioksidan dan Daya Hipokolesterolemik Ekstrak Daun Suji (*Pleomele angustifolia* N.E. Brown) [Disertasi]. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Prasetyo A, Sarjadi, Pudjadi. 2007. Pengaruh Injeksi Inisial Adrenalin dan Diet Kuning Telur Terhadap Kadar Lipid, Jumlah Sel Busa, dan Ketebalan Aorta Abdominalis Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Media Medika Indonesiana* 38: 1-7.

Remillard. R. L. 2014. Hyperlipidemia. Article Clinician's Brief. Animal Health Division. Hal. 85-88.

Richardson, P. E., Machekar, M., Dashti, N., Jones, M. K., Beigneux, A., Young, S. G., et al. 2005. Assembly of lipoprotein particles containing apolipoprotein-B: structural model for the nascent lipoprotein particle. *Journal of Biophy*. 88: 2789-800.

Roza JM, Xian-Liu Z, Guthrie N. Effect of citrus flavonoids and tocotrienols on serum cholesterol levels in hypercholesterolemic subjects. *Journal of Altern Ther Health Med*13(6):44-8.

Sari. K. W. 2005. Studi Kemampuan Pengikatan Kolesterol Oleh Ekstrak Daun Suji (*Pleomele angustifolia* N.E. Brown) dalam Simulasi Sistem Pencernaan *In Vitro* [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Suryaatmadja, M. dan Silman, E. 2006. Diagnosa laboratorium kelainan lemak darah. *CDK* 30: 14-6.

Stringer, J. L. 2006. Obat-obat penurun lipid. In: Manurung, J. (ed). *Konsep Dasar Farmakologi, Edisi 3*. EGC., Jakarta, 118.

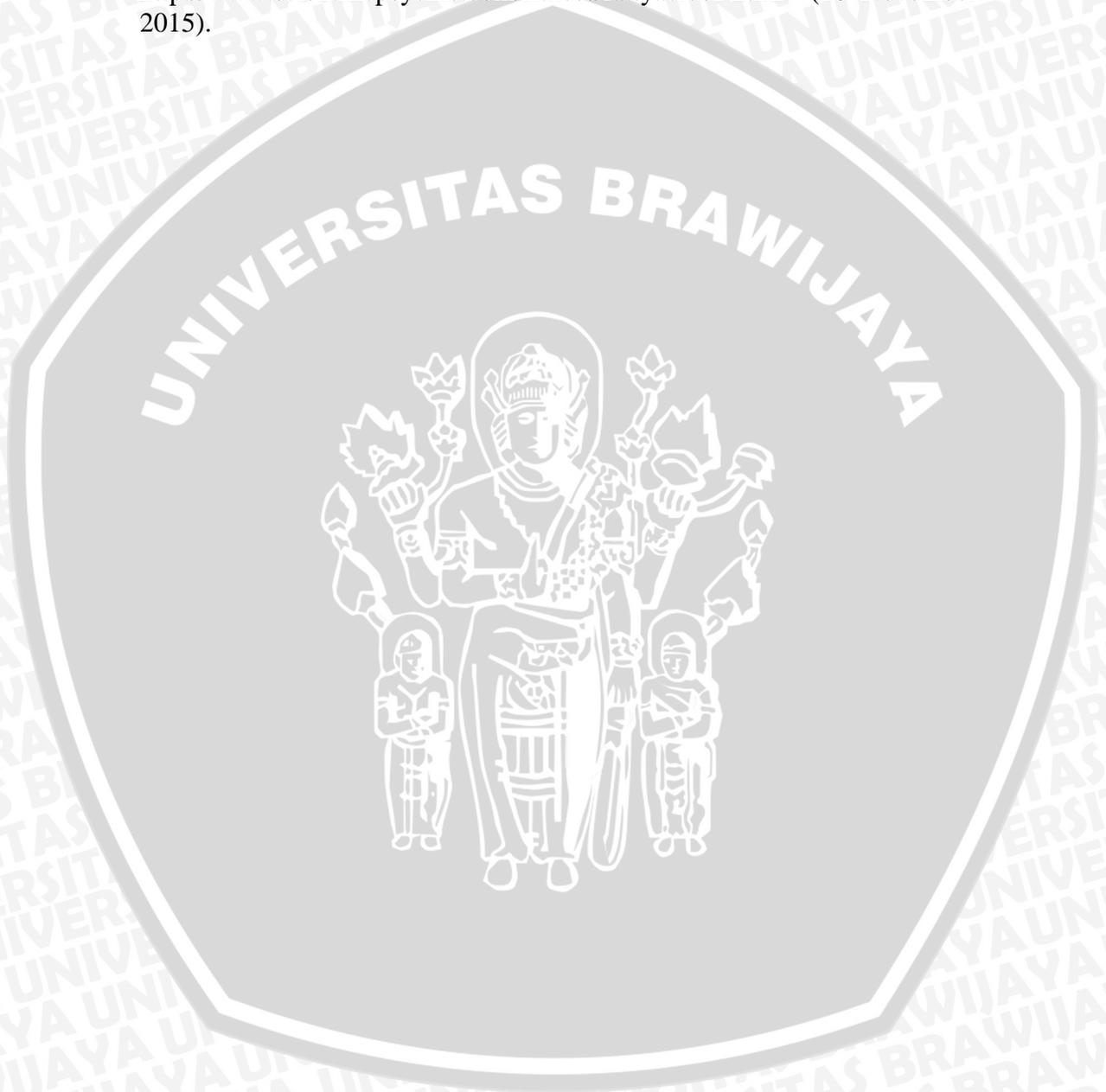
Tapas, A.R., Sakarkar, D.M and Kakde, R.B. 2008. Flavonoids as Nutraceuticals : A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. Vol : 7(3): 1089-1099.

Umami. H.M. 2009. Pengaruh Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Hiperlipidemia. *Jurnal Medika Indonesiana*. Vol. 45.

Wresdiyati. T., Astawan. M dan Hastatnti. L.Y. 2006. Profil Imunohistokimia SOD pada Jaringan Hati Tikus dengan Kondisi Hiperkolesterolemia. *Journal Hayati*. Vol. 13 No.3. Hlm. 85-89.

Xenoulis. P. 2011. Investigations Into Hyperlipidemia and its Possible Associations With Pancreatitis in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*.

Zamora, A. 2005. *Fats, Oils, Fatty Acids, Triglycerides*.
<http://www.scientificpsychic.com/fitness/fattyacids1.html> (28 November 2015).





LAMPIRAN



Lampiran 1.Laik Etik Penelitian



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 534-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN
SUJI (*Pleamele angustifolia*) SEBAGAI PREVENTIF
HIPERLIPIDEMIA TERHADAP KADAR MDA SERUM
DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI AORTA
ABDOMINALIS MENCIT

PENELITI : MELA DAMAYANTI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 25 April 2016
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001



Lampiran2. Determinasi Daun Suji (*Pleomele angustifolia*)



DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR UPT MATERIA MEDICA

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
KOTA BATU

Nomor : 074 / 145 / 101.8 / 2016
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Pandan Suji**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama/ NIM	: DEVY MAYA DILLA / 125130101111007
	: NINA SUTRISNO / 125130107111009
	: DWI ANDRI LESTARI / 125130107111006
	: DHIA KHOIRUNNISA / 125130102111002
	: MELA DAMAYANTI / 125130107111008
Fakultas	: FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman pandan suji

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Asparagales
Famili	: Ruscaceae (Dracaenaceae)
Genus	: Dracaena
Spesies	: <i>Dracaena angustifolia</i> (Medik.) Roxb.
Sinonim	: <i>Pleomele angustifolia</i> (Medik.) N.E. Br.
Nama Umum	: Suji, pandan suji, pudak.
2. Deskripsi : Habitus: Perdu, tinggi 6-8 m. Batang: Tegak, berkayu, beralur melintang, putih kotor. Daun: Tunggal, berseling, lanset, ujung meruncing, pangkal memeluk batang, tepi rata, panjang 16-20 cm, lebar 3-4 cm, pertulangan sejajar, hijau tua. Bunga: Majemuk, di ujung cabang, bentuk tandan, putih keunguan. Buah: Bulat, diameter \pm 1 cm, hijau. Biji: Bulat, putih bening. Akar: Tunggang, putih kotor.
3. Nama Simplisia : Dracaenae folium / Daun suji.
4. Kandungan kimia : Daun mengandung saponin dan flavonoid. Daun suji mengandung klorofil dalam jumlah yang tinggi.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka
 - Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/suji>, diakses tanggal 2 Mei 2010.
 - Anonim. <http://www.idionline.com/suji>, diakses tanggal 9 Januari 2010.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

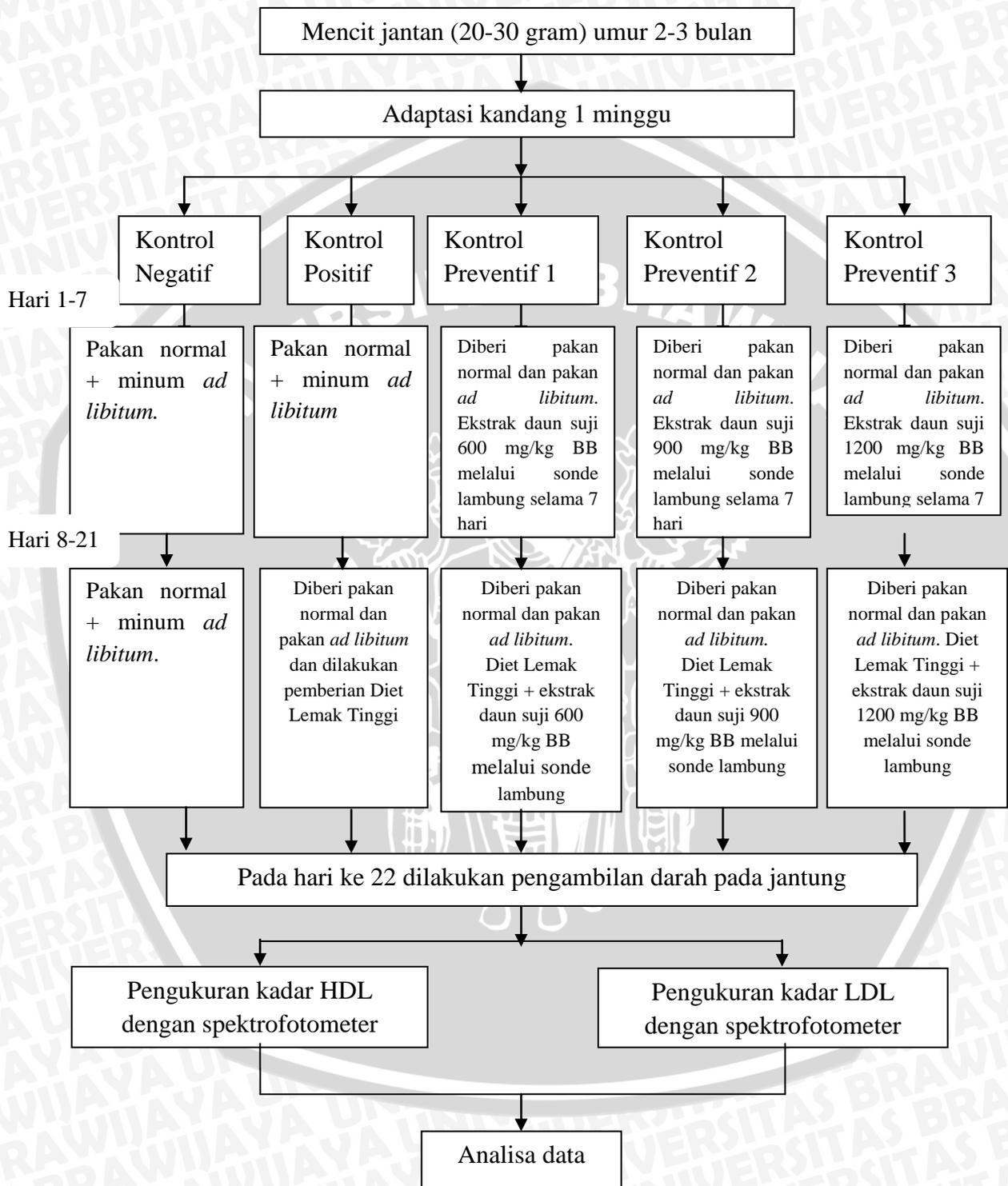
Batu, 14 Maret 2016
Kepala UPT Materia Medica Batu



Dr. Husin RM, Drs., Apt., M.Kes.
NRP.196111021991031003



Lampiran 3.Skema Kelompok Perlakuan Dan Skema Kerja Penelitian



Lampiran 4. Cara Pembuatan Ekstrak Daun Suji

1. Proses Ekstraksi

DaunSuji

- Dipisahkan dari tangkainya
- Dicuci
- Dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40-60⁰C
- Dihaluskan menggunakan blender
- Ditimbang dengan timbangan analitik
- Dimasukan ke dalam labu erlenmeyer
- Direndam dengan etanol 70%
- Dikocok selama ± 30 menit
- Didiamkan 24 jam sampai mengendap

Hasil

2. Proses Evaporasi

Lapisan atas campuran etanol 70%

- Diambil
- Dimasukan dalam labu evaporasi pada evaporator
- Dilakukan pengisian *water bath* dengan air sampai penuh dan pemasangan alat : *rotary evaporator*, pemanas *water bath* pemanas *water bath* (diatur sampai 90⁰C)
- Disambungkan dengan aliran listrik
- Dibiarkan memisah larutan etanol dengan zat aktif ekstrak daun suji
- Ditunggu aliran etanol berhenti menetas pada labu penampung (±2 jam)
- Dimasukan dalam botol
- Disimpan pada *refrigerator*

Hasil

Lampiran 5. Perhitungan Dosis Daun Suji

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Aldi *et al*(2015) daun suji belum diketahui memiliki kandungan toksin. Dosis ekstrak daun suji yang efektif pada penelitian tersebut adalah sebesar 900 mg/kg BB.

Berat badan mencit : 20 – 30 gram

$$: \text{Rata – rata} : \frac{20 + 30}{2} = \frac{50}{2} = 25 \text{ gram} = 0,025 \text{ kg}$$

Dosis Ekstrak daun suji yang diberikan : 600 mg/kg BB; 900 mg/kg BB; 1200 mg/kg BB

195 gram simplisia daun suji (*Pleomele angustifolia*) menghasilkan 24 ml ekstrak

Hasil ekstrak 24 ml = 24.000 mg

Preventif 1

Dosis : dosis x BB
 : 600 mg/kg x 0,025 kg
 : 15 mg

$$V1 \times M1 : V2 \times M2$$

$$\frac{V1}{M1} : \frac{V2}{M2}$$

$$\frac{24 \text{ ml}}{24.000 \text{ mg}} : \frac{V2}{15 \text{ mg}}$$

$$V2 : 0,015 \text{ ml}$$

Total ekstrak daun suji yang dibutuhkan pada 1 kelompok perlakuan setiap harinya adalah

$$: 0,015 \text{ ml} \times 4 \text{ ekor mencit}$$

$$: 0,06 \text{ ml} \text{ ditambahkan aquadest sampai volumenya } 0,4 \text{ ml}$$

Pemberian dilakukan dengan cara disondekan pada masing-masing mencit sebanyak 0,1 ml



Preventif 2

Dosis : dosis x BB
 : 900 mg/kg x 0,025 kg
 : 22,5 mg

$V_1 \times M_1$: $V_2 \times M_2$

$$\frac{V_1}{M_1} = \frac{V_2}{M_2}$$

$$\frac{24 \text{ ml}}{24.000 \text{ mg}} = \frac{V_2}{22,5 \text{ mg}}$$

V_2 : 0,023 ml

Total ekstrak daun suji yang dibutuhkan pada 1 kelompok perlakuan setiap harinya adalah

: 0,023 ml x 4 ekor mencit

: 0,092 ml ditambahkan aquadest sampai volumenya 0,4 ml

Pemberian dilakukan dengan cara disondekan pada masing-masing mencit sebanyak 0,1 ml

Preventif 3

Dosis : dosis x BB
 : 1.200 mg/kg x 0,025 kg
 : 30 mg

$V_1 \times M_1$: $V_2 \times M_2$

$$\frac{V_1}{M_1} = \frac{V_2}{M_2}$$

$$\frac{24 \text{ ml}}{24.000 \text{ mg}} = \frac{V_2}{30 \text{ mg}}$$

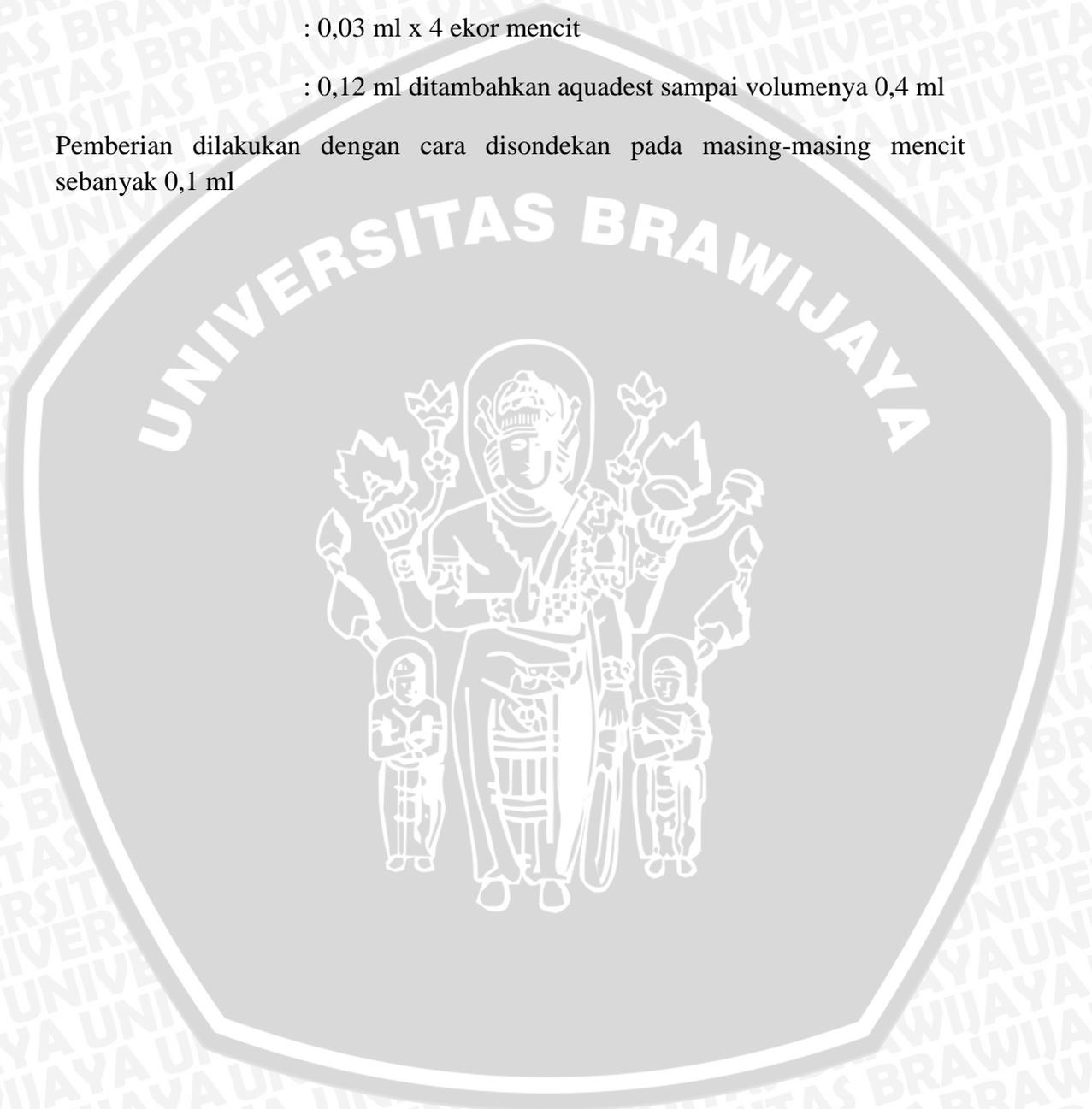
V2 : 0,03 ml

Total ekstrak daun suji yang dibutuhkan pada 1 kelompok perlakuan setiap harinya adalah

: 0,03 ml x 4 ekor mencit

: 0,12 ml ditambahkan aquadest sampai volumenya 0,4 ml

Pemberian dilakukan dengan cara disondekan pada masing-masing mencit sebanyak 0,1 ml



Lampiran 6. Perhitungan Dosis Diet Lemak Tinggi

Pemberian diet lemak tinggi untuk membuat hewan model hiperlipidemia ini berdasarkan penelitian yang dilakukan Hendra, *et al* (2011) yaitu dengan mencampurkan 10% kuning telur puyuh dan 5% lemak babi, kemudian ditambahkan pakan standar BR-1 *comfeed* hingga mencapai 100%.

Komposisi diet lemak tinggi

Kuning telur puyuh: 10%

Lemak babi : 5%

Pakan mencit : lemak babi + kuning telur puyuh + pakan BR-1 *comfeed*

100% : 5 % + 10% + pakan BR-1 *comfeed*

Pakan BR-1 *comfeed* : 100% - 15%

Pakan BR-1 *comfeed* : 85%

Kebutuhan pakan mencit kontrol negatif : 4 g/ekor/hari

Kebutuhan pakan mencit perlakuan :

Lemak babi : lemak babi (%) x kebutuhan pakan mencit

: 5 % x 4 g/ekor/hari

: 0,2 g/ekor/hari

500 gram lemak babi : 250 ml minyak babi

2 gram lemak babi : 1 ml minyak babi

0,2 gram lemak babi : 0,1 ml minyak babi/ekor/hari

Kuning telur puyuh : kuning telur puyuh (%) x kebutuhan pakan mencit

: 10% x 4 g/ekor/hari

: 0,4 g/ekor/hari

Diet Lemak Tinggi : lemak babi + kuning telur puyuh

: 0,2 g/ekor/hari + 0,4 g/ekor/hari

: 0,6 g/ekor/hari

Pakan BR-1 Comfeed: pakan standar (%) x kebutuhan pakan mencit

: 85 % x 4 g/ekor/hari

: 3,4 g/ekor/hari



Lampiran 7. Pengambilan serum darah mencit

Darah mencit

- Diambil darah dari jantung menggunakan *disposable syringe* sebanyak 1 ml
- Dimasukkan darah kedalam tabung reaksi tanpa antikoagulan
- Didiamkan tabung reaksi selama 30 menit pada suhu kamar
- Disentifugasi dengan kecepatan 1500-2000 rpm selama 15 menit
- Diambil serum menggunakan *disposable syringe*
- Dimasukkan serum kedalam tabung *ependorf*

Hasil



Lampiran 8. Penghitungan Kadar HDL

Serum Darah

- Dibuat reagen A dengan cara dimasukkan sampel 0,2 ml dan 0,5 ml reagen A (kolesterol HDL kit) ke dalam tabung reaksi.
- Diletakkan tabung reaksi pada suhu ruang selama 10 menit.
- Disentrifus campuran serum dan reagen dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit.
- Dibuat larutan blanko dengan cara dicampur 100 µl akuades dan 100 µl reagen A pada tabung reaksi.
- Dibuat larutan standart dengan cara dicampur 100 µl HDL kolesterol kit dan 100 µl reagen A pada tabung reaksi.
- Dibuat larutan sampel dengan cara dicampur 100 µl sampel serum dan 100 µl reagen A pada tabung reaksi.
- Diinkubasi larutan blanko, larutan standart dan larutan sampel pada suhu ruang selama selama 30 menit atau pada suhu 37⁰ C selama 10 menit.
- Diukur absorbansi (A) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm.
- Dibaca kadar HDL dengan rumus : $\frac{\text{Arbsorbansi sampel}}{\text{Arbsorbansi standart}} \times \text{C. standart}$
(C.standart = 52,5 mg/dL)

Hasil

Lampiran 9. Penghitungan Kadar LDL**Serum Darah**

- Dibuat reagen A dengan cara dimasukkan sampel 0,2 ml dan 0,5 ml reagen A (kolesterol LDL kit) ke dalam tabung reaksi.
- Diletakkan tabung reaksi pada suhu ruang selama 10 menit.
- Disentrifus campuran serum dan reagen dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit.
- Dibuat larutan blanko dengan cara dicampur 100 µl akuades dan 100 µl reagen A pada tabung reaksi.
- Dibuat larutan standart dengan cara dicampur 100 µl HDL kolesterol kit dan 100 µl reagen A pada tabung reaksi.
- Dibuat larutan sampel dengan cara dicampur 100 µl sampel serum dan 100 µl reagen A pada tabung reaksi.
- Diinkubasi larutan blanko, larutan standart dan larutan sampel pada suhu ruang selama selama 30 menit atau pada suhu 37⁰ C selama 10 menit.
- Diukur absorbansi (A) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm.
- Dibaca kadar LDL dengan rumus : $\frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{standart}}} \times C_{\text{standart}}$ (C.standart = 38,66 mg/dL)

Hasil

Lampiran 10. Hasil analisa data LDL

a. Data Kadar LDL

Perlakuan	Ulangan				Rata-rata	Std.dev
	I	II	III	IV		
Kontrol -	13	11	13	12	12.25	0.957
Kontrol +	26	28	29	32	28.75	2.500
Perlakuan 1	18	16	18	20	18.00	1.633
Perlakuan 2	15	14	14	13	14.00	0.816
Perlakuan 3	30	26	27	25	27.00	2.160

b. Uji normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		LDL
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	20,00
	Std. Deviation	7,064
	Absolute	,164
Most Extreme Differences	Positive	,164
	Negative	-,160
Kolmogorov-Smirnov Z		,735
Asymp. Sig. (2-tailed)		,652

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Uji descriptive

Descriptives								
LDL	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					1	4		
2	4	28,75	2,500	1,250	24,77	32,73	26	32
3	4	18,00	1,633	,816	15,40	20,60	16	20
4	4	14,00	,816	,408	12,70	15,30	13	15
5	4	27,00	2,160	1,080	23,56	30,44	25	30
Total	20	20,00	7,064	1,579	16,69	23,31	11	32



d. Uji homogenitas

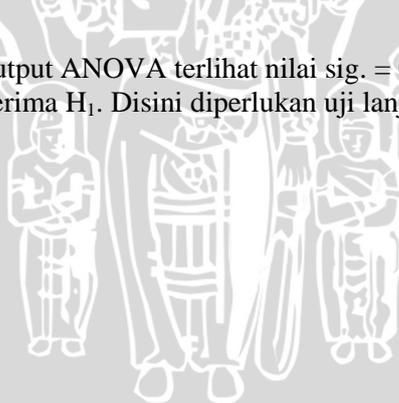
Test of Homogeneity of Variances			
LDL			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,949	4	15	,463

- Uji homogenitas berdasarkan Levene Statistic
 - H_0 = variabel homogen
 - H_1 = variabel tidak homogen
 - Pada tabel nilai sig. = 0,463 > 0,05 berarti H_0 diterima, atau asumsi variabel dependen homogen diterima

e. Uji ANOVA

ANOVA					
LDL					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	902,500	4	225,625	74,382	,000
Within Groups	45,500	15	3,033		
Total	948,000	19			

- Analisa hasil : pada output ANOVA terlihat nilai sig. = 0,000 = 0% < 5% maka H_0 ditolak atau menerima H_1 . Disini diperlukan uji lanjut yaitu menggunakan uji Tukey.



f. Uji post hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: LDL

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.0	2.0	-16.5000*	1.1030	.000	-19.906	-13.094
	3.0	-5.7500*	1.1030	.001	-9.156	-2.344
	4.0	.2500	1.1030	.999	-3.156	3.656
	5.0	-14.2500*	1.1030	.000	-17.656	-10.844
2.0	1.0	16.5000*	1.1030	.000	13.094	19.906
	3.0	10.7500*	1.1030	.000	7.344	14.156
	4.0	16.7500*	1.1030	.000	13.344	20.156
	5.0	2.2500	1.1030	.295	-1.156	5.656
3.0	1.0	5.7500*	1.1030	.001	2.344	9.156
	2.0	-10.7500*	1.1030	.000	-14.156	-7.344
	4.0	6.0000*	1.1030	.001	2.594	9.406
	5.0	-8.5000*	1.1030	.000	-11.906	-5.094
4.0	1.0	-.2500	1.1030	.999	-3.656	3.156
	2.0	-16.7500*	1.1030	.000	-20.156	-13.344
	3.0	-6.0000*	1.1030	.001	-9.406	-2.594
	5.0	-14.5000*	1.1030	.000	-17.906	-11.094
5.0	1.0	14.2500*	1.1030	.000	10.844	17.656
	2.0	-2.2500	1.1030	.295	-5.656	1.156
	3.0	8.5000*	1.1030	.000	5.094	11.906
	4.0	14.5000*	1.1030	.000	11.094	17.906

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



g. Homogeneous subsets

LDL

Tukey HSD

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4.0	4	12.000		
1.0	4	12.250		
3.0	4		18.000	
5.0	4			26.500
2.0	4			28.750
Sig.		.999	1.000	.295

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.



Lampiran 11.Perhitungan Kadar LDL pada masing-masing kelompok perlakuan

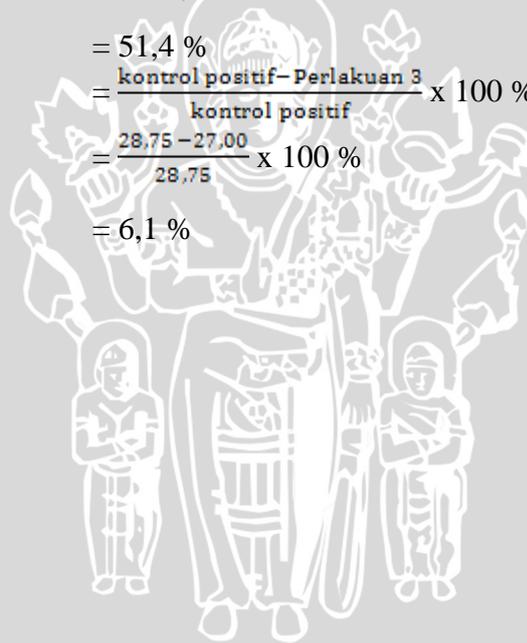
$$\text{Kontrol negatif (K-)} = -$$

$$\begin{aligned} \text{Kontrol positif (K+)} &= \frac{\text{kontrol positif} - \text{kontrol negatif}}{\text{kontrol positif}} \times 100\% \\ &= \frac{28,75 - 12,25}{28,75} \times 100\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Perlakuan 1 (P.1)} &= 57,4\% \\ &= \frac{\text{kontrol positif} - \text{Perlakuan 1}}{\text{kontrol positif}} \times 100\% \\ &= \frac{28,75 - 18,00}{28,75} \times 100\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Perlakuan 2 (P.2)} &= 37,4\% \\ &= \frac{\text{kontrol positif} - \text{Perlakuan 2}}{\text{kontrol positif}} \times 100\% \\ &= \frac{28,75 - 14,00}{28,75} \times 100\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Perlakuan 3 (P.3)} &= 51,4\% \\ &= \frac{\text{kontrol positif} - \text{Perlakuan 3}}{\text{kontrol positif}} \times 100\% \\ &= \frac{28,75 - 27,00}{28,75} \times 100\% \\ &= 6,1\% \end{aligned}$$



Lampiran 12. Hasil Analisa Data HDL

a. Data kadar HDL

Perlakuan	Ulangan				Rata-rata	Std.dev
	I	II	III	IV		
Kontrol -	190	189	188	160	181,75	14,523
Kontrol +	151	140	162	139	148,00	10,801
Perlakuan 1	152	171	170	163	164,00	8,756
Perlakuan 2	200	177	174	169	180,00	13,736
Perlakuan 3	155	149	153	150	151,75	2,754

b. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		HDL
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	165,10
	Std. Deviation	17,299
	Absolute	,120
Most Extreme Differences	Positive	,120
	Negative	-,107
Kolmogorov-Smirnov Z		,538
Asymp. Sig. (2-tailed)		,934

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Uji Descriptive

Descriptives								
HDL								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	4	181,75	14,523	7,261	158,64	204,86	160	190
2	4	148,00	10,801	5,401	130,81	165,19	139	162
3	4	164,00	8,756	4,378	150,07	177,93	152	171
4	4	180,00	13,736	6,868	158,14	201,86	169	200
5	4	151,75	2,754	1,377	147,37	156,13	149	155
Total	20	165,10	17,299	3,868	157,00	173,20	139	200



d. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

HDL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,570	4	15	,233

Uji homogenitas berdasarkan Levene Statistic

- H_0 = variabel homogen
- H_1 = variabel tidak homogen

Pada tabel nilai sig. = 0,233 > 0,05 berarti H_0 diterima, atau asumsi variabel dependen homogen diterima

e. Uji ANOVA

ANOVA

HDL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3884,300	4	971,075	8,086	,001
Within Groups	1801,500	15	120,100		
Total	5685,800	19			

- Analisa hasil : pada output ANOVA terlihat nilai sig. = 0,001 < 5% maka H_0 ditolak atau menerima H_1 . Disini diperlukan uji lanjut yaitu menggunakan uji Tukey



f. Uji Post Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HDL

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	33,750*	7,749	,004	9,82	57,68
	3	17,750	7,749	,201	-6,18	41,68
	4	1,750	7,749	,999	-22,18	25,68
	5	30,000*	7,749	,011	6,07	53,93
2	1	-33,750*	7,749	,004	-57,68	-9,82
	3	-16,000	7,749	,284	-39,93	7,93
	4	-32,000*	7,749	,007	-55,93	-8,07
	5	-3,750	7,749	,988	-27,68	20,18
3	1	-17,750	7,749	,201	-41,68	6,18
	2	16,000	7,749	,284	-7,93	39,93
	4	-16,000	7,749	,284	-39,93	7,93
	5	12,250	7,749	,530	-11,68	36,18
4	1	-1,750	7,749	,999	-25,68	22,18
	2	32,000*	7,749	,007	8,07	55,93
	3	16,000	7,749	,284	-7,93	39,93
	5	28,250*	7,749	,017	4,32	52,18
5	1	-30,000*	7,749	,011	-53,93	-6,07
	2	3,750	7,749	,988	-20,18	27,68
	3	-12,250	7,749	,530	-36,18	11,68
	4	-28,250*	7,749	,017	-52,18	-4,32

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



g. Homogenous subsets

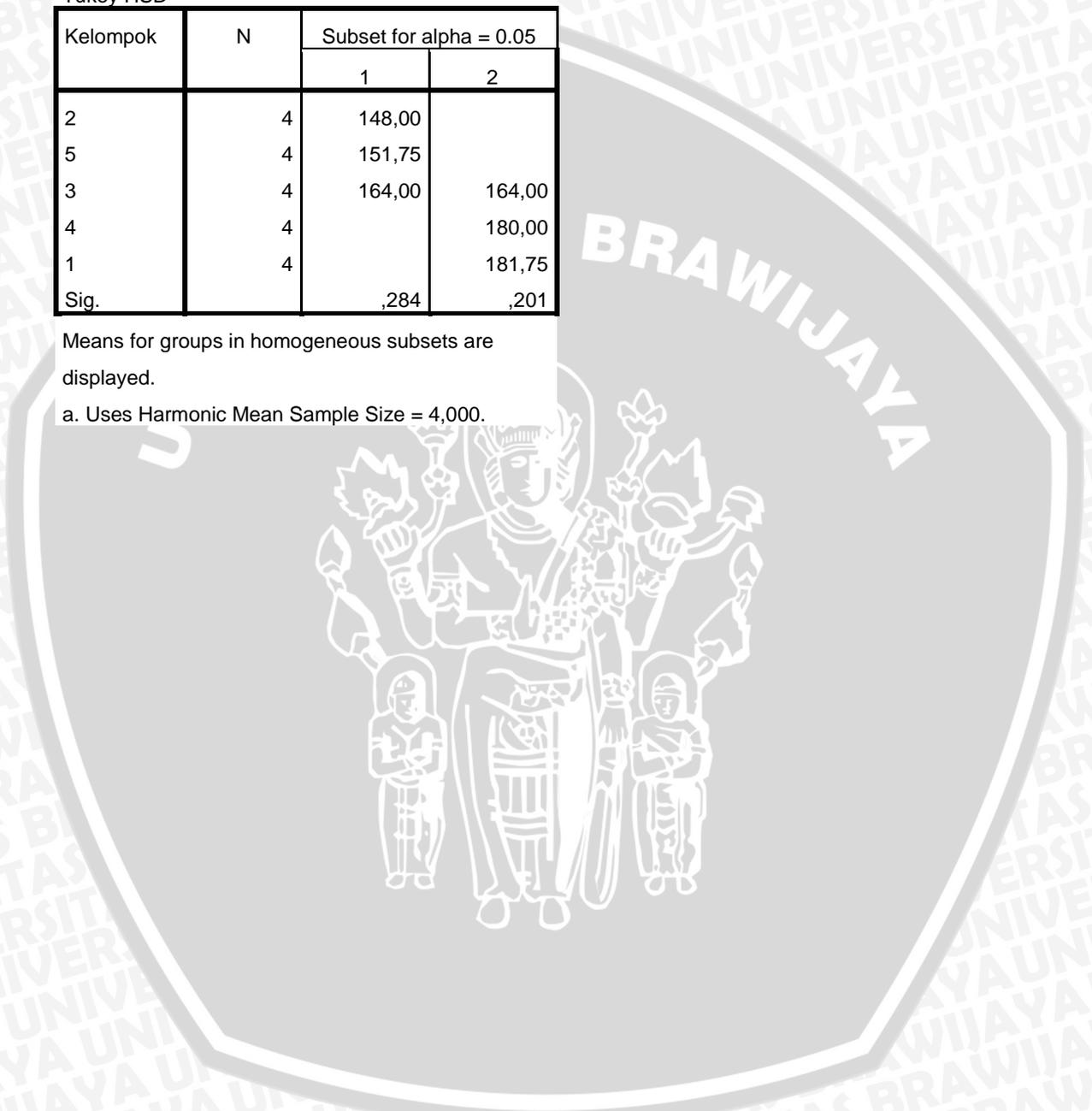
HDL

Tukey HSD

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2	4	148,00	
5	4	151,75	
3	4	164,00	164,00
4	4		180,00
1	4		181,75
Sig.		,284	,201

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.



Lampiran 13. Perhitungan Kadar HDL pada masing-masing kelompok perlakuan

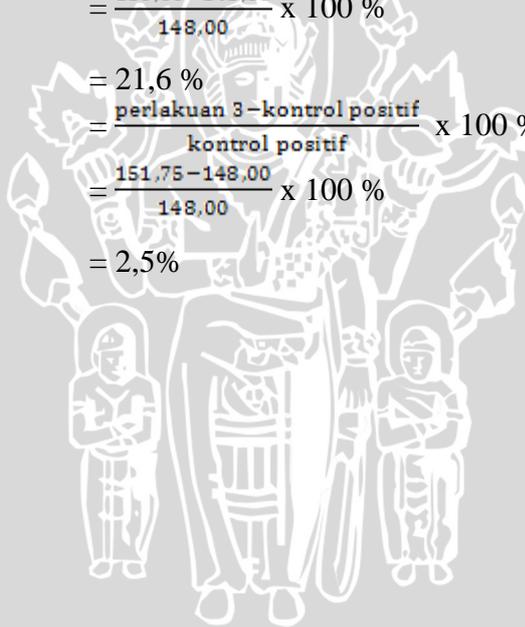
$$\text{Kontrol negatif (K-)} = -$$

$$\begin{aligned}\text{Kontrol positif (K+)} &= \frac{\text{kontrol negatif} - \text{kontrol positif}}{\text{kontrol negatif}} \times 100 \% \\ &= \frac{181,75 - 148,00}{181,75} \times 100 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Perlakuan 1 (P.1)} &= 18,6\% \\ &= \frac{\text{perlakuan 1} - \text{kontrol positif}}{\text{kontrol positif}} \times 100 \% \\ &= \frac{164,00 - 148,00}{148,00} \times 100 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Perlakuan 2 (P.2)} &= 10,8 \% \\ &= \frac{\text{perlakuan 2} - \text{kontrol positif}}{\text{kontrol positif}} \times 100 \% \\ &= \frac{180,00 - 148,00}{148,00} \times 100 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Perlakuan 3 (P.3)} &= 21,6 \% \\ &= \frac{\text{perlakuan 3} - \text{kontrol positif}}{\text{kontrol positif}} \times 100 \% \\ &= \frac{151,75 - 148,00}{148,00} \times 100 \% \\ &= 2,5\%\end{aligned}$$



Lampiran 14. Kadar Kolesterol dan Triglicerida Mencit (*Mus musculus*)

a. Pengukuran Kadar Kolesterol Mencit

Perlakuan	Ulangan				Rata-rata	Nilai Rujukan (mg/dL) (kusumawati,2004)
	I	II	III	IV		
Kontrol -	40	36	38	47	40,25	26-82,4
Kontrol +	157	138	134	140	142,25	26-82,4
Perlakuan 1	54	67	58	62	60,25	26-82,4
Perlakuan 2	47	41	39	43	42,5	26-82,4
Perlakuan 3	118	135	98	127	119,5	26-82,4

b. Pengukuran Kadar Triglicerida Mencit

Perlakuan	Ulangan				Rata-rata	Nilai Rujukan (mg/dL) (kusumawati,2004)
	I	II	III	IV		
Kontrol -	167	140	145	169	155,25	142-171
Kontrol +	237	208	198	243	221,5	142-171
Perlakuan 1	178	212	184	190	191	142-171
Perlakuan 2	172	159	155	168	163,5	142-171
Perlakuan 3	198	232	175	220	206,25	142-171