

**EFEK TERAPI ANGKAK HASIL FERMENTASI BERAS MENGGUNAKAN
Monascus purpureas TERHADAP KADAR LDL, HDL DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI AORTA PADA TIKUS JANTAN
(*Rattus norvegicus*) strain Wistar MODEL
HIPERKOLESTEROLEMIA**

SKRIPSI

Oleh:

WAHYU SONYA PRATOLAH

145130101111065



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

repository.ub.ac.id

**EFEK TERAPI ANGKAK HASIL FERMENTASI BERAS MENGGUNAKAN
Monascus purpureas TERHADAP KADAR LDL, HDL DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI AORTA PADA TIKUS JANTAN
(*Rattus norvegicus*) strain Wistar MODEL
HIPERKOLESTEROLEMIA**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
WAHYU SONYA PRATOLAH
145130101111065



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**EFEK TERAPI ANGKAK HASIL FERMENTASI BERAS MENGGUNAKAN
Monascus purpureas TERHADAP KADAR LDL, HDL DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI AORTA PADA TIKUS JANTAN
(*Rattus norvegicus*) strain Wistar MODEL
HIPERKOLESTEROLEMIA**

Oleh:

**WAHYU SONYA PRATOLAH
NIM. 145130101111065**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
Pada Juli 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. drh. Masdiana C. Padaga, M.App.Sc

NIP 19560210 198403 2 001

drh. Dyah Ayu O.A.P., M.Biotech

NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarminto S. Yuwono, M.App.Sc

NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Wahyu Sonya Pratolah

NIM : 145130101111065

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Efek Terapi Angkak Hasil Fermentasi Beras Menggunakan *Monascus purpureas* Terhadap Kadar LDL, HDL dan Gambaran Histopatologi Aorta Pada Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar Model Hiperkolesterolemia

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,

Yang menyatakan,

Wahyu Sonya Pratolah

NIM. 145130101111065

**EFEK TERAPI ANGKAK HASIL FERMENTASI BERAS MENGGUNAKAN
Monascus purpureas TERHADAP KADAR LDL,HDL DAN
GAMBARANHISTOPATOLOGI AORTA PADA
TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*) strain Wistar
MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA**

ABSTRAK

Hiperkolesterolemia merupakan suatu keadaan dimana kondisi kolesterol melebihi batas normal dalam darah, salah satunya ditandai dengan peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian terapi angkak terhadap hiperkolesterolemia, ditinjau dari kadar LDL, HDL, dan histopatologi aorta. Angkak merupakan hasil fermentasi beras oleh *Monascus purpureas* yang memiliki kandungan lovastatin, sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai bahan antikolesterol. Lovastatin bekerja menghambat HMG-CoA reduktase (*Hydroxy-methyl-glutaryl Coenzyme A*). Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus putih jantan *Rattus norvegicus strain Wistar*. Pembuatan hewan model hiperkolesterolemia dengan induksi hiperkolesterol selama 28 hari. Terapi dilakukan selama 14 hari menggunakan angkak dosis 0,5 gram/kgBB, 1 gram/kgBB, dan 1,5 gram/kgBB. Kadar LDL dan HDL dianalisis menggunakan *One Way Analisis Of Variance* (ANOVA) dan dilanjutkan uji lanjutan Tukey 5% jika terdapat perbedaan yang signifikan. Sedangkan, histopatologi aorta dianalisis secara deskriptif untuk mengetahui adanya sel-sel inflamasi dan perlemakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian angkak dengan dosis berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap penurunan kadar LDL dan peningkatan kadar HDL, dimana angkak dengan dosis 1,5 gram/kgBB paling efektif untuk menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL pada tikus model hiperkolesterolemia. Histopatologi aorta menunjukkan adanya penurunan sel-sel inflamasi pada tunika adventisia serta perlemakan pada tikus terapi dibandingkan dengan tikus model hiperkolesterolemia. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terapi angkak dapat menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL, serta menurunkan sel-sel inflamasi dan perlemakan pada tunika adventisia aorta tikus model hiperkolesterolemia.

Kata kunci: Hiperkolesterolemia, LDL, HDL, angkak, histopatologi aorta.

repository.ub.ac.id

**THE EFFECT OF ANGKAK THERAPY FROM RICE FERMENTATION
USE *Monascus Purpureas* TOWARDS LDL, HDL AND AORTIC
HISTOPATOLOGY FEATURES IN MALE RATS
(*Rattus norvegicus*) strain Wistar MODEL
HYPERCHOLESTEROLEMIA**

ABSTRACT

Hypercholesterolemia is a condition where the cholesterol condition exceeds the normal limit in the blood, one of which is characterized by an increase in levels of *Low Density Lipoprotein* (LDL). This study aims to determine the effect of giving Angkak therapy to hypercholesterolemia, in terms of levels of LDL, HDL, and aortic histopathology. Angkak is the result of *Monascus purpureas* fermented rice which has lovastatin content, that can be used as an anti-cholesterol ingredient. Lovastatin works to inhibit HMG-CoA reductase (*Hydroxy-methyl-glutaryl Coenzyme A*). This study used 20 male *Rattus norvegicus* strains of *Wistar strain*. The animal models of hypercholesterolemia induced with hyperkolesterol for 28 days. The therapy is carried out for 14 days using Angkak dosage of 0.5 gram/kgBB, 1 gram/kgBB, and 1.5 gram/kgBB. LDL and HDL levels were analyzed using *One Way Analysis of Variants* (ANOVA) and continued with a 5% Tukey advanced test if there were significant differences. Meanwhile, aortic histopathology was analyzed descriptively to determine the presence of inflammatory and fatty cells. The results showed that administration of Angkak with different doses had a very significant effect on decreasing LDL levels and increasing HDL levels, where Angkak with a dose of 1.5 gram/kgBB was most effective in reducing LDL levels and increasing HDL levels in hypercholesterolemic rats. Aortic histopathology showed a decrease in inflammatory cells in tunica adventisia and fatty in therapeutic rats compared to hypercholesterolemic rats. Based on this study it can be concluded that Angkak therapy can reduce LDL levels and increase HDL levels, and reduce inflammatory and fatty cells in the tunica adventisia of aortic hypercholesterolemic rats.

Keywords: Hypercholesterolemia, LDL, HDL, aortic histopathology.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Efek Terapi Angkak Hasil Fermentasi Beras Menggunakan *Monascus purpureas* Terhadap Kadar LDL, HDL dan Gambaran Histopatologi Aorta Pada Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar Model Hiperkolesterolemia**”. Penelitian ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya (FKH UB).

Dengan penuh rasa hormat dan ketulusan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada segenap pihak yang secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih khususnya kepada:

1. Dr. drh. Masdiana C. Padaga, M.App.Sc., selaku Pembimbing I atas segala bantuan, bimbingan, kesabaran, nasihat, waktu, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
2. Drh. Dyah Ayu Oktavianie A. P., M.Biotech., selaku Pembimbing II atas segala bantuan, bimbingan, kesabaran, nasihat, waktu, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
3. Drh. Desi Wulansari, M.Vet., dan drh. Galuh Chandra Agustina, M.Si., sebagai dosen penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan saran yang membangun.
4. Drh. Analis Wisnu Wardhana, M.Biomed., selaku dosen pembimbing akademik atas segala bantuan, bimbingan, kesabaran, nasihat, waktu, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
5. Dr. Ir. Sudarminto S. Yuwono, M.App.Sc., selaku Dekan FKH UB atas kepemimpinan dan dukungan demi kemajuan FKH UB.
6. Keluarga besar tercinta yang terus memberikan doa, motivasi, kasih sayang, serta materi kepada penulis.



7. Wahyu Putra Nanda, Syaiful Haq Astana, Fernanda Venturini Nur Cholifah, dan Rara Amalia selaku anggota kelompok penelitian yang telah berjuang bersama.
8. Khalim Amelia dan Khatmil Iman Mahardhika, serta kerabat dekat terimakasih atas segala dukungan, bantuan, doa, bantuan, dan hiburan yang diberikan kepada penulis.
9. Teman-teman DEER yang mengisi hari-hari penulis dengan keceriaan,
10. Teman-teman Asisten Farmakologi yang tidak pernah lelah untuk meluangkan waktu di laboratorium.
11. Teman-teman seperjuangan Kolega FKH UB angkatan 2014, adik tingkat, dan kakak tingkat yang selalu memberikan bantuan tenaga dan pikiran.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini penulis merasa masih banyak kekurangan pada teknis penulisan maupun materi, mengingat akan kemampuan yang dimiliki penulis. Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga diharapkan dapat memberikan masukan dari berbagai pihak untuk penulisan yang lebih baik. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat karena pengalaman adalah guru terbaik.

Malang, Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Hiperkolesterolemia pada Hewan Kesayangan.....	7
2.2 Patomekanisme Hiperkolesterolemia.....	7
2.2.1 Hubungan Hiperkolesterolemia Terhadap Kadar LDL.....	9
2.2.2 Hubungan Hiperkolesterolemia Terhadap Kadar HDL	10
2.2.3 Pengaruh Hiperkolesterolemia Terhadap Histopatologi Aorta	10
2.3 Hewan Coba Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain Wistar Model Hiperkolesterolemia	12
2.4 Angkak sebagai Terapi Hiperkolesterolemia	13
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN	15
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	15
3.2 Hipotesis Penelitian	18
BAB IV METODE PENELITIAN	19
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	19
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	19
4.2.1 Alat Penelitian	19
4.2.2 Bahan Penelitian	20
4.3 Tahapan Prosedur Penelitian.....	20
4.3.1 Rancangan Penelitian.....	20
4.3.2 Variabel Penelitian.....	22



4.3.3	Persiapan Hewan Coba Hiperkolesterolemia	22
4.3.4	Kadar Uji Antikolesterol (Lovastatin)	23
4.4	Perlakuan Penelitian.....	23
4.4.1	Induksi Hiperkolesterol.....	23
4.4.2	Pemberian Terapi Angkak	24
4.4.3	Pengambilan dan Pengukuran Kolesterol Sampel Darah	24
4.4.4	Metode Pemeriksaan LDL dan HDL	25
4.4.5	Metode Pembuatan Preparat Histopatologi Aorta	26
4.5	Analisis Data	26
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN		28
5.1	Kadar HDL dan LDL pada Hewan Model Hiperkolesterol yang Diterapi dengan Angkak.....	28
5.2	Pengaruh Terapi Angkak pada Gambaran Histopatologi Aorta Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Strain Wistar Model Hiperkolesterol	32
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN		39
6.1	Kesimpulan	39
6.2	Saran	39
DAFTAR PUSTAKA		40
LAMPIRAN		43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan Kelompok Penelitian	21
5.1 Rata-rata kadar HDL Post Exam (mg/dl).....	28
5.2 Rata-rata kadar Kadar LDL Post Exam (mg/dl)	29



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Histologi Normal Aorta Tikus Pewarnaan HE 400x.....	10
2.2 Tikus Putih <i>Rattus norvegicus</i>	12
5.1 Histopatologi Aorta Tikus Pewarnaan HE perbesaran 400x.....	32



LEMBAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Keterangan Kelaikan Etik	44
2. Kerangka Operasional Rancangan Penelitian	45
3. Prosedur Pengujian Aktivitas Antikolestrol (Lovastatin)	46
4. Perhitungan Dosis	47
5. Pemberian Pakan Hiperkolesterol	49
6. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE)	50
7. Prosedur Pemeriksaan Kadar LDL HDL	51
8. Hasil Pemeriksaan HDL	52
9. Hasil Pemeriksaan LDL	53
10. Hasil Uji Statistika Kadar LDL HDL dengan SPSS versi 16	54
11. Prosedur Pengambilan Sampel Darah dan Isolasi Serum	60
12. Pengukuran Kadar Lovastatin	61
13. Hasil Uji Kolesterol Total	62

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

%	: Persen
µl	: Microliter
α	: Alfa
°	: Derajat
ANOVA	: <i>Analysis of variance</i>
APOP	: <i>Association For Pet Obesity Prevention</i>
C	: Celcius
Ca	: Calsium
CE	: <i>Cholesterol Efflux</i>
CHOD-PAP	: <i>Cholesterol Oxidase-p-aminophenazone</i>
cm	: Centimeter
dL	: Desiliter
FKH	: Fakultas Kedokteran Hewan
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HE	: <i>Hematoksilin-Eosin</i>
HMG-CoA	: <i>Hydroxyl-methyl-glutaryl Coenzyme A</i>
HPLC	: <i>High-Performance Liquid Chromatography</i>
L	: Litern
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LPL	: <i>Lipoprotein Lipase</i>
g	: Gram
mg	: Milligram
mL	: Mililiter
ng	: Nanogram
nm	: Nanometer
RCT	: <i>Reverse Cholesterol Transport</i>
rpm	: <i>Rotation per minutes</i>
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperkolesterolemia merupakan peningkatan kadar kolesterol dalam darah, kondisi hiperkolesterolemia tidak hanya menyerang manusia tetapi juga dapat menyerang hewan khususnya hewan peliharaan seperti anjing dan kucing melalui pemberian *pet food*. Menurut Schlesinger (2011), makanan *pet food* seperti daging, hati, otak, dan jeroan yang diberikan pada hewan *pet animal* dapat menyebabkan kelebihan kolesterol dalam tubuh.

Penyebab hiperkolesterolemia pada *pet animal* di Amerika salah satunya adalah obesitas. Kejadian obesitas pada tahun 2012 terus meningkat seperti yang dilaporkan *Association For Pet Obesity Prevention* (APOOP) saat mengadakan survey pasien pada klinik dokter hewan. Ditemukan sebanyak 52,5% atau sekitar 36.700.000 pada anjing dan 58,3% atau sekitar 43.200.000 pada kucing mengalami obesitas (Ward and Mark, 2013). Keadaan hiperkolesterolemia terjadi jika kadar kolesterol total dalam darah melebihi batas normal akibat gangguan metabolisme lemak dalam darah, yaitu 70-200 mg/dL pada kucing, 150-300 mg/dL pada anjing, dan 40-130 mg/dL pada tikus putih (Setyaji, 2011).

Kolesterol dalam darah meningkat melebihi batas normal ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total terutama *Low Density Lipoprotein* (LDL) serta penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) darah (Bhatnagar *et al.*, 2008). Tubuh akan berusaha untuk menyeimbangkan kadar kolesterol dalam darah dengan cara sintesis asam empedu ketika tubuh dalam kondisi hiperkolesterolemia. Asam

empedu yang disintesis oleh hati berbanding lurus dengan jumlah radikal bebas yang dihasilkan sebagai hasil sampingan (Wresdiyati dkk, 2006). Kondisi hiperkolesterolemia menyebabkan terjadinya peningkatan radikal bebas, dimana radikal bebas merupakan senyawa reaktif yang dapat merusak sel pada tubuh (Price *et al.*, 2006), apabila produksi radikal bebas terjadi berlebihan akan berakibat antioksidan dalam tubuh tidak mampu mengatasinya (Wresdiyati dkk, 2005).

Penurunan kadar HDL darah dalam keadaan hiperkolesterolemia merupakan salah satu faktor risiko terjadinya penyakit kardiovaskular yang dapat menyebabkan PKV karena telah terbukti memiliki peranan dalam mengganggu dan mengubah struktur pembuluh darah sehingga dapat mengganggu fungsi endotel dan menyebabkan lesi, plak, oklusi, dan emboli (Stapleton *et al.*, 2010).

Penyembuhan hiperkolesterolemia dimulai dari penanganan penyakit sekunder yang dialami hewan, seperti obesitas. Cara yang banyak dilakukan adalah dengan memperhatikan pola makan hewan penderita. Obat-obatan diberikan apabila cara diet tidak berhasil. Obat antilipidemik diberikan sebagai penunjang pengobatan (Newman, 2007).

Pengobatan hiperkolesterolemia dengan obat sintetik banyak dipilih, karena memiliki efektifitas yang tinggi, namun harga obat masih terlalu mahal jika diterapkan pada *pet animals*. Selain itu, obat sintetik dapat menimbulkan ketergantungan bagi penggunanya, apabila digunakan dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping seperti nyeri lambung, nyeri abdomen, urtikaria, disuria, penurunan berat badan, ikhtiosis, depresi, dan *dysgeusia* (Nafrialdi, 2007).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa zat aktif yang terdapat dalam angkak, yaitu lovastatin (Kasim *et al.*, 2006), mempunyai jalur efek yang di

perkiraan sama dengan simvastatin. *Monascus purpureas* yang digunakan untuk membuat angkak, secara alami memproduksi lovastatin sebagai hasil metabolismenya. Lovastatin bekerja menghambat HMG-CoA reduktase (*Hydroxy-methyl-glutaryl Coenzyme A*), yaitu enzim yang mengontrol jalur biosintesis kolesterol di dalam hati (Brown *et al.*, 1991). Penghambatan HMG-CoA reduktase akan mencegah pembentukan mevalonat dan kolesterol. Zat ini merupakan salah satu zat yang bersifat kompetitor kuat terhadap HMG-CoA-reduktase dalam mengontrol jalur biosintesis kolesterol. Selain itu, lovastatin berperan dalam meningkatkan reseptor LDL dalam hati, sehingga katabolisme kolesterol meningkat. Angkak dikenal sebagai *red fermented rice* memiliki kandungan serat monakolin-K dan berbagai asam lemak tak jenuh yang dimilikinya dapat mencegah berbagai penyakit, diantaranya penyakit hiperkolesterolemia. Dan dapat meningkatkan kadar HDL dalam darah (Tisnadjaja, 2006).

Angkak semakin berkembang penggunaannya dan banyak digunakan sebagai obat untuk kepentingan medis. Penelitian ini mempelajari efek terapi angkak untuk terapi hewan model hiperkolesterolemia ditinjau dari kadar HDL, LDL dan gambaran histopatologi aorta.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian angkak dari hasil fermentasi beras oleh *Monascus purpureas* dapat menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar model hiperkolesterolemia?

2. Apakah pemberian angkak dari hasil fermentasi beras oleh *Monascus purpureas* dapat memperbaiki gambaran histopatologi aorta pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar model hiperkolesterolemia?

1.3 Batasan Masalah

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

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan, berumur 10-12 minggu dengan berat badan 200-250 gram, yang didapat dari peternakan Sumber Sekar Dau Malang. Penggunaan hewan model telah mendapatkan sertifikasi Laik Etik dengan Nomor:887-KEP-UB dari Komisi Etik Penelitian (KEP) (*Animal Care and Use Commite*) Universitas Brawijaya.
2. Pembuatan keadaan hiperkolesterolemia hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan dilakukan dengan cara pemberian diet hiperkolesterol berupa minyak babi 2 gram, asam kholat 0,02 gram, dan kuning telur puyuh rebus sebanyak 1 gram (Gani, 2013), kemudian ditambahkan air sebanyak 1 ml.
3. Terapi yang diberikan menggunakan angkak yang terbuat dari hasil fermentasi beras oleh jamur *Monascus purpureas* dalam bentuk serbuk yang dilarutkan dengan air 2 – 3 ml, pemberian melalui sonde lambung, sebanyak 20 ekor tikus putih strain Wistar jantan. Dikelompokkan menjadi 5 kelompok terapi yang akan diberikan diet pakan hiperkolesterol. Pemberian terapi angkak dengan dosis

0,5 gram/kgBB, 1 gram/kgBB, dan 1,5 gram/kgBB, pemberian terapi dilakukan selama 14 hari (Kasim *et al.*, 2006).

4. Variabel yang diamati adalah kadar LDL, HDL dan gambaran histopatologi aorta. Dasar perhitungan LDL dengan menggunakan rumus yang disusun oleh *Fridewald*, sedangkan dasar perhitungan HDL dengan spektrofotometri dengan menggunakan alat HDL *Reader* tipe A15 *BioSystem* buatan Spanyol. Gambaran histopatologi aorta dengan metode pewarnaan *Hematoksin-Eosin* (HE) secara kualitatif diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya *Olympus BX51*.

1.4 Tujuan Penelitian

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

1. Mengetahui efek terapi angkak dari hasil fermentasi beras oleh *Monascus purpureas* dalam menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* model hiperkolesterolemia.
2. Mengetahui efek terapi angkak dari hasil fermentasi beras oleh *Monascus purpureas* dalam menurunkan kerusakan gambaran histopatologi aorta pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* model hiperkolesterolemia.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan oleh penulis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai kajian ilmiah pemanfaatan angkak dari hasil fermentasi beras oleh jamur *Monascus purpureas* sebagai obat terapi

hiperkolesterolemia dalam menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL, serta dapat menurunkan kerusakan histopatologi aorta.

2. Penelitian ini dapat digunakan sebagai literatur di dunia kedokteran hewan dalam memanfaatkan ekstrak dari hasil *Monascus purpureas* sebagai obat terapi hiperkolesterolemia pada *pet animals* yang mengalami obesitas.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hiperkolesterolemia pada Hewan Kesayangan

Hiperkolesterolemia merupakan suatu keadaan yang timbul karena kadar kolesterol dalam darah yang melebihi batas normal (Murray *et al.*, 2003). Hiperkolesterolemia dapat disebabkan oleh dua faktor, yaitu faktor primer dan faktor sekunder. Penyebab faktor primer adalah faktor genetik atau disebut hiperkolesterolemia familial. Faktor genetik disebabkan kelainan genetik dari reseptor LDL (Menys, 2007). Sedangkan, faktor sekunder berasal dari diet kaya kolesterol yang mengakibatkan obesitas.

Menurut Menys (2007), hiperkolesterolemia yang disebabkan oleh faktor genetik dapat dicegah dengan meminimalkan konsumsi makanan dengan kadar kolesterol tinggi, asam lemak jenuh, dan mengonsumsi makanan dengan suplemen yang dibutuhkan oleh tubuh. Berbagai jenis senyawa diketahui dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Penderita hiperkolesterolemia dapat diberikan pengobatan dengan mengonsumsi obat yang disertai dengan terapi diet.

2.2 Patomekanisme Hiperkolesterolemia

Lipid yang berasal dari makanan akan mengalami proses pencernaan di dalam usus menjadi asam lemak bebas, trigliserida, fosfolipid dan kolesterol yang akan diabsorpsi dan ditransportasikan oleh darah ke berbagai jaringan dalam bentuk lipoprotein. Lipoprotein merupakan alat pengangkut lipid dalam darah karena lipid tidak dapat larut dalam darah sehingga harus berikatan dengan protein untuk

membentuk senyawa larut. Terdapat empat kelompok utama lipoprotein, yaitu kilomikron, *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan *High Density Lipoprotein* (HDL). Kilomikron merupakan lipoprotein yang mengangkut lipid dari penyerapan dalam usus; VLDL mengangkut trigliserol dari hati; LDL menyalurkan kolesterol ke jaringan, dan HDL membawa kolesterol dari jaringan dan mengembalikan ke hati untuk diekskresikan dalam proses yang dikenal sebagai transpor kolesterol terbalik (*reverse cholesterol transport*). Terdapat dua mekanisme dalam transport kolesterol, yaitu transport endogen dan eksogen (Murray *et al.*, 2003).

Transport endogen dimulai dari lipid yang dibiosintesis dalam hati dalam bentuk VLDL dan dibawa oleh aliran darah. Dalam aliran darah, trigliserida dalam VLDL akan terhidrolisis oleh *Lipoprotein Lipase* (LPL) menghasilkan asam lemak dan gliserol. Asam lemak berdifusi memasuki jaringan, sedangkan gliserol dan sebagian kecil asam lemak terus beredar bersama darah. Hidrolisis mengakibatkan jumlah VLDL semakin menyusut dan menjadi IDL yang kemudian mengalami hidrolisis lebih lanjut sehingga trigliserolnya semakin berkurang yang akhirnya menjadi LDL (Mayes *et al.*, 2003)

Proses transport eksogen dimulai dari trigliserida, kolesterol ester, fosfolipid dan kolesterol yang diserap dalam usus akan dirakit menjadi kilomikron dan masuk ke dalam sistem sirkulasi. Kilomikron akan dibawa ke hati melalui vena porta hepatica dan akan terhidrolisis membentuk VLDL yang kemudian dibawa sistem sirkulasi menuju jaringan. Pada pembuluh darah, trigliserida dalam VLDL dihidrolisis oleh LPL yang akan menghasilkan asam lemak dan gliserol. Sisa VLDL biasa disebut IDL dan akan mengalami hidrolisis lebih lanjut hingga menjadi LDL

(Mayes *et al.*, 2003). LDL merupakan lipoprotein yang kaya akan kolesterol dan berperan dalam pengangkutan kolesterol ke jaringan perifer (lemak jahat) (Masitahari, 2011).

Pada hewan coba hiperkolesterol, jumlah sisa LDL dalam darah akan dibawa kembali menuju hepar untuk disintesa menjadi asam empedu. Tingginya intake kolesterol menyebabkan terdapat banyak sisa kolesterol dalam LDL. Sisa kolesterol yang terlalu berlebih tidak mampu dibawa kembali ke hepar oleh HDL. Jika terpapar oleh radikal bebas, maka LDL akan teroksidasi dan memicu respon inflamasi. Respon inflamasi terlihat dari adanya aktivitas sel endotel, leukosit dan monosit. Leukosit akan muncul di sepanjang lumen dan dinding pembuluh darah sehingga meningkatkan permeabilitas pembuluh darah (Lowery, 2005).

2.2.1 Hubungan Hiperkolesterolemia Terhadap Kadar LDL

Lipoprotein LDL akan mengangkut kurang lebih 70-80% kolesterol dan kolesterol total. Dalam keadaan fisiologis, uptake LDL pada sel-sel perifer terjadi bila ada reseptor LDL. Reseptor LDL akan berkurang pada kondisi tertentu, seperti pada penyakit hiperkolesterolemia. Banyaknya LDL yang tidak tertangkap oleh reseptor LDL, mengakibatkan kadar LDL akan meningkat dan akan lebih lama berada dalam sirkulasi darah hingga kemungkinan untuk teroksidasi lebih besar.

Oksidasi LDL dapat disebabkan karena adanya kadar kolesterol dalam darah yang berlebih, dimana keadaan ini mempengaruhi sintesa asam empedu yang mempengaruhi sintesa lemak dalam tubuh. Oksidasi LDL inilah yang menyebabkan proses inflamasi pada dinding pembuluh darah. Batas kadar LDL normal pada tikus adalah 7-27,2 mg/dl, atau dianggap normal jika masih dibawah 100 mg/dl (Herwiyarirasanta, 2010).

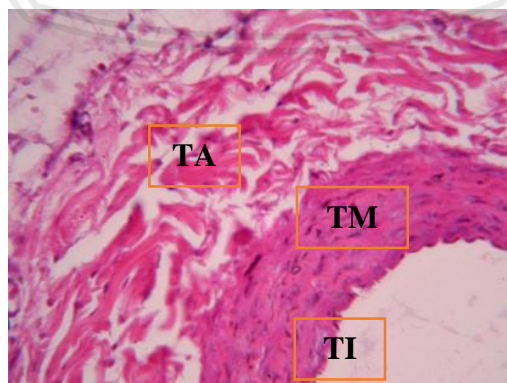
2.2.2 Hubungan Hiperkolesterolemia Terhadap Kadar HDL

HDL adalah lipoprotein yang mempunyai kepadatan yang tinggi. Densitas lipoprotein akan meningkat jika kadar proteinnya naik dan kadar lemaknya berkurang. HDL disintesis dan disekresi oleh hati dan usus yang selanjutnya HDL digunakan sebagai pengangkut kolesterol dalam darah dari jaringan tubuh ke hati. HDL mengandung lebih banyak trigliserida dan protein dibandingkan dengan LDL yang banyak mengandung kolesterol dan lemak (Dorfman, 2004).

2.2.3 Pengaruh Hiperkolesterolemia Terhadap Histopatologi Aorta

Aorta merupakan arteri terbesar dalam tubuh. Memiliki sumber dari bilik kiri jantung dan membawa darah yang mengandung oksigen ke seluruh bagian tubuh dalam peredaran sistemik. Aorta merupakan pembuluh darah besar, jika dalam keadaan hiperkolesterol aorta menjadi pembuluh darah pertama yang akan mengalami kerusakan. (**Gambar 2.1**).

Menurut Herpandi (2005), jika dalam keadaan normal, tunika intima terdiri dari atas sel selapis pipih, tunika media terdiri dari sel otot polos, dan tunika adventisia terdiri dari serabut kolagen, serta pembuluh darah dan jaringan ikat.



Gambar 2.1 Histologi Normal Aorta Tikus Pewarnaan HE 400x (Collins, 2009).

TI : Tunika Intima ; TM : Tunika Media ; TA : Tunika Adventisia

Patomekanisme yang terjadi akibat inisiasi dari diet hiperkolesterolemia, akan dimulai dari keadaan kolesterol darah yang meningkat. Kadar kolesterol yang meningkat menyebabkan proses metabolisme tidak optimal, sehingga kolesterol tersebut menumpuk di hati. Keadaan tersebut membuat kadar kolesterol total dan kadar kolesterol LDL meningkat (Herpandi, 2005).

Menurut Braunwald (2007) menyatakan, keadaan kadar kolesterol yang tinggi, akan memicu LDL dan membuat kadar HDL menurun, karena HDL akan meningkat apabila kadar protein dalam darah naik dan kadar lemak dalam darah turun. HDL memiliki peran sebagai pengangkut kolesterol dalam darah dari jaringan tubuh ke hati. LDL yang berada dalam aliran darah akan menempel dan menumpuk pada dinding pembuluh darah dan memicu adanya radikal bebas, sehingga terjadi LDL oksidasi (Herpandi, 2005).

Menurut Taylor (2005), LDL oksidasi dapat menimbulkan reaksi inflamasi pada dinding pembuluh darah. Reaksi inflamasi menginisiasi sel imunokompeten, yaitu limfosit, monosit, dan makrofag. Reaksi imunologi dan luka endotel akan menyebabkan vasodilatasi, sehingga sel endotel dan permeabilitas sel-sel endotel yang memberikan celah terhadap berbagai bahan di dalam darah sehingga sel inflamasi dan lemak memiliki akses ke dalam tunika adventisia. Luka pada sel endotel mengakibatkan reaksi inflamasi dan imunitas, kemudian terjadi pelepasan peptida-peptida vasoaktif, penimbunan makrofag, dan penimbunan sel inflamasi di dalam tunika adventisia.

2.3 Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar Model Hiperkolesterolemia

Hewan model hiperkolesterol merupakan hewan coba yang memiliki kadar kolesterol darah melebihi batas normalnya (Murray *et al.*, 2003) (**Gambar 2.2**). Pada tikus putih kadar normal kolesterol 100-140 mg/dL.



Gambar 2.2 Tikus Putih *Rattus norvegicus* (Sirois, 2005)

Penggunaan tikus *strain Wistar* dalam penelitian disebabkan karena tikus mudah diadaptasikan dalam lingkungan laboratorium. Penggunaan tikus berjenis kelamin jantan dilakukan karena memiliki hormon estrogen dalam jumlah yang sedikit dan dapat berpengaruh terhadap kadar kolesterol dalam darah. Tikus jantan memiliki kadar kolesterol yang tidak berpengaruh pada variasi hormonnya (Kusumawati, 2004). Metabolisme tikus putih mirip dengan metabolisme pada anjing dan kucing sehingga tikus putih dapat dijadikan objek penelitian yang dapat diaplikasikan pada hewan tersebut (Sirois, 2005).

Menurut Murray (2000), tikus berbeda dengan mencit sebagai hewan coba untuk pengukuran kadar kolesterol HDL dan gambaran histopatologi aorta, karena ukuran tubuh dan organ tubuhnya tikus lebih besar dibandingkan dengan mencit,

sehingga lebih mudah untuk isolasi aorta. Tikus (*Rattus norvegicus*) dan kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) merupakan hewan model yang paling sering digunakan untuk mempelajari kelainan metabolisme kolesterol pada manusia, hal ini disebabkan oleh aktivitas enzim kolesterol 7 alfa-hidroksilase yang lebih tinggi pada tikus dibandingkan dengan kelinci. Enzim tersebut dapat menyebabkan proses katabolisme kolesterol hati menjadi asam empedu, sehingga mempercepat pengeluaran kolesterol dalam tubuh.

2.4 Angkak sebagai Terapi Hiperkolesterolemia

Angkak merupakan hasil fermentasi beras oleh *Monascus purpureas*. Dalam proses fermentasi tersebut beras menjadi merah karena *Monascus purpureas* memproduksi pigmen berwarna merah. Salah satu metabolit sekunder yang terbentuk selama proses fermentasi angkak, yaitu senyawa monakolin-K, memiliki kesamaan struktur dan fungsi dengan lovastatin. Lovastatin adalah senyawa aktif yang digunakan secara luas pada obat penurun kolesterol. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa zat aktif yang terdapat di dalam angkak, yaitu lovastatin atau monakolin-K. Senyawa monakolin-K tersebut memiliki fungsi yang sama dengan senyawa aktif dalam obat penurun kolesterol.

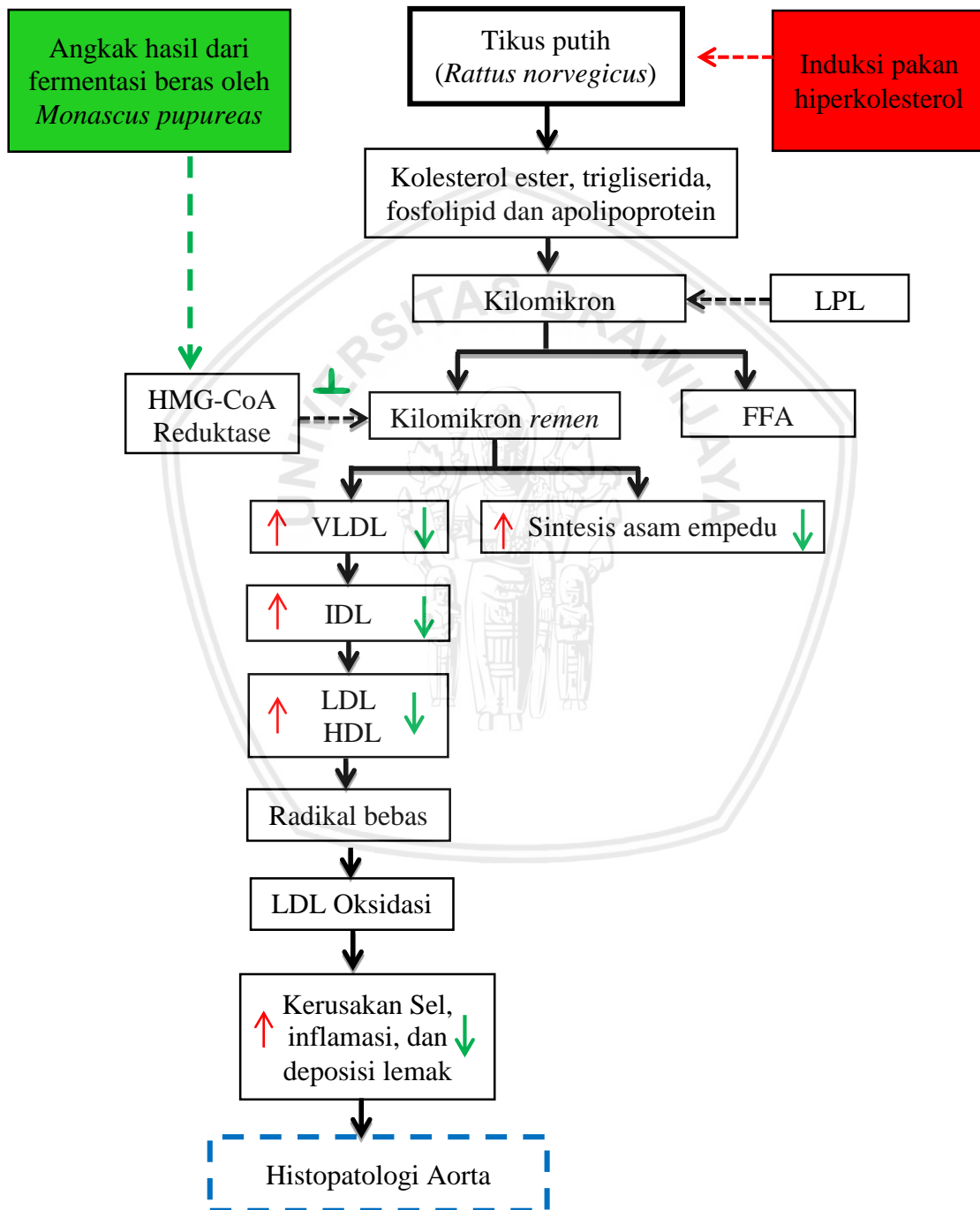
Hati merupakan organ yang berperan penting dalam menjaga keseimbangan kolesterol plasma. Hal ini telah didemonstrasikan dengan pelacakan menggunakan radioaktif pada hati hewan yang mempunyai kesulitan dalam mengembalikan kolesterol plasma (Harris, 1992). Di dalam hati, lovastatin terhidrolisis menghasilkan senyawa yang menghambat secara kompetitif HMG-CoA (*Hydroxymethyl-glutaryl Coenzyme A*) reduktase, yang mengontrol biosintesis kolesterol

(Brown and Goldstein, 1991; King, 2007). Penghambatan kerja enzim ini juga dapat meningkatkan reseptor kolesterol LDL, sehingga terjadi peningkatan perombakan LDL (Siswandoro, 1997).



BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Keterangan :

	: Variabel terikat		: Penurunan		: Induksi
	: Hewan Coba		: Peningkatan		: Patomekanisme
	: Variabel bebas		: Terapi		: Menghambat
	: Paparan		: Menstimulasi		

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar normal diinduksi dengan diet hiperkolesterol selama 28 hari, sehingga mengakibatkan kadar kolesterol dalam darah akan meningkat atau hiperkolesterolemia. Kolesterol, trigliserida, fosfolipid dan apolipoprotein kemudian diubah dalam bentuk kilomikron. Kilomikron merupakan lipoprotein yang mengangkut lipid dari penyerapan dalam usus. Kilomikron mengalami penguraian oleh enzim LPL (*Lipoprotein Lipase*) sehingga membentuk asam lemak bebas (*Free Fatty Acid* atau FFA) dan kilomikron *remnant*. Kilomikron *remnant* akan dimetabolisme dalam hati sehingga menghasilkan kolesterol bebas.

Kilomikron *remnant* dan kolesterol yang disintesis oleh hati akan diangkut secara endogen dalam bentuk VLDL ke dalam darah. VLDL akan mengalami hidrolisis oleh enzim LPL (*Lipoprotein Lipase*) sehingga membentuk IDL. Partikel IDL kemudian menuju hati dan mengalami pemecahan lebih lanjut menjadi LDL. Tingginya kadar LDL yang disintesis dan berada dalam pembuluh darah menyebabkan partikel HDL tidak mampu mengangkut semuanya kembali dalam hati, sehingga terjadi penumpukan partikel LDL dalam pembuluh darah. Dalam kondisi hiperkolesterolemia tubuh berusaha menyeimbangkan kolesterol plasma dengan cara mengubah kolesterol menjadi asam empedu. Saat mensintesis asam

empedu dibutuhkan oksigen dan zat lain, semakin banyak asam empedu yang disintesis, maka dapat meningkatkan proses oksidasi, sehingga menghasilkan produk samping berupa radikal bebas. Radikal bebas dalam jumlah berlebih menyebabkan ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan alami dari tubuh, sehingga terjadi stress oksidatif.

Jika keadaan ini dibiarkan dalam waktu yang cukup lama, maka kolesterol terlebih tersebut akan menempel di dinding pembuluh darah dan akan memicu luka endotel. LDL dan radikal bebas kemudian akan bereaksi dan menyebabkan terjadinya LDL oksidasi. LDL oksidasi akan menyebabkan reaksi inflamasi pada dinding pembuluh darah. LDL yang teroksidasi akan memacu terbentuknya zat yang dapat melekat dan menarik monosit menembus lapisan endotel dan masuk kedalam intima. LDL yang telah teroksidasi sempurna dapat mengubah makrofag menjadi sel busa, dimana sel busa yang terbentuk akan saling berkaitan dan membentuk gumpalan yang semakin lama semakin besar yang mengakibatkan penyempitan lumen pembuluh darah. Penyempitan diameter pembuluh aorta ditandai dengan terbentuknya plak atau ateroma pada dinding pembuluh darah dan terjadinya proliferasi sel-sel otot polos pembuluh darah.

Penyakit aterosklerosis diawali dengan kerusakan sel endotelium pada arteri dan adanya radikal bebas berlebih yang bereaksi dengan LDL membentuk LDL teroksidasi. LDL yang teroksidasi ini bermigrasi bersama sel monosit ke dalam lapisan endotel. Monosit akan berubah bentuk menjadi makrofag. Makrofag pada lapisan ini akan memfagosit LDL yang teroksidasi sehingga terbentuk sel busa, akibatnya terjadilah akumulasi sel busa pada dinding pembuluh darah. Perkembangan selanjutnya makrofag menghasilkan faktor pertumbuhan, sehingga

menyebabkan proliferasi sel otot polos pembuluh darah, akibatnya terbentuklah plak pada pembuluh darah.

Angkak dari hasil fermentasi beras oleh jamur *Monascus purpureas* memiliki kandungan senyawa lovastatin yaitu senyawa yang dapat menurunkan kolesterol dari golongan statin. Terapi lovastatin mampu menghambat HMG-CoA Reduktase, yaitu enzim yang diperlukan untuk sintesis kolesterol. Lovastatin akan berikatan dengan HMG-CoA Reduktasi dalam hati, sehingga HMG-CoA reduktase tidak berikatan dengan substrat (HMG-CoA) dan laju pembentukan mevalonat yang merupakan perkusor kolesterol dari HMG-CoA akan terhambat. Penghambatan kerja enzim tersebut juga mempengaruhi pembentukan reseptor kolesterol LDL. Dari senyawa tersebut diharapkan dapat menurunkan LDL dan meningkatkan HDL.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dipaparkan, maka hipotesis yang diajukan adalah sebagai berikut :

1. Pemberian terapi angkak dari hasil fermentasi oleh jamur *Monascus purpureas* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar model hiperkolesterolemia dapat menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL dalam darah.
2. Pemberian terapi angkak dari hasil fermentasi oleh jamur *Monascus purpureas* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar model hiperkolesterolemia serta terdapat memperbaiki perubahan histopatologi aorta

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April 2018 sampai bulan Juni 2018 di Laboratorium Parasit Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Politeknik Negeri Malang, Laboratorium Patologi Klinik dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah kandang tikus berupa bak plastik dan penutup kandang dari jaring kawat, botol minum tikus, sekam berupa parutan kayu halus, tempat pakan, alat sonde, *dissecting set*, *glove*, tabung *eppendorf*, *microtube*, papan bedah, alas bedah, spuit 1 ml, 3 ml dan 5 ml, mortar, *encash*, labu takar, pipet, autoklaf, alat pengering, *hot plate*, bunsen, ose, erlenmeyer, pengaduk, gelas ukur, kertas saring *Whatman*, tabung reaksi, *vortex*, incubator, timbangan analitik atau timbangan digital, objek glass, cover glass, cawan petri, *centrifuge*, spektrofotometer UV-Vis, *centrifuge*, *eppendorf*, *micropipette* ukuran 10-100 μ l, *microtip* warna kuning, HPLC, mikroskop cahaya (*Olympus Bx51*), pot organ, serta *Biosystem* tipe A15.

4.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah hewan coba tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* dengan umur 10-12 minggu dengan berat badan rata-rata 200-250 gram, 1 mL NaCl 0,9 %, angkak, pakan standart, bahan pakan induksi hiperkolesterol dapat berupa asam kholat 0,02 g, minyak babi 2 g, kuning telur puyuh rebus 1 g, dan *aquades*, uji HPLC, uji antikolesterol dengan menggunakan (metanol, aquabidest, asam phormiat, acetonitril), kit HDL dan LDL tipe A15 merk *BioSystem*, formalin buffer 10%, alkohol 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, larutan xylol, parafin cair, polysilin, bahan pewarnaan HE, dan Canada balsam.

4.3 Tahapan Prosedur Penelitian

4.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain “*Post Test Only Control Group Design*” dengan menggunakan Rencana Acak Lengkap (RAL), yang dipergunakan apabila media yang dipergunakan dalam penelitian sama atau dianggap seragam (Kusriningrum, 2008). Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan *Rattus norvegicus strain Wistar* sebagai objek penelitian, kemudian dilakukan analisis statistik *One Way Analysis of Variance (One Way ANOVA)* dan dilakukan analisis lebih lanjut dengan uji beda nyata jujur (BNJ) atau uji *Tukey* dengan taraf kepercayaan $\alpha = 0,05$. Pengukuran parameter kadar LDL HDL dan gambaran histopatologi aorta dilakukan *post test only control group*. Rancangan kelompok penelitian dapat dilihat pada **Tabel 4.1**

Tabel 4.1 Rancangan Kelompok Penelitian

Kelompok	Keterangan	Variabel yang diamati	
		Kadar LDL HDL	Histopatologi Aorta
A (Kontrol Negatif)	Pakan standart + Air minum		
B (Kontrol Positif)	Pakan standart + air minum + pemberian pakan hiperkolesterol		
C (Terapi 1)	Pakan standart + air minum + pakan hiperkolesterol + Angkak 0,5 gram/kgBB		
D (Terapi 2)	Pakan standart + air minum + pakan hiperkolesterol + Angkak 1 gram/kgBB		
E (Terapi 3)	Pakan standart + air minum + pakan hiperkolesterol + Angkak 1,5 gram/kgBB		

Penentuan jumlah sampel minimal menggunakan rumus $p(n-1) \geq 15$, dimana (p) adalah jumlah perlakuan dan (n) adalah jumlah ulangan (Kusriningrum, 2008).

Perhitungan banyaknya ulangan sebagai berikut :

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

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5(5n-5) \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$N \geq 4$$

Penelitian ini memiliki 5 perlakuan, dengan dasar rumus seperti diatas dan diperoleh jumlah pengulangan sebanyak lebih dari atau sama dengan 4 kali. Jumlah pengulangan yang diambil adalah 4, sehingga jumlah sampel yang didapat dari penelitian ini sebanyak 20 ekor tikus putih jantan.

4.3.2 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- a. Variabel bebas : Pakan hiperkolesterolemia dan dosis pemberian angkak (dosis 0,5 gram/kgBB, 1 gram/kgBB, 1,5 gram/kgBB).
- b. Variabel tergantung : Profil kadar LDL, HDL dan gambaran histopatologi aorta.
- c. Variabel kendali : Umur, jenis kelamin, berat badan, air minum, pakan dan kondisi kandang.

4.3.3 Persiapan Hewan Coba Hiperkolesterolemia

Hewan coba tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* disiapkan dengan menggunakan metoda Gani (2013). Pada semua kelompok perlakuan dikandangkan secara terpisah yaitu 1 kandang 1 perlakuan dan diadaptasikan selama kurang lebih 7 hari. Selama penelitian tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* diberikan pakan dan air minum secara *ad-libitum*. Hewan coba sebanyak 20 ekor kemudian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan secara acak, dimana dalam 1 kelompok berisi 4 ekor tikus. Kemudian tikus dikandangkan dan diletakkan pada suhu ruang dan dengan kelembaban kurang lebih 83%. Tikus dikandangkan dalam kandang yang dilengkapi penutup kawat, dengan ukuran kandang 17,5 x 23,75 x 17,5 cm.

Induksi hiperkolesterolemia terdiri dari campuran minyak babi 2 gram, asam kholat 0,02 gram, dan 1 kuning telur puyuh rebus yang diberikan melalui sonde

lambung yang sebelumnya dilarutkan dalam air sampai 1 ml. Pemberian dilakukan pada kelompok B, C, D, dan E. Pemberian pakan dilakukan selama 28 hari.

4.3.4 Uji Kadar Antikolesterol (Lovastatin)

Kadar lovastatin dapat diukur dari serbuk angkak (**Lampiran 3**). Sebanyak 1 gram angkak diekstrak dengan 2 ml asetonitril dan 0,1 ml asam fosfat 0,1%, kemudian dibiarkan selama 30 menit, setelah itu larutan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya sampel disaring dengan kertas *Whatman* dan supernatan yang dihasilkan diinjeksikan pada kolom HPLC, dengan demikian, kadar antikolesterol dapat diukur (Kasim *et al.*, 2005). Penentuan kadar antikolesterol dilakukan dengan menggunakan HPLC, pada kolom C18, fase gerak metanol:asetonitril:asam formiat:air (35:40:15:10), panjang gelombang (λ) 254 nm, dan flow/pressure 1/88 kg.cm.m⁻¹, terhadap ekstrak hasil pemisahan dengan asetonitril. Kadar antikolesterol diperoleh dengan membandingkan luas area lovastatin sampel dengan luas area lovastatin standar. Sebagai standar digunakan tablet lipovas 200 mg yang mengandung 20 mg lovastatin (Nauli dan Udin 2006).

4.4 Perlakuan Penelitian

4.4.1 Induksi Hiperkolesterol

Hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar jantan* berumur 10-12 minggu dengan berat badan 200-250 gram. Pemberian diet pakan hiperkolesterol terdiri dari campuran asam kholat 0,02 gram, minyak babi 2 gram, dan kuning telur puyuh rebus 1 gram/ ekor (Gani *et al.*, 2013) yang diberikan setiap hari, melalui rute oral yang sebelumnya dilarutkan dalam air sampai 1 ml,

pemberian ini dilakukan pada kelompok B, C, D, dan E yang dilakukan selama 28 hari.

4.4.2 Pemberian Terapi Angkak

Sebanyak 20 ekor tikus putih jantan *strain Wistar* berumur 10-12 minggu dengan berat sekitar 200- 250 gram dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan, kelompok perlakuan C, D, dan E merupakan kelompok terapi dimana selama 28 hari akan diberikan diet pakan hiperkolesterol dan kemudian dilakukan pemberian terapi menggunakan angkak selama 14 hari berikutnya setelah induksi.

Serbuk angkak hasil fermentasi beras oleh *Monascus purpureas* dilarutkan dalam aquades hingga volume 3 ml untuk tiap ekor, pemberian terapi dilakukan secara per oral dengan metode sonde lambung. Pada kelompok A sebagai control negatif dimana tikus hanya diberi pakan standart dan air minum. Pada kelompok B tikus diberi pakan standart, air minum dan diet hiperkolesterol. Pada kelompok C tikus diberi pakan standart, air dan pakan diet hiperkolesterol kemudian diterapi dengan pemberian angkak sebanyak 0,5 gram/kgBB. Kelompok D dan E tikus diberikan pakan standart, air, dan pakan diet pada kelompok D sebanyak 1 gram/gramBB dan kelompok E sebanyak 1,5 gram/kgBB. Pemberian terapi dilakukan selama 14 hari (**Lampiran 2**).

4.4.3 Pengambilan dan Pengukuran Kolesterol Sampel Darah

Pengukuran kadar kolesterol pada hewan coba dilakukan pada hari ke-8 atau awal sebelum pemberian pakan kolesterol dan pengambilan serta pengujian kadar kolesterol yang ke 2 dilakukan pada hari ke 21 setelah induksi pakan hiperkolesterol. Darah diambil kurang lebih 1 ml dan dimasukkan dalam tabung

eppendorf, pengambilan darah melalui sinus orbital. Kemudian tabung dидiamkan selama kurang lebih tiga jam dalam posisi miring, yang bertujuan agar banyak serum yang terbentuk. Setelah itu, darah di sentrifus dengan kecepatan 3000 rpm dengan waktu 15 menit. Serum diambil dan disimpan dalam pendingin. Serum yang didapat digunakan untuk pengukuran kadar total kolesterol. Kadar total kolesterol ini diukur dengan menggunakan metode CHOD-PAP (*Cholesterol Oksidase Phenol Amino Phenazon*) prosedur dilihat pada (**Lampiran 11**) (Kasim *et al.*, 2006).

4.4.4 Metode Pemeriksaan LDL dan HDL

Dasar perhitungan kadar HDL adalah dengan menggunakan alat spektrofometri dengan menggunakan alat HDL Reader tipe A15 dari BioSystem buatan Spanyol. Dalam prosesnya, alat ini menggunakan dua jenis reagen. Reagen A terdiri dari *Good's Buffer*, *cholesterol oxidase*, *peroxidase*, *N,N-bis(4-sulfobutyl)-m-toluidine (DSBm'I')* dan *accelerator*. Reagen B terdiri atas *Good's Buffer*, *cholesterol esterase*, *4-aminoantipyrine*, *ascorbate oxidase*, dan detergen. Alat ini juga menggunakan aquabides untuk proses *washing*. Alat ini bekerja secara otomatis, dibutuhkan 3 µl serum yang dicampurkan dengan 300 µl reagen A, dibiarkan selama 480 detik., kemudian dilakukan pencampuran dengan 100 µl reagen B dan dидiamkan selama 192 detik, setelah selesai dilakukan pencucian dengan 1,2 µl. Kemudian sampel dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 535 nm selama 168 detik. Prosedur dapat dilihat pada (**Lampiran 7**). Jika trigliserida <400 mg/dl, maka kadar LDL dapat dihitung menggunakan rumus yang disusun oleh Friedwald (2001) sebagai berikut:

$$\text{LDL} = \text{Kolesterol Total} - (\text{HDL} + 1/5 \text{ Trigliserida})$$

4.4.5 Metode Pembuatan Preparat Histopatologi Aorta

Pembuatan preparat histopatologi aorta abdominalis dengan menggunakan pewarnaan HE, jaringan aorta abdominalis 5 cm dicuci dengan NaCl fisiologis, kemudian difiksasi dengan formalin buffer 4% selama 18-24 jam, kemudian didehidrasi dengan alkohol bertingkat 30%, 50%, 70%, 80%, dan 90%. Jaringan dimasukkan ke dalam larutan alkohol xylol selama 1 jam untuk impregnasi, kemudian dimasukkan dalam larutan xylol murni selama 2 x 2 jam untuk proses embeding ke dalam blok.

Jaringan dipotong dengan blok parafin dengan mikrotom setebal 4 mikron, secara cross section atau melintang. Kemudian irisan diletakkan diatas objek glass yang sebelumnya telah diolesi polyisin. Dilakukan inkubasi guna untuk penguatan parafin yang kemudian akan diwarnai dengan pewarnaan HE, setelah kering diberi balsem Canada. Hasil pewarnaan HE kemudian diobservasi dengan mikroskop cahaya Olympus BX51 untuk mengamati apakah ada perubahan gambaran histopatologi pada dinding aorta. Prosedur dapat dilihat pada (**Lampiran 6**).

4.5 Analisa Data

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah profil kadar LDL, HDL, dan perubahan gambaran histopatologi aorta pada masing-masing kelompok sebelum maupun sesudah perlakuan. Data yang diperoleh dari hasil perlakuan, dilakukan analisa dengan menggunakan *Microsoft Office Excel* dan program SPSS versi 16.0 yang bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh angka dari hasil

fermentasi beras oleh *Monascus purpureas* terhadap kadar LDL dan HDL sebelum dan sesudah diterapi dengan analisis ragam *one way Analysis of Variance* (ANOVA) dan uji lanjutan Beda Nyata Jujur (BNJ) $\alpha = 5\%$. Perubahan histopatologi aorta diamati secara kualitatif. Data kualitatif untuk gambaran histopatologi aorta dianalisis serta disajikan secara deksriptif.



BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Kadar HDL dan LDL pada Hewan Model Hiperkolesterol yang Diterapi dengan Angkak

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain “*Post Test Only Control Group Design*”. *Post Test Examination* dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian terapi angkak terhadap kadar LDL dan HDL pada hewan model hiperkolesterolemia. Hasil pemeriksaan post test rata-rata kadar LDL dan HDL hewan model hiperkolesterolemia yang diterapi dengan angkak menunjukkan perbedaan nyata dari masing-masing kelompok perlakuan. Hasil analisis statistik dengan menggunakan SPSS 16.0 menunjukkan adanya perbedaan yang nyata disetiap kelompok perlakuan (**Lampiran 10**).

Tabel 5.1 Rata-rata Kadar HDL Post Exam (mg/dl)

Kelompok	HDL (Mean ± SD) (mg/dl)	Kadar HDL (%)	
		Peningkatan	Penurunan
K- (kontrol negatif)	82,15 ± 2,12 ^c	-	-
K+ (kontrol positif)	20,35 ± 4,23 ^a		75,22
P1	29,50 ± 5,09 ^a		64,09
P2	56,45 ± 10,45 ^b		31,28
P3	67,60 ± 9,27 ^{bc}		17,65

Keterangan: Kadar HDL normal pada tikus 35-85 mg/dl

Tabel 5.2 Rata-rata Kadar LDL Post Exam (mg/dl)

Kelompok	LDL (Mean ± SD) (mg/dl)	Kadar LDL (%)	
		Peningkatan	Penurunan
K- (kontrol negatif)	13,03 ± 3,78 ^a	-	-
K+ (kontrol positif)	152,10 ± 4,51 ^d	91,42	
P1	108,77 ± 10,59 ^c		28,48
P2	64,62 ± 14,02 ^b		57,51
P3	18,05 ± 6,78 ^a		88,13

Keterangan: Kadar LDL normal pada tikus 2-27 mg/dl. Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$)

Hasil analisa statistik uji *one way* ANOVA menunjukkan bahwa pemberian terapi angkak dapat menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL ($p < 0,05$). **Tabel 5.1** dijelaskan bahwa kadar HDL pada kontrol negatif atau tikus normal yaitu $82,15 \pm 2,12$ mg/dl, dan dapat dikatakan sesuai dengan kadar HDL normal pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* yaitu 35-85 mg/dl (Schaerfer *et al.* dalam Hartoyo *et al.*, 2008). Sedangkan, kadar HDL tikus hiperkolesterolemia yang diterapi angkak dengan dosis 0,5 gram/kgBB $29,50 \pm 5,09$ mg/dl, dosis 1 gram/kgBB $56,45 \pm 10,45$ mg/dl, dan dosis 1,5 gram/kgBB $67,60 \pm 49,27$ mg/dl berbeda nyata dengan kontrol positif atau tikus hiperkolesterolemia $31,72 \pm 4,68$ mg/dl.

Tabel 5.2 menunjukkan bahwa kadar LDL pada kontrol negatif atau tikus normal $13,03 \pm 3,78$ mg/dl masih dalam keadaan normal sesuai dengan batasan kadar LDL 2 -27,2 mg/dl (Herwiyarirasanta 2010). Sedangkan, kadar LDL tikus hiperkolesterolemia yang diterapi angkak dengan dosis 0,5 gram/kgBB $108,77 \pm 10,59$ mg/dl, dosis 1 gram/kgBB $64,62 \pm 14,02$ mg/dl, dan dosis 1,5 gram/kgBB

18,05 ± 6,78 mg/dl berbeda nyata dengan dengan kontrol positif atau tikus hiperkolesterolemia 152,10 ± 4,51 mg/dl.

Adanya peningkatan kadar LDL dan penurunan kadar HDL pada keadaan hiperkolesterolemia, disebabkan adanya penimbunan kolesterol dalam darah akibat induksi hiperkolesterol. Peningkatan kadar LDL dan penurunan kadar HDL dikarenakan adanya kolesterol berlebih, yang menyebabkan penumpukan kolesterol dalam tubuh. Selanjutnya penumpukan kolesterol diikuti dengan aktivitas radikal bebas yang menyebabkan adanya kerusakan oksidatif pada beberapa jaringan (Jung, 2006). Kadar kolesterol yang tinggi dalam darah menyebabkan VLDL akan membentuk LDL, akibatnya LDL dalam darah meningkat. Pada keadaan hiperkolesterolemia, tingginya kadar LDL yang disintesis dalam pembuluh darah menyebabkan HDL tidak dapat mengangkut kelebihan kolesterol yang berada dalam darah kembali ke hati, sehingga mengakibatkan LDL menumpuk. Sargowo (2001) mengatakan bahwa, hiperkolesterol mengakibatkan adanya gangguan metabolisme lipoprotein, yang meliputi peningkatan kadar LDL serta penurunan kadar HDL.

Setelah diterapi dengan angkak selama 14 hari dengan dosis berbeda, terlihat adanya penurunan LDL dan peningkatan kadar HDL. Terapi pemberian angkak dengan dosis berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata. Angkak memiliki lovastatin atau monakolin-K. Senyawa monakolin-K tersebut memiliki fungsi yang sama dengan senyawa aktif dalam obat penurun kolesterol, sesuai dengan teori bahwa kandungan senyawa monakolin-K yang terdapat pada angkak mampu menurunkan kadar LDL dalam darah, yaitu melalui mekanisme penghambatan kerja enzim HMG-KoA reduktase. Sehingga laju pembentukan mevalonat yang

merupakan *precursor* kolesterol dari HMG-KoA akan terhambat dan unit isoprene yang dihasilkan mevalonat akan menurun, yang membuat pembentukan squalen juga akan menurun, dan akhirnya kadar kolesterol intrasel akan menurun (Wong, 2006).

Berkurangnya kolesterol intrasel akan merangsang sintesis reseptor LDL kolesterol, yang juga akan meningkat karena kandungan asam lemak tak jenuh dari ekstrak angkak, maka jumlah reseptor LDL di membran sel akan semakin meningkat. Hal ini akan menyebabkan peningkatan penyerapan kolesterol LDL di membran sel, kemudian melalui reaksi yang dikatalisis oleh LCAT akan diubah menjadi ester kolesterol, dan diserap oleh HDL nasens, partikel HDL ini akan bertambah besar dan disebut dengan HDL sferis, sehingga pada akhirnya kadar HDL darah akan meningkat (Marks, dkk, 2000).

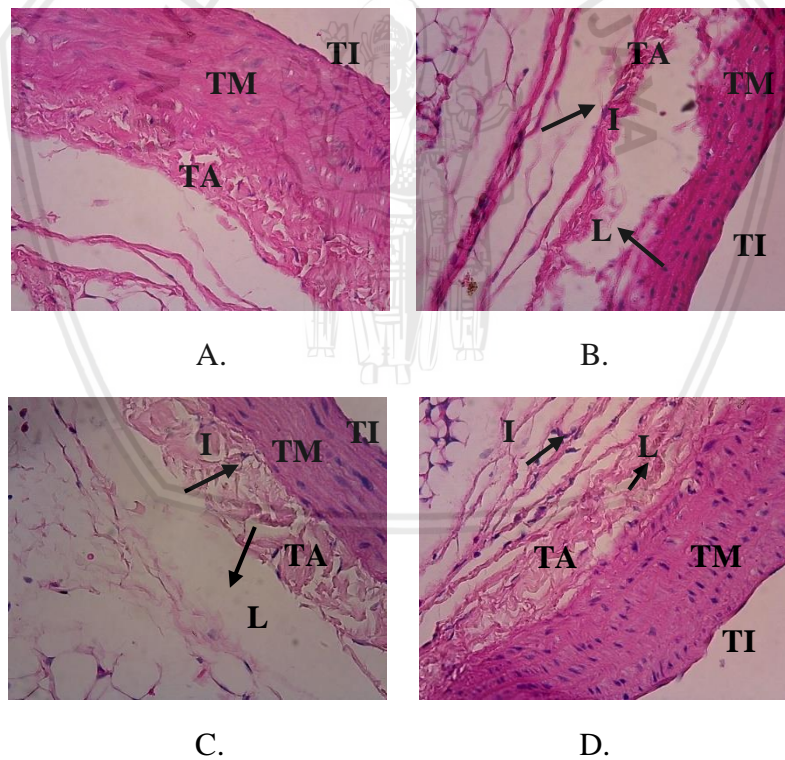
Prinsip kerja lovastatin terhadap HMG-CoA reduktase sama dengan prinsip kerja inhibitor kompetitif enzim. Dimana HMG-CoA reduktase merupakan enzim utama yang menduduki proses pembentukan kolesterol di hati dengan cara berikatan dengan HMG-CoA dan berubah menjadi mevalonat. Ketika lovastatin hadir dalam bentuk asam hidroksi terbuka dengan jumlah konsentrasi yang lebih banyak dimanding substrat (HMG-CoA), maka enzim HMG-CoA reduktase secara otomatis akan berikatan dengan lovastatin sehingga enzim HMG-CoA reduktase yang berikatan dengan substrat (HMG-CoA) lebih sedikit dan frekuensi pembentukan kolesterol tereduksi (Omura, 1992).

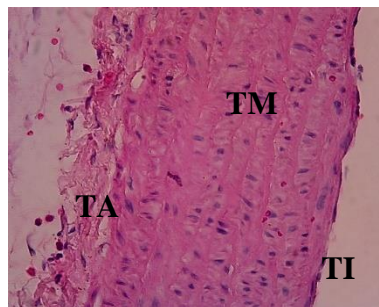
Jadi pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa terapi angkak dapat meningkatkan kadar HDL dan menurunkan LDL pada hewan hiperkolesterolemia. Penelitian ini menunjukkan bahwa terapi angkak dengan dosis 1,5 g/ekor/hari

menunjukkan dosis yang paling efektif untuk meningkatkan kadar HDL dan menurunkan kadar LDL pada terapi kolesterol.

5.2 Pengaruh Terapi Angkak pada Gambaran Histopatologi Aorta Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar model Hiperkolesterolemia

Histopatologi aorta pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar induksi hiperkolesterolemia meliputi infiltrasi sel inflamasi serta perlemakan pada lapisan tunika adventisia. Gambaran histopatologi yang menunjukkan kondisi oarta tampak pada **Gambar 5.1**.





E.

Gambar 5.1 Histopatologi Aorta Tikus pewarnaan HE perbesaran 400x

Keterangan : (A) Kontrol negatif (k-); (B) Kontrol positif (K+); (C) Terapi dosis 0,5 gram/kgBB (P1); (D) Terapi dosis 1 gram/kgBB (P2); (E) Terapi dosis 1,5 gram/kgBB (P3); **TI** : Tunika Intima; **TA** : Tunika Adventisia; **TM** : Tunika Media; **I** : Infiltras Sel Inflamasi; **L** : Perlemakan

Gambaran histopatologi aorta tikus keadaan normal atau kontrol negatif (Gambar 5.1.A) atau kontrol negatif, menunjukkan bentuk normal tidak ditemukannya sel-sel inflamasi dan tidak terdapat adanya kerusakan endotel dengan tidak adanya lesi di intima perlemakan di tunika media. Bentuk dari jaringan tunika adventisia terlihat normal, tidak terlihat adanya perlemakan. Pada keadaan hiperkolesterol atau kontrol positif (Gambar 5.1.B) atau kontrol positif, dapat diamati adanya sel inflamasi pada lapisan tunika adventisia. Infiltrasi sel inflamasi diakibatkan adanya oksidasi dari LDL. Oksidasi LDL menginisiasi terjadinya proses inflamasi akut yang menyebabkan vasodilatasi, sehingga monosit dalam darah masuk melalui celah antar endotel dan masuk pada tunika adentisia, dimana deposisi lemak juga terbentuk. Kerusakan ini diakibatkan adanya induksi hiperkolesterol yang memicu radikal bebas dan mengakibatkan reaksi inflamasi dan menyebabkan perlemakan pada tunika adventisia. (Gambar 5.1.C) atau P1 dapat diamati terdapat adanya perlemakan dan sel inflamasi. (Gambar 5.1.D) atau P2,

diamati masih terdapat sel inflamasi dan perlemakan sedikit berkurang dibandingkan dengan (Gambar 5.1.C). (Gambar 5.1.E) atau P3 dapat dikatakan gambaran histopatologi aorta mengalami perbaikan, sel inflamasi dan perlemakan berkurang, mendekati normal.

Kadar kolesterol yang meningkat akan menyebabkan proses metabolisme terganggu, sehingga kolesterol tersebut menumpuk di hati. Kolesterol yang masuk ke dalam hati tidak dapat diangkut seluruhnya oleh lipoprotein menuju ke aliran darah diseluruh tubuh.. Tingginya kadar LDL yang disintesis dan berada dalam pembuluh darah menyebabkan partikel HDL tidak mampu mengangkut semuanya kembali dalam hati, sehingga terjadi penumpukan partikel LDL dalam pembuluh darah. Dalam kondisi hiperkolesterolemia tubuh berusaha menyeimbangkan kolesterol plasma dengan cara mengubah kolesterol menjadi asam empedu. Saat mensintesis asam empedu dibutuhkan oksigen dan zat lain, semakin banyak asam empedu yang disintesis, maka dapat meningkatkan proses oksidasi, sehingga menghasilkan produk samping berupa radikal bebas. Radikal bebas dalam jumlah berlebih menyebabkan ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan alami dari tubuh, sehingga terjadi stress oksidatif. Jika keadaan ini dibiarkan dalam waktu yang cukup lama, maka akan mengakibatkan luka endotel. LDL dan radikal bebas akan bereaksi dan menyebabkan LDL oksidasi. LDL oksidasi akan menyebabkan reaksi inflamasi pada dinding pembuluh dan akan memicu luka endotel. LDL dan radikal bebas kemudian akan bereaksi dan menyebabkan terjadinya LDL oksidasi. LDL oksidasi akan menyebabkan reaksi inflamasi pada dinding pembuluh darah. LDL yang teroksidasi akan memacu terbentuknya zat yang dapat melekat dan menarik monosit menembus lapisan

endotel dan masuk kedalam intima. LDL yang telah teroksidasi sempurna dapat mengubah makrofag menjadi sel busa, dimana sel busa yang terbentuk akan saling berkaitan dan membentuk gumpalan yang semakin lama semakin besar yang mengakibatkan penyempitan lumen pembuluh darah. Penyempitan diameter pembuluh aorta ditandai dengan terbentuknya plak atau ateroma pada dinding pembuluh darah dan terjadinya proliferasi sel-sel otot polos pembuluh darah (Herpandi, 2005).

Reaksi inflamasi menginisiasi sel imunokompeten yaitu, limfosit, neutrofil, monosit, makrofag. Reaksi inflamasi direspon tubuh dengan cara mengeluarkan sel-sel inflamasi seperti monosit, limfosit, dan neutrofil (Beers, 2003). Sedangkan, neutrofil menghambat adanya infeksi dengan melepaskan protaglandin, yang menyebabkan peningkatan vasodilatasi dan permeabilitas vaskular. Permeabilitas vaskular akibat prostaglandin mengakibatkan deposisi lemak pada sel endotel masuk melalui celah endotel ke dalam tunika adventisia (Nair, 2004). Gambaran histopatologi aorta yang paling jelas dari keadaan hiperkolesterolemia adalah infiltrasi oleh makrofag dan limfosit, pemicu influk dan migrasi leukosit belum diketahui tetapi paparan produk degradasi elastin pada dinding aorta dapat berperan sebagai *primary chemotactic attractant* untuk infiltrasi aorta. Area utama yang menjadi tempat infiltrasi leukosit dan sel inflamasi lainnya adalah tunika adventisia (Beers, 2003).

Reaksi inflamasi yang terjadi pada aterogenesis diperantai oleh makrofag, yang apabila berlanjut akan meningkatkan jumlah makrofag dan limfosit yang bermigrasi. Aktivasi makrofag dan limfosit menimbulkan pelepasan enzim hidrolitik, sitokin, kemokin dan faktor pertumbuhan, yang dapat menginduksi

kerusakan lebih lanjut, dan dapat menimbulkan nekrosis fokal. Reaksi inflamasi ini apabila berlanjut terus-menerus akan menstimulasi migrasi dan proliferasi mioisit yang saling bercampur pada area inflamasi dan membentuk lesi. Apabila inflamasi tidak mereda, maka aorta akan mengalami remodelling, yaitu penebalan dan pelebaran dinding arteri secara bertahap hingga lumen tidak dapat berdilatasi kembali.

Penyakit aterosklerosis diawali dengan kerusakan sel endotelium pada arteri dan adanya radikal bebas berlebih yang bereaksi dengan LDL membentuk LDL teroksidasi. LDL yang teroksidasi ini bermigrasi bersama sel monosit ke dalam lapisan endotel. Monosit akan berubah bentuk menjadi makrofag. Makrofag pada lapisan ini akan memfagosit LDL yang teroksidasi sehingga terbentuk sel busa, akibatnya terjadilah akumulasi sel busa pada dinding pembuluh darah. Perkembangan selanjutnya makrofag menghasilkan faktor pertumbuhan, sehingga menyebabkan proliferasi sel otot polos pembuluh darah, akibatnya terbentuklah plak pada pembuluh darah.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Handayani dan Prijadi (2007), LDL yang teroksidasi akan memacu terbentuknya zat yang dapat melekat dan menarik monosit menembus lapisan endotel dan masuk ke dalam intima. LDL yang telah teroksidasi sempurna dapat mengubah makrofag menjadi sel busa, dimana sel busa yang terbentuk akan saling berkaitan dan membentuk gumpalan yang semakin lama semakin besar yang mengakibatkan penyempitan lumen pembuluh darah. Menurut Suhatri et al. (2014), penyempitan diameter pembuluh aorta ditandai dengan terbentuknya plak atau ateroma pada dinding pembuluh darah dan terjadinya proliferasi sel-sel otot polos pembuluh darah.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Papodi et al. (2014), keadaan hiperkolesterolemia dapat menyebabkan disfungsi endotel. Terganggunya fungsi sel endotel menyebabkan permeabilitas endotel jadi meningkat sehingga LDL dapat masuk ke dalam lapisan tunika intima. LDL kemudian akan teroksidasi dan kontak dengan makrofag, sehingga membentuk sel busa yang dapat mengakibatkan penyempitan diameter aorta. Penyakit aterosklerosis diawali dengan kerusakan sel endotelium pada arteri dan adanya radikal bebas berlebih yang bereaksi dengan LDL membentuk LDL teroksidasi. LDL yang teroksidasi ini bermigrasi bersama sel monosit ke dalam lapisan sub-endotel. Monosit akan berubah bentuk menjadi makrofag. Makrofag pada lapisan ini akan menfagosit LDL teroksidasi sehingga terbentuk sel busa, kemudian mengakibatkan akumulasi sel busa pada dinding pembuluh darah. Perkembangan selanjutnya makrofag menghasilkan faktor pertumbuhan, sehingga menyebabkan proliferasi sel otot polos pembuluh darah, akibatnya terbentuklah plak pada pembuluh darah.

Pemberian terapi angkak yang mengandung lovastatin menunjukkan efek yang baik pada gambaran histopatologi aorta. Dapat dilihat dengan berkurangnya sel inflamasi yang diikuti dengan perlemakan pada tunika adventisia. Keadaan aorta menjadi lebih baik dengan hilangnya perlemakan, serta menurunnya sel inflamasi pada tunika adventisia. Adanya kerja lovastatin dari angkak adalah lovastatin terhidrolisis menghasilkan senyawa yang menghambat secara kompetitif HMG-CoA (*Hydroxy-methyl-glutaryl Coenzyme A*) reduktase, yang mengontrol biosintesis kolesterol (Brown and Goldstein, 1991; King, 2007). Penghambatan kerja enzim ini juga dapat meningkatkan reseptor kolesterol LDL, sehingga terjadi peningkatan perombakan LDL (Siswandoro, 1997).

Mekanisme lovastatin dalam memperbaiki gambaran histopatologi aorta yaitu dengan lovastatin merupakan senyawa dari kandungan angkak yang bersifat antikolesterol bekerja dengan cara menghambat enzim HMG-CoA reduktase, yang merupakan enzim yang bertugas mengontrol jalur biosintesis kolesterol di dalam hati. Prinsip kerja lovastatin terhadap HMG-CoA reduktase sama dengan prinsip kerja inhibitor kompetitif enzim. Dimana HMG-CoA reduktase diibaratkan sebagai enzim utama, lovastatin sebagai inhibitor kompetitifnya dan HMG-CoA sebagai substrat. HMG-CoA reduktase merupakan enzim utama yang menduduki proses pembentukan kolesterol di hati dengan cara berikatan dengan HMG-CoA dan berubah menjadi mevalonat. Ketika lovastatin hadir dalam bentuk asam hidroksi terbuka dengan jumlah konsentrasi yang lebih banyak dibanding substrat (HMG-CoA), maka enzim HMG-CoA reduktase secara otomatis akan berikatan dengan lovastatin sehingga enzim HMG-CoA reduktase yang berikatan dengan substrat (HMG-CoA) lebih sedikit dan frekuensi pembentukan kolesterol dapat tereduksi (Omura, 1992). Tereduksinya pembentukan kolesterol dihati menyebabkan lipoprotein LDL yang dihasilkan menurun, dan jumlah LDL yang menuju aorta juga sedikit hal itu menyebabkan proses pembentukan aterosklerosis yang diakibatkan oleh infiltrasi lemak atau LDL dan radikal bebas semakin sedikit.

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian terapi angkak hasil fermentasi beras dapat menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL, serta dapat memperbaiki kerusakan gambaran histopatologi organ aorta hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Terapi menggunakan angkak pada dosis tertinggi yaitu 1,5 gram/kgBB menunjukkan adanya penurunan kadar LDL dan peningkatan kadar HDL dan perbaikan gambaran histopatologi organ aorta lebih efektif daripada dosis 0,5 gram/kgBB dan 1 gram/kgBB

6.2 Saran

Perlu dilakukannya penelitian lanjutan untuk mengetahui adanya toksisitas yang terjadi dalam pemberian angkak pada kasus hiperkolesterolemia, serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa-senyawa bioaktif yang terdapat pada angkak yang dapat berperan dalam pengobatan hiperkolesterolemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Beers. M.H., A.J Fletcher, T.V Jones. 2003. *Aneurysms and Aortic Dissection*. The Merck Manual of Medical Information, 2nd ed. USA, Merck & Co., Inc. 204-208.
- Braunwald, E., DP Zipes, P., and Libby. 2007. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 8 th edition. WB Saunders Company.
- Bhatnagar, D., Soran, and H., Durrington. 2008. *Hypercholesterolaemia and its management*. *BMJ* ;337:993.
- Brown, M.S. and J.L. Goldstein. 1991. *Drugs Used in The Treatment of Hiperlipoproteinemia. Pharmacological Basis of Therapeutics*. 8th edition. New York: Mc.Graw Hill Book.
- Collins, W. 2009. *Blue Histology – Vascular System School of Anatomy and Human Biology*. The university of Western Australia.
- Dhevianti, A. 2009. *Kadar Kolesterol Total, Low Density Lipoprotein (LDL), dan High Density Lipoprotein (HDL) Tikus Putih Rattus norvegicus Setelah Pemberian Virgin Coconut Oil (VCO) Berbagai Dosis*. University Muhammadiyah Yogyakarta. Yogyakarta.
- Dorfman, S., M., Jauhianen, and H., Lichtenstein. 2004. *Dietary Fatty Acids and Cholesterol Differentially Modulate HDL Cholesterolmetabolism in Golden-Syrian Hamsters*. *Journal of Nutrition*. 135 (3): 492 – 497.
- Endo, A. 1979. *Monacolin K, A New Hypocholesterolemic Agent Produced by A Monascus Species*. *J Antibiot*. Tokyo. 32(8):852-4
- Friedewald, N., T., RI Levy, and RI Frieddecricson. 2001. *Estimation of Concentration of Low Density Lipoprotein Cholesterol Plasma Without Use The Prepagative Ultracentriugugation*. *Clinical Chemistry* 1972: 18;499-592.
- Gani, N., L. I. Momuat., dan M. M. Pitoi. 2013. *Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (Abelmoschus monohot L.)* *Jurnal Mipa Unsrat* 2 (1): 44-49
- Handayani D., Prijadi B. 2007. *Pengaruh Pasta Tomat Terhadap Jumlah Sel Busa Aorta Tikus dengan Diet Aterogenik*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 23 (2): 92-99.
- Hartoyo, A., N Dahrulsyah,. Sripalupi, dan P. Nugroho. 2008. *Pengaruh Fraksi Karbohidrat Kacang Komak (Lablab Purpureus (L) Sweet)*. *Jurnal teknologi dan industri pangan*, 19: 25-31
- Herapandi. 2005. *Aktivitas Hiperkolesterolemik Tepung Rumput Laut pada Tikus Hiperkolesterolemia*. [Tesis]. Program Pascasarjana Institut Pertanian. Bogor. Bogor.
- Harris, J. M. 1992. *Polyethyleneglycol*. Plenum Press. New York
- Herwiyarirasanta., dan BA, Eduardus. 2010. *Effect of Black Soybean Extract Supplementation in Low Density Lipoprotein Level of Rats (Rattus*

- norvegicus*) With High Fat Diet. Science Article Universitas Airlangga. Surabaya.
- Jung, Chang H. 2006. *Anthyperglycemic Activity of Herb Extract on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats*. Biosci, Biotechnol, Biochemistry, (10) 70.
- Kasim E., Astuti S., dan Nurhidayat N. 2005. *Karakterisasi Pigmen dan Kadar Lovastatin Beberapa Isolat Monascus purpureus*. Biodiversitas 6(4): 247-250.
- Kasim E., Kurniawati Y., Nurhidayat N. 2006. *Pemanfaatan Isolat Lokal Monascus purpureus untuk Menurunkan Kolesterol Darah pada Tikus Putih Galur Sprague Dawley*. Biodiversitas. Vol. 7, Hlm: 123-126.
- Kusriningrum. 2008. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mayes, P.A. 2003. *Pengangkutan dan Penyimpanan Lipid*. Dalam: Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W., ed: Biokimia Harper. Edisi 25. Jakarta: EGC. Hal 254-269.
- Marks, D.B., Marks, A.D., Smith, C.M., 2000, *Biokimia Kedokteran Dasar*, EGC, Jakarta, 478-489, 514-523.
- Menys, VC., and P. N. Durrington. 2007. *Human Cholesterol Metabolism and Therapeutic Molecules*. Experimental Physiology. 93 (1): 27-42/
- Murray, K., and Robbert. 2000. *Herper's Biochemysty, (Terj.)* : Hartono, A., Biokimia Harper. Edisi 25. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Murray, R. K., Granner, and Rodwell. 2003. *Biokimia Harper*. Penerjemah: Andry Hartono. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Nafrialdi, S. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi-5*. Gaya Baru. Jakarta.
- Nair, PNR. 2004. *Pathogenesis of Apical Periodontitis and The Causes of Endodontic Failures*. Int and American Assc for Dent Research. 15(6):348-81.
- Nauli T, dan Udin LZ. 2006. *Model Fermentasi Lovastatin*. Akta Kimindo 1(2): 99-104.
- Newman, C. 2007. *Hyperlipidemia*. Seattle. WA.
- Omura, S. 1992. *The Search for Bioactive Compounds from Microorganisms*. Brock/Springer Series in Contemporary Bioscience. XIV, 354p.
- Papodi. N.N., Durry M.F., Kairupan C.F. 2014. *Pengaruh Ekstrak Daun Gedi (Abelmoschus manihot L.) Terhadap Gambaran Histopatologi Aorta Tikus Wistar Dengan Diet Aterogenik*. [Skripsi]. Manado: Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi.
- Sargowo, D. 2001. *Peranan Kadar Trigliserida dan Lipoprotein sebagai faktor Resiko Penyakit Jantung Koroner (Studi Pendahuluan)*. Jurnal Sainika Lembaga Penelitian Universitas Brwajaya-Malang Vol 13 No:2.

- Setyaji, D.Y. 2011. *Pengaruh Pemberian Nata De Coco Terhadap Kadar Kolesterol LDL dan HDL pada Tikus Hiperkolesterolemia*. Universitas Diponegoro.
- Schlesinger, D.P. 2011. Raw Food Diets in Companion Animals: A critical review. *Canadian Veterinary Journal*. 52(1): 50–54.
- Sirois, M. 2005. *Laboratory Animal*. Medicine United of State America: Mosby. Inc. Hlm 87-115.
- Siswandoro, S.B. 1997. *Kimia Medicinal*, Surabaya, Airlangga University Press.
- Stapleton, P.A., Goodwill, A.G., James, M.E., Brock, R.W., Frisbee, J. 2010. *Hypercholesterolemia and microvascular dysfunction: interventional strategies*. *Journal of Inflammation*. 7:54.
- Suhatri, Amir H, Rizal Z, 2014. *Pengaruh Ekstrak Wortel (Daucus carota Linn.) Terhadap Aterosklerosis Pada Burung Puyuh Jantan (Coturnic-coturnix japonica)*. *Jurnal Farmasi Higea*, 6(2): 183-191.
- Tisnadjaja, D. 2006. *Bebas Kolesterol dan Demam Berdarah dengan Angkak*. Penebar Swadaya. Jakarta: 8-22, 30-54, 63-87.13.
- Taylor, R. B., AK David, S. A., Fields, M. Philips, J. E, Scherger, and D. E., Anisman. 2005. *Cardiovascular Handbook*, Springer Science and Business Media. Inc. 151, 152, 157, 163, 164.
- Ward, E., and M. Peterson. 2013. Fifty five Percent Of U.S. *Dogs And Cats Overweight In Latest Veterinary* <http://www.petobesityprevention.com>
- Wresdiyati, T., dan M. Astawa. 2005. *Deteksi Secara Immunohistokimia, Antioksidan Dismutase (SOD) pada Jaringan Tikus Hiperkolesterolemia yang Diberi Pakan Rumput Laut*. [Laporan Penelitian]. Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Bogor.
- Wong, M. 2006. *Red Yeast Rice Extract*. <http://www.camline.ca/professionalreview>. Diakses pada 7 September 2017.
- Wresdiyati, T., M. Astawan., and L.Y. Hastanti. 2006. *Profil Malondialdehida (MDA) pada Jaringan Hati Tikus dengan Kondisi Hiperkolesterolemia*. *J. Hayati* 13: 85-89.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Keterangan Kelaikan Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No:887-KEP-UB

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

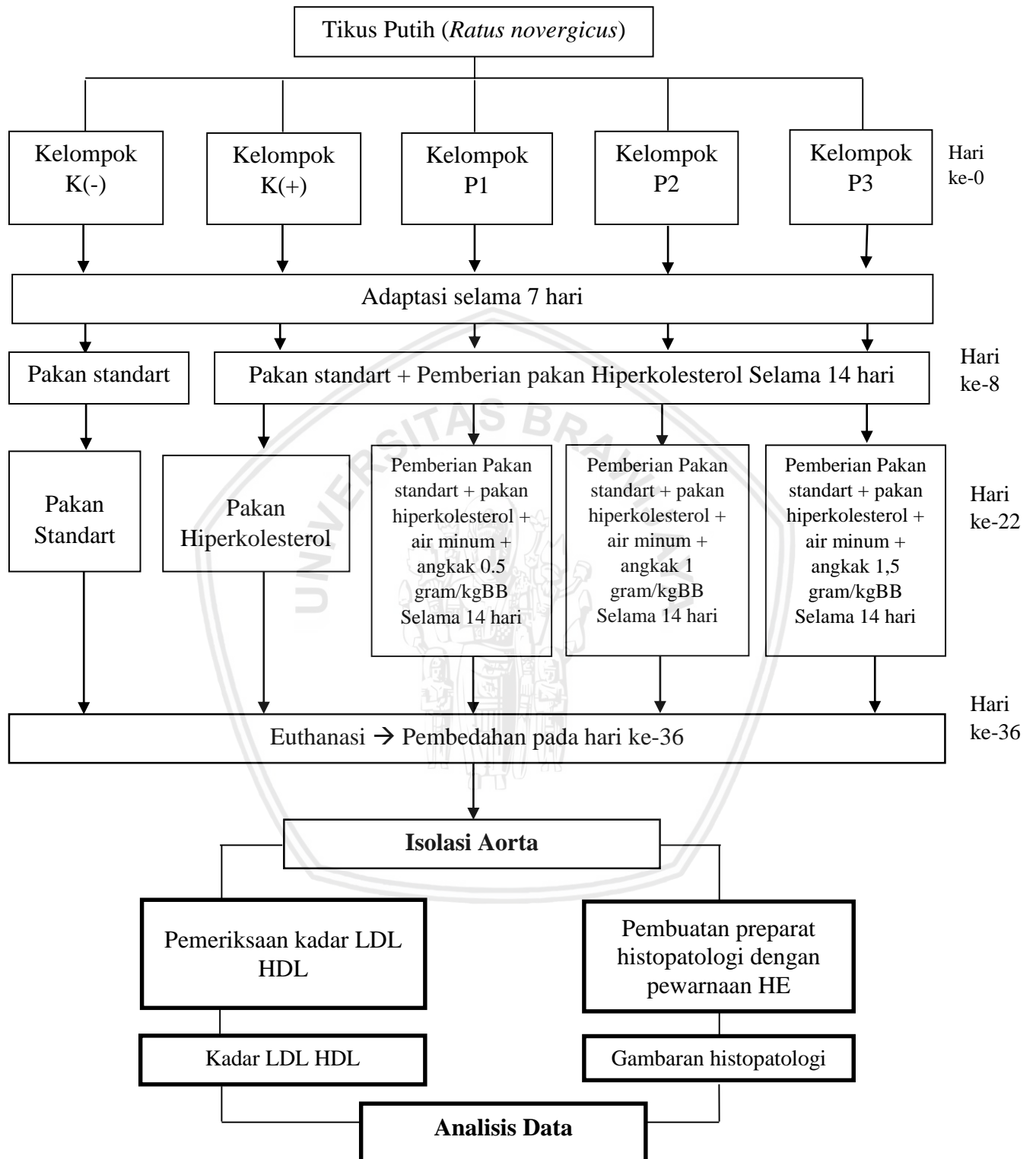
PENELITIAN BERJUDUL	: EFEK TERAPI ANGKAK HASIL FERMENTASI BERAS OLEH <i>Monasus purpureas</i> TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI JANTUNG PADA TIKUS PUTIH (<i>Rattus norvegicus</i>) MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA.
PENELITI	: WAHYU PUTRA NANDA
UNIT/LEMBAGA/TEMPAT	: UNIVERSITAS BRAWIJAYA
DINYATAKAN	: LAIK ETIK

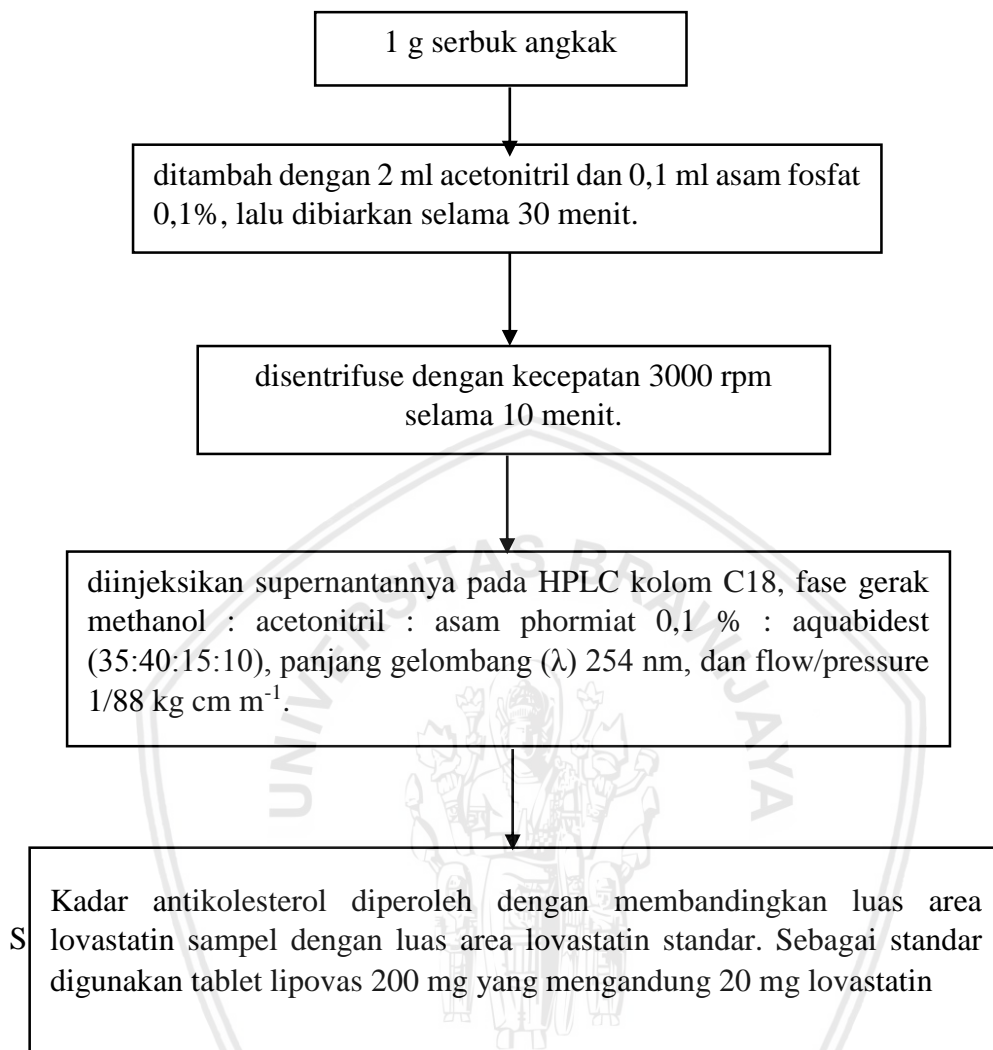
Malang, 13 Februari 2018
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya




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

Lampiran 2. Kerangka Operasional Rancangan Penelitian



Lampiran 3. Prosedur Pengujian Aktivitas Antikolestrol (Lovastatin)

Lampiran 4. Perhitungan Dosis

Dosis angkak di masyarakat adalah 30 gram, ini digunakan untuk manusia dengan berat badan 70 kg. Bila dikonversikan ke tikus berat 200 gram, didapatkan hasil:

$$= 0,018 \times 30 \text{ gram}$$

$$= 0,54 \text{ gram}$$

Pada penelitian ini dosis yang digunakan adalah:

1. Kelompok P1 = 0,5 gram serbuk angkak
2. Kelompok P2 = 1 gram serbuk angkak
3. Kelompok P3 = 1,5 gram serbuk angkak

a. Kelompok P1

Serbuk angkak untuk satu hari perlakuan diperlukan sebanyak

$$= \text{jumlah tikus} \times \text{dosis pemberian}$$

$$= 5 \times 0,5 \text{ gram}$$

$$= 2,5 \text{ gram}$$

Pembuatan larutan yaitu 2,5 gram serbuk angkak dalam gelas ukur, kemudian ditambahkan aquades hingga 15 ml, dan diaduk.

$$\text{Kandungan lovastatin } 0,2 \% \times 0,5 \text{ gram} = 0,001\%$$

b. Kelompok P2

Serbuk angkak untuk satu hari perlakuan sebanyak

$$= \text{jumlah tikus} \times \text{dosis pemberian}$$

$$= 5 \times 1 \text{ gram}$$

$$= 5 \text{ gram}$$

Pembuatan larutan yaitu 5 gram serbuk angkak dalam gelas ukur, kemudian ditambahkan aquades hingga 15 ml, dan diaduk.

$$\text{Kandungan lovastatin } 0,2 \% \times 1 \text{ gram} = 0,002\%$$

c. Kelompok P3

Serbuk angkak untuk satu hari perlakuan diperlukan sebanyak

$$= \text{jumlah tikus} \times \text{dosis pemberian}$$

$$= 5 \times 1,5 \text{ gram}$$

$$= 7,5 \text{ gram}$$

Pembuatan larutan yaitu 7,5 gram serbuk angkak dalam gelas ukur, kemudian ditambahkan aquades hingga 15 ml, dan diaduk.

Kandungan lovastatin $0,2 \% \times 1,5 \text{ gram} = 0,003\%$

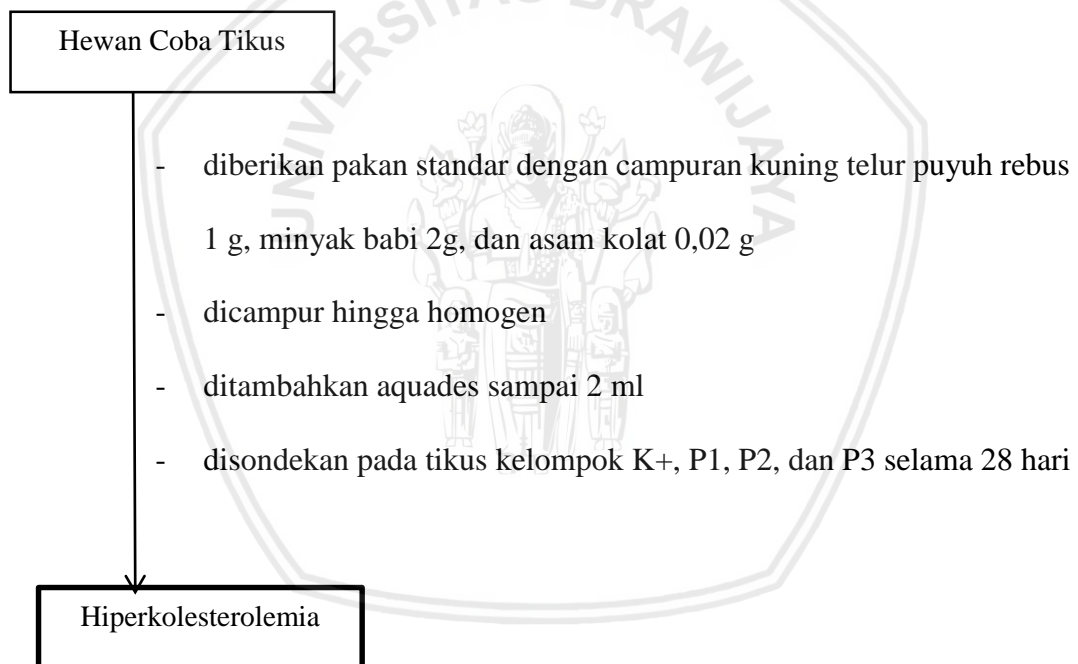


Lampiran 5. Pemberian Pakan Hiperkolesterol

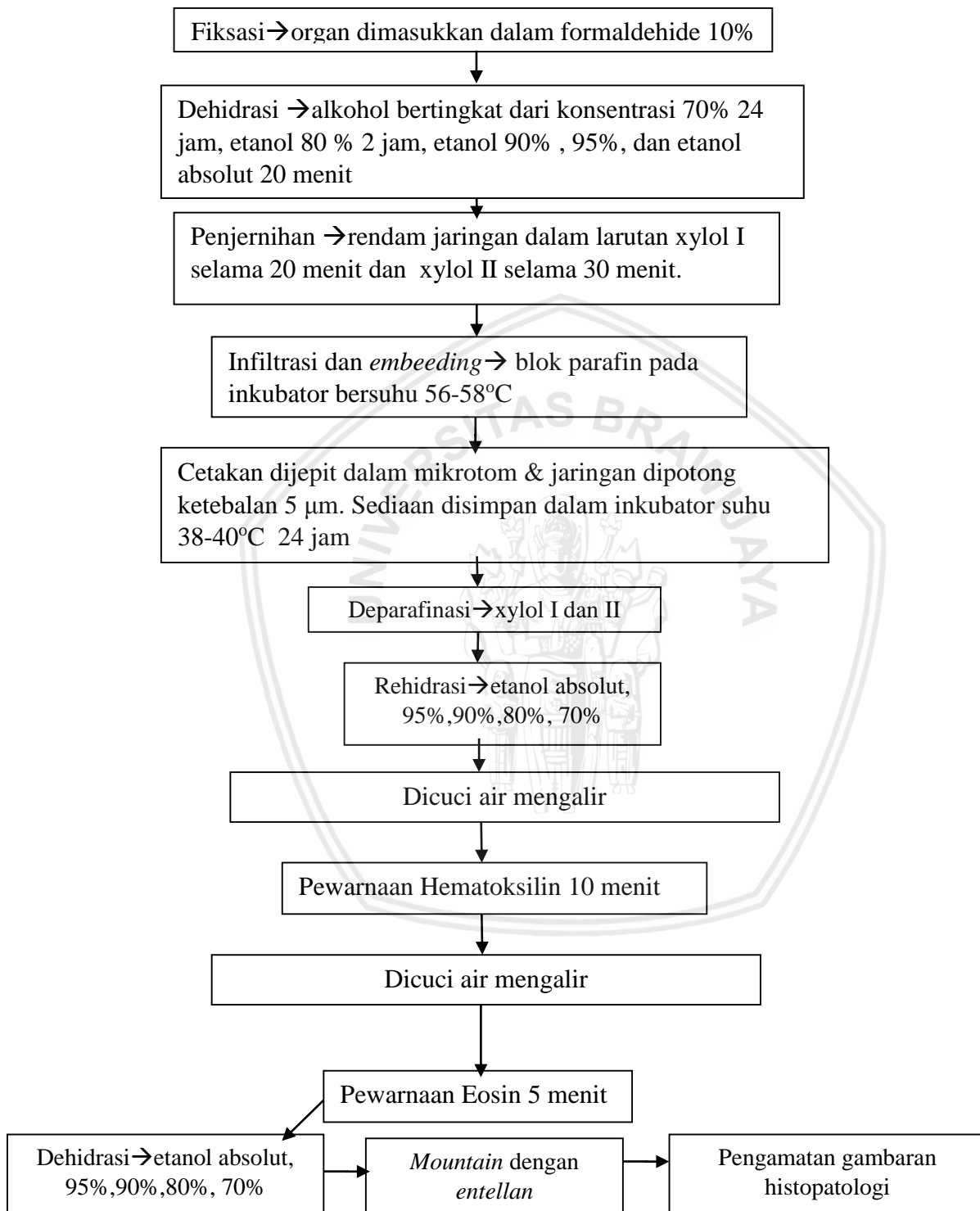
Pemberian pakan hiperkolesterolemia pada kelompok K+, P1, P2, dan P3 dilakukan selama 14 hari. Komposisi pembuatan diet hiperkolesterolemia adalah asam kolat 0,01%, minyak babi 10%, kuning telur rebus 5%. Berikut komposisinya:

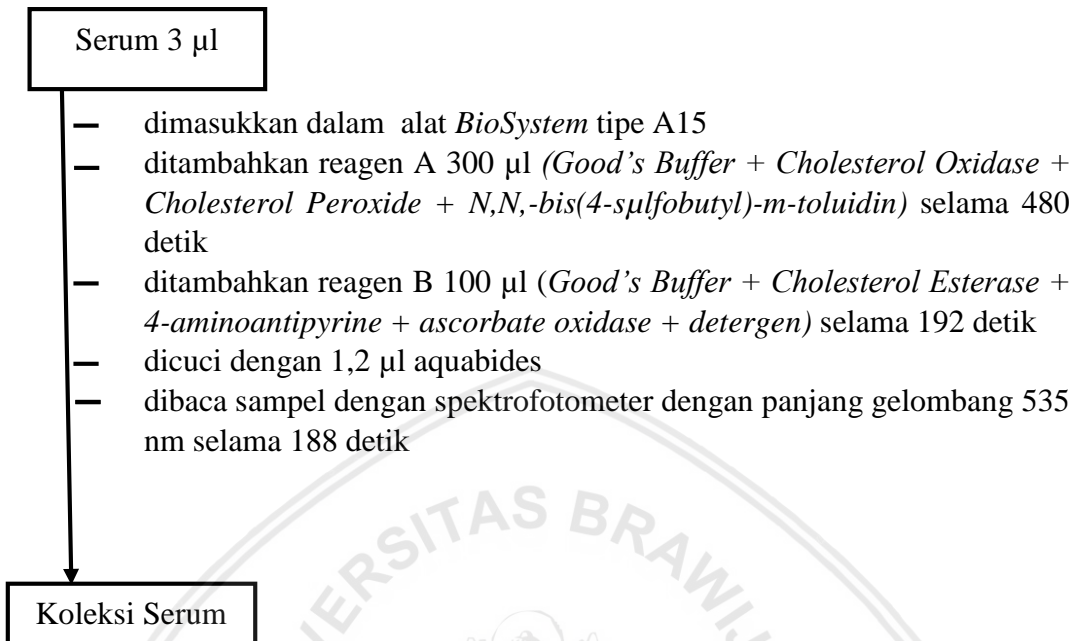
- a. Asam Kolat = $0,01\% \times 20\text{g} = 0,02\text{g}$
- b. Minyak Babi = $10\% \times 20\text{g} = 2\text{g}$
- c. Kuning telur puyuh rebus = $5\% \times 20\text{g} = 1\text{g}$
- d. Aquades

Pembuatan pakan diet hiperkolesterol dilakukan setiap hari agar tidak terjamur dan terjaga kualitasnya.



Lampiran 6. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE)



Lampiran 7. Prosedur Pemeriksaan Kadar LDL HDL

Lampiran 8. Hasil Pemeriksaan HDL

Kelompok	Kadar HDL	
	Pre	Post
Kelompok K-	48,40	85.00
Kelompok K-	45,20	82.10
Kelompok K-	30,90	81.60
Kelompok K-	41.00	79.90
Kelompok P1	45.00	36.60
Kelompok P1	36.70	28.10
Kelompok P1	40.40	24.50
Kelompok P1	33.00	28.80
Kelompok P2	50.70	54.20
Kelompok P2	41.30	68.30
Kelompok P2	34.00	59.90
Kelompok P2	51.00	43.40
Kelompok P3	46.00	72.50
Kelompok P3	37.40	76.10
Kelompok P3	39.00	54.90
Kelompok P3	38.90	66.90
Kelompok K+	32.80	25.90
Kelompok K+	43.00	20.00
Kelompok K+	38.60	19.80
Kelompok K+	42.50	15.60

Lampiran 9. Hasil Pemeriksaan LDL

Kelompok	Kadar LDL	
	Pre	Post
Kelompok K-	9.30	17.25
Kelompok K-	13.70	10.10
Kelompok K-	10.11	9.60
Kelompok K-	8.60	15.20
Kelompok P1	7.80	100.50
Kelompok P1	10.30	120.00
Kelompok P1	33.00	115.60
Kelompok P1	8.10	99.00
Kelompok P2	9.00	65.60
Kelompok P2	12.60	77.50
Kelompok P2	14.00	44.90
Kelompok P2	8.90	70.50
Kelompok P3	12.60	15.50
Kelompok P3	9.00	18.80
Kelompok P3	12.50	27.00
Kelompok P3	11.80	10.90
Kelompok K+	13.00	150.00
Kelompok K+	10.00	146.90
Kelompok K+	14.30	154.50
Kelompok K+	9.30	157.00

Lampiran 10. Hasil Uji Statistika Kadar LDL HDL dengan SPSS versi 16

LDL

1. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	71,3175
	Std. Deviation	55,25058
Most Extreme Differences	Absolute	,189
	Positive	,189
	Negative	-,132
Test Statistic		,189
Asymp. Sig. (2-tailed)		,060 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

2. Uji Deskriptif

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min.	Max.
					Lower Bound	Upper Bound		
K-	4	13,0375	3,78007	1,89004	7,0226	19,0524	9,60	17,25
P1	4	108,7750	10,59257	5,29628	91,9199	125,6301	99,00	120,00
P2	4	64,6250	14,02744	7,01372	42,3042	86,9458	44,90	77,50
P3	4	18,0500	6,78945	3,39473	7,2465	28,8535	10,90	27,00
K+	4	152,1000	4,51737	2,25869	144,9119	159,2881	146,90	157,00
Total	20	71,3175	55,25058	12,35440	45,4594	97,1756	9,60	157,00

3. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,182	4	15	,121

4. Uji Anova

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	56830,604	4	14207,651	182,260	,000
Within Groups	1169,292	15	77,953		
Total	57999,896	19			

5. Uji Lanjutan Beda Nyata Jujur Atau Uji *Tukey*

Multiple Comparisons

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	P1	-95,73750*	6,24311	,000	-115,0157	-76,4593
	P2	-51,58750*	6,24311	,000	-70,8657	-32,3093
	P3	-5,01250	6,24311	,926	-24,2907	14,2657
	K+	-				
		139,06250*	6,24311	,000	-158,3407	-119,7843
P1	K-	95,73750*	6,24311	,000	76,4593	115,0157
	P2	44,15000*	6,24311	,000	24,8718	63,4282
	P3	90,72500*	6,24311	,000	71,4468	110,0032
	K+	-43,32500*	6,24311	,000	-62,6032	-24,0468
P2	K-	51,58750*	6,24311	,000	32,3093	70,8657
	P1	-44,15000*	6,24311	,000	-63,4282	-24,8718
	P3	46,57500*	6,24311	,000	27,2968	65,8532
	K+	-87,47500*	6,24311	,000	-106,7532	-68,1968
P3	K-	5,01250	6,24311	,926	-14,2657	24,2907
	P1	-90,72500*	6,24311	,000	-110,0032	-71,4468
	P2	-46,57500*	6,24311	,000	-65,8532	-27,2968
	K+	-				
		134,05000*	6,24311	,000	-153,3282	-114,7718
K+	K-	139,06250*	6,24311	,000	119,7843	158,3407
	P1	43,32500*	6,24311	,000	24,0468	62,6032
	P2	87,47500*	6,24311	,000	68,1968	106,7532
	P3	134,05000*	6,24311	,000	114,7718	153,3282

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

Kadar

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
K-	4	13,0375			
P3	4	18,0500			
P2	4		64,6250		
P1	4			108,7750	
K+	4				152,1000
Sig.		,926	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

HDL

1. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	51,2050
	Std. Deviation	24,54340
Most Extreme Differences	Absolute	,169
	Positive	,169
	Negative	-,139
Test Statistic		,169
Asymp. Sig. (2-tailed)		,135 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

2. Uji Deskriptif

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum
					Lower Bound	Upper Bound	
K-	4	82,1500	2,12053	1,06027	78,7758	85,5242	79,90
P1	4	29,5000	5,09444	2,54722	21,3936	37,6064	24,50
P2	4	56,4500	10,45132	5,22566	39,8196	73,0804	43,40
P3	4	67,6000	9,27434	4,63717	52,8425	82,3575	54,90
K+	4	20,3250	4,23428	2,11714	13,5873	27,0627	15,60
Total	20	51,2050	24,54340	5,48807	39,7183	62,6917	15,60

3. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,847	4	15	,172

4. Uji Anova

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10714,322	4	2678,581	54,974	,000
Within Groups	730,867	15	48,724		
Total	11445,190	19			

5. Uji Lanjutan Beda Nyata Jujur Atau Uji *Tukey*

Multiple Comparisons

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	P1	52,65000*	4,93581	,000	37,4086	67,8914
	P2	25,70000*	4,93581	,001	10,4586	40,9414
	P3	14,55000	4,93581	,065	-,6914	29,7914
	K+	61,82500*	4,93581	,000	46,5836	77,0664
P1	K-	-52,65000*	4,93581	,000	-67,8914	-37,4086
	P2	-26,95000*	4,93581	,001	-42,1914	-11,7086
	P3	-38,10000*	4,93581	,000	-53,3414	-22,8586
	K+	9,17500	4,93581	,379	-6,0664	24,4164
P2	K-	-25,70000*	4,93581	,001	-40,9414	-10,4586
	P1	26,95000*	4,93581	,001	11,7086	42,1914
	P3	-11,15000	4,93581	,212	-26,3914	4,0914
	K+	36,12500*	4,93581	,000	20,8836	51,3664
P3	K-	-14,55000	4,93581	,065	-29,7914	,6914
	P1	38,10000*	4,93581	,000	22,8586	53,3414
	P2	11,15000	4,93581	,212	-4,0914	26,3914
	K+	47,27500*	4,93581	,000	32,0336	62,5164

K+	K-	-61,82500*	4,93581	,000	-77,0664	-46,5836
	P1	-9,17500	4,93581	,379	-24,4164	6,0664
	P2	-36,12500*	4,93581	,000	-51,3664	-20,8836
	P3	-47,27500*	4,93581	,000	-62,5164	-32,0336

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

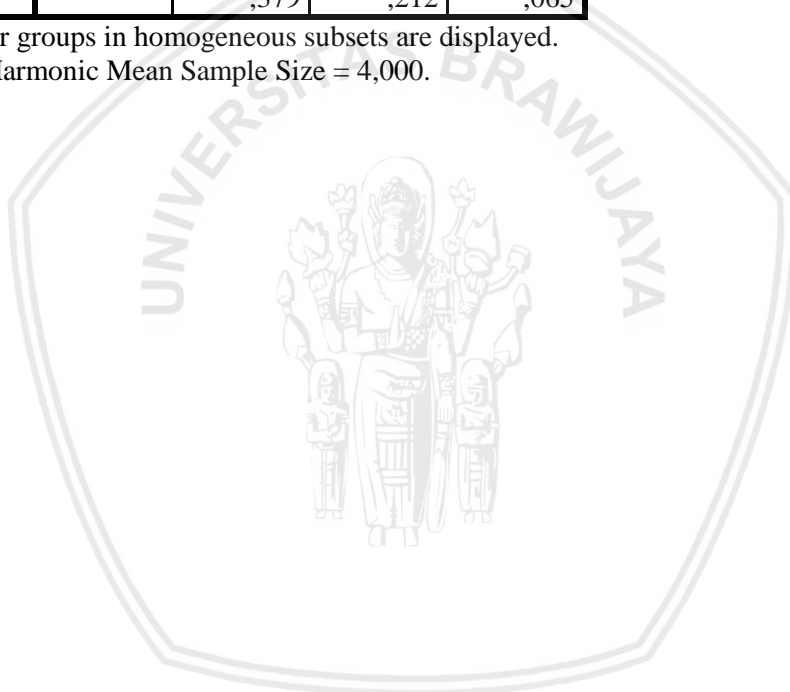
Kadar

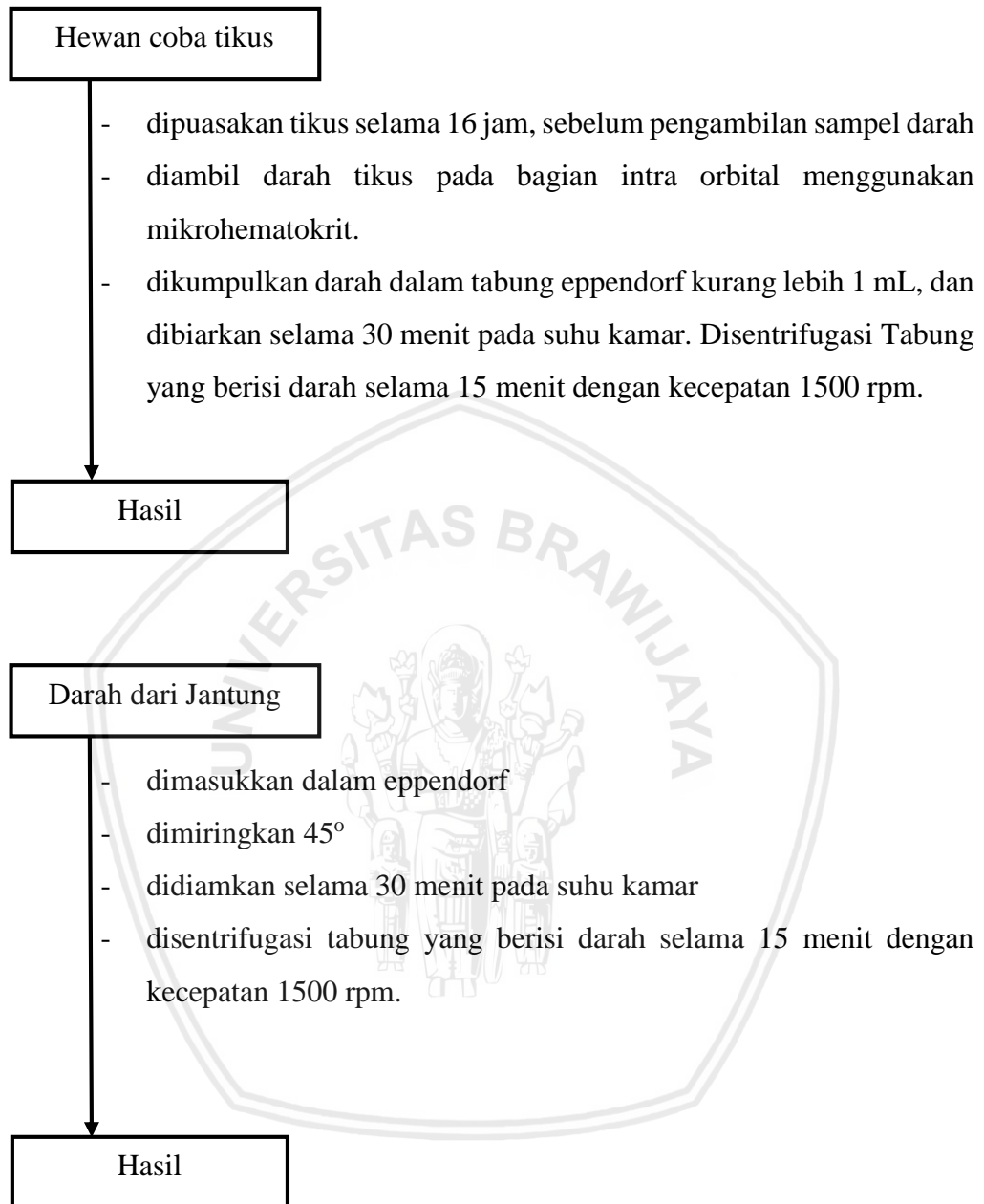
Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K+	4	20,3250		
P1	4	29,5000		
P2	4		56,4500	
P3	4		67,6000	67,6000
K-	4			82,1500
Sig.		,379	,212	,065

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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



Lampiran 11. Prosedur Pengambilan Sampel Darah dan Isolasi Serum

Lampiran 12. Pengukuran Kadar Lovastatin

Lampiran 12.1 Hasil Uji Standar Lovastatin

No	Nama STANDARD	Kons. (ng/mL)	(Area)	KONS. THT (ng/mL)	% Ratio
1	L_Std_A_1	20	215.00	17.43	87.14
2	L_Std_A_2	20	231.00	18.00	90.00
3	L_Std_B_2	40	822.00	39.11	97.77
4	L_Std_B_3	40	914.00	42.39	105.98
5	L_Std_0,2_2	200	5,955.00	222.43	111.21
6	L_Std_0,2_3	200	5,506.00	206.39	103.20
7	L_Std_0,4_1	400	10,901.00	399.07	99.77
8	L_Std_0,4_2	400	10,946.00	400.68	100.17

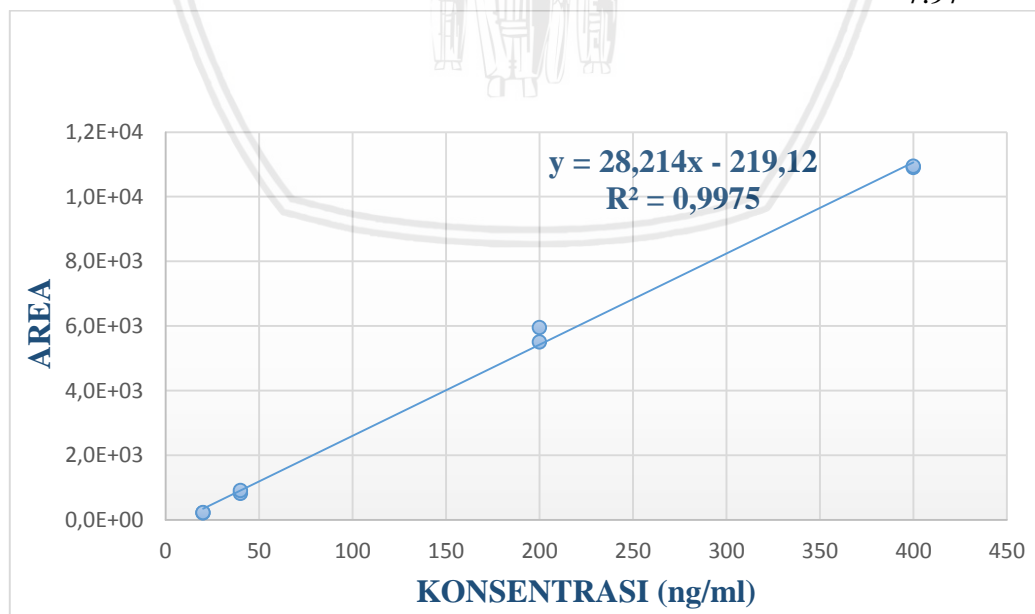
Keterangan

Rata-Rata 99.41

STD_DEV 7.92

THT = Terhitung

%RSD 7.97



Lampiran 12.2 Tabel kadar Lovastatin Sampel

No	Nama Sampel	Berat Sampel (g)	Area	KONS. Terukur (ng/ml)	F. P (ml)	Berat (ng) Epicatechin	KONS. Terhitung (ng/g)
1	L-Spl_AK2_1	0.5	305.00	20.64	50.00	1,032.14	2,064.29
2	L-Spl_AK2_2	0.5	242.00	18.39	50.00	919.64	1,839.29
3	L-Spl_AK2_3	0.5	342.00	21.96	50.00	1,098.21	2,196.43

Pengujian sampel dilakukan sebanyak 3 kali kemudian hasil sampel tersebut rata-rata dan hasilnya sebesar 2033,35 ng/g. nilai tersebut kemudian diubah kedalam bentuk mg/g, menjadi $2,033 \times 10^{-3}$ mg/g, kemudian dijadikan % w/w.

$$= 2,033 \times 10^{-3} \text{ mg} / 1 \text{ gram}$$

$$= 2,033 \times 10^{-1} / 100 \text{ gram}$$

$$= 0,2033 \text{ mg} / 100 \text{ gram}$$

$$= 0,2\%$$

Sehingga kandungan lovastatin pada dosis angka 0,5 g sebesar $1,012 \times 10^{-3}$ mg/g, dosis 1 g sebesar $2,033 \times 10^{-3}$ mg/g, dan pada dosis 1,5 sebesar $3,05 \times 10^{-3}$ mg/g.

$$= 0,2\% \times 0,5 \text{ gram} = 0,001\%$$

$$= 0,2\% \times 1 \text{ gram} = 0,002\%$$

$$= 0,2\% \times 1,5 \text{ gram} = 0,003\%$$

Lampiran 13. Hasil Uji Kolesterol Total

1. Kadar kolesterol total sebelum induksi diet tinggi kolesterol dan sebelum terapi Angkak hari ke – 8

Perlakuan	Kadar Kolesterol Total Hari ke 8 (mg/dl)
K Negatif 1	41
K Negatif 2	39
K Negatif 3	36
K Negatif 4	37
Rata-rata	38,2 ± 2,21

K Positif 1	36
K Positif 2	37
K Positif 3	42
K Positif 4	39
Rata-rata	38,5 ± 2,64

K P 1.1	36
K P 1.2	41
K P 1.3	37
K P 1.4	35
Rata-rata	37,2 ± 2,62

K P 2.1	36
K P 2.2	40
K P 2.3	34
K P 2.4	37
Rata-rata	36,7 ± 2,50

K P 3.1	35
K P 3.2	41
K P 3.3	37
K P 3.4	35
Rata-rata	37,0 ± 2,82

2. Kadar kolesterol total setelah induksi diet tinggi kolesterol hari ke 22

2.1 Kelompok perlakuan kontrol negatif tanpa pemberian diet tinggi kolesterol

Perlakuan	Kadar Kolesterol Total Hari ke 22 (mg/dl)
K Negatif 1	41
K Negatif 2	39
K Negatif 3	34
K Negatif 4	37
Rata-rata	37,7 ± 2,98

Berdasarkan tabel diatas kelompok kontrol negatif didapat hasil 37,7 ± 2,98 dan kontrol negatif hanya diberi pakan standart tanpa di induksi pakan diet tinggi kolesterol.

2.2 Kelompok perlakuan yang diberi pakan diet tinggi kolesterol

Perlakuan	Kadar Kolesterol Total Hari ke 22 (mg/dl)
K Positif 1	127
K Positif 2	113
K Positif 3	108
K Positif 4	118
Rata-rata	116,5 ± 8,10

K P 1.1	121
K P 1.2	124
K P 1.3	111
K P 1.4	117
Rata-rata	118,0 ± 5,29

K P 2.1	123
K P 2.2	119
K P 2.3	103
K P 2.4	112
Rata-rata	114,2 ± 8,77

K P 3.1	116
K P 3.2	104
K P 3.3	125
K P 3.4	101
Rata-rata	111,2 ± 11,32

Pada pemberian pakan diet tinggi kolesterol hanya di induksi pada kelompok positif, kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3.

3. Kadar kolesterol total setelah terapi angkak hari ke 36

3.1 Kelompok kontrol negatif tanpa pemberian diet tinggi kolesterol

Perlakuan	Kadar Kolesterol Total Hari ke 36 (mg/dl)
K Negatif 1	39
K Negatif 2	36
K Negatif 3	40
K Negatif 4	35
Rata-rata	37,5 ± 9,29

Berdasarkan tabel diatas kelompok kontrol negatif didapat hasil $37,7 \pm 9,29$ dan kontrol negatif hanya diberi pakan standart tanpa di induksi pakan diet tinggi kolesterol.

3.2 Kelompok kontrol positif yang diberi pakan diet tinggi kolesterol

Perlakuan	Kadar Kolesterol Total Hari ke 36 (mg/dl)
K Positif 1	127
K Positif 2	113
K Positif 3	108
K Positif 4	118
Rata-rata	120,7 ± 8,65

Pada pemberian pakan diet tinggi kolesterol hanya di induksi pada kelompok positif, kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3.

3.3 Kelompok perlakuan yang diberi terapi angkak

3.3.1 kelompok perlakuan 1 diberi terapi angkak dengan dosis 0,5 gram/kgBB

Perlakuan	Kadar Kolesterol Total Hari ke 36 (mg/dl)
K P 1.1	112
K P 1.2	108
K P 1.3	97
K P 1.4	104
Rata-rata	105,2 ± 6,39

3.3.2 Kelompok perlakuan 2 diberi terapi angkak dengan dosis 1 gram/kgBB

Perlakuan	Kadar Kolesterol Total Hari ke36 (mg/dl)
K P 2.1	97
K P 2.2	87
K P 2.3	74
K P 2.4	71
Rata-rata	82,2 ±12,03

3.3.3 Kelompok perlakuan 3 diberi terapi angkak dengan dosis 1,5 gram/kgBB

Perlakuan	Kadar Kolesterol Total Hari ke36 (mg/dl)
K P 3.1	62
K P 3.2	58
K P 3.3	66
K P 3.4	53
Rata-rata	59,7±5,56

Pada pemberian terapi angkak hanya dilakukan pada kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3.