

**PENGARUH POLIFENOL BUAH TIN (*Ficus carica Linn*) TERHADAP KADAR HDL
(*High Density Lipoprotein*) PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR JANTAN
YANG DIET ATEROGENIK**

TUGAS AKHIR

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

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Oleh:
Dea Florensia
NIM : 0910714066

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

LEMBAR PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH POLIFENOL BUAH TIN (*Ficus carica*) TERHADAP KADAR LDL (*Low Density Lipoprotein*) TIKUS (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR YANG DIBERI DIET ATHEROGENIK

Oleh :

Dea Florensia

NIM : 0910714066

Telah diuji pada:

Hari : Rabu

Tanggal : 26 Desember 2012

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I,

Prof. Dr. dr. Edi Widjajanto, MS, SpPK (K)

NIP. 19500427 198002 1 001

Penguji II / Pembimbing I

Penguji III / Pembimbing II

Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc

NIP. 19550201 198503 2 001

dr Hidayat Sujuti, PhD, SpM

NIP. 19670123 1996011 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran

Prof.Dr.dr.Teguh W. Sardjono DTM& H, MSc, SpParK

19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur dan kemuliaan hanya kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala limpahan kasih karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul "Pengaruh Polifenol Buah Tin (*Ficus Carica*) Terhadap Kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) Pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar Yang Diberi Diet Aterogenik”.

Penulis menyadari tugas akhir ini tidak mungkin diselesaikan tanpa bimbingan, arahan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini perkenankan penulis untuk mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tertinggi kepada yang terhormat :

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan untuk membuat tugas akhir ini.
2. Prof.Dr.dr. Teguh Wahyu Sardjono DTM& H, MSc, SpParK, Kajur Pendidikan Dokter atas bimbingannya selama ini..
3. Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc. sebagai pembimbing pertama yang telah dengan sabar memberikan kesempatan, ilmu, dukungan, semangat, dan nasihat untuk penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
4. dr. Hidayat Sujuti PhD, SpM. sebagai pembimbing kedua, atas kesabaran, kesediaan waktu untuk memberikan arahan dan pandangan dalam sudut tinjau ilmiah demi terselesaikannya tugas akhir ini.
5. Dr.Dra. Penguji tugas akhir yang bersedia meluangkan waktunya untuk menjadi penguji, memberikan masukan, dan koreksi dalam penulisan tugas akhir ini.
6. Dr. Ciptati, MS., M.Sc. dari FMIPA ITB, yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam proses ekstraksi polifenol buah tin.
7. Segenap tim pengelola tugas akhir atas bantuan serta kemudahan yang telah diberikan.

8. Seluruh dosen, tim analisa serta karyawan Laboratorium Biokimia dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah banyak membantu dalam penelitian ini.
9. Yang tercinta, terkasih, dan tersayang ayah saya Boedhy Setyanto dan eyang Soeharti yang telah memberikan doa, motivasi, dan kasih sayang yang tiada hentinya.
10. Iraky MR, Pratiwi Indrihapsari, Igsana CM, Yohanna Feryna dan Sarra Feryna yang selalu memberikan keceriaan, semangat dan tempat untuk berbagi cerita.
11. Teddy Suhendra, yang tak pernah lelah menyemangati, membantu dan menemani hingga proses penyusunan tugas akhir ini terasa menyenangkan.
12. Teman-teman kelompok penelitian buah tin: Nurul Laili Nahlia, Harnanik Puji Riswati, Dendri Kusuma, Nurdiana R., Prasetyo Bagus, Muizzatul Ihda, Izzati, Noorma Lukitasari, Havri Bogi, Ardine Cahya, dan Cholis Hidayat atas kerjasamanya dalam melaksanakan dan menyelesaikan penelitian ini.
13. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan tugas akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan Tugas Akhir ini masih memiliki kekurangan. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat diperlukan agar karya ini menjadi lebih sempurna. Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat untuk menambah wawasan para pembaca, masyarakat dan penelitian selanjutnya.

Malang, 6 Desember 2012

Penulis

ABSTRAK

Florensia, Dea. 2012. **Pengaruh Polifenol Buah Tin (*Ficus carica* Linn) Terhadap Kadar High Density Lipoprotein (HDL) Pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar Jantan yang Diberi Diet Aterogenik**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Pembimbing : (1) Dr. Retty Ratnawati, M.Sc, dr (2) Hidayat Sujuti, Ph.D, Sp.M, dr

Aterosklerosis merupakan penyebab utama berbagai penyakit kardio-vaskuler yang telah dianggap sebagai masalah kesehatan utama di seluruh dunia. Teori yang melandasi patogenesis aterosklerosis (aterogenesis) antara lain : (1) Inflamasi, dan (2) Radikal bebas. Sedangkan HDL merupakan lipoprotein yang memiliki sifat anti-inflamatori dan dapat menurunkan risiko terkena penyakit kardiovaskuler pada orang yang tidak sedang terpapar proses patologikal. Namun, pada keadaan sedang terpapar proses patologikal, HDL dapat merubah sifatnya dari anti-inflamatori menjadi pro-inflamatori. Salah satu pencegahan aterosklerosis yang lain adalah dengan mengkonsumsi zat antioksidan. Buah Tin (*Ficus carica* Linn) dipercaya mengandung polifenol yang memiliki mekanisme kerja oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh polifenol buah tin terhadap kadar HDL serum darah tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar jantan yang diberi diet aterogenik. Variabel yang diukur dalam penelitian ini adalah kadar HDL serum. Studi eksperimental ini menggunakan desain penelitian *post test only control group* selama 65 hari. Sebanyak 25 ekor tikus dibagi secara acak menjadi 5 kelompok yang masing-masing terdiri atas 5 ekor tikus, yaitu kelompok Kontrol Negatif (diet normal), Kontrol Positif (diet tinggi lemak), Perlakuan A (diet tinggi lemak + polifenol 4.5 mg/hari), Perlakuan B (diet tinggi lemak + polifenol 9 mg/hari), Perlakuan C (diet tinggi lemak + polifenol 18 mg/ hari). Untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing perlakuan digunakan uji statistik *Kruskal Wallis*, sedangkan untuk mengetahui korelasi antar kelompok digunakan uji korelasi *Pearson*. Hasil penelitian menunjukkan kadar HDL kolesterol tikus pada pemberian diet normal (Kn) sebesar 24,26 mg/dl, pemberian diet aterogenik (Kp) sebesar 25,08 mg/dl, pemberian diet aterogenik dengan ekstrak polifenol 4,5mg/200gram/hari (P1) sebesar 12,87 mg/dl, pemberian diet aterogenik dengan ekstrak polifenol 9mg/200gram/hari 11,29 mg/dl dan pemberian diet aterogenik dengan ekstrak polifenol 18 mg/200gram/hari (P3) 8,29 mg/dl. Dari hasil uji statistik *Tukey* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kadar HDL kolesterol antar kelompok perlakuan dengan nilai $p = 0,002$ ($p < 0,05$), namun perhitungan dengan uji korelasi *Pearson* menghasilkan nilai $p = -0,683$ ($p < 0,05$), yang menunjukkan hubungan negatif antara peningkatan dosis polifenol dengan kadar HDL. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa dosis polifenol 4,5mg/200gram/hari, 9mg/200gram/hari, dan 18mg/200gram/hari pada tikus dengan diet aterogenik tidak dapat menghambat penurunan kadar HDL secara signifikan.

Kata kunci : polifenol, *Ficus carica*, aterosklerosis, kadar HDL

ABSTRACT

Florensia, Dea. 2012. ***The Effect of Fig Fruit (*Ficus carica* Linn) Polyphenol to HDL serum Level of Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) Fed with Atherogenic Diet.*** Final Assignment, Medical Department, Faculty of Medicine Brawijaya University Malang. Supervisors : (1) Dr. Retty Ratnawati, M.Sc., dr (2) Hidayat Sujuti, Ph.D, Sp.M, dr

Atherosclerosis is a major cause of cardio-vascular diseases which have been considered as a major health problem worldwide. The theory underlying the pathogenesis of atherosclerosis (atherogenesis), among others: (1) inflammation, and (2) free radicals. While HDL is a lipoprotein that has anti-inflammatory properties and may reduce the risk of cardiovascular disease in people who are not being exposed to pathological processes, HDL can change the nature of anti-inflammatory to pro-inflammatory. One of the other atherosclerosis prevention is to use antioxidants. Figs fruit (*Ficus carica* Linn) contains polyphenols which have anti-oxidative mechanism of action. This study aimed to investigate wheter polyphenols of Figs influence on rat blood serum HDL in *Rattus norvegicus* Wistar males fed atherogenic diet. The variables measured in this study were rat blood serum HDL levels. This experimental study research design posttest control group only for 65 days. A total of 25 mice were randomly divided into 5 groups, each consisting of five rats, the negative control group (normal diet), positive control group (high-fat diet), treatment A (high-fat diet + polyphenols 4.5 mg/day), treatment B (high-fat diet + polyphenols 9 mg/day), and treatment C (high-fat diet + polyphenols 18 mg/day). To know the differences of each treatment used Kruskal Wallis test statistic, while to figure out the correlation between treatment, the Pearson correlation was used. The results showed high levels of HDL cholesterol in provision of a normal diet mice (Kn) of 24.26 mg/dl, giving atherogenic diet (Kp) of 25.08 mg/dl, giving atherogenic diet with polyphenol extracts 4.5 mg/200gram/day (PA) of 12.87 mg/dl, giving atherogenic diet with polyphenol extracts 9 mg/200gram/day (PB) 11.29 mg/dl and giving atherogenic diet with polyphenol extracts 18mg/200gram/day (PC) 8.29 mg/dl. From the results of Tukey statistical test showed that there were significant differences in HDL cholesterol levels between treatment groups with $p = 0.002$ ($p < 0.05$), but the calculation of Pearson correlation test produced p value = -0.683 ($p < 0.05$), which shows a negative relationship between increasing doses of polyphenols with HDL. Thus, it can be concluded that the dose of polyphenols 4.5-18 mg/200gram/day in mice with atherogenic diet can not inhibit decreased of HDL significantly.

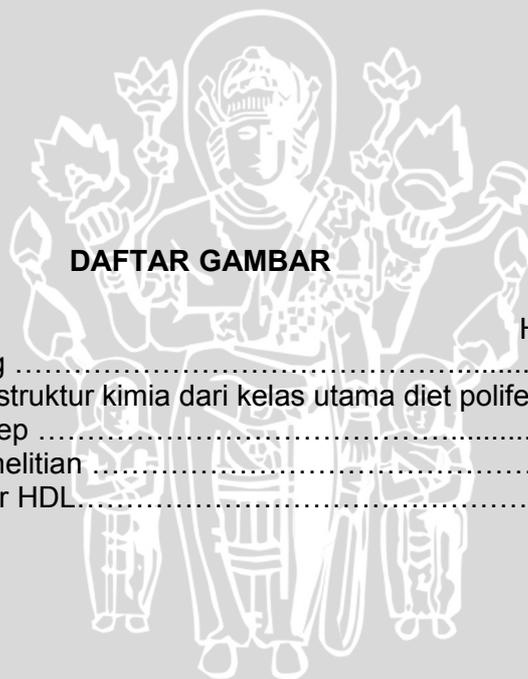
Keywords : polyphenol, *Ficus carica*, atherosclerosis, HDL level

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	x
Daftar Tabel	xi
Daftar Lampiran	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademik	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Aterosklerosis	6
2.1.1 Definisi Aterosklerosis	6
2.2 Lipid (lemak)	11
2.2.1 Metabolisme Lipid	11
2.3 High Density Lipoprotein (HDL)	13
2.3.1 Definisi HDL	13
2.3.2 Metabolisme HDL	14
2.3.3 Peranan Kolesterol HDL pada Aterosklerosis	15
2.4 Radikal Bebas	16
2.4.1 Macam dan Sumber Radikal Bebas	16
2.4.2 <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS).....	17
2.4.3 Reaksi Perusakan oleh Radikal Bebas	17
2.5 Antioksidan	19
2.6 Buah Tin (<i>Ficus carica Linn</i>)	20
2.6.1 Komponen dan Zat Bioaktif Buah Tin.....	21
2.6.2 Taksonomi Buah Tin	22
2.6.3 Ekstrak Buah Tin	23
2.6.4 Dosis Polifenol Buah Tin	23
2.6.5 Manfaat Buah Tin	23
2.6.6 Polifenol	25
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	29

3.2	Deskripsi Kerangka Konsep	30
3.3	Hipotesis Penelitian	31
BAB IV METODE PENELITIAN		
4.1	Jenis dan Desain Penelitian	32
4.2	Sampel dan Metode Pengambilan Sampel	33
4.2.1	Metode Pemilihan Sampel Penelitian	34
4.3	Variabel Penelitian	34
4.3.1	Variabel Independen	34
4.3.2	Variabel Dependen	35
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	35
4.5	Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian	35
4.5.1	Alat Penelitian	35
4.5.2	Bahan Penelitian	36
4.6	Definisi Istilah / Operasional	36
4.7	Prosedur Penelitian / Pengumpulan Data	37
4.7.1	Pembuatan Pakan Tikus	37
4.7.2	Proses Perlakuan Pada Tikus Percobaan	38
4.7.3	Pengukuran Kadar Interleukin-6 (IL-6) dengan Metode ELISA (<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>)	39
4.7.4	Bagan Alur Penelitian	40
4.8	Analisis Data	40
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA		
5.1	Hasil Penelitian	42
5.2	Analisis Data	44
BAB 6 PEMBAHASAN		
BAB 7 PENUTUP		
7.1	Kesimpulan	54
7.2	Saran	54
DAFTAR PUSTAKA		55
LAMPIRAN		60

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



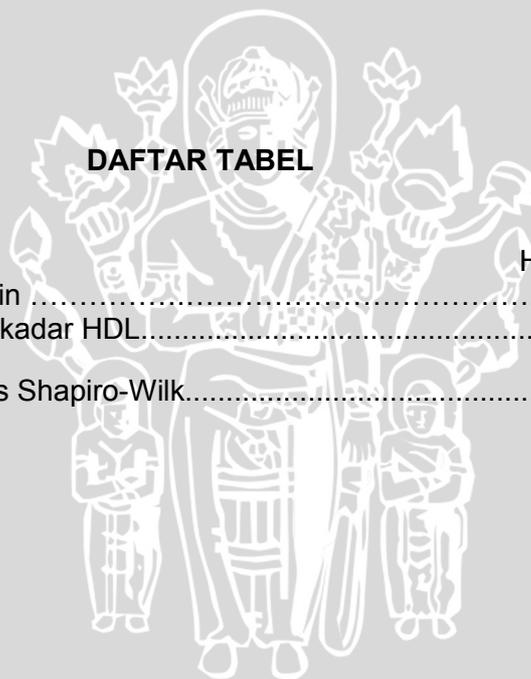
DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 2.1	Buah Tin kering	20
Gambar 2.2	Klasifikasi dan struktur kimia dari kelas utama diet polifenol	28
Gambar 3.1	Kerangka konsep	29
Gambar 4.1	Bagan Alur Penelitian	40
Gambar 5.1	Rata-rata Kadar HDL	43

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi buah Tin	22
Tabel 5.1 Hasil pengukuran kadar HDL.....	42
Tabel 5.2 Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk.....	44



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Perhitungan Dosis Polifenol Buah Tin (<i>Ficus carica Linn</i>)..... 60
Lampiran 2	Diagram Alur Penelitian 61
Lampiran 3	Alur Pembuatan Diet Normal 62
Lampiran 4	Alur Pembuatan Diet Tinggi lemak 63
Lampiran 5	Dokumentasi Hewan Coba 64
Lampiran 6	Pengukuran Kadar <i>High Density Lipoprotein</i> (HDL) 64
Lampiran 7	Hasil Pengukuran Kadar HDL Serum 65
Lampiran 8	Hasil Analisis Data Kadar HDL Serum 66
Lampiran 9	Rekap dan Grafik Berat Badan Tikus 71
Lampiran 10	Rekap dan Grafik Asupan Makanan Tikus 73
Lampiran 11	Data Lemak Viseral, Grafik, dan Analisis 79
Lampiran 12	Profil Lipid Tikus..... 82
Lampiran 13	Pernyataan Keaslian Tulisan 84
Lampiran 14	Kelengkapan Permohonan <i>Ethical Clearance</i> 85

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit kardiovaskular merupakan penyebab utama kematian di dunia, yaitu sepertiga dari seluruh kematian total di dunia. Diperkirakan 17,3 juta orang meninggal karena penyakit kardiovaskular, yang terutama disebabkan oleh Penyakit Jantung Koroner. Penyakit kardiovaskular ini banyak terjadi di negara miskin atau berkembang seperti Indonesia, dan terjadi pada pria dan wanita dengan prevalensi yang hampir sama (WHO, 2011).

Penyakit Jantung Koroner dapat disebabkan oleh aterosklerosis yang merupakan penebalan pada dinding arteri koronaria. Keadaan tersebut ditandai oleh pembentukan bercak jaringan ikat-lemak dalam tunika intima yang ditunjukkan oleh adanya gumpalan di bagian tengah yang kaya akan lemak, dan menyebabkan penyempitan lumen pembuluh darah (Kumar *et al.*, 2007).

Dislipidemia yang merupakan kelainan metabolisme lipid dalam plasma merupakan faktor risiko utama terjadinya aterosklerosis. Kelainan fraksi lipid yang paling utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kenaikan kadar trigliserida serta penurunan kadar HDL (Anwar, 2004). Seseorang memiliki risiko tinggi terkena PJK jika konsentrasi kolesterol total plasma lebih besar dari 240 mg/dL, nilai plasma kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*) lebih besar dari 160 mg/dL dan kolesterol HDL (*High Density*

Lipoprotein) lebih kecil dari 35 mg/dL (Hatma, 2011). Kolesterol HDL mempunyai peranan yang penting pada keadaan dislipidemia karena pada beberapa studi epidemiologis menunjukkan adanya hubungan erat antara penurunan kadar kolesterol HDL dengan risiko PJK. Setiap peningkatan 1 mg/dL kadar kolesterol HDL menurunkan risiko PJK 2% pada laki-laki dan 3% pada perempuan dan hal tersebut tidak dipengaruhi oleh kolesterol LDL (Kostner KB, 2002). Di Indonesia, penyakit jantung banyak diderita karena kadar kolesterol HDL yang rendah dan bukan karena LDL yang tinggi. Oleh karena itu upaya peningkatan HDL harus dilakukan secara tepat sehingga dapat menekan risiko munculnya penyakit jantung koroner (Khomsan, 2005).

Teori yang sampai saat ini digunakan untuk menjelaskan patogenesis aterosklerosis ialah teori inflamasi dengan konsep adanya infiltrasi lipid dan disfungsi endotel, serta teori radikal bebas (Napoli dan Lerman, 2001). Diawali dengan adanya partikel LDL (Low Density Lipoprotein) dalam sirkulasi yang terjebak di dalam lapisan intima yang kemudian mengalami oksidasi. LDL ini kemudian bergabung dengan makrofag membentuk sel-sel busa sehingga membentuk bercak perlemakan yang dapat menyebabkan ruptur di endotel (Anwar, 2004). Ruptur ini kemudian menginisiasi perlekatan sel-sel mononuklear di dinding arteri, yang dipicu oleh berbagai kemoatraktan seperti LDL teroksidasi, lipoprotein (a), sitokin [*monocyte chemoattractant protein 1* (MCP-1), *interleukin-1* (IL-1), dan *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α)], dan kolagen dan elastin yang terdegradasi (Ross, 1999), hingga pada tahap yang kronis dapat menyebabkan timbunan plak aterosklerosis di dinding pembuluh darah.

Selain teori inflamasi, meningkatnya radikal bebas juga berperan pada patogenesis aterosklerosis. Peningkatan radikal bebas pada jaringan endotel disebabkan oleh aktivitas oksidasi dan antioksidan yang tidak seimbang akibat hiperlipidemia. Peningkatan radikal bebas tersebut lama-kelamaan akan menimbulkan kerusakan jaringan yang menginduksi sitokin-sitokin pro-inflamasi (Napoli and Lerman, 2001).

Menurut *Bogalusa Heart Study* dan *PDAY Research Group*, proses aterosklerosis telah dimulai sejak usia anak-anak dan berkembang cepat pada usia remaja dan dewasa. Jika pembentukan aterosklerosis ini tidak dicegah, maka akan mempunyai risiko tinggi untuk menderita penyakit jantung koroner dini serta kelainan kardiovaskuler dini lainnya (Ontoseno, 2005). Salah satu pencegahannya yaitu dengan dengan antioksidan, yang sudah diteliti mampu menghambat atau memperlambat oksidasi yang menjadi salah satu patogenesis terjadinya aterosklerosis serta meningkatkan Apolipoprotein-A1, yang merupakan komponen utama dari HDL. Salah satu senyawa yang bersifat sebagai antioksidan pada buah-buahan adalah senyawa fenol. Banyak penelitian yang telah dilakukan untuk mencari hubungan antara polifenol pada tumbuhan dengan pathogenesis terjadinya aterosklerosis. Curtiss (2009) menyatakan bahwa antioksidan mampu mengurangi adhesi *macrophage foam cell* pada lapisan intima vascular.

Beberapa buah-buahan yang sering dikonsumsi manusia ternyata mengandung antioksidan. Salah satunya adalah Buah Tin (*Ficus Carica Linn*) atau dalam bahasa Inggris disebut *fig*, yang memiliki konsentrasi polifenol tertinggi, 1,090-1,110 mg/100 g buah segar (Vinson, 1999). Buah ini sering dijumpai di daerah Asia Barat, namun masih jarang ditemukan di Indonesia (Joseph B *et al.*, 2011).

Di negara Mediterania, Buah Tin biasa dikonsumsi baik dalam keadaan kering maupun masih segar. Buah Tin ini mengandung mineral, kalsium, fosfor, dan pada buah yang kering mengandung besi yang sangat tinggi. Dipercaya bahwa jika mengkonsumsi Buah Tin kering setiap hari dapat meningkatkan resistensi tubuh dan dapat menjadi pemasok kebutuhan vitamin setiap hari. Ekstrak basah dari Buah Tin juga mengandung polifenol, flavonoid, dan antosianin, yang menjadikannya sebagai buah yang memiliki kapasitas antioksidan tertinggi (Joseph B *et al.*, 2011)

Melihat banyaknya manfaat Buah Tin (*Ficus carica Linn*), serta adanya keterkaitan antara fungsi polifenol sebagai antioksidan dengan aterosklerosis, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh spesifik polifenol Buah Tin terhadap patogenesis

aterosklerosis. Oleh karena itu, penelitian ini dirancang untuk mengetahui pengaruh polifenol pada buah tin (*Ficus carica Linn*) terhadap kadar HDL pada serum tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus L*) dengan diet atherogenik. Diharapkan penelitian ini dapat menambah referensi tentang manfaat polifenol Buah Tin untuk mencegah aterosklerosis, juga sebagai variasi konsumsi buah di Indonesia.

2.1 Rumusan Masalah

Apakah pemberian polifenol Buah Tin (*Ficus carica Linn*) dengan berbagai dosis dapat menghambat penurunan kadar HDL pada tikus putih *Rattus norvegicus L.* galur wistar dengan diet atherogenik?

3.1 Tujuan Penelitian

Membuktikan bahwa pemberian polifenol Buah Tin (*Ficus carica Linn*) dengan dosis 4,5mg/200gram/hari, 9mg/200gram/hari, dan 18mg/200gram/hari dapat menghambat penurunan kadar HDL pada tikus putih *Rattus norvegicus* galur wistar dengan diet atherogenik.

4.1 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Menambah khasanah ilmu pengetahuan dalam pemanfaatan polifenol Buah Tin (*Ficus carica Linn*) sebagai alternatif terapi preventif aterosklerosis.
2. Memberikan informasi sebagai dasar teori mengenai ekstrak polifenol Buah Tin (*Ficus carica Linn*) terhadap kadar HDL pada patogenesis aterosklerosis.

1.4.2 Manfaat Praktis

Menambah dasar teori tentang manfaat buah tin (*Ficus carica Linn*) sebagai tanaman herbal dari asia tengah yang memiliki potensi sebagai prevensi aterosklerosis di Indonesia.



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Aterosklerosis

2.1.1 Definisi

Aterosklerosis berasal dari kata athero dalam bahasa Yunani (athera) suatu bentuk gabung yang menunjukkan degenerasi lemak atau hubungan dengan atheroma. Sedangkan skelosis dalam bahasa Yunani adalah indurasi dan pengerasan, seperti pengerasan sebagian peradangan atau pembentukan jaringan ikat. Aterosklerosis merupakan pengerasan pembuluh darah arteri yang disebabkan oleh penimbunan lemak, kalsium, komponen darah, karbohidrat dan jaringan fibrosa pada tunika intima arteri. Penimbunan ini disebut dengan ateroma atau plak (Kumar et al., 2007).

2.1.2 Faktor Risiko

Saat ini banyak faktor-faktor yang berkaitan dengan terjadinya proses aterosklerosis. Identifikasi terhadap penyebab yang dihubungkan dengan faktor risiko terutama faktor yang bisa dicegah atau reversibel, hal ini penting untuk pencegahan primer dan sekunder. Faktor risiko aterosklerosis dikelompokkan menjadi 2 kelompok yaitu faktor risiko utama yang dapat dimodifikasi dengan perubahan gaya hidup meliputi : dislipidemia, hiperkolesterolemia,

obesitas, merokok, hipertensi, dan DM. Sedangkan faktor risiko aterosklerosis yang tidak dapat dimodifikasi adalah umur, jenis kelamin, ras, dan genetik.

2.1.2.1 Dislipidemia

Hiperlipidemia merupakan peningkatan satu atau lebih lipid (lipoprotein dalam plasma). Abnormalitas lipoprotein juga dapat disebabkan karena rendahnya kadar lipid tertentu, sehingga menggunakan istilah dislipidemia. Keadaan ini meliputi peningkatan kadar kolesterol total, LDL, dan trigliserida, serta penurunan kadar HDL. Dislipidemia merupakan penyebab aterosklerosis di seluruh tubuh termasuk glomerusklerosis yang diawali dengan pembentukan *foam cell* dalam urin. Beberapa penelitian penderita dislipidemia memiliki umur rata-rata 53 tahun. Hal ini menunjukkan bahwa dislipidemia lebih banyak terjadi pada usia produktif, walaupun bisa dimulai terjadi pada usia muda (Indranila, 2008).

2.1.2.2 Merokok

Risiko jantung iskemik meningkat menjadi 3-5 lipat pada usia 50 tahun yang merokok lebih dari 15 batang perhari. Beberapa bukti menyatakan bahwa risiko aterosklerosis lebih berhubungan dengan jumlah batang rokok daripada lamanya merokok dan tidak ada bukti yang menyatakan bahwa rokok filter atau jenis lain yang dapat mengurangi faktor risiko aterosklerosis (Mughni, 2007). Merokok juga ikut berperan dalam disfungsi endotel, meningkatkan stres oksidatif dan memacu terjadinya oksidasi LDL (Mary E, 2007). Pada studi epidemiologis perokok pasif dapat meningkatkan risiko aterosklerosis 20-30%, begitu juga pada penderita kanker, sistem pernafasan dan penyakit-penyakit yang berhubungan dengan merokok (Mughni, 2007).

2.1.2.3 Hipertensi

Komplikasi jantung akibat hipertensi yang sering terjadi adalah kegagalan ventrikel kiri, angina pectoris dan infark miokard pada PJK. Hipertensi pada jantung disebabkan karena meningkatnya tekanan darah yang dapat memperberat kerja jantung, sehingga menyebabkan hipertrofi ventrikel kiri (faktor miokard). Akan tetapi hal ini tergantung pada lama dan beratnya hipertensi. Tekanan darah yang tinggi dan menetap juga akan menimbulkan trauma langsung terhadap dinding pembuluh darah arteri koronaria, sehingga

memudahkan terjadinya aterosklerosis koroner (faktor koroner). Hal ini menyebabkan angina pektoris, insufisiensi koroner dan miokard infark yang mana lebih sering didapatkan pada penderita hipertensi dibandingkan orang normal (Bahri, 2004).

2.1.2.4 Umur

Umur mempunyai hubungan terhadap terjadinya risiko aterosklerosis. Sebagian besar kasus aterosklerosis terjadi pada laki-laki 33-45 tahun dan kemudian bisa meningkat seiring dengan pertambahan umurnya. Keterkaitan umur juga berpengaruh dengan peningkatan kadar kolesterol dalam tubuh. Kadar kolesterol pada laki-laki akan meningkat sampai umur 650 tahun dan akan sedikit menurun setelah berumur 50 tahun, sedangkan kadar kolesterol pada perempuan sebelum menopause (40-60 tahun) lebih rendah daripada laki-laki dengan umur yang sama. Menurunkan dan mengontrol kolesterol dalam tubuh sangat bermanfaat. Beberapa penelitian menyatakan bahwa pada penderita dengan kolesterol tinggi bila terjadi penurunan kadar kolesterol total sebesar 1% maka akan terjadi penurunan risiko penyakit jantung sebesar 2% (Bahri, 2004).

2.1.2.5 Jenis Kelamin

Risiko aterosklerosis secara umum banyak terjadi pada laki-laki dan terjadi sedikit pada perempuan, tetapi perbedaan tersebut sedikit berbeda pada akhir-akhir ini terutama pada masa menopause, tetapi setelah menopause hampir tidak didapatkan perbedaan kolesterol. Hal ini dimungkinkan karena perempuan mempunyai hormon estrogen sebagai pelindung. Pada beberapa perempuan yang hamil juga akan mengalami peningkatan kolesterol dan akan kembali normal setelah 20 minggu waktu melahirkan (Mughni, 2007)

Aterosklerosis terutama berkaitan dengan diet yang mengandung terlalu banyak kolesterol. Sebenarnya kolesterol merupakan jenis lemak yang penting untuk tubuh kita. Kebutuhan kolesterol sebagian diproduksi oleh tubuh, terutama di hati, dan juga didapatkan dari makanan. Namun, jumlah kolesterol dalam darah tidak boleh melebihi 200mg per 100ml darah, walaupun mungkin ada sedikit perbedaan karena faktor usia, jenis kelamin dan ras. Seperti yang telah dibicarakan sebelumnya bahwa HDL bertindak sebagai *scavenger* yang memunguti lemak-lemak yang dibawa oleh LDL dari hati kembali ke pembuluh darah. Bila

jumlah LDL terlalu banyak dan jumlah HDL terlalu sedikit, maka lemak tersebut akan menumpuk menjadi plak berbahaya. Selain itu ada faktor-faktor lain yang dapat menjadi faktor risiko aterosklerosis antara lain konsumsi alkohol, merokok, dan umur.

2.1.3 Patogenesis Aterosklerosis

Langkah pertama aterogenesis melibatkan pembentukan *fatty streak* yang merupakan pengendapan kolesterol-kolesterol yang telah dioksidasi dan makrofag di lapisan intima. Low Density Lipoprotein (LDL) dalam darah akan menyerang endotel dan dioksidasi oleh radikal-radikal bebas di permukaan endotel. Reaksi inflamasi yang disebabkan oleh kerusakan endotel ini akan mengeluarkan sinyal-sinyal yang akan menarik monosit memasuki dinding arteri dari darah. Proses ini disertai juga oleh pelekatan platelet ke bagian pembuluh darah yang cedera ini. Monosit-monosit yang telah memasuki dinding arteri ini akan berubah menjadi makrofag dan memfagositosis LDL yang telah dioksidasi dan menjadi *foam cell* oleh vesikel-vesikel dalam bentuk sitoplasma makrofag.

Kemudian *foam cell* ini akan mato dan memperparah proses inflamasi pada dinding arteri. Selain itu juga terdapat penambahan otot polos (*smooth muscle*) yang akan bergerak dari tunika media ke tunika intima apabila dirangsang oleh sitokin yang dilepaskan oleh sel endotel yang rusak.

Selanjutnya akan terjadi kalsifikasi pada otot polos pembuluh darah terutama otot-otot di sebelah plak ateroma. Kematian sel-sel pembuluh darah juga akan menyebabkan kalsium yang berada di luar sel bergerak ke dalam otot-otot polos ini dan mengendap.

Selain itu, LDL juga akan membawa kolesterol-kolesterol ke dalam dinding saluran darah. Kolesterol-kolesterol ini akan dilepaskan dan dioksidasi untuk menarik makrofag ke bagian pembuluh darah.

Keadaan ini akan menjadi lebih parah ketika tubuh hanya mempunyai sedikit HDL untuk membawa kolesterol di sel kembali ke hati. *Foam cell* dan platelet akan memicu proliferasi dan migrasi otot polos ke tunika intima. Otot-otot polos ini akan memakan lipid dan menjadi *foam cell*. Setelah itu, mereka akan diganti oleh kolagen. Satu fibrous cap akan terbentuk di tengah endapan lemak dan tunika intima. Ateroma ini akan menghasilkan enzim yang akan

menyebabkan pembesaran arteri. Pembesaran lumen arteri ini akan menurunkan frekuensi penyempitan saluran darah tetapi apabila pembesaran lumen ini melebihi batas ketebalan dinding arteri, ia akan menyebabkan aneurisma (Hobson II RW et al., 2004).

2.2 Lipid (Lemak)

2.2.1 Metabolisme Lipid

Lipid plasma utama terdiri dari kolesterol, trigliserida, fosfolipid dan *free fatty acid*. Namun karena lipid ini bersifat hidrofobik maka harus diubah menjadi bentuk lemak kompleks lipoprotein agar bisa bersirkulasi di dalam darah. Plasma lipoprotein sendiri, berdasarkan densitasnya, terdiri atas kilomikron, VLDL, LDL, dan HDL. Komposisi dan fungsi dari tiap lipoprotein ini berbeda-beda. Kandungan LDL yang terbanyak berupa kolesterol (25%) dan fosfolipid (25%), sedangkan kandungan terbanyak dari HDL adalah protein (50%) (Ontoseno, 2005).

Metabolisme lipid dan lipoprotein terbagi atas :

1. Extrahepatic pathway

Kolesterol dan *free fatty acid* yang masuk ke dalam tubuh lewat asupan makanan akan diserap oleh intestinal mikrovolli yang akan merubahnya menjadi kolesterol ester dan trigliserida. Kedua zat ini kemudian dikemas dalam bentuk kilomikron dan disekresi ke dalam limfatik dan memasuki sirkulasi sistemik. Di kapiler jaringan lemak dan otot, trigliserida mengalami hidrolisis menjadi mono dan digliserida. Akibatnya, ukuran kilomikron menjadi mengecil, oleh sebab itu ditransfer menjadi bentuk HDL. Kilomikron yang tersisa, meskipun mengalami penurunan volume tetapi masih mengandung kolesterol yang berpotensi menimbulkan aterogenik. Kilomikron ini kemudian dikeluarkan dari sistem sirkulasi oleh hepar, meskipun sebagian kolesterol disekresi sebagai asam empedu dalam kantung empedu.

2. Endogenous pathway

Dimulai dengan sintesis 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. HDL sendiri merupakan lipoprotein yang disintesa di hepar dan di intestinum dan terdiri atas 50% protein dan 20% kolesterol. HDL ini bersifat protektif aterosklerosis (Ontoseno, 2005).

Sesaat setelah terjadi peningkatan kadar LDL dan atau kolesterol, maka sejumlah monosit akan melekat pada permukaan endotel arteri lalu melakukan migrasi ke dalam ruangan subendotel. Setelah berbulan-bulan makan akan terjadi penumpukan kolesterol dan makrofag di ruang subendotel ini yang disebut sebagai *foam cell*. *Foam cell* ini kemudian menimbulkan *fatty streak*. Dan 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 terus menerus kemudian menimbulkan bentuk aterosklerotik yang disebut *fibrous plaque* (Ontoseno, 2005).

Kestabilan plaque ini sangat mempengaruhi apakah lesi ateroskleoris ini akan menimbulkan kelainan vaskuler. Plaque yang stabil, yaitu plaque yang memiliki fibrous cap tebal yang menghalangi inti lemak kontak dengan darah. Sedangkan plaque yang tidak stabil adalah plaque yang mengandung inti lemak tebal atau ditutupi dengan fibrous cap yang tipis. Adanya *flow shear stress*, hipertensi dan hiperlipidemia akan mengiritasi n menimbulkan fissura/ ruptur 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 (Sargowo, 2002).

2.3 High Density Lipoprotein (HDL)

2.3.1 Definisi

HDL atau lipoprotein densitas tinggi adalah salah satu dari lima kelompok utama lipoprotein yang memungkinkan lipid seperti kolesterol dan trigliserida akan diangkut dalam aliran darah. Pada seseorang yang sehat, sekitar tiga puluh persen dari kolesterol darah dibawa oleh HDL.

HDL adalah partikel lipoprotein terkecil dan terpadat karena mengandung proporsi protein tertinggi dibandingkan lipoprotein lainnya. HDL mampu mengambil kolesterol, dilakukan secara internal, dari sel oleh interaksi dengan kaset transporter ATP-binding A1 (ABCA1). Enzim LCAT (plasma lestin-kolesterol acyltransferase) mengubah kolesterol bebas menjadi ester kolesterol (bentuk kolesterol yang lebih hidrofobik), yang kemudian diasingkan ke inti partikel lipoprotein, akhirnya membuat HDL yang baru disintesis. HDL ini kemudian bertambah besar saat beredar melalui aliran darah dan memasukkan lebih banyak kolesterol dan molekul fosfolipid dari sel-sel dan lipoprotein lain, misalnya interaksi dengan transporter ABCG1 dan protein transportasi fosfolipid (PLTP).

Kolesterol kemudian dikirimkan ke hati, diekskresikan ke empedu dan karena itu usus secara langsung maupun tidak langsung setelah konversi menjadi asam empedu. Pengiriman kolesterol HDL untuk adrenal, ovarium, dan testis penting untuk sintesis hormon steroid (Supardan, 2001).

2.3.2 Metabolisme HDL

HDL disintesis dalam bentuk *nasens* (imatur) di hati dan usus. Setelah diekskresikan ke dalam darah, HDL mengalami perubahan karena berinteraksi dengan kilomikron dan VLDL. Dengan kedua lemak ini, HDL saling bertukar protein dan lemak. HDL juga menyerap kolesterol dari permukaan sel dan dari lipoprotein lain dan mengubahnya menjadi ester kolesterol. Ester kolesterol ini akhirnya dikembalikan ke hati, sehingga HDL dikatakan berperan dalam transfer kolesterol terbalik (*reverse cholesterol transport*) (Supardan, 2001).

HDL memindahkan apoCII dan apoE ke kilomikron dan VLDL, lipoprotein yang kaya akan trigliserolnya apoCII merangsang penguraian triasilgliserol dalam partikel-partikel ini dengan mengaktifkan LPL. Penguraian ini menghasilkan sisa kilomikron (dari kilomikron) dan IDL (dari VLDL). ApoE yang terkandung dalam partikel-partikel ini berfungsi sebagai ligan untuk

reseptor di membran sel hati yang berperan dalam penyerapan sisa kilomikron dan IDL. Pada saat diekskresikan ke dalam darah, partikel HDL berukuran kecil dan berbentuk diskoid. Partikel HDL imatur ini hampir tidak mengandung ester kolesterol dan triasilgliserol. Setelah HDL menyerap kolesterol dan lipoprotein lain dari membran sel, kolesterol tersebut diubah menjadi ester kolesterol oleh reaksi LCAT (*Lecithin Cholesterol Acyl Transferase*), yang dirangsang oleh apoA1, suatu komponen pada partikel HDL imatur. Sewaktu terisi oleh ester kolesterol dan triasilgliserol, partikel menjadi besar dan berbentuk sferis. Partikel HDL berukuran besar ini (dikenal dengan HDL3) memindahkan ester kolesterol ke VLDL untuk dipertukarkan dengan triasilgliserol. Pertukaran ini diperantarai oleh protein pemindah ester kolesterol (*cholesterol ester transfer protein, CETP*). Sewaktu diuraikan oleh LPL, VLDL memindahkan apoprotein CII, yang semula diperoleh dari partikel HDL, kembali ke partikel tersebut. Akibat pemindahan lemak dan protein ini ke HDL dan akibat penguraian triasilgliserol, VLDL berubah menjadi IDL yang berukuran lebih kecil dan lebih padat (Ontoseno, 2005).

Kadar HDL < 40 mg/dl diklasifikasikan sebagai kadar HDL rendah, sedangkan > 60 mg/dl diklasifikasikan sebagai kadar HDL tinggi (Davidson, 2001).

2.3.3 Peranan Kolesterol HDL pada Aterosklerosis

Pada keadaan hipertrigliseridemia menyebabkan terjadinya dislipidemia melalui sintesis LDL yang lebih mudah teroksidasi dan meningkatkan penghancuran HDL yang meningkatkan risiko terjadi ateroma. Kadar HDL yang rendah menyebabkan terjadinya penurunan ekspresi transporter 1 yang terikat dengan ATP, yang juga menyebabkan terjadinya mobilisasi kolesterol ke jaringan perifer (Sargowo, 2002)

Terdapat beberapa mekanisme perlindungan HDL terhadap terjadinya aterosklerosis yaitu :

1. Mekanisme *reverse cholesterol transport HDL*, menjadi mediator efflux kolesterol sel (Barter, 2005)
2. Melalui efek antioksidan HDL

LDL teroksidasi merupakan pemicu awal terjadinya proses aterogenesis. HDL mempunyai potensi untuk menurunkan proses ini, yang disebut potensi ateroprotektif. HDL menurunkan transmigrasi dari monosit yang diinduksi oleh LDL teroksidasi, *cytotoxicity* diinduksi oleh oksidasi LDL dan oksidasi LDL menginduksi adesi monosit pada sel endotelial (Barter, 2007). Secara kolektif, HDL dan komponen-komponennya termasuk ApoA-I, paraoxonase, platelet activating factor acetylhydrolase, dan enzim antioksidan lainnya memiliki efek untuk membantu mencegah terjadi aterosklerosis (Singh et al., 2007)

3. HDL menjadi mediator penghambat ekspresi molekul-molekul adhesi (Tölle et al., 2008)
4. Stimulasi produksi endotelial NO (Bindu G et al., 2011)

2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul oksigen dengan atom yang pada orbit terluarnya memiliki elektron yang tidak berpasangan, sangat reaktif, dan secara terus-menerus diproduksi oleh tubuh. Karena kehilangan pasangannya, molekul tersebut menjadi tidak stabil, radikal, dan terus berusaha mencari pasangan elektronnya yang hilang sehingga menimbulkan reaksi berantai yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang semakin banyak, yang dapat merusak membran sel, merusak molekul-molekul makro pembentuk sel seperti protein, karbohidrat, lipid peroksida dan DNA sehingga menyebabkan timbulnya suatu penyakit (Sofia, 2006).

2.4.1 Macam dan Sumber Radikal Bebas

Dalam penulisan, suatu molekul radikal bebas biasanya ditandai dengan tanda titik (·) di kanan atau rumus kimia molekul tersebut (Halliwell and Gutteridge, 1996). Macam radikal bebas : superoksida (O_2^{\cdot}), hidroksil ($\cdot OH$), peroksil (ROO^{\cdot}), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (O_2), oksida nitrit (NO^{\cdot}), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) dan asam hipoklorit ($HOCl$). Namun, manusia juga sering terpapar polusi udara, merokok, mengkonsumsi alkohol, diet tinggi lemak, dan pancaran sinar matahari yang menyebabkan tubuh menghasilkan radikal bebas lebih banyak lagi (Sofia, 2006).

Sumber radikal bebas berasal dari dalam tubuh atau radikal bebas endogen dan radikal bebas yang berasal dari luar tubuh atau radikal bebas eksogen. Radikal bebas endogen dapat terjadi melalui penggunaan oksigen untuk menghasilkan ATP dalam mitokondria, oksidasi enzimatis, fagositosis dalam respirasi, transpor elektron di mitokondria, oksidasi ion-ion logam transisi atau melalui iskemik. Sedangkan radikal bebas eksogen didapat melalui paparan sinar UV, asap rokok, polusi udara, obat-obatan, dan logam berat (seperti aluminium dan arsenik) (Sofia, 2006).

2.4.2 Reaktif Oxygen Species (ROS)

Oksigen yang kita hirup diubah oleh sel tubuh secara konstan menjadi senyawa reaktif, yang dikenal sebagai senyawa reaktif oksigen (ROS), dimana ROS ini merupakan salah satu bentuk radikal bebas. Peristiwa ini berlangsung saat proses sintesa energi oleh mitokondria atau proses detoksifikasi yang melibatkan sitokrom P-450 di hati (Sauriasari R, 2006).

2.4.3 Reaksi Perusakan oleh Radikal Bebas

Stres oksidatif merupakan keadaan dimana tingkat oksigen reaktif yang toksik melebihi pertahanan anti-oksidan endogen. Keadaan ini mengakibatkan kelebihan radikal bebas, yang akan bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat seluler, sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu. Lemak merupakan biomolekul yang rentan terhadap serangan radikal bebas. Reaksinya antara lain :

a. Peroksidasi lemak

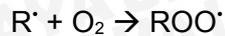
Membran sel kaya akan sumber *poly unsaturated fatty acid* (PUFA), yang mudah dirusak oleh bahan-bahan pengoksidasi, dimana proses tersebut dinamakan peroksidasi lemak. Hal ini sangat merusak karena merupakan suatu proses yang berkelanjutan. Pemecahan hidroperoksida lemak sering melibatkan katalisis ion logam transisi (Droge, 2002). Proses seluruhnya, dimana R^{\bullet} adalah radikal bebas dan O^{\bullet} adalah oksigen radikal bebas, sebagai berikut:

1. Inisiasi

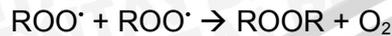




2. Propagasi



3. Terminasi



b. Kerusakan protein

Protein dan asam nukleat lebih tahan terhadap radikal bebas dibanding PUFA sehingga kecil kemungkinannya untuk terjadi reaksi berantai yang cepat. Hal ini terjadi hanya jika radikal tersebut mampu berakumulasi (jarang pada sel normal), atau bila kerusakannya terfokus pada daerah tertentu dalam protein. Salah satu penyebab kerusakan terfokus adalah jika protein dengan ion logam transisi (Droge, 2002).

c. Kerusakan DNA

Seperti pada protein, kecil kemungkinannya untuk terjadi kerusakan di DNA untuk menjadi suatu reaksi berantai, dimana biasanya kerusakan terjadi bila ada lesi pada susunan molekul yang tidak dapat diatasi dan terjadi sebelum replikasi yang akan mengakibatkan terjadinya mutasi. Oksigen radikal dapat menyerang DNA jika terbentuk disekitar DNA seperti pada radiasi biologis (Allen, 2000)

2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan bahan kimia (alami atau sintetis) yang digunakan untuk melindungi komponen-komponen makanan yang bersifat tidak jenuh (mempunyai ikatan rangkap), terutama lemak dan minyak dari proses oksidasi oleh adanya oksigen (Susanto,2003). Tubuh kita sendiri pada dasarnya bisa menghasilkan antioksidan. Antioksidan ini dinamakan antioksidan endogen atau antioksidan enzim, misalnya enzim superoksida dismutase (SOD) seperti dikemukakan oleh ilmuwan Amerika J.M. Mc Cord dan I. Fridovich pada tahun 1968, glutathion peroksidase (GSH Px), peroksidasi, dan katalase. Namun, ada kalanya sistem antioksidan endogen ini tidak mampu mengatasi stres oksidatif yang berlebihan, yaitu keadaan saat mekanisme antioksidan tidak cukup mampu untuk memecah spesi oksigen reaktif. Oleh karena itu diperlukan antioksidan eksogen atau antioksidan vitamin, yaitu yang didapatkan dari luar tubuh, misalnya dari makanan dan minuman yang mengandung vitamin C, E, atau betakaroten.

Mekanisme kerja antioksidan dalam menurunkan atau memperlambat oksidasi melalui dua cara yaitu tanpa melibatkan penangkapan radikal bebas atau disebut antioksidan primer yang mekanisme pengikatannya melalui pengikatan logam, menangkap oksigen, mengubah hidroperoksida menjadi spesies non radikal, menyerap sinar ultraviolet dan mendeaktivasi oksigen singlet. Contoh antioksidan ini adalah enzim SOD, yaitu antioksidan endogen, yang berfungsi sebagai pelindung hancurnya sel-sel dalam tubuh serta mencegah proses peradangan karena radikal bebas. Lalu cara kedua yaitu melalui penangkapan radikal bebas (*free radical scavenging*) yang disebut juga antioksidan sekunder, contohnya yaitu vitamin E (α -tokoferol) dan flavonoid (Piliang, 2001).

2.6 Buah Tin (*Ficus carica* Linn)

Buah Tin (gambar 2.1) telah dikonsumsi sejak jaman dahulu, bahkan ditemukan bahwa buah ini sudah ada sejak 5000 tahun sebelum masehi. Buah Tin awalnya berasal dari Asia Barat dan kemudian menyebar ke daerah Mediterania. Buah Tin tumbuh baik di daerah yang beriklim kering dan hangat. Mesir, Maroko, Spanyol, Yunani, California, Italia

merupakan negara-negara utama penghasil Buah Tin yang dapat dimakan (Star *et al.*, 2003).



Gambar 2.7 Buah Tin kering

Pohon Tin memiliki tinggi tiga sampai lima meter. Batangnya tidak kuat dan cepat membusuk. Daunnya berwarna hijau cerah. Bunga tin tidak nampak karena terlindung oleh dasar bunga yang menutup dan membentuk bulatan sehingga inilah yang dianggap sebagai Buah Tin. Buah Tin yang matang berukuran kurang lebih 5cm, memiliki kulit yang cukup keras, berwarna hijau, hijau kecoklatan, atau coklat keunguan. Buah ini berisi daging yang lembut seperti jeli. Buah Tin yang terlalu matang gampang pecah dan mengeluarkan bulir-bulir yang ada di dalamnya (Joseph B *et al.*, 2011).

2.6.1 Komponen dan Zat Bioaktif Buah Tin

Zat bioaktif yang terdapat dalam buah tin antara lain Mucilages, flavinoid, vitamin, enzim, asam nikotinic, dan tirosin. Selain itu, buah ini juga mengandung arabinose, β -amirin, β - karoten, glikosida, β -setosterol and xanthotoxol16-18. Umbelliferone19,20, campesterol, fucosterol, fatty acids21, 6-(2- methoxy-Z-vinyl)-7-methyl-pyrancoumarin and 9,19-cycloarlane triterpenoid as an anticancer22 and 6-Oacyl- β -Dglucosyl - β -sitosterol 23, calotropenyl acetate, dan lupeol asetat 24 sebagai agen proliferative (Joseph B *et al.*, 2010)

Kandungan polifenol dari yang tertinggi antara lain rutin (28,7 mg/100 g FW), (+)-catechin (4,03 mg/100g FW), *chlorogenic acid* (1,71 mg/100 g FW), (-)-epicatechin (0,97 mg/100 g FW), *gallic acid* (0,38 mg/100 g FW), dan *syringic acid* (0,10 mg/100 g FW) (Veberic, 2008). *FW=fruit weight (Vinson, 2005).

Kandungan gizi setiap 100 gram buah tin tertera di Tabel 2.6

Tabel 2.6 Komposisi buah tin (*Ficus carica Linn*) kering (Vinson,1999)

Komponen	Jumlah per 100 g
Kalori total	283
Kalori dari lemak	4,7
Lemak total	0,52 g
Lemak jenuh	0,0 mg
Kolesterol	0,0 mg
Sodium	12,26 mg
Potassium	609 mg
Karbohidrat total	66,16 g
Serat tidak larut	8,74 g
Serat larut	3,47 g
Gula	49 g
Protein	3,14 g

Vitamin A	9,76 IU
Vitamin C	0,68 mg
Kalsium	133 mg
Besi	3,07 mg
Total polifenol	1.090 – 1.110 mg

2.6.2 Taksonomi Buah Tin

Klasifikasi botani tin (*Ficus carica Linn*) adalah sebagai berikut:

- Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)
 Subkingdom : *Tracheobionta* (tumbuhan berpembuluh)
 Super Divisi : *Spermatophyta* (menghasilkan biji)
 Divisi : *Magnoliophyta* (tumbuhan berbunga)
 Kelas : *Magnoliopsida* (berkeping dua atau dikotil)
 Sub Kelas : *Dilleniidae*
 Ordo : *Urticales*
 Famili : *Moraceae* (suku nangka-nangkaan)
 Genus : *Ficus*
 Spesies : *Ficus carica Linn*

2.6.3 Ekstrak Buah Tin

Ekstrak buah tin mengandung bahan-bahan alami yang berasal dari buah tin matang yang kering. Buah tin sendiri banyak mengandung zat-zat yang berguna untuk pengobatan dan dapat dikonsumsi secara rutin. Ekstrak buah tin memiliki bahan aktif yaitu polifenol yang berperan sebagai antioksidan yang berperan dalam aktivitas metabolisme dalam tubuh.

2.6.4 Dosis Polifenol Buah Tin

Menurut Dietary Reference Intake, dosis polifenol harian pada manusia adalah >500mg/hari. (Williamson, 2008)

2.6.5 Manfaat Buah Tin

Buah tin memiliki manfaat yang sangat banyak dan rasanya sangat lezat Berdasarkan penelitian California Fig Nutritional Information, buah tin mengandung serat (dietary fiber) yang sangat tinggi. Setiap 100 gr buah tin kering terkandung 12.2 g serat, yang merupakan 20% jumlah kebutuhan serat harian manusia, sedangkan buah apel hanya mengandung 2.0g serat dan jeruk 1.9g serat. Dalam 12,2 g serat yang terkandung dalam buah tin, 28% merupakan serat terlarut. Serat yang tinggi dan karbohidrat yang ringkas, yaitu glukosa dan fruktosa, yang terkandung dalam buah tin mampu mengontrol kadar gula darah seseorang. Makanan kaya serat mampu mengurangi berat badan, maka buah tin juga sangat sesuai untuk mengatasi masalah berat badan.

Para pakar kesehatan menganjurkan untuk mengonsumsi buah tin secara teratur karena selain dapat membantu membersihkan racun di dalam tubuh, serat terkandung dalam buah ini juga mampu mencegah kanker kolon dan penyakit degeneratif lainnya. Penelitian di Universitas Rutgers di New Jersey membuktikan kalau buah tin mengandung antioksidan yang dapat mengikat senyawa karsinogen penyebab kanker. Buah tin juga mengandung asam lemak tak jenuh yang dibutuhkan bagi kesehatan, diantaranya omega-3 dan omega-6 yang mana lemak ini terbukti berperan dalam pencegahan penyakit jantung koroner. Kelebihan yang lain, buah tin rendah kandungan lemak, rendah sodium, rendah kalori dan bebas kolesterol sehingga sangat cocok dikonsumsi para penderita diabetes mellitus.

Manfaat buah ini tidak berhenti sampai di sini. Beragam vitamin dan mineral bermanfaat terkandung di dalamnya. Setiap 100g buah tin mengandung vitamin A sebanyak 9.76 IU, vitamin C, 0.68 mg, kalsium, 133.0 mg dan zat besi, 3.07mg. Vitamin dan mineral ini sangat diperlukan tubuh untuk menjaga dan memelihara kesehatan organ tubuh kita (Mushoffi, 2010).

Buah ini juga bermanfaat untuk menormalkan tekanan darah. Enam buah tin memiliki 891 miligram (mg) potassium yang dapat menurunkan tekanan darah, Dalam sebuah penelitian selama 5 tahun di Netherland, makanan yang tinggi kandungan potassium yang dihubungkan dengan menurunnya tingkat kematian dari berbagai macam penyakit yang

biasa diderita usia 55 tahun keatas. Selain itu, buah tin merupakan satu dari banyak buah yang merupakan sumber terbaik untuk memperoleh kalsium, sedikitnya 6 buah tin setara dengan setengah cangkir susu tanpa lemak.

Buah tin mengandung zat *benzaldehyde* dan *coumarins* dimana menurut riset yang dilakukan para ahli dari Institute of Physical and Chemical Research di Tokyo menunjukkan *benzaldehyde* terbukti efektif dalam menurunkan tumor dan *coumarins* berguna untuk merawat kulit dan mencegah kanker prostat.

Satu lagi keistimewaan yang terkandung dalam buah tin yaitu buah ini mengandung polifenol yang sangat dibutuhkan oleh tubuh kita, karena dapat berfungsi sebagai agen yang dapat menangkap radikal bebas yang terjadi di dalam tubuh kita.

2.7 Polifenol

Antioksidan terdiri dari antioksidan alami dan sintesis, dimana antioksidan alami mempunyai efek samping lebih kecil dan mempunyai manfaat lebih besar. (Taha *et al.*, 2004). Salah satu contoh antioksidan alami adalah senyawa fenol yang merupakan metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tumbuh-tumbuhan. Fenol terdiri dari sejumlah besar bahan biologis aktif (lebih dari 8000 senyawa) dari molekul fenol sederhana hingga truktur polimerik dengan massa molekuler diatas 3000 Da. Fenol diklasifikasikan dalam dua bagian yaitu fenol sederhana dan polifenol yang terdiri dari minimal 2 cincin fenol (Marinova *et al.*, 2005). Fenol sederhana kerap disebut sebagai asam fenolat, contohnya katekol dengan 2 gugus OH dan pirogalol dengan 3 gugus OH, sedangkan senyawa polifenol contohnya fenilpropanoid, kuinon, tanin, flavonoid dan beberapa terpenoid (Harborne, 1987). Polifenol berperan penting dalam stabilisasi oksidasi lipid dan berhubungan langsung dengan antioksidan (Huang *et al.*, 2005).

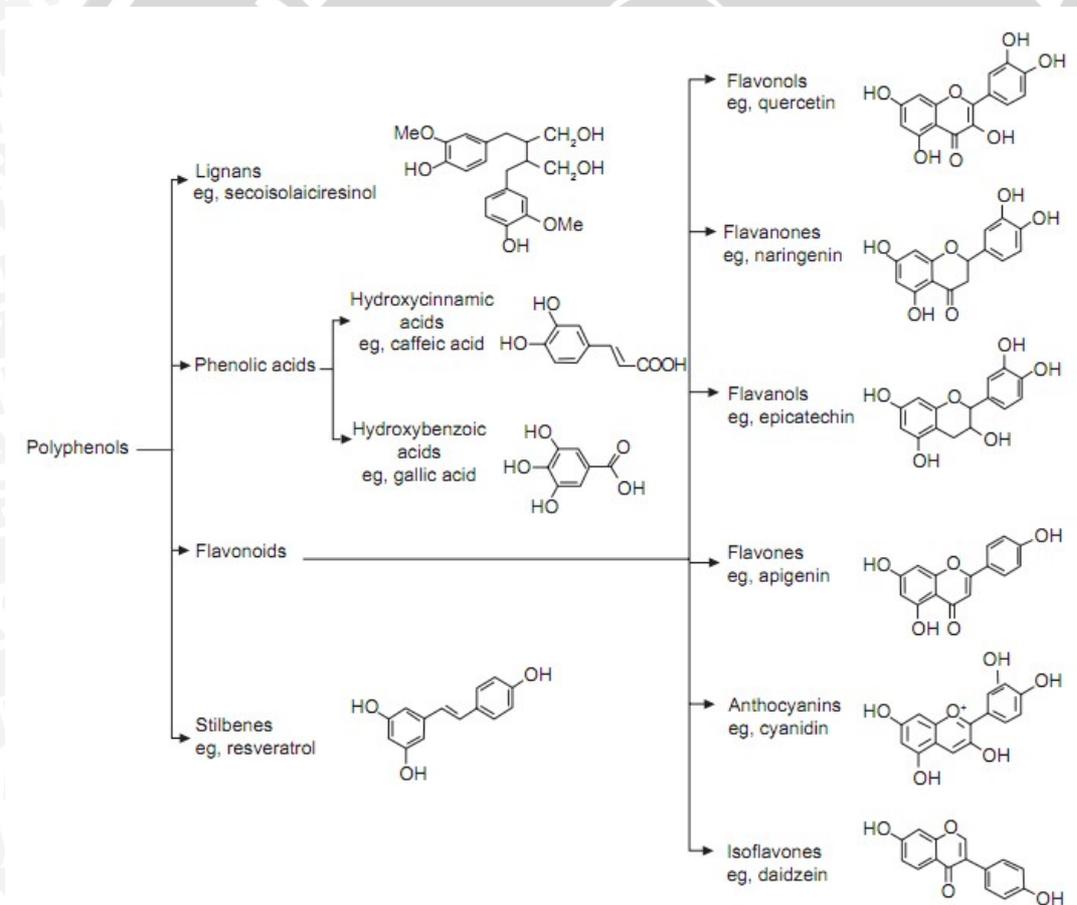
Fungsi polifenol dalam tubuh salah satunya adalah meningkatkan kadar HDL dalam plasma, namun mekanisme peningkatan HDL secara langsung oleh polifenol masih sulit

dipahami. Beberapa penelitian terakhir menemukan bahwa polifenol bekerja meningkatkan HDL dengan cara :

- Meningkatkan produksi Apolipoprotein A-1, yang merupakan komponen utama pembentuk HDL. Polifenol meningkatkan aktivitas protein unsur pengatur yang mengikat sterol (SREBPs), dan kemudian SREBPs ini menempel pada DNA materi genetik dan mengaktifkan gen yang meningkatkan tingkat Apolipoprotein A-1. Dengan meningkatnya produksi Apo A1 maka akan menghambat penurunan aktivitas enzim LCAT, yaitu enzim yang mentransfer asam lemak bebas dari fosfolipid ke kolesterol bebas, sehingga terbentuk kolesterol ester. Oleh karena kolesterol ester bersifat hidrofobik maka aktivitas enzim LCAT akan lebih banyak membentuk kolesterol ester, yaitu kolesterol HDL, sehingga lipoprotein ini berbentuk bulat tidak *discoïd*. (Yasuda A *et al.*, 2011).
- Menghambat radikal bebas yang disebabkan oleh kolesterol LDL yang sangat mudah teroksidasi. Polifenol mampu membersihkan radikal bebas yang bersumber dari oksigen termasuk OH- reaktif. Senyawa ini efisien membersihkan peroksidan seperti H₂O₂ (hidrogen peroksida), SOR (superoxide anion radical) yang diinduksi BPO (benzoil peroksidase). Penghambatan XO (xantin oksidase) juga dapat dilakukan oleh EGCG. Enzim ini banyak di hepar dan berperan memproduksi asam urat dan ROS (reactive oxygenase) selama katabolisme purin (Wiyono S *et al.*, 2004).
- Meningkatkan ukuran kolesterol HDL dengan cara menghambat peningkatan aktivitas *hepatic lipase*. Flavonoid yang terkandung dalam polifenol menghambat penurunan kadar dan produksi apolipoprotein A1 dan menghambat aktivitas enzim lipase hepatic dengan menekan transkripsi gen untuk lipase hepatic. Peningkatan produksi apolipoprotein A1 memberikan kontribusi pada peningkatan HDL *nascent* dimana dalam perjalanannya akan berubah menjadi HDL2. Hidrolisis fosfolipid HDL dan triasilgliserol memungkinkan HDL2 melepaskan muatan ester kolesterolnya ke dalam hati dimana partikel tersebut menjadi lebih padat dengan membentuk kembali

HDL3 yang memasuki kembali siklus HDL sehingga pencegahan peningkatan aktivitas lipase hepatic dapat menghambat penurunan HDL2, sehingga jumlah kolesterol HDL dalam darah tidak menurun atau malah meningkat (Supriyanto, 2004)

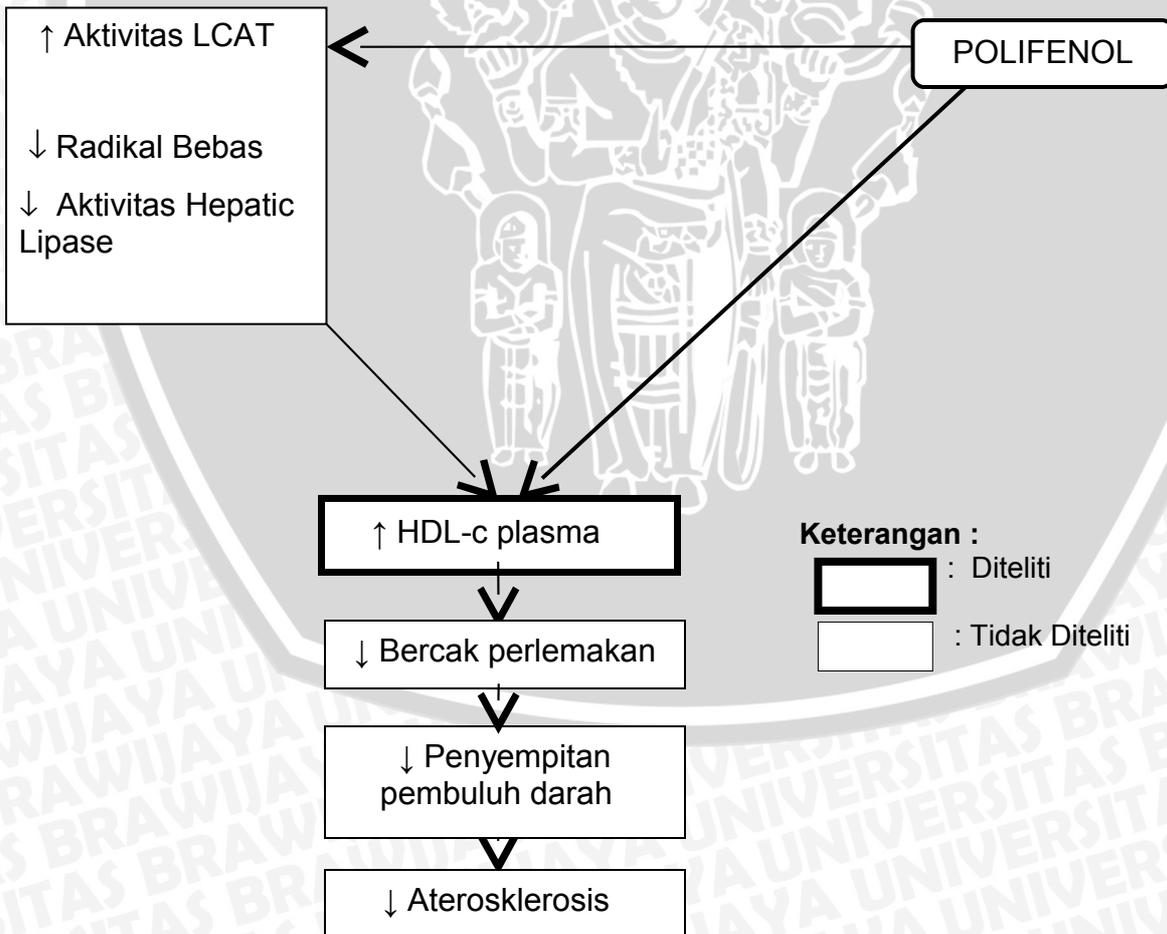
Flavonoid merupakan bagian paling banyak pada diet polifenol, sehingga sering menjadi fokus studi ilmiah sebagai salah satu nutrisi yang paling penting dalam diet. Flavonoid banyak ditemukan dalam buah-buahan dan sayur-sayuran (Farkas *et al.*, 2004). Menurut struktur kimianya, flavonoid dikategorikan menjadi flavon, flavonon, katekin dan antosianin (Amic *et al.*, 2003). Flavonoid dikatakan sebagai antioksidan alami karena dapat menangkap radikal bebas dengan membebaskan atom hidrogen dari gugus karboksilnya. Klasifikasi dan struktur kimia dari kelas utama diet polifenol dapat dilihat pada gambar 2.7 .



Gambar 2.7 Klasifikasi dan struktur kimia dari kelas utama diet polifenol (Spencer *et al.*, 2008)

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Hiperlipidemia (peningkatan kolesterol, kadar TG, LDL, dan menurunnya kadar HDL) dapat menyebabkan penurunan aktivitas LCAT, peningkatan radikal bebas, dan penurunan ukuran HDL-C yang pada akhirnya menyebabkan terjadinya penurunan kadar HDL dalam plasma.

Enzim LCAT merupakan enzim yang mentransfer asam lemak bebas dari fosfolipid ke kolesterol bebas, sehingga terbentuk kolesterol ester. Jika aktivitas ini berkurang maka HDL matur dalam plasma berkurang jumlahnya. Flavonoid dapat menghambat penurunan kadar kolesterol HDL dengan cara meningkatkan produksi apo A1 yang bertugas sebagai kofaktor enzim untuk LCAT serta sebagai ligand untuk interaksi dengan reseptor lipoprotein dalam jaringan pada HDL.

Senyawa radikal bebas dapat merusak lipid khususnya lipid pada kolesterol-low density lipoprotein (LDL-C). yang sangat mudah teroksidasi dibanding dengan lipoprotein lain karena komposisinya sebagian besar terdiri dari asam lemak tidak jenuh ganda atau PUFA (Gropper et al., 2005). Nantinya radikal bebas ini juga akan menyebabkan penghancuran HDL-C yang berfungsi sebagai *scavenger*. Polifenol mampu menghambat radikal bebas yang bersumber dari oksigen termasuk OH- reaktif.

CETP sebagai perantara pertukaran trigliserida dari VLDL dengan kolesterol ester HDL dipercepat dalam keadaan hipertrigliseridemia. Penggantian trigliserida dengan kolesterol

ester pada inti partikel HDL menyebabkan penurunan ukuran HDL-C karena trigliserida dalam HDL adalah substrat untuk lipase plasma, terutama hepatic lipase (HL) yang mengubah HDL menjadi partikel yang lebih kecil yang lebih cepat dibersihkan dari plasma. Flavonoid yang terkandung dalam polifenol menghambat penurunan kadar dan produksi apolipoprotein A1 dan menghambat peningkatan aktivitas enzim lipase hepatic dengan menekan transkripsi gen untuk lipase hepatic. Peningkatan produksi apolipoprotein A1 memberikan kontribusi pada peningkatan HDL *nascent* dimana dalam perjalanannya akan berubah menjadi HDL2. Hidrolisis fosfoipid HDL dan triasilgliserol memungkinkan HDL2 melepaskan muatan ester kolesterolnya ke dalam hati dimana partikel tersebut menjadi lebih padat dengan membentuk kembali HDL3 yang memasuki kembali siklus HDL sehingga pencegahan peningkatan aktivitas lipase hepatic dapat menghambat penurunan HDL2, sehingga jumlah kolesterol HDL dalam darah tidak menurun atau malah meningkat (Supriyanto, 2004).

Jika kadar HDL rendah, dan maka kadar LDL dan TG dalam plasma meningkat. Karena hal itu, maka bercak perlemakan di pembuluh darah semakin tebal sehingga menyebabkan penyempitan pembuluh darah yang pada akhirnya akan menimbulkan aterosklerosis.

3.2 Hipotesis

Polifenol Buah Tin (*Ficus carica* Linn) dengan berbagai dosis dapat menghambat penurunan kadar HDL pada tikus putih *Rattus norvegicus* L. galur wistar yang diberi diet atherogenik.



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik karena terdapat perlakuan (intervensi) dan kelompok kontrol pada hewan coba tikus Wistar serta menggunakan randomisasi dengan menggunakan desain penelitian *Control Group Post Test Design* (Notoatmodjo, 2002). Pemilihan subyek penelitian untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), hal ini dikarenakan hewan coba, tempat percobaan dan bahan penelitian lainnya bersifat homogen.

Rancangan eksperimental yang digunakan adalah rancangan eksperimen sederhana dimana subyek dibagi menjadi 5 kelompok secara random. Tiap kelompok terdiri dari 5 tikus. Kelompok 1 adalah tikus diberi diet normal saja (kontrol negatif), kelompok 2 adalah tikus diberi diet aterogenik saja (kontrol positif), sedangkan kelompok 3 sampai 5 diberi diet aterogenik dan Polifenol buah tin (*Ficus carica Linn*) dengan berbagai dosis per oral dengan cara disonde sekali setiap hari. Kemudian diobservasi dan dibandingkan pengaruh polifenol buah tin terhadap kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) pada serum di akhir penelitian.

Dengan rancangan ini memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan kelompok kontrol positif. Tetapi rancangan ini tidak memungkinkan peneliti untuk menentukan sejauh mana atau seberapa besar perubahan itu terjadi, sebab penelitian ini hanya menggunakan *control group post test design* yang dilakukan pada akhir perlakuan (tidak untuk menentukan data awal). Penelitian ini merupakan penelitian kelompok dengan variabel yang diambil adalah (1) kadar *Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1)* pada serum, (2) kadar HDL kolesterol pada serum, (3) kadar leptin pada serum, (4) kadar IL-6 pada serum, (5) kadar NF κ B pada aorta, (6) kadar *tumor necrosis factor alpha (TNF- α)* pada serum, (7) kadar LDL kolesterol pada serum, (8) jumlah foam cell pada aorta, (9) ketebalan dinding aorta, dan (10) kadar malondialdehid (MDA).

4.2 Sampel

Sampel yang digunakan adalah tikus percobaan yang berjumlah 25 ekor dan diambil secara Random Sampling sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

Kriteria inklusi:

- Tikus jenis *Rattus norvegicus* strain wistar
- Jenis kelamin jantan
- Umur 6-8 minggu
- Berat 150-200 gram
- Warna bulu putih
- Tikus aktif

Kriteria eksklusi:

- Tikus yang tidak mau makan
- Tikus yang mengalami penurunan keadaan fisik atau mati

4.2.1 Metode Pemilihan Sampel

Metode pengambilan sampel dilakukan dengan estimasi besar subjek penelitian. Dalam penelitian ini estimasi besar subjek penelitian yang digunakan adalah 5 kelompok perlakuan. Jumlah sampel untuk masing-masing perlakuan ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Notoatmojo, 2002):

$$n = (15 + p) : p$$

$$n = (15 + 5) : 5$$

$$n = 4$$

Keterangan:

p = jumlah perlakuan

n = jumlah sampel

15 = nilai konstan

Untuk 5 macam perlakuan diperlukan jumlah sampel ulangan paling sedikit 4 kali tiap perlakuan. Namun, diperlukan penambahan pengulangan pada setiap perlakuan sebagai cadangan dan ditetapkan sejumlah 1 kali pengulangan. Jumlah total sampel yang dibutuhkan adalah 25 ekor tikus dengan rincian 5 ekor untuk masing-masing perlakuan.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Independen

Pemberian polifenol buah tin (*Ficus carica Linn*) berupa serbuk dengan dosis 4,5 mg, 9 mg, dan 18 mg. Pemberian per oral dengan sonde dilakukan selama 60 hari.

4.3.2 Variabel Dependen

Kadar *High Density Lipoprotein (HDL)* pada serum tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diberi diet aterogenik.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pemeliharaan hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pemeriksaan kadar HDL (High Density Lipoprotein) dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Penelitian dilakukan pada bulan Juni sampai Agustus 2011.

4.5 Bahan dan Alat/ Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat Penelitian

- Alat pemeliharaan binatang coba: kandang dari anyaman kawat, tempat pakan, dan botol air diletakkan dalam kandang dari kotak plastik.
- Alat untuk pembuatan ransum pakan tikus: timbangan, neraca analitik, waskom, pengaduk, gelas ukur, penggilingan pakan, dan nampan.
- Alat untuk pengambilan sampel : spuit 5 ml, seperangkat tabung reaksi, kapas
- Alat untuk pengukuran kadar HDL (High Density Lipoprotein) : tabung reaksi, sentrifuge, spektrofotometer

4.5.2 Bahan Penelitian

- Bahan pakan normal yang terdiri dari Comfeed PARS 66,67% (dengan kandungan air 12%, protein 11%, lemak 4%, serat 7%, abu 8%, Ca 1,1 %, Fosfor 0,9%, antibiotic coccidiostat 53%) dan air 33,33%.
- Diet aterogenik yang terdiri dari pakan babi 50%, tepung terigu 25%, kolesterol 2%, asam kolat 0,2%, minyak babi 5%, dan air 17,8% (Murwani dkk, 2005).
- Polifenol buah tin (*Ficus carica Lynn*) dosis 4,5 mg/hari, 9 mg/hari, 18 mg/hari.
- Bahan untuk pemeriksaan kadar HDL : darah tikus percobaan dan reagen uji

4.6 Definisi Istilah / Operasional

1. Polifenol buah tin

Polifenol yang digunakan adalah polifenol buah tin yang merupakan hasil ekstraksi di Laboratorium MIPA ITB Bandung. Polifenol yang digunakan adalah senyawa fraksi butanol hasil ekstraksi dari buah Tin kering yang didapat dari Libya. Buah Tin kering ini disonikasi dengan pelarut methanol, kemudia diekstraksi dengan n-heksana, etil asetat, dan n-butanol sehingga didapatkan ekstrak butanol yang dapat larut dalam air. Ekstrak butanol memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan nilai IC50 = 827 ppm (Dewi dan Ciptati, 2010).

2. Tikus Wistar

Tikus yang digunakan adalah tikus yang berasal dari galur Wistar jantan, berumur \pm 2 bulan dengan berat badan \pm 200 gr, yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang.

3. Diet aterogenik

Diet aterogenik adalah pakan tinggi kolesterol yang dimodifikasi dengan formulasi khusus untuk menimbulkan keadaan aterosklerosis pada hewan coba tikus yang terdiri dari pakan babi 50%, tepung terigu 25%, kolesterol 2%, asam kolat 0,2%, minyak babi 5%, dan air 17,8% (Murwani dkk, 2005). Pakan ini diberikan selama 65 hari.

4. Kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) dalam serum

Kadar HDL diperoleh dari serum tikus dalam penelitian ini yang diukur menggunakan metode Spektrofotometer dengan satuan ng/ml pada setiap kelompok perlakuan (Hima *et al.*, 2011).

4.7 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan Data

4.7.1 Pembuatan Pakan Tikus

Pakan tikus diberikan secara oral sedangkan polifenol buah tin diberikan dengan menggunakan sonde.

- Pakan standar terdiri dari Comfeed PARS 66,67% (dengan kandungan air 12%, protein 11%, lemak 4%, serat 7%, abu 8%, kalsium 1,1%, fosfor 0,9%, antibiotic coccidiostat 53%) dan air 33,33%.
- Diet aterogenik terdiri dari pakan babi 50%, tepung terigu 25%, kolesterol 2%, asam kolat 0,2%, minyak babi 5%, dan air 17,8% (Murwani dkk, 2005).
- Polifenol buah tin yang dibutuhkan:

Konsumsi total fenol yang dianjurkan pada manusia adalah >500 mg/hari (Williamson, 2008). Berdasarkan Tabel Perbandingan Luas Permukaan Hewan Coba, konversi dosis polifenol tikus terhadap manusia adalah sebagai berikut (Paget dan Barnes, 1964):

Dosis polifenol yang dibutuhkan manusia (70 kg bb) = 500 mg/hari (Williamson, 2008).

Dosis polifenol yang dibutuhkan tikus (200 g bb)

$$= 500 \text{ mg/hari} \times 0,018$$

$$= 9 \text{ mg/hari}$$

Variasi pemberian dosis didasarkan pada deret ukur $\frac{1}{2}n$, n , dan $2n$ adalah sebagai berikut:

- dosis 1 = 4,5 mg/hari

- dosis 2 = 9 mg/hari

- dosis 3 = 18 mg/hari

4.7.2 Proses Perlakuan Pada Tikus Percobaan

- a. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu:
 - o Kelompok 1: kelompok kontrol negatif, diberi diet (pakan) normal
 - o Kelompok 2: kelompok kontrol positif, diberi diet aterosklerosis

- o Kelompok 3: kelompok yang diberi diet atherogenik dan polifenol 4,5 mg
 - o Kelompok 4: kelompok yang diberi diet atherogenik dan polifenol 9 mg
 - o Kelompok 5: kelompok yang diberi diet atherogenik dan polifenol 18 mg
- b. Semua tikus dilihat umur dan ditimbang berat badannya. Dilakukan randomisasi dengan metode RAL agar setiap tikus mempunyai peluang yang sama untuk mendapatkan perlakuan.
- c. Tikus ditempatkan dalam kandang terpisah (1 ekor per kandang).
- d. Sebelum perlakuan, semua kelompok tikus percobaan diadaptasikan pada kondisi laboratorium tempat percobaan, kandang, waktu makan dan eksplorasi terhadap pakan tikus selama 7 hari. Tiap tikus diberikan pakan standar sejumlah 30 gram secara ad libitum.
- e. Pada saat perlakuan, pakan dan minuman tikus diberikan secara oral. Pakan tikus ditimbang tiap hari. Polifenol buah tin diberikan dengan menggunakan sonde dengan dosis 4,5 mg, 9 mg, dan 18 mg pada kelompok masing-masing. Pemberian pakan dilakukan selama 60 hari.
- f. Serum tikus diambil dan diperiksa kadar HDL menggunakan metode Spektrofotometer.

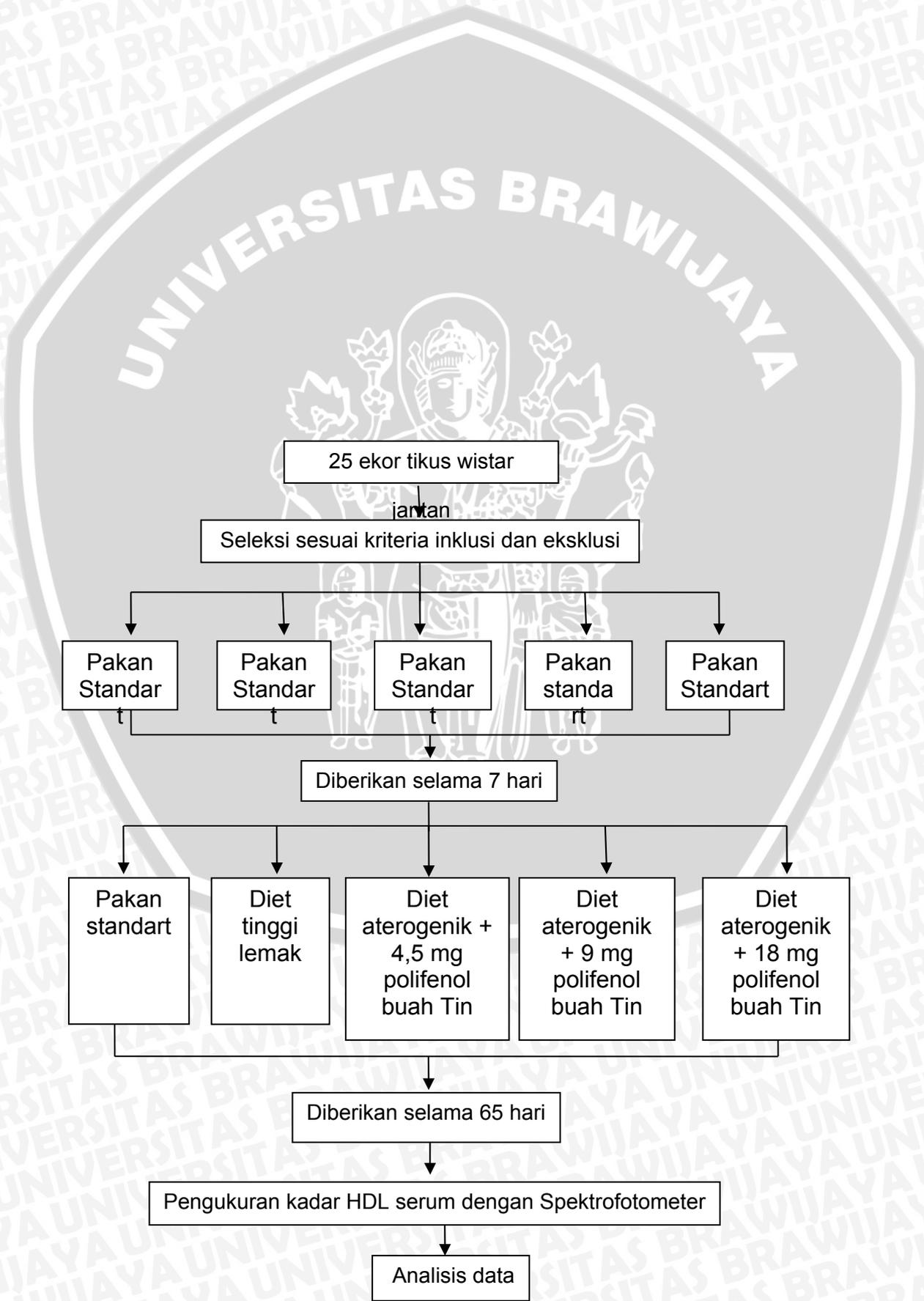
4.7.3 Pengukuran Kadar High Density Lipoprotein (HDL) dengan Spektrofotometer

Pemeriksaan kadar HDL (High Density Lipoprotein) dilakukan menggunakan spektrofotometer. Pengambilan darah dilakukan dari aorta tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar pada akhir hari ke-65. Prosedur :

Darah diambil dengan menggunakan spuit kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian dilakukan sentrifugasi 200 rpm dan diambil serum darah sebanyak 10mikro. Serum darah yang sudah ada kemudian diberi reagen uji dan dicampur dan dimasukkan inkubator 20°-25°C (10 menit), setelah itu diukur absorbansinya pada

spektrofotometer dengan panjang gelombang 500 nm dengan larutan blangko sebagai titik nolnya, kemudian dilakukan pembacaan hasil.

4.7.4 Bagan Alur Penelitian



4.8 Analisis Data

Data hasil perhitungan jumlah kadar *High Density Lipoprotein (HDL)* masing-masing kelompok yang dilihat rata-ratanya disajikan dalam bentuk tabel dan grafik kemudian dianalisis secara deskriptif. Data jumlah ekspresi kadar *High Density Lipoprotein (HDL)* yang telah dikumpulkan, diolah dengan cara tabulasi. Berdasarkan tabulasi tersebut, dilakukan uji statistik dengan menggunakan SPSS 15.0. Apabila dari uji *One Way ANOVA* terdapat hubungan, maka dapat dilanjutkan dengan uji *Tuckey* untuk mengetahui letak perbedaan dari perlakuan yang diberikan. Uji statistic dilakukan pada derajat kepercayaan 95% dengan $\alpha = 0,05$. Hasil uji statistik dinyatakan bermakna bila $p < 0,05$.

BAB V

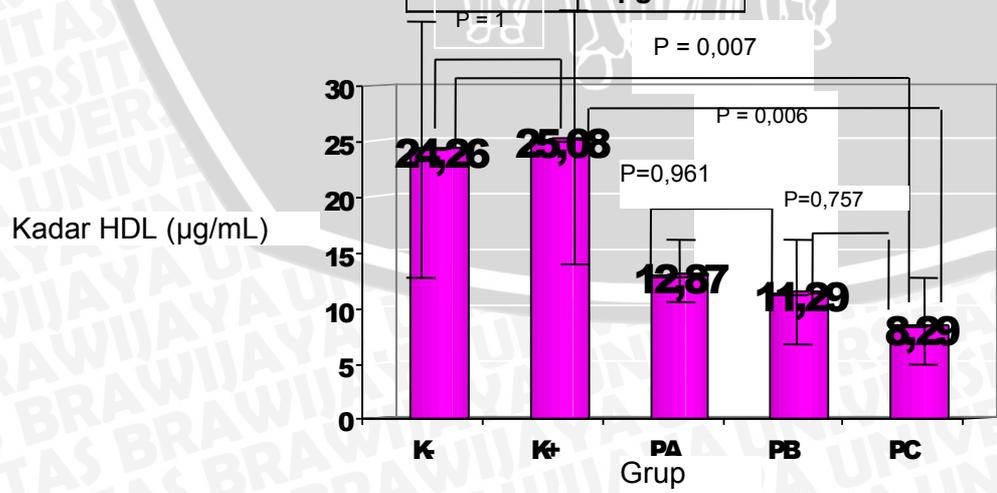
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Setelah dilakukan perlakuan selama 65 hari pada tiap kelompok, tikus dibedah, diambil darah dari aorta dan diukur kadar HDL dengan menggunakan alat spektrofotometer. Hasil pengukuran kadar HDL sebagai berikut :

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Kadar HDL

Kelompok	Mean ± Standar Deviasi
Kontrol negatif (Kn)	24.26 ± 5.30 µg/mL
Kontrol positif (Kp)	25.08 ± 5.11 µg/mL
Perlakuan 1 (P1)	12.87 ± 1.24 µg/mL
Perlakuan 2 (P2)	11.29 ± 2.25 µg/mL
Perlakuan 3 (P3)	8.29 ± 1.49 µg/mL



Gambar 5.1 Gambar Rata-Rata Kadar HDL



- Kontrol (-) : kelompok tikus tanpa diberi diet atherogenik dan tanpa diberi ekstrak polifenol buah tin (*Ficus carica*) selama 65 hari
- Kontrol (+) : kelompok tikus yang diberi diet atherogenik tanpa diberi ekstrak polifenol buah tin (*Ficus carica*) selama 65 hari
- Perlakuan 1 (P1) : kelompok tikus yang diberi diet atherogenik dan ekstrak polifenol buah tin (*Ficus carica*) dengan dosis 4,5 mg/200gram/hari selama 65 hari
- Perlakuan 2 (P2) : kelompok tikus yang diberi diet atherogenik dan ekstrak polifenol buah tin (*Ficus carica*) dengan dosis 9 mg/200gram/hari selama 65 hari
- Perlakuan 3 (P3) : kelompok tikus yang diberi diet atherogenik dan ekstrak polifenol buah tin (*Ficus carica*) dengan dosis 18mg/200gram/hari selama 65 hari

Pada gambar 5.1 dapat dilihat rerata kadar HDL pada kelompok perlakuan kontrol (-), kontrol (+), PA, PB, dan PC berturut-turut adalah sebesar $24.26 \pm 5.30 \mu\text{g/mL}$, $25.08 \pm 5.11 \mu\text{g/mL}$, $12.87 \pm 1.24 \mu\text{g/mL}$, $11.29 \pm 2.25 \mu\text{g/mL}$, $8.29 \pm 1.49 \mu\text{g/mL}$.

Hasil rerata kadar HDL menunjukkan bahwa perbedaan dosis polifenol buah Tin terhadap masing-masing kelompok perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kadar HDL serum. Secara kasar dapat disimpulkan bahwa kadar HDL menurun seiring dengan meningkatnya dosis polifenol buah Tin.

5.2 Analisis Data Kadar HDL Serum

Proses analisis data dan pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program *SPSS 17 for windows*. Analisis data kadar HDL tikus wistar menggunakan uji komparatif *One way Anova* atau *Kruskal Wallis*, karena pada penelitian ini skala pengukuran variabel yang digunakan adalah numerik dengan lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan. Pada uji normalitas *Shapiro Wilk* didapatkan hasil. Semua kelompok menunjukkan hasil dengan $p > 0,05$ dengan sebaran data normal.

Tabel 5.2 Tabel hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk*

Kelompok	<i>P</i> (<i>Shapiro-Wilk</i>)
Kn	.355
Kp	.534
P1	.825

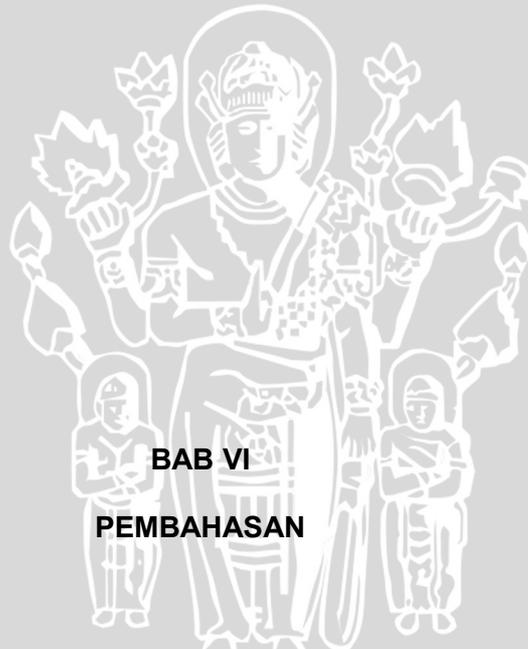
P2	.106
P3	.870

Hasil uji homogenitas varian data yang diperoleh dari uji Levene menunjukkan nilai $p=0,002$ ($p<0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa varians data tidak homogen. Oleh karena itu dilakukan transformasi data dengan menggunakan logaritma, sehingga didapatkan nilai $p=0,310$ ($p>0,05$) dan varian data menjadi homogen. Setelah itu dilakukan uji post-hoc untuk menganalisis apakah terdapat perbedaan rata-rata kadar HDL serum yang bermakna antar masing-masing kelompok perlakuan dengan melihat nilai signifikansi (p). Lalu pada penelitian ini didapatkan nilai post-hoc $p=0,002$ ($p<0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai post-hoc signifikan.

Setelah itu dilakukan uji komparasi dengan menggunakan uji Tukey. Didapatkan bahwa kelompok kontrol negatif tidak signifikan terhadap kelompok kontrol positif, PA, PB dan signifikan terhadap kelompok PC. Kelompok kontrol positif tidak signifikan terhadap kelompok kontrol negatif, PA, PB dan signifikan terhadap kelompok PC. Kelompok PA tidak signifikan terhadap kelompok kontrol negatif, kontrol positif, PB, dan PC. Kelompok PB tidak signifikan terhadap kelompok kontrol negatif, kontrol positif, PA, dan PC. Kelompok PC signifikan terhadap kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dan tidak signifikan terhadap kelompok PA, PB.

Untuk mengukur kekuatan dan arah hubungan linier dari peningkatan dosis dan kadar HDL maka digunakan uji korelasi Pearson yang menghasilkan nilai $p=-0,683$. Nilai tersebut menunjukkan hubungan negatif antara peningkatan dosis polifenol dengan kadar HDL.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB VI PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh polifenol buah Tin (*Ficus carica*) terhadap kadar HDL pada tikus strain Wistar yang diberi diet aterogenik dengan menggunakan penelitian eksperimental laboratorik. Penelitian ini membagi tikus dalam 5 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif diberi diet normal tanpa polifenol buah Tin, kelompok kontrol positif diberi diet aterogenik tanpa polifenol buah Tin, kelompok PA diberi diet aterogenik ditambah dengan polifenol buah Tin dosis 4,5 mg/hari, kelompok PB diberi diet aterogenik ditambah dengan polifenol buah Tin dosis 9 mg/hari, dan kelompok PC diberi diet aterogenik ditambah dengan polifenol buah Tin dosis 18 mg/hari. Pemberian diet

aterogenik dilakukan selama 65 hari agar terjadi kondisi hiperkolesterolemia pada tikus. Peningkatan kadar kolesterol darah tikus dapat meningkat secara bermakna dengan pemberian diet aterogenik minimal 8 minggu (Murwani *et al.*, 2005).

6.1 Pengaruh Diet Aterogenik terhadap Kadar HDL Serum

Setelah 65 hari pemberian diet aterogenik, dilakukan pembedahan dan pengukuran kadar HDL serum untuk melihat apakah terdapat hasil yang signifikan antara tikus yang diberi diet normal, tikus yang diberi diet aterogenik, dan tikus yang diberi diet aterogenik dengan penambahan polifenol buah Tin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar HDL serum pada tikus yang diberi diet aterogenik ($25.08 \pm 5.11 \mu\text{g/mL}$) lebih tinggi daripada yang diberi diet normal ($24.26 \pm 5.30 \mu\text{g/mL}$). Uji komparasi Tukey menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif tidak signifikan terhadap kelompok kontrol positif, dan sebaliknya.

Kemungkinan peningkatan HDL pada fase akut (tikus yang diberi diet tinggi lemak tanpa pemberian polifenol buah Tin) melebihi keadaan normal (tikus yang diberi diet normal) dikarenakan HDL merubah sifatnya dari anti-inflamatori menjadi pro-inflamatori (Lenten *et al.*, 1995). HDL berperan sebagai molekul anti-inflamatori pada individu yang sehat. Tetapi, pada individu yang terpapar proses patologikal seperti stres oksidatif sistemik dan inflamasi, HDL berubah menjadi disfungsional, sehingga tidak dapat melaksanakan *reverse cholesterol transport*, menghambat oksidasi LDL dan tidak dapat melaksanakan tugasnya sebagai agen anti-inflamatori, oleh karena itu HDL dikatakan bersifat pro-inflamatori. Lingkungan oksidatif terbentuk ketika imunitas non-spesifik mengeluarkan respon fase akut. Kemudian, HDL muncul sebagai bagian dari sistim *innate immune system* dan dapat menjadi pro-inflamatori atau anti-inflamatori tergantung dari ada tidaknya respon fase akut dan inflamasi sistemik (Hima *et al.*, 2011).

Bagaimana cara HDL dapat merubah sifatnya tersebut masih dalam penelitian hingga kini. Namun menurut Hima *et al.*, HDL kemungkinan mengalami disfungsi akibat munculnya enzim-enzim seperti *myeloperoxidase* (MPO), *serum amyloid A protein* (SAA)

dan *secretory phospholipase A2* (sPLA2) yang memodifikasi Apo A-1 merupakan komponen utama HDL yang berperan menghambat beberapa komponen esensial dalam patogenesis penyakit inflamatori.

Myeloperoksidase (MPO) adalah enzim yang terdiri dari hemoprotein dan dihasilkan oleh leukosit terutama monosit dan neutrofil serta beberapa subtipe makrofag di jaringan (Takeshita *et al.*, 2006). MPO adalah kunci mediator inflamatori makrofag dan leukosit lain, dan inflamasi sistemik yang merubah HDL ke kondisi disfungsi sehingga menyebabkan hilangnya efek anti-aterogenik. (Hima *et al.*, 2011). Sintesis MPO dimulai pada saat diferensiasi mieloid dalam sumsum tulang yang kemudian disimpan dalam granula *azurophilic* leukosit dan nantinya dilepaskan ke dalam sirkulasi bila terjadi aktivasi lekosit akibat proses inflamasi sebagai bagian dari mekanisme pertahanan tubuh. Selama proses inflamasi, MPO bereaksi dengan asam klorida dan hidrogen peroksida yang mengakibatkan ketidakstabilan plak (Nicholls *et al.*, 2005). MPO secara selektif juga menyerang protein utama HDL, yaitu Apo A-1, dengan memodifikasi asam amino tirosin Apo A-1 sehingga mengalami kerusakan. Menurut Wu *et al.*, tirosin Apo A-1 adalah target modifikasi oksidasi utama, dimana tirosin Apo A-1 berhubungan langsung dan dapat mengaktivasi LCAT (protein yang merubah kolesterol bebas menjadi kolesterol ester). Pada penelitian Urundhati *et al.*, menemukan bahwa Apo A-1 mengandung banyak tirosin termodifikasi oleh MPO pada pasien kardiovaskular. Ada hubungan terbalik antara jumlah tirosin dalam Apo A-1 yang dimodifikasi oleh MPO dengan kemampuan HDL untuk mengambil kelebihan kolesterol dari makrofag. Semakin banyak tiroksin dalam Apo A-1 yang dimodifikasi oleh MPO, makin kurang efektif HDL dalam mengambil kelebihan kolesterol. Penelitian ini juga mengatakan bahwa oksidasi Apo A-1 oleh MPO menyebabkan menurunnya HDL-mediated, anti-apoptosis, dan aktivitas anti-inflamatori. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Winter *et al.*, mengungkapkan adanya hubungan yang bermakna antara peningkatan kadar MPO dengan bertambahnya usia, peningkatan kolesterol HDL dan riwayat hiperkolesterolemia ($p < 0,001$).

Selain dipengaruhi oleh MPO, pada kondisi disfungsi HDL, protein utama HDL, yaitu Apo A-1 menurun jumlahnya karena berkurangnya sintesis Apo A-1, percepatan

katabolisme HDL, dan pertukaran Apo A-1 dengan serum amyloid A (SAA). SAA adalah pro-oksidan reaktan fase akut yang tidak hanya melumpuhkan peran anti-inflamatori HDL, tetapi juga dengan menciptakan pro-inflamatori HDL (Khovidhunkit *et al.*, 2004). Protein ini dikeluarkan oleh hati yang akan meningkat kadarnya hingga 1000 kali selama munculnya inflamasi (Urundhati A *et al.*, 2009). Apo A-1, protein utama HDL, mempunyai peran penting dalam *cellular cholesterol efflux*, dan penggantian Apo A-1 oleh SAA selama inflamasi mempunyai pengaruh yang signifikan pada *efflux*. HDL yang mengandung banyak SAA mengakibatkan peningkatan ikatan HDL dengan makrofag, menurunkan *cholesterol efflux* dari makrofag, dan peningkatan uptake selektif CE oleh makrofag (Artl *et al.*, 2000). Yang lebih penting, SAA secara selektif melemahkan *cholesterol efflux properties* dari partikel HDL3. Tidak seperti HDL normal, HDL fase akut tidak menghambat bahkan memperkuat modifikasi LDL dan migrasi monosit pada coculture dari sel dinding aorta manusia (Sargowo, 2005). Mekanisme retensi HDL yang mengandung SAA dalam plak melibatkan interaksi ionik antara SAA yang bermuatan positif dengan glikoaminoglikan pada dinding arteri yang bermuatan negatif. Peningkatan SAA selama infeksi dan inflamasi akut, menyebabkan stimulasi adhesi monosit dan kemotaksis ke dalam dinding arteri serta peningkatan transpor kolesterol ke sel dinding arteri. Kedua proses ini berkontribusi untuk inisiasi dan progresi lesi aterosklerotik.

Selain MPO dan SAA, sPLA₂ menunjukkan suatu kelas enzim yang menghidrolisis fosfolipid dari membran selular dan lipoprotein, yang menyebabkan aksi pro-aterogenik yang bermacam-macam di dinding pembuluh darah (Rosenson *et al.*, 2009). Enzim ini terdapat dalam dinding pembuluh darah dan mempunyai efek lokal yang menunjang aterogenesis bukan hanya sebagai agen yang menginisiasi, tetapi juga mengatur inflamasi pada plak (Kovanen *et al.*, 2009). Dari 10 isozim sPLA₂ yang ditemukan pada mamalia, hanya sPLA₂ tipe IIA yang telah terdefinisi dengan baik. Sifat aterogenik sPLA₂ yang utama adalah modifikasi hidrolitik fosfolipid dalam partikel lipoprotein. Enzim ini membuat lipoprotein lebih mudah untuk mengalami peroksidasi dan memfasilitasi agresi dengan peningkatan retensi oleh matriks ekstraseluler arteri. Aktivasi hidrolisis fosfolipid dari sPLA₂ busa melepaskan

asam lemak teroksidasi dari lipoprotein, termasuk HDL yang mempunyai sifat proinflamasi dan proaterogenik. Maka, peningkatan sPLA₂ selama *acute phase reactant* memungkinkan perubahan HDL normal menjadi partikel proinflamatori (Rosenson *et al.*, 2009).

Perubahan pada fungsi HDL juga disertai perubahan komposisi HDL. Sitokin yang muncul saat terjadi proses inflamasi, seperti TNF- α dan interleukin-6 (IL-6), meningkatkan level ekspresi SAA dan sPLA₂-IIA yang mengubah isi dan level apolipoprotein. Selama inflamasi atau pada keadaan hipertrigliseridemia pada inti HDL terjadi penebalan TG dan penipisan kolesterol ester yang disertai penurunan aktivitas lipoprotein lipase, hepatic lipase, LCAT, atau kombinasi diantaranya. Penebalan TG pada HDL terjadi akibat peningkatan aktivitas CETP yang bertugas mengganti kolesterol ester pada HDL dengan TG dari *triglycerid-rich lipoprotein* (Hima *et al.*, 2011).

Studi terbaru mengatakan bahwa tingginya kadar HDL tidak selalu pro-ateroprotektif dan dapat menjadi disfungsional karena kehilangan efek cardiprotektifnya (Barter *et al.*, 2002). Oleh karenanya, fungsi HDL tidak selalu dapat diprediksi dari kadar HDL kolesterolnya (Hima *et al.*, 2011).

6.2 Pengaruh Polifenol Buah Tin terhadap Kadar HDL Serum

Pada penelitian ini akan dilakukan pengukuran kadar HDL serum dan menilai apakah terdapat pengaruh yang signifikan antara pemberian polifenol buah Tin berbagai dosis dengan kadar HDL serum tikus yang diberi diet aterogenik.

Pada kelompok perlakuan tikus yang diberi diet aterogenik dan polifenol buah Tin dengan berbagai dosis, terdapat penurunan kadar HDL yaitu $12,87 \pm 1,24$ $\mu\text{g/mL}$ pada kelompok perlakuan dosis A (4,5 mg/hari), $11,29 \pm 2,25$ $\mu\text{g/mL}$ pada kelompok perlakuan B (9 g/hari), dan $8,29 \pm 1,49$ $\mu\text{g/mL}$ pada kelompok perlakuan C (18 mg/hari).

Pada kelompok PA, yaitu kelompok yang diberi diet aterogenik dan polifenol dengan dosis 4,5mg/200gram/hari mengalami penurunan kadar HDL yang tidak signifikan

dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini dikarenakan pemberian dosis polifenol pada PA paling sedikit dibandingkan dengan PB dan PC.

Pada kelompok PB, yaitu kelompok yang diberi diet aterogenik dan polifenol dengan dosis 9mg/200gram/hari terjadi penurunan kadar HDL dibanding dengan dosis 4,5mg/200gram/hari. Meskipun penurunan ini tidak signifikan, tetapi penurunan ini mungkin disebabkan oleh peningkatan dosis buah Tin yang mengandung polifenol, dimana menurut Williamson, 2008, dosis ini adalah dosis yang paling sesuai berdasarkan perhitungan dosis kebutuhan polifenol manusia perhari yaitu sebesar >500mg/hari, yang telah dikonversikan terhadap kadar kebutuhan tikus menggunakan tabel konversi (Paget and Barnes, 1971).

Pada kelompok PC, yaitu kelompok yang diberi diet aterogenik dengan penambahan dosis polifenol 18 mg/200gram/hari terjadi penurunan kadar HDL yang tidak signifikan dibandingkan dengan kelompok PA dan PB, namun signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol (-) dan kelompok kontrol (+). Kelompok PC menunjukkan kadar HDL terendah dikarenakan kelompok ini diberikan perlakuan dengan dosis polifenol tertinggi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian ini tidak terbukti, yang berarti tidak adanya pengaruh perlakuan (pemberian polifenol buah Tin berbagai dosis) yang berbeda secara signifikan terhadap kadar HDL.

HDL cenderung menurun seiring dengan peningkatan dosis polifenol buah Tin. Hal itu mungkin disebabkan karena HDL merubah sifatnya dari anti-inflamatori menjadi pro-inflamatori pada keadaan terpapar inflamasi akut maupun kronis (Lenten *et al.*, 1995). Buah tin (*Ficus carica*) memiliki kandungan polifenol yang dapat bersifat sebagai antioksidan, sedangkan HDL yang telah disfungsi mengandung fosfolipid yang telah teroksidasi dan protein pro inflamatori seperti serum amyloid A (SAA) dan ceruloplamsin (Hima *et al.*, 2011). Mengapa polifenol tidak mampu menghambat penurunan HDL dan diduga malah berpengaruh dalam penurunan kadar HDL pro-inflamatori ini masih dalam penelitian hingga kini. Namun, hal ini diduga karena polifenol dapat memodulasi inflamasi internal melalui reduksi infiltrasi neutrofil dan ekspresi dari faktor transkripsi yang berbeda, yang mana akan menyebabkan penurunan produksi agen pro-inflamatori dan sitokin.

Kemudian perlu dibandingkan kadar HDL dan LDL serum tikus pada penelitian ini agar didapatkan rasio yang dapat menunjukkan apakah terdapat risiko tinggi terhadap penyakit kardiovaskular atau tidak. Nilai rasio normal antara kadar HDL dan kadar LDL tidak lebih dari 4. Hasil pengukuran kadar LDL sebagai berikut: kelompok kontrol negatif $12,86 \pm 4,30$, kelompok kontrol positif $13,72 \pm 6,32$, kelompok PA $13,80 \pm 5,56$, kelompok PB $13,33 \pm 2,48$, dan kelompok PC $12,84 \pm 0,88$ (Riswati, 2011). Sehingga di dapatkan rasio HDL : LDL pada kelompok kontrol negatif yaitu 2:1, kelompok kontrol positif yaitu 2:1, kelompok PA yaitu 1:1, kelompok PB yaitu 1:1, dan kelompok PC yaitu 1,5:1.

Didapatkan kesimpulan bahwa kadar HDL bila dibandingkan dengan kadar LDL masih dalam keadaan seimbang, namun tetap tidak bisa mengurangi risiko terhadap penyakit kardiovaskular sebab fungsi dan kemampuan anti-inflamatori HDL tidak selalu dapat diprediksi dari kadar HDL kolesterolnya (Hima *et al.*, 2011).

Beberapa studi menunjukkan bahwa polifenol memiliki sifat antioksidan yang dapat meningkatkan kadar HDL. Misalnya, intake cocoa yang mengandung polifenol 42g/hari selama 4 minggu, terbukti dapat meningkatkan kadar HDL secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak diberi intake cocoa (Andujar *et al.*, 2012).

Berdasarkan penelitian ini ekstrak polifenol buah tin (*Ficus carica*) dengan dosis yang disebutkan diatas belum mampu mencegah penurunan kadar HDL secara signifikan dan diduga terlibat dalam pembentukan aterosklerosis. Sehingga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengukur kadar subklas HDL (kadar MPO, SAA, dan sPLA₂), mengukur disfungsi HDL, dan mencari biomarker yang lebih baik untuk memprediksi risiko kardiovaskular.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB VII PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian diet tinggi lemak pada tikus wistar selama 65 hari tidak dapat menurunkan kadar HDL secara signifikan.
2. Pemberian polifenol buah tin (*Ficus carica L.*) berbagai dosis selama 65 hari pada tikus jantan yang diberi diet atherogenik tidak dapat menghambat penurunan kadar HDL secara signifikan.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengukur kadar MPO pada HDL tikus wistar yang diberi diet atherogenik.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengukur kadar SAA pada HDL tikus wistar yang diberi diet atherogenik.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengukur kadar sPLA₂ pada HDL tikus wistar yang diberi diet atherogenik.
4. Perlu dilakukan penelitian untuk mencari standar pengukuran disfungsi HDL yang dapat digunakan secara luas.
5. Perlu dicari biomarker yang lebih baik untuk memprediksi risiko kardiovaskular.

DAFTAR PUSTAKA

- Akiko Yasuda, Midori Natsume, Naomi Osakabe, Keiko Kawahata, Jinichiro Koga. 2011. *Cacao Polyphenols Influence the Regulation of Apolipoprotein in HepG2 and Caco2 Cells*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 110112082623015 DOI: 10.1021/jf103820b
- Allen RG, Tressini M. 2008. *Oxidative stress and gene regulation*. Free Radical Bio Mol Med. 28; 2000:463-99
- Andujar I., Recio MC., Giner RM., Rios JL. 2012. Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, vol 2012
- Artl A., Marsche G., Lestavel S., Sattler W., Malle E. 2002. Role of serum amyloid A during metabolism of acute-phase HDL by macrophages. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and vascular biology*, vol. 20, no.3, pp. 763-772
- Bahri, T.A. 2004. *Faktor Risiko Penyakit Jantung Koroner*, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan

- Barter, Philip. 2005. *HDL Cholesterol, Very Low Levels of LDL Cholesterol and Cardiovascular Events*. The New England Journal of Medicine Vol 340, No 2: 3-11. <http://www.nejm.org> Diakses pada 3 Januari 2012
- Barter, Philip. 2007. *Overview of HDL and Reserve Cholesterol Transport*. The New England Journal of Medicine Vol. 357, 13; 1302. <http://www.nejm.org> Diakses 3 Januari 2012
- Barter, P.J., Baker, P.W. Rye, K.A. 2002. Effect of high density lipoproteins on the expression of adhesion molecules in endothelial cells. *Current Opinion in Lipidology*, vol. 13, no. 3, pp. 285-288
- Cabana, V.G., Siegel, J.N., and Sabesin, S.M. 1989. *J.Lipid Res* 30; 39-49
- Curtiss, LK. 2009. *Reversing atherosclerosis?* N Engl J Med 360;11, NEJM.org, Maret 2009
- Dewi LP, Ciptati. 2010. *Isolasi Senyawa Antioksidan dari Buah Tin (Ficus carica Linn)*
- Droge W. 2002. *Free radicals in the physiological control of cell function*. *Physiol Rev*. 82;page: 47-95
- Harbornes, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Penerjemah: Padmawinata K dan Soediro I. Edisi II. Bandung: Penerbit ITB-Press. Hal. 153
- Hatma RD. 2011. *Lipid Profiles Among Diverse Ethnic Groups in Indonesia*. Departemen of Epidemiology, Faculty of Public Health, University of Indonesia
- Hima Bindu G, Veena S. Rao, and Vijay V. Kakkar. 2011. "Friend Turns Foe: Transformation of Anti-Inflammatory HDL to Proinflammatory HDL during Acute-Phase Response," . *Hindawi Cholesterol*, vol. 2011, Article ID 274629, 7 pages, doi:10.1155/2011/274629
- Hobson II R.W., Wilson S.E., Veith F.J. 2004. *Vascular Surgery Principles and Practice 3rd edition*. Marcel Dekker, Inc. New York
- Huang D, Ou B, Prior RL. 2005. *The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays*. *J. Agric. Chem* 53 : 1841-1856
- Joseph B, Raj SJ. 2011. *Pharmacognostic and phytochemical properties of Ficus carica Linn –An overview*, *International Journal of PharmTech Research*
- Khomsan Ali, 2005. *Dampak Terapi Estrogen pada Wanita Menopause*. IPB Press. Bogor
- Khovidhunkit W., Kim MS., Memon RA., Shigenaga JK., Moser AH., Feingold KR., Grunfeld C. 2004. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *Journal of lipid research*, vol. 45, no.7, pp. 1169-1196
- Kostner K. Beyond. 2002. *LDL-Cholesterol: New Treatments Raising HDL-Cholesterol or Enhancing Reverse Cholesterol Transport*. *Austrian Journal of Cardiology* vol 9 (7-8): 328-331
- Kovanen, Petri T., Oorni, Katarina. 2009. Lipoprotein modification by secretory phospholipase A2 enzymes contributes to the initiation and progression of atherosclerosis

Kumar V, Cotran RS, Robbins SL, 2003. *Buku Ajar Patologi Robbins Ed.7, Vol.2*, Pendit BU (penterjemah), 2007, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia, hal. 369-375

Lenten, BJ., Hama, S.Y. 1995. Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response: Loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures. *Journal of clinical investigation*, vol. 96, no.6, pp. 2758-2767

Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M. 2005. *Total Phenolic and Total Flavonoids in Bulgarian Fruits and Vegetables*. *Journal of The University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40,3, 255-260

Mughni, Abdul. 2007. *Pengaruh Puasa Ramadhan Terhadap Faktor-Faktor Risiko Aterosklerosis*. [Thesis]. Magister Ilmu Biomedik dan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Universitas Diponegoro Semarang

Murwani, S, Mulyohadi, A, Muliarta, K. 2005. *Diet Atherogenik pada Tikus Putih sebagai Model Hewan Aterosklerosis*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, vol XXII, No. 1

Mushoffi FZ. 2010. *Buah Tin Sebagai Diversifikasi Obat Diabetes Melitus*. Tugas Akhir. Bogor; Institut Pertanian Bogor

Napoli, C, Lerman, LO. 2001. *Involvement of oxidation-sensitive mechanisms in the cardiovascular effects of hypercholesterolemia*. *Mayo Clin Proc* 76:619-631

Nicholls SJ, Hazen SL. 2005. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 25:1102-11

Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT.Rineka Cipta, hal 165-167

Ontoseno Teddy. 2005. *Pencegahan Primordial Penyakit Jantung Koroner*, LAB/SMF Ilmu Kesehatan Anak, FK Unair/RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Ontoseno, Teddy. 2005. *Pencegahan Primordial Penyakit Jantung Koroner*. Lab/SMF Ilmu Kesehatan Anak, FK Unair/RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Paget GE, Barnes JM. 1964. *Toxicity tests*. In: Laurence DR, Bacharach AL (ed.) *Evaluation of drug activities*. *Pharmacometrics* (p 161). London: Academic Press

Rashed A.N., Afifi F.U., Shaedah M., Taha M. 2004. *Investigation of the active constituents of Portulaca oleracea L. (Portulacaceae) growing in Jordan*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 17:37-45

Riswati HP. 2011. Pengaruh polifenol buah tin (*ficus carica*) terhadap kadar ldl (*low density lipoprotein*) tikus (*rattus norvegicus*) galur wistar yang diberi diet aterogenik. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Rosenson, Robert S., Gelb, Michael H. 2009. Secretory Phospholipase A₂ : A multifaceted family of proatherogenic enzymes. *Current Medicine Group*

Ross R. 1999. *Mechanisms of Disease: Atherosclerosis— An Inflammatory Disease*. N Engl J Med. 1999;340: 115–126

Sargowo D. 2005. Peran lipid dan oksidasi lipoprotein pada patogenesis aterosklerosis. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Sargowo Djanggan. 2002. *Peranan Kadar Trigliserida dan Lipoprotein Sebagai Faktor Risiko Penyakit Jantung Koroner (Studi pendahuluan)*. (<http://www.tempo.co.id/medika/arsip/072002/art-1.htm>-22k diakses 24 Desember 2011).

Sauriasari R, 2006. *Mengenal dan Menangkal Radikal Bebas*, Artikel Berita Iptek Bidang Biologi Pangan dan Kesehatan.com. Diakses 5 Januari 2012

Singh, Inder M, Mehdi H. Shishebor, Benjamin J. Ansell. 2007. *High Density Lipoprotein as a Therapeutic Target A Systematic Review*. JAMA, Vol 298. No 7; 787-790. www.jama-ama-assn.org Diakses 4 Januari 2012

Sofia Dina. 2006. *Antioksidan dan Radikal Bebas*. Kimia FMIPA Universitas Lampung. Diakses 27 Desember 2011

Starr Forest, Starr Kim, Loope Lloyd. 2003. *Ficus Carica*. United States Geological Survey- Biological Resources Divison

Supardan. 2001. *Metabolisme lemak*. Laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya Malang

Supriyanto. 2004. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai terhadap Kadar Kolesterol Total, LDL, HDL, dan Rasio kolesterol LDL/HDL Darah Tikus Putih Jantan yang Mengalami Hiperkolesterolemia*. [Thesis]. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya

Susanto Tri. 2003. *Antioksidan Dalam Bahan Pangan*, Jurusan THP, FTP, Universitas Brawijaya

Takehita J, Byun J, Nhan TQ, Pritchard DK, Pennathur S, Schwartz SM et al. 2003. Myeloperoxidase generates 5-chlorouracil in human atherosclerotic tissue. J Biol Chem. 280(6):3096-104

Tölle M, Pawlak A, Schuchard M, Kawamura A, Tietge UJ. 2008. *HDL-Associated Lysosphingolipids Inhibit NAD(P)H Oxidase-Dependent Monocyte Chemoattractant Protein-1 Production*. Journal of American Heart Association.

Urundhati A., Huang Y., Lupica JA., Smith JD., DiDonato JA., Hazen SL. 2009. Modification of high density lipoprotein by myeloperoxidase generates a pro-inflammatory particle. Journal of biology chemistry, vol. 284, no.45 pp. 30825-20835

Vinson JA, Zubik, Ligia, Bose, Pratima, Samman, Najwa, Proch, John. 2005. *Dried Fruits : Excellent in Vitro and in Vivo Antioxidant*. Journal of The American College of Nutrition, Vol. 24, No.1, 44 50

Vinson, Joe A. 1999. *The Functional Food Properties of Figs*. American Association of Cereal Chemist vol.44 No.2

WHO. 2011. Cardiovascular Disease. WHO, (Online), (http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/, diakses 9 Desember 2011).

Williamson, G and Birgit H. 2008. *Dietary reference intake (DRI) value for dietary polyphenols: are we heading in the right direction?* British Journal of Nutrition (2008), 99, Suppl. 3, S55–S58

Williamson, G, Holst, B. 2008. *Dietary reference intake (DRI) value for dietary polyphenols: are we heading in the right direction?* British Journal of Nutrition 99, Suppl. 3, S55–S58.

Winter RJ, Fischer J, Bholasingh R, Straalen JP, Jong I Tijssen GP, et al. 2004. C-reactive protein and cardiac troponin T in risk stratification: differences in optimal timing of test early after the onset of chest pain. Clin Chem. 46(10):1597-603

Wiyono S, Bantas K, Hatma RD, Soekirman SW. 2004. Hubungan Antara Rasio Lingkar Pinggang-Pinggul dengan Kadar Kolesterol pada Orang Dewasa di Kota Surakarta. Cermin Dunia Kedokteran vol. 143

Wu, Z., M. A. Wagner, L. Zheng, J. S. Parks, J. M. Shy 3rd, J. D. Smith, V. Gogonea, and S. L. Hazen. 2007. The refined structure of nascent HDL reveals a key functional domain for particle maturation and dysfunction. Nat. Struct. Mol. Biol. 14: 861–868

Lampiran 1 Perhitungan Dosis Polifenol Buah Tin (*Ficus carica Linn*)

Tabel:Perbandingan Luas Permukaan Hewan Coba
 Sumber: Paget and Barnes, 1971

Konversi	20 g mencit	200 g tikus	400 g marmot	1,5 kg kelinci	2 kg kucing	4 kg kera	12 kg anjing	70 kg manusia
20 gr Mencit	1,0	7,0	12,29	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
200 gr Tikus	0,14	1,0	1,74	3,3	3,3	9,2	17,8	56,0
400 gr Marmot	0,08	0,57	1,0	2,25	2,25	5,2	10,2	31,5
1,5 kg Kelinci	0,04	0,25	0,44	1,0	1,0	2,4	4,5	14,2
2 kg Kucing	0,03	0,23	0,41	0,92	0,92	2,2	4,1	13,0
4 kg Kera	0,016	0,11	0,19	0,42	0,42	1,0	1,9	6,1
12 kg Anjing	0,008	0,06	0,10	0,22	0,22	0,52	1,0	3,1
70 kg manusia	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,07	0,16	0,32	1,0

Dosis polifenol buah Tin yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan rujukan dari Williamson (2008) yang menyatakan bahwa konsumsi total fenol yang dianjurkan pada manusia adalah >500 mg/hari. Berdasarkan Tabel Perbandingan Luas Permukaan Hewan Coba (Paget dan Barnes, 1971), konversi dosis polifenol tikus terhadap manusia adalah sebagai berikut:

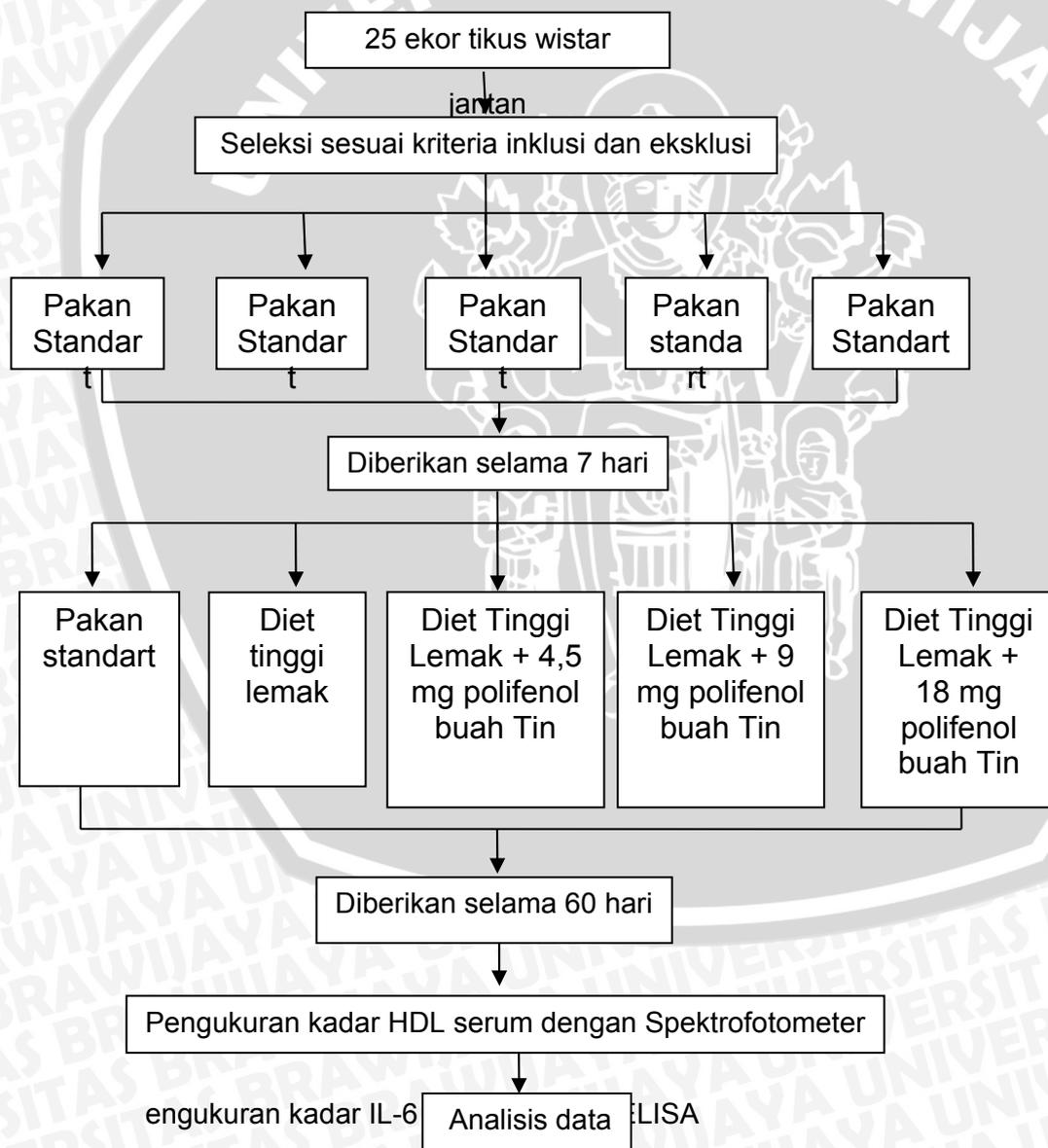
$$\text{Dosis manusia (70 kg bb)} = 500 \text{ mg/hari (Williamson, 2008)}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis tikus (200 g bb)} &= 500 \text{ mg/hari} \times 0,018 \\ &= 9 \text{ mg/hari} \end{aligned}$$

Variasi pemberian dosis didasarkan pada deret ukur $\frac{1}{2}n$, n , dan $2n$ adalah sebagai berikut:

- dosis 1 = 4,5 mg/hari
- dosis 2 = 9 mg/hari
- dosis 3 = 18 mg/hari

Lampiran 2 Diagram Alur Penelitian



Lampiran 3 Alur Pembuatan Diet Normal

Penimbangan bahan PARS dan tepung terigu

↓
Pencampuran bahan

↓
Penambahan air secukupnya

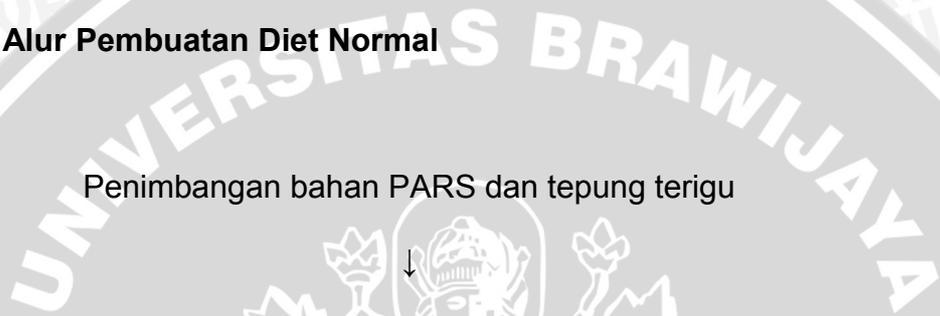
↓
Aduk rata

↓
Bentuk bulatan dari pakan

↓
Penggilingan pakan

↓
Penimbangan pakan untuk tiap ekor tikus

↓
Pembagian pakan



Lampiran 4 Alur Pembuatan Diet Tinggi Lemak

Penimbangan bahan (PARS, terigu, minyak babi, kolesterol dan asam kolat)

Pencampuran bahan

Penambahan air secukupnya

Aduk rata

Bentuk bulatan dari pakan

Penggilingan pakan

↓
Penimbangan pakan

↓
Penimbangan pakan untuk tiap ekor tikus

↓
Pembagian pakan

Lampiran 5 Dokumentasi Hewan Coba



Lampiran 6 Pengukuran Kadar High Density Lipoprotein (HDL) dengan Spektrofotometer

Pemeriksaan kadar HDL (High Density Lipoprotein) dilakukan menggunakan spektrofotometer. Pengambilan darah dilakukan dari aorta tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar pada akhir hari ke-65. Prosedur :

Darah diambil dengan menggunakan spuit kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian dilakukan sentrifugasi 200 rpm dan diambil serum darah sebanyak 10mikro. Serum darah yang sudah ada kemudian diberi reagen uji dan dicampur dan dimasukkan inkubator 20°-25°C (10 menit), setelah itu diukur absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 500 nm dengan larutan blangko sebagai titik nolnya, kemudian dilakukan pembacaan hasil.

Lampiran 7 Hasil Pengukuran Kadar HDL Serum

Kelompok	HDL (mg/dL)
K-1	31.276
K-2	16.461
K-3	13.333
K-4	18.601
K-5	41.646
K+1	39.506
K+2	27.490
K+3	31.440
K+4	12.675
K+5	14.321
PA1	16.790
PA2	9.712
PA3	12.016
PA4	11.358
PA5	14.486
PB1	19.424
PB2	13.004
PB3	7.901
PB4	7.572
PB5	8.560
PC1	8.724
PC2	10.370
PC3	3.292
PC4	7.078
PC5	12.016



Lampiran 8 Hasil Analisis Data Kadar HDL Serum

- Uji Normalitas

Tests of Normality						
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_HDL Kontrol negatif	.283	5	.200*	.890	5	.355
Kontrol positif	.227	5	.200*	.921	5	.534
PA	.221	5	.200*	.962	5	.825
PB	.306	5	.142	.815	5	.106
PC	.158	5	.200*	.969	5	.870

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

- Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

trans_HDL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.284	4	20	.310

- One-way Annova

ANOVA

trans_hdl

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.862	4	.215	6.071	.002
Within Groups	.710	20	.035		
Total	1.571	24			

- Uji Post Hoc Tukey HSD



Multiple Comparisons

trans_hdl

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	Kontrol positif	-.01331	.11913	1.000	-.3698	.3432
	PA	.24347	.11913	.282	-.1130	.5999
	PB	.32278	.11913	.088	-.0337	.6793
	PC	.46442*	.11913	.007	.1079	.8209
Kontrol positif	Kontrol negatif	.01331	.11913	1.000	-.3432	.3698
	PA	.25677	.11913	.237	-.0997	.6132
	PB	.33609	.11913	.071	-.0204	.6926
	PC	.47772*	.11913	.006	.1213	.8342
PA	Kontrol negatif	-.24347	.11913	.282	-.5999	.1130
	Kontrol positif	-.25677	.11913	.237	-.6132	.0997
	PB	.07932	.11913	.961	-.2772	.4358
	PC	.22095	.11913	.372	-.1355	.5774
PB	Kontrol negatif	-.32278	.11913	.088	-.6793	.0337
	Kontrol positif	-.33609	.11913	.071	-.6926	.0204
	PA	-.07932	.11913	.961	-.4358	.2772
	PC	.14163	.11913	.757	-.2148	.4981
PC	Kontrol negatif	-.46442*	.11913	.007	-.8209	-.1079
	Kontrol positif	-.47772*	.11913	.006	-.8342	-.1213
	PA	-.22095	.11913	.372	-.5774	.1355
	PB	-.14163	.11913	.757	-.4981	.2148

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

Homogenous Subset



trans_hdl

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
PC	5	.8807	
PB	5	1.0224	1.0224
PA	5	1.1017	1.1017
Kontrol negatif	5		1.3451
Kontrol positif	5		1.3584
Sig.		.372	.071

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

- **Uji Korelasi Pearson**

Correlations

		kadar_HDL1	Dosis
kadar_HDL1	Pearson Correlation	1	-.683**
	Sig. (2-tailed)		.001
	N	20	20
Dosis	Pearson Correlation	-.683**	1
	Sig. (2-tailed)	.001	
	N	20	20

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 9 Rekap dan Grafik Berat Badan Tikus



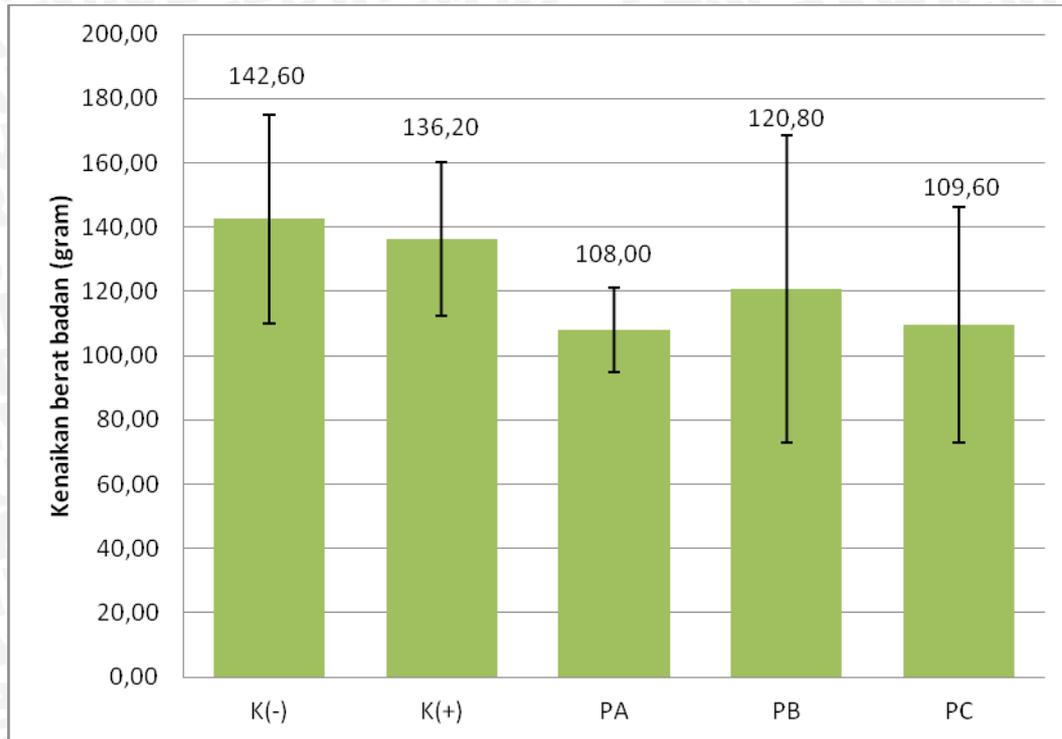
- **Tabel Berat Badan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan**

kelompok	Berat Badan (gr)										ΣBB
	09-06 2011	14-06 2011	03-07 2011	12-07 2011	17-07 2011	24-07 2011	02-08 2011	07-08 2011	14-08 2011	18-08 2011	
K-1	122	112	191	227	244	264	239	267	289	293	171
K-2	123	137	187	205	214	221	232	239	240	251	128
K-3	118	155	197	217	219	236	239	246	259	264	146
K-4	120	126	188	207	217	231	252	268	280	293	173
K-5	115	130	166	179	183	190	199	201	209	210	95
K+1	122	136	199	231	236	250	261	271	287	296	174
K+2	116	127	168	184	191	200	210	218	227	236	120
K+3	116	124	168	180	188	200	214	225	223	242	126
K+4	120	130	180	200	204	207	229	251	257	265	145
K+5	117	122	170	190	196	197	205	215	224	233	116
PA1	125	130	172	190	200	212	187	203	224	237	112
PA2	128	112	183	207	220	224	226	221	235	246	118
PA3	127	134	173	190	198	206	214	224	231	238	111
PA4	128	139	174	191	200	210	217	227	231	242	114
PA5	129	139	172	188	201	216	214	219	225	214	85
PB1	139	152	193	220	231	247	241	257	269	280	141
PB2	155	167	217	239	250	253	261	261	265	273	118
PB3	130	149	185	217	230	249	264	280	293	301	171
PB4	131	146	193	210	211	221	226	240	250	262	131
PB5	142	130	129	142	149	154	160	164	276	185	43
PC1	159	168	203	236	245	252	250	262	283	294	135
PC2	159	158	196	216	222	228	238	245	255	266	107
PC3	153	148	152	170	172	180	195	199	202	212	59
PC4	155	166	205	227	235	250	269	281	291	308	153
PC5	177	186	221	235	242	247	256	260	265	271	94

Keterangan:

ΣBB : kenaikan berat badan (gr)

- **Grafik Berat Badan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan**



Kenaikan berat badan dihitung dengan mengurangkan berat badan akhir dengan berat badan awal. Pada Grafik Berat Badan Tikus diatas, dapat dilihat rerata kenaikan berat badan pada kelompok perlakuan K(-), K(+), PA, PB, PC berturut-turut sebesar $142,60 \pm 32,49$ gram, $136,20 \pm 23,88$ gram, $108,00 \pm 13,13$ gram, $120,80 \pm 47,68$ gram, $109,60 \pm 36,53$ gram. Dari grafik tersebut juga terlihat bahwa rata-rata kenaikan berat badan tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan K(-) yaitu $142,60 \pm 32,49$ gram dan terendah terdapat pada PA yaitu $108,00 \pm 13,13$ gram.

Lampiran 10 Rekap dan Grafik Asupan Makanan Tikus

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan tanggal

15 - 28 Juni 2011

kelompok	Tanggal													
	15 06 2011	16 06 2011	17 06 2011	18 06 2011	19 06 2011	20 06 2011	21 06 2011	22 06 2011	23 06 2011	24 06 2011	25 06 2011	26 06 2011	27 06 2011	28 06 2011
K-1	15	12	24	15	25	32	33	19	25	30	27	32	37	36
K-2	12	20	23	19	26	28	24	22	30	24	28	31	30	31
K-3	3	31	28	24	23	27	26	18	29	32	30	33	25	32
K-4	27	41	26	16	26	30	42	20	25	27.5	34	33	30	26
K-5	25	20	24	18	24	23	24	22	29	27.5	24	23	30	27
K+1	42	48	48.5	48.5	48.5	49	46	47	46.5	45	48	48	48	48
K+2	15	31	46.5	48.5	48.5	49	45	32	46.5	43	48	48	30	48
K+3	9.5	15	16.5	13.5	17.5	21	16	16	14.5	9.5	21	14	39	18
K+4	13	22	17.5	18.5	23.5	29	23	21	20.5	29.5	24	46	35	26
K+5	22	21	22.5	18.5	23.5	27	25	19	17.5	28	29	44	25	27
PA1	18.5	21	18.5	12.5	21.5	20	31	16	19.5	19	26	19	19	21
PA2	15	29	23.5	15.5	28.5	32	28	18	31.5	23	30	18	27	22
PA3	16.5	24	23.5	18.5	21.5	24	21	17	25.5	20	28	37	25	23
PA4	16.5	25	29.5	21.5	19.5	27	34	21	18.5	30	37	32	32	25
PA5	16	26	23.5	14.5	20.5	19	20	19	23.5	17	29	19	33	23
PB1	31	30	39.5	48.5	47.5	48	46	35	34.5	42	46	44	27	47
PB2	25.5	39	33.5	44.5	18.5	42	23	26	29.5	27	29	27	36	26
PB3	8.5	20	18.5	16.5	20.5	20	19	14	16.5	15	21	23	26	23
PB4	25	27	21.5	23.5	20.5	23	23	18	19.5	23	28	28	26	44
PB5	9	8	3.5	10.5	20.5	13	8	11	4.5	15	16	15	17	14
PC1	19	25	23.5	18.5	22.5	25	24	21	16.5	19	21	21	31	26
PC2	14	24	20.5	18.5	19.5	20	18	15	16.5	18	20	21	22	24
PC3	8	15	14.5	9.5	10.5	11	13	13	6.5	11.5	12	19	23	15
PC4	19	24	26.5	23.5	35.5	25	29	29	33.5	20	29	31	18	28
PC5	16.5	25	28.5	29.5	24.5	25	28	18	36.5	16.5	26	23	40	28

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan tanggal

29 Juni 2011 – 12 Juli 2011

kelompok	Tanggal													
	29 06 2011	30 06 2011	01 07 2011	02 07 2011	03 07 2011	04 07 2011	05 07 2011	06 07 2011	07 07 2011	08 07 2011	09 07 2011	10 07 2011	11 07 2011	12 07 2011
K-1	47	35	35	20	32	33	32	27	36	40	53	46	36	36
K-2	32	35	26	13	25	27	27	26	18	33	38	31	34	27
K-3	34	34	28	19	50*	20	24	24	32	30	40	30	34	30
K-4	30	41	30	11	22	23	21	21	26	29	40	33	34	32
K-5	26	29	25	17	17	18	18	19	28	26	29	27	24	24
K+1	48	47	45	44	50	50	48	48	48	50	43	51	50	50
K+2	47	40	45	27	47.5	50	48	36	48	49	33	52	50	48
K+3	18	22	17	13	16	18	18	11	17	22	15	20	24	24
K+4	30	26	24	17	30	35	39	26	20	28	23	26	8	22
K+5	27	23	26	15	21	30	29	29	24	26	23	30	26	23
PA1	20	23	18	15	19.5	23	24	21	22	24	21	25	23	25
PA2	21	16	18	15	17	20	24	19	24	24	19	26	20	21
PA3	25	29	23	31	38	30	38	30	35	43	32	40	40	34
PA4	32	29	28	28	29	33	38	28	27	49	28	32	36	38
PA5	21	21	20	22	17	23	23	25	24	25	21	26	24	21
PB1	48	24	40	23	50*	36	38	28	48	46	43	42	47	22
PB2	25	23	20	17	23	23	27	19	35	23	23	27	31	26
PB3	23	23	16	10	17	41	28	22	25	26	20	25	26	23
PB4	39	23	22	29	19	20	19	25	23	26	20	20	27	22
PB5	16	11	13	9	10	12	12	13	13	13	12	15	14	15
PC1	24	25	24	18	21	21	18	28	30	25	25	24	26	24
PC2	19	18	16	15	29	20	24	24	21	28	20	23	26	24
PC3	13	12	15	14	17	12	16	15	20	24	20	21	19	27
PC4	39	21	35	23	34	30	35	46	48	43	39	43	45	37
PC5	23	23	23	17	17	20	23	21	24	23	22	23	23	23

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)

* sisa pakan hilang

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan tanggal

13 – 26 Juli 2011

kelompok	Tanggal													
	13 07 2011	14 07 2011	15 07 2011	16 07 2011	17 07 2011	18 07 2011	19 07 2011	20 07 2011	21 07 2011	22 07 2011	23 07 2011	24 07 2011	25 07 2011	26 07 2011
K-1	24	41	38	35	35	41	38	34	31	37	32	37	30	30
K-2	17	27	28	28	28	32	33	25	34	30	26	28	27	33
K-3	24	30	30	30	29	34	35	29	29	38	26	31	27	31
K-4	20	28	30	31	31	29	40	25	19	35	27	34	30	34
K-5	24	24	23	30	25	27	25	26	21	30	22	26	23	27
K+1	34	50	33	47	51	52	50	43	45	37	47	50	31	48
K+2	19	33	42	37	50	50	43	35	45	28	44	48	24	46
K+3	11	19	16	15	24	29	30	40	25	21	21	20	20	25
K+4	11	13	22	21	29	22	30	22	19	13	13	10	14	23
K+5	15	27	22	22	28	15	20	19	20	17	24	15	14	18
PA1	12	16	20	20	22	21	25	24	23	20	22	20	22	22
PA2	15	20	22	21	22	20	23	19	20	16	20	20	15	23
PA3	23	35	18	27	32	34	30	34	30	28	26	30	22	25
PA4	14	26	28	30	33	32	36	37	31	29	32	28	13	32
PA5	14	23	20	19	25	23	22	20	19	17	18	19	18	25
PB1	20	31	36	31	35	36	37	40	41	31	43	30	12	13
PB2	17	26	24	25	24	20	24	24	21	24	24	26	22	26
PB3	18	20	18	23	27	22	24	23	21	21	23	25	20	22
PB4	23	17	17	24	21	20	18	25	19	19	21	20	18	18
PB5	13	10	10	14	16	14	14	17	14	12	12	15	13	13
PC1	19	25	23	26	25	23	28	21	22	20	26	25	22	26
PC2	19	21	18	22	20	17	20	19	19	15	22	20	14	20
PC3	6	14	13	15	20	17	17	16	15	14	15	18	17	21
PC4	38	36	21	36	47	22	40	31	41	34	36	46	30	31
PC5	16	21	25	21	21	20	19	22	16	20	22	23	17	21

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan tanggal

27 Juli – 09 Agustus 2011

kelompok	Tanggal													
	27 07 2011	28 07 2011	29 07 2011	30 07 2011	31 07 2011	01 08 2011	02 08 2011	03 08 2011	04 08 2011	05 08 2011	06 08 2011	07 08 2011	08 08 2011	09 08 2011
K-1	32	28	10	11	52.5	21	22	22	34.5	29	31	49	35	41

K-2	32	33	29.5	31	39.5	30	33	15	25	25	30	27	29	28
K-3	34	27	29	33	33.5	32	31	20	24	28	36	36	29	33
K-4	33	29	32	30	37.5	37	33	24	30	29	26	36	31	35
K-5	33	24	22	22	26.5	21	26	22	25	22	26	28	25	27
K+1	41	43	31	49	46	41	39	34	33	40	39	33	50	25
K+2	42	47	26	34	26.5	34	27	30	22.5	26	26	32	26	21
K+3	19	21	23	22	23	42	17	16	32	17	21	23	20	20
K+4	16	22	28	34	28	35	27	23	31	22	29	28	31	21
K+5	16	18	20	22	21	26	16	12	18.5	18	19.5	28	20	45
PA1	21	19	20	19	21	4	5	7	14	15	20	20	22	23
PA2	16	17	17	20	22	21	20	18	29	19	19	15	18	18
PA3	29	20	18	30	27	24	21	22	29	26	29	38	19.5	22
PA4	25	28	28	44	24	34	20	24	25	26	25.5	26	22	26
PA5	17	20	19	26	25	21	23	22	29	20	24.5	23.5	21	19
PB1	11	13	17	30	27	29	20	29	22.5	25	26	33	28	27
PB2	24	26	24	24	22.5	30	24	16	25	24	26	26	22.5	24
PB3	20	20	18	26	26	25	22	20	27	26	28.5	17	25	22
PB4	21	18	19	24	27	27	18	15	26	21	24	21	24	16
PB5	1	13	14	19	23.5	18	18	16	21	14	20	19	11	24
PC1	22	21	21	22	15	8	14	21	27	23	32	29	23	24
PC2	28	18	19	26	28.5	22	24	22	24	22	29	26	22	19
PC3	20	20	20	23	18.5	23	18	18	20	18	23	18	19	16
PC4	35	31	32	30	36	39	35	32	36	30	28	30	31	29
PC5	19	23	19	46	17	31	16	19	27	20	23	25.5	19	16

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)

Tabel Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan tanggal 10 - 18 Agustus 2011

kelompok	Tanggal									
	10 08 2011	11 08 2011	12 08 2011	13 08 2011	14 08 2011	15 08 2011	16 08 2011	17 08 2011	18 08 2011	
K-1	34	38	41	35	37	35	32	34	30	
K-2	27	24	30	30	25	28	24	29	15	
K-3	31	31	30	34	29	26	30	23	28	
K-4	33	32	38	35	37	36	33	34	31	
K-5	24	24	25	23	24	19	20	23	19	
K+1	38.5	40	44	53	47	47	33	34	41	
K+2	25.5	28	46	26	30	26	30	20	20	

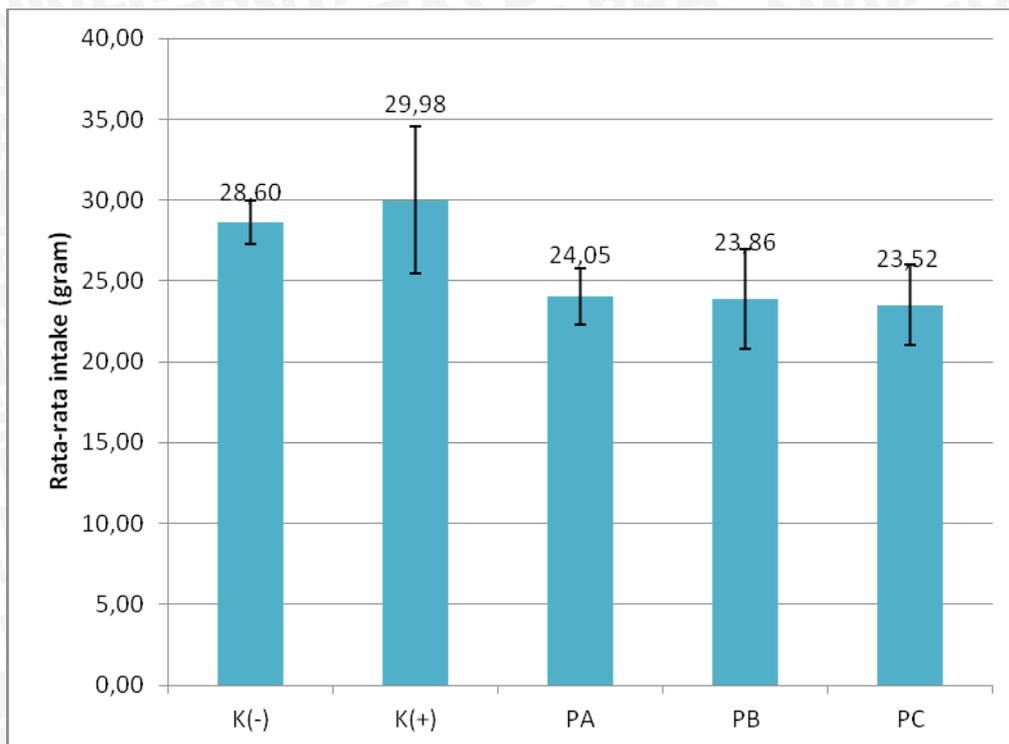
K+3	22.5	24	26	33	21	24	43	24	21
K+4	26.5	35	29	39	26	28	29	28	23
K+5	24.5	21	25	30	20	22	29	19	18
PA1	26	24.5	32	31	23	26	27	22	19
PA2	24	24.5	28	40	19	25	24	20	17
PA3	28	30.5	32	29	26	43	26	51	28
PA4	24	26.5	25	26	17	42	32.5	26	20
PA5	27	22.5	23	26	18	25	24	19	20
PB1	27	45.5	34	40	32	38	46	30	26
PB2	27	18.5	20	33	23	27	32	19	26
PB3	30	24.5	26	58	22	29	26	24	22
PB4	20	21.5	30	35	21	33	12	30	18
PB5	19	20.5	21	27	14	18	22	18	18
PC1	30	24.5	30	31	24	29	30	26	21
PC2	28	23.5	27	30	21	27	33	20	22
PC3	22	21.5	25	25	19	20	26	23	18
PC4	30	38.5	22	37	29	29	28	32	27
PC5	23	23.5	24	30	24	33	19	21	18

Keterangan:

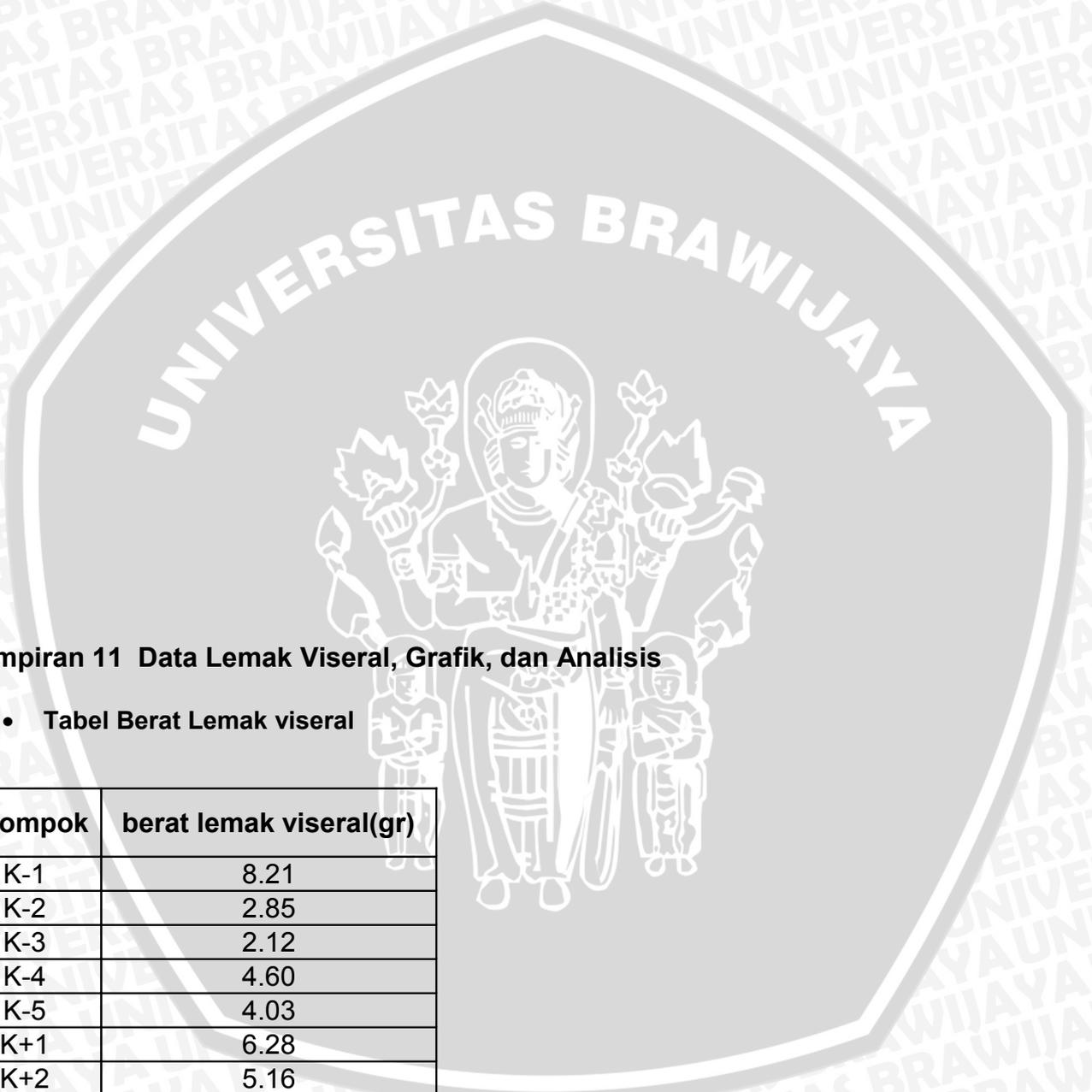
Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)

Grafik Asupan Makanan Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan





Asupan makanan tikus dihitung dengan mengurangi jumlah pakan yang diberikan per hari dengan sisa pakan per hari. Pada Grafik Asupan Makanan Tikus diatas dapat dilihat rerata asupan makanan pada kelompok perlakuan K(-), K(+), PA, PB, PC berturut-turut sebesar $28,60 \pm 1,35$ gram/hari, $29,98 \pm 4,54$ gram/hari, $24,05 \pm 1,74$ gram/hari, $23,86 \pm 3,09$ gram/hari, dan $23,52 \pm 2,47$ gram/hari. Dari grafik tersebut juga terlihat bahwa rata-rata asupan makanan tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan K(+) yaitu $29,98 \pm 4,54$ gram/hari dan terendah terdapat pada PC yaitu $23,52 \pm 2,47$ gram/hari.



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

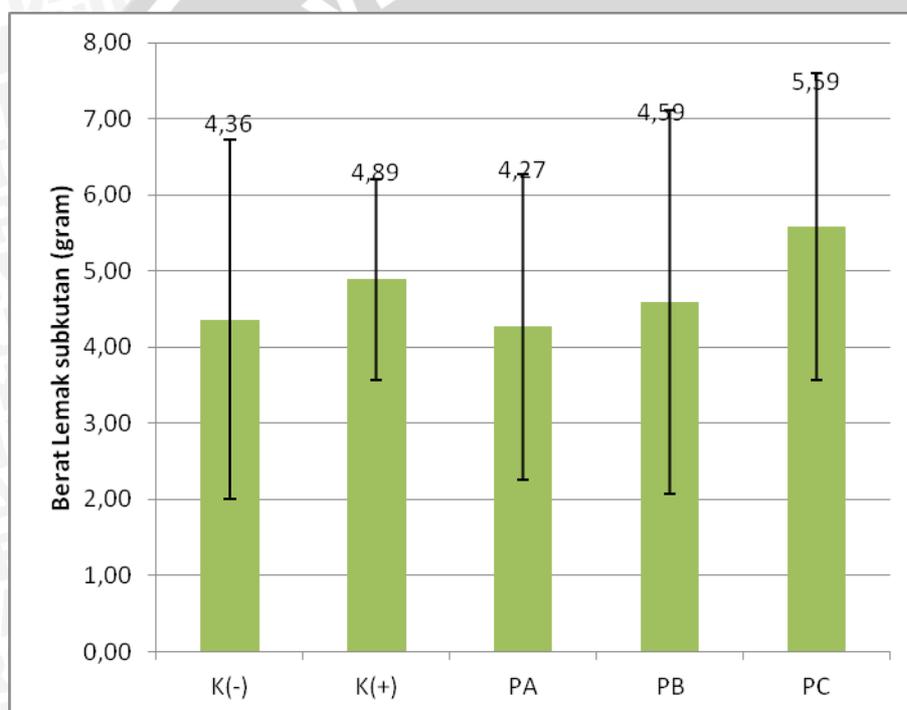
Lampiran 11 Data Lemak Viseral, Grafik, dan Analisis

- Tabel Berat Lemak viseral

kelompok	berat lemak viseral(gr)
K-1	8.21
K-2	2.85
K-3	2.12
K-4	4.60
K-5	4.03
K+1	6.28
K+2	5.16
K+3	4.70
K+4	5.53
K+5	2.77
PA1	3.42
PA2	7.85
PA3	3.27
PA4	3.61

PA5	3.18
PB1	3.50
PB2	7.36
PB3	6.04
PB4	5.20
PB5	0.86
PC1	4.95
PC2	7.00
PC3	2.65
PC4	5.46
PC5	7.87

- **Grafik Berat Lemak visceral Tikus wistar**



Analisis Data Pengaruh Pemberian Polifenol Buah Tin terhadap Berat Lemak visceral Tikus

Uji Normalitas

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
visceral fat 1	.260	5	.200*	.897	5	.391
2	.243	5	.200*	.924	5	.556
3	.428	5	.003	.628	5	.001
4	.196	5	.200*	.964	5	.835
5	.176	5	.200*	.967	5	.854

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

visceral fat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.458	4	20	.766

Uji ANOVA

ANOVA

visceral fat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.635	4	1.409	.324	.858
Within Groups	86.899	20	4.345		
Total	92.535	24			

Dari uji Annova terlihat bahwa pemberian polifenol tidak mempengaruhi lemak viseral secara signifikan.

Lampiran 12

PROFIL LIPID TIKUS

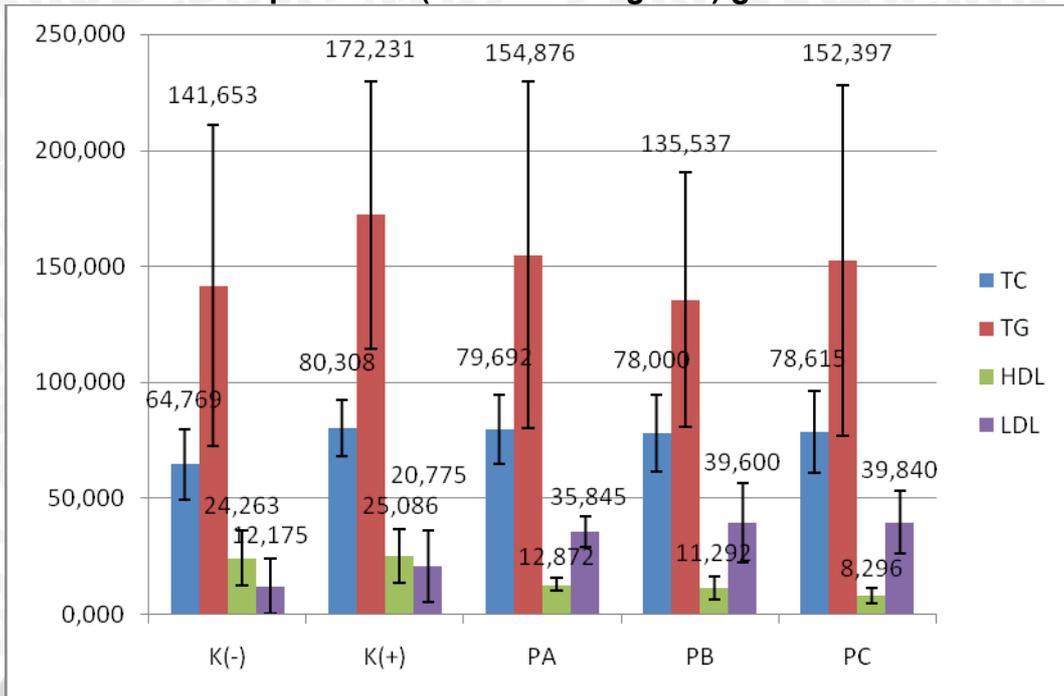
Tabel Profil Lipid Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan

kelompok	Total kolesterol (mg/dL)	Total Triglicerida (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)
K-1	86.154	244.628	31.276	5.953
K-2	73.077	159.504	16.461	24.715
K-3	49.231	57.025	13.333	24.492
K-4	52.308	137.190	18.601	6.269
K-5	63.077	109.917	41.646	-0.553
K+1	101.538	245.455	39.506	12.941
K+2	72.308	150.413	27.490	14.735
K+3	76.923	195.041	31.440	6.474
K+4	72.308	180.992	12.675	23.434
K+5	78.462	89.256	14.321	46.289
PA1	87.692	174.380	16.790	36.026
PA2	81.538	135.537	9.712	44.719
PA3	57.692	86.777	12.016	28.320
PA4	96.923	274.380	11.358	30.689
PA5	74.615	103.306	14.486	39.469
PB1	86.923	171.901	19.424	33.119
PB2	100.769	118.182	13.004	64.129
PB3	73.846	206.612	7.901	24.623
PB4	70.769	64.463	7.572	50.305
PB5	57.692	116.529	8.560	25.827
PC1	90.769	130.579	8.724	55.929
PC2	92.308	265.289	10.370	28.879

PC3	68.462	75.207	3.292	50.128
PC4	52.308	103.306	7.078	24.568
PC5	89.231	187.603	12.016	39.694



Grafik Profil Lipid Tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar Jantan



Keterangan :

TC : total kolesterol (mg/dL)

TG : trigliserida (mg/dL)

HDL : High density Lipoprotein (mg/dL)

LDL : Low density Lipoprotein (mg/dL)



Lampiran 13

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Peneliti : Dea Florensia

NIM : 0910714066

Judul : Pengaruh Polifenol Buah Tin (*Ficus Carica Linn*) Terhadap Kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) pada Tikus Wistar Jantan Yang Diberi Diet Aterogenik

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

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

Malang, Desember 2012

Dea Florensia

NIM. 0910714066



**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. KEPK-FKUB / EC/ /
/2007

Setelah Tim Etik Penelitian Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan :

Judul : Pengaruh Polifenol Buah Tin (*Ficus carica Linn*) terhadap Kadar HDL (*High-Density Lipoprotein*) Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Jantan yang Diberi Diet Aterogenik

Peneliti : Dea Florensia

NIM : 0910714066

Unit / Lembaga : S1 pendidikan dokter

Tempat Penelitian : Laboratorium Farmakologi FKUB dan Laboratorium Biokimia FKUB

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Malang,

An. Ketua

Koordinator Divisi I,

Prof..Dr.dr.Teguh W. Sardjono DTM& H, MSc, SpParK

NIP.19520410 198002 1 001





FORMULIR ETIK PENELITIAN KESEHATAN

1	<p>Peneliti :</p> <p>Dibawah bimbingan komisi pembimbing</p> <p>a. Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc</p> <p>b. Dr. Hidayat Suyuti, Sp.M, PhD</p>
2.	<p>Judul Penelitian : Pengaruh Polifenol Buah Tin (<i>Ficus carica Linn</i>) terhadap Kadar HDL (<i>High-Density Lipoprotein</i>) Pada Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur Wistar Jantan yang Diberi Diet Aterogenik</p>
3.	<p>Subyek Penelitian</p> <p>Serum darah yang diambil dari penelitian terhadap tikus wistar (<i>Rattus Norvegicus</i>) jantan usia 6-8 minggu yang diinduksi diet aterogenik dan diberi polifenol tin dalam berbagai dosis.</p>
4.	<p>Perkiraan Waktu Penelitian</p> <p>74 hari (Pemeliharaan tikus 65 hari, pembedahan tikus 2 hari, pengolahan serum 7 hari)</p>
5.	<p>Ringkasan usulan penelitian yang mencakup objektif/tujuan penelitian, manfaat/relevansi dari hasil penelitian dan alasan/motivasi untuk melakukan penelitian.</p> <p><u>Tujuan penelitian:</u></p> <p>Membuktikan pemberian polifenol buah tin (<i>Ficus carica Linn</i>) dengan berbagai dosis dapat menghambat peningkatan kadar HDL (<i>High-Density Lipoprotein</i>) serum pada tikus putih <i>Rattus norvegicus</i> galur wistar dengan diet aterogenik.</p> <p><u>Luaran yang diharapkan:</u></p> <p>Dapat dikembangkan sebagai pendekatan prevensi aterosklerosis.</p> <p><u>Manfaat:</u></p> <p>Manfaat Akademik</p> <p>3. Menambah khasanah ilmu pengetahuan dalam pemanfaatan tanaman</p>

	<p>herbal khususnya buah tin (<i>Ficus carica Linn</i>) dalam bentuk ekstrak polifenol sebagai alternatif terapi preventif aterosklerosis.</p> <p>4. Memberikan informasi mengenai efektivitas ekstrak polifenol buah tin (<i>Ficus carica Linn</i>) terhadap kadar HDL (<i>High-Density Lipoprotein</i>) pada pathogenesis aterosklerosis.</p> <p>Manfaat Praktis</p> <p>Menambah landasan teori mengenai manfaat buah tin (<i>Ficus Carica Linn</i>), tanaman herbal dari Asia Tengah, yang berpotensi menjadi salah satu strategi prevensi aterosklerosis</p>
<p>6.</p>	<p>Masalah etik (nyatakan pendapat anda tentang masalah etik yang mungkin dihadapi)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Masalah perawatan tikus seperti keadaan kandang, pemberian makanan dan minuman, harus lebih diperhatikan - Perlakuan pada tikus yaitu : sonde polifenol yang dilakukan setiap hari selama kurang lebih 2 bulan, akan menyebabkan rasa tidak nyaman pada tikus pada saat penyondean - Cara <i>euthanasia</i> tikus yang dikorbankan untuk diambil darahnya dari jantung - Cara penguburan tikus
<p>7.</p>	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah percobaan pada hewan sudah dilakukan? Bila belum, sebutkan alasan untuk memulai penelitian ini pada manusia</p> <p>Penelitian tidak dilakukan pada manusia, tetapi pada hewan coba</p>
<p>8.</p>	<p>Prosedur penelitian yang dilakukan :</p> <p><u>Rancangan Penelitian</u></p> <p>Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (<i>true experimental design</i>) di laboratorium secara in vivo menggunakan rancangan <i>Randomized Post Test Only Controlled Group Design</i>.</p> <p><u>Variabel Penelitian</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Variabel Bebas <p>Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian polifenol buah tin (<i>Ficus carica Linn</i>) berupa serbuk dengan dosis 4,5 mg/hari, 9 mg/hari, dan 18 mg/hari. Pemberian per oral dengan sonde dilakukan selama 65 hari</p> <ul style="list-style-type: none"> • Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar HDL pada serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang diberi diet aterogenik. Karena penelitian ini merupakan penelitian kelompok, maka keseluruhan variabel yang diukur adalah sebagai berikut :

- | | |
|---------------------------------------|---------------------------|
| 1. Kadar HDL kolesterol | oleh Dea Florensia |
| 2. Kadar MCP-1 | oleh Noorma Lukitasari |
| 3. Kadar IL-6 | oleh Ardine Cahya Pratiwi |
| 4. Kadar Leptin | oleh M. Cholis Hidayat |
| 5. Ekspresi NFκB dalam aorta | oleh Havri Bogi P |
| 6. kadar MDA | oleh Nurdiana Ramadhan |
| 7. Kadar LDL kolesterol | oleh Harnanik Puji R |
| 8. Ekspresi TNF-α | oleh Nurul Laili N. |
| 9. Jumlah <i>foam cell</i> pada aorta | oleh Dendri Kusuma P. |
| 10. Ketebalan dinding pembuluh darah | oleh Prasetyo Bagus |

Objek dan Sampel

Euthanasia hewan coba sudah dilakukan pada penelitian terdahulu pada tanggal 19 Agustus 2011 yang telah dilakukan oleh pemilik variabel nomor 6,7,8,9, dan 10 di atas. Sehingga, didapatkan sampel penelitian berupa serum darah yang selanjutnya digunakan oleh pemilik variabel nomor 1,2,3,4, dan 5. Serum ini diambil dari tikus dengan keterangan tikus sebagai berikut.

- Tikus galur wistar (*Rattus Norvegicus*) jantan, umur 6-8 minggu, dengan berat rata-rata 150-200 gram, tampak sehat, tingkah laku normal.
- Metode pengambilan tikus dilakukan dengan menggunakan estimasi besar subjek penelitian. Estimasi besar subjek penelitian yang digunakan adalah 5 kelompok perlakuan, besar replikasi yang dipakai dalam penelitian ini dihitung dengan rumus sebagai berikut (Hanifan, 2009) :

$$P(n-1) \geq 16$$

Keterangan :

n = jumlah replikasi (ulangan)

p = banyak kelompok perlakuan

Perhitungan :

$$P(n-1) \geq 16$$

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

$$4n - 4 \geq 16$$

$$4n \geq 20$$

$$N \geq 5$$

Dari rumus tersebut, jika banyak perlakuan adalah 5 maka jumlah tikus yang dibutuhkan untuk tiap-tiap kelompok perlakuan adalah 5 ekor tikus sehingga secara keseluruhan dibutuhkan 25 ekor hewan coba.

- Tikus dibagi dalam lima kelompok perlakuan, yaitu:
 - Kelompok kontrol negatif dengan diet pakan standart selama 65 hari
 - Kelompok control positif dengan diet aterogenik selama 65 hari
 - Kelompok I dengan diet aterogenik + polifenol 4,5 mg/200gram/hari selama 65 hari
 - Kelompok II dengan diet aterogenik + polifenol 9 mg/200gram/hari selama 65 hari
 - Kelompok III dengan diet aterogenik + polifenol 18 mg/200gram/hari selama 65 hari

Prosedur Penelitian

Serum darah yang digunakan diambil dari penelitian dengan prosedur sebagai berikut :

Ekstraksi polifenol buah tin (*Ficus carica L*):

Polifenol yang digunakan merupakan hasil ekstraksi dari buah tin yang dilakukan di Laboratorium Kimia organik FMIPA Institut Teknologi Bandung.

Pembuatan Diet Aterogenik:

Pembuatan diet aterogenik dilakukan setiap hari dengan ketentuan 30

gr/tikus dengan komposisi sebagai berikut: confeed PARS dan tepung terigu 19,8 gr, minyak babi 3,75 gr, minyak kambing 4 gr, minyak kelapa 0,4 gr, asam kholat 0,05 gr, kuning telur 2 gr. Bahan disiapkan dan ditimbang sesuai dengan komposisi dan jumlah, kemudian dicampur, ditambahkan air secukupnya dan diaduk rata. Pakan dibentuk bulatan-bulatan kemudian ditimbang 30 gram untuk tiap ekor tikus.

Pengambilan Sampel Darah Tikus:

Tikus dibius dengan kloroform kemudian dibedah dan diambil darahnya dari jantung dengan menggunakan spuit 5ml. Kemudian darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi tanpa EDTA. Lalu, tabung di sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah dilakukan sentrifugasi, akan terbentuk sedimen di bagian bawah dan serum di bagian atas, lalu serum diambil dan dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf dan diberi label. Tabung-tabung Eppendorf kemudian disimpan di *refrigerator* dalam suhu 4°C dan dapat bertahan selama 6 bulan.

Pengukuran Kadar HDL Serum Tikus:

Pemeriksaan kadar HDL (High Density Lipoprotein) dilakukan dengan metode spektrofotometer. Pengambilan darah dilakukan dari aorta tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar pada akhir hari ke-65.

Prosedur :

Darah diambil dengan menggunakan spuit kemudian dimasukkan tabung reaksi



Darah disentrifugasi 200 rpm dan diambil serum darah sebanyak 10mikro



Serum darah diberi reagen uji dan dimasukkan inkubator 20°-25°C selama 10 menit



Ukur absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 500nm dengan laturan blangko sebagai titik nolnya



Pembacaan hasil

	<p>cara-cara untuk mencegah atau mengatasi kejadian (termasuk rasa nyeri dan keluhan lain)</p> <p>Tidak ada bahaya potensial yang mungkin terjadi</p>
10.	<p>Pengalaman terdahulu (sendiri atau orang lain) dan tindakan yang hendak diterapkan.</p> <p>Pengalaman terdahulu : peneliti belum pernah melakukan ataupun melihat proses pengukuran sampel</p> <p>Tindakan yang hendak diterapkan : peneliti akan dibantu oleh tenaga ahli untuk melakukan pengukuran sampel</p>
11.	<p>Bila penelitian ini menggunakan orang sakit dan dapat memberi manfaat untuk subyek yang bersangkutan, uraikan manfaat itu ?</p> <p>Penelitian tidak menggunakan orang sakit</p>
12.	<p>Bagaimana memilih pasien/sukarelawan sehat ?</p> <p>Penelitian tidak menggunakan pasien/sukarelawan sehat</p>
13.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, jelaskan hubungan antara peneliti dengan subyek yang diteliti</p> <p>Penelitian tidak menggunakan subyek manusia</p>
14.	<p>Bila penelitian ini menggunakan orang sehat, jelaskan cara pemeriksaan kesehatannya</p> <p>Penelitian tidak menggunakan orang sehat</p>
15.	<p>Jelaskan cara pencatatan selama penelitian, efek samping dan komplikasi bila ada</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pencatatan hasil dilakukan setelah pengukuran sampel - Tidak ada efek samping dan komplikasi yang bisa terjadi
16.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, jelaskan bagaimana cara memberitahu dan mengajak subyek (lampirkan contoh surat persetujuan subyek)</p> <p>Bila pemberitahuan dan kesediaan subyek bersifat lisan atau bila karena sesuatu hal subyek tidak dapat atau tidak perlu dimintakan persetujuan, berilah alasan yang kuat untuk itu</p> <p>Penelitian tidak menggunakan subyek manusia</p>
17.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah subyek mendapat ganti rugi bila ada efek samping? Berapa banyak?</p> <p>Penelitian tidak menggunakan subyek manusia</p>
18.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah subyek diasuransikan?</p> <p>Penelitian tidak menggunakan subyek manusia</p>

Pembimbing :

1. Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc

2. Dr. Hidayat Suyuti, Sp.M, PhD

Peneliti

Dea Florensia

Telah diperiksa dan disetujui pada tanggal



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

