

**PERBEDAAN KADAR MDA (*Malondyaldehyde*) PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR Wistar JANTAN YANG DIBERI HIGH FAT DIET DENGAN PEMBERIAN PERASAN LEMON FINO (*Citrus limon fino*) DAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Gizi Kesehatan**



Oleh :  
**Yulia Andini M. Rasad**  
**145070307111013**

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG**

**2018**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PERBEDAAN KADAR MDA (Malondyaldehide) PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar JANTAN YANG DIBERI HIGH FAT DIET DENGAN PEMBERIAN PERASAN LEMON FINO (*Citrus limon fino*) DAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)

Oleh :

Yulia Andini M. Rasad  
145070307111013

Telah diuji pada  
Hari : Selasa  
Tanggal : 17 Juli 2018  
dan dinyatakan lulus oleh :  
Penguji I

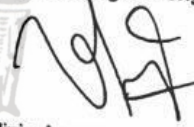
Dr. dr. Endang Sriwahyuni, MS.  
NIP. 19521008 198003 2 002

Pembimbing I/ Penguji II,



Dr. dr. Nurdiana, M.Kes  
NIP. 195510151386032001

Pembimbing II/ Penguji III,



Olivia Anggraeny, S.Gz. M. Biomed  
NIP. 2014048706052001

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Gizi



Dian Harjayani, S.K.M., M.Kes., Ph.D  
NIP. 197404022003122002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Yulia Andini M. Rasad

NIM : 145070307111013

Program Studi : Program Studi Ilmu Gizi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

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

Malang, Juni 2017

Yang membuat pernyataan,

Yulia Andini M. Rasad

NIM. 145070307111013

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah memberikan kasih dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul "Perbedaan Kadar MDA pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Jantan yang Diberi *High Fat Diet* dengan Pemberian Perasan Lemon Fino (*Citrus limon fino*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)".

Proposal Tugas Akhir ini dapat selesai karena adanya dukungan, bantuan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Dr. dr. Nurdiana, M.Kes. selaku dosen pembimbing pertama yang telah dengan sabar membimbing, memberikan saran yang bermanfaat, serta dukungan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
2. Olivia Anggraeny, S.Gz., M.Biomed. selaku dosen pembimbing kedua yang telah banyak memberikan kritik dan saran, serta bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. Dr.dr. Sri Andarini, M.Kes. sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
4. Dian Handayani, S.KM., M.Kes., Ph.D. sebagai Ketua Jurusan Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menuntut ilmu di Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

5. Intan Yusuf Habibie, S.Gz., M.Sc selaku Koordinator Tugas Akhir Prodi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

6. Ayah dan Ibu serta segenap keluarga yang dengan penuh cinta senantiasa memberikan doa, dukungan, serta semangat yang luar biasa.

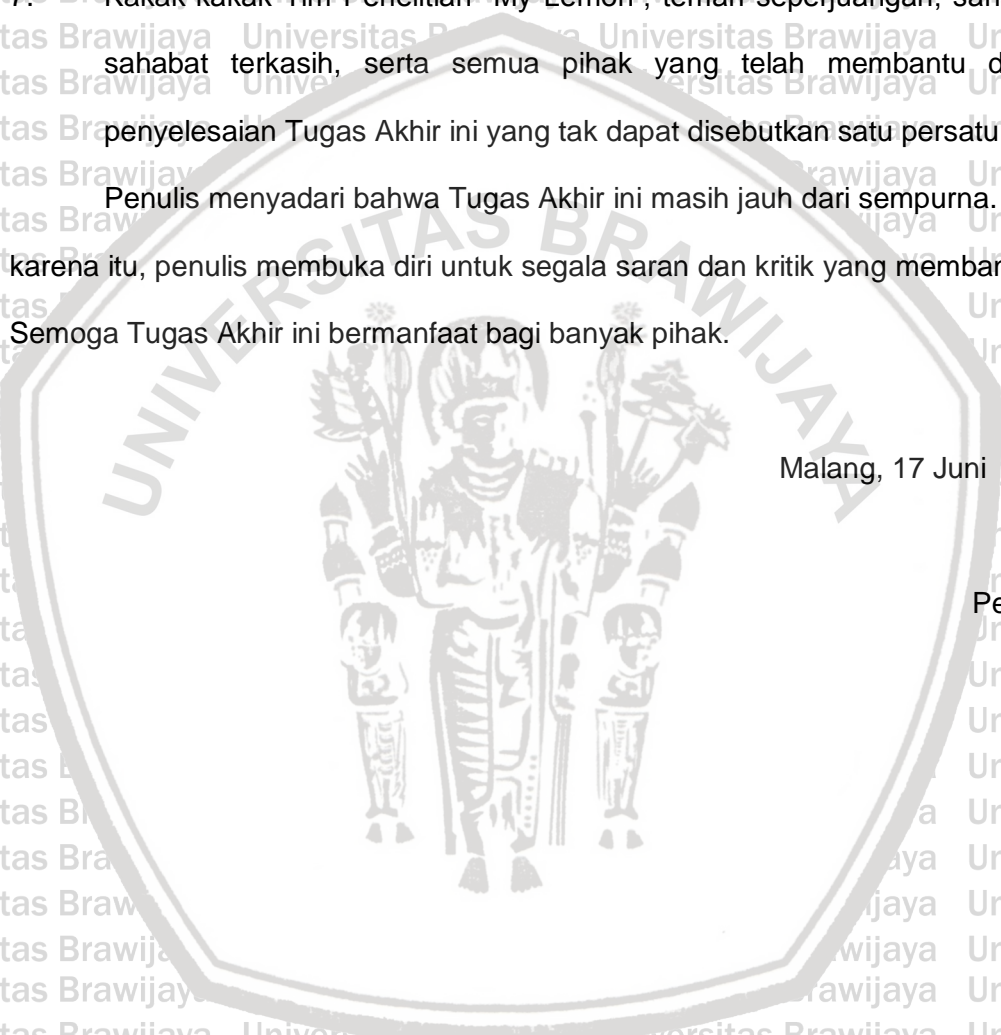
7. Kakak-kakak Tim Penelitian "My Lemon", teman seperjuangan, sahabat-sahabat terkasih, serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian Tugas Akhir ini yang tak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Semoga Tugas Akhir ini bermanfaat bagi banyak pihak.

Malang, 17 Juni 2017

Penulis



## ABSTRAK

Andini, Yulia. 2018. *Perbedaan Kadar MDA pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang Diberi High Fat Diet dengan Pemberian Perasan Lemon Fino (*Citrus limon fino*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)*. Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. dr. Nurdiana, M.Kes., (2) Olivia Anggraeny, S.Gz., M.Biomed

Dislipidemia adanya peningkatan abnormalitas total kolesterol, LDL (*Low Density Lipoprotein*), trigliserida (TG), dan penurunan HDL (*High Density Lipoprotein*). Sehingga menyebabkan terbentuknya peroksidasi lipid yang menghasilkan produk akhir *malondialdehyde* (MDA). Hal tersebut dapat dicegah dengan pemberian perasan Lemon Fino dan Jeruk Nipis yang mengandung senyawa antioksidan berupa Hesperidin dan Vitamin C. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui perbandingan kadar MDA pada tikus *Rattus norvegicus* Galur Wistar jantan yang diberi *high fat diet* dengan pemberian perasan lemon dan perasan jeruk nipis. Metode *true experimental laboratory* yang bersifat *post test control group design*. Sampel dikelompokkan dalam perlakuan menggunakan *simple random sampling*. Penelitian ini menggunakan 32 ekor tikus putih galur wistar jantan yang terbagi menjadi 8 kelompok perlakuan, yaitu kelompok dengan pemberian *high fat diet*, kelompok dengan pemberian *high fat diet* dan simvastatin, kelompok dengan pemberian *high fat diet* dan perasan lemon fino, dan kelompok dengan pemberian *high fat diet* dan perasan jeruk nipis dengan volume pemberian 1 ml/ekor/hari, 2 ml/ekor/hari, dan 3 ml/ekor/hari. Statin, perasan lemon dan jeruk nipis diberikan melalui sonde selama 5 minggu. Kadar MDA diukur melalui metode TBARS. Analisis data menggunakan uji *One Way-ANOVA*. Berdasarkan hasil analisis terjadi penurunan kadar MDA tikus pada kelompok perlakuan P4 yang diberikan perasan lemon 3 ml/ekor/hari dan *high fat diet* akan tetapi tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $p=0,824$ ) antar kelompok perlakuan.

Kata Kunci : Lemon Fino, Jeruk Nipis, kadar MDA, *High fat diet*, Vitamin C, *Hesperidin*,\*

## ABSTRACT

Andini, Yulia 2018. Difference in MDA Levels in Male Rat (*Rattus norvegicus*) Wistar Strains Given High Fat Diet with Lemon Fino Juice (*Citrus limon fino*) and Lime Juice (*Citrus aurantifolia*). Final Assignment, Science of Nutrition Study Program, Faculty of Medical, University of Brawijaya. Guidance of (1) Dr. Dr. Nurdiana M.Kes, (2) Olivia Anggraeny, S.Gz, M.Biomed

Dyslipidemia is an increase in total cholesterol abnormalities, LDL (Low Density Lipoprotein), triglycerides (TG), and decreased HDL (High Density Lipoprotein).

This results in the formation of lipid peroxidation resulting in the final product of malondialdehyde (MDA). This can be prevented by giving a feeling of Lemon Fino and Lime containing antioxidant compounds in the form of Hesperidin and Vitamin C. The purpose of this study to determine the ratio of MDA levels in rats *Rattus norvegicus* male Wistar Galur given high fat diet with lemon juice and citrus juice lime. The true experimental laboratory method which is a post test control group design. Samples were grouped in treatment using simple random sampling. This research used 32 male rats which were divided into 8 group of treatment; treatment group that was given high fat diet, treatment group that was given high fat diet and simvastatin, treatment group was given high fat diet and lemon juice and treatment group which was given high fat diet and lime juice with 1ml/rat/day, 2 ml/rat/day, and 3 ml, rat/day given volume. Statin, lemon juice and lime juice are given through sonde for 5 weeks.. MDA levels were measured through the TBARS method. Data analysis uses the One Way-ANOVA test. Based on the results of the analysis, there was a decrease in mAA levels of mice in the treatment group P4 given lemon juice of 3 ml / head / day and high fat diet but there was no significant difference ( $p = 0,824$ ) between treatment groups.

Keyword: : Lemon Fino, Lime, MDA Levels, High Fat Diet, Vitamin C, Hesperidin \*

## DAFTAR ISI

Halaman

Judul .....	i
Halaman Pengesahan .....	ii
Kata Pengantar .....	iii
Abstrak .....	v
Daftar Isi .....	vii
Daftar Gambar .....	xii
Daftar Tabel .....	xiii
Daftar Singkatan .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.3.1 Tujuan Umum .....	6
1.3.2 Tujuan Khusus .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
1.4.1 Manfaat Akademik .....	6
1.4.2 Manfaat Praktis .....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Dislipidemia .....	8
2.1.1 Definisi Dislipidemia .....	8
2.1.2 Etiologi Dislipidemia .....	9
2.1.3 Patofisiologi Dislipidemia .....	10
2.1.4 Manifestasi Dislipidemia .....	11
2.1.5 Terapi Dislipidemia .....	11
2.2 Radikal Bebas .....	12
2.2.1 Definisi Radikal Bebas .....	12
2.2.2 Mekanisme Pembentukan Radikal Bebas .....	12
2.2.3 Etiologi Radikal Bebas .....	13
2.2.4 Jenis Radikal Bebas .....	13
2.3 Peroksidasi Lipid .....	15



2.3.1	Definisi Peroksidasi Lipid .....	15
2.3.2	Mekanisme Pembentukan Peroksidasi Lipid .....	15
2.4	Malondyaldehide (MDA).....	17
2.4.1	Definisi Malondyaldehide (MDA).....	17
2.4.2	Mekanisme Pembentukan Malondyaldehide (MDA) .....	17
2.4.3	Pengukuran Kadar Malondyaldehide (MDA) .....	18
2.5	Antioksidan .....	21
2.5.1	Definisi Antioksidan .....	21
2.5.2	Mekanisme Kerja Antioksidan .....	22
2.6	Lemon.....	23
2.6.1	Taksonomi Lemon ( <i>Citrus limon fino</i> ) .....	23
2.6.2	Definisi dan Ciri-Ciri Lemon.....	24
2.6.3	Kandungan Lemon .....	28
2.6.4	Pengaruh Lemon terhadap Kadar MDA.....	29
2.7	Jeruk Nipis .....	31
2.7.1	Taksonomi Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) .....	31
2.7.2	Definisi dan Ciri-Ciri Jeruk Nipis.....	32
2.7.3	Kandungan Jeruk Nipis .....	34
2.7.4	Pengaruh Jeruk Nipis terhadap Kadar MDA.....	35
<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS</b>		
3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	36
3.2	Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian .....	37
3.3	Hipotesis.....	38
<b>BAB IV METODOLOGI PENELITIAN</b>		
4.1	Rancangan Penelitian .....	39
4.2	Populasi dan Sampel .....	40
4.2.1	Subjek Penelitian .....	40
4.2.2	Kriteria Inklusi .....	40
4.2.3	Kriteria Eksklusi.....	41
4.2.4	<i>Drop out</i> .....	41
4.2.5	Perhitungan Sampel.....	41
4.2.6	Randomisasi Sampel .....	42
4.2.7	Penentuan Perlakuan.....	45
4.3	Variabel Penelitian .....	46

4.3.1	Variabel Bebas .....	46
4.3.2	Variabel Terikat .....	46
4.3.3	Variabel Terkendali.....	46
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	46
4.4.1	Lokasi Penelitian .....	46
4.4.2	Waktu Penelitian.....	46
4.5	Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian .....	46
4.5.1	Alat Penelitian.....	46
4.5.2	Bahan Penelitian .....	48
4.5.2.1	Bahan Pakan Tikus .....	48
4.5.2.2	Bahan Bius Tikus .....	49
4.5.2.3	Bahan Pemeriksaan Kadar MDA.....	49
4.6	Definisi Operasional .....	50
4.7	Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data .....	51
4.7.1	Perlakuan pada Tikus Percobaan.....	51
4.7.2	Pembuatan Pakan Standar .....	53
4.7.3	Pembuatan Perasan Lemon dan Cara Pemberian.....	54
4.7.4	Pembuatan Perasan Jeruk Nipis dan Cara Pemberian.....	54
4.7.5	Penentuan Volume Pemberian Lemon dan Jeruk Nipis.....	54
4.7.5.1	Volume Pemberian Perasan Lemon ( <i>Citrus limon fino</i> ) .....	55
4.7.5.2	Volume Pemberian Perasan Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ).....	55
4.7.6	Pembuatan Suspensi Simvastatin .....	55
4.7.7	Penentuan Dosis Simvastatin .....	56
4.7.8	Proses Pembuatan dan Cara Pemberian Pakan Tinggi Lemak ( <i>High Fat Diet</i> ) pada Tikus Wistar.....	56
4.7.9	Pemeriksaan Kadar MDA.....	57
4.8	Analisis Data.....	58
<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA</b>		
5.1	Karakteristik Subjek Penelitian .....	61
5.2	Berat Badan Tikus.....	62
5.2.1	Pertambahan Berat Badan Tikus.....	64
5.3	Asupan Pakan Tikus .....	65

5.3.1	Jumlah Asupan Energi Tikus Selama Penelitian .....	65
5.3.2	Jumlah Asupan Protein Tikus Selama Penelitian .....	67
5.3.3	Jumlah Asupan Lemak Tikus Selama Penelitian .....	68
5.3.4	Jumlah Asupan Karbohidrat Tikus Selama Penelitian.....	70
5.4	Kadar MDA Akhir Pada Setiap Perlakuan .....	71
<b>BAB VI PEMBAHASAN</b>		
6.1	Karakteristik Subjek Penelitian .....	74
6.2	Perubahan Berat Badan Tikus .....	76
6.3	Perbedaan Asupan Energi, Lemak, Protein, dan Karbohidrat Antar Kelompok Perlakuan .....	80
6.4	Perbedaan Kadar MDA Tikus Selama Penelitian.....	81
6.4	Keterbatasan Penelitian .....	84
<b>BAB VII PENUTUP</b>		
7.1	Kesimpulan.....	85
7.2	Saran .....	85
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		
Lampiran 1.	Randomisasi Tikus Percobaan .....	95
Lampiran 2.	Diagram Alur Pembuatan Perasan Lemon dan Jeruk Nipis.....	97
Lampiran 3.	Diagram Alur Pembuatan Larutan Simvastatin.....	98
Lampiran 4.	Diagram Alur Pembuatan Pakan Diet Normal .....	99
Lampiran 5.	Diagram Alur Pembuatan Pakan Diet Tinggi Lemak ( <i>High Fat Diet</i> ) .....	100
Lampiran 6.	Komposisi Bahan dan Energi Pakan Diet Normal .....	101
Lampiran 7.	Komposisi Bahan dan Energi Pakan Diet Tinggi Lemak ( <i>High Fat Diet</i> ) .....	102
Lampiran 8.	Hasil Analisis Statistik .....	103
Lampiran 9.	Prosedur Pemeriksaan Kadar MDA.....	109
Lampiran 10.	Tabel Konversi Perhitungan Dosis.....	110
Lampiran 11.	Dokumentasi Perawatan Hewan Coba .....	111
Lampiran 12.	Master Data .....	113
Lampiran 13.	Kelayakan Etik .....	119

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Cara Kerja Antioksidan .....	22
Gambar 2.2 Lemon Eureka .....	25
Gambar 2.3 Lemon Lisbon .....	26
Gambar 2.4 Lemon Meyer .....	26
Gambar 2.5 (a) Lemon Fino Belum Matang .....	27
(b) Lemon Fino Sudah matang .....	27
(c) Penampakan Vertikal Lemon Fino .....	27
(d) Penampakan Horizontal Lemon Fino .....	27
Gambar 2.6 Jeruk Nipis .....	33
Gambar 4.1 Pembagian Kelompok Perlakuan .....	39
Gambar 4.2 Desain <i>Lay Out</i> Rancangan Acak Lengkap Percobaan .....	44
Gambar 5.1 Rerata Berat Badan Awal dan Akhir .....	62
Gambar 5.2 Rata-Rata Asupan Energi (kkal) .....	66
Gambar 5.3 Rata-Rata Asupan Protein (gram) .....	67
Gambar 5.5 Rata-Rata Asupan Lemak (gram) .....	69
Gambar 5.6 Rata-Rata Asupan Karbohidrat (gram) .....	70
Gambar 5.7 Rata-Rata Kadar MDA (umol/L) .....	72

## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1	Jenis-Jenis Reactive Oxygen Species (ROS) .....	14
Tabel 2.2	Perbedaan Kandungan Zat Gizi Lemon dan Jeruk Nipis .....	34
Tabel 4.1	Pengulangan Perlakuan .....	40
Tabel 4.2	Pangkat atau Ranking dari 40 Angka Acak .....	43
Tabel 4.3	Volume Pemberian Perasan Buah Lemon ( <i>Citrus limon fino</i> ) .....	55
Tabel 4.4	Volume Pemberian Perasan Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) .....	55
Tabel 4.5	Komposisi Pakan Tinggi Lemak ( <i>High Fat Diet</i> ) .....	57
Tabel 5.1	Karakteristik Subjek Penelitian .....	61
Tabel 5.2	Rerata Berat Badan Tikus .....	63
Tabel 5.3	Kadar MDA Akhir (umol/L) .....	73

## DAFTAR SINGKATAN

ACAT	: <i>Cholesterol acyltransferase</i>
APO B	: Apolipoprotein B
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HFD	: <i>High Fat Diet</i>
HMG Co-A	: 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzim A
HOMA-IR	: <i>Homeostatic Model Assesment for Insulin Resistance</i>
IDL	: <i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
MDA	: <i>Malondyaldehyde</i>
MTP	: <i>Microsomal Transfer Protein</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
PCSK9	: <i>Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9</i>
PKV	: Penyakit Kardiovaskuler
TG	: Trigliserida
TLC	: <i>Therapeutic Lifestyle Change</i>

**HALAMAN PENGESAHAN**

**TUGAS AKHIR**

**PERBEDAAN KADAR MDA (Malondyaldehide) PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar JANTAN YANG DIBERI HIGH FAT DIET DENGAN PEMBERIAN PERASAN LEMON FINO (*Citrus limon fino*) DAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)**

Oleh :

**Yulia Andini M. Rasad**  
**145070307111013**

Telah diuji pada  
Hari : Selasa  
Tanggal : 17 Juli 2018  
dan dinyatakan lulus oleh :  
Penguji I

**Dr. dr. Endang Sriwahyuni, MS.,**  
**NIP. 19521008 198003 2 002**

**Pembimbing I/ Penguji II,**



**Dr. dr. Nurdiana, M.Kes**  
**NIP. 195510151386032001**

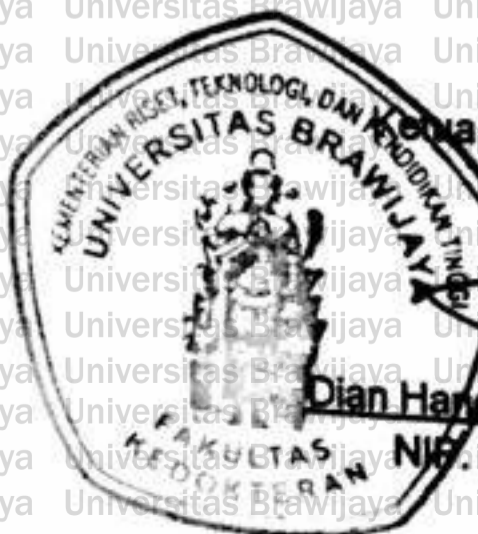
**Pembimbing II/ Penguji III,**



**Olivia Anggraeny, S.Gz. M. Biomed**  
**NIP. 2014048706052001**

**Mengetahui**

**Ketua Program Studi Ilmu Gizi**



**Dian Hartayani, S.K.M., M.Kes., Ph.D**  
**NIP. 197404022003122002**

## ABSTRAK

Andini, Yulia. 2018. *Perbedaan Kadar MDA pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang Diberi High Fat Diet dengan Pemberian Perasan Lemon Fino (*Citrus limon fino*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)*. Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. dr. Nurdiana, M.Kes., (2) Olivia Anggraeny, S.Gz., M.Biomed

Dislipidemia adanya peningkatan abnormalitas total kolesterol, LDL (*Low Density Lipoprotein*), trigliserida (TG), dan penurunan HDL (*High Density Lipoprotein*). Sehingga menyebabkan terbentuknya peroksidasi lipid yang menghasilkan produk akhir *malondialdehyde* (MDA). Hal tersebut dapat dicegah dengan pemberian perasan Lemon Fino dan Jeruk Nipis yang mengandung senyawa antioksidan berupa Hesperidin dan Vitamin C. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui perbandingan kadar MDA pada tikus *Rattus norvegicus* Galur Wistar jantan yang diberi *high fat diet* dengan pemberian perasan lemon dan perasan jeruk nipis. Metode *true experimental laboratory* yang bersifat *post test control group design*. Sampel dikelompokkan dalam perlakuan menggunakan *simple random sampling*. Penelitian ini menggunakan 32 ekor tikus putih galur wistar jantan yang terbagi menjadi 8 kelompok perlakuan, yaitu kelompok dengan pemberian *high fat diet*, kelompok dengan pemberian *high fat diet* dan simvastatin, kelompok dengan pemberian *high fat diet* dan perasan lemon fino, dan kelompok dengan pemberian *high fat diet* dan perasan jeruk nipis dengan volume pemberian 1 ml/ekor/hari, 2 ml/ekor/hari, dan 3 ml/ekor/hari. Statin, perasan lemon dan jeruk nipis diberikan melalui sonde selama 5 minggu. Kadar MDA diukur melalui metode TBARS. Analisis data menggunakan uji *One Way-ANOVA*. Berdasarkan hasil analisis terjadi penurunan kadar MDA tikus pada kelompok perlakuan P4 yang diberikan perasan lemon 3 ml/ekor/hari dan *high fat diet* akan tetapi tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $p=0,824$ ) antar kelompok perlakuan.

Kata Kunci : Lemon Fino, Jeruk Nipis, kadar MDA, *High fat diet*, Vitamin C, *Hesperidin*,\*



## ABSTRACT

Andini, Yulia 2018. Difference in MDA Levels in Male Rat (*Rattus norvegicus*) Wistar Strains Given High Fat Diet with Lemon Fino Juice (*Citrus limon fino*) and Lime Juice (*Citrus aurantifolia*). Final Assignment, Science of Nutrition Study Program, Faculty of Medical, University of Brawijaya. Guidance of (1) Dr. Dr. Nurdiana M.Kes, (2) Olivia Anggraeny, S.Gz, M.Biomed

Dyslipidemia is an increase in total cholesterol abnormalities, LDL (Low Density Lipoprotein), triglycerides (TG), and decreased HDL (High Density Lipoprotein). This results in the formation of lipid peroxidation resulting in the final product of malondialdehyde (MDA). This can be prevented by giving a feeling of Lemon Fino and Lime containing antioxidant compounds in the form of Hesperidin and Vitamin C. The purpose of this study to determine the ratio of MDA levels in rats *Rattus norvegicus* male Wistar Galur given high fat diet with lemon juice and citrus juice lime. The true experimental laboratory method which is a post test control group design. Samples were grouped in treatment using simple random sampling. This research used 32 male rats which were divided into 8 group of treatment; treatment group that was given high fat diet, treatment group that was given high fat diet and simvastatin, treatment group was given high fat diet and lemon juice and treatment group which was given high fat diet and lime juice with 1ml/rat/day, 2 ml/rat/day, and 3 ml, rat/day given volume. Statin, lemon juice and lime juice are given through sonde for 5 weeks.. MDA levels were measured through the TBARS method. Data analysis uses the One Way-ANOVA test. Based on the results of the analysis, there was a decrease in mAA levels of mice in the treatment group P4 given lemon juice of 3 ml / head / day and high fat diet but there was no significant difference ( $p = 0,824$ ) between treatment groups.

Keyword: Lemon Fino, Lime, MDA Levels, High Fat Diet, Vitamin C, Hesperidin \*

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Dislipidemia adalah suatu kondisi dimana terjadi abnormalitas kadar lipid di dalam darah, diantaranya peningkatan kadar kolesterol, LDL (*Low Density Lipoprotein*), dan kadar trigliserida, serta penurunan kadar HDL (*High Density Lipoprotein*). Sedangkan perbedaan antara hiperlipidemia dan dislipidemia adalah adanya kenaikan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL), sedangkan pada hiperlipidemia hanya terdapat kenaikan LDL tanpa penurunan kadar HDL (Putri, 2013). Menurunnya kadar HDL dan meningkatnya kadar LDL pada kondisi dislipidemia dapat meningkatkan risiko terjadinya timbunan lemak pada pembuluh darah. Perubahan kadar profil lipid di dalam darah dapat disebabkan oleh asupan makan yang berlebihan serta aktivitas fisik yang kurang. Peningkatan pada kolesterol yang merupakan salah satu komponen profil lipid meningkat jika sering mengonsumsi makanan dengan kadar lemak hewan tinggi seperti otak sapi, daging merah, kuning telur, keju, dll atau makanan cepat saji. Berdasarkan Riskesdas Bidang Biomedis tahun 2007 menunjukkan bahwa prevalensi dislipidemia atas dasar konsentrasi kolesterol total  $>200$  mg/dL adalah 39,8%. Beberapa propinsi di Indonesia seperti Nangroe Aceh, Sumatra Barat, Bangka Belitung dan Kepulauan Riau mempunyai prevalensi dislipidemia  $\geq 50\%$  (Erwinanto et al., 2013). Penyebab lainnya terjadinya perubahan profil lipid karena adanya perubahan gaya hidup pada sebagian penduduk khususnya yang berada di

perkotaan. Pola makan yang dahulu mengandung tinggi karbohidrat, serat, vitamin dan mineral saat ini mengalami perubahan menjadi tinggi lemak, garam, namun rendah serat, vitamin dan mineral. Perubahan pola makan ini mengakibatkan terjadinya perubahan atau transisi penyakit dan gizi.

Peningkatan gizi yang berlebih dan penyakit degeneratif yang timbul seperti jantung koroner, diabetes mellitus, stroke, atherosklerosis menyebabkan terjadinya penurunan kualitas hidup manusia seperti penurunan produktivitas dan penurunan Usia Harapan Hidup. Selain itu terjadinya peningkatan profil lipid juga dapat berperan dalam pertambahan jumlah senyawa radikal bebas di dalam tubuh. Radikal bebas adalah suatu molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, sehingga sangat labil dan reaktif menyerang molekul di sekitarnya dan dapat mengakibatkan kerusakan struktur sel dan fungsinya (Danusantoso, 2003).

Radikal bebas bisa terjadi karena faktor di dalam tubuh (endogen) maupun dari luar tubuh (eksogen). Faktor dari tubuh terjadi dari proses metabolisme misalnya meningkatnya aktivitas oksidasi di dalam tubuh sedangkan faktor dari luar dapat disebabkan oleh pengaruh polusi atau makanan. Senyawa radikal bebas dapat merusak lipid khususnya lipid pada *kolesterol-lowdensity lipoprotein* (K-LDL). Terjadinya serangan radikal bebas pada K-LDL sering disebut dengan LDL teroksidasi (Ox-LDL). Kolesterol-LDL sangat mudah teroksidasi dibanding lipoprotein lain, karena komposisinya sebagian besar terdiri dari asam lemak tidak jenuh ganda atau PUFA (Werdharsi, 2014).

Proses berkelanjutan dari radikal bebas khususnya pada jaringan lipid akan menyebabkan terbentuknya peroksidasi lipid yang selanjutnya akan menghasilkan produk akhir diantaranya *malondialdehyde* (MDA). Jumlah MDA dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan akibat radikal bebas atau indikator keaktifan proses peroksidasi lipid. Selain itu faktor lain penyebab terjadinya peningkatan radikal bebas adalah terjadinya penurunan antioksidan didalam tubuh. Antioksidan merupakan senyawa yang memberikan elektron atau reduktan sehingga dapat mencegah terjadinya radikal bebas melalui pencegahan reaksi oksidasi. Antioksidan dapat diberikan dari luar menerima dan memberi elektron dari atau ke radikal bebas, sehingga membentuk senyawa baru yang stabil contohnya antioksidan vitamin C. Buah lemon (*Citrus limon [L.] Burm.f.*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah buah yang mengandung vitamin C sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan yang alami.

Lemon (*Citrus limon [L.] Burm.f.*) adalah buah asli yang berasal dari benua Asia khususnya daerah Birma bagian utara dan Cina Selatan. Buah ini memiliki kandungan flavonoid yang tinggi, seperti rutin, hesperidin, quercitrin, eriocitrin, narirutin, didyminandnaringin, vitamin C dan karotenoid yang berfungsi sebagai antioksidan, untuk mencegah terjadinya aterosklerosis (Riaz, 2013). Kandungan hesperidin pada lemon lebih tinggi daripada jeruk nipis yaitu sebesar 15,78 mg/ 100 gram dan pada jeruk nipis sebesar 15,64 mg/ 100 gram (Peterson, 2006). Kandungan Hesperidin ini berfungsi untuk menurunkan kolesterol plasma dan triasilgliserol (TG) dalam hati dengan menghambat enzim hati yang terlibat dalam sintesis kolesterol dan

triasilgliserol, seperti *3-hidroxy-3-methyl-glytutarylcoenzyme A (HMG-CoA) reductase* dan *acyl-CoA cholesterol acyltransferase (ACAT)* pada hewan percobaan (Fukuchi, *et al.*, 2008). Dari penelitian Khan, Afroz, dan Sididq (2010), ditemukan bahwa lemon mampu meningkatkan kadar HDL di dalam darah. Peningkatan kadar HDL ini dipengaruhi oleh kandungan vitamin C dan flavonoid di dalam lemon. Vitamin C berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi didalam tubuh. Mekanisme antioksidan vitamin C mampu sebagai *radical scavenging* yang menyumbangkan elektronnya ke molekul radikal bebas sehingga menjadi stabil, dan menekan proses produksi kadar MDA. Antiinflamasi vitamin C menghambat kerja ROS secara langsung (Shidfar *et al.*, 2010). Lemon (*Citrus limon [L.] Burm.f.*) memiliki kandungan vitamin C yaitu sebesar 53 gram dalam 100 gram buahnya.

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan salah satu buah lokal yang banyak ditemui di Indonesia. Sering digunakan sebagai obat-obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit. Harganya pun relatif lebih murah jika dibandingkan dengan Lemon (*Citrus limon [L.] Burm.f.*). Jeruk nipis juga memiliki keunggulan dalam memperbaiki profil lipid. Vitamin C yang terkandung dalam jeruk nipis sebesar 28,1 mg dalam 100 g buahnya yang berfungsi dapat membantu dalam metabolisme kolesterol dengan cara meningkatkan laju pembuangan lemak dalam bentuk asam empedu dan membantu reaksi hidroksilasi dalam pembentukan asam empedu sehingga meningkatkan ekskresi kolesterol dalam tubuh. Selain itu manfaat lain dari vitamin C dapat memutuskan reaksi radikal yang dihasilkan melalui lipoperoksida dengan bereaksi secara langsung pada fase cair dengan radikal lipid peroksida, sehingga menekan produksi MDA. Kandungan lain yang

terdapat dalam Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah hesperidin.

Mekanisme kerja hesperidin yaitu melakukan penghambatan aktifitas

enzim yang berperan dalam metabolisme kolesterol dengan cara

menghambat kerja enzim *3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzim A-Reductase*

dalam sintesis kolesterol. Enzim ini bekerja pada tahap regulatorik utama di

jalur sintesis kolesterol dengan mengkatalisis reduksi HMG-KoA menjadi

mevalonat oleh NADPH (Purnamasari, 2014).

Berdasarkan data tentang jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan

lemon (*Citrus limon* [L.] Burm.f.) peneliti ingin mengetahui efek jeruk nipis dan

lemon terhadap perubahan kadar MDA pada tikus putih jantan (*Rattus*

*Norvegicus*) Galur wistar yang diberi high fat diet. Hal ini penting karena jeruk

nipis (*Citrus aurantifolia*) harganya lebih murah dibandingkan jeruk lemon

serta merupakan tanaman lokal yang sering dijumpai di Indonesia.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan kadar MDA (*Malondyaldehyde*) pada tikus

putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar jantan yang diberi *high fat diet* dengan

pemberian perasan lemon fino (*Citrus Limon Fino*) dan jeruk nipis (*Citrus*

*Aurantifolia*) ?

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kadar MDA pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar jantan yang diberi *high fat diet* dengan pemberian perasan lemon fino (*Citrus Limon Fino*) dan jeruk nipis (*Citrus Aurantifolia*).

#### 1.3.2 Tujuan khusus

1. Mengetahui perubahan berat badan pada tikus jantan *Rattus norvegicus* galur wistar yang diberi *High Fat Diet* dan pemberian perasan lemon fino dan jeruk nipis
2. Mengetahui asupan pakan pada tikus *Rattus norvegicus* galur wistar jantan.
3. Menganalisis perbedaan kadar MDA pada tikus *Rattus norvegicus* Galur Wistar jantan yang diberi *high fat diet* dengan pemberian simvastatin, perasan lemon fino (*Citrus limon fino*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai Perbedaan kadar MDA pada tikus *Rattus norvegicus* Galur Wistar jantan yang diberi *high fat diet* dengan pemberian perasan lemon (*Citrus limon* fino) dan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sehingga dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya.

**1.4.2 Manfaat Praktis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kesehatan kepada masyarakat tentang pengaruh perasaan jeruk nipis dan lemon terhadap penurunan radikal bebas didalam tubuh. Selain itu, diharapkan dapat meningkatkan budi daya tanaman local seperti jeruk nipis.





## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Dislipidemia

##### 2.1.1 Definisi Dislipidemia

Dislipidemia merupakan suatu gangguan metabolisme lipoprotein dimana komponen lemak yaitu lipid, kolesterol, dan trigliseride dalam darah berlebih (Adams, 2005). Perbedaan hiperlipidemia dan dislipidemia adalah terdapat kenaikan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) pada dislipidemia, sedangkan pada hiperlipidemia hanya terdapat kenaikan LDL tanpa penurunan kadar HDL (Putri, 2013).

Dislipidemia dibagi menjadi dua kategori, yaitu dislipidemia primer dan dislipidemia sekunder. Dislipidemia primer yang biasanya terjadi karena gangguan genetik yang menurun yang dapat menyebabkan kelainan kadar lipid dalam darah, sedangkan dislipidemia sekunder merupakan hasil dari penyakit mendasar, seperti diabetes mellitus atau suatu keadaan tertentu seperti hiperkolesterolemia (Dahlia, 2014).

Data di Indonesia berdasarkan Laporan Riskesdas Bidang Biomedis tahun 2007 menunjukkan bahwa prevalensi dislipidemia atas dasar konsentrasi kolesterol total >200 mg/dL adalah 39,8%. Beberapa propinsi di Indonesia seperti Nangroe Aceh, Sumatra Barat, Bangka Belitung dan Kepulauan Riau mempunyai prevalensi dislipidemia  $\geq 50\%$  (Erwinanto et al., 2013).

### 2.1.2 Etiologi Dislipidemia

Semakin lama, kejadian dislipidemia semakin bertambah banyak. Faktor perubahan gaya hidup memegang peranan sangat besar dalam terjadinya hiperlipidemia. Masyarakat di zaman modern seperti sekarang ini cenderung banyak mengonsumsi makanan cepat saji yang tinggi kalori dan tinggi gula, garam, serta lemak (Aje dan Miller, 2009). Ada beberapa faktor yang memainkan peran penting dalam kejadian dislipidemia, yaitu riwayat keluarga, riwayat penyakit kronis (diabetes mellitus, gagal ginjal, sindrom nefritik dan hipotiroidisme), konsumsi alkohol dan merokok, obesitas dan asupan makanan yang tidak sehat (Hassan, 2013).

Penyebab dislipidemia dibagi 2, yaitu :

1. Dislipidemia Primer

Kelainan ini biasanya disebabkan oleh mutasi genetik.

2. Dislipidemia Sekunder

↑ Kolesterol total dan kolesterol LDL disebabkan :

- Hipotiroid
- Sindrom nefrotik
- SLE, multiple myeloma
- Progestin, pengobatan anabolik steroid
- Penyakit hati obstruktif, sirosis
- Protease inhibitor pada pengobatan infeksi HIV

↑ Trigliserida dan kolesterol VLDL disebabkan :

- Gagal ginjal kronik
- Diabetes Mellitus tipe 2

- Obesitas
- Alkohol
- Hipotiroid
- Obat anti hipertensi (Tiazid, Beta Bloker)
- Terapi koertikosteroid ( $\uparrow$  steroid Endogen akibat stres berat)
- Estrogen oral, kontrasepsi oral, kehamilan
- Very low fat diet (Dahlia, 2014)

### 2.1.3 Patofisiologi Dislipidemia

Kolesterol LDL secara normal bersirkulasi dalam tubuh selama 2,5 hari, lalu LDL berikatan dengan LDL reseptor di sel liver, lalu mengalami endositosis dan dicerna. LDL hilang dan disintesis kolesterol oleh liver yang ditekan oleh jalan HMG-CoA reductase. Fungsi reseptor LDL dikurangi, LDL tersirkulasi selama 4,5 hari, menghasilkan penambahan level kolesterol LDL di dalam darah dengan level normal dari lipoprotein yang berbeda. Mutasi Apo B, berkurangnya ikatan reseptor level LDL dikarenakan bertambahnya level kolesterol LDL. Mutasi ini disebabkan karena reseptor LDL mengalami disfungsi dalam mutasi di PCSK9 dan ARH. Pengaruh dari hiperlipidemia dapat meningkatkan penurunan clearance trigliserida rich lipoprotein karena penghambatan lipoprotein lipase dan lipase trigliserida. Faktor-faktor lain seperti resistensi insulin perifer, kekurangan karnitin, dan hipertiroidisme dapat menyebabkan kelainan lipid. Dalam sindrom nefrotik, penurunan hasil sirkulasi efektif albumin plasma dapat meningkatkan sintesis lipoprotein untuk menjaga tekanan onkotik plasma (Harikumar et al., 2013)

#### 2.1.4 Manifestasi Dislipidemia

Apabila dislipidemia tidak segera diatasi, maka dapat terjadi berbagai macam komplikasi, antara lain aterosklerosis, penyakit jantung coroner, penyakit serebrovaskular seperti stroke, kelainan pembuluh darah, dan pankreatitis akut (bila kadar trigliserida  $> 1000$  mg/dl) (Dahlia, 2014).

#### 2.1.5 Terapi Dislipidemia

Penyakit dislipidemia dapat ditangani melalui beberapa cara, seperti terapi farmakologi dan terapi non-farmakologi. Terapi farmakologi menggunakan obat-obatan anti-dislipidemia yang bermanfaat untuk memperbaiki kadar lemak di dalam darah. Berikut ini adalah beberapa golongan obat anti-dislipidemia (AHA, 2013 dalam Dahlia, 2014) :

- 1) Golongan statin (HMG-CoA Reductase Inhibitor : lovastatin, pravastatin, fluvastatin, simvastatin, atorvastatin, rosuvastatin, pitavastatin)
- 2) Derivat asam fibrat (gemfibrozil, fenofibrat)
- 3) Asam nikotinat (niacin)
- 4) Golongan resin (sequestran)
- 5) Kolesterol absorpsi inhibitor (ezetimibe)

Selain terapi menggunakan obat anti-dislipidemia, keadaan dislipidemia dapat juga diperbaiki dengan terapi non farmakologi yang berbasis *Therapeutic Lifestyle Change* (TLC), yang meliputi terapi diet dan latihan fisik. Terapi diet dapat berupa pengurangan asupan kolesterol dan asam lemak jenuh, pemilihan makanan yang berhubungan dengan aturan untuk mengurangi LDL atau peningkatan masukan serat larut. Latihan fisik dapat meningkatkan kadar HDL dan Apo A1, menurunkan resistensi insulin, meningkatkan sensitivitas dan

meningkatkan keseragaman fisik, menurunkan trigliserida dan LDL, dan berperan dalam menurunkan berat badan. Terapi non farmakologi ini hendaknya menjadi terapi utama untuk dislipidemia, kecuali untuk pasien hiperkolesterolemia bawaan atau yang bersifat hereditas (Dahlia, 2014).

## **2.2 Radikal Bebas**

### **2.2.1 Definisi Radikal Bebas**

Radikal Bebas merupakan suatu molekul, satu atom, atau beberapa atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit luarnya sehingga bersifat sangat reaktif. Molekul bersifat stabil bila elektronnya berpasangan, tetapi bila tidak berpasangan (single) molekul tersebut menjadi tidak stabil dan memiliki potensi untuk merusak. Bila molekul tidak stabil ini mengambil satu elektron dari senyawa lain maka molekul tersebut menjadi stabil sedangkan molekul yang diambil elektronnya menjadi tidak stabil berubah menjadi radikal dan memicu reaksi pembentukan radikal bebas berikutnya (Danusantoso, 2003)

### **2.2.2 Mekanisme Pembentukan Radikal Bebas**

Secara umum, menurut Winarsi 2011 tahapan reaksi pembentukan radikal bebas melalui tiga tahapan reaksi sebagai berikut :

- a. Tahapan inisiasi, yaitu tahapan pembentukan radikal bebas.
- b. Tahapan propagasi, yaitu pemanjangan rantai radikal.
- c. Tahapan terminasi, yaitu bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkapan radikal, sehingga potensi propagasinya rendah.

(Setiawan dan Suhartono, 2007)

### 2.2.3 Etiologi Radikal Bebas

Radikal bebas bersumber dari berbagai hal, antara lain: radiasi sinar X dan sinar ultraviolet, polusi udara akibat asap kendaraan bermotor, gas buang dari pabrik, atau asap rokok. Beberapa kondisi juga bisa memicu terbentuknya radikal bebas di dalam tubuh misalnya stress, sakit, olah raga berlebihan dan lain-lain. Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada sel karena dapat menimbulkan kerusakan pada protein (aktivitas enzim terganggu) dan asam nukleat (kerusakan DNA, mutasi sel). Sebagai akibatnya pertumbuhan dan perkembangan sel menjadi tidak wajar, bahkan dapat menyebabkan kematian sel. Radikal dalam tubuh berasal dari dalam (endogen) atau dari luar tubuh (eksogen). Secara endogen, radikal bebas terbentuk sebagai respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh. Secara alamiah radikal bebas dibentuk dalam tubuh makhluk hidup termasuk manusia, binatang dan tumbuhan. Dalam kondisi normal jumlah radikal tersebut berada dalam keseimbangan atau terkendali. Sumber radikal bebas endogen tersebut berasal dari proses otooksidasi, oksidasi enzimatik, respiratory burst, reaksi yang dikatalisis ion logam transisi, dan ischemia reperfusion injury (Simanjuntak, 2012).

### 2.2.4 Jenis Radikal Bebas

Berbagai jenis reactive Oxygen Species (ROS) dalam tubuh diperlihatkan pada Tabel 2.1 dari tabel tersebut terlihat bahwa diantara berbagai ROS terdapat molekul yang bukan radikal bebas, yaitu  $O_2$  dan  $H_2O_2$ , namun karena sifatnya yang sangat reaktif maka dimasukkan ke dalam kelompok ini :

Tabel. 2.1 Jenis-jenis Reactive Oxygen Species (ROS)

ROS	Keterangan
<b>Anion superoksida <math>O_2^*</math></b>	Tidak terlalu merusak, tetapi dapat membentuk hidrogen peroksida, yang merupakan reduktan logam transisi dalam pembentukan radikal hidroksil
<b>Radikal hidroksil <math>OH^*</math></b>	Radikal pengoksidasi yang sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan hampir seluruh biomolekul
<b>Radikal peroksil <math>LO_2^*</math></b>	Dihasilkan antara lain pada proses peroksidasi lipid
<b>Hydrogen peroksida <math>H_2O_2</math></b>	Hydrogen peroksida bukan radikal bebas tetapi dikategorikan sebagai ROS. Molekul ini merupakan sumber radikal hidroksil dalam kondisi jenuh ion logam transisi, juga terlibat dalam pembentukan HOCl
<b>Oksigen singlet <math>O_2</math></b>	Meskipun bukan radikal bebas, tetapi merupakan pengoksidasi yang kuat
<b>Nitrogen oksida <math>NO^*</math></b>	Radikal bebas dalam bentuk gas
<b>Peroksinitrit <math>ONOO^-</math></b>	Terbentuk dari reaksi $NO^*$ dengan $O_2^*$
<b>Asam hipoklor <math>HOCl</math></b>	Dihasilkan oleh netrofil pada proses inflamasi terbentuk dari $H_2O_2$ dan $Cl^-$ yang dikatalisis oleh mieloperoksidase.

(Simanjuntak, 2012)

## **2.3 Peroksidasi Lipid**

### **2.3.1 Definisi Peroksidasi Lipid**

Peroksida lipid terbentuk sebagai hasil reaksi antara radikal bebas dengan asam lemak tidak jenuh (PUFA = Poly Unsaturated Fatty Acid) yang merupakan unsur utama dari membran sel. Proses peroksida lipid umumnya dimulai dengan penarikan atom hidrogen yang mengandung satu elektron dari ikatan rangkap PUFA membentuk radikal lipid. Penambahan oksigen akan menyebabkan terbentuknya radikal peroksil lipid yang selanjutnya akan menarik lagi atom hidrogen dari ikatan rangkap PUFA yang lain, sehingga terbentuk radikal lipid berikutnya. Sedangkan radikal peroksil lipid tersebut akan mengalami dekomposisi menjadi peroksida lipid. Peroksida lipid bersifat tidak stabil dan akan terurai menghasilkan sejumlah senyawa, antara lain MDA (Irawan, 2013).

### **2.3.2 Mekanisme Pembentukan Peroksidasi Lipid**

Oksidasi lipid terjadi melalui tiga tahapan, yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Reaksi inisiasi terjadi di antara asam lemak tidak jenuh dengan radikal hidroksil membentuk radikal karbon. Selanjutnya radikal karbon yang terbentuk akan beresonansi dengan elektron yang tidak berpasangan membentuk biradikal yang memiliki 2 elektron yang tidak berpasangan. Reaksi ini terus berlanjut hingga senyawa radikal siap bereaksi dengan senyawa lainnya, sehingga terbentuk radikal peroksil yang memiliki 1 atom H yang berasal dari asam lemak yang terbentuk dari lipid hidroperoksida, dengan melepaskan radikal bebas lainnya untuk berpartisipasi dalam atom H berikutnya. Radikal hidroksil akan menginisiasi reaksi peroksidasi atom H tunggal, kemudian berubah menjadi produk radikal karbon (R) yang dapat bereaksi dengan atom oksigen. Radikal



hidroksil juga mengawali reaktivitasnya dalam senyawa lipid (Setiawan dan Suhartono, 2007). Tahap terjadinya Peroksidasi Lipid adalah sebagai berikut :

1. Inisiasi, merupakan tahapan pembentukan radikal bebas yang diinisiasi oleh atom hidrogen pada gugus metilen rantai asam lemak. Tahapan inisiasi dapat melalui dua mekanisme yang bergantung pada besi. Kedua mekanisme tersebut terdiri dari :

a. Mekanisme yang bergantung radikal hidroksil, peroksidasi lipid dipicu oleh radikal hidroksil yang terbentuk saat reaksi Fenton sebagai reaktan.

b. Mekanisme yang tidak bergantung radikal hidroksil, peroksidasi lipid dipicu oleh kompleks besi-oksigen berupa ion perferil dan ferril.

2. Propagasi, merupakan pemanjangan radikal bebas. Reaksi ini ditentukan oleh energi disosiasi ikatan karbonhidrogen rantai lipid. Apabila radikal karbon bereaksi dengan oksigen akan terbentuk radikal peroksil yang dapat mengabstraksi atom hidrogen pada lipid yang lain maka akan terbentuk lipid hidroperoksida. Lipid hidroperoksida bersifat sitotoksik. Melalui pemanasan atau reaksi yang melibatkan logam, lipid hidroperoksida akan dipecah menjadi produk peroksidasi lipid sekunder, yakni radikal lipid alkoksil dan peroksi lipid. Radikal lipid alkoksil dan lipid peroksil juga dapat menginisiasi reaksi rantai lipid selanjutnya.

3. Terminasi, merupakan radikal karbon yang terbentuk pada reaksi inisiasi cenderung menjadi stabil melalui reaksi dengan radikal karbon maupun radikal lain yang terbentuk pada tahap propagasi. Reaksi peroksidasi lipid, selain dipicu oleh katalis besi, juga dapat dipicu dan menghasilkan berbagai ROS. Apabila proses tersebut tidak diredam oleh scavenger alamiah, kerusakan akan terjadi pada berbagai struktur penting asam. Kadar peroksida lipid dapat digunakan

sebagai indikator terjadinya stress oksidatif pada jaringan. Hasil peroksida lipid dapat diperiksa dengan berbagai cara, antara lain dengan pembentukan konjugat MDA dengan asam tiobarbiturat.

## **2.4 Malondyaldehide (MDA)**

### **2.4.1 Definisi Malondyaldehide (MDA)**

Malondialdehid adalah senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir peroksidasi lemak tak jenuh dalam tubuh oleh radikal bebas. Tingginya kadar MDA dalam plasma, merupakan ukuran dimana terjadi peningkatan radikal bebas dan penurunan antioksidan dalam tubuh. MDA bersifat toksin terhadap sel dan dapat menimbulkan perubahan pada DNA bahkan sampai oksidasi lesi mutagenik (Arkhaesi, 2008).

### **2.4.2 Mekanisme Pembentukan Malondyaldehide (MDA)**

Produksi dan metabolisme MDA dapat dijelaskan sebagai berikut, radikal bebas oksigen ( $O_2^*$ ) diproduksi melalui proses enzimatik dan non enzimatik. Sel-sel tubuh yang dapat membentuk radikal bebas oksigen dan  $H_2O_2$  adalah sel polimorfonukleer, monosit dan makrofag. Radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan SOD dan ion  $Cu^{2+}$  menjadi  $H_2O_2$ .  $H_2O_2$  ini banyak diproduksi di mitokondria dan mikrosom.  $H_2O_2$  ini dapat menembus membran sel sedangkan superoksida anion ( $O_2^*$ ) tidak. Hidrogen peroksida ini merupakan oksidan yang kuat oleh karena dapat bereaksi dengan berbagai senyawa. Sebagai sistem pertahanan tubuh,  $H_2O_2$  oleh katalase dapat diubah menjadi  $H_2O$  dan  $O_2^*$ . Selain itu  $H_2O_2$  oleh enzim glutatone peroksidase diubah pula menjadi  $H_2O$ . Pada stress oksidatif, radikal bebas oksigen dan  $H_2O_2$  yang terbentuk akan berlebihan, sehingga sistem proteksi tubuh seperti enzim

katalase dan glutathione peroxidase tidak dapat lagi menetralkan semua radikal bebas oksigen yang terbentuk. Selanjutnya jika  $H_2O_2$  bereaksi dengan  $Fe^{2+}$  dan  $Cu^{2+}$  maka terbentuklah radikal bebas hidroksil melalui reaksi Fenton dan Haber-Weiss. Radikal hidroksil adalah spesies yang sangat reaktif. Membran sel terdiri dari banyak komponen penting yaitu fosfolipid, glikolipid, (keduanya mengandung asam lemak tak jenuh) dan kolesterol. Asam lemak tak jenuh ini sangat peka terhadap radikal hidroksil (Irawan, 2015).

Kemampuan radikal hidroksil ini akan membentuk reaksi rantai dengan satu atom hidrogen dari membran sel dan terbentuk peroksida lipid. Kelanjutan dari reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa aldehid yang memiliki daya rusak yang tinggi terhadap sel-sel tubuh antara lain malondialdehid, 4-hidroksinena, etana dan pentana. Demikian pula dengan DNA dan protein juga mengalami kerusakan yang seringkali cukup hebat (Irawan, 2015).

#### **2.4.3 Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)**

Radikal bebas memiliki waktu paruh yang sangat pendek sehingga harus cepat dilakukan pengukuran dalam laboratorium. Pengukuran kadar MDA serum dapat dilakukan melalui beberapa cara, yaitu sebagai berikut :

##### **1. Tes thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS)**

Dasar pemeriksaan adalah reaksi spektrofotometrik sederhana, dimana satu molekul MDA akan terpecah menjadi 2 molekul 2-asam thiobarbiturat. Reaksi ini berjalan pada pH 2-3. TBA akan memberikan warna pink-kromogen yang dapat diperiksa secara spektrofotometrik. Tes TBA selain mengukur kadar MDA yang terbentuk karena proses peroksidasi lipid juga mengukur produk aldehid lainnya termasuk produk non-volatil yang terjadi akibat panas yang ditimbulkan pada

saat pengukuran kadar MDA serum yang sebenarnya. Kadar MDA dapat diperiksa baik di plasma, jaringan maupun urin.

Beberapa metode pengukuran TBA adalah sebagai berikut :

### **1.1 Pengukuran reaksi TBA**

a. Pengukuran reaksi TBA dengan metode kolorimetri

Pengukuran reaksi TBA dengan metode kolorimetri dengan spektrofotometri merupakan kadar MDA yang paling sering dilakukan. Metode ini mudah dilakukan akan tetapi bersifat tidak spesifik oleh karena mengukur produk aldehid lainnya.

b. Pengukuran reaksi TBA dengan metode fluoresens

Metode ini memiliki keunggulan dibanding metode kolorimetri oleh karena tidak terganggu oleh beberapa substansi produk reaksi TBA yang larut air. Pemeriksaan dilakukan dengan metode spektrofotometri.

### **1.2 Pengukuran MDA-TBA dengan HPLC (High Performance Liquid Chromatography)**

Metode ini secara spesifik dapat mengukur kompleks MDA-TBA, sehingga pengukuran kadar MDA lebih akurat. Namun demikian metode ini membutuhkan kondisi asam dengan suhu tinggi sehingga tetap ada kemungkinan terbentuknya MDA yang bukan karena peroksidasi lipid.

### **1.3 Pengukuran kadar MDA serum bebas dengan metode HPLC (High Performance Liquid Chromatography)**

Merupakan metode pengukuran kadar MDA serum yang paling sensitif dan spesifik. MDA bukan produk yang spesifik dari proses peroksidasi lipid sehingga dapat menimbulkan positif palsu yang berakibat nilai duga positif yang

rendah, dan telah dilaporkan dapat meningkatkan spesifisitas pada pemeriksaan kadar MDA serum (Arkhaesi, 2008).

## 2. Analisis MDA metode Kolorimetri

Analisis MDA merupakan analisis radikal bebas secara tidak langsung dan mudah dalam menentukan jumlah radikal bebas yang terbentuk. Analisis radikal bebas secara langsung sangat sulit dilakukan karena senyawa radikal sangat tidak stabil dan bersifat elektrofil serta reaksinya pun berlangsung sangat cepat. Pengukuran MDA dapat dilakukan dengan pereaksi thiobarbituric acid (TBA) dengan mekanisme reaksi penambahan nukleofilik membentuk senyawa MDA-TBA. Senyawa ini berwarna merah jambu yang dapat diukur intensitasnya dengan menggunakan spektrofotometer. Metode ini merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk mengukur keberadaan radikal bebas dan peroksidasi lipid, mempunyai kepekaan yang cukup tinggi, mudah diaplikasikan untuk berbagai sampel pada berbagai tahap oksidasi lipid. Nilai normal kadar MDA tergantung dengan metode yang digunakan, untuk kadar MDA dengan metode spektrofotometri nilai normalnya  $1,04 \pm 0,43 \mu\text{mol/l}$  (Irawan, 2015).

## 2.5 Antioksidan

### 2.5.1 Definisi Antioksidan

Senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (electron donors) (Winarsi, 2011). Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat. Ada tiga kelompok antioksidan, yaitu antioksidan enzimatik, antioksidan pemutus rantai dan antioksidan logam transisi terikat protein. Yang termasuk antioksidan enzimatik adalah superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathion peroksidase (GPx), glutathion reduktase (GR) seruloplasmin. Mekanisme kerja antioksidan enzimatik adalah mengkatalisir pemusnahan radikal bebas dalam sel. Antioksidan pemutus rantai adalah molekul kecil yang dapat menerima dan memberi elektron dari atau ke radikal bebas, sehingga membentuk senyawa baru yang stabil, contoh antioksidannya adalah vitamin E dan vitamin C. Sedangkan antioksidan logam transisi terikat protein bekerja mengikat ion logam seperti  $Fe^{2+}$  dan  $Cu^{2+}$  contohnya Flavonoid dapat mencegah radikal bebas. Antioksidan jenis ini memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas (Sayuti *et al.*, 2015).

Menurut Winarno 2002, antioksidan dikelompokkan menjadi dua yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder. Antioksidan primer adalah suatu zat yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal yang melepaskan hidrogen. Zat-zat yang termasuk golongan antioksidan primer dapat berasal dari alami maupun buatan. Contoh antioksidan primer adalah enzim SOD (*Superoxide Dismutase*), katalase, dan glutation peroksidase (GSH-Px).

Antioksidan alami antara lain vitamin E, vitamin C, lesitin dan gosipol.

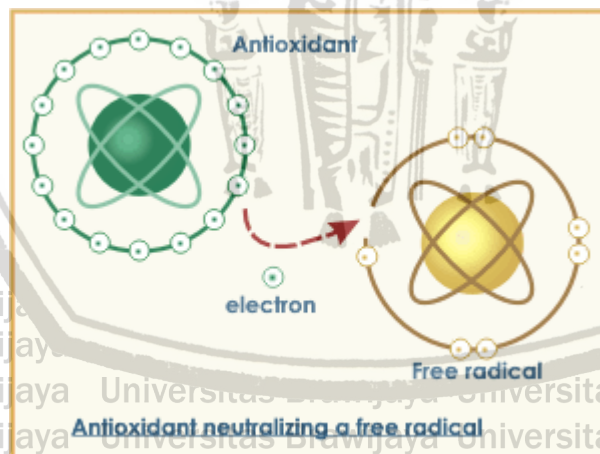
Antioksidan sekunder adalah suatu zat yang dapat mencegah kerja prooksidan

sehingga digolongkan sebagai sinergik. Beberapa asam organik tertentu, biasanya asam di- atau trikarboksilat, dapat mengikat logam-logam (sequestran). Sebagai contoh, satu molekul asam sitrat akan mengikat prooksidan Fe seperti sering dilakukan pada minyak kacang kedelai.

### 2.5.2 Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme reaksi, yaitu:

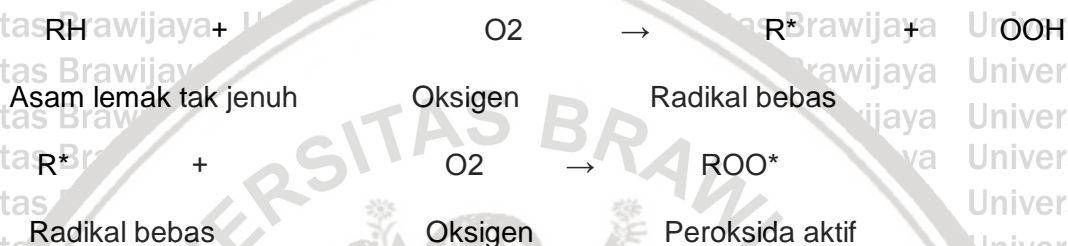
- 1). Pelepasan hidrogen dari antioksidan,
- 2). Pelepasan elektron dari antioksidan,
- 3). Adisi lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan,
- 4). Pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan



Gambar 2.1 Cara Kerja Antioksidan (Winarti, 2010)

Menurut Winarti 2010 prinsip kerja dari antioksidan dalam menghambat otooksidasi pada lemak dapat dilihat sebagai berikut:

- Oksigen bebas di udara akan mengoksidasi ikatan rangkap pada asam lemak yang tidak jenuh, kemudian radikal bebas yang terbentuk akan beraksi dengan oksigen sehingga akan menghasilkan peroksida aktif.



Apabila dalam suatu asam lemak yang terdapat dalam minyak tidak mengandung antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan ikatan rangkap lemak. Apabila ditambah suatu antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan antioksidan tersebut. Sehingga pembentukan radikal bebas dapat dihentikan dengan penambahan suatu antioksidan.

## 2.6 Lemon

### 2.6.1 Taksonomi Lemon (*Citrus limon* fino)

Klasifikasi botani tanaman *Citrus limon* (Manner et al., 2006 dalam Kristanto, 2006) :

Kingdom : *Plantae*

Sub Kingdom : *Tracheobionta*

Super Divisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida-Dicotyledons*



Sub Kelas : *Rosidae*  
Ordo : *Sapindales*  
Famili : *Rutaceae*  
Genus : *Citrus*  
Spesies : *Citrus limon burm f.*

### 2.6.2 Definisi dan Ciri-Ciri Lemon

Lemon (*Citrus limon*) merupakan tanaman asli Asia Tenggara (Manner, et al., 2006 dalam Kristianto, 2013). Lemon pertama kali tumbuh di India, Burma utara dan Cina. Pada tahun 1493, Christopher Columbus membawa biji *Citrus limon* ke Hispaniola. Budidaya *Citrus limon* pertama kali di Genoa pada pertengahan abad ke 15. Pada abad ke 18 dan abad 19, *Citrus limon* ditanam di Florida dan California. Bagian dari tanaman *Citrus limon* yang sering dimanfaatkan adalah kulit buah, bunga, daun, air perasan (Sauls, 1998 dalam Kristanto, 2006).

Jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm. f.) termasuk salah satu jenis tumbuhan perdu yang banyak memiliki dahan dan ranting dengan tinggi maksimal mencapai 10 sampai 15 kaki (3-6 m). *Citrus limon* memiliki batang berduka, daun hijau dan lonjong, bunga berbentuk oval dan berwarna putih dengan garis-garis ungu didalamnya. Buah *Citrus limon* berukuran 7-12 cm dan berbentuk bulat telur dengan ujung yang runcing pada salah satu ujungnya. Kulit *Citrus limon* berwarna kuning terang, kadang terdapat garis berwarna hijau atau putih dan mempunyai tebal sekitar 6-10 mm. Daging buah *Citrus limon* berbulir, berwarna kuning pucat, terdapat sekitar 8-10 segmen, bersifat *juicy* dan mempunyai rasa asam (Morton, 1987 dalam Kristanto, 2006).

Lemon (*Citrus limon* [L.] Burm.f.) adalah buah asli benua Asia khususnya daerah Birma bagian utara dan Cina Selatan. Penyebaran Jeruk lemon di Indonesia berada di Jawa dan telah dibudidayakan. Jeruk lemon dapat tumbuh baik di dataran rendah hingga ketinggian 800 meter di atas permukaan laut tapi ada juga yang di dataran yang agak tinggi seperti jenis Rough Lemon. Jeruk lemon memiliki kandungan vitamin C yang tinggi dibandingkan jeruk nipis serta sebagai sumber vitamin A, B1, B2, fosfor, kalsium, pektin, minyak atsiri 70% limonene, felandren, kumarins bioflavonoid, geranil asetat, asam sitrat, linalil asetat, kalsium, dan serat (Indriani et.al, 2015). Di dunia, lemon mempunyai banyak varietas yaitu Bush lemon, Eureka, Lisbon, Ponderosa, Variegated Pink, Verna, Villafranca, Yen Ben and Yuzu (Mohanapriya, 2013). Di Indonesia, jenis lemon yang dapat kita temui adalah lemon eureka, lemon lisbon, lemon fino dan lemon meyer (Muaris, 2013).

1. Lemon Eureka : kulit sedang hingga tipis, warna daging kuning kehijauan, kadar air tinggi, memiliki rasa asam, sepet, kulitnya kasar, terdapat biji, ada tonjolan di ujungnya.



**Gambar 2.2 Lemon Eureka (Tobergte dan Curtis, 2013)**

2. Lemon Lisbon : ukuran sedang dan berbentuk elips tonjolan yang mencolok. Buah umumnya lebih halus dibandingkan lemon Eureka. Buah warna kuning saat sudah matang.



**Gambar 2.3 Lemon Lisbon (Tobergte dan Curtis, 2013)**

3. Lemon Meyer (*Citrus x Meyeri*) : ukuran buah cukup besar bulat (65-75mm) dengan tonjolan yang kecil mencolok, warna kulit kuning-oranye, tekstur kulitnya yang halus, lembut dan tipis.



**Gambar 2.4 Lemon Meyer (Tobergte dan Curtis, 2013)**

Lemon fino adalah lemon yang berasal dari Spanyol. Lemon Fino disebut juga Mesero atau Primofiori di Spanyol. Di Australia, lemon fino diproduksi saat musim dingin dan awal musim semi tetapi di New South Wales, lemon fino tidak mengenal musim seperti lemon eureka. Lemon fino memiliki kandungan air yang banyak, memiliki biji yang sedikit (maksimal 5 biji per buah) ataupun tidak ada

sama sekali, dan memiliki tingkat keasaman yang tinggi. Lemon fino memiliki ukuran buah seperti bola sampai bulat telur dengan kulit buah yang halus dan tipis, puting buah yang relatif kecil dan pendek, serta warna kulit yang pucat kuning ke kuning cerah. Pohon lemon fino sangat kuat dan agak berduri. Lemon fino memiliki toleransi dengan musim dingin ataupun es sehingga tetap produktif tanpa mengenal musim (Winchell, 2013).



(a)



(b)



(c)



(d)

**Gambar 2.5 (a) Lemon Fino Belum Matang**

**(b) Lemon Fino Sudah matang**

**(c) Penampakan Vertikal Lemon Fino**

**(d) Penampakan Horizontal Lemon Fino**

(Tobergte dan Curtis, 2013)

### 2.3.3 Kandungan Lemon

Citrus limon mengandung sejumlah asam sitrat (3,7%), minyak atsiri (2,5%), 70% limonene pinene. *Citrus limon* juga mengandung potassium 145 mg per 100 g lemon, bioflavonoids, dan vitamin C 40-50 mg per 100 g (Chevallier, 1996 dalam Kristanto, 2006)

Senyawa kimia dalam buah *Citrus limon* (Stanway, 2011 dalam Kristanto, 2006) terdiri dari :

#### a. Asam Sitrat

Rumus kimia asam sitrat adalah  $C_6H_8O_7$ . Asam sitrat termasuk salah satu asam organik dengan nama kimia *2-hydroxy-1,2,3-propanetricarboxylic acid* (Lewis, 2001 dalam Kristianto, 2013). Kandungan asam sitrat dalam air perasan *Citrus limon* dapat membantu memindahkan cairan yang berlebih dari dalam jaringan ke dalam pembuluh darah, sehingga mengurangi kemampuan jaringan dan darah mengalir dengan bebas.

#### b. Asam Askorbat (Vitamin C)

Bentuk utama vitamin C adalah asam askorbat (*ascorbic acid*) dengan rumus  $C_6H_8O_6$  (Molina, *et al.*, 2010 dalam Kristianto, 2013). Kadar vitamin C yang dibutuhkan tubuh hanya berkisar 90 mg (US) dan 75 mg (UK), sedangkan dalam satu buah *Citrus limon* mengandung vitamin C 60-100 mg. Jadi satu buah *Citrus limon* dapat melengkapi kebutuhan tubuh.

#### c. *Glucaric acid*

*Glucaric acid* dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah, mencegah kanker usus dan radang usus dengan mengeluarkan *butyric acid* dalam usus besar, mencegah kanker payudara, kanker prostat, kanker ovarium, mencegah

pre menstruasi sindrom dengan mendorong *glucoronidation* dan mengurangi kadar polijusi dalam tubuh.

d. Polifenol

*Citrus limon* mengandung polifenol sebagai antioksidan dan antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumonia*, dan *E. coli* (Kumar, *et al.*, 2011 dalam Kristianto, 2013) dan memiliki efek anti fungi *Candida albicans* (Kirbaslar, *et al.*, 2009 dalam Kristianto, 2013).

e. Flavonoid

Flavonoid dalam *Citrus limon* menyebabkan warna kuning terang yang berguna untuk melindungi kekuatan vitamin C dengan meningkatkan absorpsi dan melindungi dari oksidasi, mengurangi kadar kolesterol sampai 40% dengan mengurangi produksi kolesterol pada liver, dapat mengurangi resiko penyakit jantung, mencegah kanker, menguatkan dinding pembuluh darah. Flavonoid yang *water-soluble* antara lain *citrin*, *bioflavonoid*. Flavonoid utama pada buah lemon adalah hesperidin. Kadar flavonoid paling tinggi terdapat pada kulit *Citrus limon* (Kristanto, 2006).

#### 2.3.4 Pengaruh Lemon terhadap Kadar MDA

Lemon (*Citrus limon [L.] Burm.f.*) mengandung tinggi flavonoid, seperti rutin, hesperidin, quercitrin, eriocitrin, narirutin, didymin and naringin, vitamin C dan karotenoids yang berfungsi sebagai antioksidan (Riaz dan Khan, 2013).

Vitamin C atau L-askorbat yang terdapat dalam lemon fino sebesar 53 mg/100g yang termasuk dalam antioksidan yang larut dalam air (aqueous antioxidant). Senyawa ini, merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel. Sebagai antioksidan, vitamin C bekerja sebagai donor elektron, dengan cara memindahkan satu

elektron ke senyawa logam Tembaga. Selain itu, vitamin C juga dapat menyumbangkan elektron ke dalam reaksi biokimia intraseluler dan ekstraseluler.

Vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif di dalam sel netrofil, monosit, protein lensa dan retina. Vitamin ini juga dapat bereaksi dengan Fe-ferritin. Di luar sel, vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif, mencegah terjadinya LDL teroksidasi, mentransfer elektron ke dalam tokoferol teroksidasi, dan mengabsorpsi logam dalam saluran pencernaan (Winarti, 2010).

Vitamin C mampu mereduksi radikal superoksida, hidroksil, asam hipoklorida, dan oksigen reaktif yang berasal dari netrofil dan monosit yang teraktivasi. Antioksidan vitamin C mampu bereaksi dengan radikal bebas, kemudian mengubahnya menjadi radikal askorbil. Senyawa radikal terakhir ini akan segera berubah menjadi askorbat dan dehidroaskorbat. Asam askorbat dapat bereaksi dengan oksigen teraktivasi, seperti anion superoksida dan radikal hidroksil. Pada konsentrasi rendah, vitamin C bereaksi dengan radikal hidroksil menjadi askorbil yang sedikit reaktif, sementara pada kadar tinggi, asam ini tidak akan bereaksi.

Askorbat berperan sebagai reduktor untuk berbagai radikal bebas. Selain itu juga meminimalkan terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh stress oksidatif. Askorbat dapat langsung menangkap radikal bebas oksigen, baik dengan atau tanpa katalisator enzim. Secara tidak langsung, askorbat dapat meredakan aktivitasnya dengan cara mengubah tokoferol menjadi tereduksi.

Reaksinya terhadap senyawa oksigen reaktif lebih cepat dibandingkan dengan komponen cair lainnya. Askorbat juga melindungi makromolekula penting dari kerusakan oksidatif. Reaksinya terhadap radikal hidroksil terbatas hanya melalui proses difusi (winarsi 2011). Sebagai antioksidan, askorbat akan bereaksi

dengan radikal superoksida, hidrogen peroksida, maupun radikal tokoferol membentuk asam monodehidro askorbat dan atau asam dehidroaskorbat reduktase, yang ekuivalen dengan NADPH atau glutation tereduksi.

Dehidroaskorbat selanjutnya dipecah menjadi tartarat dan oksalat. Asam askorbat dapat meregenerasi radikal askorbil dengan bantuan enzim semi dehidroaskorbil reduktase, dan NADPH sebagai sumber energi. Regenerasi vitamin C dari dehidroaskorbat melalui reaksi kimia dengan bantuan GSH atau asam lipoat juga dengan bantuan katalisa reduksi oleh GSH-dependen asam dehidroaskorbat reduktase. Keberadaan aktifitas asam dehidroaskorbat reduktase bisa merangsang redoks asam askorbat potensial, secara tidak langsung berperan pada antioksidan yang lain. Hal tersebut penting dalam memperluas fungsi proteksi antioksidan pada sel-sel yang hidrofobi, dimana asam askorbat dapat mengurangi radikal kromanoksil semistabil, yang dapat meregenerasi bentuk aktif metabolik dari antioksidan lipid vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol recycling) (Combs dalam Sareharto 2010). Asam askorbat dapat mendonorkan satu atom hidrogen pada radikal tokoferoksil dengan kecepatan  $2 \times 10^5$  M/s. Karena adanya perbedaan potensial reduksi 1 –elektron standar antara asam askorbat (282 mV) dan tokoferol (480 mV) (Combs dalam Sareharto 2010).



## 2.4 Jeruk Nipis

### 2.4.1 Taksonomi Jeruk Nipis

Menurut Ferguson, 2002 dalam Ambarwati, 2012 secara taksonomi, tanaman *Citrus aurantifolia* termasuk dalam klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermatophyta*

Subdivisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*

Ordo : *Rutales*

Famili : *Rutaceae*

Genus : *Citrus*

Spesies : *Citrus aurantifolia (Cristm.) Swingle*

### 2.4.2 Definisi dan Ciri-Ciri Jeruk Nipis

Jeruk nipis memiliki beberapa nama yang berbeda di Indonesia, antara lain jeruk nipis (Sunda), jeruk pecel (Jawa), jeruk dhurga (Madura), lemo (Bali), mudutelong (Flores) dan lain sebagainya. Jeruk nipis merupakan tumbuhan obat dari *family Rutaceae*. Dalam pengobatan tradisional digunakan antara lain sebagai peluruh dahak dan obat batuk (Sarwono, 2006 dalam Ambarwati, 2012).

Tanaman jeruk nipis merupakan pohon yang berukuran kecil. Buahnya berbentuk agak bulat dengan ujungnya sedikit menguncup dan berdiameter 3-6 cm dengan kulit yang cukup tebal. Saat masih muda, buah berwarna kuning. Semakin tua, warna buah semakin hijau muda atau kekuningan. Rasa buahnya asam segar. Bijinya berbentuk bulat telur, pipih, dan berwarna putih kehijauan.

Akar tunggangnya berbentuk bulat dan berwarna putih kekuningan (Diani et al., 2010).



**Gambar 2.6 Jeruk Nipis (Saraf, 2006 dalam Ambarwati, 2012)**

#### **2.4.3 Kandungan Jeruk Nipis**

Buah jeruk nipis mengandung bahan kimia diantaranya asam sitrat sebanyak 7-7,6%, damar lemak, mineral, vitamin B1, minyak terbang (minyak atsiri atau *essensial oil*). Minyak esensial sebesar 7% mengandung sitrat limonene, fellandren, lemon kamfer, geranil asetat, cadinen, linalin asetat, flavonoid, seperti poncirin, hesperidine, rhoifolin, dan naringine (Ambarwati, 2012). Dalam 100 gram jeruk nipis mengandung vitamin C 63 mg dan hesperidin sebanyak 15,64 mg yang lebih tinggi dibandingkan jeruk manis dan lemon.

Selain vitamin C, kandungan flavonoid utama dalam jeruk nipis yaitu hesperidin dapat membantu menurunkan kadar kolesterol total (Purnamasari dan Isnawati, 2014). Perbedaan kandungan zat gizi dalam lemon dan jeruk nipis dapat dilihat pada Tabel 2.2

**Tabel 2.2 Perbedaan Kandungan Zat Gizi Lemon dan Jeruk Nipis****Kandungan dalam 100 gram<sup>1)</sup>**

<b>Zat gizi</b>	<b>Lemon</b>	<b>Jeruk Nipis</b>
Energi	34 kkal	37 kkal
Protein	0,5 gram	0,8 gram
Lemak	0,8 gram	0,1 gram
Karbohidrat	6,2 gram	12,3 gram
Kalsium	23 mg	40 mg
Fosfor	20 mg	22 mg
Besi	0,3 mg	0,6 mg
Vitamin A	22 IU <sup>2)</sup>	-
Vitamin B1	0,09 mg	0,04 mg
Vitamin C	50 mg	27 mg
Natrium	31 mg	4 mg
Kalium	140 mg	137 mg
BDD	100%	76%
Senyawa fotokimia	Limonene, quersetin	limonene
Khasiat	Aromatik, antiinflamasi, diuretik	Pendingin

Keterangan :

<sup>1)</sup> DKBM Depkes, 2005<sup>2)</sup> USDA National Nutrient database dalam Muaris, 2013

#### 2.4.4 Pengaruh Jeruk Nipis terhadap Kadar MDA

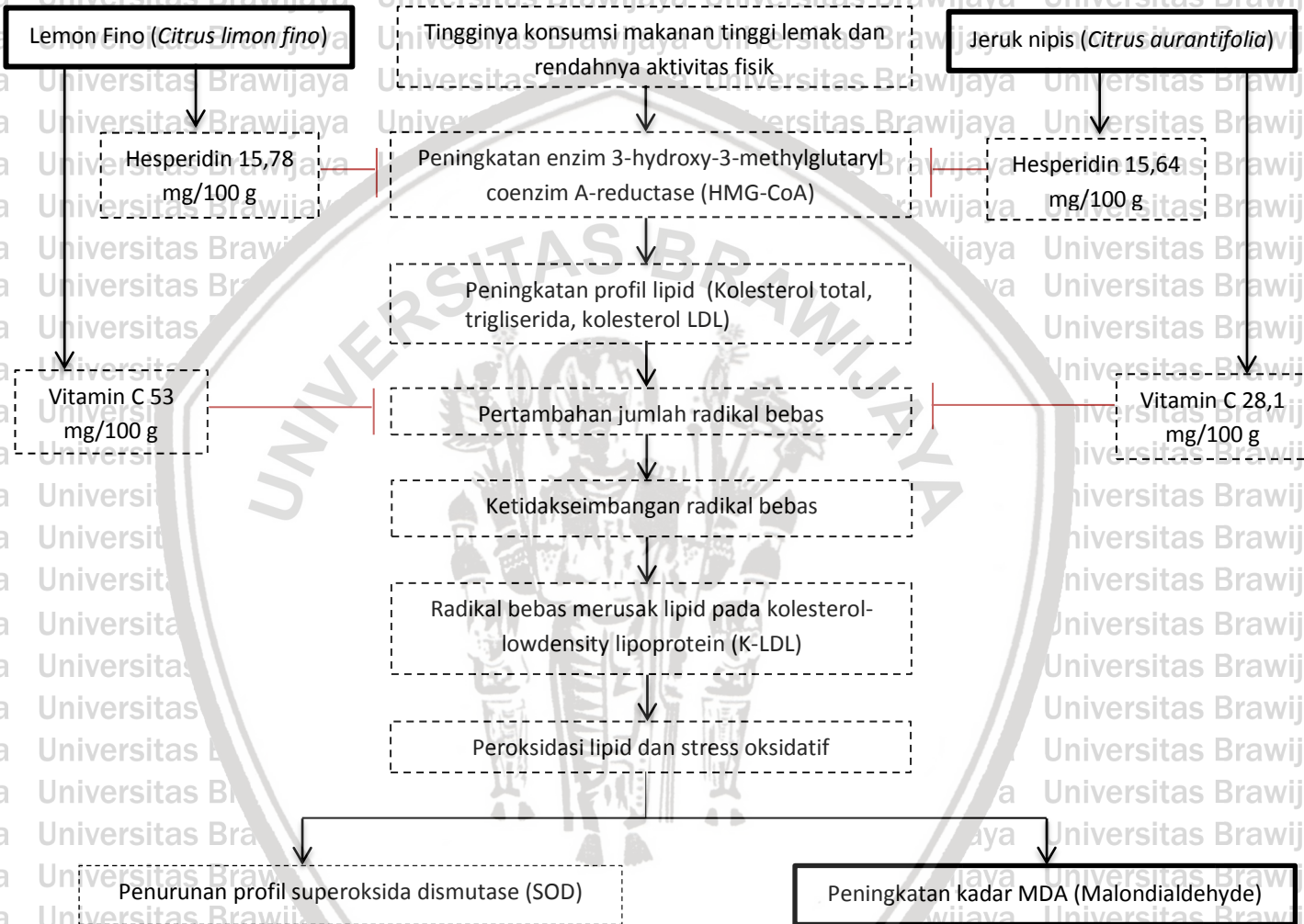
Jeruk Nipis merupakan salah satu obat tradisional yang sering digunakan, karena mengandung flavonoid sebesar 0,57 mg per 100 gram sari jeruk nipis; fenol sebesar 0,02 mg per 100 gram sari jeruk nipis, tanin sebesar 0,04 mg per 100 gram sari jeruk nipis, saponin sebesar 0,22 mg per 100 gram sari jeruk nipis, dan komposisi macam vitamin, yaitu : asam askorbat (vitamin C) sebesar 22,88 mg per 100 gram sari jeruk nipis, thiamin (vitamin B1) sebesar 0,11 mg per 100 gram sari jeruk nipis, dan riboflavin (vitamin B2) sebesar 0,04 mg per 100 gram sari jeruk nipis. Menurut *United States Department of Agriculture* (2006) dalam Ranka (2007) tentang kandungan flavonoid dalam makanan, didapatkan data bahwa pada sari jeruk nipis mengandung naringenin sebesar 0,38 mg/100 gram bahan.

Kandungan vitamin C dalam jeruk nipis dapat membantu dalam metabolisme kolesterol dengan cara meningkatkan laju pembuangan lemak dalam bentuk asam empedu dan membantu reaksi hidrosilasi dalam pembentukan asam empedu sehingga meningkatkan ekskresi kolesterol dari dalam tubuh. Hal ini secara tidak langsung dapat menurunkan kadar profil lipid didalam darah yang menjadi salahsatu penyebab terjadi peroksidasi lipid. Selain itu jeruk nipis juga memiliki beberapa kandungan antioksidan seperti flavonoid yang berfungsi untuk mencegah terjadinya stress oksidatif, sehingga mampu mengurangi kadar MDA didalam tubuh.



## BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

### 3.1 Kerangka Konsep Penelitian



**Keterangan :**

- HMG-CoA : Hydroxy-3-methylglutaryl coenzim A
- MDA : Malondialdehyde
- | : Menghambat
- : Menyebabkan
- : Variabel yang tidak diteliti
- ▭ : Variabel yang diteliti

### 3.2 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian

Tingginya konsumsi makanan yang mengandung lemak tinggi serta aktivitas fisik yang kurang dilakukan akan menyebabkan terjadinya peningkatan enzim 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzim A-reductase (HMG-CoA 3) sehingga terjadi peningkatan profil lipid didalam darah yang ditandai dengan peningkatan pada kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL. Peningkatan profil lipid menyebabkan pertambahan jumlah senyawa radikal bebas di dalam tubuh.

Sehingga terjadi ketidakseimbangan radikal bebas karena beberapa radikal bebas yang terdiri dari suatu molekul atau lebih elektron yang tidak berpasangan.

Radikal bebas yang tidak memiliki pasangan ini bersifat sangat labil dan reaktif untuk menyerang molekul yang berada di sekitarnya sehingga mengakibatkan kerusakan struktur sel salah satunya merusak lipid pada *kolesterol-lowdensity lipoprotein* (K-LDL). Kerusakan jaringan lipid akan menyebabkan terbentuknya peroksidasi lipid dan stress oksidatif yang selanjutnya akan menghasilkan produk akhir MDA (*malondialdehyde*). Peroksidasi lipid akan menyebabkan terjadinya peningkatan kadar MDA (*malondialdehida*) di dalam darah.

Dengan adanya perasan lemon fino (*Citrus limon fino*) dan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang mengandung hesperidin yang dapat menghambat kerja HMG-CoA reductase sehingga dapat menghambat peningkatan Kolesterol total, trigliserida, LDL, dan penurunan HDL di dalam darah. Selain itu manfaat lain dari perasan lemon fino (*Citrus limon fino*) dan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah mengandung antioksidan seperti vitamin C. Antioksidan dari vitamin C ini berfungsi untuk memberikan elektron atau reduktan sehingga dapat mencegah terjadinya peningkatan radikal bebas yang tidak berpasangan melalui pencegahan reaksi oksidasi yang terjadi sehingga akan mengurangi kadar MDA.

**3.3 Hipotesis**

Terdapat perbedaan Kadar MDA (*Malondyaldehyde*) pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar jantan yang diberi *high fat diet* dengan pemberian perasa lemon fino (*Citrus limon fino*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

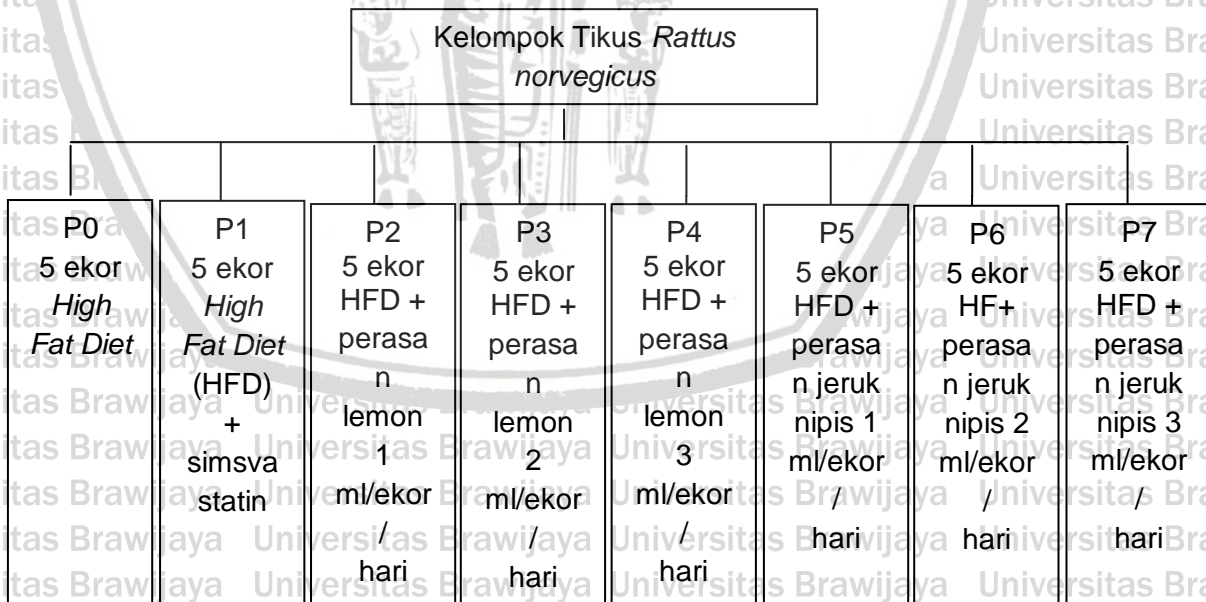




## BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental laboratory* karena terdapat suatu perlakuan pada hewan coba tikus. Jenis rancangan percobaan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena kondisi percobaan pada penelitian ini bersifat homogen dengan *Pre and Post Test with Controlled Group Design* karena pengukuran parameter dilakukan di awal dan akhir perlakuan. Dengan metode ini peneliti dapat membandingkan perubahan yang terjadi sebelum dan sesudah perlakuan. Pemilihan objek penelitian untuk pengelompokan dalam perlakuan menggunakan metode *Simple Random Sampling* karena tikus, bahan pakan tikus, dan tempat penelitian dapat dikatakan homogen.



Keterangan : P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>... dst = jenis perlakuan

**Gambar 4.1 Pembagian Kelompok Perlakuan**

**Tabel 4.1 Pengulangan Perlakuan**

Tarf Perlakuan	Pengulangan				
	1	2	3	4	5
P0	P01	P02	P03	P04	P05
P1	P11	P12	P13	P14	P15
P2	P21	P22	P23	P24	P25
P3	P31	P32	P33	P34	P35
P4	P41	P42	P43	P44	P45
P5	P51	P52	P53	P54	P55
P6	P61	P62	P63	P64	P65
P7	P71	P72	P73	P74	P75

Keterangan:

1,2,3,4 = pengulangan percobaan

P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>,... dst = taraf perlakuan

P<sub>01</sub>, P<sub>63</sub>, P<sub>73</sub>,... dst = jenis perlakuan

## 4.2 Populasi dan Sampel

### 4.2.1 Subjek Penelitian

Subjek penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah hewan coba tikus putih jenis *Rattus norvegicus* galur Wistar. Pemilihan hewan coba ini dikarenakan tikus memiliki karakteristik genetik yang unik, mempunyai respon yang cepat, memberikan gambaran ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia, mudah berkembang biak, murah serta mudah untuk mendapatkannya dalam jumlah banyak (Sihombing dan Raflizar, 2010).

Tikus putih galur *Wistar* ini mempunyai ciri spesifik yang membedakannya dengan tikus liar, yaitu bersifat *specific pathogenic free* yang berarti bebas dari segala penyakit menular untuk manusia, misalnya penyakit PES.

### 4.2.2 Kriteria Inklusi

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus* galur Wistar)
2. Jenis kelamin jantan
3. Warna bulu putih bersih, halus, dan mengkilat

4. Umur  $\pm$  8-10 minggu (Krinke, 2010).

5. Berat badan 150-250 gram (Sengupta, 2013).

#### 4.2.3 Kriteria Eksklusi

1. Tikus cacat atau terluka

2. Tikus tampak tidak aktif

#### 4.2.4 Drop out

Tikus mati selama perlakuan

#### 4.2.5 Perhitungan Sampel

Perhitungan jumlah sampel berdasarkan rumus Federer adalah sebagai berikut :

$$[(t - 1)(n - 1)] \geq 15$$

Dimana :

n = jumlah pengulangan/besar sampel dalam kelompok

t = jumlah perlakuan/banyaknya kelompok (8 perlakuan)

Maka jumlah sampel yang dibutuhkan dalam kelompok adalah :

$$[(t - 1)(n - 1)] \geq 15$$

$$[(8 - 1)(n - 1)] \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3.142 \approx 4$$

Jumlah sampel untuk 8 kelompok adalah  $4 \times 8 = 32$  ekor tikus.

Jumlah total sampel adalah 40 ekor tikus. Namun untuk mengurangi terjadinya *lose of sample* di tengah-tengah penelitian karena tikus mati, maka jumlah sampel ditambah 1 tiap perlakuan menjadi 40 tikus.

#### 4.2.6 Randomisasi Sampel

Seluruh tikus sampel yang tersedia dikelompokkan menjadi 8 kelompok perlakuan berdasarkan *Simple Random Sampling* sehingga tiap tikus memiliki peluang yang sama untuk semua kelompok. Teknik *Simple Random Sampling* dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Memberikan bilangan acak pada tiap tikus. Umumnya menggunakan 3 angka acak.
2. Memberi ranking pada tiap tikus sesuai angka acak yang telah dibuat. Angka ranking ini menjadi kode untuk tiap tikus.
3. Mengelompokkan tikus menjadi 8 kelompok berdasarkan angka ranking.

Agar setiap unit percobaan mendapat peluang yang sama untuk mendapatkan perlakuan maka dalam pengambilan sampel menggunakan pengacakan dengan langkah sebagai berikut:

1. Memberikan nomor urut 1 sampai 40
2. Mengambil bilangan random sebanyak satuan percobaan dengan menggunakan rumus RAND pada *Microsoft Excel*
3. Memberikan ranking pada bilangan random yang diperoleh seperti terlihat pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Pangkat atau Ranking dari 40 Angka Acak

No	Unit Percobaan	Angka Acak	Ranking
1	P <sub>01</sub>	502	20
2	P <sub>02</sub>	334	28
3	P <sub>03</sub>	341	27
4	P <sub>04</sub>	396	23
5	P <sub>05</sub>	490	21
6	P <sub>11</sub>	808	6
7	P <sub>12</sub>	509	18
8	P <sub>13</sub>	307	29
9	P <sub>14</sub>	236	33
10	P <sub>15</sub>	529	19
11	P <sub>21</sub>	343	26
12	P <sub>22</sub>	385	24
13	P <sub>23</sub>	186	37
14	P <sub>24</sub>	620	14
15	P <sub>25</sub>	849	3
16	P <sub>31</sub>	823	5
17	P <sub>32</sub>	211	36
18	P <sub>33</sub>	167	38
19	P <sub>34</sub>	692	12
20	P <sub>35</sub>	119	40
21	P <sub>41</sub>	758	9
22	P <sub>42</sub>	278	31
23	P <sub>43</sub>	461	22
24	P <sub>44</sub>	771	8
25	P <sub>45</sub>	550	16
26	P <sub>51</sub>	271	32
27	P <sub>52</sub>	874	1
28	P <sub>53</sub>	551	15
29	P <sub>54</sub>	716	11
30	P <sub>55</sub>	730	10
31	P <sub>61</sub>	791	7
32	P <sub>62</sub>	837	4
33	P <sub>63</sub>	530	17
34	P <sub>64</sub>	852	2
35	P <sub>65</sub>	368	25
36	P <sub>71</sub>	297	30
37	P <sub>72</sub>	656	13
38	P <sub>73</sub>	145	39
39	P <sub>74</sub>	217	35
40	P <sub>75</sub>	221	34

Keterangan: 1,2,3,...40 = satuan percobaan

P<sub>01</sub>, P<sub>63</sub>, P<sub>73</sub>,...dst = jenis perlakuan

502, 334,...dst = angka acak

20,28,27,...34 = ranking

4. Dengan demikian hasil randomisasi menunjukkan bahwa perlakuan P0 diberikan pada satuan percobaan bernomor 20, 28, 27, 23, dan 21; perlakuan P1 diberikan pada satuan percobaan bernomor 6, 18, 29, 33, dan 18; perlakuan P2 diberikan pada satuan percobaan bernomor 26, 24, 37, 14, dan 3; perlakuan P3 diberikan pada satuan percobaan bernomor 5, 36, 38, 12, dan 40; perlakuan P4 diberikan pada satuan percobaan bernomor 9, 31, 22, 8, dan 16; perlakuan P5 diberikan pada satuan percobaan bernomor 32, 1, 15, 11, dan 10; perlakuan P6 diberikan pada satuan percobaan bernomor 7, 4, 17, 2, dan 25; perlakuan P7 diberikan pada satuan percobaan bernomor 30, 13, 39, 35, dan 34

5. Memasukkan jenis perlakuan pada satuan percobaan dalam Desain Lay Out

1	2	3	4	5	6	7	8
P <sub>52</sub>	P <sub>64</sub>	P <sub>25</sub>	P <sub>62</sub>	P <sub>31</sub>	P <sub>11</sub>	P <sub>61</sub>	P <sub>44</sub>
9	10	11	12	13	14	15	16
P <sub>41</sub>	P <sub>55</sub>	P <sub>54</sub>	P <sub>34</sub>	P <sub>72</sub>	P <sub>24</sub>	P <sub>53</sub>	P <sub>45</sub>
17	18	19	20	21	22	23	24
P <sub>63</sub>	P <sub>12</sub>	P <sub>15</sub>	P <sub>01</sub>	P <sub>05</sub>	P <sub>43</sub>	P <sub>04</sub>	P <sub>22</sub>
25	26	27	28	29	30	31	32
P <sub>65</sub>	P <sub>21</sub>	P <sub>03</sub>	P <sub>02</sub>	P <sub>13</sub>	P <sub>71</sub>	P <sub>42</sub>	P <sub>51</sub>
33	34	35	36	37	38	39	40
P <sub>34</sub>	P <sub>75</sub>	P <sub>74</sub>	P <sub>32</sub>	P <sub>23</sub>	P <sub>33</sub>	P <sub>73</sub>	P <sub>35</sub>

Keterangan: 1,2,3,...40 = satuan percobaan  
 P<sub>52</sub>, P<sub>64</sub>, P<sub>35</sub>,...dst = jenis perlakuan

**Gambar 4.2 Desain Lay Out Rancangan Acak Lengkap Percobaan**

#### 4.2.7 Penentuan Perlakuan

Pada rancangan penelitian ini, sampel dibagi kedalam 8 kelompok perlakuan yaitu :

- Kelompok perlakuan I (P0) yang diberi *high fat diet* saja
- Kelompok perlakuan II (P1) yang diberi *high fat diet* dan diberikan bubuk simvastatin sebanyak 0,18 mg//hari/200gramBB tikus dilarutkan dalam 1 ml akuades.
- Kelompok perlakuan III (P2) yang diberi *high fat diet* dan diberikan perasan lemon fino (*Citrus limon fino*) dengan volume pemberian 1 ml/ekor/hari.
- Kelompok perlakuan IV (P3) yang diberi *high fat diet* dan diberikan perasan lemon fino (*Citrus limon fino*) dengan volume pemberian 2 ml/ekor/hari.
- Kelompok perlakuan V (P4) yang diberi *high fat diet* dan diberikan perasan lemon fino (*Citrus limon fino*) dengan volume pemberian 3 ml/ekor/hari.
- Kelompok perlakuan VI (P5) yang diberi *high fat diet* dan diberikan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan volume pemberian 1 ml/ekor/hari.
- Kelompok perlakuan VII (P6) yang diberi *high fat diet* dan diberikan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan volume pemberian 2 ml/ekor/hari.
- Kelompok perlakuan VIII (P7) yang diberi *high fat diet* dan diberikan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan volume pemberian 3 ml/ekor/hari.

### **4.3 Variabel Penelitian**

#### **4.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas penelitian ini adalah perasan lemon fino (*Citrus limon fino*), perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan berbagai volume pemberian dan pemberian simvastatin.

#### **4.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat penelitian ini adalah kadar MDA.

#### **4.3.3 Variabel Terkendali**

Variabel kendali adalah variabel yang dapat dikendalikan oleh peneliti agar objek penelitian selalu terkendali dan dalam keadaan homogen. Variabel kendali dalam penelitian ini, yaitu : jenis tikus, umur tikus, jenis kelamin tikus, berat badan awal, pemberian diet, kondisi lingkungan kandang, dan pemberian simvastatin, perasan lemon serta jeruk nipis melalui sonde.

### **4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian**

#### **4.4.1 Lokasi Penelitian**

Perawatan tikus dan penghitungan kadar MDA dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

#### **4.4.2 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada Januari 2016 - Juni 2017.

### **4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian**

#### **4.5.1 Alat Penelitian**

1. Alat untuk pemeliharaan binatang coba adalah bak plastik, tutup kandang dari anyaman kawat, botol air, tempat makanan, sonde, dan sekam.



2. Alat untuk pembuatan pakan adalah timbangan analitik merk CAMRY (EK3650/EK3651), baskom plastik, gelas ukur, dan sarung tangan

plastik.

3. Alat untuk penimbangan tikus adalah timbangan analitik merk CAMRY (EK3650/EK3651)

4. Alat pengambilan sampel

Seperangkat alat bedah seperti gunting bedah (lurus panjang, lurus pendek dan bengkok), alkohol 70%, kapas, papan bedah, pinset, pins, tabung eppendorf 1,5 mL, disposable syringe 3 mL, *styrofoam* untuk tempat eppendorf, dan stoples pembiusan, dan pada MDA digunakan alat *Sputit* 1 cc dan selongsong (alat pengekang hewan coba)

5. Alat untuk pemeriksaan Kadar MDA :

- Reagen TCA dan TBA untuk mengukur kadar MDA, aquadest, papan fiksasi, jarum 26 (26 gauge), tabung penampung darah dengan ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), spektrofotometer

6. Alat untuk Hygiene dan Sanitasi

Tempat cuci tangan, sarung tangan (*hand gloves*), jas laboratorium, sabun antiseptik, masker, alkohol dan *cotton ball*.

## 4.5.2 Bahan Penelitian

### 4.5.2.1 Bahan Pakan Tikus

#### 1. Diet normal

Bahan pakan normal terdiri dari *Comfeed PARS* 66,67% (dengan kandungan air 12%, protein 11%, lemak 4%, serat 7%, abu 8%, Ca 1,1 %, fosfor 0,9%, antibiotik *coccidiostat* 53%) dan air 33,33% (Lukitasari, 2014). Kandungan gizi (per 100 gr) yaitu energi 344 kkal, protein 19 gr, lemak 4 gr, dan karbohidrat 58 gr (Luthfiyah dan Widjanto, 2011).

#### 2. *High fat diet*

Pakan tinggi lemak yang terdiri dari *Comfeed PARS* 50%, tepung terigu 25%, kuning telur bebek 5%, lemak kambing 10%, minyak kelapa 1%, minyak babi 8,9%, asam kolat 0,1% (Umami, 2015). Kandungan energi, protein, lemak, dan karbohidrat per 100 gram pakan adalah 457 kkal energi, 5.24 gram protein, 9.59 gram lemak, dan 18.816 gram karbohidrat.

#### 3. Perasan Lemon

Dalam penelitian ini menggunakan volume pemberian perasan lemon fino (*Citrus limon fino*) sebesar 1 ml/ekor/hari, 2 ml/ekor/hari, dan 3 ml/ekor/hari. Volume ini berdasarkan penelitian Purnamasari (2014), yaitu 2 ml/ekor/hari. Oleh karena itu, peneliti menggunakan volume pemberian tersebut sebagai pedoman. Selanjutnya, peneliti menentukan batas bawah volume pemberian sebesar 1 ml/ekor/hari dan batas atas volume pemberian sebesar 3 ml/ekor/hari.

#### 4. Perasan jeruk nipis

Dalam penelitian ini menggunakan volume pemberian perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebesar 1 ml/ekor/hari, 2 ml/ekor/hari, dan 3 ml/ekor/hari. Volume ini berdasarkan penelitian Purnamasari (2014), yaitu 2 ml/ekor/hari. Oleh karena itu, peneliti menggunakan volume pemberian tersebut sebagai pedoman. Selanjutnya, peneliti menentukan batas bawah volume pemberian sebesar 1 ml/ekor/hari dan batas atas volume pemberian sebesar 3 ml/ekor/hari.

#### 5. Simvastatin

Bubuk simvastatin sebanyak 0,18 mg//hari/200gramBB tikus dilarutkan dalam 1 ml akuades (Haznam, 1976 dalam Harini, 2009).

#### 4.5.2.2 Bahan Bius Tikus

Dietil eter

#### 4.5.2.3 Bahan Pemeriksaan Kadar MDA (*Malondyaldehide*)

- Reagen TBA (*Triobarbiturat Acid*) dan TCA (*Trichloroacetic Acid*),
- Aquades.

#### 4.6 Definisi Operasional

Variabel	Keterangan	Satuan	Jenis Data
<b>Perasan lemon fino (Citrus limon fino)</b>	Perasan lemon fino adalah perasan lemon yang memiliki ukuran buah seperti bola sampai bulat telur dengan kulit buah yang halus dan tipis, memiliki tonjolan relatif kecil, warna kulit yang kuning pucat ke kuning cerah memiliki kandungan air yang banyak, memiliki biji yang sedikit (maksimal 5 biji per buah), dan memiliki tingkat keasaman yang tinggi. Lemon fino kemudian dibersihkan dari kotoran, dicuci bersih, dan diperas untuk diambil cairannya yang diberikan ke tikus putih jenis <i>Rattus norvegicus</i> galur wistar jantan dengan berat badan 150-250 gram diberikan sebanyak 1 ml/ekor/hari untuk P2, 2 ml/ekor/hari untuk P3, dan 3 ml/ekor/hari untuk P4	ml	Interval
<b>Perasan jeruk nipis (Citrus aurantifolia)</b>	Perasan jeruk nipis adalah perasan yang buahnya berbentuk agak bulat dengan ujungnya sedikit menguncup dan berdiameter 3-6 cm dengan kulit yang cukup tebal. Warna kulit buah hijau tua. Rasa buahnya asam segar. Jeruk nipis kemudian dibersihkan dari kotoran, dicuci bersih, dan diperas untuk diambil cairannya yang diberikan ke tikus putih jenis <i>Rattus norvegicus</i> galur wistar jantan dengan berat badan 150-250 gram diberikan sebanyak 1 ml/ekor/hari untuk P5, 2 ml/ekor/hari untuk P6, dan 3 ml/ekor/hari untuk P7.	ml	Interval
<b>Diet tinggi lemak</b>	Pakan tikus yang terdiri dari bahan-bahan yang mengandung komposisi tinggi lemak yang akan memberi efek terhadap kadar profil lipid dan MDA. <i>High fat diet</i> yang digunakan yang memiliki kandungan gizi (per 100 gr) yaitu 457 kkal energi, 5.24 gram protein, 9.59 gram lemak, dan 18.816 gram karbohidrat	mg	Interval
<b>Simvastatin</b>	Simvastatin adalah salah satu <i>lipid lower agent</i> yang dapat menurunkan kadar VLDL. Dosis pemberian simvastatin 0,18 mg/200gBB/hari. Suspensi simvastatin diambil sebanyak 2 ml untuk disonde pada kelompok perlakuan.	mg	Interval
<b>Diet standar</b>	Pakan jenis PARS yang diberikan pada tikus untuk memenuhi kebutuhan normal nutrisinya dan tidak memberikan perubahan metabolisme dengan kandungan gizi (per 100 gr) yaitu energi 344 kkal, protein 19 gr, lemak 4 gr, dan karbohidrat 58 gr.	mg	Interval
<b>Kadar MDA</b>	Senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid dalam tubuh yang menunjukkan produk oksidasi asam lemak oleh radikal bebas. Pengukurannya melalui metode TBARS ( <i>Thiobarbirc Acid Reactive Substances</i> ). Kadar normalnya $1,04 \pm 0,43$ umol/L pada tikus	mg/dl	Interval

## 4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

### 4.7.1 Perlakuan pada Tikus Percobaan

1. Menimbang berat badan semua tikus berat pada awal percobaan, kemudian melakukan randomisasi dengan rancangan acak lengkap agar setiap tikus mempunyai peluang yang sama untuk mendapatkan perlakuan.
2. Melakukan masa adaptasi pada tikus selama 1 minggu sebelum perlakuan dengan cara memberikan diet standar (PARS) sebanyak 40 gram pada pukul 09.00 dan minuman secara *ad libitum*; menimbang berat badan tikus sebelum dan setelah adaptasi untuk memastikan berat badan tikus tidak mengalami penurunan dan berada dalam kondisi baik, serta melakukan penimbangan sisa diet standar yang diberikan pada tikus setiap hari.
3. Membagi tikus menjadi delapan kelompok berdasarkan teknik randomisasi *Simple Random Sampling* yaitu :
  - a. Kelompok perlakuan I (P0) sebagai yang diberi *high fat diet* namun tidak diberikan perasan lemon dan jeruk nipis, serta simvastatin.
  - b. Kelompok perlakuan II (P1) yang diberi *high fat diet* dan diberikan bubuk simvastatin sebanyak 0,18 mg/hari/200gramBB tikus dilarutkan dalam 1 ml akuades.
  - c. Kelompok perlakuan III (P2) yang diberi *high fat diet* dan diberikan perasan lemon fino (*Citrus limon fino*) dengan volume pemberian 1 ml/ekor/hari.

d. Kelompok perlakuan IV (P3) yang diberi *high fat diet* dan diberikan perasan lemon fino (*Citrus limon fino*) dengan volume pemberian 2 ml/ekor/hari.

e. Kelompok perlakuan V (P4) yang diberi *high fat diet* dan diberikan perasan lemon fino (*Citrus limon fino*) dengan volume pemberian 3 ml/ekor/hari.

f. Kelompok perlakuan VI (P5) yang diberi *high fat diet* dan diberikan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan volume pemberian 1 ml/ekor/hari.

g. Kelompok perlakuan VII (P6) yang diberi *high fat diet* dan diberikan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan volume pemberian 2 ml/ekor/hari.

h. Kelompok perlakuan VIII (P7) yang diberi *high fat diet* dan diberikan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan volume pemberian 3 ml/ekor/hari.

4. Melakukan masa adaptasi selama 1 minggu lalu melakukan masa perlakuan selama 5 minggu

5. Memberikan air pada tikus kelompok perlakuan P0 menggunakan spuit yang ujungnya dipasang sonde lalu memasukkan melalui mulut tikus sampai ke lambung dengan tujuan untuk menyamakan tingkat stres antara semua kelompok perlakuan.

6. Memberikan suspensi simvastatin pada tikus kelompok perlakuan P1 menggunakan spuit yang ujungnya dipasang sonde lalu memasukkan melalui mulut tikus sampai ke lambung.

7. Memberikan perasan lemon pada pukul 09.00 menggunakan spuit yang ujungnya dipasang sonde lalu memasukkan ke mulut tikus sampai ke lambung selama 5 minggu pada kelompok P2 sampai P4.
8. Memberikan perasan jeruk nipis pada pukul 09.00 menggunakan spuit yang ujungnya dipasang sonde lalu memasukkan ke mulut tikus sampai ke lambung selama 5 minggu pada kelompok P5 sampai P7.
9. Memberikan diet tinggi lemak (*high fat diet*) pada semua kelompok perlakuan dengan komposisi Comfeed PARS 50%, tepung terigu 25%, kuning telur bebek 5%, lemak kambing 10%, minyak kelapa 1%, minyak babi 8,9%, dan asam kolat 0,1% sebanyak 40 gram per tikus per hari, serta menimbang sisa pakan yang diberikan pada tikus setiap hari. Sedangkan minuman diberikan secara *ad libitum*.
10. Menimbang berat badan tikus setiap 3 hari sekali dan mengganti sekam setiap 2 kali seminggu.
11. Setelah pemberian perlakuan selama 5 minggu, melakukan pengecekan kadar MDA pada darah semua kelompok perlakuan tikus yang diambil melalui *intracardial* jantung

#### 4.7.2 Pembuatan Pakan Standar

Proses pembuatan pakan diet normal tikus dengan cara sebagai berikut (Lukitasari, 2014):

1. Menimbang bahan (PARS dan air).
2. Mencampur bahan, menambahkan air secukupnya dan mengaduk hingga rata.
3. Membentuk pakan menjadi bulatan dan menimbang 40 gram untuk per tikus per hari.

#### 4.7.3 Pembuatan Perasan Lemon dan Cara Pemberian

1. Mencuci bersih buah lemon fino yang diperoleh dengan air mengalir.
2. Membelah menjadi dua bagian, kemudian diperas dengan perasan elektronik.
3. Membagi perasan lemon untuk 3 kelompok perlakuan sesuai volume pemberian masing-masing.
4. Memberikan perasan lemon menggunakan spuit yang ujungnya telah dipasang sonde melalui mulut tikus sampai ke lambung saat pagi hari sebelum makan pada pukul 09.00

#### 4.7.4 Pembuatan Perasan Jeruk Nipis dan Cara Pemberian

1. Mencuci bersih buah jeruk nipis yang diperoleh dengan air mengalir.
2. Membelah menjadi dua bagian, kemudian diperas.
3. Membagi perasan jeruk nipis untuk 3 kelompok perlakuan sesuai volume pemberian masing-masing.
4. Memberikan perasan jeruk nipis menggunakan spuit yang ujungnya telah dipasang sonde melalui mulut tikus sampai ke lambung saat pagi hari sebelum makan pada pukul 09.00

#### 4.7.5 Penentuan Volume Pemberian Lemon dan Jeruk Nipis

Penentuan volume pemberian lemon dan jeruk nipis pada tikus berdasarkan penelitian Purnamasari (2014). Dalam penelitian tersebut, menggunakan volume pemberian jeruk nipis sebesar 2 ml/ekor/hari yang merupakan hasil konversi dari penelitian terdahulu pada kelinci. Volume pemberian 2 ml/ekor/hari menjadi pedoman karena dapat memberikan efek penurunan kadar kolesterol sebesar 28,93% (Purnamasari, 2014). Penentuan volume pemberian berikutnya dengan cara mengambil batas bawah dan batas



atas yaitu 1 ml/ekor/hari dan 3 ml/ekor/hari, sehingga didapatkan volume pemberian sebesar 1 ml/ekor/hari; 2 ml/ekor/hari; dan 3 ml/ekor/hari

#### 4.7.5.1 Volume Pemberian Sari Buah Lemon (*Citrus limon fino*)

**Tabel 4.3** Volume pemberian sari buah lemon (*Citrus limon fino*)  
(Purnamasari, 2014)

Perlakuan	Lemon
P2	1 ml/ekor/hari
P3	2 ml/ekor/hari
P4	3 ml/ekor/hari

Keterangan: P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>,... dst = taraf perlakuan

#### 4.7.5.2 Volume Pemberian Sari Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

**Tabel 4.4** Volume pemberian sari jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)  
(Purnamasari, 2014)

Perlakuan	Jeruk Nipis
P5	1 ml/ekor/hari
P6	2 ml/ekor/hari
P7	3 ml/ekor/hari

Keterangan: P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>,... dst = taraf perlakuan

#### 4.7.6 Pembuatan Suspensi Simvastatin

1. Mengkonversi dosis simvastatin manusia ke tikus
2. Menghaluskan tablet simvastatin hingga menjadi serbuk
3. Melarutkan serbuk simvastatin ke dalam aquades
4. Mengambil suspensi simvastatin sebesar 2 ml menggunakan spuit yang ujungnya telah dipasang sonde untuk disonde pada kelompok perlakuan saat pagi hari sebelum makan pada pukul 09.00 WIB

#### 4.7.7 Penentuan Dosis Simvastatin

Penentuan dosis pemberian simvastatin berdasarkan penelitian Wang (2014) tentang penggunaan simvastatin 10 mg pada pasien hiperlipidemic efektif dalam menurunkan kolesterol (Moreyra, 2005 dalam Wang, 2014). Dosis simvastatin pada manusia kemudian dikonversi ke dosis tikus dengan mengalikan koefisien konversi 0,018 (Laurence & Bacharach, 1964 dalam Trisnarizki, 2007).

$$\text{Dosis simvastatin untuk tikus} : 10 \text{ mg} \times 0,018 = 0,18 \text{ mg}/200 \text{ grBB/ekor}$$

Simvastatin yang telah dihaluskan kemudian dilarutkan pada aquades dan diambil suspensinya sebesar 2 ml. Pengambilan suspensi sebesar 2 ml berdasarkan maksimum cairan berupa larutan dapat menggunakan 2 ml/100gBB (OECD, 2008)

#### 4.7.8 Proses Pembuatan dan Cara Pemberian Pakan Tinggi Lemak (*High fat diet*) pada Tikus Wistar

Proses pembuatan pakan *high fat diet* tikus (Umami, 2015) dengan cara sebagai berikut :

1. Menimbang bahan (*Comfeed* PARS, terigu, kuning telur bebek, lemak kambing, minyak kelapa, minyak babi dan asam kolat)
2. Mencampurkan semua bahan lalu mengaduk hingga rata
3. Menambahkan air pada campuran bahan kemudian membentuk pakan menjadi bulatan
4. Menimbang 40 gram untuk setiap tikus per hari

Tabel 4.5 Komposisi *High fat diet* (HFD)

Bahan	Persentase (%)	Berat (g)
<b>Comfeed PARS</b>	50	20
<b>Tepung terigu</b>	25	10
<b>Kuning telur bebek</b>	5	2
<b>Lemak kambing</b>	10	4
<b>Minyak kelapa</b>	1	0,4
<b>Minyak babi</b>	8,9	3,55
<b>Asam kolat</b>	0,1	0,05
<b>Total</b>	100	40

(Umami, 2015)

#### 4.7.9 Pemeriksaan Kadar MDA

1. Memasukan tikus pada wadah dan membius tikus dengan dietil eter
2. Membedah tikus, mengambil darah melalui jantung menggunakan *disposable syringe* berukuran 3 mL sebanyak 2 ml.
3. Menyimpan darah pada tabung EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acid*)
4. Prosedur analisis kadar MDA pada darah menggunakan metode TBARS (*Thiobarbitric Acid Reactive Substances*) reagen TBA (*Triobarbiturat Acid*) dan TCA (*Trichloroacetic Acid*)
5. Memasukan 750  $\mu\text{L}$  asam fosfat dengan pipet ke dalam tabung *polypropilen* 13 mL. Menambahkan 50  $\mu\text{L}$  TEP standar/pengontrol kualitas/sampel plasma/aquades ke dalam tabung. Mencampur sampai homogen

6. Menambahkan 250  $\mu\text{L}$  larutan TBA 40 mM.
7. Menambahkan aquades sebanyak 450  $\mu\text{L}$  ke dalam tabung dan menutup tabung dengan rapat
8. Memanaskan campuran selama 1 jam, kemudian menempatkan tabung ke dalam *ice bath* untuk mendinginkan sampel.
9. Mengaplikasikan sampel yang sudah dingin ke dalam Set Pack C 18-column.
10. Mengukur absorbansi dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532nm (Wuryastuti, 2000).



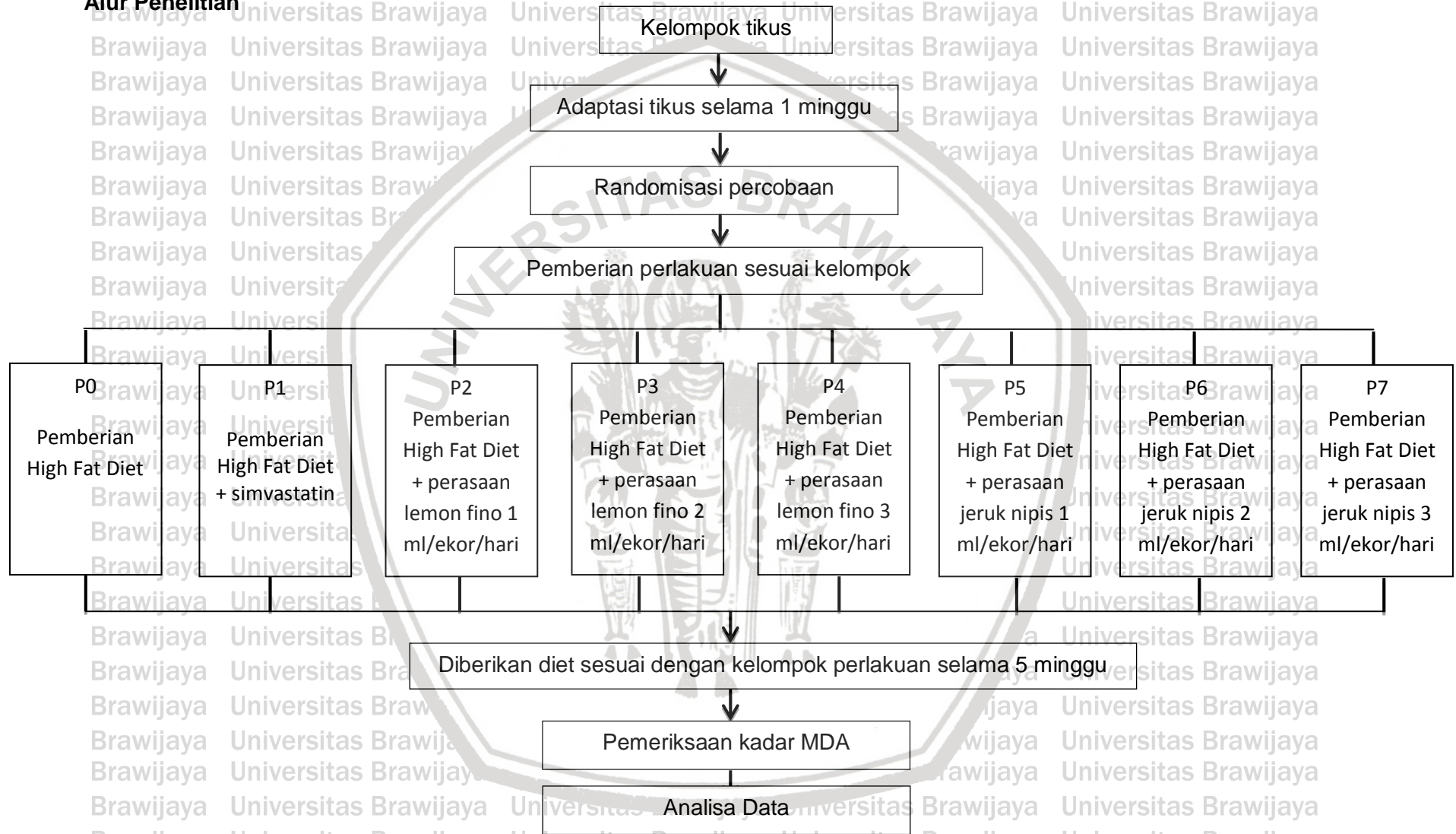
#### 4.8 Analisa Data

Data hasil pengukuran kadar MDA dari 8 kelompok perlakuan dianalisa secara statistik dengan menggunakan program SPSS 16.0 for

Windows dengan tingkat signifikansi 0,05 ( $p=0,05$ ) dan derajat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Penyajian data kadar MDA setiap perlakuan

berupa tabel dan diagram batang. Data yang diperoleh mengenai kadar MDA pada 8 kelompok perlakuan akan dianalisa menggunakan uji normalitas data yaitu *Saphiro Wilk* dikarenakan jumlah sampel kurang dari 50 sampel.

Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas varians. Bila data terdistribusi normal (data parametrik) dilakukan uji statistik *One Way ANOVA*, namun jika data tidak normal (data nonparametrik) maka dapat dilakukan uji statistik *Kruskal-Wallis*.

**Alur Penelitian**



## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

#### 5.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus* Galur Wistar jantan sebanyak 32 ekor yang dibagi kedalam 8 kelompok perlakuan, dimana masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 4 ekor tikus dengan karakteristik sebagai berikut :

**Tabel 5.1 Karakteristik Subjek Penelitian per Perlakuan**

KOMPONEN	P0	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Jenis Tikus	<i>Rattus norvegicus</i> galur Wistar							
Jenis Kelamin	Jantan							
Keadaan umum	Warna bulu putih bersih, halus, dan mengkilat							
Umur	8-10 minggu							
<b>Berat badan awal (mean±SD)</b>	192,40 gram ± 23,766	166,00 gram ± 39,021	190,40 gram ± 6,066	179,25 gram ± 13,376	179,60 gram ± 20,599	195,80 gram ± 5,45	186,60 gram ± 33,687	182,80 gram ± 19,486
<b>Berat badan akhir (mean±SD)</b>	235,40 gram ± 31,005	211,00 gram ± 46,303	221,80 gram ± 13,274	242,25 gram ± 25,171	227,00 gram ± 33,234	260,40 gram ± 31,817	238,20 gram ± 46,912	221,00 gram ± 30,389

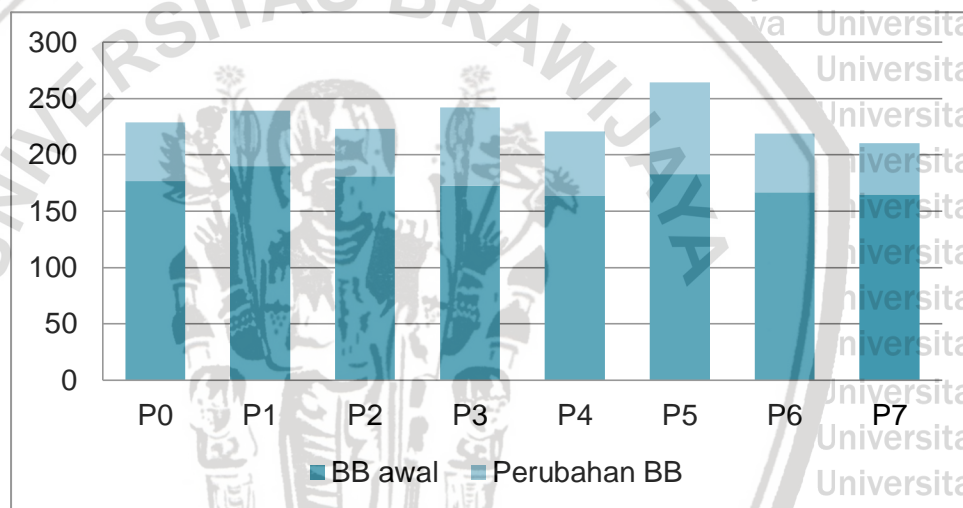
Keterangan:

- P0 = kelompok perlakuan tikus yang diberi 40 g *high fat diet*
- P1 = kelompok perlakuan tikus diberi 40 g *high fat diet* dan simvastatin
- P2 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*
- P3 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*
- P4 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*
- P5 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*
- P6 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*
- P7 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*



## 5.2 Berat Badan Tikus

Sebelum masa perlakuan selama 6 minggu, tikus diadaptasi selama 1 minggu dan pada akhir masa adaptasi dilakukan penimbangan berat badan awal tikus. Tikus mengalami perlakuan selama 6 minggu, dan pada akhir masa perlakuan, dilakukan penimbangan berat badan akhir. Berikut rata-rata berat badan awal dan akhir tikus pada gambar 5.1



	P0	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
BB Awal (gr)	177	190	181.25	172.5	163.5	183	166.75	164.75
BB Akhir (gr)	229	239.5	223.2	242.25	220.7	264.2	219	210.5

Keterangan:

P0 = kelompok perlakuan tikus yang diberi 40 g *high fat diet*

P1 = kelompok perlakuan tikus diberi 40 g *high fat diet* dan simvastatin

P2 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P3 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P4 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P5 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P6 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P7 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

**Gambar 5.1 Rerata Berat Badan Awal dan Akhir**

Tabel 5.2 Rerata Berat Badan Tikus

Kelompok	Rerata Berat Badan Awal (g)±SD	Rerata Berat Badan Akhir (g) ±SD	Rerata Pertambahan Berat Badan±SD
P0	177±18,7	229±31,75	52±20,03
P1	190±4,89	239,5±18,78	49.5±15,77
P2	181,25±5,37	223,25±14,8	42±15,17
P3	172,5±21,06	242,25±25,17	69,75±43,33
P4	163,5±9,74	220,75±34,81	57,25±29,54
P5	183±3,82	264,25±35,36	81,25±38,91
P6	166,75±23,62	219±21,83	52,25±36,12
P7	164,75±13,3	210,5±22,27	45,75±15,58

## Keterangan:

P0 = kelompok perlakuan tikus yang diberi 40 g *high fat diet*

P1 = kelompok perlakuan tikus diberi 40 g *high fat diet* dan simvastatin

P2 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P3 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P4 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P5 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P6 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P7 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

Secara keseluruhan kelompok perlakuan terjadi peningkatan berat badan. Rata-rata berat badan akhir seperti pada tabel 5.2 menunjukkan rata-rata berat badan akhir tertinggi pada kelompok P5 yang diberi perlakuan *high fat diet* dan perasan jeruk nipis sebesar 1 ml/ekor/hari, sedangkan rata-rata berat badan akhir yang terendah pada kelompok P7 yang diberi perlakuan *high fat diet* dan perasan jeruk nipis 3 ml/ekor/hari.

Hasil uji normalitas berat badan awal tikus dengan *Saphiro*

*Wilk* menunjukkan rata-rata berat awal tikus terdistribusi normal dimana nilai  $p=0,162$  ( $p>0,05$ ). Hasil *test of homogeneity of variances* menunjukkan data tidak homogen, dimana  $p=0,015$  ( $p<0,05$ ). Hasil uji beda berat badan awal menggunakan *Kruskal Wallis* didapatkan nilai  $p=0,150$  ( $p>0,05$ ) sehingga  $H_0$  diterima, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan berat badan awal antar kelompok perlakuan

Hasil uji normalitas berat badan akhir tikus menunjukkan rata-rata berat badan akhir tikus terdistribusi normal dimana nilai  $p=0,398$  ( $p>0,05$ ). Pada hasil *test of homogeneity of variances* berat badan akhir tikus menunjukkan data homogen, dimana  $p=0,732$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji beda berat badan akhir menggunakan *One Way Anova* didapatkan nilai  $p=0,170$  ( $p>0,05$ ) sehingga  $H_0$  diterima, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan berat badan akhir antar kelompok perlakuan.

### 5.2.1 Pertambahan Berat Badan Tikus Selama Perlakuan

Pertambahan berat badan tikus merupakan peningkatan berat badan dibandingkan berat badan pada pengukuran sebelumnya selama masa perlakuan. Pertambahan berat badan tikus kemudian dirata-rata setiap kelompok perlakuan. Rata-rata pertambahan berat badan yang tertinggi pada kelompok P5 yang diberi perasan lemon 1 ml/hari + *high fat diet* sebesar 81,25 gram,

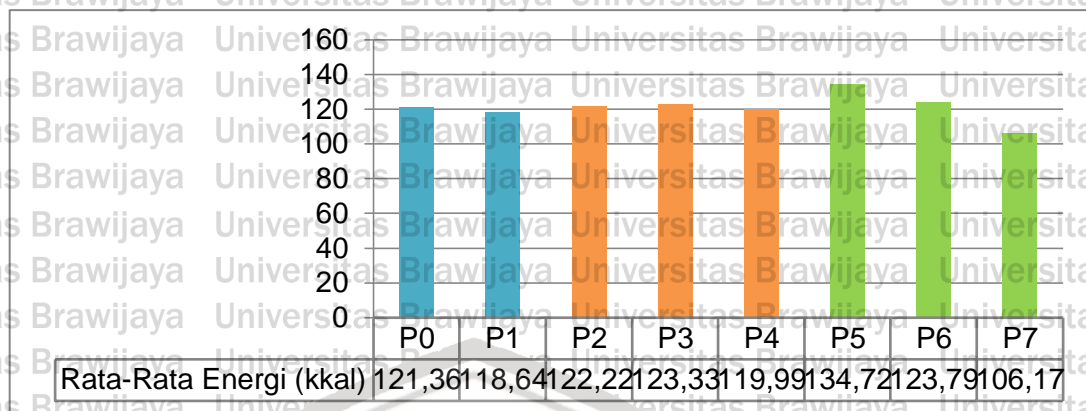
sedangkan penambahan berat badan yang terendah pada kelompok P2 yang diberi perasaan jeruk nipis 1 ml/hari + *high fat diet* sebesar 42 gram. Hasil uji normalitas penambahan berat badan menggunakan *Saphiro-Wilk* menunjukkan data tidak terdistribusi normal dengan nilai  $p=0,008$  ( $p>0,05$ ).

Hasil uji homogenitas menggunakan *test of homogeneity of variances*, didapatkan penambahan berat badan tikus homogen dengan  $p= 0,410$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji beda penambahan berat badan menggunakan *Kruskal Wallis* didapatkan nilai  $p=0.653$  ( $p>0.05$ ) sehingga  $H_0$  diterima, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan penambahan berat badan antar kelompok perlakuan.

**5.3 Asupan Pakan Tikus**

**5.3.1 Asupan Energi Tikus Selama Penelitian**

Asupan energi selama perlakuan didapatkan dari rata-rata perhitungan asupan energi per hari berdasarkan hasil pengurangan berat pakan awal dikurangi sisa pakan dan dikonversi kedalam satuan energi kilo kalori (kcal). Berikut data hasil rata-rata perhitungan asupan energi setiap kelompok perlakuan yang disajikan dalam Gambar 5.2



Keterangan:

P0 = kelompok perlakuan tikus yang diberi 40 g *high fat diet*

P1 = kelompok perlakuan tikus diberi 40 g *high fat diet* dan simvastatin

P2 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P3 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P4 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P5 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P6 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P7 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

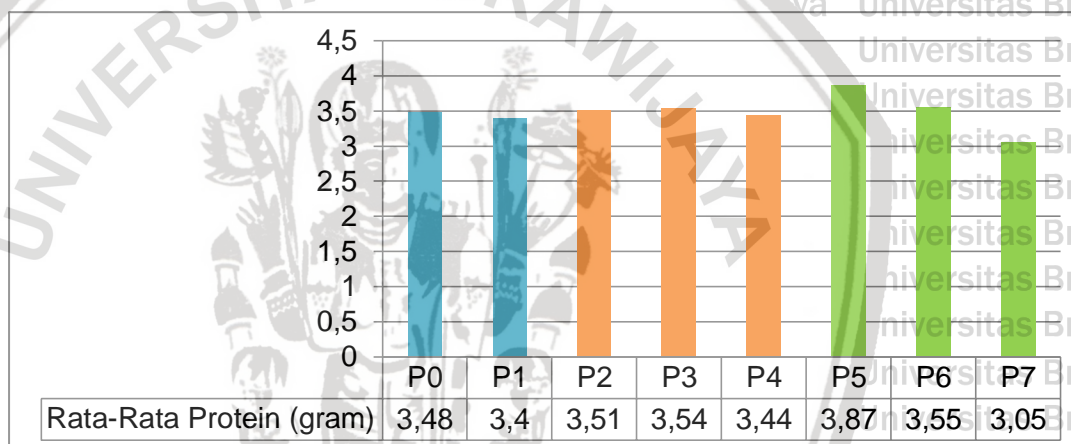
**Gambar 5.2 Rata-Rata Asupan Energi (kcal)**

Rata-rata asupan energi tertinggi pada kelompok perlakuan P5 sebesar 134,72 kcal, yang diberi *high fat diet* dan perasan jeruk nipis sebesar 1 ml/ekor/hari, sedangkan asupan energi terendah pada kelompok perlakuan P7 sebesar 106,16 kcal yang diberi *high fat diet* dan perasan jeruk nipis sebesar 3 ml/ekor/hari.

Hasil pengujian normalitas menggunakan *Saphiro Wilk* menunjukkan data asupan energi terdistribusi normal dimana  $p=0,326$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji homogenitas menggunakan *test homogeneity of variances* didapatkan data homogen dengan nilai  $p=0,222$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji beda asupan energi menggunakan *One Way Anova* didapatkan nilai  $p=0,137$  ( $p>0,05$ ) sehingga  $H_0$  diterima, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan asupan energi antar kelompok perlakuan.

### 5.3.2 Asupan Protein Selama Perlakuan

Asupan protein didapatkan dari rata-rata hasil selisih berat pakan awal dengan sisa pakan yang kemudian dikonversi untuk mengetahui kandungan protein selama 5 minggu perlakuan. Rata-rata asupan protein setiap kelompok perlakuan yang disajikan dalam gambar 5.3



Keterangan:

P0 = kelompok perlakuan tikus yang diberi 40 g *high fat diet*

P1 = kelompok perlakuan tikus diberi 40 g *high fat diet* dan simvastatin

P2 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P3 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P4 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P5 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P6 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P7 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

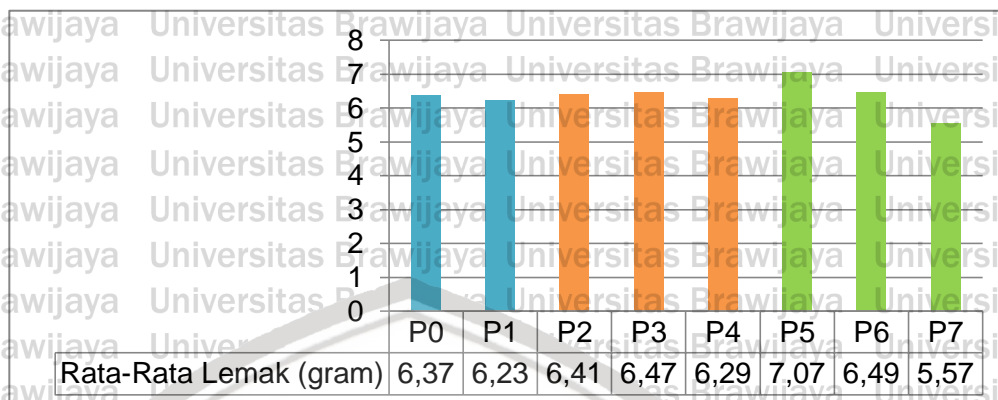
**Gambar 5.3 Rata-Rata Asupan Protein (gram)**

Berdasarkan gambar 5.3 menunjukkan, rata-rata asupan protein tertinggi pada kelompok P5 sebesar 3,86 gram, sedangkan rata-rata asupan protein terendah pada kelompok P7 sebesar 3,04 gram.

Hasil pengujian normalitas menunjukkan data asupan protein terdistribusi normal, dimana nilai  $p=0.332$  ( $p>0.05$ ). Hasil uji homogenitas menggunakan *test homogeneity of variances*, didapatkan data homogen dengan nilai  $p=0.228$  ( $p>0.05$ ). Hasil uji beda asupan protein menggunakan *One Way Anova* didapatkan nilai  $p=0.135$  ( $p>0.05$ ) sehingga  $H_0$  diterima, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan asupan protein antar kelompok perlakuan.

### 5.3.3 Asupan Lemak Selama Perlakuan

Asupan lemak didapatkan dari rata-rata hasil selisih berat pakan awal dengan sisa pakan yang kemudian dikonversi untuk mengetahui kandungan lemak selama 5 minggu perlakuan. Rata-rata asupan lemak setiap kelompok perlakuan yang disajikan dalam gambar 5.4.



**Keterangan:**

P0 = kelompok perlakuan tikus yang diberi 40 g *high fat diet*

P1 = kelompok perlakuan tikus diberi 40 g *high fat diet* dan simvastatin

P2 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P3 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P4 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P5 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P6 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P7 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

**Gambar 5.4 Rata-Rata Asupan Lemak (gram)**

Berdasarkan gambar 5.4, rata-rata asupan lemak tertinggi pada kelompok P5 sebesar 7,06 gram, sedangkan rata-rata asupan lemak terendah pada kelompok P7 sebesar 5,57 gram.

Hasil pengujian normalitas menunjukkan data terdistribusi normal dimana nilai  $p = 0,320$  ( $p > 0,05$ ). Hasil uji homogenitas menggunakan *test homogeneity of variances* didapatkan data homogen dengan nilai  $p = 0,225$  ( $p > 0,05$ ). Hasil uji beda asupan lemak menggunakan *One Way Anova* didapatkan nilai  $p = 0,136$  ( $p > 0,05$ ) sehingga  $H_0$  diterima, maka dapat disimpulkan bahwa

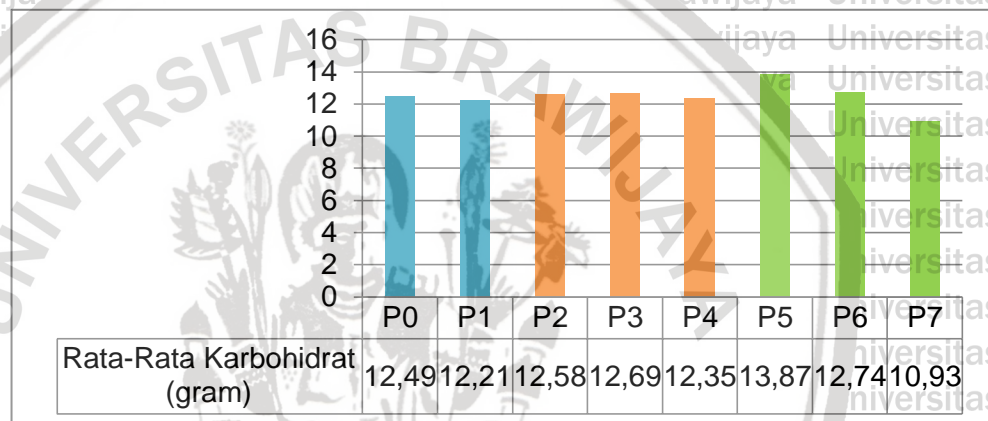
tidak terdapat perbedaan asupan lemak antar kelompok perlakuan.



### 5.3.4 Asupan Karbohidrat Selama Perlakuan

Asupan karbohidrat didapatkan dari rata-rata hasil selisih berat pakan awal dengan sisa pakan yang kemudian dikonversi untuk mengetahui kandungan karbohidrat. Rata-rata asupan karbohidrat setiap kelompok perlakuan yang disajikan dalam

gambar 5.5



Keterangan:

P0 = kelompok perlakuan tikus yang diberi 40 g *high fat diet*

P1 = kelompok perlakuan tikus diberi 40 g *high fat diet* dan simvastatin

P2 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P3 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P4 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P5 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P6 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P7 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

**Gambar 5.5 Rata-Rata Asupan Karbohidrat (gram)**

Dari gambar 5.5 dapat dilihat, rata-rata asupan karbohidrat tertinggi pada kelompok P5 sebesar 13,87 gram, sedangkan rata-rata asupan karbohidrat terendah pada kelompok P7 sebesar 10,93 gram.

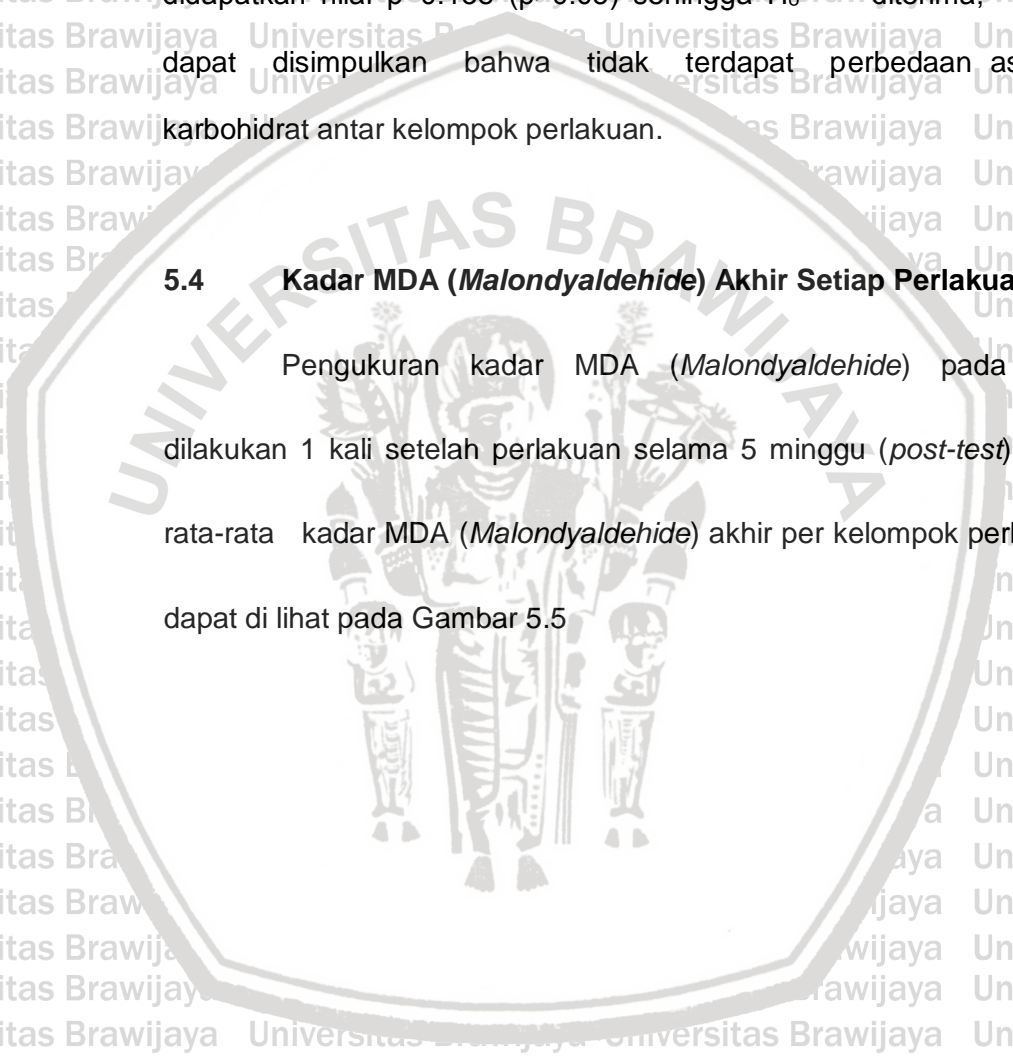
Hasil pengujian normalitas dengan *Saphiro-Wilk* menunjukkan, asupan karbohidrat terdistribusi normal dimana nilai  $p=0,326$

( $p > 0.05$ ). Hasil uji homogenitas menggunakan *test homogeneity of variances*, didapatkan data homogen dengan nilai  $p = 0.222$  ( $p > 0.05$ ).

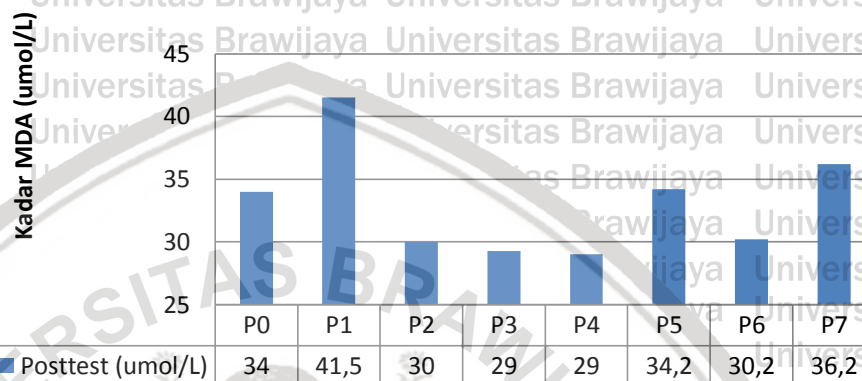
Hasil uji beda asupan karbohidrat menggunakan *One Way Anova* didapatkan nilai  $p = 0.138$  ( $p > 0.05$ ) sehingga  $H_0$  diterima, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan asupan karbohidrat antar kelompok perlakuan.

#### 5.4 Kadar MDA (*Malondyaldehyde*) Akhir Setiap Perlakuan

Pengukuran kadar MDA (*Malondyaldehyde*) pada tikus dilakukan 1 kali setelah perlakuan selama 5 minggu (*post-test*). Hasil rata-rata kadar MDA (*Malondyaldehyde*) akhir per kelompok perlakuan dapat di lihat pada Gambar 5.5



## Kadar MDA Akhir Per Kelompok Perlakuan



Keterangan:

P0 = kelompok perlakuan tikus yang diberi 40 g *high fat diet*

P1 = kelompok perlakuan tikus diberi 40 g *high fat diet* dan simvastatin

P2 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P3 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P4 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan lemon 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P5 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P6 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 2 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

P7 = kelompok perlakuan tikus yang diberi perasan jeruk nipis 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*

**Gambar 5.6 Kadar MDA Akhir (umol/L)**

Dari gambar 5.6 dapat dilihat, rata-rata kadar MDA akhir yang tertinggi terjadi pada kelompok P1 yaitu sebesar  $41.50 \pm 24.172$  umol/L sedangkan untuk rata-rata nilai kadar MDA yang terendah terjadi pada kelompok P4 yaitu sebesar  $29.00 \pm 7.874$  umol/L. Untuk nilai normal kadar MDA pada tikus yaitu sebesar  $1,04 \pm 0,43$  umol/L.

Tabel 5.3 Kadar MDA Akhir pada Tikus (umol/L)

Kelompok	n (N=32)	Mean ± SD	p
P0	5	34,00 ± 9,797	0,824
P1	4	41,50 ± 24,172	
P2	5	30,00 ± 11,022	
P3	4	29,250 ± 8,261	
P4	5	29,00 ± 7,874	
P5	5	34,20 ± 10,592	
P6	5	30,20 ± 10,017	
P7	5	36,20 ± 14,771	

Hasil pengujian normalitas dengan *Saphiro-Wilk* menunjukkan, Kadar MDA terdistribusi normal dimana nilai  $p=0,455$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji homogenitas menggunakan *test homogeneity of variences*, didapatkan data homogen dengan nilai  $p=0,169$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji beda kadar MDA menggunakan *One Way Anova* didapatkan nilai  $p=0,824$  ( $p>0,05$ ) sehingga  $H_0$  diterima, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan Kadar MDA antar kelompok perlakuan.





## BAB VI PEMBAHASAN

### 6.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Hewan coba yang digunakan adalah tikus *Rattus norvegicus* galur wistar yang bejenis kelamin jantan. Pemilihan tikus yang spesifik berjenis kelamin jantan bertujuan untuk meminimalkan terjadinya bias pada hasil penelitian akibat adanya hormon esterogen yang dapat mengganggu metabolisme lemak (Saito et.al, 2014). Tikus yang digunakan memiliki berat badan 150-250 gram, berwarna putih, dan berusia 8-10 minggu atau setara dengan usia yang manusia dewasa yang saat ini beresiko hiperlipidemia, yang dibuktikan data *American Heart Association* (2013).

Penelitian ini dilakukan selama 6 minggu, yaitu 1 minggu masa adaptasi dan 5 minggu masa perlakuan terhadap 40 ekor tikus untuk mengetahui perbedaan pengaruh pada Kadar MDA (*Malondyaldehyde*) pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar yang diberi *high fat diet* dengan pemberian perasaan lemon fino (*Citrus limon fino*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

Pada penelitian ini, sampel dibagi menjadi 8 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok memiliki sampel berjumlah 5 ekor. Kelompok perlakuan meliputi kelompok perlakuan P0 sebagai kontrol negatif K(-) dengan pemberian *high fat diet* saja, kelompok perlakuan P1 sebagai kontrol positif K(+) dengan pemberian *high fat diet* dan simvastatin, kelompok perlakuan P2 dengan pemberian *high fat diet* dan perasaan lemon fino (*Citrus limon fino*) dengan volume pemberian 1 ml/ekor/hari, kelompok

perlakuan P3 dengan pemberian *high fat diet* dan perasan lemon fino (*Citrus limon fino*) dengan volume pemberian 2 ml/ekor/hari, kelompok  
perlakuan P4 dengan pemberian *high fat diet* dan perasan lemon fino (*Citrus limon fino*) dengan volume pemberian 3 ml/ekor/hari, kelompok  
perlakuan P5 dengan pemberian *high fat diet* dan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan volume pemberian 1 ml/ekor/hari, kelompok  
perlakuan P6 dengan pemberian *high fat diet* dan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan volume pemberian 2 ml/ekor/hari, kelompok  
perlakuan P7 dengan pemberian *high fat diet* dan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan volume pemberian 3 ml/ekor/hari.

Kelompok perlakuan P0 hanya diberikan *high fat diet*, sedangkan kelompok lainnya mendapatkan tambahan pemberian statin, perasan lemon maupun jeruk nipis di samping pemberian *high fat diet*. Pemberian statin, perasan lemon maupun jeruk nipis diberikan melalui sonde. Pemberian makanan melalui sonde memiliki efek samping, yaitu menimbulkan stres akibat distensi lambung pada spesies yang tidak dapat muntah, seperti tikus (Turner, 2011). Oleh karena itu, dilakukan penyondean air sebanyak 1 ml/ekor/tikus kepada kelompok perlakuan P0. Hal ini dilakukan untuk menyamakan faktor stress akibat pemberian makanan/obat melalui sonde kepada tikus.



## 6.2 Perubahan Berat Badan Tikus Selama Perlakuan

Hasil rata-rata berat badan tikus selama perlakuan menunjukkan terjadi peningkatan berat badan pada seluruh kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan P0 yang hanya diberi *high fat diet* terjadi peningkatan berat badan. Peningkatan berat badan ini sejalan dengan hasil penelitian Swithers (2011) menunjukkan bahwa hewan yang diberi diet tinggi lemak memicu *positive energy balance*, peningkatan intake kalori, peningkatan berat badan dan adipose dibandingkan hewan coba yang diberi diet rendah lemak. Peningkatan berat badan akibat konsumsi *high fat diet* juga sejalan dengan hasil penelitian Vaanholt (2015) bahwa konsumsi diet tinggi lemak menghasilkan peningkatan masa tubuh dan masa lemak, serta penurunan *free fat mass*.

Pada kelompok perlakuan P1 yang diberi HFD + simvastatin juga terjadi peningkatan berat badan. Peningkatan berat badan ini sejalan dengan penelitian Jabeen (2011) pada kelompok tikus yang diberi HFD dan simvastatin terjadi peningkatan berat badan sebesar 68%. Pemberian HFD + simvastatin mengalami kenaikan berat badan (Kim,2017). Berdasarkan penelitian Koh (2008) dengan terapi statin pada pasien hiperkolesterolemia tidak berpengaruh pada berat badan. Hal ini juga sejalan dengan penggunaan statin pada perawatan intensif tidak berhubungan dengan efek pada berat badan (Bernardi,2015). Pengaturan berat badan berhubungan dengan hormone leptin. Pada saat tikus diberikan *high fat diet* akan meningkatkan leptin, namun dengan pemberian simvastatin tidak menurunkan kadar leptin (koike,2012).

Lemon mengandung berbagai jenis flavon yang berpengaruh dalam perubahan berat badan. Efek naringenin sebagai salah satu flavonoid dalam lemon sebagai anti obesitas dalam menurunkan masa jaringan adipose dan preadiposa proliferasi, dan fungsi naringenin menekan *proliferasi preadiposit* (Hossain,2016). Namun dalam hasil penelitian ini, terjadi peningkatan berat badan. Pada kelompok P3,P4, dan P5 yang diberi HFD + perasan lemon terjadi peningkatan berat badan. Peningkatan berat badan ini sejalan dengan penelitian Fonseca (2016) bahwa terjadi peningkatan berat badan yang signifikan pada domba yang diberi naringenin dibandingkan kelompok kontrol negatif. Peningkatan berat badan juga terjadi pada penelitian Fukuchi (2008) dimana dilakukan penelitian pada tikus jantan 5 minggu yang dibagi menjadi kelompok perlakuan yaitu : kelompok yang diberi *low fat diet*, kelompok yang diberi *high fat diet*, dan kelompok yang diberi HFD + ekstrak polifenol lemon didapatkan hasil dari ketiga kelompok tersebut mengalami peningkatan berat badan dibandingkan berat badan awal.

Berdasarkan hasil penelitian Bostam (2009) pada kelompok perlakuan yang diberi diet aterogenik dan sari lemon 5cc terjadi peningkatan berat badan. Peningkatan berat badan ini juga sejalan dengan penelitian Alam (2013) pada tikus jantan yang diberi diet karbohidrat-diet tinggi lemak dan naringin terjadi peningkatan berat badan akhir (502 g) dibandingkan berat badan awal (327 g), dimana pemberian naringin 100 mg/kg/hari tidak mempengaruhi berat badan (tidak ada penurunan berat badan). Walaupun terjadi peningkatan berat badan, namun tidak bisa disimpulkan bahwa pemberian

lemon dapat meningkatkan berat badan, namun efek yang ditimbulkan tidak terlalu signifikan dalam menurunkan berat badan.

Jeruk nipis juga memiliki efek menurunkan berat badan.

Mekanisme penurunan berat badan melalui stimulasi sel reseptor

$\beta_3$ , meningkatkan termogenesis, yang menyebabkan peningkatan

lipolisis dan laju metabolis (Preuss,2002 dalam Ofili,2015). Namun hal

ini bertentangan dengan hasil penelitian yang dilakukan dimana pada

kelompok yang diberi jeruk nipis yaitu kelompok P5,P6, dan P7 justru

mengalami peningkatan berat badan. Peningkatan berat badan pada tikus

yang diberi *high fat diet* sejalan dengan penelitian Ofili (2015) bahwa

pada kelompok perlakuan tikus yang diberi *high fat diet* dan ekstrak

kulit jeruk nipis mengalami peningkatan berat badan pada minggu

ke-2. Walaupun terjadi peningkatan berat badan pada tikus yang

diberi intervensi jeruk nipis, tidak dapat disimpulkan bahwa jeruk nipis

tidak berefek pada berat badan. Efek jeruk nipis dalam penelitian ini

lebih menekankan peningkatan berat badan dimana pada kelompok P7

memiliki rata-rata berat badan akhir terendah antar kelompok perlakuan.

Hal ini menunjukkan bahwa walaupun terjadi peningkatan berat

badan namun tidak signifikan.

Untuk berat badan awal tikus, uji normalitas dengan *Saphiro Wilk*

menunjukkan hasil  $p=0,809$  ( $p>0,05$ ) dan pada uji homogenitas menunjukkan

hasil  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ). Dapat disimpulkan bahwa data berat badan awal

tikus dinyatakan terdistribusi normal dan memiliki ragam yang tidak

homogen. Selanjutnya dilakukan analisis *Kruskal Wallis*, diperoleh hasil

$p=0,709$  ( $p>0,05$ ) sehingga dapat dinyatakan bahwa tidak terdapat

perbedaan rata-rata berat badan awal tikus yang signifikan antar kelompok perlakuan. Dengan hasil uji statistik ini, maka diharapkan segala perubahan yang terjadi pada hewan coba merupakan efek dari perlakuan yang diberikan selama penelitian.

Untuk berat badan akhir tikus, uji normalitas dengan *Saphiro Wilk* menunjukkan hasil  $p=0,380$  ( $p>0,05$ ) dan pada uji homogenitas menunjukkan hasil  $p=0,266$  ( $p>0,05$ ). Dapat disimpulkan bahwa data berat badan awal tikus dinyatakan terdistribusi normal dan memiliki ragam yang homogen.

Selanjutnya dilakukan analisis *One Way ANOVA*, diperoleh hasil  $p=0,466$  ( $p>0,05$ ) sehingga dapat dinyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan rata-rata berat badan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Penimbangan berat badan tikus dilakukan setiap 3 hari sekali sehingga dapat diketahui kenaikan berat badan secara bertahap. Selama masa penelitian, semua sampel tikus mengalami peningkatan berat badan.

Rata-rata peningkatan berat badan yang terjadi adalah  $47,71 \pm 23,296$  gram. Peningkatan rata-rata berat badan tertinggi terjadi pada kelompok

P5, sedangkan peningkatan rata-rata berat badan terendah terjadi pada kelompok P2. Uji normalitas dengan *Saphiro Wilk* menunjukkan hasil  $p=0,008$  ( $p>0,05$ ) dan pada uji homogenitas menunjukkan hasil  $p=0,410$  ( $p>0,05$ ). Dapat disimpulkan bahwa data peningkatan berat badan tikus

dinyatakan tidak terdistribusi normal dan memiliki ragam yang tidak homogen. Selanjutnya dilakukan analisis *Kruskal Wallis*, diperoleh hasil  $p=0,653$  ( $p>0,05$ ). Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan rata-rata peningkatan berat badan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Hal serupa juga terjadi pada penelitian Heriansyah (2013) dimana berat badan meningkat pada kelompok yang diberikan diet tinggi lemak dibandingkan dengan kelompok yang diberikan diet normal. Berdasarkan hasil analisis statistik pada penelitian tersebut dinyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar MDA post-test ( $p>0,05$ ).

Faktor yang mempengaruhi peningkatan berat badan, di antaranya adalah asupan makan dan aktivitas fisik. Peningkatan berat badan dihubungkan dengan adanya peningkatan asupan makan dan penurunan aktivitas fisik (Corti, 2003). Namun, dalam penelitian ini tidak dilakukan pengamatan terhadap aktivitas fisik tikus.

### **6.3 Perbedaan Asupan Energi, Lemak, Protein, Dan Karbohidrat Antar Kelompok Perlakuan**

Berdasarkan hasil analisis asupan energi tikus, uji normalitas dengan *Saphiro Wilk* menunjukkan hasil  $p=0,241$  ( $p>0,05$ ) dan pada uji homogenitas menunjukkan hasil  $p=0,212$  ( $p>0,05$ ). Dapat disimpulkan bahwa data rata-rata asupan energi dinyatakan terdistribusi normal dan memiliki ragam yang homogen. Selanjutnya dilakukan analisis *One Way ANOVA*, diperoleh hasil  $p=0,420$  ( $p>0,05$ ). Sehingga dapat dinyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan asupan energi yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Analisis statistik dilakukan juga pada data asupan lemak, protein, dan karbohidrat antar kelompok perlakuan. Data asupan lemak, protein, dan karbohidrat dinyatakan terdistribusi normal dan memiliki ragam yang

homogen. Selanjutnya dilakukan analisis *One Way ANOVA*, diperoleh hasil  $p=0,420$  ( $p>0,05$ ). Sehingga dapat dinyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan asupan lemak, protein dan karbohidrat yang signifikan antar kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa setiap kelompok perlakuan memiliki kemampuan menerima diet yang relatif sama.

#### 6.4 Perbandingan Kadar MDA antar Kelompok

Dari tabel 5.3 dapat dilihat, Hasil pengujian normalitas dengan *Saphiro-Wilk* menunjukkan kadar MDA terdistribusi normal dimana nilai  $p=0,455$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji homogenitas menggunakan *test homogeneity of variances*, didapatkan data homogen dengan nilai  $p=0,169$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji beda kadar MDA menggunakan *One Way Anova* didapatkan nilai  $p=0,824$  ( $p>0,05$ ) sehingga  $H_0$  diterima, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan Kadar MDA antar kelompok perlakuan.

Hasil yang didapatkan berdasarkan penelitian yang dilakukan didapatkan bahwa kadar MDA pada P0 yang yang diberikan 40 g *high fat diet* saja, termasuk dalam kategori tinggi yaitu sebesar  $34,00 \pm 9,797$   $\mu\text{mol/L}$  dengan nilai normal kadar MDA pada tikus sebesar  $1,04 \pm 0,43$   $\mu\text{mol/L}$ . Tingginya kadar MDA pada P0 dapat terjadi karena stres oksidatif yang menyebabkan dekomposisi hidroperoksida lipid di dalam tubuh.

Berdasarkan penelitian Novidiyato (2016) pemberian *high fat diet* selama 28 hari dapat menyebabkan senyawa radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh tidak seimbang. Asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat pada pakan lemak tinggi sangat mudah teroksidasi oleh senyawa spesies

oksigen reaktif (ROS) sehingga terjadi proses peroksidasi lipid. Proses peroksidasi lipid pada asam lemak tak jenuh dapat membentuk senyawa aldehid seperti MDA dan diena konjugasi. Hal ini membuktikan bahwa pemberian high fat diet kepada tikus putih selama 5 minggu terbukti dapat meningkatkan kadar MDA.

Sedangkan untuk nilai P1 pada tikus yang diberikan 40 g *high fat diet* dan simvastatin termasuk dalam nilai kadar MDA tertinggi dibandingkan dengan perlakuan kelompok lainnya seperti P0 yang diberikan 40 g *high fat diet* saja, P2 yang diberikan perasan lemon 1 ml/ekor/hari dan 40 g *high fat diet*, P3 yang diberikan perasan lemon 2 ml/ekor/hari dan 40 g *high fat diet*, P4 yang diberikan perasan lemon 3 ml/ekor/hari dan 40 g *high fat diet*, P5 yang diberikan perasan jeruk nipis 1 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*, P6 yang diberi perasan jeruk nipis 2 ml/ekor/hari dan 40 g *high fat diet*, dan P7 yang diberi perasan jeruk nipis 3 ml/ekor/hari + 40 g *high fat diet*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Jia Li, et al (2010), didapatkan hasil bahwa statin tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA. Selain itu berdasarkan penelitian Jasna, et all (2007) mengatakan bahwa statin menyebabkan penurunan tergantung dosis yang digunakan semakin tinggi dosis yang digunakan maka akan semakin baik dalam penurunan kadar MDA. Dosis yang diberikan pada penelitian tersebut terdiri dari 10 mg / 200gBB / hari dan 50 mg /200gBB / hari dalam 21 hari perlakuan.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, namun untuk kelompok P2, P3, dan P4 memiliki nilai kadar MDA yang lebih rendah daripada kelompok

P5, P6, P7. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan kadar MDA serum pada kelompok yang diberi perasaan lemon lebih besar daripada kelompok yang diberikan perasaan jeruk nipis. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Halvorsen, et al (2006) yang menunjukkan bahwa lemon mempunyai kekuatan antioksidan lebih tinggi daripada jeruk nipis per 100 gram buahnya. Kandungan antioksidan dalam jeruk seperti vitamin C, vitamin E, lebih tinggi daripada jeruk nipis per 100 gram.

Berdasarkan penelitian Stanway (2011) lemon mempunyai kandungan antioksidan lainnya seperti kandungan Polifenol 75,9 mg/100g, Flavonoid 21,6 mg/100g, vitamin A 20 IU-22 IU, Hesperidin 15,78 mg/100g.

Sedangkan berdasarkan penelitian Enejoh (2015) terkait kandungan gizi terhadap jeruk nipis didapatkan hasil bahwa vitamin E 0,5 mg/100 mg.

Didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Okwu dan Emenike (2006) didapatkan hasil kandungan Polifenol 0,02 mg/100 g, Flavonoid 0,57 mg/100 g, Hesperidin 15,64 mg/100g. Kadar MDA terendah terjadi

pada kelompok perlakuan P2, P3, dan P4 yang diberikan high fat diet dengan pemberian perasaan lemon fino, hal ini disebabkan karena kandungan Vitamin E dan senyawa fenolik yang terkandung dalam lemon

memiliki kemampuan antioksidan dengan mekanisme memberikan atom H pada rantai reaksi radikal.  $\alpha$ -tokoferol yang mengandung gugus  $-CH$

akan mendonorkan atom hidrogen (H) pada ROS. Vitamin E pada fase lipid (membran) menangkap radikal peroksil pada proses peroksidasi lipid dan melindungi asam lemak tak jenuh ganda (PUFA-H).

Vitamin E bereaksi dengan radikal peroksil asam lemak tak jenuh ganda (PUFA- $OO^*$ ) di fosfolipid membran sel, kemudian membentuk vitamin E radikal



sedikit reaktif (radikal tokoferoksil) yang memutuskan rantai propagasi dari reaksi rantai radikal.

Hasil menunjukkan tidak terdapat berbeda antar kelompok perlakuan ini bisa disebabkan karena beberapa faktor salah satunya berat badan awal tikus yang tidak homogen (tidak merata), uji pretest kadar MDA yang tidak dilakukan sehingga tidak dapat melihat jumlah kadar MDA sebelum diberikan perlakuan. Serta adanya peningkatan berat badan yang berhubungan dengan peningkatan pada kadar lipid didalam tubuh. Dimana peningkatan lemak tubuh dapat meningkatkan serum lipid (William,1992 dalam Sanlier,2007). Jaringan adipose menghasilkan dan menyimpan kolesterol, sehingga apabila terjadi tumpukan lemak berlebih maka lemak tersebut akan dikonversi menjadi kolesterol (Hannah, 1997) dan jika hal ini terjadi maka akan menyebabkan peroksidasi lipid yang akan terjadi terhadap peningkatan kadar MDA didalam tubuh. Selain itu berdasarkan Sylvia (2017) stres oksidatif merupakan proses yang dapat terjadi di seluruh bagian tubuh yang disebabkan oleh berbagai sebab. Menurut Jansson dalam Oever *et al.*, 2010 stress oksidatif terjadi oleh 3 faktor yaitu peningkatan oksidan, penurunan proteksi antioksidan, dan kegagalan sel untuk memperbaiki kerusakan oksidatif. Sehingga terjadi peningkatan kadar MDA didalam tubuh tidak dapat dipastikan karena terdiri dari beberapa faktor yang beragam.

## 6.5 Keterbatasan Penelitian

Terdapat keterbatasan dalam penelitian ini, yaitu tidak dilakukan uji pendahuluan terhadap kadar hesperidin, dan vitamin C yang terkandung pada buah lemon dan jeruk nipis sehingga ada kemungkinan kandungan hesperidin, dan vitamin C pada buah lemon dan jeruk nipis yang digunakan tidak sama dengan yang terdapat pada literatur. Selain, itu tidak dilakukan *pretest* untuk mengetahui kadar MDA serum sebelum perlakuan sehingga tidak dapat mengetahui perbedaan antara kadar MDA serum sebelum dan sesudah perlakuan. Terdapat keterbatasan lainnya dalam penelitian ini, yaitu berat badan awal tikus memiliki ragam yang tidak homogen. Populasi dikatakan homogen apabila unsur-unsur dari populasi yang diteliti memiliki sifat-sifat yang relatif seragam satu sama lainnya. Hal ini dapat mempengaruhi analisis hasil dari setiap kelompok perlakuan.

Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya



## BAB VII

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

1. Hipotesa ditolak, karena berdasarkan uji yang dilakukan tidak terdapat perbedaan kadar MDA *post-test* antar kelompok perlakuan namun terdapat trend penurunan kadar MDA terendah diantaranya semua kelompok perlakuan P4 yang diberikan high fat diet dan perasan lemon fino dengan volume pemberian 3 ml/ekor/hari.
2. Tidak terdapat perbedaan berat badan akhir tikus antar kelompok perlakuan.
3. Tidak terdapat perbedaan jumlah asupan pakan, energi, lemak, protein dan karbohidrat antar kelompok perlakuan.

#### 7.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui kadar vitamin C, dan hespiridin yang terkandung pada buah lemon dan jeruk nipis yang digunakan
2. Perlu memperhatikan berat badan awal tikus agar terdistribusi normal dan homogen sebelum diberikan perlakuan

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams, Lucy B. 2005. Hyperlipidemia. Guidelines for Adolescent Nutrition Services, pp.109–124. [http://www.epi.umn.edu/let/pubs/adol\\_book.shtm](http://www.epi.umn.edu/let/pubs/adol_book.shtm).
- Aguirre, L ; Hijona, E ; Macarulla, M. T ; Gracia, A ; Larrechi, I ; Bujanda, L ; Hijona, L dan Portillo, M.P. 2013. Several Statins Increase Body and Liver Fat Accumulation in A Model of Metabolic Syndrome. Journal of Physiology and Pharmacology 2013, 64, 3, 281-288
- Aje, T.O. dan Miller, M. 2009. Cardiovascular Disease: A Global Problem Extending Into The Developing World. World Journal Of Cardiology, 1(1), pp.3–10.
- Almatsier, Sunita. 2009. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama
- Ambarwati, Fitarosana Enda. 2012. Pengaruh Pemberian Larutan Ekstrak Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) Terhadap Pembentukan Plak Gigi. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Angraeni, Sylvia. 2017. Perbedaan Kadar Malondialdehid (MDA) sebagai Petanda Stres Oksidatif pada Berbagai Derajat Akne Vulgaris, Surabaya : Universitas Airlangga.
- Arkhaesi N., 2008. *Kadar Malondialdehyde (MDA) Serum Sebagai Indikator Prognosis Keluaran Pada Sepsis Neonatorum.* Tesis. Universitas Diponegoro, Semarang
- Bernardi, André; Viviane Zorzaneli Rocha; José Rocha Faria-Neto. 2015. Use of statins and the incidence of type 2 diabetes mellitus. Rev Assoc Med Bras 2015; 61(4):375-380

Astariani, N.P., Burhan, P.R.Y. dan Yulfi, Z. 2010. Minyak Atsiri Dari Kulit Buah

*Citrus grandis*, *Citrus aurantium* (L.) dan *Citrus aurantifolia* (Rutaceae)

Sebagai Senyawa Antibakteri dan Insektisida. Surabaya : Institut

Teknologi Sepuluh November

Corti, Billie Giles ; Macintyre, Sally ; Clarkson, Johanna P. ; Pikora, Terro ;,

Robert J. Donovan. 2003. Environmental and Lifestyle Factors Associated

With Overweight and Obesity in Perth, Australia. American Journal of

Health Promotion September/October 2003, Vol. 18, No. 1

Dahlia, E. M. Delly. 2014. Tesis pemberian ekstrak teh putih (*Camellia sinensis*)

oral mencegah dislipidemia pada tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur

wistar yang diberi diet tinggi lemak, pp.7–155. Denpasar : Universitas

Udayana

Erwinanto ; Santoso, Anwar ; Putranto, J. Nugroho Eko et al. 2013. Pedoman

Tatalaksana Dislipidemia. Jurnal Kardiologi Indonesia, 34(4), pp.245–70.

<http://jki.or.id>

Fukuchi, Yoshiko. Et al. *Polyphenols Suppress Diet-induced Obesity by Up-*

*Regulation of mRNA Levels of Enzymes Involved in  $\beta$ -Oxidation in Mouse*

*White Adipose Tissue*. Journal Clin. Biochem. Nutr., November 2008, 43:

201–209,

Fonsecaa ,Agustín Pérez-;Yazmin Alcalá-Cantora;Abdelfattah Z.M. Salemb;Aldo

B. Alberti-Navarro.2016.Anticoccidial efficacy of naringenin and a

grapefruit peel extract in growing lambs naturally-infected with *Eimeria*

spp. Veterinary Parasitology 232 (2016) 58–65

Harikumar, K; Althaf, S Abdul; Kishore, B; Ramunaik, M dan Suvarna, C H. 2013.

A Review on Hyperlipidemic. *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences*, 3(4), pp.59–70.

Harini, Marti dan Astirin, Okid, Parama. 2009. Blood cholesterol levels of hypercholesterolemic rat (*Rattus norvegicus*) after VCO treatment. *Nusantara Biosci.* 2009;1(2):53–8.

Harvard Health Publications. 2010. HDL: The Good, but Complex, Cholesterol. Boston : Harvard University

Haryanto, A. dan Sayogo, S. 2013. Hiperkolesterolemia : Bagaimana Peran Hesperidin? *Cdk-200*, 40(1), pp.12–16.

Hassan, Bassam A. R. 2013. Overview on Hyperlipidemia. *Journal of Chromatography Separation Techniques*, 4(3), p.7064.

Heriansyah, Teuku. 2013. Pengaruh Berbagai Durasi Pemberian Diet Tinggi Lemak terhadap Profil Lipid Tikus Putih (*Rattus Novergicus Strain Wistar*) Jantan. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* Vol 13, No 3 (2013): Volume 13 Nomor 3 Desember 2013

Huy L.A.P., He H., Huy C.P., 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal Of Biomedical Science*, Vol.4, No.2.

Hossain, Mohammed Kawser;Ahmed Abdal Dayem, Jihae Han, Yingfu Yin, Kyeongseok Kim, Subbroto Kumar Saha, Gwang-Mo Yang, Hye Yeon Choi and Ssang-Goo Cho .2016.Molecular Mechanisms of the Anti-Obesity and Anti-Diabetic Properties of Flavonoids. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17, 569

Indriani Y., Mulqie L., Hazar S. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Buah Jeruk Lemon (*Citruslimon (L.) Osbeck*) dan Madu Hutan Terhadap

Propionibacterium Acne. Jurnal Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba  
2015.

Irawan R., 2013. *Hubungan Obesitas Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Plasma Pada Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter UIN Syarif*

*Hidayatullah Jakarta 2013.* Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Jabeen, Asma;Umar Ali Khan;Ghulam Mustafa Lodhi.2011.Effects Of Simvastatin  
On Lipid Profile And Nerve Conduction Velocity In Obese Sprague  
Dawley Rats.J Ayub Med Coll Abbottabad 2011;23(3)

Kamso, Sudijanto; Purwastyastuti; Rumawas, Yohanna S.P. dan Lukito, Widjaja.

2005. Nutritional status of hyperlipidemics elderly in Indonesia according  
to body mass Index (study in four Indonesian big cities). Medical Journal  
of Indonesia, 14(2), pp.97–100.

<http://mji.ui.ac.id/journal/index.php/mji/article/view/184>

Khan, Yasmin; Khan, Rafeeq Alam; Afroz, Syeda dan Siddiq, Afshan. 2010.  
Evaluation of Hypolipidemic effect of Citrus Lemon. Journal of Basic and  
Applied Sciences, 6(1), pp.39–43.

[http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Evaluatio  
n+of+hypolipidemic+effect+of+citrus+lemon#0](http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Evaluatio<br/>n+of+hypolipidemic+effect+of+citrus+lemon#0)  
[http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Evaluation+of+hypolipidemic+effec  
t+of+Citrus+lemon#0](http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Evaluation+of+hypolipidemic+effec<br/>t+of+Citrus+lemon#0).

Kim,Shang-Jin;Sang Hoon Park ; Hong-Sig Sin ; Seung-Hwan Jang ; Sang-Wang  
Lee ; Seon-Young Kim ;Bora Kwon ; Kang-Yeol Yu ; Su Young Kim ;Dong  
Kwon Yang .2017.Hypocholesterolemic Effects of Probiotic Mixture on



Diet-Induced Hypercholesterolemic Rats. *Nutrients* 2017, 9, 293;  
doi:10.3390/nu9030293

Koike, Hidekazu; Maebashi, Japan; Takashi Nitta, Yoshitaka Sekine, Yosuke  
Furuya, Yasuyuki Morikawa, Hiroshi Matsui, Yasuhiro Shibata, Kazuhiro

Suzuki, Maeabshi. 2012. High-fat diet Increases Renal Cancer Growth  
Accompanied By Leptin Increase, And Survivin Inhibition Is Effective FOR

Simvastatin Resistant Renal Cancer. *Journal of Urology*

Koh, Kwang Kon, MD; Michael J. Quon, MD, PhD, Seung Hwan Han,  
MD; Yonghee Lee PhD, Jeong Yeal Ahn; MD, Soo Jin Kim, RN, Yesi

Koh; BS, Eak Kyun Shin, MD .2008. Simvastatin Improves Flow-Mediated  
Dilation, but Reduces Adiponectin Levels and Insulin Sensitivity In  
Hypercholesterolemic Patients

Kristanto, Febrian. 2006. Kekerasan Permukaan Enamel Gigi Manusia Setelah  
Kontak Dengan Air Perasan Citrus limon, pp.4–17. Surabaya : Universitas  
Airlangga.

Latifah K.I., 2015. Profil Kadar MDA (*Malondialdehyde*) pada Tikus yang  
Diberikan Ekstrak Herba Thymi (*Thymus vulgaris [L.]*). Fakultas  
Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

Liana L., 2011. *Pemberian Minuman Ekstrak Teh Hijau Suhu Hangat dan Suhu  
Dingin Menurunkan Kadar Malondialdehida (MDA) Serum Pada Tikus  
Dengan Tinggi Karbohidrat dan Tinggi Lemak*. Tesis. Tidak Diterbitkan.  
Universitas Udayana, Denpasar.

LIPi. 2009. Lipid, pp.1–19. Bandung : Balai Informasi Teknologi LIPi

- Lukitasari N., Ratnawati R., Lyrawati D. 2014. Polifenol Buah Tin (*Ficus carica* Linn) Menghambat Peningkatan Kadar MCP-1 pada Tikus dengan Diet Tinggi Lemak. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Februari 2014, Vol. 28, No. 1
- Luthiyah, Fifi dan Eddy Widjanto. 2011. Serbuk Daun Kelor Memulihkan Kondisi Fisik Gizi Buruk pada Tikus Model Kurang Energi Protein. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 2011, 26 (3)
- Mohanapriya M., Ramaswamy L., Rajendran R. Health and Medicinal Properties of Lemon (*Citrus limonum*). *International Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine* 3:1 (2013) 1095:1100.
- Moyad, Mark A. 2003. Osteoporosis part III - Not Just For Bone Loss: Potential Benefits Of Calcium And Vitamin D For Overall General Health. *Urologic Nursing*, 23(1), pp.69–74 6p.  
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=c8h&AN=106834771&amp;nlang=ja&site=ehost-live>
- Muaris, Hindah. 2013. Khasiat Lemon untuk Kestabilan kesehatan. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Murray, Robert K. ; Granner, Daryl K. dan Rodwell, Victor W. 2006. *Biokimia Harper (Harper's Illustrated Biochemistry)*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Novidiyanto, dkk.2016. Pengaruh pemberian kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus* (L.)) terhadap kadar malondealdehid (MDA) plasma dan jaringan hati tikus *Sprague Dawley* yang diberi pakan lemak tinggi
- OECD. 2008. *Oecd Guidelines for The Testing of Chemicals*. [http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-407-repeated-dose-28-day-oral-toxicity-study-in-rodents\\_9789264070684-en](http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-407-repeated-dose-28-day-oral-toxicity-study-in-rodents_9789264070684-en)

Olukanni, O.D.; Akande, O.T.; Alagbe, Y.O.; Adeyemi, S.O.; Olukanni, A.T. dan Daramola, G.G. 2013. Lemon Juice Elevated Level of Reduced Glutathione and Improved Lipid Profile in Wistar Rats, 13(9), pp.1246–1251.

PERKI. 2013. Pedoman Tatalaksana Dislipidemia. Jurnal Kardiologi Indonesia. <http://jki.or.id>

Peterson, J.J.; Beecher, G.R.; Bhagwat, S.A.; Dwyer, J.T.; Gebhardt, S.E.; Haytowitz, D.B.; Holden, J.M. . 2006. Flavanones in grapefruit, lemons, and limes: A compilation and review of the data from the analytical literature. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, S74–S80

Purnamasari, A.W. dan Isnawati, M. 2014. Pengaruh Pemberian Jus Pare (*Momordica Charantia L.*) dan Jus Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Sprague Dawley Hiperkolsterolemia. *Journal of Nutrition College*, 3, pp.34–42. Semarang : Universitas Diponegoro

Putri, Andari Perwira. 2013. Pengaruh Pemberian Jus Kubis (*Brassica olearacea* var. *capitata*) Dosis Bertingkat Terhadap Kadar Kolesterol HDL Serum pada Tikus Wistar yang Diberi Diet Kuning Telur. Semarang : Universitas Diponegoro

Puspitasari S., 2015. *Pengaruh Pemberian Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* forma *typical*) Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Tikus Sprague Dawley Pra-Sindrom Metabolik*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Rahardjani K.B., 2010. Hubungan antara Malondialdehyde (MDA) dengan Hasil Luaran Sepsis Neonatorum. *Sari Pediatri*, Vol. 12, No, 2.

- Razak, A.; Djamal, A. & Revilla, G. 2013. Artikel Penelitian Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* s.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2(1), pp.5–8. [http://jurnal.fk.unand.ac.id/articles/vol\\_2no\\_1/05-08.pdf](http://jurnal.fk.unand.ac.id/articles/vol_2no_1/05-08.pdf)
- Riaz, A. dan Khan, R.A. 2013. Effect Of Combination Doses Of Citrus Limon And Punica Granatum Juice On Blood. *International Journal of Phytotherapy Research*, 3(4), pp.1–14.
- Saito, Kosuke; Ishikawa, Masaki; Murayama, Mayumi; Urata, Masayo; Senoo, Yuya; Toyoshima, Katsuko; Kumagai, Yuji; Maekawa, Keiko dan Saito, Yoshiro. 2014. Effects of Sex, Age, and Fasting Conditions on Plasma Lipidomic Profiles of Fasted Sprague-Dawley Rats. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4223040/>
- Sayuti K., Yennina R., 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press, Padang.
- Sengupta, Pallav. 2013. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med* 2013;4:624-30.
- Setiawan B., dan Suhartono E., 2007. Peroksidasi Lipid dan Penyakit Terkait Stres Oksidatif pada Bayi Prematur. *Maj Kedokt Indon*, Vol. 57, No.1.
- Setiono, Laurentia Yustiana. 2012. *Dislipidemia Pada Obesitas Dan Tidak Obesitas Di RSUP Dr. Kariadi Dan Laboratorium Klinik Swasta Di Kota Semarang*, Semarang : Universitas Diponegoro.
- Sihombing, Marice dan Rafizar. Status Gizi dan Fungsi Hati Mencit (Galur CBS-Swiss) dan Tikus Putih (Galur Wistar) Di Laboratorium Hewan Percobaan Puslitbang Biomedis dan Farmasi. *Media Litbang Kesehatan*, 2010, 20 (1)

Simanjuntak K., 2012. Peran Antioksidan Flavonid dalam Meningkatkan Kesehatan. *Bina Widya*, 2012; 23(3):135-140.

Swastika A.P.A., 2013. Kadar Malondialdehyde (MDA) Pada Abortus Inkomplit Lebih Tinggi Dibandingkan Dengan Kehamilan Normal. Tesis. Tidak Diterbitkan. Universitas Udayana, Denpasar.

Swithers, Susan E.; Sean B. Ogden; Terry L. Davids. 2011. Fat Substitutes Promote Weight Gain in Rats Consuming High-Fat Diets. *American Psychological Association* 2011, Vol. 125, No. 4, 512-518. 0735-7044/11/\$12.00 DOI: 10.1037/a0024404

Syarif, Moh. 2016. Modul Guru Pembelajar Kelompok Kompetensi H. Jakarta : Direktorat Jenderal Guru Dan Tenaga Kependidikan, Kementerian Pendidikan Dan Kebudayaan

Teff K.L., Keim N.L., Tschop M., Kieffer T.J., Rader D., Heiman M., et al., 2004.

Tobergte, D.R. dan Curtis, S. 2013. Growing Lemons in Australia - A Production Manual. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), pp.1689-1699.

Trisnarizki, Leonardo. 2007. Pengaruh Ekstrak Biji Nigella sativa (Jinten Hitam) Terhadap Kadar Albumin Darah Tikus Wistar yang Diberi Metotreksat. Semarang : Universitas Diponegoro

Turner, Patricia V ; Brabb, Thea ; Pekow, Cynthia dan Vasbinder, Mary Ann. 2011. Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* Vol 50, No 5

Umami, Z.; Nurdiana, dan Nugroho, F.A. 2015. Efek Pemberian Susu Sapi Bubuk Terhadap Kadar Serum HDL (High Density Lipoprotein) Pada Tikus Putih

(*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Model Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Gizi Pangan*, 2015, 10 (1)

Vaanholt ,L.M.;R.E. Sinclair;S.E. Mitchell; J.R. Speakman.2015.Factors influencing individual variability in high fat diet-induced weight gain in out-bred MF1 mice. *Physiology & Behavior* 144 (2015) 146–155.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.03.029> 0031-9384/

Werdhasari A., 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. Vol. 3, No. 2: 59-68.

Winchell, April. 2013. Growing Lemon in Australia. Australia: NSW

Yustika R.A., Aulanni'am., Prasetyawan S., 2013. Kadar Malondialdehid (Mda) dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Pasca Induksi *Cylosporine-A*. *Kimia Student Journal*, Vol. 1, No. 2, pp. 222-228, 14 Januari.

Zaki I., Juhan A., Suci N., 2015. Pengaruh pemberian jus mangga terhadap profil lipid dan *malondialdehyde* pada tikus yang diberi minyak jelantah. *Jurnal Gizi Indonesia*,(ISSN : 1858-4942) Vol. 3, No. 2, Juni: 108-115.