

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa*) TERHADAD KADAR HDL DAN JUMLAH FOAM CELL SEBAGAI DIET PREVENTIF ATEROSKLEROSIS PADA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*)

TUGAS AKHIR

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



**Oleh :
Andriana Natanael
NIM. 0910710003**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2012**

HALAMAN PERSETUJUAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa*) TERHADAD KADAR HDL DAN JUMLAH *FOAM CELL* SEBAGAI DIET PREVENTIF ATEROSKLEROSIS PADA TIKUS *WISTAR (*Rattus novergicus*)*

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**

Oleh :

ANDRIANA NATANAEL
0910710003

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Nanik Setijowati, M. Kes
NIP. 19650412 199601 2 001

Dr. Sri hidayati S., MS.
NIP. 19450729 198002 2 001



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa*)
TERHADAD KADAR HDL DAN JUMLAH *FOAM CELL* SEBAGAI DIET
PREVENTIF ATEROSKLEROSIS PADA TIKUS WISTAR (*Rattus novvergicus*)

Oleh :

Andriana Natanael

NIM: 0910710003

Telah diuji pada

Hari : Selasa

Tanggal : 13 November 2012

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Dr. dr. Tinny Endang H., SpPK (K)
NIP. 19521225 198002 2 001

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

Dr. Nanik Setijowati, M. Kes
NIP. 19650412 199601 2 001

Dr. Sri hidayati S., MS.
NIP. 19450729 198002 2 001

Mengetahui :
Ketua Jurusan Kedokteran

Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu S., DTM&H., MSc., Sp.Par(K)
NIP. 19520410 198002 1 001



KATA PENGANTAR

Dengan ini penulis telah menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya (*Annona Squamosa*) terhadap Kadar HDL dan Jumlah *Foam Cell* sebagai Diet Preventif Aterosklerosis dada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)” untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar sarjana kedokteran. Maka dari itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus atas segala anugerah dan kasih-Nya. Karena hanya dengan mengandalkan Dia saja, penulisan tugas akhir ini selesai.
2. Dr. dr. Karyono M, SpPA, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. dr. Nanik Setijowati, M. Kes, selaku pembimbing pertama atas kesabaran, dukungan, serta masukan-masukan yang sangat membangun.
4. dr. Sri hidayati S., MS., selaku dosen pembimbing kedua atas segala saran dan ketelitiannya yang luar biasa.
5. Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, SpPK, selaku dosen penguji atas saran dan kritik sehingga dapat menyempurnakan tugas akhir ini.
6. Segenap Anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
7. Papa dan Mama, Andi Tridarmanto dan Tri Panglipur, serta adik, Rachmadwipa Novandri, dan seluruh keluarga besar yang selalu mendukung penulis serta selalu mendoakan penulis.
8. Budhe dan Tante, Yanny dan Ayu Kartika atas bantuannya dalam melengkapi peralatan yang dibutuhkan untuk menyelesaikan tugas akhir ini.

9. Segenap Staf Laboratorium Fisiologi, Patologi Anatomi, dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk segala bantuan yang sangat berharga dalam proses pembuatan tugas akhir ini.
10. Teman-teman Pendidikan Dokter 2009, atas persahabatan kita selama ini.
11. Anggota keluarga PMK FKUB, terutama teman-teman pengurus sekaligus rekan diskusi yang saya percaya akan selalu mendukung, Alicia Yolandra, Radhitio Adi Nugroho dan Agradhira Narendraputra.
12. Rekan sepenelitian PKM-P Dikti *Annona squamosa*, Eileen Erica, Raisa Eunike, Annisa Alkarimah dan Dwicahya untuk kerjasama yang telah terjalin selama masa penelitian dan proses penyelesaian tugas akhir ini.
13. Sahabat yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu, atas setiap inspirasi dan semangat yang ditularkan.
14. Kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian tugas akhir ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Semoga penulisan tugas akhir ini dapat berguna bagi yang membutuhkan.

Malang, 12 november 2012

Penulis

ABSTRAK

Natanael, Andriana. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya (*Annona Squamosa*) Terhadap Kadar Hdl Dan Jumlah *Foam Cell* Sebagai Diet Preventif Aterosklerosis Pada Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*). Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Nanik Setijowati, M. Kes (2) dr. Sri hidayati S., MS.

Penurunan kadar HDL adalah salah satu *major risk factor* dari terjadinya aterosklerosis. HDL (*High Density Lipoprotein*) adalah jenis lipoprotein berdensitas tinggi yang berfungsi untuk mengangkut lipid dalam bentuk trigliserida dan kolesterol ester dari jaringan tubuh ke hati. Peningkatan jumlah *foam cell* adalah salah satu penanda terjadinya aterosklerosis. *Foam cell* adalah sel busa yang terbentuk dari gabungan makrofag yang merupakan derivat dari monosit dan LDL (*Low Density Lipoprotein*) termodifikasi serta terdeposit pada bagian intima pembuluh darah. Biji Srikaya mengandung ekstrak squamosin yang dapat menghambat inflamasi sehingga diharapkan dapat meningkatkan kadar HDL dan mengurangi jumlah *foam cell*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak biji Srikaya dapat meningkatkan kadar HDL dan mengurangi jumlah *foam cell* pada tikus wistar. Pada penelitian ini digunakan rancangan *true experimental* pada 5 kelompok tikus. Masing – masing kelompok terdiri dari 5 tikus. Selama 50 hari kelompok pertama (kontrol negatif) diberi diet normal saja, pada kelompok kedua (kontrol positif) tikus diberikan diet aterogenik, sedangkan kelompok III-V diberi diet aterogenik dan ekstrak biji Srikaya dengan dosis yang berbeda (0,5; 1; 1,5 mg/gBB) selama 50 hari. Penghitungan kadar plasma kolesterol HDL menggunakan metode CHOD – PAP pada preparat aorta yang telah dicat dengan Hematoksin Eosin. Analisis data dikerjakan dengan metode *one way Anova* dilanjutkan Post Hoc Tukey, menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji Srikaya meningkatkan kadar kolesterol plasma HDL dan mengurangi jumlah *foam cell* secara signifikan ($p < 0,05$). Kesimpulan penelitian ini adalah bahwa ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*) mampu meningkatkan kadar kolesterol plasma HDL (*High Density Lipoprotein*) pada tikus wistar dengan dosis optimal 1,5 mg/gBB dan mampu mengurangi jumlah *foam cell* dengan dosis optimal 0,5 mg/gBB.

Kata Kunci: ekstrak biji Srikaya, HDL, *foam cell*, aterosklerosis

ABSTRACT

Natanael, Andriana. 2012. The Effect of *Annona squamosa* seed extract to the HDL level and the amount of foam cell as the Atherosclerosis Preventive Diet in the Wistar Rat (*Rattus norvegicus*). Final Assignment, Faculty of Medicine Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Nanik Setijowati, M. Kes (2) dr. Sri hidayati S., MS.

Decrease of HDL plasma level is one of the major risk factor of atherosclerosis. HDL (High Density Lipoprotein) is a kind of lipoprotein with high density functioning to transport the lipid in the form of triglyceride and cholesterol ester from body tissues to the liver. Increase the number of foam cell is one of the marker in atherosclerosis condition. Foam cell is the cell which is formed from the unification of macrophage as the derivate of monosit and modified LDL and deposited at the inner side of vascular. *Annona squamosa* seed coantains squamosin extract which is expected to inhibit inflammation so that it will increase the HDL level and decrease the amount of foam cell. The purpose of this research was to prove that annona squamosa seed extract increase the HDL level and decrease the amount of foam cell in Wistar Rat. In this research used true experimental design in 5 groups of rats. Each group consisted of 5 rats. For 50 days, the first group (negative control) were given normal diet alone. In the second group (positive control) rats were given with atherogenic diet. While the group III until V were given atherogenic diet and annona squamosa seed extract with different doses (0,5; 1; 1,5 mg/gBW) for 50 days. Calculation of HDL level in this research was done by the method of CHOD - PAP to the aorta specimen painted with Hematoxilen Eosin. Data Analysis was done by the method of one-way ANOVA followed by Tukey Post Hoc, showed that adminintration of annona squamosa seed extract increase the HDL level and decrease the amount of foam cell substantially ($p < 0,05$). The conclusion of this research is annona squamosa seed extract is able to increase the HDL level in Wistar rat with an optimal dose extract 1,5 mg/gBW and able to decrease the amount of foam cell with an optimal dose of extract 0,5 mg/gBW.

Key Words: annona squamosa seed extract, HDL, foam cell, atherosclerosis.

DAFTAR ISI

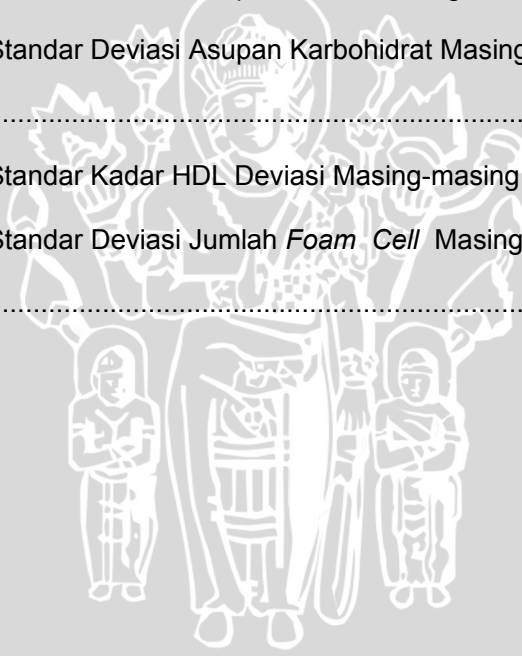
Halaman Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Halaman Pengesahan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran	xiii
Daftar Singkatan	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Srikaya (<i>Annona squamosa</i>)	5
2.1.1 Karakteristik dan taksonomi Srikaya (<i>Annona squamosa</i>)	5
2.1.2 Kandungan Biji Buah Srikaya (<i>Annona squamosa</i>)	5
2.2 Squamosin	6
2.3 Aterosklerosis	7
2.3.1 Definisi Aterosklerosis	7

2.3.2	Penyebab Aterosklerosis	7
2.3.3	Patogenesis Aterosklerosis.....	7
2.3.4	Keterlibatan Radikal Bebas pada Proses Aterosklerosis.....	9
2.3.5	Keterlibatan Lipid pada Patogenesis Aterosklerosis	11
2.3.6	Keterlibatan Disfungsi Endotel pada Patogenesis Aterosklerosis	13
2.3.7	Keterlibatan Mediator Inflamasi pada Patogenesis Aterosklerosis	14
2.3.8	Apoptosis pada Aterosklerosis.....	17
2.3.9	Gejala Aterosklerosis.....	19
2.3.10	Terapi Aterosklerosis.....	20
2.3.11	Pencegahan Aterosklerosis.....	21
2.3.12	Komplikasi Aterosklerosis.....	22
2.4	Metabolisme Lipid.....	22
2.5	HDL	25
2.6	Interleukin-8.....	26
2.7	<i>Foam Cell</i>	27
2.8	Hubungan antara <i>Annona squamosa</i> , Aterosklerosis dan HDL serta <i>Foam Cell</i>	28
2.9	Diet Aterogenik.....	28
BAB 3	KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	29
35	3.1 Kerangka Konsep	29
35	3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	30
36	3.3 Hipotesis Penelitian	30
BAB 4	METODE PENELITIAN	31
38	4.1 Rancangan Penelitian	31
38	4.2 Binatang Coba	31

38	4.2.1 Binatang coba, Objek dan Teknik Randomisasi	31
38	4.2.2 Estimasi Jumlah Pengulangan	32
39	4.2.3 Kriteria Eksklusi	33
40	4.3 Variabel Penelitian	33
40	4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	34
41	4.5 Alat dan Bahan Penelitian	34
41	4.5.1 Alat	34
41	4.5.2 Bahan Penelitian	34
	4.6 Definisi Operasional	36
	4.7. Prosedur penelitian	37
43	4.7.1 Tikus yang Diinduksi Aterosklerosis.....	39
44	4.7.2 Perlakuan	39
	4.7.2.1 Pemeliharaan	39
45	4.7.2.2 Pembedahan	39
	4.8 Pengumpulan dan Analisa Data.....	40
45	4.8.1 Pengumpulan Data.....	40
	4.8.2 Analisa Data.....	40
	BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	42
	BAB 6 PEMBAHASAN	57
	BAB 7 PENUTUP	69
	7.1 Kesimpulan	69
63	7.2 Saran	69
	DAFTAR PUSTAKA	70
	LAMPIRAN	73
	PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	102

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1. <i>Komposisi Diet Aterogenik</i> (Mutiani, 2005).....	35
Tabel 5.1. Karakteristik Tikus Percobaan	42
Tabel 5.2. Komposisi Zat Gizi pada Pakan Tikus Percobaan (per 30 gr pakan)	43
Tabel 5.3 Mean dan Standar Deviasi Intake Masing-masing Kelompok	44
Tabel 5.4 Mean dan Standar Deviasi AsupanEnergi Masing-masing Kelompok	45
Tabel 5.5 Mean dan Standar Deviasi AsupanProtein Masing-masing Kelompok	47
Tabel 5.6 Mean dan Standar Deviasi AsupanLemak Masing-masing Kelompok	48
Tabel 5.7 Mean dan Standar Deviasi Asupan Karbohidrat Masing-masing Kelompok	49
Tabel 5.8 Mean dan Standar Kadar HDL Deviasi Masing-masing Kelompok	51
Tabel 5.9 Mean dan Standar Deviasi Jumlah <i>Foam Cell</i> Masing-masing Kelompok.....	52



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Buah Srikaya (<i>Annona squamosa</i>).....	5
Gambar 2.2 Biji Buah Srikaya	6
Gambar 2.3 Gugus para hydroxyl	6
Gambar 2.4 Skema aterogenesis	9
Gambar 2.5 Sitokin-sitokin yang terlibat pada Patogenesis Ateroskleorosis, Asal Sel, dan Target Sel.....	17
Gambar 2.6 Metabolisme lipid dan lipoprotein.....	24
Gambar 4.1 Alur Penelitian	38
Gambar 5.1 Rerata Intake Tikus Percobaan pada Masing-masing Kelompok Perlakuan	44
Gambar 5.2 Rerata Asupan Energi Tikus Percobaan pada Masing-masing Kelompok Perlakuan	46
Gambar 5.3 Rerata Asupan Protein Tikus Percobaan pada Masing-masing Kelompok Perlakuan	47
Gambar 5.4 Rerata Asupan Lemak Tikus Percobaan pada masing-masing Kelompok Perlakuan	48
Gambar 5.5 Rerata Asupan Karbohidrat Tikus Percobaan pada Masing-masing Kelompok Perlakuan	50
Gambar 5.6 Rerata Kadar Plasma Kolesterol HDL Tikus Percobaan pada Masing-masing Perlakuan	51
Gambar 5.7 Rerata Jumlah <i>Foam Cell</i> Tikus Percobaan pada Masing-masing Perlakuan	53
Gambar 5.8 Potongan Gambaran HistologiAorta padaKelompok Kontrol Positif53	
Gambar 5.9 Potongan Gambaran HistologiAorta padaKelompok KontrolNegatif54	
Gambar 5.10 Potongan GambaranHistologi Aorta padaKelompokPerlakuan EA54	
Gambar 5.11 Potongan GambaranHistologi Aorta padaKelompokPerlakuan EB55	
Gambar 5.12 Potongan GambaranHistologi AortapadaKelompokPerlakuan EC55	

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Teknik Randomisasi	73
Lampiran 2. Alur Pembuatan Pakan Diet Normal	75
Lampiran 3. Alur Pembuatan Pakan Diet Aterogenik	76
Lampiran 5. Distribusi Data Kadar Plasma Kolesterol HDL	77
Lampiran 6. Distribusi Data Jumlah <i>Foam Cell</i> Aorta Tikus	78
Lampiran 7. Analisa Statistik Uji Normalitas pada Jumlah <i>Foam Cell</i> Intake dan Kadar Plasma Kolesterol HDL pada Tikus Percobaa (<i>Rattus norvegicus strain wistar</i>)	79
Lampiran 8. Analisa Statistik <i>One Way ANOVA</i> Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Asupan Energi Tikus Percobaan (<i>Rattus norvegicus strain wistar</i>)	80
Lampiran 9. Analisa Statistik <i>One Way ANOVA</i> Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Asupan Protein Tikus Percobaan (<i>Rattus norvegicus strain wistar</i>)	81
Lampiran 10. Analisa Statistik <i>One Way ANOVA</i> Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Asupan Lemak Tikus Percobaan (<i>Rattus norvegicus strain wistar</i>)	82
Lampiran 11. Analisa Statistik <i>One Way ANOVA</i> Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Asupan karbohidrat Tikus Percobaan (<i>Rattus norvegicus strain wistar</i>)	83
Lampiran 12. Analisa Statistik <i>One Way ANOVA</i> Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Berat Badan Awal Tikus Percobaan (<i>Rattus norvegicus strain wistar</i>)	84
Lampiran 13. Analisa Statistik <i>One Way ANOVA</i> Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Berat Badan Tikus Percobaan (<i>Rattus norvegicus strain wistar</i>)	85
Lampiran 14. Analisa Statistik <i>T-Test</i> Pengaruh Diet Standar dan Diet Aterogenik terhadap Berat Badan Tikus Percobaan (<i>Rattus norvegicus strain wistar</i>) pada Kelompok Kontrol Negatif dan Kontrol Positif	87
Lampiran 15. Analisa Statistik <i>One Way ANOVA</i> Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Rerata Intake pada Tikus Percobaan (<i>Rattus norvegicus strain wistar</i>).....	89

Lampiran 16. Analisa Statistik *One Way ANOVA* Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Kadar Plasma Kolesterol HDL pada Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)92

Lampiran 17. Analisa Statistik *One Way ANOVA* Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Jumlah *Foam Cell* pada Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)95

Lampiran 18. Analisa Statistik *Regresi-Korelasi* Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Kelompok yang Diberi Ekstrak terhadap Intake, Kadar Plasma Kolesterol HDL dan Jumlah *Foam Cell* pada Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)98



DAFTAR SINGKATAN

Anova	: <i>Analysis of Variance</i>
APC	: <i>Antigen-Presenting Cells</i>
apoB100	: <i>apolipoprotein B100</i>
BMI	: <i>Body Mass Index</i>
FAD	: <i>Flavin Adenine Dinucleotide</i>
FMN	: <i>Flavin Mononucleotide</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HE	: <i>Hematoxilin Eosin</i>
IFN γ	: <i>Interferon γ</i>
IL-8	: <i>Interleukin - 8</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LOX	: <i>Llysyl Oksidase</i>
MCP	: <i>Monocyte Chemoattractant Protein</i>
NADPH	: <i>Nicotine Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NO	: <i>Nitrix Oxide</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
RAL	: <i>Rancangan Acak Lengkap</i>
RCD	: <i>Randomized Completely Design</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor β</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necroting Factor - α</i>
VCAM-1	: <i>Vascular-Cell Adhesion Moloecule - 1</i>
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>
XO	: <i>Xantin Oksidase</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Aterosklerosis adalah penebalan tunika intima arteri dan penimbunan lemak yang mencirikan lesi yang khas. Aterosklerosis merupakan penyebab beberapa penyakit (aneurisma, penyakit pembuluh arteri, penyakit jantung iskemik dan stroke) dan penyebab utama kematian dan kecacatan di negara maju dan berperan pada Penyakit Jantung Koroner yang merupakan proses yang berlangsung aktif bertahun-tahun sejak dekade pertama kehidupan (Price, 2005). Penyakit jantung koroner terutama disebabkan oleh kelainan miokardium akibat insufisiensi aliran darah koroner karena arterosklerosis yang merupakan proses degeneratif, di samping banyak faktor lain. Karena itu dengan bertambahnya usia harapan hidup manusia Indonesia, kejadiannya akan makin meningkat dan menjadi suatu penyakit yang penting; apalagi sering menyebabkan kematian mendadak (Hanafi et al, 1997). Tujuh jenis penyakit jantung terpenting ialah : Penyakit jantung koroner (penyebab 80% kematian yang disebabkan penyakit jantung);; penyakit jantung akibat hipertensi (9%); penyakit jantung reumatik (2-3%);; penyakit jantung kongenital (2%); endokarditis bakterialis (1-2%); penyakit jantung sifilitik (1%); Cor pulmonale (1%); dan lain-lain (5%) (Kusumawidjaja, 1996).

Pencegahan dan pengobatan dari pengendalian atherosklerosis dari faktor resiko yang telah diketahui untuk penyakit tersebut. Didalamnya termasuk pengobatan untuk hipertensi, hyperlipidemia, DM, dan kebiasaan

merokok (University of Maryland, 2003). Perubahan gaya hidup dapat meningkatkan kerja pembuluh arteri. Dokter memiliki beberapa tipe pengobatan untuk memperlambat atau mengatasi pengaruh arteriosklerosis dan atherosclerosis: salah satunya dengan menggunakan obat Penurun-kolesterol (Necel, 2009).

High Density Lipoprotein (HDL) yang disebut juga α -lipoprotein merupakan molekul lipoprotein yang paling kecil dengan diameter 8-11 nm, mempunyai berat jenis paling besar dengan inti lipid paling kecil (Murray, 2003). HDL diduga memiliki efek antiaterogenik, antara lain: menghambat oksidasi *Low Density Lipoprotein* (LDL), menghambat inflamasi endotel, meningkatkan produksi nitrit oksida endotel, meningkatkan bioavailabilitas prostasiklin, dan menghambat koagulasi dan agregasi 8 platelet. Namun, mekanisme molekular terhadap efek tersebut belum dapat dijelaskan (Rader, 2006). Pada aterosklerosis terjadi pathogenesis yang terdiri dari 3 stadium, terdiri dari pembentukan *fatty streak*, pembentukan plak fibrosa dan thrombosis. Foam cell mengawali pembentukan *fatty streak* ketika *initial stage*.

Sitokin interleukin-8 (IL-8) adalah instrument dalam perkembangan respon selular yang menandai inflamasi khususnya yang berkaitan dengan aktivitas monosit dan limfosit. dan harus dijadikan target reaksi bagi perkembangan efektivitas obat antiinflamasi. Selain itu, ketertarikan terhadap kemokin beberapa waktu belakangan ini berasal dari kemungkinan untuk memahami, untuk pertama kalinya, alasan mengapa suatu keadaan patologis ditandai dengan adanya akumulasi subtype leukosit tertentu. (Holtzman, 2003). Kemokin adalah molekul-molekul *soluble* yang mengarahkan dan

menentukan pergerakan sel-sel imun dan jalur-jalur sirkulasi pada sistem imun. Kemokin merupakan salah satu dari klasifikasi sitokin berdasarkan strukturnya. Contoh-contoh dari kemokin di antaranya IL-8, MCP 1-4, eotaxin dan lain-lain (Harrison, 2008).

Srikaya (*Annona squamosa*) berasal dari Amerika Selatan dan akhirnya menyebar ke daerah yang beriklim tropis. (Nuswamarhaeni,1993). Biji *Annona squamosa* mengandung senyawa poliketida dan suatu senyawa turunan bistetrahidrofuran; asetogenin (skuamostatin C, D, anonain, anonasin A, anonin 1, IV, VI, VIII, IX, XVI, skuarnostatin A, bulatasin, bulatasinon, skuamon, ncoanonin B, neo desasetilurarisin, neo retikulasin A, skuamosten A, asmisin, skuamosin, sanonasin, anonastatin, neoanonin).

Dalam penelitian ditemukan bahwa gugus para hydroxyl yang terkandung dalam curcumin penting dalam aktivitas antiinflamasi (Hatcher *et al.*, 2008; Cen *et al.*, 2009). Penelitian terhadap substitusi simetris dari derivat curcumin ditemukan berpotensi dalam antiinflamasi, terutama yang memiliki kombinasi gugus 4-hydroxy dan gugus 3,5-di-(lower) alkyl (Sardjiman, 1997). Gugus para hydroxyl inilah yang juga banyak ditemukan dalam squamosin *Annona squamos* (Shyng S., 2006).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*) dapat mengurangi pembentukan *foam cell* dan meningkatkan kadar HDL pada tikus wistar yang diinduksi Aterosklerosis?
2. Berapa dosis efektif ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*) dalam mengurangi pembentukan *foam cell* dan meningkatkan kadar HDL pada tikus wistar yang diinduksi Aterosklerosis?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Membuktikan bahwa pemberian ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*) dapat mengurangi pembentukan *foam cell* dan meningkatkan kadar HDL pada tikus wistar yang diinduksi Aterosklerosis.
2. Mengetahui dosis efektif ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*) dalam mengurangi pembentukan *foam cell* dan meningkatkan kadar HDL pada tikus wistar yang diinduksi Aterosklerosis.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bidang ilmiah :
 - Menambah wawasan tentang efek pemberian ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*) terhadap penurunan jumlah produksi *foam cell* dan peningkatan jumlah HDL pada tikus yang diinduksi aterosklerosis.
2. Bidang umum :
 - Menambah pengetahuan masyarakat tentang manfaat ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*) dapat digunakan untuk mencegah penyakit aterosklerosis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Srikaya (*Annona squamosa*)**2.1.1. Karakteristik dan Taksonomi Srikaya (*Annona squamosa*)**

Srikaya (*Annona squamosa*) berasal dari Amerika Selatan dan akhirnya menyebar ke daerah yang beriklim tropis. (Nuswamarhaeni,1993) Taksonomi *Annona squamosa* adalah Kingdom Plantae (Tumbuhan), Subkingdom Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh), Super Divisi Spermatophyta (Menghasilkan biji), Divisi magnoliophyta (Tumbuhan berbunga), kelas: magnoliopsida (berkeping dua / dikotil), sub kelas magnoliidae, ordo magnoliales famili Annonaceae, Genus : *Annona*, spesies *Annona squamosa* L. (Nuswamarhaeni,1993)

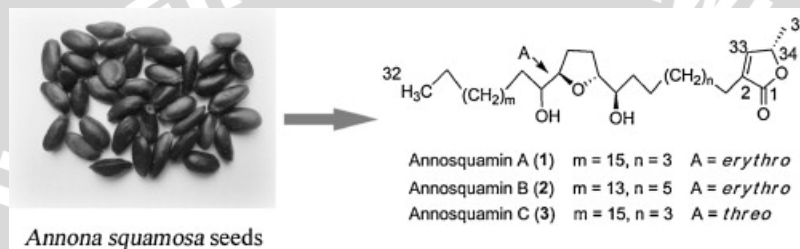


Gambar 2.1 Buah Srikaya (*Annona squamosa*) (Orwa et al, 2009)

2.1.2. Kandungan Biji buah Srikaya (*Annona squamosa* L)

Tumbuhan ini pada umumnya mengandung alkaloid tipe asporfin (anonain) dan bisbenziltetrahydroisokinolin (retikulin).Biji *Annona squamosa* mengandung senyawa poliketida dan suatu senyawa turunan bistetrahidrofuram;

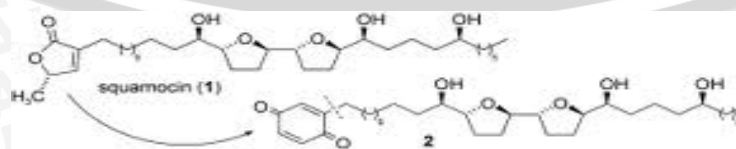
asetogenin (skuamostatin C, D, anonain, anonasin A, anonin 1, IV, VI, VIII, IX, XVI, skuarnostatin A, bulatasin, bulatasinon, skuamon, ncoanonin B, neo desasetilurarisin, neo retikulasin A, skuamosten A, asmisin, skuamosin, sanonasin, anonastatin, neonanin) Penemuan hasil penelitian lain yaitu skuamosisinin A, skuamosin B, C, D, E, F, G, H,1, J, K, L, M, N; skuamostatin B, asam lemak, asam amino dan protein. Komposisi asam lemak penyusun minyak lemak biji Srikaya terdiri dari metil palmitat, metil stearat, metil linoleat.



Gambar 2.2 Biji Buah Srikaya (Chen Y., et al, 2012)

2.2. Squamosin

Dalam penelitian ditemukan bahwa gugus para hydroxyl yang terkandung dalam curcumin penting dalam aktivitas antiinflamasi (Hatcher *et al.*, 2008; Cen *et al.*, 2009). Penelitian terhadap substitusi simetris dari derivat curcumin ditemukan berpotensi dalam antiinflamasi, terutama yang memiliki kombinasi gugus 4-hydroxy dan gugus 3,5-di-(lower) alkyl (Sardjiman, 1997). Gugus para hydroxyl inilah yang juga banyak ditemukan dalam squamosin *Annona squamosa* (Shyng S., 2006).



Gambar 2.3 Gugus para hydroxyl

2.3. Aterosklerosis

2.3.1. Definisi Aterosklerosis

Aterosklerosis adalah suatu penyakit arteri berukuran besar dan sedang akibat terbentuknya lesi lemak yang disebut plak ateromatosa pada permukaan dalam dinding arteri (Guyton, 2006). Pengertian Aterosklerosis berasal dari kata athero yang dalam bahasa Yunani (athera) suatu bentuk gabung yang menunjukkan degenerasi lemak atau hubungan dengan atheroma. Sedangkan sklerosis dalam bahasa Yunani berarti indurasi dan pengerasan; seperti pengerasan sebagian peradangan, pembentukan jaringan ikat meningkat atau penyakit zat intersisial (Dorland, 2002).

2.3.2. Penyebab Aterosklerosis

Penyebab dasar aterosklerosis adalah peningkatan lipoprotein densitas rendah, selain itu juga disebutkan terdapat hiperkolesterolemia familial, yaitu penyakit herediter yang menyebabkan seseorang mewarisi kelainan gen pembentuk reseptor lipoprotein berdensitas rendah pada permukaan membran sel tubuh kita. Di lain hal, faktor risiko terbentuknya aterosklerosis juga berperan, seperti kurangnya aktivitas fisik dan obesitas, diabetes mellitus, hipertensi, hiperlipidemia, dan merokok.

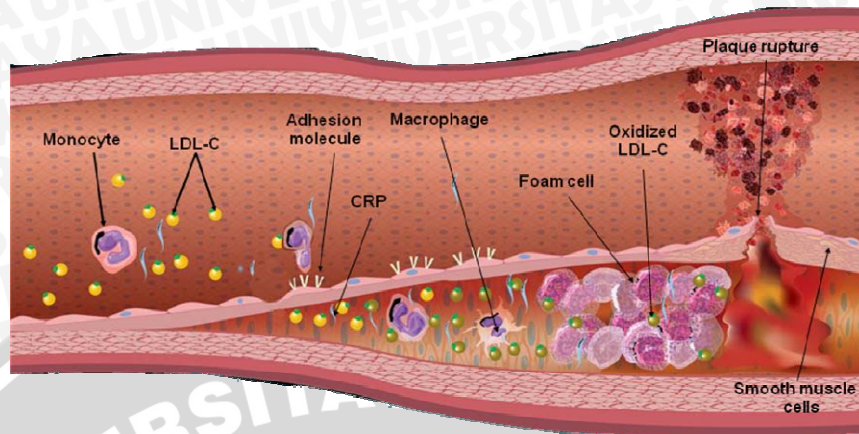
2.3.3. Patogenesis Aterosklerosis

Patogenesis aterosklerosis melalui (Price, 2005) :

- a. Arteri normal terdiri dari lapisan intima (dalam) dibataso oleh endotel, media (tengah) yang terdiri dari sel otot polos, adventisia yaitu lapisan terluar kaya kolagen.
- b. Cidera dan disfungsi endotel meningkatkan perlekatan trombosit dan leukosit, meningkatkan permeabilitas, meningkatkan koagulabilitas,

inflamasi, migrasi monosit ke dalam dinding arteri ; LDL teroksidasi dapat memasuki lapisan intima melalui jalur yang tidak bergantung reseptor.

- c. Pembentukan bercak lemak; bercak lemak terdiri atas makrofag mengandung lipid (sel busa) dan limfosit-T. Kemudian lepasnya faktor pertumbuhan dari makrofag teraktivasi dan trombosit menyebabkan migrasi otot polos dari media ke dalam intima dan proliferasi matriks; proses ini mengubah bercak lemak menjadi ateroma matur.
- d. Pembentukan lesi aterosklerosis komplikata lanjut; bercak lemak berkembang menjadi intermediet dan lesi lanjut dan cenderung membentuk lapisan fibrosa yang membatasi lesi dari lumen pembuluh darah; lapisan ini merupakan campuran leukosit, debris, sel busa, dan lipid bebas yang dapat membentuk suatu inti nekrotik. Penimbunan kalsium ke dalam plak fibrosa dapat menyebabkan pengerasan.
- e. Komplikasi plak ateromatosa; trombosis dapat terjadi dari perlekatan trombosit ke tepian ateroma yang kasar; ulserasi dan ruptur mendadak lapisan fibrosa dapat terjadi setelah oklusi arteri; perdarahan yang terjadi dalam ateroma dari vasa basorum atau dari endotel dapat menyebabkan oklusi arteri.



Gambar 2.4 Skema aterogenesis (Libby, 2001)

2.3.4. Keterlibatan Radikal Bebas pada Proses Aterosklerosis

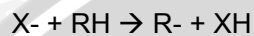
2.3.4.1. Radikal Bebas

Beberapa oksidan yang kuat diproduksi pada proses metabolisme. Oksidan tersebut adalah superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), *peroxyl radicals* (ROO^-), dan *hydroxyl radicals* (OH^-). Semua disebut sebagai *reactive oxygen species* (ROS). Radikal bebas merupakan atom-atom yang memiliki elektron bebas. Substansi dan reaksi kimia yang dapat menghasilkan oksigen yang berpotensi toksik disebut pro-oksidan. Sebaliknya, substansi dan reaksi kimia yang membuang, menangkap (*scavenge*), mensupresi pembentukan, atau melawan oksigen yang berpotensi toksik tersebut, disebut antioksidan. Pada sel normal, terdapat keseimbangan antara pro-oksidan:antioksidan (Murray et.al., 2006).

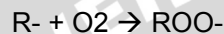
Peroksidasi (auto-oksidasi) lemak dan paparan oksigen dapat menjadi penyebab kanker, penyakit inflamasi, aterosklerosis, dan penuaan. Efek yang mengganggu ini disebabkan oleh radikal bebas yang diproduksi selama proses pembentukan peroksida dari asam lemak, misalnya polyunsaturated fatty acid (asam lemak tak jenuh rantai panjang). Peroksidasi lemak merupakan rangkaian

reaksi yang menghasilkan radikal bebas secara terus menerus. Proses seluruhnya, dimana R- adalah radikal bebas dan O- adalah oksigen radikal bebas, sebagai berikut (Murray et.al., 2006):

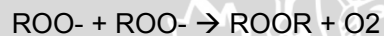
1. Inisiasi



2. Propagasi



3. Terminasi



Karena molekul prekursor untuk proses inisiasi adalah hidroperoksida ROOH, peroksidasi lemak merupakan rangkaian reaksi yang memiliki efek merusak (devastating effect). Untuk mengontrol dan mengurangi peroksidasi lemak, manusia dan alam melibatkan antioksidan (Murray et al., 2006).

2.3.4.2. Peran Radikal Bebas pada Patogenesis Aterosklerosis

Peningkatan kadar lipid dalam darah meningkatkan inisiasi dan perkembangan aterogenesis pada dinding arteri karena modifikasi oksidatif dan uptake tidak terkontrol sehingga menyebabkan uptake berlebihan. Pembentukan radikal bebas menyebabkan lesi pada lapisan endotel, menyebabkan meningkatnya perlekatan, permeabilitas, dan substansi prokoagulasi (Napoli dan Lerman, 2001).

Produksi radikal bebas terjadi pada banyak sel di dinding pembuluh darah seperti sel endotel, sel otot polos pembuluh darah, fibroblas, dan makrofag. Paling tidak terdapat lima sistem enzim yang berperan pada oksidasi dinding pembuluh darah: lysyl oksidase (LOX), berperan pada covalent cross-linking kolagen dan elastin, xantin oksidase (XO), ROS dari monosit, eNOS, dan NADPH (Nicotine adenine dinucleotide phosphate). Radikal bebas meningkatkan perlekatan leukosit, stimulasi proliferasi dan migrasi sel otot polos pembuluh darah, oksidasi lipid, up-regulasi aktivitas matriks metalloproteinase, dan penuaan vasomotor (Cunningham dan Gotlieb, 2005).

Pada level molekular, reseptor scavenger pada permukaan makrofag memainkan peran penting dalam pembentukan *foam cell*. CD36 memediasi selular uptake LDL teroksidasi. Lipid bioaktif dari LDL teroksidasi yang memasuki makrofag melalui CD36 mengaktifkan reseptor nuklear seperti peroxisome proliferator-activated reseptor γ untuk menginisiasi transkripsi up-regulasi ekspresi CD36. CD36 menginisiasi sinyal cascade pada makrofag yang menyebabkan uptake ox-LDL lebih banyak dan menurunkan mobilitas makrofag, sehingga *foam cell* pada intima menjadi banyak (Curtiss, 2009).

2.3.5. Keterlibatan Lipid pada Patogenesis Aterosklerosis

Peningkatan kolesterol pada plasma merupakan faktor utama penyebab aterosklerosis. Konsumsi kolesterol akan sebanding dengan kolesterol dalam plasma setelah beberapa hari, dan sebanding dengan kolesterol di jaringan setelah beberapa minggu. Kolesterol pada serum dibawa melalui beberapa partikel lipoprotein. VLDL (Very Low Density Protein), LDL (Low Density Lipoprotein), dan HDL (High Density Lipoprotein) berfungsi sebagai transportasi lipid dalam tubuh. LDL memiliki peran fisiologis sebagai pembawa kolesterol

dan trigliserida menuju jaringan. LDL berikatan dengan reseptor LDL yang terdapat pada membran sel, kemudian memasuki sel dengan cara endositosis (Murray et.al., 2006).

LDL adalah lipoprotein pembawa kolesterol yang utama di sirkulasi. LDL terdiri dari kolesterol ester soluble yang dikelilingi oleh fosfolipid dan apolipoprotein B100 (apoB100). Fraksi LDL dikelompokkan menjadi 3 subdivisi berdasarkan perbedaan ukuran dan densitasnya, yaitu large, intermediate, dan small LDL. Konsentrasi subfraksi tersebut dalam plasma dapat dihitun secara kuantitatif dengan mengukur komponennya (protein, fosfolipid, kolesterol dan triasilgliserol) setelah diisolasi dengan density gradient centrifugation (Packard, 2003)

Penelitian mengenai sifat-sifat subfraksi LDL menunjukkan bahwa small dense LDL adalah lipoprotein utama yang bersifat aterogenik. Subfraksi ini berikatan lemah dengan reseptor LDL jika dibandingkan dengan subfraksi besarnya, yang menyebabkan keberadaannya di pembuluh darah lebih lama. Sebaliknya, partikel ini tampaknya berinteraksi kuat dengan proteoglikan dinding arteri. Pada hipotesis aterosklerosis '*response to retention*', sifat ini akan meningkatkan waktu lipoprotein terperangkap di ruang subendotel pada dinding arteri, dan oleh sebab itu meningkatkan kesempatan terjadinya perubahan aterogenik. Penurunan fungsi ini tampaknya akibat apoB pada small, dense LDL berbeda dengan partikel pada subfraksi LDL yang lebih besar, yang memiliki kemampuan berikatan dengan proteoglikan, namun juga menghambat katabolisme receptor-mediated. Selain itu, small dense LDL merupakan subfraksi yang paling mudah teroksidasi pada kelas lipoprotein, sehingga meningkatkan potensi aterogeniknya (Packard, 2003).

Distribusi small dense LDL tidak terlihat sampai kadar triasilgliserol (TG) dalam plasma melebihi 1,5 mmol/L (sekitar 120 mg/dL). Pada kadar TG di atas 1,5 mmol/L, konsentrasi total LDL tidak meningkat, namun terdapat penurunan intermediate-sized LDL dan peningkatan tajam small dense LDL (Packard, 2003).

Diet tinggi lemak menyebabkan peningkatan kadar LDL plasma, juga LDL jaringan. Asam lemak tak jenuh (misalnya asam linoleat) pada partikel LDL membuatnya rentan terhadap oksidasi (Getz dan Reardon, 2007). LDL teroksidasi memiliki peran yang penting pada inisiasi lesi aterosklerosis: meningkatkan agregasi platelet, menyebabkan kerusakan jaringan, menginduksi sitokin pro-inflamasi, dan sebagainya.

2.3.6. Keterlibatan Disfungsi Endotel pada Patogenesis Aterosklerosis

NO (Nitric Oxide) dihasilkan dari konversi L-arginin menjadi L-sitruilin oleh enzim NADPH-dependent NO synthase (NOS), yang membutuhkan kofaktor: Ca^{2+} /kalmodulin, FAD (Flavin Adenine Dinucleotide), FMN (Flavin Mononucleotide), dan tetrahydrobiopterin (BH₄). Fungsi NO antara lain sebagai vasodilator endotel. Selain itu, juga inhibisi perlekatan dan agregasi platelet, reduksi perlekatan leukosit pada endotel, dan supresi proliferasi otot polos pembuluh darah. NO merupakan antioksidan, scavenger ROS, memodulasi inflamasi dan sinyal transduksi, yang dapat memodulasi peroksidasi lipid dan ekspresi gen pro-inflamasi. Pada beberapa keadaan, eNOS (endothelium Nitric Oxide Synthase) menjadi disfungsi dan memproduksi superoksida daripada NO (Getz, 2007)

Semua faktor resiko utama aterosklerosis seperti hiperlipidemia, diabetes, hipertensi, dan merokok, berhubungan dengan kerusakan EDR multifaktorial, namun penyebab utamanya adalah perubahan bioavailabilitas NO: penurunan

ekspresi eNOS, penurunan sensitivitas terhadap NO, dan peningkatan degradasi NO oleh superoksida. Aktivitas enzimatik eNOS dihambat oleh beberapa mekanisme yang berhubungan dengan aterosklerosis dan hiperlipidemia, antara lain oleh LDL teroksidasi dan lisofosfatidilkolin yang menghambat sinyal transduksi untuk aktivasi eNOS (Kawashima dan Yokohama, 2004)

Penurunan bioavailabilitas NO tidak hanya menurunkan fungsi vasodilatasi pembuluh darah, namun juga mengaktifkan berbagai mekanisme penting pada patogenesis aterosklerosis. NO dan produknya, seperti reaktif nitrogen spesies (radikal bebas), dapat meningkatkan oksidasi membran dan lipoprotein dan pembentukan sel busa (*foam cell*). Ketika produksi oksidan jaringan meningkat, oksidan turunan NO dapat menimbulkan efek pro-aterogenik (napoli dan Lerman, 2001).

2.3.7. Keterlibatan Mediator Inflamasi pada Patogenesis Aterosklerosis

Patogenesis aterosklerosis diawali dengan kondisi hiperkolesterolemia. Hiperkolesterolemia dapat meningkatkan pembentukan senyawa peroksidatif, yang terbentuk ketika ROS atau radikal lain berinteraksi dengan lemak pada plasma dan jaringan. Pembentukan radikal bebas tersebut menyebabkan luka pada lapisan endotel pembuluh darah, menyebabkan meningkatnya kemampuan melekat (*adhesiveness*), permeabilitas, senyawa prokoagulan, dan kerusakan lapisan intima melalui pembentukan lipoprotein teroksidasi (Kleemann et al., 2008).

Luka akut pada endotel memicu pelepasan faktor-faktor pro-koagulan; membentuk molekul-molekul vasoaktif, sitokin, dan faktor pertumbuhan; dan menginisiasi respon inflamasi lokal yang dapat berlanjut. Pelepasan sitokin dan faktor pertumbuhan, misalnya TNF- α , interleukin (IL)-1 β , dan interferon γ (IFN γ),

dapat menyebabkan oksidasi NADPH, xanthine, NOS, siklooksigenase, myeloperoksidase, dan lipooksigenase, yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan endotel (Fan dan Watanabe, 2003).

Kerusakan endotel menyebabkan datangnya platelet. Glikoprotein Ib dan IIb/IIIa menempati molekul permukaan pada sel endotel, yang dapat mengaktivasi sel endotel. Sel endotel yang aktif mengekspresikan beberapa tipe molekul adhesi, yang menyebabkan sel darah menggelinding (rolling) sampai melekat pada molekul adhesi. Pada kondisi hiperkolesterolemia, vascular-cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) secara khas meningkat. Sel-sel yang terdapat counterreseptor untuk VCAM-1 (misalnya monosit dan limfosit) terikat pada molekul ini (Harrison, 2005).

Setelah sel darah tersebut terikat, kemokin diproduksi oleh lapisan intima yang menstimulasi sel darah tersebut bermigrasi ke ruangan subendotel. Lemoatraktan yang menginduksi kemotaksis monosit yaitu: oxLDL, Lp (a), dan sitokin (monocyte chemoattractant protein (MCP-1), IL-1, TNF- α) dan kolagen dan elastin yang terdegradasi. Di antara semua mediator tersebut, MCP-1 dan Lyso-PC (komponen dari oxLDL) merupakan kemoatraktan yang paling penting (Fan dan Watanabe, 2003).

Sitokin atau faktor pertumbuhan yang diproduksi di lapisan intima, yaitu macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), menginduksi diferensiasi monosit menjadi makrofag. Makrofag ini memiliki scavenger receptor dan toll-like receptors. Makrofag teraktivasi memproduksi sitokin inflamasi, protease, oksigen sitotoksik, dan molekul nitrogen radikal (Harrison, 2005). Perlekatan monosit ke endothelium, migrasi ke dalam lapisan intima, dan maturasi untuk membentuk

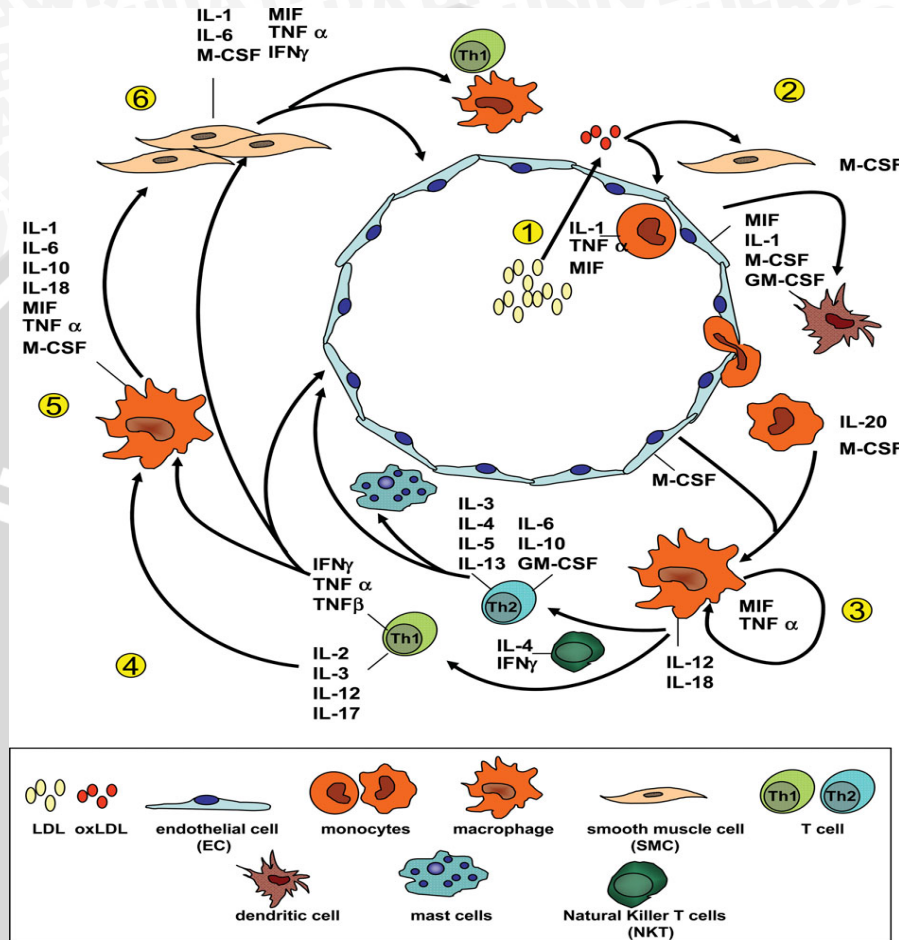
lipid-aden makrofag, menggambarkan langkah kunci dan pembentukan fatty streak, precursor dari plak aterosklerosis (Fauci et al., 2008).

Luka terosklerotik mengandung sitokin-sitokin yang meningkatkan respon T helper 1 (Th 1). Sel T teraktivasi, kemudian berdiferensiasi menjadi sel Th 1 efektor dan mulai memproduksi macrophage-activating cytokine interferon- γ . Regulator kuat pada jaringan imunitas sebagai faktor protektif pada aterosklerosis terdiri dari sitokin antiinflamasi IL-10 dan transforming growth factor β (TGF- β) (Fan dan Watanabe, 2003).

Aktivasi sel-sel imun menyebabkan lesi aterosklerotik. Walaupun limfosit tidak dibutuhkan untuk perkembangan aterosklerosis, sel imun ini memodulasi progresif penyakit. Beberapa antigen yang menyebabkan aktivasi sel imun: oxLDL, heat-shock protein, β -2-glycoprotein I, dan antigen mikroba. Respon imunoinflamatory dan respon fibroproliferatif dimediasi oleh sel-sel otot polos di intima (Fan dan Watanabe, 2003).

Beberapa foam cell di dalam intima dapat mengalami apoptosis. Kematian sel ini mengakibatkan terbentuknya lipid-rich center, sering disebut necrotic core, pada plak aterosklerosis. Akumulasi lipid-laden makrofag menandakan penumpukan lemak, pembentukan jaringan fibrosa dibentuk oleh matriks ekstraselular. Faktor-faktor pertumbuhan atau sitokin menstimulasi proliferasi sel otot polos dan produksi matriks ekstraselular. Sitokin yang ditemukan pada plak adalah IL-1 atau TNF- α , dapat menginduksi produksi faktor pertumbuhan, lokal termasuk bentuk platelet-derived growth factor (PDGF), fibroblast growth factor, dan lainnya. Sitokin lainnya, IFN- γ , derivat dari sel T, dapat membatasi sintesis interstisial kolagen dengan sel-sel otot polos (Fan dan

watanabe, 2003). Secara ringkas, keterlibatan mediator inflamasi pada patogenesis aterosklerosis dapat dilihat pada gambar 2.5.



Gambar 2.5 Sitokin-sitokin yang terlibat pada Patogenesis Ateroskleorosis, Asal Sel, dan Target Sel (Kleemann et al., 2005)

2.3.8. Apoptosis pada Aterosklerosis

Apoptosis merupakan proses kematian secara alami dan terprogram. Hal ini berbeda dengan nekrosis yang merupakan penghancuran sel secara total. Secara etimologi, apoptosis berasal dari kata Yunani yang berarti gugur atau rontok yang memiliki konotasi daun yang jatuh dari pohon. Apoptosis terjadi ketika sel mengalami kerusakan yang tidak dapat diperbaiki lagi, terinfeksi virus,

mengalami stres misalnya kelaparan, keruaakan DNA akibat radiasi ionisasi atau bahan kimia beracun, atau biasa juga disebabkan aktivitas gen penekan tumor dan radikal bebas.

Apoptosis berfungsi menyalakan sel-sel rusak atau sel-sel yang tidak dapat menjalankan fungsinya, mencegah sel yang megalami kekurangan nutrisi atau untuk mencegah penularan virus. Apoptosis juga berperan penting mencegah kanker. Jika suatu sel gagal atau tidak mampu melakukan apoptosis, ia akan terus membelah dan berkembang menjadi tumor. Tumor terjadi ketika jumlah sel tidak dapat dipertahankan pada jumlah tetap. Apoptosis melibatkan serangkaian kejadian biokimiawi melalui transduksi sinyal yang menyebabkan perubahan ciri morfologis dan bahkan kematian sel. Ciri morfologis yang diamati ketika sel mengalami apoptosis adalah pengerutan sel (*pyknosis*) fragmentasi inti sel, kerusakan membran (*karyorrhexis*) dan bahkan sel dapat pecah menjadi beberapa vesikel yang disebut badan apoptosis (Granot, 2003).

Pada setiap fase aterogenesis terdapat monosit yang merupakan prekursor makrofag di semua jaringan. Makrofag derivat monosit adalah pemangsa dan sel penyaji antigen (*antigen-presenting cells/APC*) yang mensekresi sitokin, kemokin, molekul pengatur pertumbuhan, metalloproteinase dan enzim hidrolitik lainnya. Sel mononuklear yang terus menerus masuk, bertahan hidup, bereplikasi dalam lesi, sebagian tergantung pada MCSF dan GMCSF untuk monosit dan faktor IL-2 untuk limfosit. Secara *in vitro*, pajanan terus menerus terhadap MCSF, memungkinkan makrofag bertahan hidup dan bermultiplikasi dalam lesi. Sebaliknya, sitokin inflamasi (misalnya IFN-) mengaktifkan dan menginduksi makrofag (dalam kondisi tertentu) untuk memprogramkan diri menjalani kematian sel (apoptosis). Jika hal ini terjadi *in*

vivo, maka makrofag bisa terlibat dalam inti nekrotik yang merupakan ciri khas lesi kompleks dan lanjut. Awalnya, diduga hanya miosit yang berproliferasi selama perkembangan lesi aterosklerotik. Namun, akhirnya diketahui bahwa replikasi makrofag derivat monosit dan sel T berperan sama pentingnya. Kemampuan makrofag dalam menghasikan sitokin (misalnya TNF-, IL1 dan TGF-), enzim proteolitik (terutama metalloproteinase) dan faktor tumbuh (misalnya PDGF dan *insulin-like growth factor I*), berperan penting dalam kerusakan dan perbaikan lesi aterosklerotik (Ross R., 2009)

2.3.9. Gejala Aterosklerosis

Berikut ini disajikan beberapa efek klinis kelainan yang terjadi akibat aterosklerosis : Adanya penyempitan diameter pembuluh darah akibat penumpukan jaringan fibrous (plaque) yang makin lama makin besar. Hal ini berakibat terganggunya sirkulasi darah kepada organ yang membutuhkan sehingga kebutuhan oksigen dan nutrisi sel terganggu. Contoh penyakit yang berhubungan dengan masalah ini adalah angina pectoris, mesenterik angina, dan lain sebagainya (Olford, 2005).

Angina pectoris ditunjukkan dengan perasaan tidak nyaman pada daerah retrosternal dan menyebar ke daerah lengan kanan yang kadang-kadang disalah artikan sebagai gejala dyspnea. Angina pectoris timbul setelah melakukan kerja berat dan diobati dengan beristirahat atau terapi nitrat. Jika angina pectoris berlanjut dan terjadi berulang-ulang dapat berlanjut kepada infark myocard (serangan jantung) (Necel,2009).

Stroke merupakan kelanjutan dari adanya sumbatan pada pembuluh darah otak. Akibatnya sel-sel otak mengalami iskemia dan mengalami gangguan dalam hal fungsinya. Penyakit vaskuler perifer meliputi perasaan pegal,

impotensi, luka yang tak kunjung sembuh dan infeksi pada daerah ekstremitas. Perasaan pegal ini meningkat setelah berolahraga dan sembuh ketika beristirahat. Perasaan ini dapat diikuti dengan kulit kepuccatan atau kesemutan (Necel,2009).

Iskemia pada organ-organ visceral berakibat pada kerusakan susunan dan fungsi dari organ yang terkena. Mesenterik angina ditandai dengan sakit pada epigastrium atau periumbilikal setelah makan dan dianalogkan dengan hematemesis, diare, defisiensi nutrisi, atau berkurangnya berat badan. Aneurisme pada aorta abdominalis dimana aorta abdominalis mengalami kerusakan sehingga membesar menimbulkan sebuah benjolan pada dinding luar aorta abdominalis (Necel,2009).

2.3.10. Terapi Aterosklerosis

Pencegahan dan pengobatan dari pengendalian atherosklerosis dari faktor resiko yang telah diketahui untuk penyakit tersebut. Didalamnya termasuk pengobatan untuk hipertensi, hyperlipidemia, DM, dan kebiasaan merokok (University of Maryland, 2003). Perubahan gaya hidup dapat meningkatkan kerja pembuluh arteri. Dokter memiliki beberapa tipe pengobatan untuk memperlambat atau mengatasi pengaruh arteriosklerosis dan atherosclerosis: Obat Penurun-kolesterol (Necel, 2009). Obat ini mengandung statin dan fibrate dan diberikan dengan dosis tertentu; Pengobatan anti-platelet. Aspirin merupakan salah satu contoh dari tipe obat ini – digunakan untuk mengurangi kemungkinan penggumpalan kepingan darah pada atherosklerosis, terbentuknya bekuan darah, dan terjadinya sumbatan pada pembuluh darah; Antikoagulan. Seperti Heparin atau Warfarin (Komadin). Digunakan untuk mengencerkan darah dan mencegah pembekuan untuk pembentukan arteri dan aliran darah yang

mengalami sumbatan; Vasodilatasi Otot pembuluh darah. Vasodilator seperti Prostaglandin, dapat mencegah penebalan otot pada dinding arteri dan menghentikan penyempitan arteri. Tapi efek dari obat ini kuat dan biasanya hanya digunakan ketika obat lain tidak bekerja (Necel, 2009).

Pengobatan lainnya. Dapat disarankan beberapa pengobatan untuk mengontrol factor resiko, seperti diabetes, tekanan darah tinggi dan level homocysteine yang tinggi. Dapat juga disarankan obat spesifik untuk gejala tertentu, seperti claudicasi yang intermittent (Necel, 2009).

2.3.11. Pencegahan Aterosklerosis

Mengontrol faktor resiko melalui perubahan pola hidup dapat mencegah atau memperlambat kemajuan dari penyakit ini diantaranya:1 Banyaklah bergerak. Olah raga yang tepat dapat mengkondisikan otot untuk menggunakan oksigen secara efisien. Aktivitas fisik juga dapat meningkatkan sirkulasi dan perkembangan dari pembuluh darah kolateral – pembuluh darah yang baru terbentuk secara alami (natural bypass) diantara obstruksi, untuk suplai darah agar dapat mencapai daerah-daerah perifer seperti lengan dan kaki. Berhenti Merokok. Merokok memberikan kontribusi dan kerusakan dari arteri. Berhenti merokok adalah hal yang paling terpenting yang dapat mengurangi kemajuan dari sumbatan dan mengurangi resiko terhadap komplikasi. Asupan makanan sehat untuk mempertahankan berat ideal. Diet sehat untuk jantung dapat menolong mengontrol berat badan, tekanan darah dan tingkat kolesterol, yang mana kesemuanya memberikan kontribusi terjadinya atherosclerosis (Necel, 2009). Menjaga kadar kolesterol, tekanan darah dan diabetes dibawah kontrol. Konsultasi dengan dokter jika memerlukan bantuan untuk menjaga kadar kolesterol, tekanan darah atau diabetes pada saat check up. Dokter akan

menuliskan resep obat baru atau memberikan saran treatment untuk mengatasi gejala dari penyakit tersebut (Necel, 2009).

Perawatan kaki juga sangat esensial untuk mereka yang mengalami aterosklerosis pada bagian perifer seperti pada kaki atau tangan. Gunakan sepatu dengan ukuran yang tepat. Luka atau goresan membutuhkan perhatian segera karena penurunan sirkulasi yang berarti bahwa jaringan disembuhkan secara lebih perlahan. Jika tidak mendapatkan perlakuan pengobatan, bahkan pada luka kecil di kulit bagian bawah dari kaki dapat memicu infeksi (Necel, 2009).

2.3.12. Komplikasi Aterosklerosis

Aterosklerosis dapat menimbulkan komplikasi (Guyton, 2006) : gagal jantung kongestif, syok kardiogenik, disfungsi otot palpitaris, defek septum ventrikel, ruptur jantung, aneuisma ventrikel (tromboembolisme), perikarditis (sindrom Dessler) dan disritmia.

2.4. Metabolisme Lipid

Lipid plasma utama terdiri atas kolesterol, trigliserida, fosfolipid dan *free fatty acid*. Namun karena lipid ini bersifat hidrofobik maka sirkulasinya dalam darah adalah dalam bentuk kompleks lipid-protein atau lipoprotein. Plasma lipoprotein sendiri, berdasarkan densitasnya, terdiri atas: kilomikron, *VLDL*, *LDL* dan *HDL*. Komposisi dan fungsi dari tiap lipoprotein ini berbedabeda. Kandungan terbanyak dari *LDL*, misalnya, adalah kolesterol (50%) dan fosfolipid (25%), sedangkan kandungan terbanyak dari *HDL* adalah protein (50%) (Berenson, 1998).

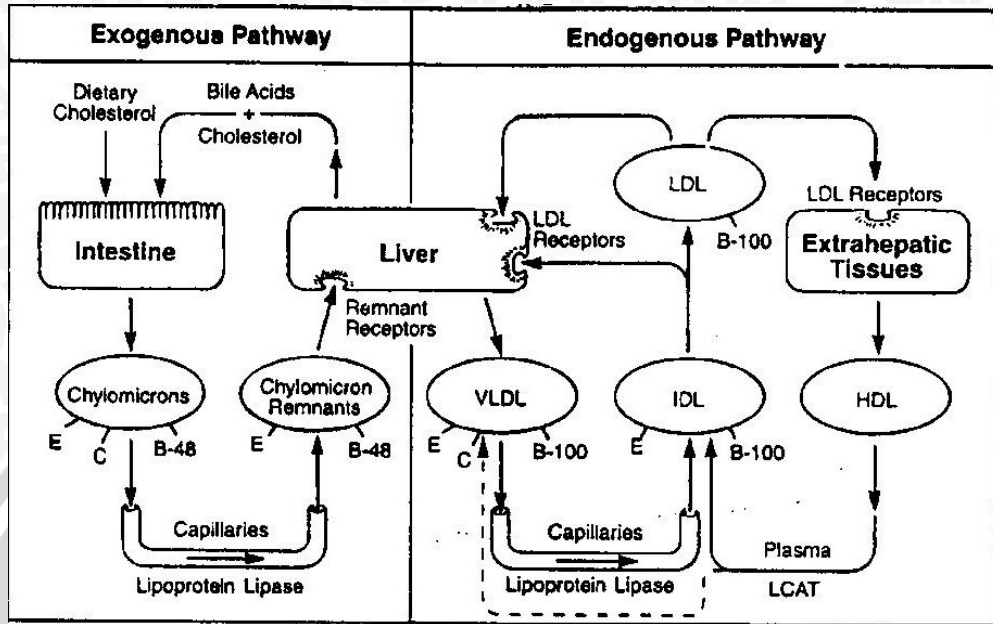
Metabolisme lipid dan lipoprotein pada dasarnya terbagi atas: (Troxler, 1998)

1. Extrahepatic pathway

Kolesterol dan *free fatty acid* yang masuk kedalam tubuh lewat asupan akan diserap di intestinal mikrovili dimana mereka akan dirubah menjadi kolesterol ester dan trigliserida. Kedua zat ini kemudian dikemas dalam bentuk kilomikron dan disekresi kedalam sistem limfatik dan memasuki sirkulasi sistemik. Dikapiler jaringan lemak dan otot, trigliserida mengalami hidrolisis menjadi mono dan diglyserida. Akibatnya, ukuran kilomikron menjadi berkurang dan karenanya ditransfer menjadi HDL. Kilomikron yang tersisa, meskipun mengalami penurunan volume, masih tetap mengandung kolesterol dan trigliserida yang berpotensi menimbulkan atherogenik. Kilomikron ini kemudian dikeluarkan dari sistem sirkulasi oleh hepar, meskipun sebagian kolesterol disekresi sebagai asam empedu kedalam kantung empedu.

2. Endogenous pathway

Jalan ini dimulai dengan sintesa *VLDL* oleh hepar yang kemudian disirkulasikan ke jaringan lemak dan otot. Trigliserida yang ada pada zat ini kemudian diambil oleh lemak dan otot sekitar, sedangkan komponen permukaannya ditransfer ke bentuk HDL. Sekitar 50% dari *VLDL* dikeluarkan oleh hepar melalui LDL reseptor. Selain itu, hepar juga dapat mengeluarkan *LDL* (suatu lipoprotein yang mengandung kolesterol ester dan *apoprotein B-100*). *HDL* sendiri merupakan suatu lipoprotein yang disintesa di hepar dan intestinum dan terdiri atas 50% protein dan 20% kolesterol. *HDL* ini bersifat protektif terhadap aterosklerosis.



Gambar 2.6 Metabolisme lipid dan lipoprotein (Troxler, 1998).

Sesaat setelah terjadinya peningkatan kadar LDL dan atau kolesterol, sejumlah monosit akan melekat pada permukaan endotel arteri dan selanjutnya melakukan migrasi kedalam ruangan subendotel. Setelah berbulan-bulan akan terjadi penumpukan kolesterol dan makrofag dalam ruangan subendotel ini dan disebut *foam cell*. *Foam sell* yang bertumpuk kemudian akan menimbulkan *fatty streak*. Sejalan dengan peningkatan kadar kolesterol, sejumlah sel otot halus muncul pada permukaan subendotel. Sel otot halus ini kemudian secara progresif memproduksi kolagen dan membentuk *fibrous cap* di atas inti lemak dari lesi. Kolagen yang terbentuk secara terus menerus kemudian menimbulkan bentuk athresclerotik yang disebut fibrous plaque (Troxler, 1998).

Kestabilan *plaque* sangat menentukan apakah lesi aterosklerosis ini akan menimbulkan kelainan kardiovaskuler. *Plaque* yang stabil merupakan hasil langsung dari kemampuan sel otot halus untuk memproduksi kolagen dan membentuk *fibrous cap*. *Plaque* yang stabil adalah *plaque* yang memiliki *fibrous*

cap yang tebal yang menghalangi inti lemak kontak dengan darah. Sedangkan *plaque* yang tidak stabil adalah *plaque* yang mengandung inti lemak yang tebal atau banyak ditutupi oleh *fibrous cap* yang tipis. Adanya *flow shear stress*, hipertensi dan hiperlipidemia akan mengiritasi atau menimbulkan *fissura/rupture* dari *plaque* yang ada dan selanjutnya menimbulkan kondisi aterogenik berupa *agregasi platelet* dan trombus. Keadaan ini menimbulkan sumbatan atau obstruksi yang signifikan terhadap vaskularisasi koroner dan menimbulkan manifestasi klinis penyakit kardiovaskuler (Chien, 2003).

2.5. HDL (High Density Lipoprotein)

Lipid plasma utama terdiri atas kolesterol, trigliserida, fosfolipid dan *Free fatty acid*. Lipid ini bersifat hidrofobik oleh karena itu sirkulasinya dalam darah adalah dalam bentuk kompleks lipid-protein atau lipoprotein. Plasma lipoprotein sendiri berdasarkan densitasnya, terdiri atas kilomikron, VLDL, LDL dan HDL (Oentoseno, 2006). *High Density Lipoprotein* (HDL) yang disebut juga α -lipoprotein merupakan molekul lipoprotein yang paling kecil dengan diameter 8-11 nm, mempunyai berat jenis paling besar dengan inti lipid paling kecil (Murray, 2003). Fraksi HDL dalam plasma bervariasi dalam ukuran, bentuk, komposisi, dan muatan listrik pada permukaannya. Partikel HDL bila dilihat dengan mikroskop elektron akan tampak sebagai partikel sferis atau diskoidal. Pada plasma normal kebanyakan berbentuk sferis (Rader, 2006). Unsur lipid yang dominan pada molekul ini adalah kolesterol dan fosfolipid. HDL berfungsi sebagai tempat penyimpanan apolipoprotein C dan apolipoprotein E yang dibutuhkan dalam metabolisme kilomikron dan VLDL (Murray, 2003). HDL berperan pada proses *Reverse Cholesterol Transport* (RCT) atau pengangkutan balik kolesterol, di mana HDL dapat meningkatkan efluks kelebihan kolesterol dari jaringan perifer

dan mengembalikan ke hati untuk diekskresikan melalui empedu. Selain itu, HDL diduga memiliki efek antiaterogenik, antara lain: menghambat oksidasi *Low Density Lipoprotein* (LDL), menghambat inflamasi endotel, meningkatkan produksi nitrit oksida endotel, meningkatkan bioavailabilitas prostasiklin, dan menghambat koagulasi dan agregasi 8 platelet. Namun, mekanisme molekular terhadap efek tersebut belum dapat dijelaskan (Rader, 2006).

2.6. Interleukin – 8

Proses patogenesis dari aterosklerosis dapat dibagi menjadi 3 tahapan yang terdiri dari pembentukan *fatty streak*, perkembangan plak fibrosa lebih lanjut dan trombosis. Pada tahap awal, dapat terjadi peningkatan permeabilitas vaskular dan pergerakan partikel-partikel LDL menuju bagian subendotelial pada pembuluh darah. LDL yang teroksidasi membentuk partikel teroksidasi menjadi lipid teroksidasi bioaktif. Beberapa di antaranya menginduksi respon inflamasi. Aktivitas tersebut menginduksi ekspresi faktor-faktor kemotaktik (MCP-1, Fractalkine dan Rantes) dan molekul-molekul adhesi (P-selectin, ICAM, VCAM-1, Cs-1, an fibronektin) dari sel-sel endotelial yang memfasilitasi perpindahan monosit dan proses *uptakenya*. Pada keadaan ini terdapat pula kenaikan faktor-faktor diferensiasi monosit (M-CSF, IL-8, GM-CSF). Secara simultan, aktivitas limfosit terdorong oleh faktor-faktor kemotaktik. Makrofag dan limfosit memproduksi ROS (*Reactive Oxygen Species*), yang menyebabkan kerusakan oksidatif lebih lanjut dan uptake makrofag terhadap LDL teroksidasi melalui reseptor-reseptor *scavenger* (CD36, SRA-1, dan LOX1). Pembentukan sel busa terjadi dan tentunya menyebabkan terbentuknya *fatty streak*. Aktivitas ini difasilitasi dari penurunan pelepasan kolesterol dari makrofag melalui ABCA-1

dan ABCG-1. Keseluruhan aktivitas ini dapat disebut sebagai permulaan “*response to injury*” (Holtzman, 2008).

Sitokin interleukin-8 (IL-8) adalah instrument dalam perkembangan respon selular yang menandai inflamasi. dan harus dijadikan target reaksi bagi perkembangan efektivitas obat antiinflamasi. Selain itu, ketertarikan terhadap kemokin beberapa waktu belakangan ini berasal dari kemungkinan untuk memahami, untuk pertama kalinya, alasan mengapa suatu keadaan patologis ditandai dengan adanya akumulasi subtype leukosit tertentu. (Holtzman, 2008).

Interleukin-8 dihasilkan oleh sel-sel monosit atau makrofag, sel T, neutrofil, fibroblas, sel-sel endotel dan sel-sel epitel. Sel-sel target untuk interleukin-8 di antaranya neutrofil, sel T, makrofag atau monosit, sel-sel endotel dan basofil. Interleukin-8 berfungsi untuk induksi migrasi neutrofil, monosit dan sel T. Selain itu IL-8 juga berfungsi untuk menginduksi perlekatan neutrofil pada sel-sel endotel, menginduksi produksi histamin dari basofil dan menstimulasi angiogenesis. IL-8 dapat pula mensupresi proliferasi prekursor-prekursor di hepar (Harrison, 2008).

2.7. Foam Cell

Pada aterosklerosis terjadi pathogenesis yang terdiri dari 3 stadium, terdiri dari pembentukan *fatty streak*, pembentukan plak fibrosa dan thrombosis. Foam cell mengawali pembentukan *fatty streak* ketika *initial stage*. Proses ini difasilitasi oleh penurunan aktivitas pelepasan kolesterol dari makrofag melalui ABCA-1 dan ABCG-1. Proses tersebut dapat disebut dengan respon awal terhadap *injury*. Selanjutnya pada stadium pembentukan plak fibrosa dapat pula terdapat pembentukan ‘*necrotic core*’ yang dibentuk oleh sel busa yang telah mati melalui proses nekrosis atau apoptosis. Nekrosis dan apoptosis juga

menyebabkan pembentukan lipid bioaktif teroksidasi, beberapa di antaranya mengalami aktivitas trombotik (Holtzman, 2008).

2.8. Hubungan antara *Annona squamosa*, Ateroslerosis dan HDL serta *Foam Cell*.

Dalam penelitian ditemukan bahwa gugus para hydroxyl yang terkandung dalam curcumin penting dalam aktivitas antiinflamasi. Penelitian terhadap substitusi simetris dari derivat curcumin ditemukan berpotensi dalam antiinflamasi, terutama yang memiliki kombinasi gugus 4-hydroxy dan gugus 3,5-di-(lower) alkyl. Gugus para hydroxyl inilah yang juga banyak ditemukan dalam squamosin *Annona squamosa*. Dengan demikian Diharapkan dapat menurunkan jumlah foam cell dan meningkatkan HDL pada aterosklerosis. Karena tahap pertama dalam perkembangan aterosklerosis adalah pembentukan sel busa (Frink, 2002) dan penurunan kadar kolesterol HDL merupakan faktor pendukung terjadinya aterosklerosis (Rondang, dkk., 2003).

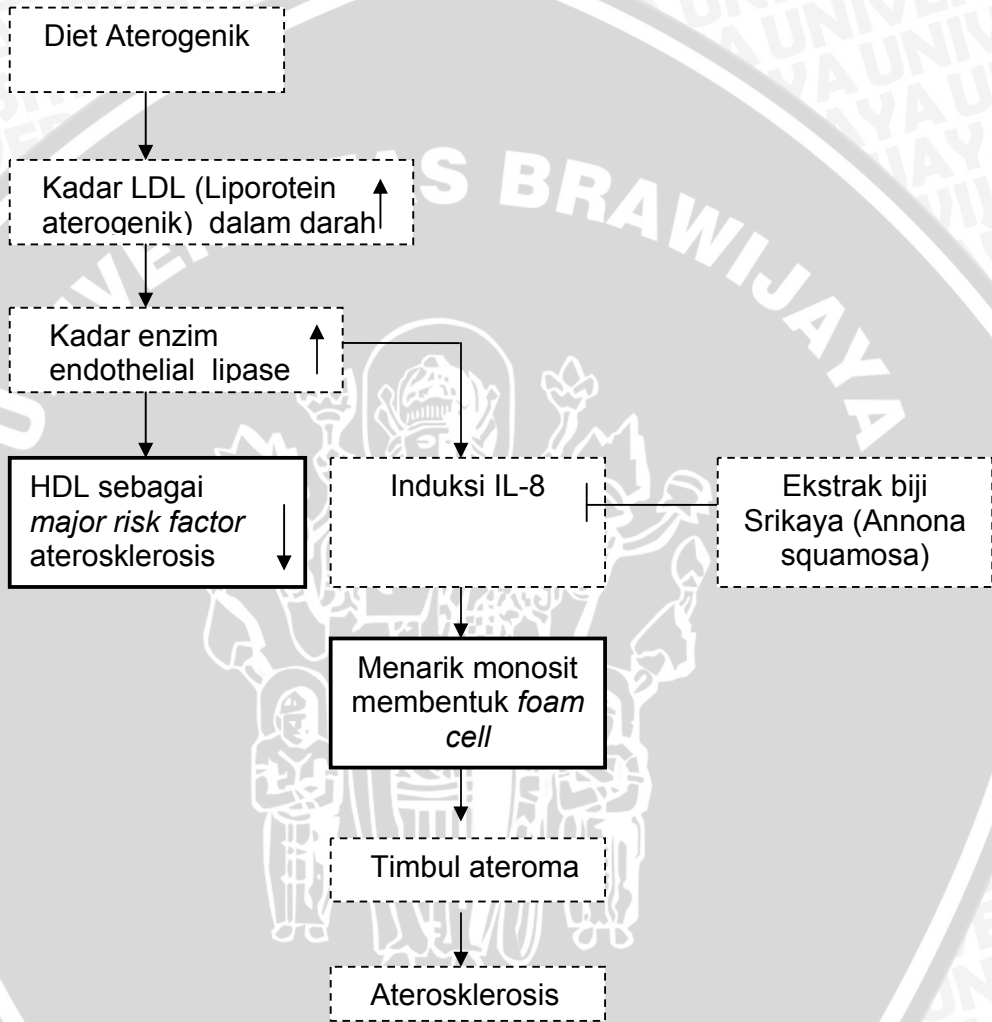
2.9. Diet Aterogenik

Diet aterogenik merupakan komposisi diet tinggi lemak dan tinggi kolesterol. Dari hasil penelitian menyebutkan bahwa komposisi pakan aterogenik untuk tikus putih (*Rattus novergicus* strain Wistar) adalah pakan yang ditambah kolesterol 1%, asam kolat 0,1% dan minyak babi 2,5%. Penelitian ini menggunakan PARS 50%, tepung terigu 225%, pemakaian kolesterol 0,1 %, minyak babi 2,5% dan sam kolat 0,1% yang bertujuan menginduksi peningkatan LDL kolesterol darah dan menurunkan kadar HDL kolesterol. Sedangkan fungsi dari asam kolat adalah untuk meningkatkan kadar kolesterol dan terbentuknya sel busa selama 8 minggu secara bermakna (Murwani, dkk, 2005).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:



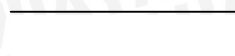
: Variabel yang diukur



: Variabel yang tidak



: Menyebabkan



: Menghambat

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Diet Aterogenik diberikan pada tikus untuk melakukan induksi aterosklerosis. Kegunaan asam cholat adalah untuk mempertahankan kadar kolesterol dalam darah sehingga tidak langsung mengalami metabolisme selanjutnya.

Peningkatan kadar kolesterol dalam darah ini diikuti dengan peningkatan kadar endothelial lipase. Kadar endothelial lipase yang meningkat menyebabkan reaksi berkebalikan dengan HDL sehingga kadar HDL akan menurun. Sebaliknya peningkatan endothelial lipase menginduksi produksi IL-8 yang berperan penting dalam pembentukan *foam cell*.

Dengan pemberian ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*), yang mengandung squamocin dengan efek antiinflamasi diharapkan ekspresi IL-8 terhambat dan mengurangi terbentuknya *foam cell*. Diharapkan pula terjadi peningkatan kadar HDL, dengan demikian terjadinya aterosklerosis dapat dicegah.

3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak biji srikaya dapat meningkatkan kadar HDL sebagai *major risk factor* terjadinya aterosklerosis dan mengurangi jumlah *foam cell* pada tikus (*Rattus novergicus*) yang diinduksi aterosklerosis.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian studi eksperimental *in vivo* pada hewan coba tikus wistar (*Rattus norvegicus*) dengan “*post test control group design*”, yaitu membandingkan hasil yang didapat setelah perlakuan dengan menggunakan control positif dan negatif.

Penelitian ini membagi sampel dalam lima kelompok perlakuan, yaitu:

- Kelompok kontrol negatif: Sampel dengan kondisi tanpa diet aterogenik dan tanpa diberikan ekstrak biji srikaya
- Kelompok kontrol positif: Sampel dengan diet aterogenik tanpa diberi ekstrak biji srikaya.
- Kelompok perlakuan I : Sampel dengan diet aterogenik yang diberi ekstrak biji srikaya konsentrasi I (0,5mg/gr BB).
- Kelompok perlakuan II : Sampel dengan diet aterogenik yang diberi ekstrak biji srikaya konsentrasi II (1 mg/gr BB)
- Kelompok perlakuan III : Sampel dengan diet aterogenik yang diberi ekstrak biji srikaya konsentrasi III (1,5 mg/gr BB)

4.2 Binatang Coba

4.2.1 Binatang Coba, Objek dan Teknik Randomisasi

Binatang coba yang digunakan adalah tikus jenis *Rattus Norvegicus*. Jenis kelamin tikus yang digunakan adalah tikus jantan yang sehat karena pada

tikus betina terdapat estrogen yang mempengaruhi metabolisme lemak dan kolesterol. Tikus yang digunakan berumur 6-8 minggu (Anshory, M., 2008).

Objek penelitian yang dipakai adalah tikus jenis *Rattus Norvegicus* jenis kelamin jantan, dewasa dengan umur 6-8 minggu. Teknik randomisasi untuk pengelompokan perlakuan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) atau *Randomized Completely Design* (RCD) mengingat baik hewan coba, bahan pakan, dan bahan penelitian lainnya dapat dikatakan homogen. Pada rancangan ini dimungkinkan setiap hewan coba berpeluang sama untuk mendapat kesempatan sebagai sampel baik dalam kelompok perlakuan maupun dalam kelompok kontrol.

4.2.2 Estimasi Jumlah Pengulangan

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini dihitung dengan rumus $p(n-1) > 15$ (Indra, 1999), dengan n sebagai jumlah sampel tiap perlakuan dan p jumlah perlakuan. Dalam rancangan penelitian ini diketahui jumlah perlakuan (p) = 5, maka dari hasil perhitungan didapatkan sampel yang digunakan adalah $n > 4$. Jadi sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah empat ekor tikus per kelompok sehingga jumlah keseluruhan tikus yang digunakan adalah 25 ekor.

Penelitian ini membagi sampel dalam lima kelompok perlakuan, yaitu, perhitungan besarnya pengulangan pemeriksaan pada sampel adalah mengikuti rumus sebagai berikut (Anshory, 2008):

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

Bila t : jumlah perlakuan, r : jumlah ulangan, maka pada penelitian ini jumlah pengulangan yang *favorable* adalah 4,75, sehingga jumlah sampel hewan coba yang digunakan untuk tiap kelompok perlakuan sebanyak 5.

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

$$r-1 \geq 15:4$$

$$r \geq 3.75 + 1$$

$$r \geq 4.75$$

4.2.3 Kriteria Eksklusi

Tikus yang selama penelitian tidak mau makan, tikus yang kondisinya menurun, sakit selama masa penelitian.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian per oral ekstrak biji Srikaya dengan dosis 0,5; 1; 1,5 mg/gBB. Penentuan dosis ini berdasarkan penelitian A.L. Bhatia, dkk pada tahun 2008. Pemberian per oral ekstrak biji Srikaya dengan sonde dilakukan selama 50 hari. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah jumlah foam cell pada aorta dan kadar HDL plasma tikus.

Variabel kendali adalah variabel yang dapat dikendalikan oleh peneliti agar objek penelitian selalu terkontrol dan dalam keadaan homogen. Variabel kendali dalam penelitian ini meliputi sebagai berikut.

1. Jenis tikus
2. Umur tikus
3. Jenis kelamin tikus
4. Berat badan awal
5. Pemberian diet atherogenik
6. Kondisi lingkungan kandang
7. Pemberian per oral ekstrak biji srikaya dengan sonde

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Eksperimen ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Maret sampai dengan Mei 2011.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat

1. Alat Pemeliharaan Binatang Coba
Kandang dari kotak plastik, tutup kandang dari anyaman kawat, botol air, rak tempat menaruh kandang. Satu kandang berisi satu ekor tikus.
2. Alat Pembuat Makanan Binatang Coba
Baskom plastik, timbangan, sarung tangan, gelas ukur.
3. Alat Pengambilan Sampel
Seperangkat alat bedah, spuit 5 ml, vacutainer, botol organ, kapas.

4.5.2 Bahan Penelitian

1. Bahan Makanan Tikus
Kebutuhan makanan tikus dewasa per-ekor setiap hari adalah 30 gram yang terdiri dari comfeed PAR-S, terigu dan air (standar). Untuk membuat diet aterogenik digunakan campuran comfeed PAR-S, terigu, kolesterol, asam cholat dan minyak babi.

Tabel 4.1. Komposisi Diet Aterogenik (Mutiani, 2005)

Comfeed PAR-S (900 gram)	Terigu (500 gram)	Kolesterol (30 gram)	Asam cholat (2 gram)	Minyak Babi (150 gram)
Energi = (900:100) x 344 = 3094 kal	Energi = (500:100) x 340 = 1700,5 kal	Total kalori dari kolesterol + asam cholat +minyak babi = (30+2+139,65) x 9 = 1544,85 kalori		
Protein = (900:100) x 19 = 171 gram	Protein = (500:100) x 11			
Lemak = (900:100) x 4 = 36 gram	Lemak = (500:100) x 0,9			
KH = (900:100) x 58 = 522 gram	KH = (500:100) x 72 = 360 gram			

Total diet aterogenik adalah, protein sebanyak 226 gram dengan kalori 904 kal. Lemak 212, 15 gram dengan kalori sebanyak 1909, 35 kal. Karbohidrat 882 gram dengan kalori 3528 kal. Energi total sebanyak 6341,35 kalori dan berat pakan total 1582 gram. Jumlah energi dalam 1 gram pakan adalah 4,03 kalori sehingga pakan yang diberikan setiap harinya adalah 26 gram (Mutiyani, 2005). Dari data di atas maka pembuatan ransum makanan tikus 26 gram dengan komposisi PAR-S 57%, tepung terigu 32%, Kolesterol 2%, asam cholat 0,13% dan minyak babi 8,8%. Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*)

Proses ekstraksi menggunakan 42 gram dari tepung daun kelor (*Moringa oleifera*) yang disuspensikan dalam methanol 96%. Ekstrak kemudian diaduk secara mekanis selama 12 jam dalam temperatur ruangan (25°C). Solid kemudian dipindahkan dengan sentrifugasi (4,000 g, 10 min) dan supernatan diambil. Hasil ekstrak kemudian disimpan pada suhu 4°C untuk proses lebih lanjut (Mutasim *et al.*,2010).

2. Bahan Penentuan kadar HDL-Kolesterol Metode CHOD - PAP

Reagensia: Reagen presipitan (dalam 250 ml aquadest) adalah:

Asam fosfat 1.4 mmol

Magnesium klorida 8.6 mmol/l

Pereaksi kolesterol : melihat total kolesterol

Sampel: Serum atau plasma EDTA

3. Bahan Pengamatan *Foam Cell*

Bahan yang dibutuhkan adalah 85% propylene glycol solution, 10% propylene glycol solution, 0,5% oil red O solution, 10% formalin, Meyer's hematoxylin solution, glycerin jelly dan aquades.

4.6 Definisi Operasional

1. Pemberian per oral ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*)

Perlakuan (Intervensi) adalah pemberian suplementasi ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*) 0, 0,5, 1, 1,5 mg/gBB/hari dengan cara dimasukkan per oral dengan sonde (Parvathy and Umamaheswari, 2007).

2. Tikus Wistar

Tikus yang digunakan adalah dari galur wistar dengan jenis kelamin jantan, berumur 6 – 8 minggu, dan berat badan \pm 200 gr, yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang.

3. Tikus yang diinduksi aterosklerosis

Tikus wistar diberi 30 g diet aterogenik dengan campuran seperti yang disebutkan di atas selama 50 hari sesuai dengan penelitian Rukmanasari tahun 2010.

4. Pengukuran kadar HDL.

Kadar HDL diukur dengan metode CHOP - PAP pada setiap kelompok tikus.

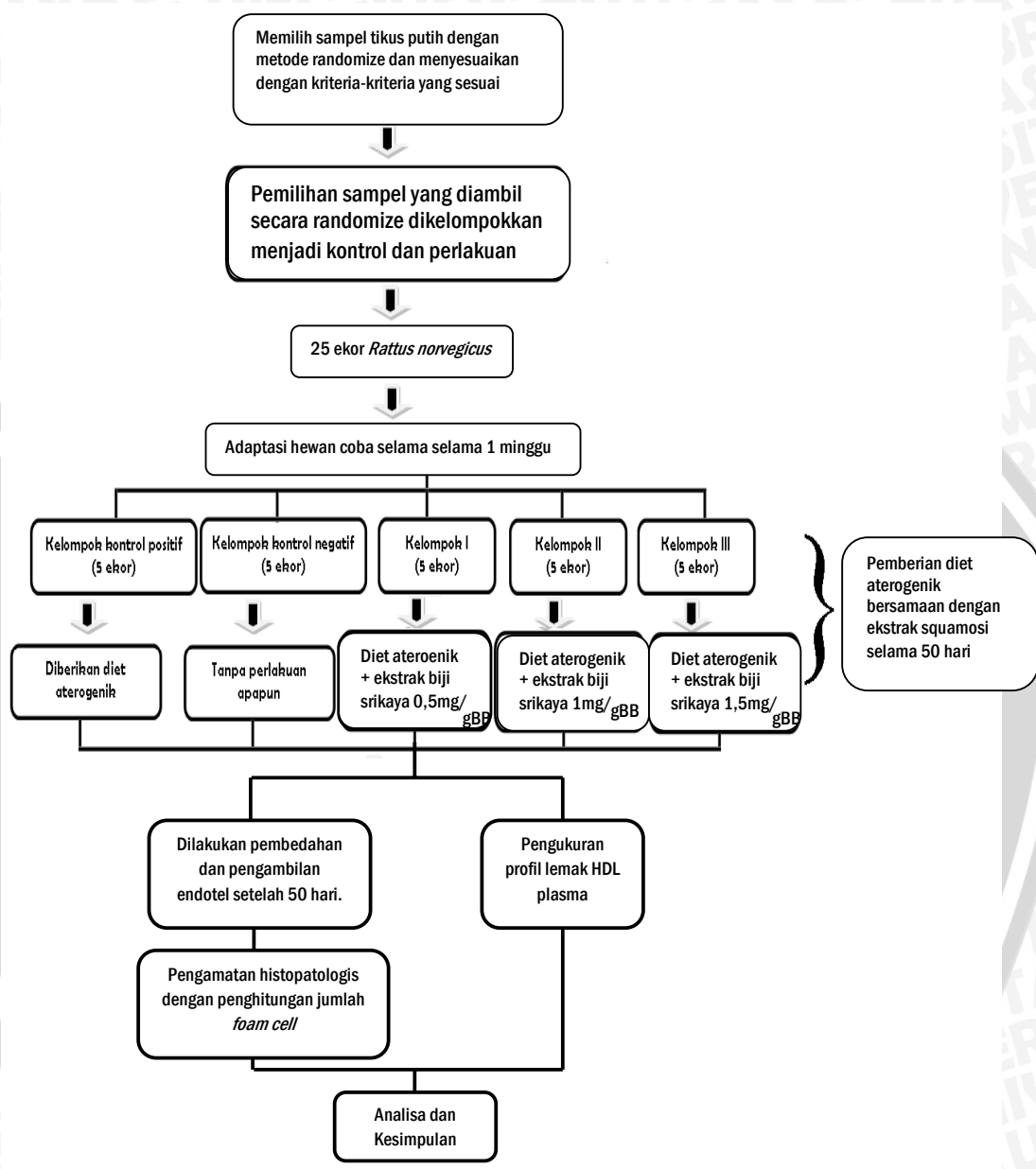
5. Penghitungan Jumlah *Foam Cell*

Foam cell diberikan pewarnaan HE lalu diamati di Laboratorium Patologi Anatomi untuk dilakukan penghitungan.

4.7 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh pengetahuan mengenai efek ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*) terhadap jumlah foam cell dan kadar HDL plasma tikus (*Rattus norvegicus*) wistar dengan diet aterogenik. Alur penelitian dapat dijelaskan melalui bagan berikut.





Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.7.1 Tikus yang diinduksi Aterosklerosis

Tikus wistar diberi diet aterogenik masing-masing sebanyak 40 gram. Pemberian diet aterogenik dilakukan selama 50 hari bersamaan dengan pemberian ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa*). Setelah 50 hari, dieuthanasia untuk melihat adanya perubahan jumlah foam cell pada aorta dan perubahan kadar HDL plasma.

4.7.3 Perlakuan

4.7.3.1 Pemeliharaan

Dalam masa ini, kelima kelompok tikus mendapat perlakuan yang berbeda. Untuk kelompok II (kontrol negatif) tikus hanya diberi pakan normal (standar) saja. Kelompok perlakuan I,III hingga V diberi diet aterogenik sebanyak 40 gram / hari. Selain itu, kelompok I diberi diet aterogenik tanpa pemberian ekstrak biji Srikaya. Sedangkan, kelompok III diberi ekstrak biji Srikaya dengan dosis 0,5 mg/gBB/hari dengan sonde + diet aterogenik. Kelompok IV diberi ekstrak biji Srikaya dengan dosis 1 mg/gBB/hari dengan sonde + diet aterogenik. Kelompok V diberi ekstrak biji Srikaya dengan dosis 1,5 mg/gBB/hari dengan sonde + diet aterogenik. Semua pakan di atas diberikan selama 50 hari.

4.7.3.2 Pembedahan

Pemeriksaan jumlah foam cell dan kadar HDL pada eksperimen ini memerlukan pembuluh aorta dan plasma darah sehingga membutuhkan tindakan pembedahan. Karena itu, setelah pemeliharaan selama 50 hari, tikus dieuthanasia dengan cara pembiusan eter. Abdomen dibuka, setelah itu pembuluh aorta diambil untuk dibuat sediaan. Darah sebanyak 2 cc juga diambil dari jantung untuk dilakukan pengukuran kadar HDL. Untuk pembuluh darah

aorta akan dilakukan pewarnaan dengan HE kemudian dilakukan pengambilan gambar melalui mikroskop untuk kemudian dilakukan penghitungan. Setelah penelitian, tikus dikuburkan di tempat yang aman oleh petugas.

4.8 . Pengumpulan dan Analisis Data

4.8.1. Pengumpulan Data

Pengumpulan data pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Diberikan diet ekstrak biji buah sriksya (*Annona squamosa* L.) bersamaan dengan pemberian diet aterogenik dengan dosis yang berbeda-beda untuk masing-masing kelompok perlakuan
- b. Setelah diberikan diet aterogenik dan perlakuan pada masing-masing kelompok selama 50 hari, kemudian dieuthanasia, dibedah, diambil aortanya untuk dilihat gambaran histopatologi pembuluh darah
- c. Sediaan aorta dibagi menjadi empat lapang pandang, kemudian dihitung *foam cell* pada semua pembuluh darah aorta pada setiap lapangan pandang dan dihitung reratanya
- d. Setelah dibedah diambil darah dari jantung untuk diukur kadar HDL plasma pada tikus.

4.8.2. Analisa Data

Pengambilan data dan analisa data dilakukan pada setiap 2 minggu dan akhir pemberian terapi (setelah 8 minggu). Analisis dilakukan terhadap dua hal, yaitu pengukuran profil lemak dan gambaran jumlah *foam cell* pembuluh darah. Untuk mengetahui perbedaan rata-rata kadar kolesterol LDL-HDL dan jumlah *foam cell* antara kelompok kontrol dengan perlakuan digunakan uji statistik *one way Anova*. Jika ada perbedaan

dilanjutkan dengan uji Post Tukey HSD untuk mengetahui pasangan data yang berbeda (untuk melihat perbedaan dari tiap kelompok). Penelitian ini bermakna bila nilai $p < 0.05$ dan hipotesis yang menyatakan bahwa ekstrak biji semangka bisa menurunkan LDL dan *foam cell* pada Rattus norvegicus yang dipapar diet aterogenik. Namun, apabila $p > 0.05$ berarti hipotesis tersebut ditolak.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Karakteristik Sampel

Pada penelitian ini sampel tikus percobaan memiliki data karakteristik sebagai berikut, *Rattus norvegicus strain wistar* dengan jenis kelamin jantan pada masing – masing taraf perlakuan meliputi umur 7-9 minggu dan berat badan (gram) seperti pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Karakteristik Tikus Percobaan

Kelompok	Variabel	
	Berat Badan (Gram)	
N Kontrol negatif (Diet Standar)	223,60	± 19,46
C Kontrol positif (Diet Aterogenik)	241,60	± 14,05
EA Diet aterogenik + ekstrak biji srikaya 100 mg	219,00	± 13,80
EB Diet aterogenik + ekstrak biji srikaya 200 mg	236,80	± 28,44
EC Diet aterogenik + ekstrak biji srikaya 300 mg	252,80	± 18,99
p value		0,167

Tabel 5.1. memperlihatkan bahwa karakteristik tikus yang meliputi umur dan berat badan pada awal penelitian telah sesuai dengan kriteria inklusi. Pada hasil uji statistik *One Way ANOVA* berat badan tikus pada kelima kelompok perlakuan bersifat homogen karena tidak ada perbedaan yang signifikan dengan nilai $p=0,167$.

5.2 Pakan Tikus Percobaan pada Diet Normal dan Diet Aterogenik

Komposisi zat gizi yang terkandung dalam pakan tikus percobaan, pada diet normal dan diet aterogenik terdapat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Komposisi Zat Gizi pada Pakan Tikus Percobaan (per 30 gram pakan)

Kelompok Diet	Zat Gizi						
	Energi (Kalori)	Protein		Lemak		Karbohidrat	
		g	%	G	%	g	%
Normal	102,74	4,84	16,14	0,87	2,89	24,29	80,97
Aterogenik	120,21	4,28	14,28	4,02	13,41	21,70	72,31

Tabel 5.2. menunjukkan bahwa total energi yang terkandung pada pakan tikus dengan diet normal sebesar 102,74 kal/hari dan diet aterogenik sebesar 120,21 kal/hari, sedangkan komposisi protein, lemak, dan karbohidrat masing-masing yaitu sebesar 16,14%, 2,89%, 80,97% per 30 gram pada diet normal, dan untuk diet aterogenik masing-masing sebesar 14,28%, 13,41%, 72,31% per 30 gram diet aterogenik. Dari pakan yang diberikan terlihat bahwa energi yang terdapat pada diet aterogenik relatif lebih tinggi dibandingkan diet normal. Pemberian pakan pada tikus percobaan disesuaikan pada beberapa penelitian yang pernah dilakukan diketahui bahwa kebutuhan makanan tikus dewasa per ekor setiap hari adalah 30 gram (tanpa komposisi air).

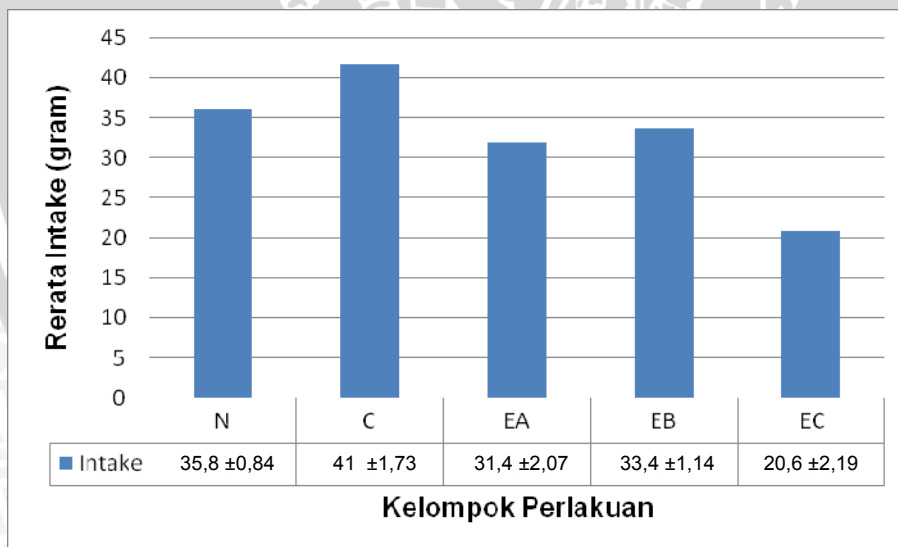
5.3 Intake dan Zat Gizi Tikus Percobaan

5.3.1 Intake

Rerata intake tikus percobaan pada masing-masing kelompok perlakuan terdapat pada Gambar 5.1

Tabel 5.3 Mean dan Standar Deviasi Intake Masing-masing Kelompok

Kelompok	Mean	Standar Deviasi
N	35,8	±0,84
C	41	±1,73
EA	31,4	±2,07
EB	33,4	±1,14
EC	20,6	±2,19



$p = 0,0001$ ($p < 0,05$)

Gambar 5.1 Rerata Intake Tikus Percobaan pada Masing-masing Kelompok Perlakuan

Gambar 5.1. menunjukkan bahwa rerata intake tertinggi pada kelompok diet Kontrol (C) yaitu $41 \pm 1,73$ gram/hari, sedangkan intake

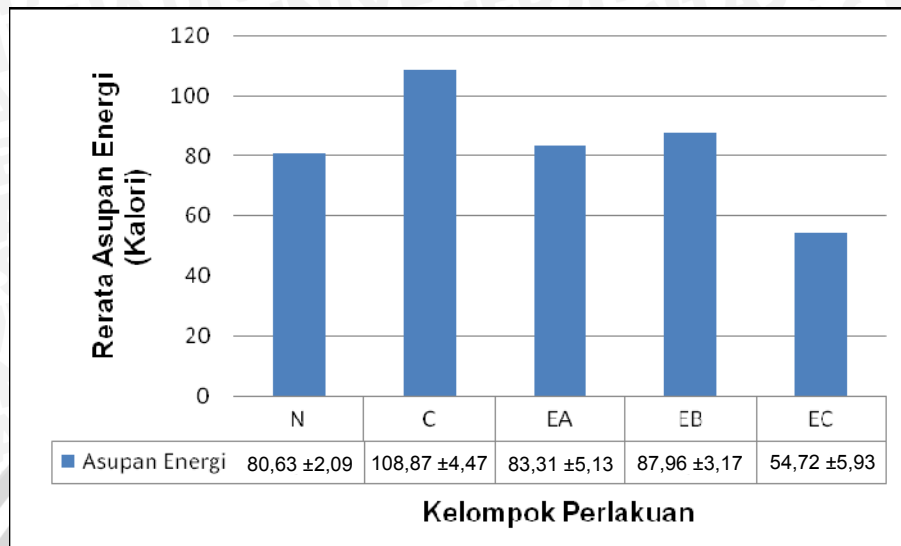
terendah pada diet aterogenik + ekstrak biji Srikaya 1,5 mg/gBB (EC) yaitu $20,6 \pm 2,19$ gram/hari. Hasil uji statistik *One Way ANOVA* pada 4 kelompok yang diberi diet aterogenik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan adanya perbedaan intake yang signifikan $p=0,000$ ($p<0,05$) antar ke-4 kelompok tersebut (Lampiran 15).

5.3.2 Energi

Rerata asupan energi tikus percobaan pada masing-masing kelompok perlakuan terdapat pada Gambar 5.2

Tabel 5.4 Mean dan Standar Deviasi Asupan Energi Masing-masing

Kelompok		
Kelompok	Mean	Standar Deviasi
N	80,63	$\pm 2,09$
C	108,87	$\pm 4,47$
EA	83,31	$\pm 5,13$
EB	87,96	$\pm 3,17$
EC	54,72	$\pm 5,93$



$p = 0,0001$ ($p < 0,05$)

Gambar 5.2 Rerata Asupan Energi Tikus Percobaan pada Masing-masing Kelompok Perlakuan

Gambar 5.2. menunjukkan bahwa rerata intake tertinggi pada kelompok diet Kontrol (C) yaitu $108,87 \pm 4,47$ kalori/hari, sedangkan asupan terendah pada diet aterogenik + ekstrak biji Srikaya 1,5 mg/gBB (EC) yaitu $54,72 \pm 5,93$ kalori/hari. Hasil uji statistik *One Way ANOVA* pada 4 kelompok yang diberi diet aterogenik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan $p=0,000$ ($p < 0,05$) antar ke-4 kelompok tersebut (Lampiran 6)

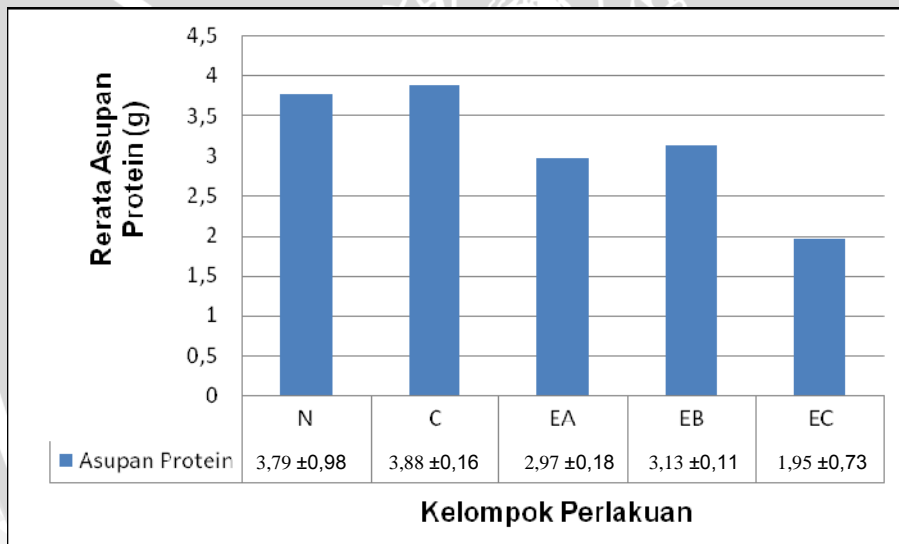
5.3.3 Protein

Rerata asupan protein tikus percobaan pada masing-masing kelompok perlakuan terdapat pada Gambar 5.3.

Tabel 5.5 Mean dan Standar Deviasi Asupan Protein Masing-masing

Kelompok

Kelompok	Mean	Standar Deviasi
N	3,79	±0,98
C	3,88	±0,16
EA	2,97	±0,18
EB	3,13	±0,11
EC	1,95	±0,73



$p = 0,0001 (p < 0,05)$

Gambar 5.3 Rerata Asupan Protein Tikus Percobaan pada Masing-masing Kelompok Perlakuan

Gambar 5.3. menunjukkan rerata asupan protein pada masing-masing kelompok dimana asupan protein tertinggi pada kelompok diet Kontrol (C) yaitu $3,88 \pm 0,16$ gram/hari, sedangkan asupan protein terendah pada kelompok diet aterogenik + ekstrak biji Srikaya 1,5 mg/gBB (EC) yaitu $1,95 \pm 0,21$ gram/hari. Hasil uji statistik *One Way ANOVA* pada 4 kelompok yang diberi diet aterogenik

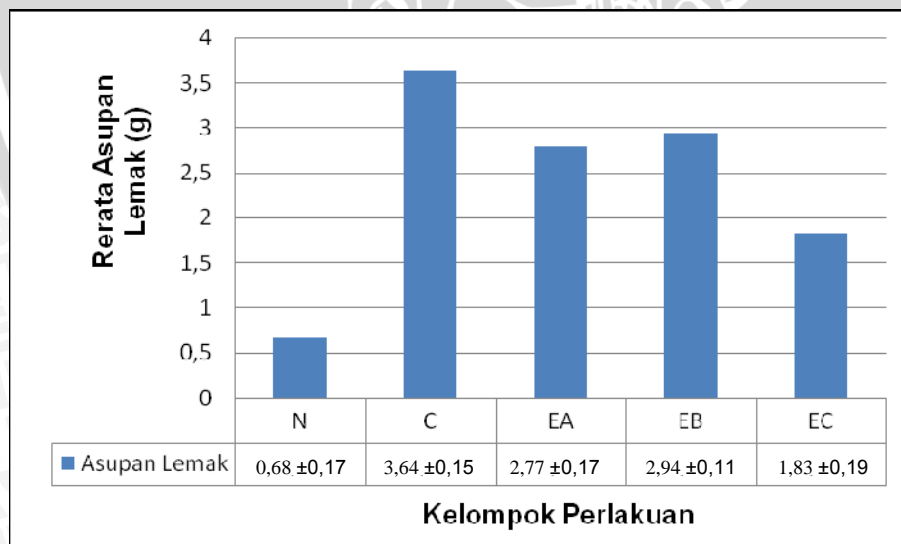
pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan adanya perbedaan asupan protein yang signifikan $p=0,000$ ($p<0,05$) antar ke-4 kelompok tersebut (Lampiran 7)

5.3.4 Lemak

Rerata asupan lemak tikus percobaan pada masing-masing kelompok perlakuan terdapat pada Gambar 5.4.

Tabel 5.6 Mean dan Standar Deviasi Asupan Lemak Masing-masing Kelompok

Kelompok	Mean	Standar Deviasi
N	0,68	$\pm 0,17$
C	3,64	$\pm 0,15$
EA	2,77	$\pm 0,17$
EB	2,94	$\pm 0,11$
EC	1,83	$\pm 0,19$



$p = 0,0001$ ($p<0,05$)

Gambar 5.4 Rerata Asupan Lemak Tikus Percobaan pada masing-masing Kelompok Perlakuan

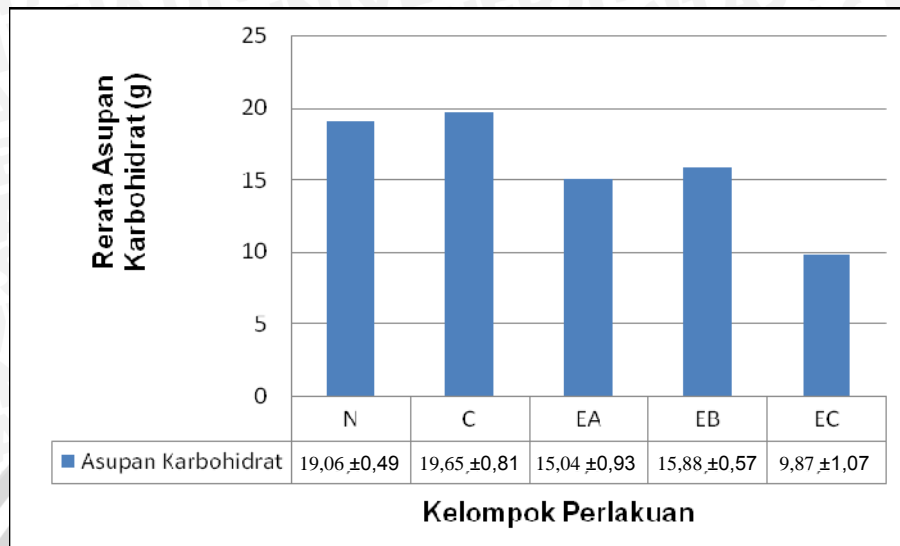
Gambar 5.4. menunjukkan rerata asupan lemak pada masing-masing kelompok, dimana asupan lemak tertinggi pada kelompok diet Kontrol (C) yaitu $3,64 \pm 0,15$ gram/hari, sedangkan asupan lemak terendah pada kelompok diet aterogenik + ekstrak biji Srikaya 1,5 mg/gBB (EC) yaitu $1,83 \pm 0,19$ gram/hari. Hasil uji statistik *One Way ANOVA* pada 4 kelompok yang diberi diet aterogenik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan adanya perbedaan asupan lemak yang signifikan $p=0,000$ ($p<0,05$) antar ke-4 kelompok tersebut (Lampiran 8)

5.3.5 Karbohidrat

Rerata asupan karbohidrat tikus percobaan pada masing-masing kelompok perlakuan terdapat pada Gambar 5.4.

Tabel 5.7 Mean dan Standar Deviasi Asupan Karbohidrat Masing-masing

Kelompok		
Kelompok	Mean	Standar Deviasi
N	19,06	$\pm 0,49$
C	19,65	$\pm 0,81$
EA	15,04	$\pm 0,93$
EB	15,88	$\pm 0,57$
EC	9,87	$\pm 1,07$



$p = 0,0001$ ($p < 0,05$)

Gambar 5.5 Rerata Asupan Karbohidrat Tikus Percobaan pada Masing-masing Kelompok Perlakuan

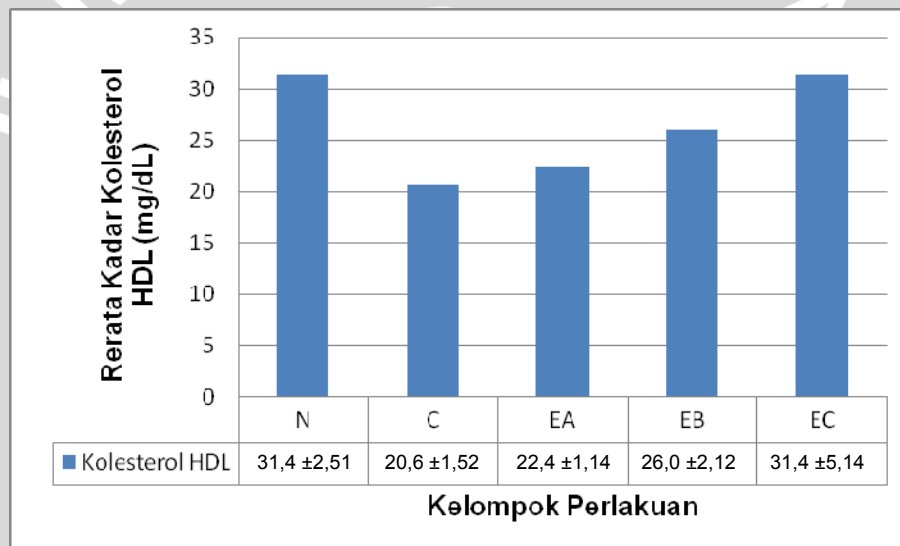
Gambar 5.5. menunjukkan rerata asupan karbohidrat pada masing-masing kelompok, dimana asupan karbohidrat tertinggi pada kelompok diet Kontrol (C) yaitu $19,65 \pm 0,80$ gram/hari, sedangkan asupan lemak terendah pada kelompok diet aterogenik + ekstrak biji Srikaya 1,5 mg/gBB (EC) yaitu $9,88 \pm 1,07$ gram/hari. Hasil uji statistik *One Way ANOVA* pada 4 kelompok yang diberi diet aterogenik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan adanya perbedaan asupan karbohidrat yang signifikan $p=0,000$ ($p < 0,05$) antar ke-4 kelompok tersebut (Lampiran 8)

5.4 Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Kenaikan Kadar Kolesterol HDL

Pemeriksaan kadar plasma Kolesterol HDL dilakukan pada akhir percobaan. Kadar Kolesterol HDL tikus percobaan pada masing-masing kelompok perlakuan terdapat pada gambar 5.6.

Tabel 5.8 Mean dan Standar Kadar HDL Deviasi Masing-masing Kelompok

Kelompok	Mean	Standar Deviasi
N	31,4	±2,51
C	20,6	±1,52
EA	22,4	±1,14
EB	26,00	±2,12
EC	31,4	±5,14



$p = 0,0001$ ($p < 0,05$)

Gambar 5.6 Rerata Kadar Plasma Kolesterol HDL Tikus Percobaan pada Masing-masing Perlakuan

Gambar 5.6 menunjukkan rerata kadar kolesterol HDL tertinggi terdapat pada Kelompok Diet Aterogenik + Ekstrak biji Srikaya 1,5 mg/gBB yaitu 31,4 mg/dL ± 4,45 mg/dL, sedangkan kadar kolesterol HDL yang terendah terdapat pada kontrol positif yaitu 20,6 mg/dL ± 2,12 mg/dL. Hasil uji statistik *One way ANOVA* pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar kolesterol HDL yang signifikan ($p=0.0001$) antar tiap kelompok perlakuan

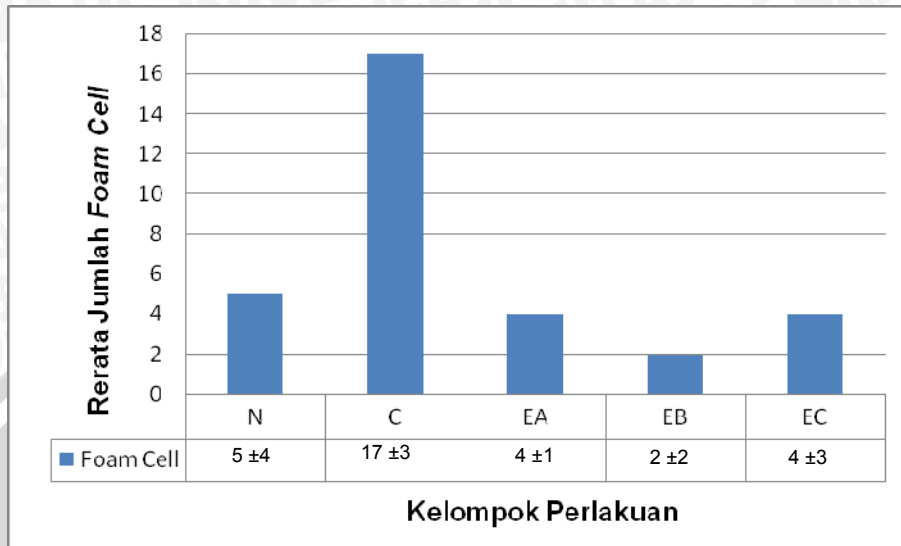
yang diberi diet aterogenik (C, EA, EB, EC) (Lampiran 9). Uji lanjut menggunakan Tukey HSD pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan C berbeda dengan EB, EC. Dari hasil uji statistik Regresi-Korelasi menunjukkan bahwa ada hubungan antara dosis ekstrak biji Srikaya terhadap kenaikan kadar kolesterol HDL dimana $p=0,001$ dan $R=0,832$ (Lampiran 11)

5.5 Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Jumlah *Foam Cell*

Penghitungan jumlah *foam cell* aorta dilakukan pada akhir percobaan. Jumlah *foam cell* tikus percobaan pada masing-masing kelompok perlakuan terdapat pada gambar 5.7.

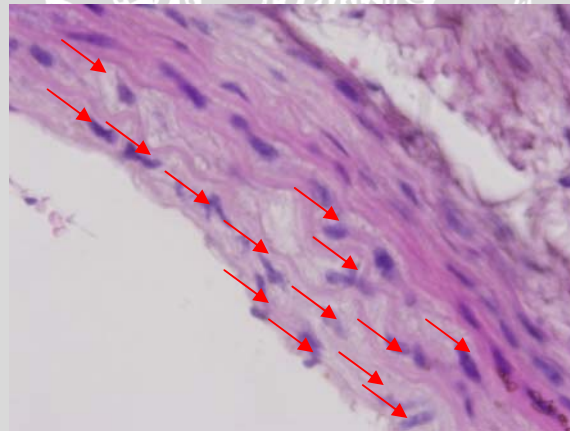
Tabel 5.9 Mean dan Standar Deviasi Jumlah *Foam Cell* Masing-masing Kelompok

Kelompok	Mean	Standar Deviasi
N	5	± 4
C	17	± 3
EA	4	± 1
EB	2	± 2
EC	4	± 3



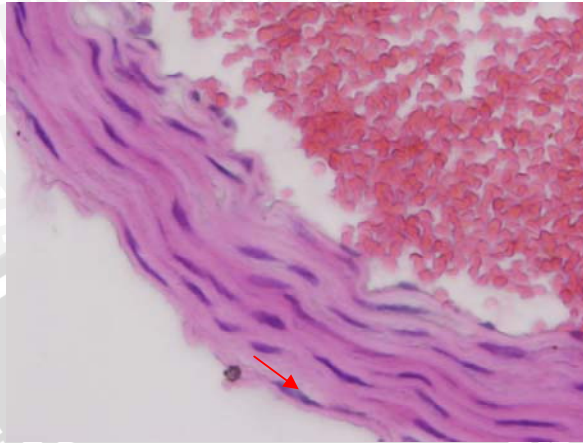
$p = 0,0001$ ($p < 0,05$)

Gambar 5.7 Rerata Jumlah *Foam Cell* Tikus Percobaan pada Masing-masing Perlakuan



Gambar 5.8 Potongan Gambaran Histologi Aorta pada Kelompok Kontrol

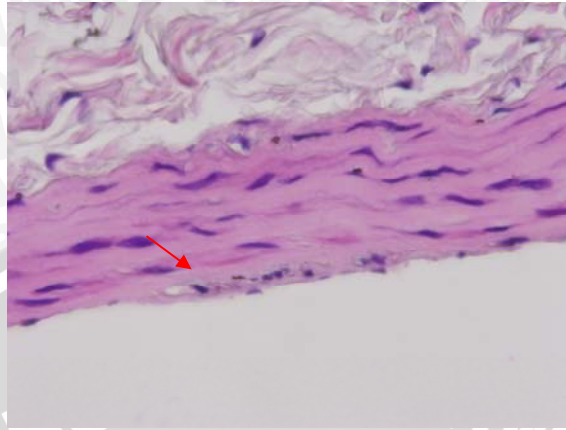
Positif. Sel yang diberi tanda panah merah adalah *foamcell* yang dilihat pada perbesaran 100x. Jumlah *foamcell* pada kelompok ini lebih dari normal.



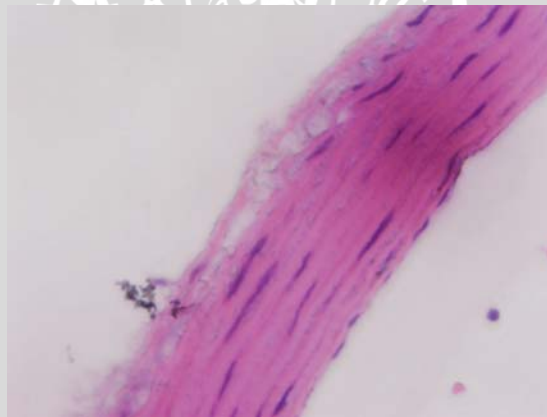
Gambar 5.9 Potongan Gambaran Histologi Aorta pada Kelompok Kontrol Negatif. Sel yang diberi tanda panah merah adalah *foamcell* yang dilihat pada perbesaran 100x. Jumlah *foamcell* pada kelompok ini normal.



Gambar 5.10 Potongan Gambaran Histologi Aorta pada Kelompok Perlakuan EA. Sel yang diberi tanda panah merah adalah *foamcell* yang dilihat pada perbesaran 100x. Jumlah *foamcell* pada kelompok ini normal.



Gambar 5.11 Potongan Gambaran Histologi Aorta pada Kelompok Perlakuan EB. Sel yang diberi tanda panah merah adalah *foamcell* yang dilihat pada perbesaran 100x. Jumlah *foamcell* pada kelompok ini normal.



Gambar 5.12 Potongan Gambaran Histologi Aorta pada Kelompok Perlakuan EC. Sel yang diberi tanda panah merah adalah *foamcell* yang dilihat pada perbesaran 100x. Jumlah *foamcell* pada kelompok ini normal.

Gambar 5.7 menunjukkan rerata jumlah foam cell tertinggi terdapat pada Kelompok Diet kontrol positif (C) yaitu 17 ± 4 , sedangkan jumlah foam cell yang terendah terdapat pada kelompok diet aterogenik + ekstrak biji Srikaya 1 mg/mg/gBB (EB) yaitu 1 ± 2 . Hasil uji statistik *One way ANOVA* pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah foam cell

yang signifikan ($p=0.0001$) antar kelompok perlakuan yang diberi diet aterogenik (C, EA, EB, EC) (Lampiran 10). Uji lanjut menggunakan Tukey HSD pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan C berbeda dengan EA, EB, EC. Dari hasil uji statistik Regresi-Korelasi menunjukkan bahwa tidak ada hubungan antara dosis ekstrak biji Srikaya terhadap jumlah *foam cell* dimana $p=0,515$ dan $R=0,324$ (Lampiran 11)

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus* strain wistar)

Pemilihan tikus percobaan pada awal penelitian harus dilakukan dengan teliti dan sesuai dengan kriteria inklusi untuk mencegah terjadinya bias pada hasil penelitian. Setiap unit penelitian mempunyai kesempatan yang sama untuk terpilih atau tidak terpilih sebagai sampel (Sastroasmoro dan Ismail, 2000)

Rerata umur tikus 7-9 minggu dan berat badan awal semua tikus percobaan relatif sama atau homogen, yang ditunjukkan hasil uji statistik *One Way ANOVA* pada tingkat kepercayaan 95% ($p=0,167$). Hal ini diharapkan dapat mengurangi terjadinya bias pada hasil penelitian dan membantu dalam meningkatkan validitas hasil penelitian sehingga segala perubahan yang terjadi pada tikus percobaan hanya disebabkan oleh perlakuan pemberian ekstrak biji Srikaya.

6.2 Pakan Tikus Percobaan pada Diet Standar dan Diet Aterogenik

Pemberian diet pada penelitian ini disesuaikan dengan beberapa penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, diketahui bahwa kebutuhan pakan tikus dewasa per ekor setiap hari 30 gram. Jika semua pakan yang diberikan habis dikonsumsi, maka asupan untuk semua perlakuan akan sama sampai akhir penelitian dan diharapkan pada akhir penelitian akan berpengaruh terhadap peningkatan atau penurunan berat badan, kadar plasma kolesterol HDL dan jumlah *foam cell* setelah diberikan perlakuan pemberian ekstrak biji Srikaya.

Dalam penelitian ini, digunakan asupan energi dan bukan tingkat konsumsi energi dikarenakan tidak adanya RDA (*Recommended Dietary Allowance*) atau standar kebutuhan gizi/hari untuk tikus terutama standar kebutuhan perhari untuk kalori, protein, karbohidrat dan lemak. Pemberian pakan pada diet normal dan aterogenik masing-masing diberikan sebanyak 30 gram dengan jumlah energi dan komposisi zat gizi yang berbeda. Pemberian pakan pada masing-masing kelompok diet mengandung energi sebesar 102,74 kalori untuk 30gram/hari pada diet standar, protein 4,84 gram (16,14% dari total energi), lemak 0,87 gram (2,89% dari total energi), dan karbohidrat 24,29 gram (80,97% dari total energi), sedangkan diet aterogenik diberikan sebesar 30 gram/hari dengan kandungan energi sebesar 120,21 Kalori, protein 4,28 gram (14,28% dari total energi), lemak 4,02 gram (13,41% dari total energi), dan karbohidrat 21,70 gram (72,31% dari total energi). Tingginya kadar lemak pada diet aterogenik disebabkan adanya penambahan kolesterol sebanyak 2%, minyak babi 9,5% dan asam kolat 0,13%. Menurut Mutiani (2005), penelitian pada tikus putih sebagai hewan aterosklerosis dengan cara memberi pakan yang dapat menginduksi kondisi aterogenik, yaitu dengan diet sebagai berikut yaitu pakan yang ditambah kolesterol sebanyak 2%, minyak babi 9,5% dan asam kolat 0,13%). Pemberian diet aterogenik selama 23 hari dapat meningkatkan kadar kolesterol darah dan menginduksi kondisi hiperkolesterolemia secara bermakna (Lukmanasari, 2010). Srivastava et al. (2000), mengungkapkan bahwa untuk menginduksi aterosklerosis pada mencit diperlukan diet yang ditambah dengan asam kolat. Dengan diet tersebut dapat merubah

gambaran lipoprotein menjadi lebih aterogenik, yaitu menurunkan kadar HDL dan meningkatkan kadar LDL plasma (Murwani, dkk., 2006).

6.3 Pengaruh Asupan Energi dan Zat Gizi terhadap Kenaikan berat badan Tikus

Asupan energi, protein, lemak dan karbohidrat tikus percobaan pada ke-4 kelompok yang diberi diet aterogenik memiliki perbedaan yang signifikan, hasil uji statistik *One Way ANOVA* pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan rerata asupan energi ($p=0,0001$), asupan protein ($p=0,0001$), asupan lemak ($p=0,0001$) dan asupan karbohidrat ($p=0,0001$). Hal ini dikarenakan intake dari tikus yang berbeda meskipun disajikan pakan dengan berat dan komposisi yang sama, sehingga apabila dilakukan uji statistik terdapat perbedaan yang signifikan. Berdasarkan rerata asupan pakan pada kelompok perlakuan kontrol positif (C) cenderung lebih tinggi jika dibandingkan kelompok perlakuan lainnya, yaitu 27,18 gram/hari, sehingga berpengaruh terhadap tingginya asupan energi pada kelompok perlakuan tersebut. Tingginya asupan energi pada kelompok kontrol positif dapat berpengaruh secara langsung terhadap kenaikan berat badan tikus.

Jika membandingkan diet aterogenik dengan diet normal dapat ditemukan perbedaan. Hal ini disebabkan antara kelompok diet normal (kelompok kontrol negatif) dengan kelompok diet aterogenik (kelompok kontrol positif dan kelompok dengan pemberian ekstrak biji Srikaya) memiliki kandungan energi dan komposisi zat gizi yang berbeda, dimana kandungan energi dan komposisi lemak pada diet aterogenik lebih tinggi dari diet normal, yaitu masing-masing 120,21 kalori dengan komposisi lemak 13,41% dari total energi, sedangkan pada diet normal komposisi protein (16,14% dari total energi) dan karbohidrat (80,97% dari total energi) lebih tinggi dibandingkan

diet aterogenik sebesar 14,28% pada protein dan 72,31% komposisi karbohidrat.

Berat badan merupakan salah satu parameter yang memberikan gambaran massa tubuh. Berat badan sangat sensitif terhadap perubahan-perubahan yang mendadak, misalnya karena terserang infeksi, menurunnya nafsu makan atau menurunnya jumlah makanan yang dikonsumsi (Supriasa dkk, 2002). Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan berat badan pada masing-masing kelompok dengan rata-rata $14,2 \pm 3,1$ gram sampai $50,8 \pm 11,45$ gram. Peningkatan berat badan paling tinggi pada kelompok kontrol negatif (N) yaitu 50,8 gram sedangkan kenaikan berat badan tikus terendah terdapat pada kelompok diet aterogenik + ekstrak biji Srikaya 1,5 mg/gBB (EC) yaitu 14,2 gram. Peningkatan berat badan yang terjadi sudah sesuai dengan asupan energi masing-masing kelompok perlakuan. Asupan energi pada kelompok kontrol negatif (N) tertinggi di antara yang lain.

Dari data di atas dapat disimpulkan asupan energi dan berat badan saling berbading lurus, namun demikian hasil analisa statistik *One Way ANOVA* pada keempat kelompok yang diberi diet aterogenik pada tingkat kepercayaan 95% ($p=0,0001$) menunjukkan kenaikan berat badan yang signifikan. Berdasarkan uji *T-Test* dengan membandingkan berat badan awal dan berat badan akhir pada kelompok kontrol positif (C) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan $p=0,006$ ($p<0,05$) antara berat badan awal dan berat badan akhir tikus percobaan pada kelompok positif, ini berarti pada kelompok perlakuan tersebut menyebabkan peningkatan secara nyata dan berdasarkan uji *T-Test* pada kelompok negatif (N) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara berat badan awal dan berat badan akhir

dimana t hitung adalah -9,917 dengan $p=0,001$ ($p<0,05$), ini berarti bahwa perlakuan diet normal (N) juga menyebabkan peningkatan berat badan, dimana peningkatan berat badan tersebut tidak jauh berbeda dengan perlakuan diet aterogenik.

Pada diet aterogenik prosentase lemak memang lebih besar jika dibandingkan dengan diet standar, namun prosentase zat gizi lainnya seperti karbohidrat dan protein lebih banyak terdapat pada diet standar dibandingkan diet aterogenik. Asupan lemak yang tinggi sangat mempengaruhi terhadap kenaikan berat badan karena tubuh mempunyai kapasitas tak terhingga untuk menyimpan lemak dan sesuai dengan pernyataan Almtsier (2005), bahwa konsumsi energi melalui makanan yang berlebihan, akan diubah menjadi lemak tubuh. Akibatnya terjadi kelebihan berat badan. Kelebihan berat badan dapat disebabkan oleh mengkonsumsi karbohidrat, lemak, dan protein yang berlebihan serta kurangnya aktivitas.

Dengan demikian terdapat peningkatan berat badan pada semua kelompok yang dicobakan, hal ini dikarenakan pakan yang diberikan mempunyai kepadatan energi yang tinggi, yaitu 1 gram diet normal mempunyai kepadatan energi sebesar 3,425 Kalori, dan setiap 1 gram diet aterogenik mempunyai kepadatan energi sebesar 4,01 kalori. Sehingga berat badan tikus pada semua kelompok perlakuan sudah mengalami kenaikan sesuai umur.

Peningkatan berat badan untuk semua kelompok perlakuan juga menunjukkan bahwa kedua jenis diet baik diet normal maupun diet aterogenik mampu menghasilkan sejumlah energi yang dapat mengakibatkan perubahan berat badan. Meskipun komposisi diet normal mengandung tinggi

karbohidrat dan diet aterogenik mengandung tinggi lemak, keduanya sama-sama berperan dalam meningkatkan massa tubuh, Berat badan akhir yang homogen menunjukkan bahwa antara kelompok perlakuan mendapatkan kecukupan makan dan keadaan kesehatan yang cukup terjamin, ini dapat dilihat dari terjadinya kenaikan berat badan yang homogen ($p=0,325$) dalam kelompok perlakuan.

Dalam penelitian ini, perubahan berat badan tikus percobaan dipengaruhi oleh pemberian ekstrak biji Srikaya karena perubahan berat badan tikus percobaan pada keempat kelompok perlakuan yang diberi diet aterogenik berbeda secara signifikan, hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji Srikaya mempengaruhi penampilan atau postur tubuh seseorang yang dalam penelitian ini belum dapat dijelaskan lebih lanjut. Dalam keadaan normal dimana keadaan kesehatan baik dan keseimbangan antara konsumsi dan kebutuhan zat gizi terjamin, maka berat badan berkembang mengikuti perkembangan umur. Selain itu, nilai metabolisme absolut akan meningkat dengan peningkatan ukuran badan yang didukung oleh ketersediaan pakan dan daya tarik pakan tersebut (Dedi Subardja, 2004).

6.4 Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap kadar Plasma Kolesterol HDL

Kelompok kontrol positif adalah kelompok yang diberi diet aterogenik(tinggi lemak) selama 50 hari tanpa pemberian ekstrak biji Srikaya. Diet aterogenik mengandung lemak tinggi (13,41% dari total energi) dengan kandungan lemak jenuh dan kolesterol tinggi. Srivastava et al. (2000), mengungkapkan bahwa untuk menginduksi aterosklerosis pada mencit diperlukan diet yang ditambah dengan asam kolat. Dengan diet tersebut dapat merubah gambaran *lipoprotein* menjadi lebih aterogenik, yaitu

menurunkan kadar HDL dan meningkatkan LDL plasma (Murwani, dkk., 2006)

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Diana (2009), diketahui bahwa terdapat perbedaan kadar kolesterol yang signifikan pada kelompok diet aterogenik dengan kelompok diet standar ($p=0,0001$) dan tingginya asupan lemak jenuh dan kolesterol dalam jangka waktu 60 hari dapat meningkatkan konsentrasi kolesterol darah sebesar 66%. Menurut Hana Ratnawati, dkk. (2011) Tujuan diberikannya diet tinggi lemak jenuh dan tinggi kolesterol adalah untuk menurunkan kadar HDL dalam plasma tikus, sehingga memicu proses aterogenesis. Penelitian epidemiologik, laboratorium, dan klinik yang dilakukan oleh *Framingham Heart Study (FHS)* dan *Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT)*, telah membuktikan bahwa gangguan metabolisme *lipid* merupakan faktor sentral untuk terjadinya aterosklerosis. Perspektif baru dari laporan *Procamb, Cleveland Heart Study*, dan *helsinki Heart Study* menunjukkan bahwa proses aterogenesis diketahui sebagai akibat adanya gangguan metabolisme *lipoprotein* yang meliputi peningkatan kadar LDL dan penurunan kadar HDL (Sargowo, 2002).

Kadar plasmakolesterol tikus percobaan hanya diukur pada akhir perlakuan. Hasil pemeriksaan kadar HDL pada serum tikus percobaan didapatkan terjadi perbedaan yang signifikan ($p=0,0001$). Penelitian ini menunjukkan adanya kenaikan kadar HDL yang signifikan antara kelompok diet aterogenik tanpa ekstrak biji Srikaya dengan kelompok diet aterogenik dengan penambahan ekstrak biji Srikaya. Pada kelompok EA dengan diet aterogenik dengan penambahan ekstrak biji srikaya 0,5 mg/gBB belum

menaikkan kadar HDL secara signifikan. Kenaikan kadar plasma kolesterol HDL yang signifikan pada kelompok EB (diet aterogenik ditambah ekstrak biji Srikaya 1 mg/gBB), EC (diet aterogenik ditambah ekstrak biji Srikaya 1,5 mg/gBB).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan di IPB Bogor, kandungan kurkumin dapat mencegah terjadinya aterosklerosis. Dalam kurkumin ini tersusun dari gugus para hydroxyl yang penting dalam aktivitas antiinflamasi. Penelitian terhadap substitusi simetris dari derivat curcumin ditemukan berpotensi dalam antiinflamasi, terutama yang memiliki kombinasi gugus 4-hydroxy dan gugus 3,5-di-(lower) alkyl. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan Shyng-Shiou F. (2004), gugus para hydroxyl ini juga terdapat pada Squamosin. Menurut Kardinan (2002), biji srikaya mengandung senyawa kimia annonain yang terdiri atas squamosin.

Dari penelitian yang dilakukan dan berdasarkan hasil uji statistik Regresi-Korelasi dimana $R=0,832$ dan $p=0,001$ ($p<0,05$) (lampiran 18) menunjukkan bahwa ada hubungan dosis ekstrak biji Srikaya terhadap kadar kolesterol HDL sehingga dapat disimpulkan ekstrak biji Srikaya mempunyai efek demikian, makin tinggi dosis makin tinggi kadar kolesterol HDL. Dari 3 kelompok perlakuan (diet aterogenik + ekstrak biji Srikaya 0,5 mg/gBB, 1 mg/gBB dan 1,5 mg/gBB selama 45 hari) dapat diketahui bahwa ekstrak biji Srikaya dengan dosis 1,5 mg/gBB memberikan hasil kadar kolesterol HDL lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan lain, yaitu sebesar 31,4 mg/dL. Dosis tersebut telah mencapai kadar kolesterol HDL normal seperti pada kelompok kontrol negatif. Namun untuk penelitian lebih lanjut, perlu juga dilakukan penelitian toksisitas terhadap organ lainnya. R square dari hasil uji

statistik regresi menunjukkan angka 69,2 % yang artinya 69,2 % kadar HDL dipengaruhi oleh dosis. Untuk hasil uji statistik korelasinya, HDL berkorelasi dengan dosis ($p=0,0001$) dan intake ($p=0,001$). HDL berkorelasi positif (pearson correlation = 0,811) dengan dosis artinya semakin tinggi dosis yang diterapkan maka akan semakin tinggi peningkatan HDL. Dengan intake HDL berkorelasi negatif (pearson correlation = - 0,731) yang artinya semakin tinggi intake maka akan semakin menurun kadar HDL. Intake dan dosis juga memiliki hubungan korelasi negatif (pearson = - 0,752) yang artinya semakin tinggi dosis maka intake akan semakin berkurang.

Dalam penelitian ini terdapat perbedaan rerata intake antara masing – masing kelompok perlakuan. Uji analisa statistik One Way ANOVA menunjukkan bahwa $p = 0,0001$ ($p<0,05$) sehingga terdapat perbedaan yang signifikan terutama dari kelompok kontrol dan kelompok diet aterogenik dengan pemberian ekstrak biji Srikaya 1,5 mg/gBB. Hal ini dipengaruhi efek penurunan nafsu makan yang dihasilkan oleh ekstrak biji Srikaya seperti yang dinyatakan Kardinan (2002). Hasil analisis statistik korelasi pada paragraf sebelumnya juga menguatkan pernyataan ini. Karena itu, dalam penelitian ini diasumsikan bahwa perbedaan signifikan kadar plasma kolesterol HDL dipengaruhi oleh perbedaan pada intakenya. Selain itu disarankan pula mengadakan penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak biji Srikaya sebagai diet obesitas karena mampu menurunkan nafsu makan.

Dengan demikian dapat diketahui bahwa intake lemak harus sesuai dengan kebutuhan. Apabila dikonsumsi lebih dari kebutuhan maka akan menimbulkan kerugian bagi tubuh. Bila dalam keseharian, kita lebih banyak makan makanan yang mengandung tinggi lemak maka tubuh kita pun dapat

mengalami keadaan hiperlipidemia, dimana ditandai dengan penurunan kadar HDL. Namun apabila kita mengkonsumsi makanan yang banyak mengandung lemak tidak ada salahnya diikuti dengan memakan sumber ekstrak biji Srikaya untuk menghindari keadaan hiperlipidemia. Kandungan ekstrak biji Srikaya juga dapat ditemukan pada buah dengan famili Annonacea e lainnya. Buah-buahan yang memiliki kandungan sama tersebut di antaranya Sirsat dan Buah nona atau disebut juga Mulwa.

6.5 Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Jumlah *Foam Cell*

Kelompok kontrol positif adalah kelompok yang diberi diet aterogenik(tinggi lemak) selama 50 hari tanpa pemberian ekstrak biji Srikaya. Diet aterogenik mengandung lemak tinggi (13,41% dari total energi) dengan kandungan lemak jenuh dan kolesterol tinggi. Srivastava et al. (2000), mengungkapkan bahwa untuk menginduksi aterosklerosis pada mencit diperlukan diet yang ditambah dengan asam kolat. Dengan diet tersebut dapat merubah gambaran *lipoprotein* menjadi lebih aterogenik, yaitu menurunkan kadar HDL dan meningkatkan LDL plasma (Murwani, *dkk.*, 2006). Peningkatan LDL plasma erat kaitannya dengan pembentukan *foam cell*.

Jumlah *foam cell* tikus percobaan hanya diukur pada akhir perlakuan. Hasil penghitungan jumlah *foam cell* pada aorta tikus percobaan didapatkan terjadi perbedaan yang signifikan ($p=0,0001$). Penelitian ini menunjukkan adanya pengurangan jumlah *foam cell* yang signifikan antara kelompok diet aterogenik tanpa ekstrak biji Srikaya dengan kelompok diet aterogenik dengan penambahan ekstrak biji Srikaya. Pada diet aterogenik

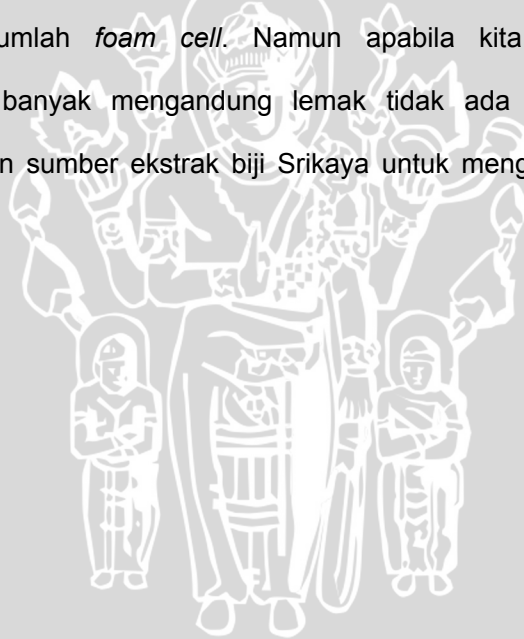
dengan penambahan ekstrak biji srikaya 0,5 mg/gBB telah mengurangi jumlah *foam cell*. Pengurangan jumlah *foam cell* yang signifikan pada kelompok EA (diet aterogenik ditambah ekstrak biji Srikaya 0,5 mg/gBB), EB (diet aterogenik ditambah ekstrak biji Srikaya 1 mg/gBB), EC (diet aterogenik ditambah ekstrak biji Srikaya 1,5 mg/gBB).

Dari penelitian yang dilakukan dan berdasarkan hasil uji statistik Regresi-Korelasi dimana $R=0,324$ dan $p=0,515$ ($p>0,05$) (lampiran 18) menunjukkan bahwa tidak ada hubungan dosis ekstrak biji Srikaya terhadap jumlah *foam cell*. Namun ketiga dosis tersebut telah mencapai jumlah *foam cell* normal seperti pada kelompok kontrol negatif. Namun untuk penelitian lebih lanjut, perlu juga dilakukan penelitian toksisitas terhadap organ lainnya. Untuk hasil uji statistik korelasi tidak menunjukkan adanya hubungan korelasi antara *foam cell* dan dosis serta intake. Hal ini dapat disebabkan dosis dan intake tidak secara langsung berpengaruh terhadap jumlah *foam cell* namun harus melalui proses tertentu lebih dulu yang melibatkan berbagai faktor seperti salah satu contohnya adalah kadar Interleukin-8. Perlu diketahui bahwa IL-8 adalah kemokin yang berperan pada penggabungan monosit dan LDL termodifikasi sehingga membentuk *foam cell*.

Dalam penelitian ini terdapat perbedaan rerata intake pada masing – masing kelompok perlakuan. Uji analisa statistik One Way ANOVA menunjukkan bahwa $p = 0,0001$ ($p<0,05$) sehingga terdapat perbedaan yang signifikan terutama dari kelompok kontrol dan kelompok diet aterogenik dengan pemberian ekstrak biji Srikaya 1,5 mg/gBB. Hal ini dipengaruhi efek penurunan nafsu makan yang dihasilkan oleh ekstrak biji Srikaya seperti

yang dinyatakan Kardinan (2002). Hasil analisis statistik korelasi pada paragraf sebelumnya juga menguatkan pernyataan ini. Karena itu, dalam penelitian ini diasumsikan bahwa perbedaan signifikan jumlah *foam cell* dipengaruhi oleh perbedaan pada intakenya.

Dengan demikian dapat diketahui bahwa lemak yang dikonsumsi harus sesuai dengan kebutuhan. Apabila dikonsumsi lebih dari kebutuhan maka akan menimbulkan kerugian bagi tubuh. Bila dalam keseharian, kita lebih banyak makan makanan yang mengandung tinggi lemak maka tubuh kita pun dapat mengalami keadaan hiperlipidemia, dimana ditandai dengan bertambahnya jumlah *foam cell*. Namun apabila kita mengonsumsi makanan yang banyak mengandung lemak tidak ada salahnya diikuti dengan memakan sumber ekstrak biji Srikaya untuk menghindari keadaan hiperlipidemia.



BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*) dapat mengurangi pembentukan *foam cell* dan meningkatkan kadar HDL pada tikus wistar yang diinduksi Aterosklerosis.
2. Dosis optimal ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa*) untuk mengurangi pembentukan *foam cell* adalah 0,5 mg/grBB dan untuk meningkatkan kadar HDL adalah 1,5 mg/grBB pada tikus wistar yang diinduksi Aterosklerosis.

7.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut dengan dosis optimal dan pemakaian jangka panjang untuk menguji toksisitasnya, terutama pada organ lain.
2. Bagi masyarakat yang mengonsumsi makanan yang mengandung tinggi lemak dapat disarankan untuk mengonsumsi bahan makanan yang memiliki kandungan yang sama (squamosin) dengan yang terkandung dalam ekstrak biji Srikaya seperti pada buah sirsat dan buah nona atau mulwa, namun masih diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai jumlah kandungannya pada buah tersebut sehingga dapat diketahui apakah memiliki dosis optimal yang sama dengan ekstrak biji Srikaya.
3. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak biji Srikaya terhadap kenaikan berat badan karena pengaruhnya terhadap nafsu makan. Diharapkan masyarakat dapat mempergunakan ekstrak ini sebagai diet untuk mengatasi obesitas apabila terbukti keefektifannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S. 2005. Prinsip Dasar Ilmu Gizi, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, hal 63-73.
- Anshory, H., Suparini, dan Setiadi, A., 2006, "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap penangkapan radikal bebas DPPH", *Majalah Farmasi Indonesia* 3(1), hal. 9-13.
- Baraas, F. 2003. Mencegah Serangan Jantung dan Menekan Kolesterol. Kardia Iqratama. Jakarta.
- Barthwal MK, Srivastava N, Nag D, Seth PK, Srimal RC, Dikshit M. Antioxidant levels in the rat brain after nitric oxide synthase inhibition: a preliminary report. 2000. Redox Rep. 5(2-3). p. 75-80.
- Dedi Subardja. 2004. Endokrin Obesitas pada Anak. Dalam: Sri Hartini KS. Kariadi, Johan S. Mansjhur, editor: *Endokrinologi Klinik V-2004*. Bandung : Perkumpulan Endokrinologi Cabang Bandung. hal. 375-376
- Diana, C. 2009. Pengaruh Pemberian Quercetin Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar dengan Diet Aterogenik. Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Ellie W and Sharon R. 2005. Understanding Nutrition-Tenth Edition, Thomson-Wadsworth, p. 620-629.
- Frink RJ. 2002. *Inflammatory Atherosclerosis: Characteristics of Injurious Agent*. Sacramento (CA): Heart Research Foundation.
- Hana R., Wahyu W. 2009. Anticholesterol Activity of Velvet Bean (*Mucuna pruriens* L.) towards Hypercholesterolemic Rats, jurnal Sains Malaysiana. Vol. 40, hal. 317-321.
- Hanafi, Muin Rahman, Harun. 1997. Ilmu Penyakit Dalam jilid I. Jakarta: FKUI.
- Holtzman J. 2008. *Atherosclerosis and Oxidant Stress*. Minnesota: Springer.
- Institut Pertanian Bogor. Kemampuan Curcuminoid Ekstrak Temu Mangga dalam Menghambat Proses oksidasi lipoprotein densitas rendah (LDL) oleh Sel Makrofag.
- Kardinan, A., 2000, Pestisida Nabati, Tamuan dan Aplikasi, Jakarta. Penebar Swadaya
- Kleemann R., Zadelaar S., Koolstra T., 2008. *Cytokines and Atherosclerosis: a Comprehensive Review of Studies in Mice*. Cardiovascular Research of European Society of Cardiology 79 p. 360-376.

- Krummel DA. 2008. Medical Nutrition Therapy in Cardiovascular Disease. In: Mahan LK, Escott-stump S. Krause's Food, Nutrition, and Diet Therapy 12th Edition. Philadelphia: WB Saunders Company. p. 833-64.
- Kusumawidjaja. 1996. Patologi. Jakarta: FKUI
- Marti H., Okid P. A. 2009. Kadar kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemik setelah Perlakuan VCO, jurnal Bioteknologi. Vol. VI. No 2, hal 55-62.
- Murray R K., Granner D K., Mayes P A. And Rodwell V W. (editor). Harper Biochemistry. Terjemahan : A Hartono. Penerbit Buku Kedokteran.EGC, Jakarta.
- Murwani S., Mulyohadi A., Ketut M. 2006. Diet Aterogenik pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* strain wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis, jurnal kedokteran Brawijaya. Vol. II. No 1, hal 7-9.
- Mutasim et al, 2010. *Antiproliferative Action of Moringa oleifera Lam. Root Extracts in Acute Myeloid Leukemia (AML) Cell Line.* (Online), (<http://jexpscienc.com/article/view/4388>, diakses tanggal 4 desember 2010).
- Mutiyani, M. 2005. *Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Kerbohidrat Dibandingkan dengan Diet Tinggi Lemak terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kepadatan Sel β Pankreas pada Rattus norvegicus strain wistar.* Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Program Studi Ilmu Gizi Universitas Brawijaya Malang.
- Necel. 2009. *Biokimia Aterosklerosis.* Diakses tanggal 9 Juli 2011 dari <http://www.scribd.com/doc/20912406/All-about-aterosklerosis>
- Nuswamarhaeni, S., Diah Prihatini, Endang Puspita., 1999. Mengenal Buah Unggul Indonesia. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Olford, James L. 2005. Atherosclerosis . Available from: URL: HYPERLINK:<http://www.emedicine.com/med/topic182.htm>(accessed: 2006, April 20)
- Ontoseno, T. 2005. Pencegahan Primordial Penyakit Jantung Koroner. Lab/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK. UNAIR/RSUD Dr. Soetomo Sirabaya, (Online), (<http://www.google.com>, diakses tanggal 18 Maret 2008).
- Parvathy,M., Umamaheswari,A., 2007. *Cytotoxic Effect of Moringa oleifera Leaf Extracts on Human Multiple Myeloma Cell Lines* , (Online), (<http://scialert.net/qredirect.php?doi=tmr.2007.44.50&linkid=pdf> diakses tanggal 7 November 2010).
- Price Sylvia A, Lorraine M. Wilson. 2005. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Jakarta: EGC

- Rader D J., Hobbs H H. 2005. Disorder of Lipoprotein Metabolism in Harrison's Principles of Internal Medicine, 16th Ed, editor by Dennis L.Kasper, et al, The McGraw-Hill Companies, US, Vol. II, p. 86- 98.
- Rukmanasari, R. 2010. Efek Ekstrak Kulit terong Ungu (*Solanum melongena* L.) terhadap Kadar LDL dan HDL Darah Tikus Putih. Tugas Skripsi, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Sargowo, D. 2002. Peranan Kadar Trigliserida dan Lipoprotein sebagai Faktor Risiko Penyakit Jantung Koroner (Studi Pendahuluan), (Online), (<http://www.google.com>, diakses tanggal 2 April 2008)
- Sastroasmoro dan Ismail. 2000. Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinik. Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Shyng S. F., Hsueh L., Hsiao W., Fu-Chen K., Chih C., Jinu H., Yang C. 2006. Selective Cytotoxicity of Sqamocin on T24 Bladder Cancer Cells at the S-phase via a Bax-, Bad-, and Caspase-3-related Pathways, jurnal Life Sciences. Vol. 78, 2006, hal 869-874.
- Steven EN, Murat T, Paul S, Greg B, Peter G, Robert AV, Bruce B, Anthony ND. 2004. Effect of intensive compared with moderate lipid lowering therapy on progrssion of coronary atherosclerosis. JAMA 291. p. 71-80.
- Stryer L. 1995. Cholesterol Metabolism and Blood Lipoprotein by Biochemistry 4th ed. Stanford University: WH Freeman and company.
- Supardan. 2001, *Metabolisme*, Laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya Malang.
- Tambun, Rondang, ST, MT. 2006. *buku ajar teknologi oleokimia*, Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sumatera Utara Medan.
- University of Maryland, (2003). © 2011 University of Maryland Medical Center (UMMC). All rights reserved. UMMC is a member of the University of Maryland Medical System, 22 S. Greene Street, Baltimore, MD 21201. TDD: **1-800-735-2258** or **1.866.408.6885**. Diakses pada tanggal 1 November 2012, dari <http://www.umm.edu/altmed/articles/atherosclerosis-000016.htm>.
- Yayasan Jantung Indonesia. 2003. Kolesterol, (Online). Diakses pada tanggal 1 November 2012, dari <http://www.yayasanjantungindonesia.htm>.

Lampiran 1. Teknik Randomisasi

Teknik randomisasi yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Buat penomoran tiap anggota kelompok
 - Membuat nomor N1, N2, N3, N4, N5 untuk setiap anggota kelompok perlakuan diet pakan normal (kontrol negatif)
 - Membuat nomor C1, C2, C3, C4, C5 untuk setiap anggota kelompok perlakuan diet pakan atherogenik (kontrol positif)
 - Membuat nomor EA1, EA2, EA3, EA4, EA5 untuk setiap anggota kelompok perlakuan diet atherogenik + ekstrak biji Srkaya 0,5 mg/gBB
 - Membuat nomor EB1, EB2, EB3, EB4, EB5 untuk setiap anggota kelompok perlakuan diet atherogenik + ekstrak biji Srkaya 1mg/gBB
 - Membuat nomor EC1, EC2, EC3, EC4, EC5 untuk setiap anggota kelompok perlakuan diet atherogenik + ekstrak biji Srkaya 1,5 mg/gBB
2. Melakukan pengundian terhadap nomor tersebut, untuk urutan randomisasi perlakuan dan ulangan, kemudian dibuat label.
3. Membuat nomor tikus 1 s/d 25, kemudian nomor tersebut diundi seperti cara 2, dan dibuat tabel.
4. Mengambil masing-masing hasil pengundian (perlakuan dan nomor tikus) satu-persatu.
5. Cocokkan nomor tikus dan perlakuan yang akan diberikan berdasarkan hasil pengundian.
6. Dengan demikian hasil randomisasi menunjukkan bahwa perlakuan 1 (N) akan diberikan pada nomor 4, 20, 22, 24, dan 25. Perlakuan 2 (C) akan diberikan pada nomor 3, 5, 8, 11, 12. Perlakuan 3 (EA) akan diberikan pada 10, 13, 17, 18, dan 19. Perlakuan 4 (EB) akan diberikan pada nomor 1, 2, 6,

15, dan 16. Perlakuan 5 (EC) akan diberikan pada nomor 7, 9, 14, 21, dan 23.

Desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) Percobaan

1 EB	2 EB	3 C	4 N	5 C
6 EB	7 EC	8 C	9 C	10 EA
11 C	12 C	13 EA	14 C	15 EB
16 EB	17 EA	18 EA	19 EA	20 N
21 C	22 N	23 C	24 N	25 N

Keterangan :

N : Perlakuan 1 (Diet pakan normal) 

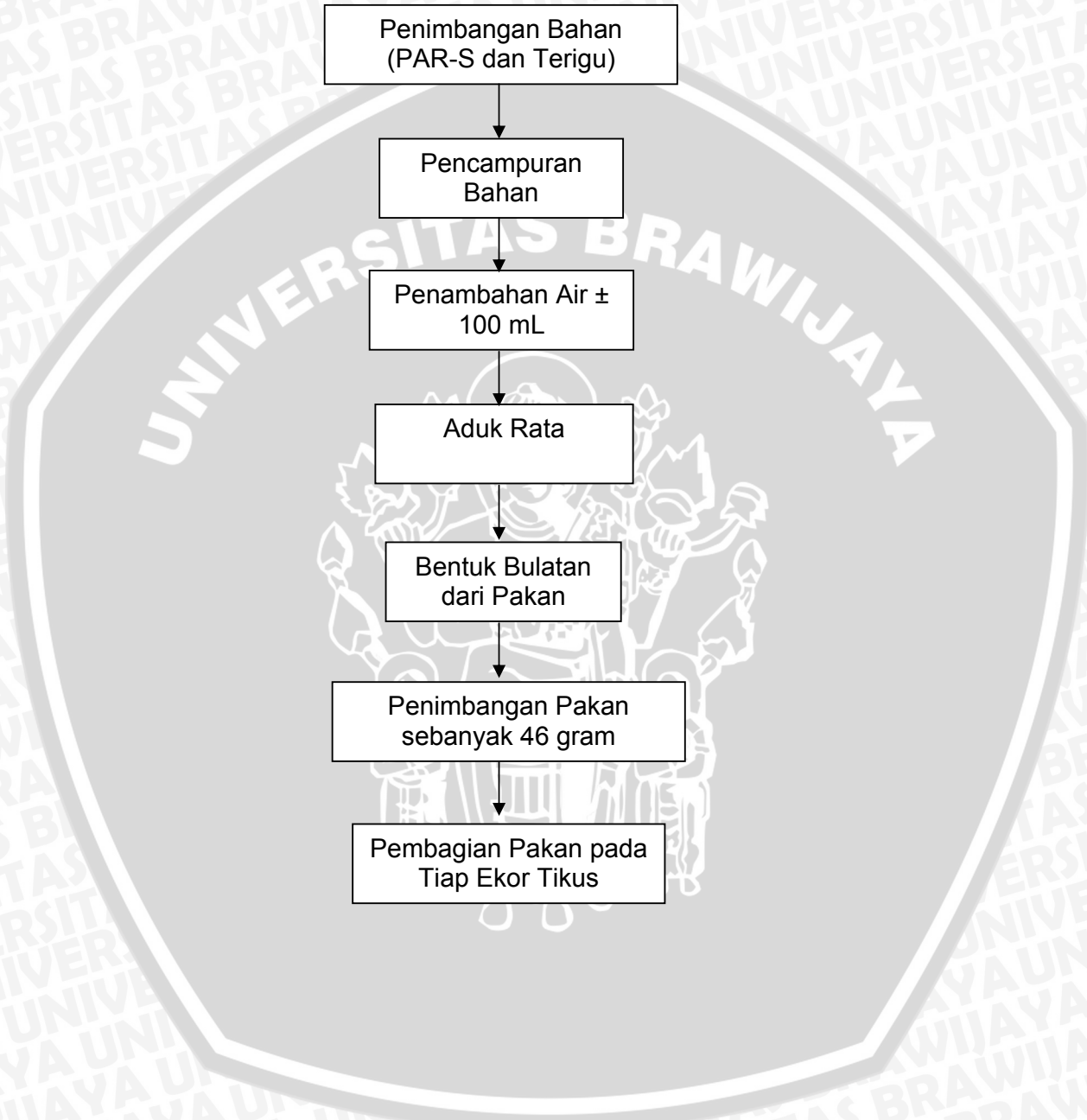
C : Perlakuan 2(Diet Aterogenik)

EA : Perlakuan 3 (Diet Aterogenik + Ekstrak Biji Srikaya 0,5 mg/gBB)

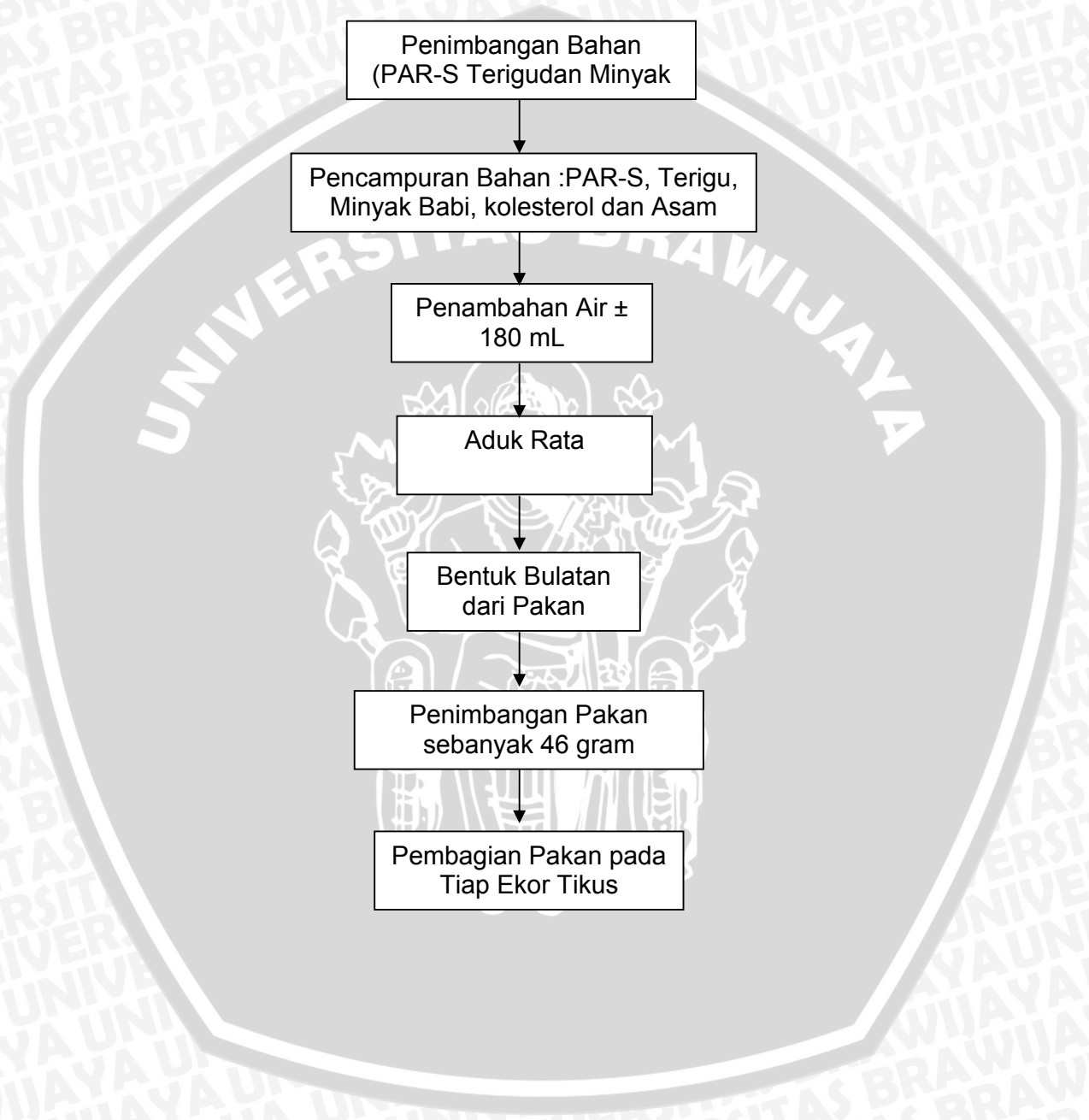
EB : Perlakuan 4(Diet Aterogenik + Ekstrak Biji Srikaya 1 mg/gBB)

EC : perlakuan 5 (Diet Aterogenik + Ekstrak Biji Srikaya 1,5 mg/gBB)

Lampiran 2. Alur Pembuatan Pakan Diet Normal



Lampiran 3. Alur Pembuatan Pakan Diet Aterogenik



Lampiran 5. Distribusi Data Kadar Plasma Kolesterol HDL

Sampel	Kadar Kolesterol HDL				
	Kelompok				
	N	C	EA	EB	EC
1	30,00	20,00	21,00	26,00	26,00
2	33,00	19,00	24,00	24,00	32,00
3	29,00	23,00	22,00	24,00	38,00
4	30,00	20,00	23,00	27,00	32,00
5	35,00	21,00	22,00	29,00	29,00
\bar{x}	31,4	20,6	22,4	26,0	31,4



Lampiran 6. Distribusi Data Jumlah *Foam Cell* Aorta Tikus

Sampel	Jumlah <i>Foam Cell</i>				
	Kelompok				
	N	C	EA	EB	EC
1	9,00	17,00	4,00	0,00	5,00
2	2,00	18,00	5,00	0,00	2,00
3	2,00	12,00	5,00	1,00	8,00
4	9,00	22,00	3,00	1,00	0,00
5	2,00	17,00	2,00	6,00	6,00
\bar{x}	5	17	4	2	4



Lampiran 7. Analisa Statistik Uji Normalitas pada Jumlah *Foam Cell* Intake dan Kadar Plasma Kolesterol HDL pada Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Jumlah Foam Cell	Intake	Kadar HDL Kolesterol
N		25	25	25
Normal Parameters ^a	Mean	6.3200	32.4400	26.3600
	Std. Deviation	6.29630	7.04202	5.14684
Most Extreme Differences	Absolute	.200	.172	.157
	Positive	.200	.110	.157
	Negative	-.158	-.172	-.096
Kolmogorov-Smirnov Z		1.001	.858	.784
Asymp. Sig. (2-tailed)		.269	.453	.571
a. Test distribution is Normal.				



Lampiran 8. Analisa Statistik *One Way ANOVA* Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Asupan Energi Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)

Oneway

Descriptives

Energi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
2,00	5	108,8684	4,46784	1,99808	103,3209	114,4160	105,84	116,55
3,00	5	83,3108	5,13225	2,29521	76,9382	89,6833	77,61	89,37
4,00	5	87,9624	3,17164	1,41840	84,0242	91,9005	84,41	92,25
5,00	5	54,7217	5,93216	2,65294	47,3559	62,0874	49,65	61,93
Total	20	83,7158	20,29229	4,53749	74,2187	93,2129	49,65	116,55

Test of Homogeneity of Variances

Energi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,662	3	16	,215

ANOVA

Energi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7457,559	3	2485,853	108,610	,000
Within Groups	366,205	16	22,888		
Total	7823,765	19			

Lampiran 9. Analisa Statistik *One Way ANOVA* Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Asupan Protein Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)

Oneway

Descriptives

Protein	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2	5	3,8762	,15907	,07114	3,6787	4,0737	3,77	4,15
3	5	2,9662	,18273	,08172	2,7393	3,1931	2,76	3,18
4	5	3,1318	,11292	,05050	2,9916	3,2721	3,01	3,28
5	5	1,9483	,21121	,09446	1,6861	2,2106	1,77	2,21
Total	20	2,9806	,72249	,16155	2,6425	3,3188	1,77	4,15

Test of Homogeneity of Variances

Protein	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	1,662	3	16	,215

ANOVA

Protein	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9,454	3	3,151	108,610	,000
Within Groups	,464	16	,029		
Total	9,918	19			

Lampiran 10. Analisa Statistik *One Way ANOVA* Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Asupan Lemak Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)

Oneway

Descriptives

Lemak

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2	5	3,6407	,14941	,06682	3,4552	3,8262	3,54	3,90
3	5	2,7860	,17163	,07676	2,5729	2,9991	2,60	2,99
4	5	2,9416	,10606	,04743	2,8099	3,0733	2,82	3,08
5	5	1,8300	,19838	,08872	1,5837	2,0763	1,66	2,07
Total	20	2,7996	,67860	,15174	2,4820	3,1172	1,66	3,90

Test of Homogeneity of Variances

Lemak

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,662	3	16	,215

ANOVA

Lemak

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8,340	3	2,780	108,610	,000
Within Groups	,410	16	,026		
Total	8,750	19			

Lampiran 11. Analisa Statistik *One Way ANOVA* Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Asupan karbohidrat Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)

Oneway

Descriptives

Karbohidrat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2	5	19,6527	,80652	,36069	18,6512	20,6541	19,11	21,04
3	5	15,0390	,92646	,41433	13,8887	16,1894	14,01	16,13
4	5	15,8787	,57254	,25605	15,1678	16,5896	15,24	16,65
5	5	9,8782	1,07086	,47890	8,5486	11,2079	8,96	11,18
Total	20	15,1122	3,66311	,81910	13,3978	16,8266	8,96	21,04

Test of Homogeneity of Variances

Karbohidrat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,662	3	16	,215

ANOVA

Karbohidrat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	243,016	3	81,005	108,610	,000
Within Groups	11,933	16	,746		
Total	254,949	19			

Lampiran 12. Analisa Statistik One Way ANOVA Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Berat Badan Awal Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)

Oneway

Descriptives

BB

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Norma	5	223,600	19,4627	8,70402	199,433	247,766	196,0	246,0
Contro	5	241,600	14,0463	6,28172	224,159	259,040	220,0	254,0
EA	5	219,000	30,8626	13,8021	180,679	257,321	188,0	270,0
EB	5	236,800	28,4464	12,7216	201,479	272,120	192,0	270,0
EC	5	252,800	15,9906	7,15122	232,945	272,655	240,0	274,0
Total	25	234,760	24,2560	4,85121	224,747	244,772	188,0	274,0

Test of Homogeneity of Variances

BB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,401	4	20	,806

ANOVA

BB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3746,560	4	936,640	1,806	,167
Within Groups	10374,000	20	518,700		
Total	14120,560	24			

Lampiran 13. Analisa Statistik *One Way ANOVA* Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Berat Badan Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)

Oneway

Descriptives

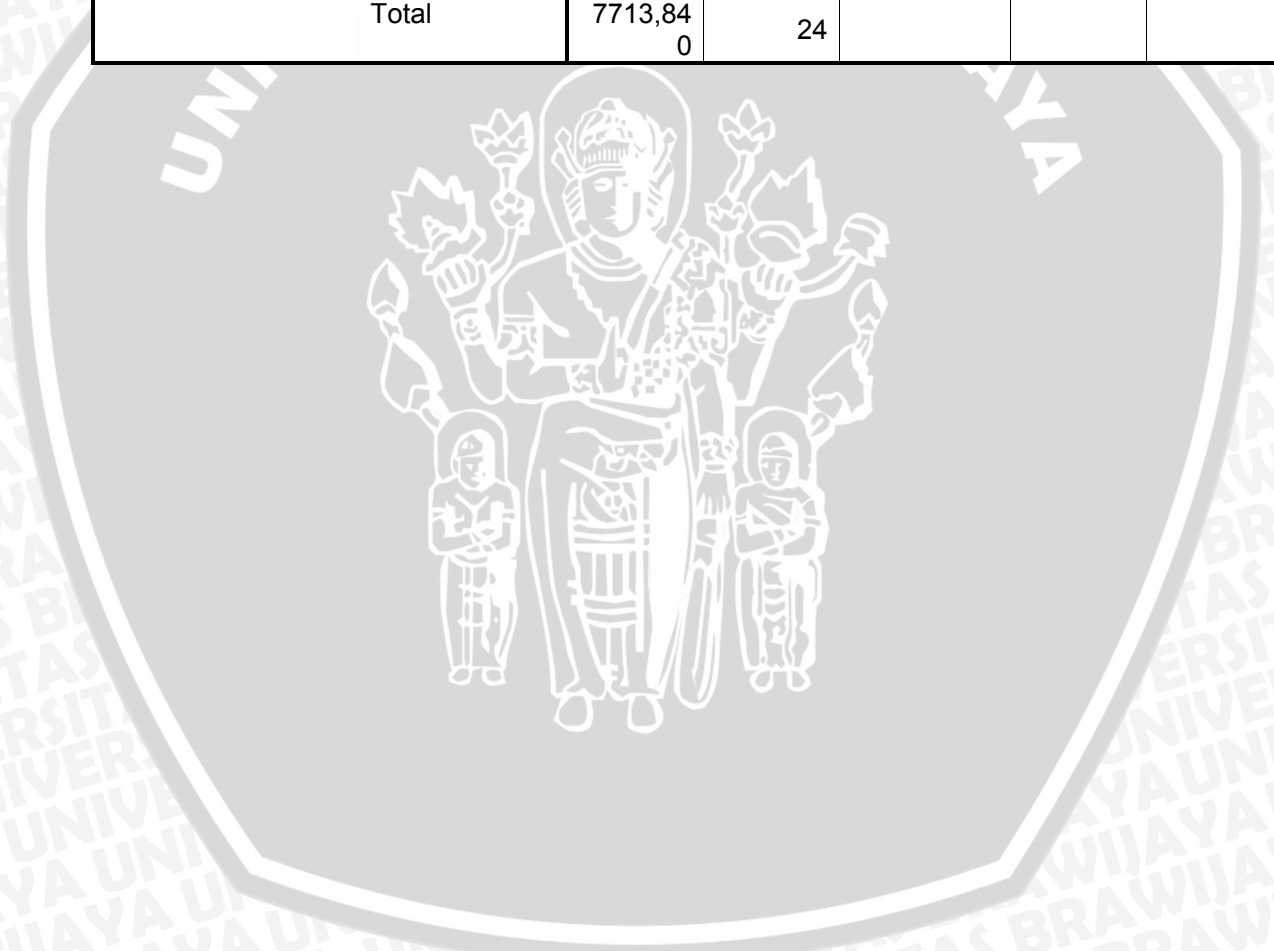
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Berat Badan Akhir	Norma l	5	274,4000	29,97999	13,40746	237,1749	311,6251	230,00	312,00
	Contro l	5	281,2000	23,91025	10,69299	251,5115	310,8885	260,00	313,00
	EA	5	247,4000	39,36750	17,60568	198,5188	296,2812	214,00	314,00
	EB	5	253,4000	31,65912	14,15839	214,0900	292,7100	213,00	287,00
	EC	5	267,0000	18,06931	8,08084	244,5640	289,4360	250,00	291,00
	Total	25	264,6800	29,85342	5,97068	252,3571	277,0029	213,00	314,00
Kenaikan Berat Badan	Norma l	5	50,8000	11,45426	5,12250	36,5777	65,0223	34,00	66,00
	Contro l	5	39,6000	16,25731	7,27049	19,4139	59,7861	22,00	63,00
	EA	5	28,4000	9,28978	4,15452	16,8652	39,9348	21,00	44,00
	EB	5	16,6000	15,53383	6,94694	-2,6878	35,8878	-10,00	28,00
	EC	5	14,2000	3,11448	1,39284	10,3329	18,0671	10,00	17,00
	Total	25	29,9200	17,92791	3,58558	22,5197	37,3203	-10,00	66,00

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Berat Badan Akhir	,534	4	20	,712
Kenaikan Berat Badan	1,243	4	20	,325

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Berat Badan Akhir	Between Groups	3993,040	4	998,260	1,148	,363
	Within Groups	17396,400	20	869,820		
	Total	21389,440	24			
Kenaikan Berat Badan	Between Groups	4782,640	4	1195,660	8,158	,000
	Within Groups	2931,200	20	146,560		
	Total	7713,840	24			



Lampiran 14. Analisa Statistik *T-Test* Pengaruh Diet Standar dan Diet Aterogenik terhadap Berat Badan Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*) pada Kelompok Kontrol Negatif dan Kontrol Positif

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Berat Badan Awal Kel. Kontrol Negatif	223,6000	5	19,46279	8,70402
	Berat Badan Akhir Kel. Kontrol Negatif	274,4000	5	29,97999	13,40746
Pair 2	Berat Badan Awal Kel. Kontrol Positif	241,6000	5	14,04635	6,28172
	Berat Badan Akhir Kel. Kontrol Positif	281,2000	5	23,91025	10,69299

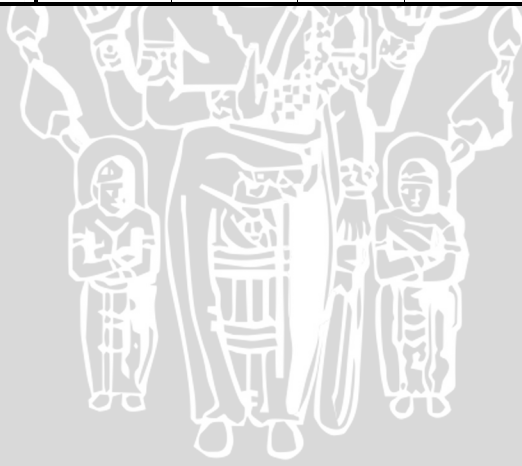
Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Berat Badan Awal Kel. Kontrol Negatif & Berat Badan Akhir Kel. Kontrol Negatif	5	,982	,003
Pair 2	Berat Badan Awal Kel. Kontrol Positif & Berat Badan Akhir Kel. Kontrol Positif	5	,751	,143



Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Paired 1	Berat Badan Awal Kel. Kontrol Negatif - Berat Badan Akhir Kel. Kontrol Negatif	50,8000	11,45426	5,12250	65,02234	36,57766	-9,917	4	,001
	Berat Badan Awal Kel. Kontrol Positif - Berat Badan Akhir Kel. Kontrol Positif	39,6000	16,25731	7,27049	59,78611	19,41389			



Lampiran 15. Analisa Statistik *One Way ANOVA* Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Rerata Intake pada Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)

Oneway

Descriptives

Intake	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Normal	5		
Control	5	41.0000	1.73205	.77460	38.8494	43.1506	40.00	44.00
Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	5	31.4000	2.07364	.92736	28.8252	33.9748	29.00	34.00
Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	5	33.4000	1.14018	.50990	31.9843	34.8157	32.00	35.00
Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	5	20.6000	2.19089	.97980	17.8797	23.3203	19.00	23.00
Total	25	32.4400	7.04202	1.40840	29.5332	35.3468	19.00	44.00

Test of Homogeneity of Variances

Intake	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	2.665	4	20	.062

ANOVA

Intake	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1133.760	4	283.440	100.511	.000
Within Groups	56.400	20	2.820		
Total	1190.160	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Intake
Tukey
HSD

(I) Label	(J) Label	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Control	-5.20000*	1.06207	.001	-8.3781	-2.0219
	Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	4.40000*	1.06207	.004	1.2219	7.5781
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	2.40000	1.06207	.199	-.7781	5.5781
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	15.20000*	1.06207	.000	12.0219	18.3781
Control	Normal	5.20000*	1.06207	.001	2.0219	8.3781
	Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	9.60000*	1.06207	.000	6.4219	12.7781

	Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	7.60000*	1.06207	.000	4.4219	10.7781
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	20.40000*	1.06207	.000	17.2219	23.5781
Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	Normal	-4.40000*	1.06207	.004	-7.5781	-1.2219
	Control	-9.60000*	1.06207	.000	-12.7781	-6.4219
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	-2.00000	1.06207	.358	-5.1781	1.1781
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	10.80000*	1.06207	.000	7.6219	13.9781
Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	Normal	-2.40000	1.06207	.199	-5.5781	.7781
	Control	-7.60000*	1.06207	.000	-10.7781	-4.4219
	Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	2.00000	1.06207	.358	-1.1781	5.1781
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	12.80000*	1.06207	.000	9.6219	15.9781
Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	Normal	-15.20000*	1.06207	.000	-18.3781	-12.0219
	Control	-20.40000*	1.06207	.000	-23.5781	-17.2219
	Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	-10.80000*	1.06207	.000	-13.9781	-7.6219
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	-12.80000*	1.06207	.000	-15.9781	-9.6219

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

Lampiran 16. Analisa Statistik One Way ANOVA Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Kadar Plasma Kolesterol HDL pada Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)

Oneway

Descriptives								
Kadar HDL Kolesterol	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Normal	5	31.4000	2.50998	1.12250	28.2834	34.5166	29.00	35.00
Control	5	20.6000	1.51658	.67823	18.7169	22.4831	19.00	23.00
Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	5	22.4000	1.14018	.50990	20.9843	23.8157	21.00	24.00
Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	5	26.0000	2.12132	.94868	23.3660	28.6340	24.00	29.00
Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	5	31.4000	4.44972	1.98997	25.8749	36.9251	26.00	38.00
Total	25	26.3600	5.14684	1.02937	24.2355	28.4845	19.00	38.00

Test of Homogeneity of Variances

Kadar HDL Kolesterol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.815	4	20	.166

ANOVA

Kadar HDL Kolesterol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	498.960	4	124.740	18.237	.000
Within Groups	136.800	20	6.840		
Total	635.760	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Kadar HDL
Kolesterol
Tukey HSD

(I) Label	(J) Label	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Control	10.80000*	1.65409	.000	5.8504	15.7496
	Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	9.00000*	1.65409	.000	4.0504	13.9496
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	5.40000*	1.65409	.028	.4504	10.3496
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	.00000	1.65409	1.000	-4.9496	4.9496
Control	Normal	-10.80000*	1.65409	.000	-15.7496	-5.8504
	Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	-1.80000	1.65409	.810	-6.7496	3.1496
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	-5.40000*	1.65409	.028	-10.3496	-.4504

	Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	-10.80000*	1.65409	.000	-15.7496	-5.8504
Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	Normal	-9.00000*	1.65409	.000	-13.9496	-4.0504
	Control	1.80000	1.65409	.810	-3.1496	6.7496
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	-3.60000	1.65409	.229	-8.5496	1.3496
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	-9.00000*	1.65409	.000	-13.9496	-4.0504
Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	Normal	-5.40000*	1.65409	.028	-10.3496	-.4504
	Control	5.40000*	1.65409	.028	.4504	10.3496
	Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	3.60000	1.65409	.229	-1.3496	8.5496
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	-5.40000*	1.65409	.028	-10.3496	-.4504
Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	Normal	.00000	1.65409	1.000	-4.9496	4.9496
	Control	10.80000*	1.65409	.000	5.8504	15.7496
	Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	9.00000*	1.65409	.000	4.0504	13.9496
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	5.40000*	1.65409	.028	.4504	10.3496

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

Lampiran 17. Analisa Statistik One Way ANOVA Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Diet Aterogenik terhadap Jumlah Foam Cell pada Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)

Oneway

Descriptives								
Jumlah Foam Cell	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Normal	5	4.8000	3.83406	1.71464	.0394	9.5606	2.00	9.00
Control	5	17.2000	3.56371	1.59374	12.7751	21.6249	12.00	22.00
Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	5	3.8000	1.30384	.58310	2.1811	5.4189	2.00	5.00
Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	5	1.6000	2.50998	1.12250	-1.5166	4.7166	.00	6.00
Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	5	4.2000	3.19374	1.42829	.2344	8.1656	.00	8.00
Total	25	6.3200	6.29630	1.25926	3.7210	8.9190	.00	22.00

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Foam Cell			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.597	4	20	.214

ANOVA

Jumlah Foam Cell					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.

Between Groups	769.040	4	192.260	21.081	.000
Within Groups	182.400	20	9.120		
Total	951.440	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Jumlah Foam Cell
Tukey HSD

(I) Label	(J) Label	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Control	-12.40000*	1.90997	.000	-18.1154	-6.6846
	Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	1.00000	1.90997	.984	-4.7154	6.7154
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	3.20000	1.90997	.470	-2.5154	8.9154
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	.60000	1.90997	.998	-5.1154	6.3154
Control	Normal	12.40000*	1.90997	.000	6.6846	18.1154
	Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	13.40000*	1.90997	.000	7.6846	19.1154
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	15.60000*	1.90997	.000	9.8846	21.3154
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	13.00000*	1.90997	.000	7.2846	18.7154
Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5	Normal	-1.00000	1.90997	.984	-6.7154	4.7154

mg/gBB	Control	-13.40000*	1.90997	.000	-19.1154	-7.6846
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	2.20000	1.90997	.778	-3.5154	7.9154
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	-.40000	1.90997	1.000	-6.1154	5.3154
Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	Normal	-3.20000	1.90997	.470	-8.9154	2.5154
	Control	-15.60000*	1.90997	.000	-21.3154	-9.8846
	Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	-2.20000	1.90997	.778	-7.9154	3.5154
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	-2.60000	1.90997	.658	-8.3154	3.1154
Diet Aterogenik + Ekstrak 1,5 mg/gBB	Normal	-.60000	1.90997	.998	-6.3154	5.1154
	Control	-13.00000*	1.90997	.000	-18.7154	-7.2846
	Diet Aterogenik + Ekstrak 0,5 mg/gBB	.40000	1.90997	1.000	-5.3154	6.1154
	Diet Aterogenik + Ekstrak 1 mg/gBB	2.60000	1.90997	.658	-3.1154	8.3154

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

Lampiran 18. Analisa Statistik Regresi-Korelasi Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Srikaya pada Kelompok yang Diberi Ekstrak terhadap Intake, Kadar Plasma Kolesterol HDL dan Jumlah Foam Cell pada Tikus Percobaan (*Rattus norvegicus strain wistar*)

Correlations

		Dosis	Intake	HDL	FoamCell
Dosis	Pearson Correlation	1	-.752**	.811**	.066
	Sig. (1-tailed)		.001	.000	.408
	N	15	15	15	15
Intake	Pearson Correlation	-.752**	1	-.731**	-.258
	Sig. (1-tailed)	.001		.001	.176
	N	15	15	15	15
HDL	Pearson Correlation	.811**	-.731**	1	.280
	Sig. (1-tailed)	.000	.001		.156
	N	15	15	15	15
FoamCell	Pearson Correlation	.066	-.258	.280	1
	Sig. (1-tailed)	.408	.176	.156	
	N	15	15	15	15

** . Correlation is significant at the 0.01 level (1-tailed).

Regression

Variables Entered/Removed ^b			
Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	DOSIS, INTAKE ^a		Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: HDL

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Durbin-Watson
1	.832 ^a	.692	.641	2.80972	2.269

a. Predictors: (Constant), DOSIS, INTAKE

b. Dependent Variable: HDL

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	212.865	2	106.433	13.482	.001 ^a
	Residual	94.735	12	7.895		
	Total	307.600	14			

a. Predictors: (Constant), DOSIS, INTAKE

b. Dependent Variable: HDL

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Collinearity Statistics	
		B	Std. Error	Beta			Tolerance	VIF
1	(Constant)	26.044	7.615		3.420	.005		
	INTAKE	-.215	.188	-.278	1.146	.274	.435	2.301
	DOSIS	.033	.013	.602	2.477	.029	.435	2.301

a. Dependent Variable: HDL

Y = 26,044 + 0,033 X₂

Keterangan :

Y = Kadar HDL Plasma

X₂ = Dosis

Regression

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	DOSIS, INTAKE ^a		Enter

- a. All requested variables entered.
 b. Dependent Variable: Foam Cell

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Durbin-Watson
1	.324 ^a	.105	-.044	2.62556	2.497

- a. Predictors: (Constant), DOSIS, INTAKE
 b. Dependent Variable: Foam Cell

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	9.677	2	4.839	.702	.515 ^a
	Residual	82.723	12	6.894		
	Total	92.400	14			

- a. Predictors: (Constant), DOSIS, INTAKE
 b. Dependent Variable: Foam Cell

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Collinearity Statistics	
		B	Std. Error	Beta			Tolerance	VIF
1	(Constant)	10.789	7.116		1.516	.155		

INTAKE	-.203	.175		-.481	1.160	.269	.435	2.301
DOSIS	-.009	.013		-.296	-.714	.489	.435	2.301

a. Dependent Variable: Foam Cell



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Andriana Natanael
NIM : 0910710003
Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

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

Malang, 12 November 2012

Yang membuat pernyataan

Andriana Natanael

NIM. 0910710003