

**EFEK EKSTRAK METANOL DAUN BAYAM (*Amaranthus sp*)
TERHADAP KADAR KOLESTEROL TIKUS (*Rattus norvegicus* galur
Wistar) YANG DIBERI DIET ATEROGENIK**

TUGAS AKHIR

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



Oleh :
Tito Rustanto Nugroho
NIM. 0910710124

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

2013

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK EKSTRAK METANOL DAUN BAYAM (*Amaranthus sp*)
TERHADAP KADAR KOLESTEROL TIKUS (*Rattus norvegicus* galur
Wistar) YANG DIBERI DIET ATEROGENIK

Oleh:

Tito Rustanto Nugroho

NIM: 0910710124

Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 5 Maret 2013

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Hani Susianti, Sp.PK

NIP. 19690117 199803 2 005

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III /Pembimbing II

Dr. dra. Sri Winarsih, Apt. M.Si

NIP. 19540823 198103 2 001

dr. Sri Hidayati S, MS

NIP. 19450729 198002 2 001

Mengetahui,

Kepala Jurusan Pendidikan Dokter FKUB,

Prof.Dr. dr.Teguh Wahyu Sardjono,DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K.

NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT karena hanya dengan limpahan rahmat serta karunia-Nya penulis mampu menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul “Efek Ekstrak Metanol Daun Bayam (*Amaranthus sp*) terhadap Kadar Kolesterol Tikus (*Rattus norvegicus* galur Wistar) yang Diberi Diet Aterogenik”.

Ketertarikan penulis untuk membahas topik ini didasarkan pada fakta bahwa penyakit kardiovaskuler yang terutama disebabkan oleh aterosklerosis merupakan penyebab utama dari kematian di negara-negara berkembang dan diperkirakan beberapa tahun yang akan datang penyakit ini akan menduduki peringkat pertama sebagai penyebab kematian di seluruh dunia. Aterosklerosis merupakan proses yang kompleks. Salah satu pemicu terjadinya proses ini ialah tingginya kadar kolesterol darah terutama dalam bentuk LDL. Bayam merupakan jenis sayuran yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Bayam memiliki efek menurunkan kadar kolesterol yang harapannya dapat menghambat terjadinya aterosklerosis melalui efek tersebut. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan mampu memberikan sumbangsih dalam menurunkan prevalensi dari penyakit kardiovaskuler.

Dengan terselesaikannya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

- Dr. dr. Karyono Mintaroem, SpPA, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang,
- Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc., SpPark selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang,

- Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, M.Si selaku dosen pembimbing pertama, yang telah memberikan pengarahan untuk terlaksananya penelitian ini serta senantiasa memberikan bimbingan dan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini,
- dr. Sri Hidayati S. MS, sebagai pembimbing kedua yang dengan sabar telah membimbing dan senantiasa memberikan semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini,
- Kedua orang tua yang senantiasa memberikan dukungan, bimbingan, semangat dan doa dalam menyelesaikan proposal tugas akhir ini,
- Tim proyek penelitian *Phytospay* yang selalu bekerja sama dan saling mendukung dalam menjalankan penelitian,
- Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan tugas akhir ini jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis membuka diri untuk kritik dan saran yang bersifat membangun. Semoga tugas akhir ini bisa bermanfaat bagi semua.

Malang, Februari 2013

Penulis

ABSTRAK

Nugroho, Tito R. 2013. **Efek Ekstrak Metanol Daun Bayam (*Amaranthus sp*) terhadap Kadar Kolesterol Tikus (*Rattus norvegicus* galur Wistar) yang diberi Diet Aterogenik**. Tugas Akhir. Program Studi Pendidikan Dokter. Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, M.Si, (2). dr. Sri Hidayati S, M.S.

Aterosklerosis merupakan penyebab tersering dari morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia. Banyak faktor yang berkontribusi terhadap perkembangan dari aterosklerosis. Salah satu faktor penting yang menyebabkan terjadinya aterosklerosis adalah tingginya kadar kolesterol dalam darah terutama dalam bentuk LDL. Studi ini dilakukan untuk mengetahui efek hipokolesterolemik dari ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp*) pada tikus (*Rattus norvegicus* galur Wistar) dengan diet aterogenik. Studi ini menggunakan *post test only control group design*. Tiga puluh tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dipilih secara acak menjadi lima kelompok dan tiap kelompok diberi diet selama 52 hari dengan diet normal, diet aterogenik, diet aterogenik dan ekstrak *Amaranthus sp* (20 mg/100gBB), diet aterogenik dan ekstrak *Amaranthus sp* (40 mg/100gBB), dan diet aterogenik dan ekstrak *Amaranthus sp* (60 mg/100gBB). Setelah 52 hari, seluruh sampel dibunuh dan kadar kolesterol total diukur dari serumnya dengan metode enzimatik, CHOD-PAP, menggunakan spektrofotometer. Dari hasil uji statistik *One Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,018$) antar kelompok yang diberi diet normal dan diet aterogenik sedangkan pada ketiga kelompok diet aterogenik dan ekstrak daun bayam tidak didapatkan perbedaan yang signifikan. Meskipun demikian, pemberian ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp*) pada tikus yang diberi diet aterogenik cenderung menurunkan kadar kolesterol total tikus tersebut.

Kata kunci : Aterosklerosis, hipokolesterolemik, *Amaranthus sp*

ABSTRACT

Nugroho, Tito R .2013. The Effect of Methanolic Extract of Spinach Leaves (*Amaranthus sp*) on Cholesterol Concentration of Serum of Rats (*Rattus norvegicus* Wistar strain) that Induced by Atherogenic Diets. Final Assignment, Medical program, medical faculty of Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, M.Si, (2) dr. Sri Hidayati S, M.S.

Atherosclerosis is the most frequent cause of morbidity and mortality in the entire world. Many factors have contributed to development of atherosclerosis. An important factor that cause atherosclerosis is a high blood plasma concentration of cholesterol in the form of low-density lipoproteins. This study was conducted to find out the hypocholesterolemic effect of methanolic extract of *Amaranthus sp* Leaves on rat. This experimental study use post test only control group design. Thirty male rats (*Rattus norvegicus* wistar strain) were randomly group into five and each were fed for 52 days with standart diet, atherogenic diet, atherogenic diet and *Amaranthus sp* extract (20 mg/100g daily), atherogenic diet and *Amaranthus sp* extract (40 mg/100g daily), and atherogenic diet and *Amaranthus sp* extract (60 mg/100g daily). After 52 days, all of the sample were killed and the total cholesterol concentration were measured from its serum by enzymatous method, CHOD-PAP, using spectrofotometer. One Way Anova test and Tukey HSD test statistically indicated that there was a significant difference ($p=0,018$) between atherogenic diet group and standart diet group but there were no significant differences among the three atherogenic and *Amaranthus sp* extract groups. Although there were an insignificant difference among the three extract dose, methanolic extract of *Amaranthus sp* leaves that given to the rats induced by atherogenic diet tend to reduce its total cholesterol concentration.

Keywords : Atherosclerosis, hypocholesterolemic, *Amaranthus sp*

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Halaman Persetujuan	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak (Indonesia).....	v
Abstract (Inggris)	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran.....	xiii
Daftar Singkatan.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kolesterol	6
2.1.1 Penyerapan Kolesterol	7

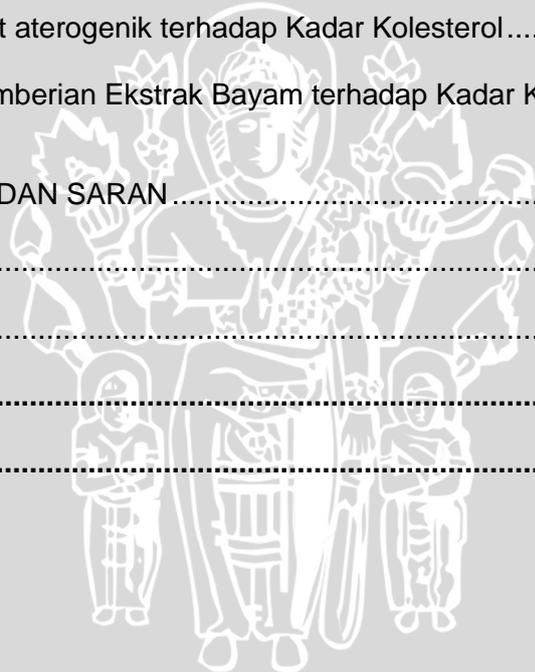


2.1.2 Biosintesis Kolesterol	8
2.1.3 Transport Kolesterol oleh Lipoprotein	10
2.1.4 Metabolisme Lipoprotein	13
2.1.4.1 Jalur Metabolisme Eksogen	13
2.1.4.2 Jalur Metabolisme Endogen	14
2.1.5 Sekresi Kolesterol	15
2.2 Aterosklerosis	16
2.2.1 Pengertian Aterosklerosis	17
2.2.2 Epidemiologi Aterosklerosis	17
2.2.3 Faktor Resiko	18
2.2.4 Patogenesis	19
2.2.4.1 Inisiasi dari Aterosklerosis	19
2.2.4.2 Rekrutmen dari Leukosit	20
2.2.4.3 Formasi Foam Cell	22
2.2.4.4 Evolusi Atheroma	23
2.3 Bayam	24
2.3.1 Klasifikasi	24
2.3.2 Morfologi dan Ekologi	25
2.3.3 Kandungan Kimia Daun Bayam	27
2.4 Ekstraksi	29
2.4.1 Metode Ekstraksi	29
2.4.2 Pelarut	31
2.5 Diet Aterogenik	31
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	33
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	33

3.2 Hipotesis	34
BAB IV METODE PENELITIAN	35
4.1 Rancangan Penelitian.....	35
4.2 Sampel Penelitian	35
4.2.1 Estimasi Jumlah Sampel	35
4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian	36
4.4 Variabel Penelitian	37
4.4.1 Variabel Bebas.....	37
4.4.2 Variabel Tidak Bebas	37
4.4.3 Variabel Kendali	37
4.5 Definisi Operasional.....	37
4.6 Alat dan Bahan	40
4.6.1 Alat	40
4.6.2 Bahan.....	41
4.6.2.1 Bahan Makanan Tikus.....	41
4.6.2.2 Bahan Ekstrak Methanol Bayam	41
4.7 Prosedur Penelitian.....	42
4.7.1 Persiapan Hewan Coba/Aklimatisasi	42
4.7.2 Pembuatan Ekstrak Bayam	42
4.7.2.1 Persiapan Sampel Daun Bayam	42
4.7.2.2 Pembuatan Sediaan Ekstrak Daun Bayam	42
4.7.3 Pengenceran Ekstrak Daun Bayam.....	43
4.7.4 Perlakuan.....	44
4.8 Pemeriksaan Kadar Serum Kolesterol Total.....	44
4.9 Analisis Data.....	46



BAB 5 HASIL PENELITIAN	47
5.1 Karakteristik Sampel	47
5.2 Asupan Pakan	48
5.3 Kadar Kolesterol Tikus	49
BAB 6 PEMBAHASAN	55
6.1 Sampel (Hewan Coba)	55
6.2 Asupan Pakan	55
6.3 Pengaruh Diet terhadap Kadar Kolesterol	57
6.3.1 Pengaruh Diet aterogenik terhadap Kadar Kolesterol	57
6.3.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Bayam terhadap Kadar Kolesterol....	58
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	65
7.1 Kesimpulan	65
7.2 Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	70



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Lipoprotein.....	12
Tabel 4.1 Daftar Alat.....	40
Tabel 4.2 Komposisi Bahan Diet Aterogenik	41
Tabel 5.1 Kelompok Perlakuan Tikus.....	47
Tabel 5.2 Rerata Asupan Pakan Selama Perlakuan	48
Tabel 5.3 Rerata Kadar Kolesterol Setelah Perlakuan Selama 8 Minggu.....	50
Tabel 5.4 Hasil <i>Homogenous Subsets</i>	53
Tabel Uji Normalitas Asupan Diet Sampel.....	71
Tabel Uji Homogenitas Asupan Diet Sampel.....	71
Tabel Uji One-Way ANOVA Asupan Diet Sampel	71
Tabel Uji Homogenitas Kadar Kolesterol Total Tikus.....	72
Tabel Uji Normalitas Kadar Kolesterol Total Tikus.....	72
Tabel Uji One Way Anova Kadar Kolesterol Total Tikus.....	72
Tabel Uji Korelasi Regresi	74
Tabel Asupan Makanan Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) tanggal 14 April 2012-28 April 2012.....	75
Tabel Asupan Makanan Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) tanggal 29 April 2012-17 Mei 2012	76
Tabel Asupan Makanan Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) tanggal 18 Mei 2012-1 Juni 2012.....	77



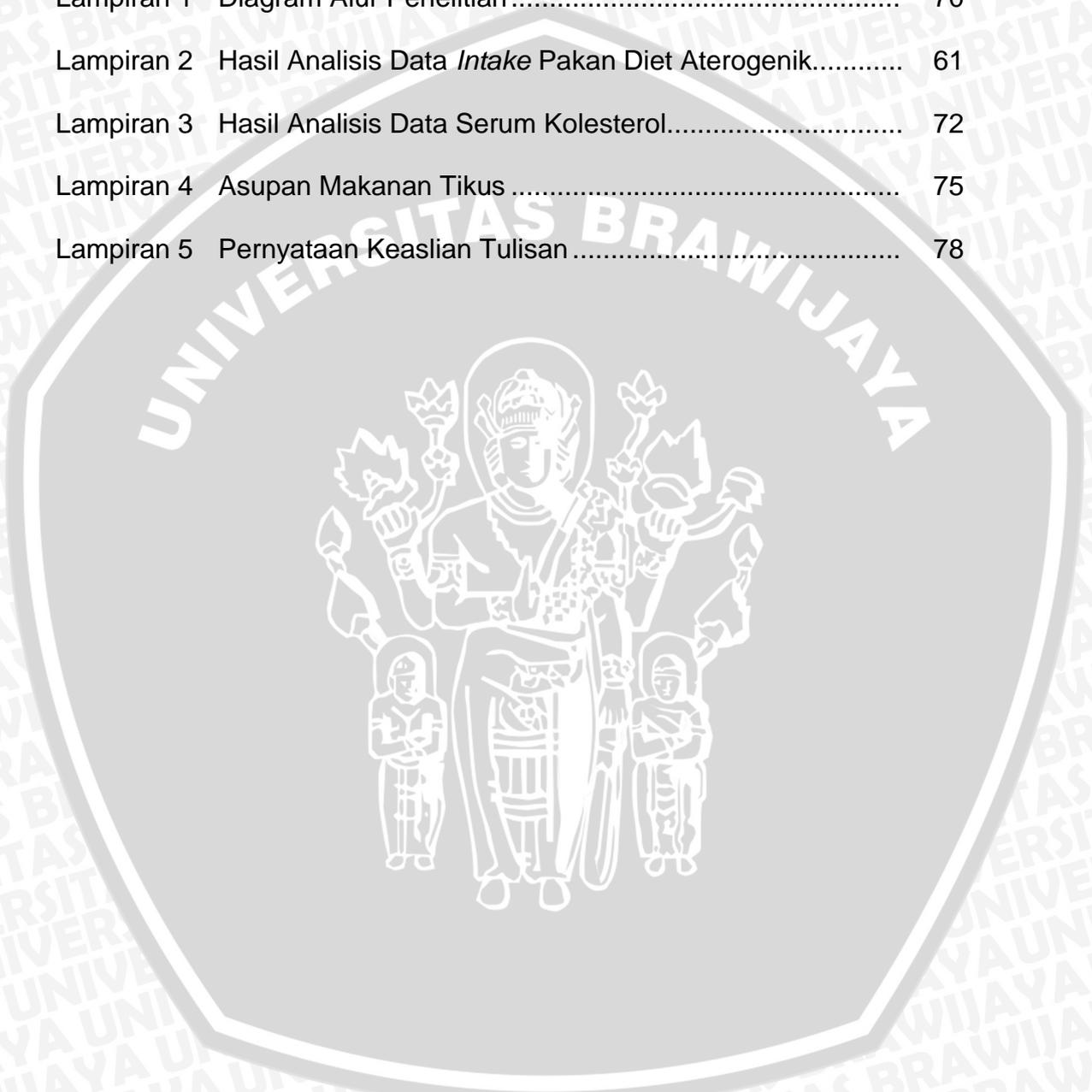
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Kimia Kolesterol.....	6
Gambar 2.2 Struktur Lipoprotein.....	11
Gambar 2.3 Metabolisme Lipoprotein	13
Gambar 2.4 Rekrutmen Leukosit	21
Gambar 2.5 Struktur Flavonoid	27
Gambar 2.6 Jenis Flavonoid	27
Gambar 4.1 Bunga, Daun dan Batang Bayam	38
Gambar 5.1 Rerata Asupan Pakan Selama Perlakuan	49
Gambar 5.2 Rerata Kadar Kolesterol Setelah Perlakuan Selama 8 Minggu..	51



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Diagram Alur Penelitian.....	70
Lampiran 2	Hasil Analisis Data <i>Intake</i> Pakan Diet Aterogenik.....	61
Lampiran 3	Hasil Analisis Data Serum Kolesterol.....	72
Lampiran 4	Asupan Makanan Tikus.....	75
Lampiran 5	Pernyataan Keaslian Tulisan.....	78



DAFTAR SINGKATAN

ACAT	: Acyl-CoA Cholesterol Acyltransferase
AHA	: America Heart Association
ATP	: Adenosine Triphosphat
ANOVA	: Analysis Of Variance
CHOD-PAP	: Cholesterol Oxidase Phenol Amino Phenzone
HDL	: High Density Lipoprotein
HMG KoA	: Hydroxy Methylglutaryl Koenzim A
IL-1	: Interleukin-1
LDL	: Low Density Lipoprotein
LCAT	: Lecithin Cholesterol Acyl Transfer Protein
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
PDGF	: Platelet-Derived Growth Factor
SPSS	: Software Statistical Product And Service Solution
SREBP	: Sterol Regulatory Element-Binding Protein
TGF- β	: Transforming Growth Factor- β
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor- α
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein
IDL	: Intermediet Density Lipoprotein
WHO	: World Health Organization

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jumlah kematian akibat penyakit kardiovaskuler di seluruh dunia dari waktu ke waktu semakin meningkat. Sebelum abad ke-19, kurang dari 10% dari semua kematian di seluruh dunia disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler. Namun pada awal abad ke-20 jumlahnya meningkat mencapai 29%. Hingga saat ini, penyakit kardiovaskuler menyumbang sekitar 30% dari semua kematian di seluruh dunia, termasuk hampir 40% di negara berpendapatan tinggi dan sekitar 28% di negara berpendapatan rendah dan menengah. Diperkirakan pada tahun 2030 jumlah kematian di seluruh dunia akibat penyakit ini akan terus meningkat mencapai 32,5% (Fauci *et al.*, 2008).

Pada awal abad ke-20, meningkatnya jumlah kematian akibat penyakit kardiovaskuler di seluruh dunia merupakan akibat dari adanya industrialisasi, urbanisasi, peningkatan status sosial ekonomi, dan perubahan gaya hidup. Selanjutnya, seiring dengan terjadinya perubahan-perubahan tersebut tentunya akan disertai dengan perubahan terhadap faktor risiko penyakit kardiovaskuler, termasuk meningkatnya asupan lemak dan kalori, penggunaan tembakau, obesitas, menurunnya aktivitas fisik yang mengarah ke hipertensi, dan diabetes mellitus (Gersh, 2010). Perubahan terhadap faktor resiko tersebut nantinya juga akan berpengaruh terhadap proses pembentukan aterosklerosis yang merupakan penyebab utama dari penyakit kardiovaskuler (Guyton *and* Hall, 2006).

Aterosklerosis merupakan suatu proses yang kompleks. Mekanisme tentang bagaimana proses ini bisa terjadi masih belum diketahui secara pasti. Diperkirakan bahwa aterosklerosis disebabkan oleh respon dari rusaknya endotel terhadap tingginya kadar kolesterol darah, hipertensi, dan penggunaan tembakau. Apo-lipoprotein B (apo B) yang merupakan komponen protein utama dari kolesterol LDL juga ditemukan sebagai faktor yang berperan besar dalam proses pembentukan aterosklerosis (Kabiri *et al.*, 2010).

Tingginya kadar kolesterol dalam darah terutama dalam bentuk LDL merupakan faktor yang penting dalam pembentukan aterosklerosis. Dalam suatu percobaan telah dibuktikan bahwa pemberian pakan harian dengan kadar kolesterol tinggi terhadap kelinci dapat berakibat terbentuknya plak aterosklerotik dalam sistem arteri kelinci tersebut. Oleh karena itu salah satu upaya pencegahan aterosklerosis ialah dengan menurunkan kadar kolesterol darah yang saat ini dilakukan dengan pemakaian obat-obatan yang dapat menghambat pembentukan kolesterol seperti obat-obatan dari golongan statin (Guyton and Hall, 2006).

Penanganan melalui efek farmakologik untuk berbagai macam penyembuhan rata-rata memiliki efek samping negatif (Anwar, 2004). Seperti penggunaan statin yang memiliki efek samping *myopathy* (Dirk and Jones, 2006), *polyneuropathy* (Gaist *et al.*, 2002), penyakit autoimun bahkan kanker (Noel, 2004). Solusi yang tepat untuk menangani peningkatan kolesterol adalah dengan upaya nonfarmakologik yang meliputi latihan jasmani, pengelolaan berat badan serta modifikasi diet dengan menggunakan bahan-bahan alami. Bahan yang berasal dari alam terbukti secara ilmiah memberikan manfaat dalam pencegahan

atau pengobatan penyakit yang pada umumnya tidak menyebabkan efek samping negatif dan aman digunakan untuk manusia (Dalimarta, 2000).

Selama ini, bayam (*Amaranthus sp.*) merupakan tanaman budidaya yang dikonsumsi daunnya sebagai sayuran hijau. Namun melalui studi klinis yang telah dilakukan dalam beberapa tahun terakhir, ditemukan bahwa selain sebagai sumber pangan, bayam (*Amaranthus sp.*) memiliki berbagai manfaat untuk kesehatan. Beberapa spesies bayam seperti *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus cruentus*, *Amaranthus hypochondriacus* dan *Amaranthus hybridus* diketahui memiliki efek sebagai antianemik, antiinflamasi, antioksidan dan antihiperkolesterolemik (Kabiri *et al.*, 2010, Caselato-Sousa and Amaya-Farfán, 2012). *Amaranthus hybridus* adalah salah satu jenis bayam yang banyak dibudidayakan di Indonesia (Fatimah, 2009).

Bayam (*Amaranthus sp.*) memiliki berbagai macam kandungan zat aktif, diantaranya saponin, skualen dan flavonoid (Akubugwo *et al.*, 2007). Berbagai penelitian telah membuktikan efek dari kandungan zat-zat dalam bayam tersebut, seperti saponin misalnya, dapat menurunkan penyerapan kolesterol, dan meningkatkan ekskresi fekal dari asam empedu yang merupakan produk sekresi kolesterol (Oakenfull and Sidhu, 1990, Francis *et al.*, 2002). Selain itu juga ada skualen yang dapat menghambat aktivitas enzim HMG-KoA reduktase yang merupakan enzim yang berperan penting dalam sintesis kolesterol (Escudero *et al.*, 2006), serta flavonoid yg dapat menurunkan sekresi apo B dalam hepatosit dan juga menurunkan aktivitas dari enzim HMG-KoA reduktase (Kabiri *et al.*, 2010). Melalui efek-efek tersebut diharapkan bayam (*Amaranthus sp.*) nantinya dapat menjadi kandidat sebagai zat inhibitor pembentukan plak aterosklerosis melalui penurunan kadar kolesterol.

Penelitian ini dilakukan untuk menguji efektivitas ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp*) dalam menurunkan kadar kolesterol serum pada tikus (*Rattus norvegicus* galur Wistar) yang diinduksi diet aterogenik. Penggunaan metanol sebagai pelarut ekstraksi dikarenakan metanol merupakan jenis pelarut yang dapat melarutkan kandungan aktif dalam *Amaranthus sp* (skualen, saponin dan flavonoid). Selain itu proses ekstraksi menggunakan metanol tergolong sederhana, murah dan tidak memerlukan peralatan khusus sehingga dapat diterapkan di semua laboratorium (Akubugwo *et al.*, 2007; Yücekutlu *and* Bildacı, 2008; Patar *and* Yahaya, 2012; Mujahid, *et al.*, 2011).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp*) berpengaruh terhadap kadar kolesterol total serum tikus (*Rattus norvegicus* galur Wistar) yang telah diberi diet aterogenik?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp*) terhadap kadar kolesterol total serum tikus (*Rattus norvegicus* galur Wistar) yang telah diberi diet aterogenik.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengukur kadar kolesterol total serum pada tikus (*Rattus norvegicus* galur Wistar) yang diberi diet normal.

1.3.2.2 Mengukur kadar kolesterol total serum pada tikus (*Rattus norvegicus* galur Wistar) yang diberi diet aterogenik.

1.3.2.3 Menganalisis hubungan antara berbagai dosis ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp*) dengan kadar kolesterol total serum tikus (*Rattus norvegicus* galur Wistar) yang diberi diet aterogenik.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai rujukan untuk penelitian selanjutnya terkait pemanfaatan ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp*) sebagai upaya preventif terhadap hiperkolesterolemia.

1.4.2 Manfaat Praktis

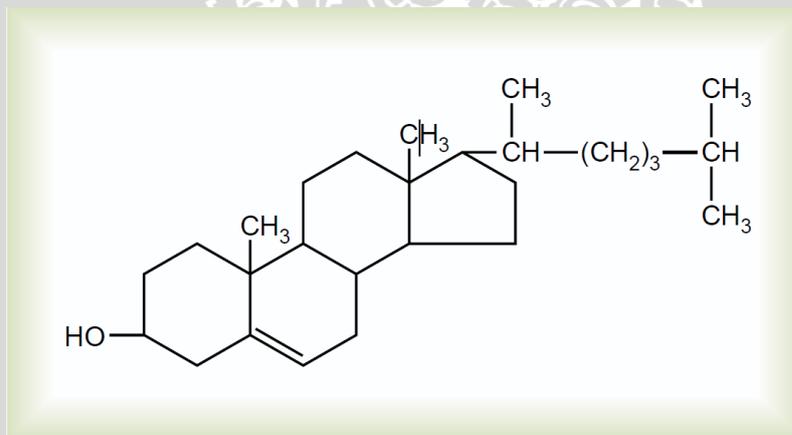
Memberikan informasi yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah kepada masyarakat mengenai pemanfaatan daun bayam (*Amaranthus sp*) sebagai sumber pangan yang dapat mencegah penyakit kardiovaskuler melalui penurunan kadar kolesterol tubuh.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kolesterol

Kolesterol merupakan kelompok steroid, suatu zat yang termasuk dalam golongan lipid. Kolesterol mempunyai rumus molekul $C_{27}H_{45}OH$ dan dapat dinyatakan sebagai 3 hidroksi - 5,6 kolesten karena mempunyai satu gugus hidroksil pada atom C_3 dan ikatan rangkap pada C_5 dan C_6 serta pecabangan pada C_{10} , C_{13} , dan C_{17} . Kolesterol mempunyai rantai hidrokarbon dengan delapan atom karbon yang diberi nomor 20 sampai 27 sebagai lanjutan nomor pada inti steroid (Sihombing, 2003).



Gambar 2.1 Struktur kimia kolesterol (Guyton and Hall, 2006)

Kolesterol tubuh berasal dari dua sumber, yaitu diproduksi oleh tubuh yang disebut kolesterol endogen dan yang diperoleh dari makanan yang disebut kolesterol eksogen (Sihombing, 2003). Kolesterol endogen di sintesis di banyak jaringan dari asetil-KoA dan merupakan prekursor semua steroid lain di tubuh, termasuk kortikosteroid, hormon seks, asam empedu dan vitamin D. Hampir semua jaringan yang mengandung sel berinti mampu membentuk kolesterol,

yang berlangsung di retikulum endoplasma sitosol. Hati dan usus masing-masing menghasilkan 10% dari sintesis total pada manusia. Kolesterol eksogen, sebagai produk tipikal metabolisme hewan, terdapat dalam makanan yang berasal dari hewan misalnya kuning telur, daging, hati, dan otak (Murray *et al.*, 2006).

Kolesterol merupakan salah satu kandungan lemak dalam diet. Selain kolesterol, lemak dalam diet juga mengandung lemak netral atau trigliserida, sejumlah kecil fosfolipid, dan ester kolesterol. Trigliserida, fosfolipid dan ester kolesterol terdiri atas asam lemak oleh karena itu dapat dianggap sebagai lemak. Sebaliknya, walaupun tidak mengandung asam lemak, kolesterol tetap tergolong sebagai suatu lemak karena memiliki beberapa sifat fisik dan kimia dari lemak ditambah lagi, kolesterol merupakan turunan lemak dan dimetabolisme seperti lemak (Guyton *and* Hall, 2006).

2.1.1 Penyerapan Kolesterol

Tahap awal dalam pencernaan lemak (trigliserida, fosfolipid dan ester kolesterol) adalah secara fisik memecah gumpalan lemak menjadi ukuran yang sangat kecil, sehingga enzim pencernaan yang larut air dapat bekerja pada permukaan gumpalan lemak. Proses ini disebut emulsifikasi lemak. Emulsifikasi lemak kebanyakan terjadi di dalam duodenum di bawah pengaruh empedu, sekresi dari hati yang mengandung sejumlah besar garam empedu juga fosfolipid lesitin yang berperan besar dalam emulsifikasi lemak (Guyton *and* Hall, 2006).

Selain berperan dalam emulsifikasi lemak, asam empedu juga berperan dalam mempercepat pencernaan lemak yaitu melalui pembentukan misel. Garam empedu, saat berada dalam konsentrasi yang cukup tinggi di dalam air, memiliki kecenderungan untuk membentuk misel. Misel merupakan gumpalan berbentuk

silindris sferis kecil berdiameter 3 sampai 6 nanometer dan terdiri dari 20 sampai 40 molekul garam empedu (Guyton *and* Hall, 2006).

Sebagian besar kolesterol dalam makanan berada dalam bentuk ester kolesterol, yang merupakan kombinasi dari kolesterol bebas dengan satu molekul asam lemak. Kolesterol ester nantinya akan dihidrolisis oleh enzim *hidrolase ester kolesterol* untuk memecah ikatan kolesterol dan asam lemak. Setelah dihidrolisis, baik kolesterol maupun produk hidrolisis lemak lain akan berikatan dengan misel garam empedu yang bertindak sebagai medium transport dalam penyerapan kolesterol. Kolesterol yang telah berikatan dengan misel garam empedu akan di transport menuju *brush border* sel-sel epitel usus. Di sana kolesterol akan diabsorpsi ke dalam darah, sedangkan garam empedu dilepaskan kembali ke dalam kimus untuk dipakai berulang-ulang dalam proses pengangkutan hasil hidrolisis lemak (Guyton *and* Hall, 2006).

Misel garam empedu melakukan fungsi pengangkutan yang sangat penting dalam absorpsi kolesterol dan produk hidrolisis lemak lainnya. Adanya misel empedu dalam jumlah yang sangat banyak menyebabkan lebih kurang 97 persen lemak diabsorpsi tetapi bila tanpa adanya misel empedu, normalnya hanya 40 sampai 50 persen lemak dapat diabsorpsi. Hal yang sama berlaku untuk kolesterol, tanpa adanya fungsi dari misel-misel ini, tentu saja pada dasarnya tidak satu pun kolesterol yang dapat diabsorpsi (Guyton *and* Hall, 2006).

2.1.2 Biosintesis Kolesterol

Sekitar separuh kolesterol tubuh berasal dari proses sintesis (sekitar 700 mg/hari) dan sisanya diperoleh dari makanan (Murray *et al.*, 2006). Manusia rata-rata membutuhkan 1,1 gram kolesterol/hari untuk memelihara dinding sel dan fungsi

fisiologis lain. Dari jumlah tersebut 25-40% (200-300 mg) secara normal berasal dari makanan dan selebihnya disintesis dalam tubuh. Jika jumlah kolesterol dari makanan kurang, maka sintesis kolesterol dari dalam hati dan usus akan meningkat untuk memenuhi kebutuhan jaringan dan organ lain. Sebaliknya jika jumlah kolesterol di dalam makanan meningkat maka sintesis kolesterol dari dalam hati dan usus akan menurun (Sihombing, 2003).

Biosintesis kolesterol dapat dibagi menjadi lima tahap, yaitu : (1) biosintesis mevalonat, yang merupakan asetoasetil KoA (gabungan 2 molekul asetil KoA) yang mengalami kondensasi yang dikatalis oleh HMG-KoA sintase yang nantinya dipakai untuk membentuk HMG-KoA yang akan direduksi menjadi mevalonat oleh NADPH dan dikatalis oleh HMG-KoA reduktase. Proses ini merupakan tahap regulatorik utama di jalur sintesis kolesterol dan merupakan tempat kerja golongan obat penurun kadar kolesterol yaitu inhibitor HMG-KoA reduktase (golongan statin), (2) pembentukan unit isoprenoid dari mevalonat melalui pelepasan CO₂ pada reaksi fosforilasi oleh ATP, (3) enam unit isoprenoid mengadakan kondensasi untuk membentuk senyawa skualen, (4) skualen mengadakan siklisasi di dalam retikulum endoplasma untuk menghasilkan senyawa steroid induk yaitu lanosterol, dan (5) kolesterol dibentuk di dalam membran retikulum endoplasma dari lanosterol setelah melewati beberapa tahap, termasuk pelepasan tiga gugus metil (Murray *et al.*, 2006).

Kolesterol dalam makanan akan mempengaruhi biosintesis kolesterol. Penelitian pada tikus menunjukkan jika hanya terdapat 0,05% kolesterol dalam makanan, maka sekitar 70-80% kolesterol akan disintesis tubuh. Sedangkan jika kandungan kolesterol dalam makanan naik menjadi 2% maka biosintesis turun menjadi 10-30% (Sihombing, 2003). Namun proses yang dihambat oleh

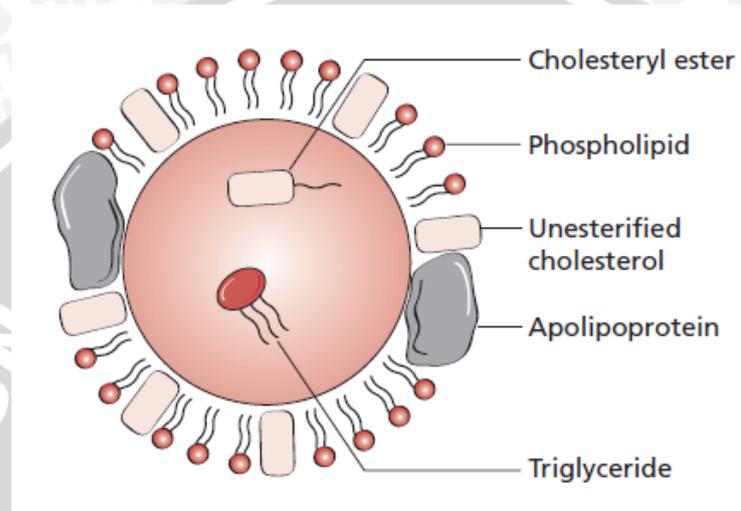
kolesterol dalam makanan hanyalah sintesis di hati. HMG-KoA reduktase di hati dihambat oleh mevalonat, produk langsung jalur tersebut, dan oleh kolesterol, produk utamanya. Kolesterol dan metabolit-metabolitnya dapat menekan transkripsi HMG-KoA reduktase melalui pengaktifan faktor transkripsi *sterol regulatory element-binding protein* (SREBP). SREBP adalah suatu famili protein yang mengatur transkripsi berbagai gen yang berperan dalam penyerapan dan metabolisme kolesterol serta lipid lain oleh sel (Murray *et al.*, 2006).

Banyak faktor yang mempengaruhi keseimbangan kolesterol di dalam jaringan yang dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan dan penurunan kolesterol. Peningkatan kolesterol terjadi karena : (1) penyerapan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh reseptor, misalnya reseptor LDL atau *scavenger receptor*; (2) penyerapan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh jalur yang tidak diperantarai reseptor; (3) penyerapan kolesterol bebas dari lipoprotein yang kaya akan kolesterol oleh membran sel; (4) sintesis kolesterol; dan (5) hidrolisis ester kolesterol oleh enzim ester kolesterol hidrolase. Penurunan kolesterol terjadi karena : (1) keluarnya kolesterol dari membran sel ke lipoprotein yang mengandung sedikit kolesterol, khususnya HDL atau HDL nasen yang dirangsang oleh enzim LCAT (*lecithin cholesterol acyltransferase*); (2) esterifikasi kolesterol oleh enzim ACAT (*acyl-CoA : cholesterol acyltransferase*) dan (3) penggunaan kolesterol untuk sintesis senyawa-senyawa steroid lainnya seperti hormon atau asam empedu di hati (Sihombing, 2003).

2.1.3 Transport Kolesterol oleh Lipoprotein

Lipoprotein adalah agregat makromolekul lipid dan protein yang memiliki fungsi untuk mengangkut molekul lipid yang tidak terlarut dalam plasma. Komponen lipoprotein termasuk nonpolar lipid, trigliserida, kolesterol ester, polar

lipid, fosfolipid dan kolesterol nonesterifikasi. Inti hidrophobik dari partikel lipoprotein mengandung nonpolar lipid. Lapisan *amphipilic* terdiri dari polar lipid dan apolipoprotein yang menghasilkan emulsi stabil pada inti (Rodes *et al.*, 2007).



Gambar 2.2 Struktur Lipoprotein (Rodes *et al.*, 2007)

Di dalam plasma, kolesterol diangkut di dalam lipoprotein, dan pada manusia, proporsi tertinggi terdapat pada LDL. Kolesterol dari makanan mencapai keseimbangan kolesterol plasma dalam beberapa hari dan dengan kolesterol jaringan dalam beberapa minggu. Ester kolesterol dalam makanan dihidrolisis menjadi kolesterol yang kemudian diserap oleh usus bersama dengan kolesterol tak-teresterifikasi dan lipid lain dalam makanan. Bersama dengan kolesterol yang disintesis dalam usus, kolesterol ini kemudian dimasukkan ke dalam kilomikron. Dari kolesterol yang diserap, 80-90% mengalami esterifikasi dengan asam lemak rantai panjang di mukosa usus. Sembilan puluh lima persen kolesterol kilomikron disalurkan ke hati dalam bentuk sisa kilomikron (*chylomicron remnants*), dan sebagian besar kolesterol yang disekresikan oleh hati dalam bentuk VLDL dipertahankan selama pembentukan

IDL dan akhirnya LDL diserap oleh reseptor LDL di hati dan jaringan ekstra hepatic (Murray *et al.*, 2006).

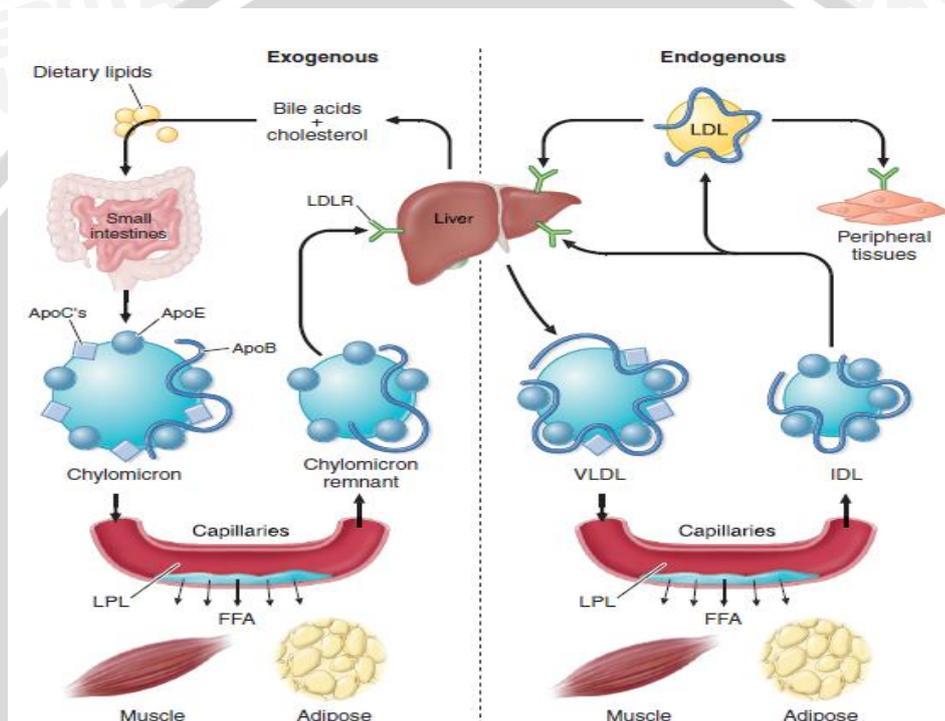
Berdasarkan berat jenisnya lipoprotein dikelompokkan menjadi empat kelas utama. Empat kelas utama lipoprotein ini penting secara fisiologis dan penting dalam diagnosis klinis. Keempatnya adalah (1) kilomikron, yang berasal dari penyerapan triasilgliserol dan lipid lain di usus; (2) lipoprotein berdensitas sangat rendah (*very low density lipoproteins*, VLDL) yang berasal dari hati untuk ekspor triasilgliserol; (3) lipoprotein berdensitas rendah (*low density lipoprotein*, LDL) yang menggambarkan suatu tahap akhir metabolisme VLDL; dan (4) lipoprotein berdensitas tinggi (*high density lipoprotein*, HDL) yang berperan dalam transpor kolesterol dan pada metabolisme VLDL dan kilomikron. Triasilgliserol adalah lipid utama pada kilomikron dan VLDL, sedangkan kolesterol dan fosfolipid masing-masing adalah lipid utama pada LDL dan HDL (Murray *et al.*, 2006).

Tabel 2.1 Komposisi Lipoprotein (Murray *et al.*, 2006)

Lipoprotein	Source	Diameter (nm)	Density (g/mL)	Composition		Main Lipid Components	Apolipoproteins
				Protein (%)	Lipid (%)		
Chylomicrons	Intestine	90-1000	< 0.95	1-2	98-99	Triacylglycerol	A-I, A-II, A-IV, ¹ B-48, C-I, C-II, C-III, E
Chylomicron remnants	Chylomicrons	45-150	< 1.006	6-8	92-94	Triacylglycerol, phospholipids, cholesterol	B-48, E
VLDL	Liver (intestine)	30-90	0.95-1.006	7-10	90-93	Triacylglycerol	B-100, C-I, C-II, C-III
IDL	VLDL	25-35	1.006-1.019	11	89	Triacylglycerol, cholesterol	B-100, E
LDL	VLDL	20-25	1.019-1.063	21	79	Cholesterol	B-100
HDL	Liver, intestine, VLDL, chylomicrons					Phospholipids, cholesterol	A-I, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III, D, ² E
HDL ₁		20-25	1.019-1.063	32	68		
HDL ₂		10-20	1.063-1.125	33	67		
HDL ₃		5-10	1.125-1.210	57	43		
Preβ-HDL ³		< 5	> 1.210				A-I
Albumin/free fatty acids	Adipose tissue		> 1.281	99	1	Free fatty acids	

2.1.4 Metabolisme Lipoprotein

Metabolisme lipoprotein dibagi menjadi dua jalur yaitu jalur metabolisme endogen dan jalur metabolisme eksogen. Jalur metabolisme eksogen adalah lipid yang berasal dari diet makanan yang diserap oleh intestin. Sedangkan jalur metabolisme endogen adalah lipid yang berasal dari hepar.



Gambar 2.3 Metabolisme Lipoprotein (Fauci et al., 2008)

Jalur metabolisme eksogen menyalurkan lipid dari makan menuju ke jaringan perifer dan hati. Jalur metabolisme endogen menyalurkan lipid dari hati menuju ke jaringan perifer. LPL (*lipoprotein lipase*); FFA (*free fatty acid*); VLDL (*very low density lipoprotein*); IDL (*intermediate-density lipoprotein*); LDL (*low-density lipoprotein*); LDLR (*low-density lipoprotein receptor*).

2.1.4.1 Jalur Metabolisme Eksogen

Makanan yang mengandung lipid akan mengalami proses agar dapat diserap tubuh. Triglicerida dalam makanan terhidrolisis oleh lipase pankreas dalam lumen intestin dan diemulsikan oleh asam empedu untuk membentuk misel. Sedangkan kolesterol dan retinol diesterifikasi (oleh tambahan asam lemak) dalam enterosit untuk membentuk kolesterol ester dan retinil ester. Asam

lemak rantai panjang (lebih dari 12 karbon) bergabung menjadi trigliserida dan bersama-sama dengan apoB-48, kolesterol ester, retinil ester, fosfolipid dan kolesterol membentuk kilomikron (Fauci *et al.*, 2008).

Nasen kilomikron disekresikan ke dalam pembuluh limfe intestinal dan dikirim langsung ke sirkulasi. Jaringan perifer (khususnya jaringan adiposa, jantung, dan otot skeletal) yang dilewati oleh nasen kilomikron pada permukaan endotel kapilernya memiliki lipoprotein lipase yang terikat pada proteoglikan. Trigliserida kilomikron mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase, asam lemak bebas dilepaskan; apoC-II menjadi kofaktor dalam reaksi LPL ini. Asam lemak bebas yang telah dilepaskan diambil oleh miosit atau adiposit dan mengalami oksidasi atau reseterifikasi dan disimpan dalam trigliserida. Beberapa asam lemak berikatan dengan albumin dan dibawa menuju jaringan lain khususnya hepar (Fauci *et al.*, 2008).

Partikel kilomikron mengecil secara progresif karena inti *hydrophobic* telah dihidrolisis dan lipid *hydrophilic* (Kolesterol dan fosfolipid) pada permukaan partikel dipindahkan ke HDL. Sehingga menghasilkan partikel kecil yang kaya kolesterol ester yang disebut kilomikron *remnant*. Kilomikron *remnant* kemudian diambil oleh hepar untuk diproses lebih lanjut (Fauci *et al.*, 2008).

2.1.4.2 Jalur Metabolisme Endogen

Jalur endogen lipoprotein mengacu pada sekresi hepatik dan metabolisme VLDL menjadi IDL dan LDL. Partikel VLDL menyerupai kilomikron pada komposisi protein tetapi mengandung apoB-100 dibanding apoB-48 dan memiliki kolesterol terhadap trigliserida yang tinggi. Komponen-komponen VLDL (apoB-100, kolesterol ester, fosfolipid, vitamin E, dan trigliserida) membutuhkan aktivitas *microsomal transfer protein* untuk membentuk nasen VLDL (Fauci *et al.*,

2008).

Setelah sekresi ke dalam plasma, VLDL mendapat beberapa apoE dan apoC. Triglicerida dihidrolisis oleh LPL khususnya di jaringan otot dan adiposa. VLDL *remnant* yang terus mengalami hidrolisis semakin mengecil membentuk IDL yang mengandung sejumlah kolesterol dan triglicerida yang sama. Liver mengambil 40-60% VLDL *remnant* dan IDL oleh *LDL receptor – mediated endocytosis* via ikatan dengan apoE. Sisa IDL mengalami *remodelling* oleh hepatic lipase membentuk LDL. Pada proses *remodelling* ini sebagian besar triglicerida dalam partikel dihidrolisis dan semua apolipoprotein kecuali apoB-100 ditransfer ke lipoprotein lain. Kolesterol dalam LDL menyusun 70% kolesterol plasma kolesterol. Sekitar 70% LDL yang berada dalam sirkulasi diambil hepar melalui *LDL receptor-mediated endocytosis* (Fauci *et al.*, 2008).

2.1.5 Sekresi Kolesterol

Kolesterol tubuh dalam tubuh dapat dikeluarkan dengan dua jalan yaitu melalui perubahan menjadi asam empedu dan sterol netral yang dikeluarkan melalui feses (Murray *et al.*, 2006). Empedu merupakan produk akhir metabolisme kolesterol yang disintesis di dalam sel-sel hati. Sintesis asam empedu primer dari kolesterol dimulai dengan reaksi hidrosilasi yang dikatalis oleh enzim 7 α -hidrosilase yang diaktifkan oleh vitamin C dan membutuhkan oksigen, NADPH serta sitokrom P-450. Kolesterol bebas akan diubah menjadi 7 α -hidrosilasi tambahan sehingga dihasilkan 2 asam empedu yang berbeda yaitu asam kenodeoksilat yang memiliki gugus α -hidrosil pada posisi 3, 7, dan 12. Asam kolat merupakan jenis asam empedu yang terbanyak di dalam tubuh (Sihombing, 2003).

Asam-asam empedu yang baru terbentuk tersebut merupakan senyawa-senyawa ester Ko-A. Kenodeoksilat Ko-A berkonjugasi dengan glisin dan taurin membentuk gliko dan taurokenodeoksilat sedangkan kolat Ko-A membentuk gliko dan taurokolat, yang semuanya termasuk dalam asam empedu primer. Getah empedu mengandung kalium dan natrium dalam jumlah yang cukup banyak dan memiliki pH alkalis, sehingga dapat disebut sebagai garam empedu (Murray *et al.*, 2006).

Garam empedu yang diproduksi disimpan dalam kantung empedu dan dilepaskan ke dalam usus pada saat makan. Senyawa ini berfungsi sebagai emulsifier untuk membantu pencernaan lemak dalam makanan (Almatsier, 2003). Lemak dan protein di dalam saluran cerna akan merangsang sekresi hormon kolesistokinin yang menyebabkan kontraksi kantung empedu dan relaksasi sfingter Oddi, sehingga garam empedu dapat disekresikan ke dalam duodenum (Sihombing, 2003).

Di dalam usus, garam empedu primer sebagian akan mengalami dekonjugasi dan dehidroksilasi oleh bakteri usus membentuk garam empedu sekunder, yaitu garam deoksikolat dari asam kolat dan litokolat dari asam kenodeoksikolat yang kurang larut dalam air. Di dalam ileum, baik garam empedu primer maupun sekunder, sebagian besar (lebih dari 95%) direabsorpsi masuk ke dalam sirkulasi porta, yang dikenal dengan sirkulasi enterohepatik dan sebagian kecil asam empedu yang kurang larut yaitu asam litokolat (kurang dari 5%) akan terbuang bersama feses (Murray *et al.*, 2006).

2.2 Aterosklerosis

Aterosklerosis tetap menjadi penyebab utama dari kematian di kalangan masyarakat berkembang. Bahkan prediksi terkini memperkirakan bahwa pada

tahun 2020, penyakit kardiovaskuler yang terutama disebabkan oleh aterosklerosis ini akan menduduki peringkat pertama sebagai penyebab kematian di seluruh dunia (Fauci *et al.*, 2008).

2.2.1 Pengertian Aterosklerosis

Istilah *aterosklerosis* berasal dari bahasa Yunani, yang berarti penebalan tunika intima arteri (*sclerosis*, penebalan) dan penimbunan lipid (*athere*, pasta) yang mencirikan lesi yang khas (Price *and* Wilson, 2006). Aterosklerosis adalah suatu penyakit yang menyerang arteri besar maupun sedang dimana *fatty streak* atau lesi lemak yang dikenal dengan *atheromatous plaques* timbul pada permukaan dasar dari dinding arteri. Plak tersebut merupakan hasil dari penimbunan kristal kolesterol di dalam tunika intima arteri. Dalam perkembangannya, kristal tersebut nantinya akan berkembang menjadi lebih besar dan bersatu membentuk anyaman kristal. Selain itu jaringan otot halus dan jaringan fibrosa disekitarnya juga akan berproliferasi untuk membentuk plak yang semakin lama akan semakin membesar. Penimbunan kolesterol dan proliferasi selular dapat menjadi sangat besar sehingga plak menonjol jauh ke dalam lumen dan dapat menghambat aliran darah dan bahkan seringkali menutupi lumen pembuluh darah. Rangkaian proses inilah yang akhirnya akan mengakibatkan berbagai macam gejala penyakit kardiovaskuler (Guyton *and* Hall, 2006).

2.2.2 Epidemiologi Aterosklerosis

Pada tahun 2005, jumlah kematian di seluruh dunia akibat penyakit kardiovaskuler terutama yang disebabkan oleh penyakit jantung, stroke dan *rheumatic heart disease* mengalami peningkatan sebesar 17,5 juta jiwa dari yang awalnya hanya 14,4 juta jiwa pada tahun 1990. WHO memperkirakan angka

kematian akibat penyakit ini akan terus meningkat mencapai 20 juta jiwa atau 30% dari seluruh kematian di seluruh dunia pada tahun 2015. Saat ini penyakit kardiovaskuler adalah penyumbang terbesar kematian di seluruh dunia dan akan terus mendominasi dalam beberapa waktu yang akan datang (Fuster *and* Kelly, 2010).

Di negara berpendapatan tinggi seperti amerika, menurut American Heart Association tahun 2010, pada tahun 2007 penyakit kardiovaskuler menyumbang 33,6% dari seluruh kematian di amerika. Terhitung 813804 jiwa yang meninggal akibat penyakit kardiovaskuler dari jumlah total kematian sebesar 2243712. Dari data tersebut dapat dikatakan bahwa lebih dari 2200 orang amerika meninggal akibat penyakit kardiovaskuler tiap harinya atau rata-rata 1 kematian tiap 39 detik (AHA, 2010). Di indonesia, penyakit kardiovaskuler masih menduduki peringkat pertama sebagai penyebab kematian terbanyak pada pasien rawat inap di rumah sakit. Penyakit kardiovaskuler terutama stroke tercatat telah menyebabkan kematian dari 4692 jiwa pada tahun 2005. Jumlah tersebut meningkat menjadi 21830 pada tahun 2007 dan 23163 pada tahun 2008 (DepKes RI, 2009).

2.2.3 Faktor Resiko

Faktor resiko kardiovaskuler adalah kondisi atau aktivitas yang dapat meningkatkan kemungkinan kejadian morbiditas dan mortalitas dari penyakit kardiovaskuler. Faktor resiko tersebut meliputi *fixed risk factors* yang berarti faktor resiko yang tidak dapat dikendalikan dan *modifiable risk factors* yang berarti faktor resiko yang dapat dikendalikan. Faktor resiko yang tidak dapat dikendalikan (*fixed risk factors*) terdiri atas umur, jenis kelamin, dan riwayat penyakit kardiovaskuler dalam keluarga sedangkan faktor resiko yang dapat dikendalikan (*modifiable risk factors*) terdiri atas merokok, *dyslipidemia*,

hipertensi, diabetes mellitus, obesitas dan kurangnya aktivitas fisik yang kesemuanya dapat dihindari atau dieliminasi dengan perubahan gaya hidup atau bahkan dengan terapi farmakologis (Aaronson *et al.*, 2000).

Dyslipidemia merupakan salah satu faktor yang penting dalam pathogenesis aterosklerosis. *Dyslipidemia* ialah kumpulan dari berbagai kondisi yang ditandai dengan abnormalitas konsentrasi dari salah satu atau beberapa lipoprotein. Kondisi tersebut meliputi peningkatan konsentrasi kolesterol dalam darah terutama disebabkan oleh *low density lipoprotein* atau LDL yang mengandung 70% kolesterol dari total plasma kolesterol dalam darah. LDL berperan besar dalam menyebabkan aterosklerosis karena LDL dapat teroksidasi dan dapat merusak dinding pembuluh darah. Kerusakan dinding pembuluh darah sendiri merupakan tanda awal terjadinya aterosklerosis (Aaronson *et al.*, 2000).

2.2.4 Patogenesis

Aterogenesis pada manusia secara khas terjadi dalam kurun waktu beberapa tahun atau bahkan puluhan tahun. Pertumbuhan dari *atheromatous plaques* sendiri mungkin bisa terjadi secara diskontinyu sehingga manifestasi klinis dari penyakit ini bisa saja muncul dalam kurun waktu yang lama (Fauci *et al.*, 2008).

2.2.4.1 Inisiasi dari Aterosklerosis

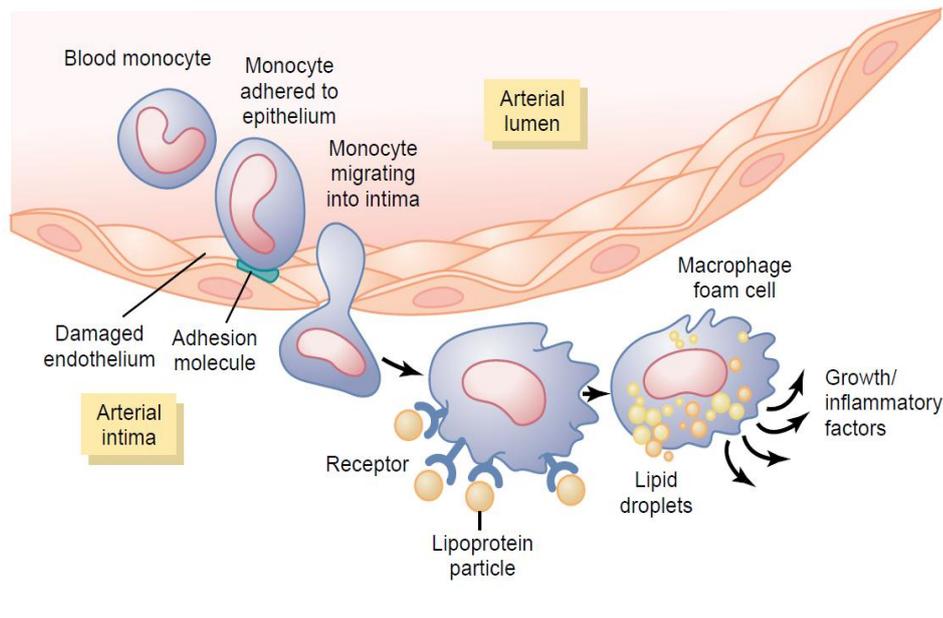
Hasil eksperimen terhadap hewan coba dan studi aterosklerosis pada manusia menunjukkan bahwa *fatty streak* atau lesi lemak merupakan lesi awal dari aterosklerosis. *Fatty streak* atau lesi lemak tersebut merupakan hasil dari akumulasi lipoprotein pada tunika intima. Akumulasi partikel lipoprotein pada tunika intima arteri bukan hanya disebabkan oleh peningkatan permeabilitas atau

kebocoran dari endotel akan tetapi juga diakibat oleh adanya ikatan lipoprotein dengan *proteoglican* dari matriks ekstraseluler arteri. Ikatan tersebut dapat menghambat pelepasan partikel lipoprotein dari tunika intima arteri (Boren *et al.*, 1998, Fauci *et al.*, 2008).

Terperangkapnya partikel lipoprotein dalam tunika intima memisahkan partikel tersebut dari antioksidan dalam plasma yang dapat mencegah terjadinya modifikasi oksidasi. Hal ini memungkinkan lipoprotein untuk mengalami modifikasi oksidasi. Modifikasi dari lipoprotein nantinya akan memicu respon inflamasi lokal yang bertanggung jawab terhadap pembentukan lesi. Selain itu modifikasi tersebut juga akan berpengaruh terhadap ekspresi dari molekul adhesi yang nantinya akan berperan besar dalam proses perekrutan monosit (Fauci *et al.*, 2008).

2.2.4.2 Rekrutmen dari Leukosit

Akumulasi dari leukosit merupakan karakteristik awal dari pembentukan lesi aterosklerotik. Dengan adanya hal tersebut maka dapat dikatakan bahwa aterogenesis melibatkan unsur inflamasi dalam prosesnya. Jenis sel inflamasi yang seringkali ditemukan dalam pembentukan atheroma meliputi monosit derivat makrofag dan limfosit. Sejumlah molekul adhesi atau reseptor untuk leukosit diekspresikan pada permukaan sel endotel arteri yang nantinya akan berperan dalam rekrutmen dari leukosit menuju pembentukan bakal *atheromatous plaques*. Adanya lipoprotein yang teroksidasi dalam tunika intima dapat meningkatkan ekspresi molekul adhesi untuk leukosit. Hal ini dapat menggambarkan bagaimana akumulasi lipoprotein dalam tunika intima dapat berpengaruh terhadap perekrutan leukosit dalam pembentukan lesi (Aaronson *et al.*, 2000, Fauci *et al.*, 2008).



Gambar 2.4 Rekrutmen leukosit (Guyton and Hall, 2006)

Proses rekrutmen leukosit diawali dengan penarikan monosit oleh molekul adhesi yang ada pada permukaan sel endotel yang rusak dari arteri. Monosit kemudian bermigrasi melewati endotelium menuju tunika intima dari dinding arteri dan berubah menjadi makrofag. Makrofag kemudian menyerap lipoprotein yang terakumulasi dalam tunika intima dan berubah menjadi sel busa (*foam cell*) makrofag. Sel-sel busa (*foam cells*) dapat melepaskan substansi yang dapat memicu inflamasi dan pertumbuhan dari tunika intima dari dinding arteri (Guyton and Hall, 2006).

Selain berpengaruh langsung terhadap pembentukan dari molekul adhesi leukosit, adanya lipoprotein yang termodifikasi dalam tunika intima juga akan memicu pelepasan sitokin-sitokin dari sel-sel dinding pembuluh darah. Adanya sitokin-sitokin tersebut seperti interleukin-1(IL-1) atau *tumor necrosis factor* α (TNF- α) dapat menginduksi atau meningkatkan ekspresi dari molekul adhesi leukosit pada sel endotel. Ada juga *chemoattractant cytokin* seperti *monosit chemoattractant protein 1* yang berperan langsung dalam migrasi dari leukosit menuju dinding arteri (Fauci *et al.*, 2008).

Pembuluh darah yang mengalami aterosklerosis seringkali mengalami gangguan aliran darah laminar. Adanya *laminar shear stress* pada kebanyakan regio dari arteri sebenarnya dapat menghambat ekspresi dari molekul adhesi leukosit. Dalam keadaan normal *pulastile laminar shear* dapat meningkatkan

produksi dari *nitric oxide* pada sel endotel. Molekul *nitric oxide* (NO) memiliki efek sebagai vasodilatator yang dapat berperan sebagai anti inflamasi lokal yang ringan dan juga dapat membatasi ekspresi dari molekul adhesi. Oleh karena itu, pembuluh darah yang mengalami gangguan *laminar shear stress* dapat berpengaruh terhadap ekspresi dari molekul adhesi yang berperan dalam perekrutan leukosit (Traub *and* Berk, 1998, Fauci *et al.*, 2008).

2.2.4.3 Formasi Foam Cell

Ketika berada dalam tunika intima, fagosit mononuklear berkembang menjadi makrofag dan kemudian menjadi *foam cell* atau sel busa yang berisi partikel lipoprotein. Perubahan tersebut memerlukan penyerapan dari partikel lipoprotein melalui *receptor-mediated endocytosis*. Penyerapan dari partikel lipoprotein ini sendiri dimediasi oleh reseptor dari LDL. Pada beberapa kondisi seperti adanya pengaruh genetik dan *axtraarterial xanthoma* menyebabkan keberadaan dari reseptor LDL menjadi kurang afektif. Selain itu kolesterol eksogen dalam jumlah yang tinggi juga dapat menekan ekspresi dari reseptor ini. Kandidat reseptor lain yang dapat memediasi proses ini ialah pertumbuhan sejumlah *scavenger receptor* dari makrofag yang dapat memediasi endositosis dari lipoprotein. Selain itu juga ada reseptor untuk LDL teroksidasi atau *beta very low density lipoprotein* (β -VLDL) (Aaronson *et al.*, 2000, Fauci *et al.*, 2008).

2.2.4.4 Evolusi Atheroma

Seringkali *fatty streak* berkembang menjadi *atheromatous plaques* tetapi tidak semua *fatty streak* mengalami perubahan tersebut. Dengan menyerap lemak dari celah ekstraseluler, fagosit mononuklear melalui semacam *scavenger receptor* mampu memindahkan lipoprotein dari lesi yang sedang berkembang.

Beberapa fagosit mononuklear yang telah terisi lemak dapat meninggalkan dinding arteri untuk memindahkan lipid. Selain mekanisme tersebut ada beberapa mekanisme lain, seperti transport kolesterol yang dimediasi oleh *high density lipoprotein* (HDL). HDL mentransport kolesterol dari sel menuju hepatosit yang kemudian di metabolisme menjadi asam empedu yang dapat disekresikan. Akumulasi lipid akan cenderung berkembang menjadi *atheromatous plaques* jika jumlah lipid yang memasuki dinding arteri melebihi mekanisme pemindahan oleh fagosit mononuklear dan mekanisme lainnya (Fauci *et al.*, 2008).

Makrofag yang terisi lipoprotein yang termodifikasi dapat memproduksi sitokin dan *growth factor* yang dapat menstimulasi proliferasi dari otot polos dan produksi matriks ekstraselular. Sitokin yang biasa ditemukan dalam plak aterosklerotik diantaranya IL-1 atau TNF- α yang dapat memicu produksi berbagai jenis dari *growth factor* seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *fibroblast growth factor* dan jenis-jenis lain. PDGF dapat menstimulasi migrasi dari sel-sel otot polos yang normalnya berada pada tunika media menuju ke tunika intima. Sel-sel otot polos yang bermigrasi tersebut juga akan berproliferasi karena mendapat pengaruh dari sitokin dan growth faktor yang diproduksi makrofag yang terisi lipoprotein. *Transforming growth factor- β* (TGF- β) juga berpengaruh terhadap sel otot polos sebagai mediator yang berpotensi menstimulasi sel-sel otot polos untuk memproduksi kolagen. Gangguan yang dialami sel-sel otot polos akibat pengaruh dari berbagai mediator dapat mempercepat transformasi dari *fatty streak* menjadi lesi yang kaya akan matriks ekstraseluler dan serat otot polos (Aaronson *et al.*, 2000, Fauci *et al.*, 2008).

2.3 Bayam

2.3.1 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Amaranthaceae
Genus	: Amaranthus
Spesies	: <i>Amaranthus sp</i>

(USDA, 2012)

Bayam memiliki nama latin *Amaranthus sp*. Istilah ini berasal dari bahasa Yunani *everlasting* yang artinya abadi. Bayam berasal dari daerah Amerika yang memiliki iklim tropis khususnya Amerika Latin. Dahulu bayam hanya dikenal sebagai tanaman hias (Suriaji, 2009). Kini bayam telah menjadi tanaman pangan terutama bagi negara-negara berkembang dengan iklim tropis. Bayam masuk ke Indonesia pada abad XIX ketika lalu lintas perdagangan orang luar negeri masuk ke wilayah Indonesia (Supriyadi, 2003). Bayam memiliki nama lain sesuai daerahnya, Senggang cucuk (Sunda), bayem eri (Jawa), ternyak lakek (Madura), bayem kerui (Lampung), *prickly amaranth* (Inggris) dan *Le xian cai* (Cina) (Rachmadan, 2012).

2.3.2 Morfologi dan Ekologi

Tanaman bayam di Indonesia dibagi menjadi 2 jenis, yaitu bayam liar dan bayam budidaya. 2 jenis bayam liar yang terkenal yaitu bayam tanah (*Amaranthus blitum*) dan bayam berduri (*Amaranthus spinosus*). Ciri utama bayam liar adalah batangnya berwarna merah dan daunnya kaku. Sedangkan untuk bayam budidaya dibedakan menjadi 2 macam, yaitu bayam cabut (*Amaranthus tricolor*) dan bayam tahun (*Amaranthus hybridus*) (Suriaji, 2009).

Bayam merupakan tanaman perdu dengan tinggi kurang dari 1,5 meter. Sistem perakarannya menyebar pada kedalaman antara 20-40 cm, termasuk tanaman berbiji keping dua sehingga memiliki akar tunggang. Batang bayam mengandung air dan tumbuh tinggi di atas permukaan tanah. Untuk jenis *Amaranthus hybridus* memiliki cabang banyak dan dapat mengeras menjadi kayu. Percabangan akan melebar dan tumbuh tunas baru bila sering dilakukan pemangkasan (Fatimah, 2009).

Daun bayam umumnya berbentuk bulat dengan ujung agak meruncing serta memiliki urat-urat daun yang jelas. Warna daunnya bervariasi tergantung jenisnya. Dari berwarna merah, hijau muda, hijau tua, dan hijau keputih-putihan. *Amaranthus hybridus* memiliki daun berwarna hijau dengan dasar daun yang lebar. Bunga tanaman bayam tersusun tumbuh tegak, keluar dari ujung tanaman ataupun dari ketiak-ketiak daun. Bentuk bunga memanjang dengan perbungaan yang dapat berlangsung sepanjang musim atau tahun. Tanaman bayam memiliki sistem reproduksi generatif (melalui biji). Setiap tangkai bunga dapat menghasilkan ratusan hingga ribuan biji. Ukuran biji bayam sangat kecil, bentuknya bulat dan berwarna coklat tua mengkilat hingga hitam kelam (Fatimah, 2009).

Tanaman bayam dapat tumbuh dengan baik dengan kondisi iklim yang memadai, diantaranya:

- Keadaan angin yang tidak terlalu kencang, angin yang kencang dapat merusak tanaman.
- Daerah dataran tinggi dengan curah hujan tinggi (lebih dari 1.500mm/tahun).
- Daerah dengan cahaya sinar matahari yang cukup. Kebutuhan sinar matahari tanaman bayam cukup besar.
- Suhu udara yang sesuai berkisar antara 16-20°C
- Kelembapan udara yang cocok adalah antara 40-60%.

Kondisi tanah yang cocok untuk pertumbuhan tanaman bayam, diantaranya:

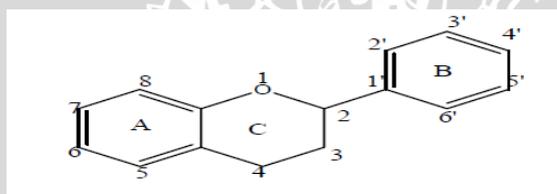
- Tanaman bayam membutuhkan tanah yang gembur, subur, dan terpenuhi unsur haranya untuk tumbuh dan berkembang.
- PH yang ideal adalah antara 6-7.
- Ketersediaan air harus terjaga. Tanaman bayam termasuk tumbuhan yang sensitif dengan keadaan air.
- Kelerengan lahan sekitar 15-45 derajat dengan ketinggian kurang lebih 2000 mdpl (Suraji, 2009).

Bayam merupakan jenis sayuran dengan berbagai manfaat untuk manusia. Masyarakat Indonesia pun sudah sejak lama memanfaatkan bayam sebagai sumber gizi dalam makanan dan sayuran. Daun bayam dapat dibuat berbagai jenis sayur mayur. Bahkan bayam dipromosikan sebagai makanan karena kandungan gizinya yang tinggi dan juga bermanfaat sebagai obat tradisional. Akar bayam dapat digunakan sebagai bahan obat disentri. Daun dan

bunga bayam berkhasiat untuk mengobati asma dan eksim. Biji bayam digunakan sebagai pencampur penyeling terigu dalam pembuatan roti atau dibuat bubur biji bayam (Suraji, 2009).

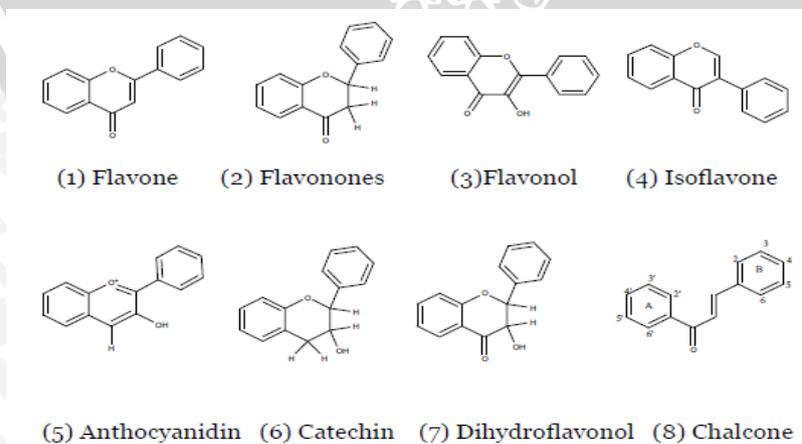
2.3.3 Kandungan Kimia Daun Bayam

Flavonoid adalah bioaktif polifenol dengan berat molekul rendah yang memiliki peran yang vital bagi sel yang berfotosintesis. Flavonoid merupakan metabolit sekunder dengan karakteristik adanya nukleus flavan dan $C_0C_8C_6$ rantai karbon. Struktur dasar dari flavonoid adalah *nukleus 2-phenyl-benzo-γ-pyrane* yang terdiri dari dua cincin benzene (A dan B) terhubung melalui sebuah cincin *pyran* heterosiklik seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.6.



Gambar 2.5 Struktur Flavonoid (Sandhar et al., 2011)

Flavonoid berbeda dalam susunan group *hydroxyl*, *methoxyl* dan *glycosidic* dan dalam ikatan antara cincin A dan B. Sebuah variasi pada cincin C membuat pembagian subclass. Berdasarkan struktur molekul, Flavonoid dapat dibagi menjadi delapan kelas.



Gambar 2.6 Jenis Flavonoid (Sandhar et al., 2011)

Dalam tumbuhan, Flavonoid ada dalam bentuk *O-glycosides* atau *C-Glycosides*. *O-Glycosides* memiliki Substitusi gula terikat pada $-OH$ *aglycone*, biasanya pada posisi 3 atau 7, sebaliknya C-glukoside memiliki group gula terikat pada carbon *aglycone* biasanya 6-C atau 8-C (Sandhar *et al.*, 2011).

Flavonoid terdistribusi luas pada kingdom tanaman. Flavonoid dapat ditemukan pada sayur-sayuran, buah-buahan, kacang, biji, batang, bunga teh, dll. Flavonoid memiliki aktivitas biologis berspektrum luas antara lain antioksidan, antiinflamasi, antiagregasi patelelet, antikanker, antialergi, antimikroba, dan antidiabetes (Sandhar *et al.*, 2011). Flavonoid dapat diperoleh dengan cara melarutkan bagian tanaman (dalam penelitian ini daun bayam) dengan menggunakan ekstraksi metanol sebagai pelarut (Akubugwo *et al.*, 2007).

Saponin adalah produk alam penting yang dapat ditemukan secara primer pada akar, kelopak dan daun dari banyak tanaman juga pada binatang-binatang laut. Molekul saponin terdiri atas sebuah *aglycone* (atau sapogenin) dan dua gula moieties. Berdasarkan struktur dari *aglycone*, saponin dapat diklasifikasikan menjadi dua tipe, yaitu triterpenoid dan streoidal. Residu gula yang paling banyak adalah heksosa (glukosa, galaktosa, 6-deoxyheksosa (furanosa, quinovose, rhamnosa), pentose (arabinosa, xylose) dan uronic acid. Saponin memiliki beberapa aktivitas bioaktif diantaranya sebagai antifungal, antitumor, sitotoksik, koagulasi darah, antispasme, antibakteri dan antioksidan. Saponin didapatkan dengan menggunakan ekstrak bahan alam dengan metanol maupun etanol (Yücekutlu *and* Bildacı, 2008).

Skualen, 30 carbon isoprenoid, yang merupakan salah satu produk pertengahan dalam biosintesis kolesterol dan banyak terkandung dalam minyak hati ikan hiu, minyak zaitun dan juga bayam. Berbagai studi telah membuktikan

beberapa manfaat dari skualen yang diantaranya sebagai agen pencegah kanker, pencegah berbagai penyakit kardiovaskuler dan hipertensi, bahkan sebagai antidot untuk mengurangi kejadian kasus keracunan obat. Diperkirakan efek protektif dari skualen berkaitan erat dengan kemampuannya sebagai antioksidan (Ryan *et al.*, 2007). Skualen dapat diekstrak dari bahan-bahan alami dengan menggunakan pelarut air maupun methanol (Patar *and* Yahaya, 2012)

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah istilah farmakologi yang melibatkan pemisahan bagian yang aktif secara medis dari tumbuhan maupun jaringan hewan dari komponen yang inaktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai standar prosedur. Produk yang didapatkan dari tumbuhan relatif cair, semisolid atau bubuk yang dimaksudkan hanya untuk oral atau penggunaan eksternal (ICS-UNIDO, 2008).

2.4.1 Metode Ekstraksi

a. Maserasi

Pada proses ini, keseluruhan atau bubuk kasar yang masih mentah ditempatkan pada bejana tertutup bersama dengan pelarut pada suhu ruangan selama minimal 3 hari dengan pengadukan yang sering dilakukan sampai materi yang terlarut telah terurai. Material solid yang basah ditekan, kombinasi cairan dipisahkan dengan menggunakan filtrasi atau dekantasi (ICS-UNIDO, 2008).

b. *Infusion*

Infusion segar dipersiapkan dengan maserasi bahan kasar dalam jangka waktu pendek dengan air dingin atau mendidih. Sehingga terbentuklah Cairan yang encer dari konstituen bahan kasar sebelumnya (ICS-UNIDO, 2008).

c. *Digestion*

Metode ini adalah suatu bentuk dari maserasi dimana digunakan temperatur yang hangat pada proses ekstraksi. Metode ini digunakan ketika peningkatan temperatur secara moderat dapat ditolerir. Efisiensi pelarut *menstrum* meningkat (ICS-UNIDO, 2008).

d. Perkolasi

Merupakan proses melewati pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Tetapi proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan (Lenny, 2008).

e. Sokhletasi

Menggunakan alat soklet dengan pemanasan dan pelarut akan dapat dihemat karena terjadinya sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh panas (Lenny, 2008).

f. Destilasi uap

Proses destilasi lebih banyak digunakan untuk senyawa organik yang tahan pada suhu yang cukup tinggi, yang lebih tinggi dari titik didih pelarut yang digunakan. Pada umumnya lebih banyak digunakan untuk minyak astiri (Lenny, 2008).

g. Pengempaan

Metode ini lebih banyak digunakan dalam proses industri seperti pada isolasi minyak sawit mentah dari buah kelapa sawit dan isolasi katecin dari daun gambir. Pada proses ini tidak digunakan pelarut (Lenny, 2008).

2.4.2 Pelarut

Pemilihan pelarut dalam prosedur ekstraksi menentukan keberhasilan penentuan aktivitas bioaktif dari material yang diteliti. Sifat pelarut yang ideal diantaranya memiliki toksisitas yang rendah, mudah diuapkan dengan panas yang rendah, mengabsorpsi fisiologis cepat ekstrak, memiliki aktivitas menjaga zat aktif dalam ekstraksi, tidak menyebabkan ekstrak untuk mengadakan kompleksiasi maupun disosiasi dan tidak mengganggu *bioassay* (Das *et al.*, 2009).

Studi-studi sebelumnya menemukan bahwa hasil ekstraksi dari senyawa *phenolic* dan flavonoid tergantung pada polaritas larutan (Turkmen *et al.*, 2006). Secara khusus, metanol telah secara luas diketahui lebih efisien untuk mengekstraksi *poliphenol* dengan berat molekul rendah disisi lain aceton merupakan pilihan terbaik untuk flavanol yang memiliki berat molekul yang tinggi. Tetapi dari segi keamanan maupun toksisitas, etanol lebih dipilih sebagai pelarut dibanding bahan lainnya (Dai *and* Mumper, 2010). Sedangkan saponin dan skualen sudah sejak lama diketahui larut dengan menggunakan pelarut metanol (Cantrill, 2008, Patar *and* Yahaya, 2012)

2.5 Diet Aterogenik

Diet aterogenik merupakan diet yang mengandung kolesterol tinggi (Norvahidah, 2009) yang dimaksudkan untuk membentuk kondisi hiperkolesterolemia dalam darah tikus sebagai suatu keadaan awal menuju pembentukan plak aterosklerosis (Murwani *dkk.*, 2006). Diet ini diberikan setiap hari sebanyak 40 gram/hari/tikus dengan energi sebesar 146,82 kkal.

Pemberian diet aterogenik pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*)

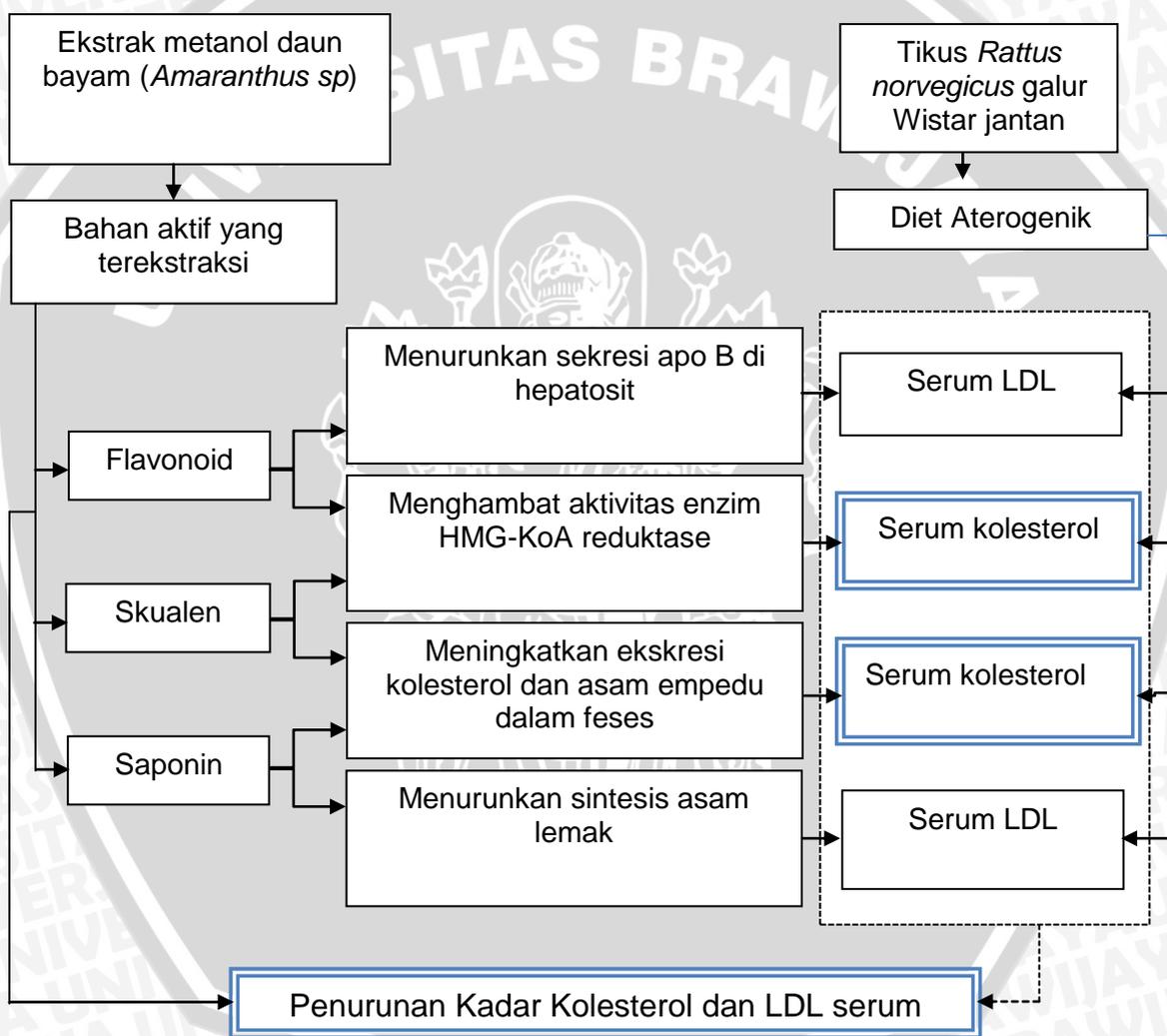
selama 8-10 minggu dapat meningkatkan kadar kolesterol darah yang dapat diidentifikasi dengan menghitung serum lipid profile tikus (Norvahidah, 2009) karena pada pakan tikus diet aterogenik diberikan penambah kolesterol, asam kolat, dan minyak babi. Asam kolat yang terdapat pada diet aterogenik berfungsi untuk meningkatkan kadar LDL plasma dan menurunkan kadar HDL, sedangkan minyak babi, mempunyai kandungan kolesterol lebih tinggi dibandingkan dengan minyak hewani lainnya (Murwani *et al.*, 2006).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka konsep penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan: = variabel yang diteliti



Kandungan daun bayam (*Amaranthus sp*) yang diperkirakan berperan menurunkan kadar kolesterol serum terutama adalah flavonoid, skualen, dan saponin (Akubugwo *et al.*, 2007). Flavonoid berfungsi menurunkan sekresi apo B di hepatosit dan menghambat aktivitas enzim *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzim A reductase* (HMG KoA reduktase) (Kabiri *et al.*, 2010). HMG KoA reduktase adalah enzim yang mengkatalis pembentukan asam mevalonat, suatu zat prekursor pembentukan kolesterol (Murray *et al.*, 2006). Ketika HMG KoA reduktase dihambat, maka sintesis kolesterol akan terhambat dan menurunkan kadar kolesterol darah. Skualen merupakan produk intermediet dalam sintesis kolesterol yang banyak terkandung dalam *Amaranthus sp* (Akubugwo *et al.*, 2007). Escudero *et al.* (2006) menyebutkan bahwa injeksi skualen pada tikus dapat menurunkan aktivitas dari HMG KoA reduktase serta secara simultan meningkatkan jumlah kolesterol dan asam empedu dalam feses. Saponin termasuk ke dalam *phytochemical* yang memiliki efek pada serum lipid yaitu menurunkan sintesis asam lemak sehingga berakibat menurunkan kadar LDL di dalam darah (Elekofehinti *et al.*, 2012). Selain itu saponin juga dapat meningkatkan ekskresi fekal dari kolesterol dan asam empedu dengan cara berikatan dengan misel dan asam empedu itu sendiri sehingga membentuk molekul yang ukurannya sulit untuk diserap usus. Dengan demikian, saponin juga dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah (Oakenfull and Sidhu, 1990, Francis *et al.*, 2002).

3.2 Hipotesis Penelitian

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp*) yang diberikan pada tikus yang diberi diet aterogenik maka akan semakin menurunkan kadar kolesterol total pada serum tikus tersebut.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Rancangan eksperimental yang digunakan adalah *post test only control group design*. Objek diambil secara random ke dalam kelompok-kelompok yang diekspos sebagai variabel independen dan kemudian diukur kadar kolesterol total serumnya. Nilai-nilai kadar kolesterol total serumnya kemudian dibandingkan untuk menentukan efektivitas perlakuan. Objek penelitian adalah tikus wistar berjenis kelamin jantan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan.

4.2 Sampel Penelitian

Pada penelitian ini digunakan hewan coba tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipelihara di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.2.1 Estimasi Jumlah Sampel

Dalam penelitian ini terdapat 5 perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1 (diet aterogenik + ekstrak metanol daun bayam 20 mg/100gBB), kelompok perlakuan 2 (diet aterogenik + ekstrak metanol daun bayam 40 mg/100gBB), kelompok perlakuan 3 (diet aterogenik + ekstrak metanol daun bayam 60 mg/100gBB).

Jumlah binatang coba untuk masing-masing perlakuan dapat dicari dengan rumus Federer yaitu: $[(np-1) - (p-1)] \geq 16$ dengan n = jumlah pengulangan tiap perlakuan; p = jumlah perlakuan.

$$[(np-1) - (p-1)] \geq 16$$

$$[(5n-1) - (5-1)] \geq 16$$

$$(5n-1) - 4 \geq 16$$

$$(5n-1) \geq 20$$

$$5n \geq 21$$

$$n \geq 4,2 \approx 5 \text{ ekor}$$

(David and Arkeman, 2008)

Dari rumus tersebut, jika banyak perlakuan adalah 5 maka jumlah sampel yang dibutuhkan untuk tiap-tiap kelompok perlakuan adalah lebih besar dari atau sama dengan 5. Sebagai cadangan, 1 ekor tikus ditambahkan pada setiap kelompok perlakuan untuk mengantisipasi kemungkinan yang tidak diinginkan seperti kematian, kegagalan pengambilan sampel dan lain-lain. Jadi untuk 5 kelompok perlakuan dibutuhkan sebanyak 30 ekor tikus.

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April – Juni 2012 di 2 tempat sebagai berikut:

- Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sebagai tempat pemeliharaan tikus dan pemberian perlakuan,
- Laboratorium Biokimia-Biomol Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sebagai tempat penyimpanan serum darah dan pengukuran kadar serum kolesterol total.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas (*Independent*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak metanol daun bayam dengan dosis 20 mg/100gBB, 40 mg/100gBB dan 60 mg/100gBB.

4.4.2 Variabel Terikat (*Dependent*)

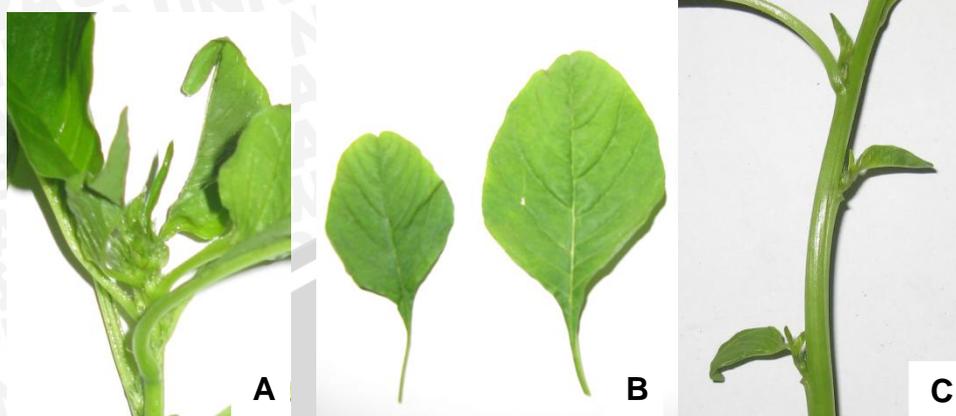
Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol total serum tikus

4.4.3 Variabel Kendali

Variabel Kendali adalah variabel yang dapat dikendalikan oleh peneliti agar objek penelitian selalu terkendali dan dalam keadaan homogen. Variabel kendali dalam penelitian ini, yaitu : jenis tikus (merupakan tikus dari jenis *Rattus norvegicus* galur Wistar berjenis kelamin jantan yang berusia 5-6 minggu dengan berat badan 100-110 gram dan berada dalam kondisi sehat yang ditandai dengan gerakan aktif), pemberian diet atherogenik (komposisi, jumlah dan waktu pemberian), kondisi lingkungan kandang (pencahayaan dan aliran udara) dan pemberian ekstrak bayam dengan sonde (jumlah dan waktu pemberian).

4.5 Definisi Operasional

- Bayam (*Amaranthus sp*) yang digunakan ialah bayam yang biasa dikonsumsi masyarakat yang diperoleh dari pasar lokal sekitar kampus Universitas Brawijaya. Bayam (*Amaranthus sp*) yang digunakan dalam penelitian ini memiliki ciri-ciri yaitu batangnya bercabang banyak dan dapat mengeras berkayu, daunnya berbentuk bulat telur yang lebar dan berwarna hijau, dan bunganya tumbuh di ujung tanaman ataupun dari ketiak-ketiak daun.



Gambar 4.1 Bunga, Daun dan Batang Bayam
(A) Bunga Bayam, (B) Daun Bayam, (C) Batang Bayam

- Ekstrak metanol bayam didapat dengan memilih daun bayam yang masih segar kemudian diekstrak dengan metanol menggunakan metode maserasi. Mula-mula daun bayam yang masih segar dicuci, diiris tipis, diangin-anginkan dan kemudian dikeringkan. Daun bayam yang telah kering diblender hingga berbentuk menyerupai serbuk kemudian ditimbang sebanyak 200 gram, diekstrak dengan 1 liter metanol 96% dan didiamkan selama satu malam. Hasil ekstraksi kemudian dimasukkan ke dalam evaporator untuk memisahkan zat aktif daun bayam dari metanol. Setelah seluruh metanol dalam ekstrak menguap pada suhu $64,7^{\circ}\text{C}$ maka akan didapatkan ekstrak murni yang berupa pasta. Pasta tersebut nantinya akan diencerkan sesuai dosis yang sudah ditentukan.
- Perlakuan (intervensi) adalah pemberian ekstrak metanol daun bayam dengan dosis 20 mg/100gBB, 40 mg/100gBB dan 60 mg/100gBB secara peroral dengan sonde lambung. Penentuan dosis pada penelitian ini merujuk pada penelitian Nagar *et al.* (2011) yang menggunakan ketiga

dosis tersebut (20mg/100gBB, 40mg/100gBB dan 60mg/100gBB) untuk mengetahui efek antiinflamasi ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp*) pada tikus. Penggunaan dosis yang sama dalam penelitian ini dimaksudkan untuk menghindari adanya efek toksik bila diberikan dengan dosis yang lebih besar.

- Hewan coba yang digunakan adalah tikus galur wistar karena galur ini mampu memperagakan status imunitas manusia (Rahayu, 2005).
- Pakan normal yang diberikan terdiri dari comfeed PARS dan tepung terigu perbandingan 2 : 1 dengan ditambahkan air secukupnya. Diberikan sejumlah 40 gram pakan normal per hari untuk tiap tikusnya
- Diet aterogenik yang digunakan terdiri atas pakan ayam/PARS, tepung terigu, kuning telur bebek, lemak kambing, minyak kelapa, minyak babi, asam kolat. Diberikan sejumlah 40 gram per hari untuk tiap tikus.
- Metode yang digunakan untuk mengukur kadar serum kolesterol total adalah metode enzimatik dengan spektrofotometer. Pengukuran ini dilaksanakan di lab. Biokimia-Biomol FKUB

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1 Alat

Tabel 4.1 Daftar Alat

Keperluan	Alat Yang Diperlukan
Alat pemeliharaan hewan coba	Kandang dari kotak plastik, tutup kandang dari anyaman kawat, botol air, rak tempat meletakkan kandang
Alat pembuat ransum makanan binatang coba	Baskom plastik, timbangan, sarung tangan, gelas ukur
Alat pembedahan tikus	Pisau bedah, papan bedah, pinset, Potter-Homogenizer, tempat organ
Alat pembuatan ekstrak buah bayam	Neraca analitik, beaker glass 500mL, pisau botol 1 L, oven, blender, seperangkat evaporator vakum, alat pemanas air, labu penampun hasil ekstraksi, rotary evaporator, tabung pendingin, pompa vakum, tabung penampung metanol.
Alat pengenceran ekstrak bayam	Gelas ukur 100 ml, cawan porselin, pengaduk porselin, timbangan analitik
Alat pemberian ekstrak daun bayam kepada binatang coba	Sonde lambung
Alat pemeriksaan serum	Spuil 5 ml, falkon 15 ml, tabung apendof, kuffet, yellow tip, blue tip, rak tabung, tabung reaksi, spektrofotometer, mikropipet 1000 mikroliter, mikropipet 10 mikroliter

4.6.2 Bahan

4.6.2.1 Bahan Makanan Tikus

Pakan tikus dewasa per ekor per hari adalah 40 gram. Dalam penelitian ini terdapat dua macam pakan tikus yaitu diet aterogenik dan diet normal. Adapun komposisi pakan normal dan aterogenik akan dijelaskan sebagai berikut:

1. Pakan normal yang terdiri dari comfeed PARS 53% (dengan kandungan air 12 %, protein 11 %, lemak 4 %, serat 7 %, abu 8 %, Ca 1,1 %, fosfor 0,9 %, antibiotika, coccidiostat 53 %) dan tepung terigu 23,5 %, dan air 23,5 %. Diet normal diberikan 40 gram setiap hari per tikus.
2. Diet aterogenik diberikan 40 gram setiap hari per tikus. Komposisi bahan diet aterogenik dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 4.2 Komposisi Bahan Diet Aterogenik persaji (40 gram)

Bahan	Persentase (%)	Berat (Gram)
Comfeed PARS	50	20 gram
Tepung terigu	25	10 gram
Kuning telur bebek	5	2 gram
Lemak kambing	10	4 gram
Minyak kelapa	1	0.4 gram
Minyak babi	8.9	3.55 gram
Asam kolat	0.1	0.05 gram
TOTAL	100	40 gram

4.6.2.2. Bahan Ekstrak Metanol Daun Bayam

Bayam (*Amaranthus sp*), pelarut metanol, natrium bikarbonat, aquades,

4.7 Posedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi persiapan hewan coba (aklimatisasi), pembuatan ekstrak bayam, pengenceran ekstrak bayam, induksi aterosklerosis, penimbangan berat tikus dan pakan, pembedahan tikus, penghitungan kadar kolesterol serum tikus, dan pengolahan data.

4.7.1 Persiapan Hewan Coba (Aklimatisasi)

Dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, anyaman kawat, sekam, botol minum, alat semprot, tempat makan, pakan normal, alkohol 70%, hewan uji tikus galur wistar, dan seleksi tikus (usia, berat badan, jenis kelamin, kesehatan). Tikus diadaptasikan di dalam laboratorium farmakologi selama tujuh hari dan dibagi enam kelompok. Selama adaptasi, tikus diberi pakan standar (normal).

4.7.2. Pembuatan Ekstrak Metanol Bayam

4.7.2.1. Persiapan Sampel Daun Bayam

- a. Daun bayam dalam kondisi baik dan segar dicuci dengan air untuk menghilangkan debu, tanah atau kotoran yang melekat.
- b. Daun bayam yang telah dibersihkan kemudian diiris tipis.
- c. Daun bayam yang sudah diiris dikeringkan dengan diberi angin yang cukup.

4.7.2.2 Pembuatan Sediaan Ekstrak daun bayam

- Proses Ekstraksi:
- a. Sampel daun bayam yang telah dikeringkan ditimbang (200 g).
 - b. Sampel kering tersebut dimasukkan kedalam gelas erlenmayer ukuran 1 liter.

- c. Kemudian direndam dengan metanol 96% hingga volumenya 900-1000 ml.
 - d. Dikocok hingga benar-benar tercampur (\pm 30 menit)
 - e. Didiamkan selama 1 malam sampai mengendap.
 - f. Proses ekstraksi ini dilakukan sampai hasil ekstraksi jernih.
Kemudian hasil ekstraksi siap untuk dievaporasi.
- Proses evaporasi:
- a. Diambil lapisan atas campuran metanol dengan zat aktif daun bayam yang sudah terlarut, lalu dimasukkan ke dalam labu evaporasi 1 liter.
 - b. Labu Evaporasi dipasang pada Evaporator
 - c. Water bath diisi dengan air sampai penuh.
 - d. Semua rangkaian alat dipasang, termasuk rotary evaporator, pemanas water bath (diatur sampai suhu 64.7°C sesuai dengan titik didih metanol), lalu disambungkan dengan aliran listrik.
 - e. Larutan metanol dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu.
 - f. Ditunggu sampai aliran metanol berhenti menetes pada labu penampung
 - g. Hasil yang diperoleh adalah ekstrak murni daun bayam berupa pasta sebanyak \pm 60 ml.

4.7.3. Pengenceran Ekstrak Daun Bayam

Perhitungan ekstrak bayam berdasarkan pada dosis perlakuan dan rata-rata berat badan tikus setiap perlakuan. Setelah menghitung jumlah ekstrak yang dibutuhkan setiap dosis, kemudian diencerkan dengan sedikit aquades ditambah

natrium bikarbonat. Setiap pengenceran dosis membutuhkan 60 ml aquades dengan asumsi setiap tikus mendapatkan 2 ml/ hari untuk 5 hari. Hasil ekstrak dituangkan ke botol penampung ekstrak dan disimpan di lemari pendingin.

4.7.4. Perlakuan

Tikus dikelompokkan dalam 5 kelompok secara acak dan diberi perlakuan sesuai kelompoknya selama 52 hari. Pembagian kelompok perlakuan adalah sebagai berikut.

- P1 = Kelompok kontrol negatif {K(-)}, dimana tikus hanya mendapatkan ransum standar peroral tanpa ekstrak daun bayam.
- P2 = Kelompok kontrol positif {K(+)}, dimana tikus mendapat diet aterogenik peroral tanpa ekstrak methanol daun bayam.
- P3 = Kelompok perlakuan 1, dimana tikus mendapatkan diet aterogenik peroral dan ekstrak metanol daun bayam 20 mg/100gBB yang diberikan secara sonde.
- P4 = Kelompok perlakuan 2, dimana tikus mendapatkan diet aterogenik peroral dan ekstrak metanol daun bayam 40 mg/100gBB yang diberikan secara sonde.
- P5 = Kelompok perlakuan 3, dimana tikus mendapatkan diet aterogenik peroral dan ekstrak metanol daun bayam 60 mg/100gBB yang diberikan secara sonde.

4.8 Pemeriksaan Kadar Serum Kolesterol Total

Kadar serum sampel diukur setelah 52 hari perlakuan. Sampel dibius dengan eter hingga mati / pingsan, kemudian dibedah dan diambil darahnya dari jantung bagian ventrikel. Serum darah sampel diperiksa menggunakan spektrofotometer. Prosedur penghitungan kadar kolesterol total serum

menggunakan metode CHOD-PAP. Prinsip pengukuran total kolesterol secara enzimatis berdasarkan reaksi di bawah ini :



(Sihombing, 2003)

Prosedur analisis :

- Mula-mula campurkan 0,01 ml standar dengan 1,00 ml reagen ke dalam kuvet kemudian diamkan pada suhu kamar ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) selama 20 menit.
- Campurkan pula 0,01 ml sampel serum dengan 1,00 ml reagen ke dalam kuvet, kemudian diamkan pada suhu kamar ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) selama 20 menit. Ulangi prosedur yang sama untuk setiap sampel.
- Operasikan alat spektrofotometer dan atur gelombangnya pada panjang gelombang 500 nm.
- Persiapkan kuvet blanko yang berisi 1,00 ml reagen.
- Bersihkan kuvet blanko dengan tisu lalu masukan ke alat spektrofotometer dan pencet tombol standar.
- Setelah kuvet standar dan kuvet sampel didiamkan selama 20 menit, bersihkan kuvet standar dengan tisu kemudian masukkan ke dalam spektrofotometer untuk menghitung absorbansi standar.
- Bersihkan kuvet sampel dengan tisu kemudian masukkan ke dalam spektrofotometer untuk menghitung absorbansi sampelnya.
- Ulangi prosedur yang sama pada kuvet sampel yang lain hingga semua absorbansi sampel terhitung.

Penghitungan konsentrasi kolesterol total

$$\text{Kolesterol Total} : \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \times \text{kadar standar (200 mg/dL)}$$

(Sihombing, 2003)

4.9. Analisis Data

Analisis statistik dilakukan dengan *One Way ANOVA* menggunakan software SPSS 16. *One Way ANOVA* digunakan untuk menguji apakah rerata lebih dari 2 sampel berbeda secara signifikan atau tidak, yaitu diet normal, diet aterogenik, diet aterogenik dengan pemberian ekstrak daun bayam dosis I, II atau III. Uji yang dilakukan pertama kali adalah melihat homogenitas data dengan uji homogenitas varian. Setelah didapatkan data yang homogen dilanjutkan dengan analisis *One Way ANOVA*. Bila hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan hasil yang signifikan maka dilakukan uji *post hoc test* untuk mengetahui signifikansi antar kelompok perlakuan. Analisis dilakukan pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Apabila diperoleh $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan yang nyata sebaliknya bila $p < 0,05$, menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna. Selain itu juga dilakukan uji korelasi regresi untuk mengetahui kekuatan hubungan dan pengaruh pemberian ekstrak metanol daun bayam terhadap kadar kolesterol total tikus serum.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Karakteristik Sampel

Tikus yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini ialah dari jenis *Rattus norvegicus* galur Wistar yang berjenis kelamin jantan, berumur 5-6 minggu, memiliki rerata berat badan 100-110 gram dan dalam kondisi sehat yang ditandai dengan dapat bergerak aktif. Jumlah sampel yang digunakan terdiri atas 30 ekor tikus dan terbagi dalam lima kelompok perlakuan dimana masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus. Perlakuan yang diberikan antara lain sebagai berikut

Tabel 5.1 Kelompok Perlakuan Tikus

Kelompok	Perlakuan
Kelompok Kontrol Negatif (P1)	Kelompok yang diberi diet normal
Kelompok Kontrol Positif (P2)	Kelompok yang diberi diet aterogenik
Kelompok Perlakuan 1 (P3)	Kelompok yang diberi diet aterogenik + ekstrak daun bayam dosis 1 (20mg/100gBB)
Kelompok Perlakuan 2 (P4)	Kelompok yang diberi diet aterogenik + ekstrak daun bayam dosis 2 (40mg/100gBB)
Kelompok Perlakuan 3 (P5)	Kelompok yang diberi diet aterogenik + ekstrak daun bayam dosis 3 (60mg/100gBB)

Selama penelitian berlangsung terjadi kematian pada beberapa tikus perlakuan yaitu 1 ekor tikus pada kelompok perlakuan 1 (P3) dan 2 ekor tikus pada perlakuan 2 (P4). Diduga kematian beberapa tikus tersebut merupakan akibat aspirasi saat dilakukan penyondean ekstrak. Berdasarkan hal tersebut maka data yang akan digunakan dalam penelitian ini berjumlah 4 data untuk tiap kelompoknya.

5.2 Asupan Pakan

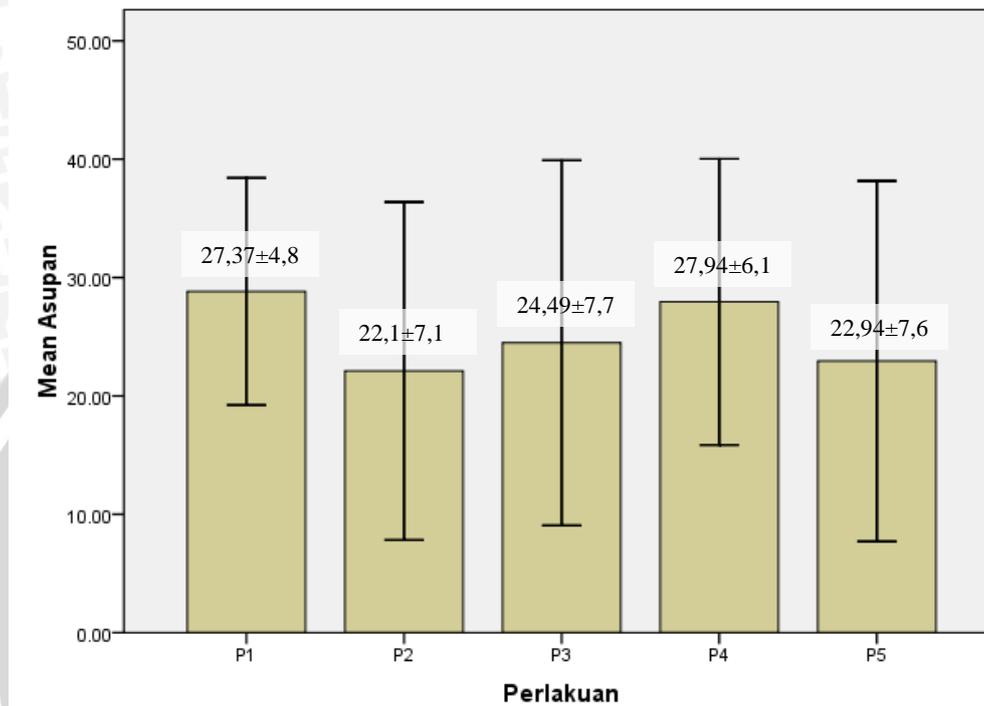
Penghitungan selisih antara jumlah pakan yang telah diberikan dengan sisa pakan digunakan sebagai penentu jumlah asupan pakan tikus dalam penelitian ini. Jumlah diet yang diberikan kepada tiap-tiap tikus sampel ialah sebesar 40 gram/hari. Besar jumlah diet yang diberikan sama pada tiap perlakuannya, baik pada diet normal maupun diet aterogenik. Hasil rerata asupan pakan tiap kelompok perlakuan selama 8 minggu tercantum pada Tabel 5.2 di bawah ini.

Tabel 5.2 Rerata Asupan Pakan Selama Perlakuan

Pengulangan	Jumlah Asupan Pakan				
	P1 (gram)	P2 (gram)	P3 (gram)	P4 (gram)	P5 (gram)
1	27,56	30,09	29,72	20,12	29,86
2	33,14	31,21	20,34	31,77	14,21
3	23,91	20,33	16,34	29,36	22,33
4	24,98	19,35	24,32	23,14	32,12
5	27,26	12,79	37,07	36,86	14,16
6	36,14	18,86	19,19	26,42	24,98
Rerata \pm SD	27,37 \pm 4,79	22,10 \pm 7,14	24,49 \pm 7,71	27,94 \pm 6,05	22,94 \pm 7,61

Hasil rerata asupan pakan dan presentase konsumsi pakan yang diberikan pada setiap perlakuan dalam sehari menunjukkan nilai tertinggi pada kelompok P4 (diet aterogenik + ekstrak bayam 400 ml/kgBB) yaitu 27,94 \pm 6,05 g/hari atau 69,85% dari pakan yang diberikan. Sedangkan untuk kelompok P1 (diet normal) berada sedikit dibawah kelompok P4 yaitu 27,37 \pm 4,79 g/hari atau 68,42% dari pakan yang diberikan. Asupan pakan terendah terjadi pada kelompok P2 (diet aterogenik) yaitu 22,10 \pm 7,14 g/hari atau 55,25% dari pakan

yang diberikan, sedikit berbeda dari kelompok P5 (diet aterogenik + ekstrak bayam 600 ml/kgBB).



Gambar 5.1 Rerata Asupan Pakan Selama Perlakuan (gram)

Keterangan : P1 : diet normal, P2 : diet aterogenik, P3 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 20 mg/100gBB, P4 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 40 mg/100gBB, P5 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 60 mg/100gBB.

Analisis statistik *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pada rerata asupan pakan lima kelompok perlakuan ($p = 0.344$)

5.3 Kadar Kolesterol Tikus

Dalam penelitian ini, pengukuran kadar kolesterol tikus dilakukan setelah semua kelompok mendapat perlakuan selama 8 minggu. Setelah mendapat perlakuan dalam kurun waktu tersebut, tikus kemudian dibunuh dan darah tikus

diambil dari bagian jantung. Darah tersebut kemudian disentrifugasi untuk memisahkan serum tikus yang selanjutnya dipakai untuk pengukuran kadar kolesterol. Pengukuran kadar kolesterol serum dilakukan dengan menggunakan metode CHOD-PAP, dengan alat spektrofotometri dan menunjukkan hasil sebagai berikut:

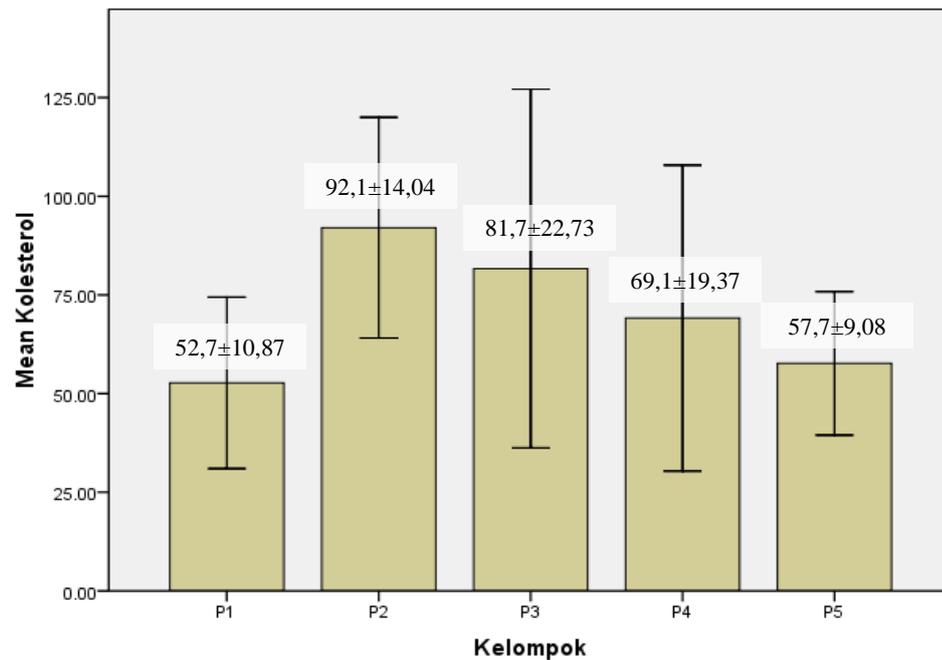
Tabel 5.3 Rerata Kadar Kolesterol Setelah Perlakuan Selama 8 minggu

Pengulangan	Kadar Kolesterol				
	P1 (mg/dl)	P2 (mg/dl)	P3 (mg/dl)	P4 (mg/dl)	P5 (mg/dl)
1	66.07	83.49	71.47	90.9	49.25
2	43.84	111.1	74.47	51.05	64.26
3	43.84	79.89	65.47	54.65	50.45
4	57.06	93.70	115.3	79.88	66.67
Rerata \pm SD	52.7 \pm 10.87	92.06 \pm 14.04	81.68 \pm 22.73	69.12 \pm 19.37	57.66 \pm 9.08

Keterangan: P1 : diet normal, P2 : diet aterogenik, P3 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 20 mg/100gBB, P4 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 40 mg/100gBB, P5 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 60 mg/100gBB.

Berdasarkan Tabel 5.3 diatas diketahui bahwa pada kelompok tikus dengan pemberian diet normal (P1) memiliki rerata kadar kolesterol yaitu 52,7 mg/dl yang merupakan kadar kolesterol terendah bila dibanding dengan kelompok yang lain. Sebaliknya pada pemberian diet aterogenik (P2) rerata kadar kolesterolnya yaitu 92,06 mg/dl yang merupakan nilai rerata tertinggi dari semua kelompok perlakuan. Pada P3 (kelompok dengan pemberian diet aterogenik dan ekstrak metanol daun bayam 20 mg/100gBB), P4 (kelompok

dengan pemberian diet aterogenik dan ekstrak metanol daun bayam 40 mg/100gBB) dan P5 (kelompok dengan pemberian diet aterogenik dan ekstrak metanol daun bayam 60 mg/100gBB) berturut-turut rerata kadar kolesterolnya yaitu 81,68 mg/dl; 69,12 mg/dl dan 57,66 mg/dl.



Gambar 5.2 Rerata Kadar Kolesterol Setelah Perlakuan Selama 8 minggu (mg/dl)

Keterangan: P1 : diet normal, P2 : diet aterogenik, P3 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 20 mg/100gBB, P4 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 40 mg/100gBB, P5 : diet aterogenik + ekstrak daun bayam 60 mg/100gBB.

Data hasil pemeriksaan kadar kolesterol setelah perlakuan selama 8 minggu dianalisis dengan menggunakan program *SPSS 16 for windows*. Uji statistik komparasi yang digunakan untuk menganalisis data tersebut adalah uji *One Way ANOVA*. Sebelum melakukan analisis data kadar kolesterol hasil penelitian menggunakan *One Way ANOVA*, harus dilakukan *Test Homogeneity of*

Variances terlebih dahulu untuk mengetahui homogenitas data. Dari Hasil *Test Homogeneity of Variances* terhadap data rerata kadar kolesterol tikus perlakuan diperoleh bahwa nilai kadar kolesterol tikus dalam keadaan homogen dengan nilai $p > 0,05$ ($p = 0,238$), sehingga memenuhi asumsi untuk dilakukan uji statistik *One Way ANOVA*

Hasil uji statistik *One Way ANOVA* dari rerata kadar kolesterol total tikus sampel didapatkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$), yaitu $p = 0,018$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan, paling sedikit antara dua kelompok perlakuan. Analisis data kemudian dilanjutkan dengan *Post hoc test (Tukey HSD)* yang bertujuan untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda secara signifikan dari hasil tes *One Way ANOVA* dengan menggunakan *Tukey HSD test*.

Uji statistik dengan menggunakan *Tukey HSD test* menunjukkan bahwa rerata kadar kolesterol kelompok kontrol negatif (P1) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif (P2) ($p = 0,024$). Namun rerata kadar kolesterol kontrol negatif (P1) berbeda tidak signifikan bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 (P3) ($p = 0,131$), kelompok perlakuan 2 (P4) ($p = 0,61$), kelompok perlakuan 3 (P5) ($p = 0,992$). Begitu juga dengan rerata kadar kolesterol kelompok Kontrol positif (P2) berbeda tidak signifikan bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 (P3) ($p = 0,887$), kelompok perlakuan 2 (P4) ($p = 0,303$) dan kelompok perlakuan 3 (P5) ($p = 0,056$).

Hasil *Homogenous Subset* pada Tabel 5.4 menunjukkan bahwa hanya terdapat dua subset pada tabel tersebut. Hal ini berarti hanya ada dua kelompok yang berbeda secara signifikan. Subset pertama diisi oleh kelompok kontrol negatif (P1), kelompok perlakuan 1 (P3), kelompok perlakuan 2 (P4) dan

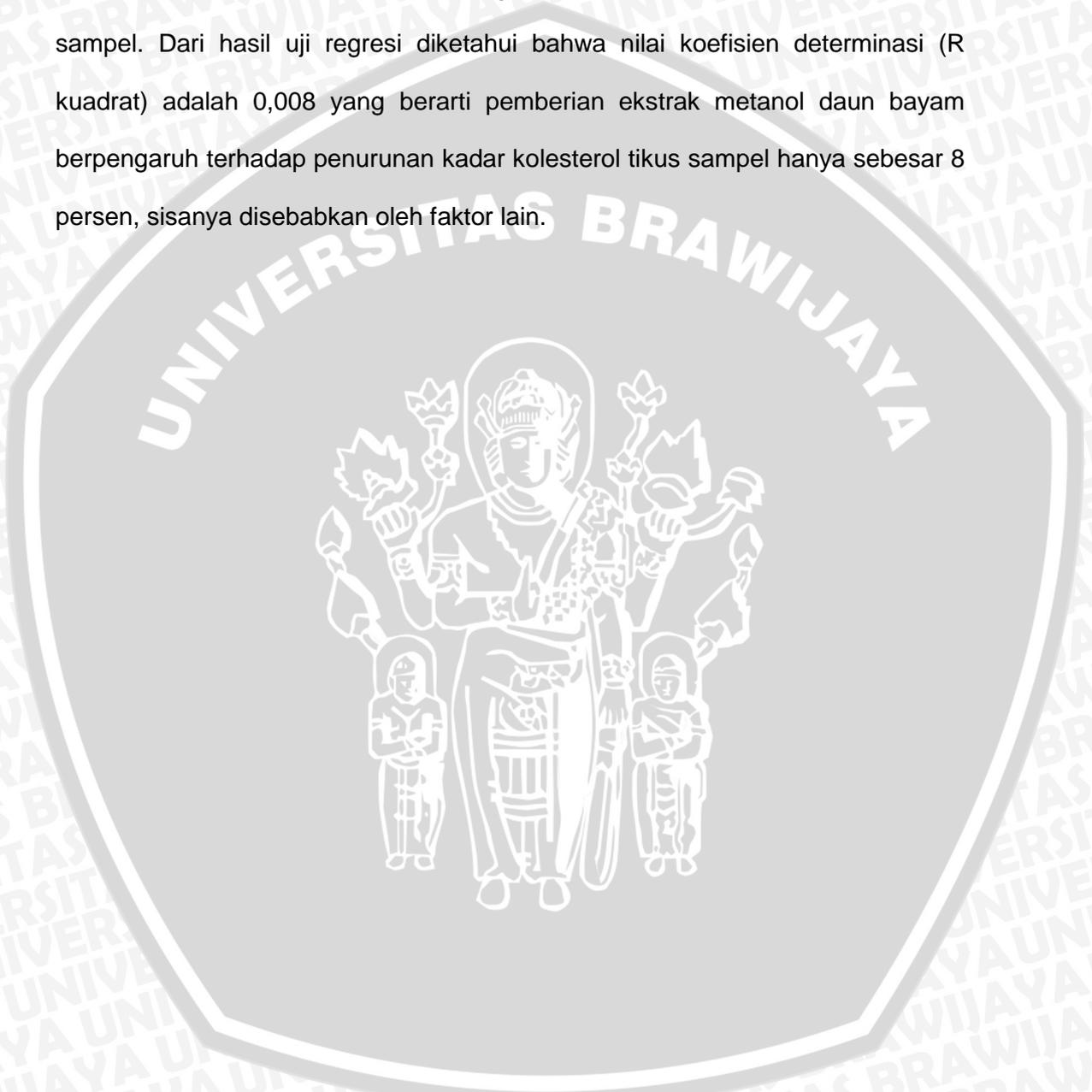
kelompok perlakuan 3 (P5). Adanya keempat kelompok tersebut dalam satu subset menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan rerata yang signifikan antara kelompok kontrol negatif (P1) dengan kelompok perlakuan 1 (P3), perlakuan 2 (P4), dan perlakuan 3 (P5). Begitu pula dengan subset kedua yang berisi kelompok kontrol positif (P2), kelompok perlakuan 1 (P3), perlakuan 2 (P4), dan perlakuan 3 (P5), tidak ada perbedaan rerata yang signifikan antara kelompok-kelompok tersebut. Adanya kelompok kontrol negatif pada subset pertama dan kelompok kontrol positif pada subset kedua (satu kelompok untuk tiap subset) menunjukkan adanya perbedaan rerata yang signifikan pada kedua kelompok tersebut. Hasil pada *Homogenous Subsets* ini sesuai dengan hasil yang telah didapat pada uji *Post hoc test (Tukey HSD)*.

Tabel 5.4 Hasil *Homogenous Subsets*

Kelompok	N	Subset untuk alfa = 0.05	
		1	2
P1	4	52.7025	
P5	4	57.6575	57.6575
P4	4	69.1200	69.1200
P3	4	81.6775	81.6775
P2	4		92.0450
Sig.		.131	.056

Untuk mengetahui hubungan dan pengaruh dari pemberian ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp.*) terhadap kadar kolesterol total tikus sampel maka dilakukan uji korelasi dan regresi. Dari hasil uji korelasi diketahui bahwa pemberian ekstrak metanol daun bayam terhadap kadar kolesterol total tikus sampel ($R = -0,091$; $p = 0,351$) mempunyai hubungan (korelasi) yang

sangat lemah dan tidak signifikan ($p > 0,05$). Nilai R yang bernilai negatif menunjukkan bahwa seiring peningkatan dosis ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp*) maka akan diikuti dengan penurunan kadar kolesterol total tikus sampel. Dari hasil uji regresi diketahui bahwa nilai koefisien determinasi (R^2) adalah 0,008 yang berarti pemberian ekstrak metanol daun bayam berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol tikus sampel hanya sebesar 8 persen, sisanya disebabkan oleh faktor lain.



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Sampel (Hewan Coba)

Sampel penelitian yang digunakan dalam tiap penelitian harus sesuai dengan kriteria inklusi untuk memperkecil terjadinya bias. Penelitian ini menggunakan hewan coba *Rattus norvegicus* galur Wistar karena mudah dalam pemeliharaan, tidak mudah sakit dan tidak mudah mati. Jenis kelamin tikus yang dipilih adalah dari jenis kelamin jantan untuk menghindari pengaruh hormon esterogen. Adanya pengaruh hormon esterogen dalam tikus betina dapat mempengaruhi sintesis lemak dan kolesterol sehingga akan menghasilkan kadar HDL yang tinggi dan LDL (lipoprotein dengan kandungan kolesterol tertinggi) rendah yang akhirnya dapat mengakibatkan terjadinya bias dalam penelitian (Rahayu, 2005).

Rerata umur dan berat badan hewan coba tergolong homogen. Secara keseluruhan umur tikus yang digunakan sebagai sampel adalah dalam rentang 5-6 minggu dengan berat badan awal yang homogen. Adanya pengkondisian tersebut diharapkan dapat memperkecil kemungkinan terjadinya bias pada hasil penelitian sehingga hanya perlakuan (diet normal, diet aterogenik dan ekstrak metanol daun bayam) yang diberikan pada saat penelitian dalam jangka waktu tertentu yang mempengaruhi perubahan yang terjadi pada hewan coba.

6.2 Asupan Pakan

Berdasarkan data pada tabel 5.2 diketahui bahwa rerata asupan pakan terendah terdapat pada kelompok kontrol positif (P2) sedangkan yang tertinggi

diantara kelompok perlakuan terdapat pada kelompok perlakuan 2 (P4) kemudian diikuti oleh kelompok perlakuan 1 (P3) dan kelompok perlakuan 3 (P5). Walaupun rerata asupan pakan kelompok perlakuan 2 (P4) menunjukkan angka tertinggi tetapi selisih reratanya tidak terlalu besar bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (P1).

Adanya perbedaan rerata asupan pakan pada tiap kelompok kemungkinan disebabkan oleh 2 faktor, yaitu pakan tikus dan tikus itu sendiri. Ditinjau dari faktor pakan tikus, adanya perbedaan pemberian pakan aterogenik dan pakan normal pada tikus perlakuan dapat mempengaruhi nafsu makan tikus. Pakan normal memiliki tekstur, aroma dan rasa mendekati pakan tikus yang biasa dikonsumsi tikus sebelum pelaksanaan penelitian sehingga tikus lebih mudah menerima pakan normal untuk dikonsumsi. Sebaliknya, pakan aterogenik memiliki perbedaan komposisi bila dibandingkan dengan pakan normal. Penambahan minyak babi, lemak kambing dan minyak kelapa mengubah tekstur pakan. Selain itu, aroma yang ditimbulkan oleh minyak babi membuat tikus kehilangan nafsu makan. Aroma tidak sedap (tengik) ini timbul karena adanya proses ransidifikasi oksidatif. Minyak babi mengandung banyak asam lemak tak jenuh (Baedori, 2006). Asam lemak tak jenuh cenderung lebih reaktif dibanding asam lemak jenuh dan bereaksi dengan oksigen bebas. Proses ini disebut ransidifikasi oksidatif dengan produk akhir keton dan aldehid yang membuat bau tengik pada minyak babi (Winamo, 2002).

Faktor tikus yang berperan dalam mempengaruhi asupan pakan tikus diantaranya adalah keadaan psikologis tikus. Perubahan keadaan lingkungan tikus selama penelitian membutuhkan proses adaptif yang tidak mudah. Bagi beberapa tikus yang masih belum bisa beradaptasi dengan lingkungan yang

baru, walaupun dengan asupan makanan yang komposisinya sama setiap harinya dapat membuat penurunan nafsu makan dan asupan makanan berkurang. Kurang berhasilnya proses adaptif ini juga akan membuat tikus cenderung kurang aktif bergerak. Tikus yang kurang aktif bergerak tentunya tidak akan membutuhkan banyak energi untuk menunjang aktivitasnya, yang nantinya akan berakibat menurunkan asupan pakan dari tikus tersebut. Sebaliknya tikus yang cenderung aktif bergerak akan membutuhkan banyak energi untuk terus bergerak sehingga membuat asupannya akan cenderung meningkat.

6.3 Pengaruh Diet terhadap Kadar Kolesterol

6.3.1 Pengaruh Diet Aterogenik terhadap Kadar Kolesterol

Dalam penelitian ini kelompok diet aterogenik (P2) tanpa pemberian ekstrak bayam diberikan diet selama 8 minggu, begitu pula dengan kelompok diet normal (P1) dan kelompok diet aterogenik dengan pemberian ekstrak bayam (P3, P4, dan P5). Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar kolesterol total pada Tabel 5.3 yang diperoleh setelah perlakuan dalam kurun waktu tersebut, dapat diketahui bahwa rerata kadar kolesterol tertinggi terdapat pada kelompok diet aterogenik tanpa pemberian ekstrak bayam (P2) yaitu 92,06 mg/dl sedangkan rerata kadar kolesterol total terendah terdapat pada kelompok diet normal (P1) yaitu 52,7 mg/dl. Dari uji statistik *One Way ANOVA* yang diteruskan dengan uji *Tukey HSD* pada kedua kelompok tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok tersebut ($p = 0,024$).

Peningkatan kadar kolesterol total pada tikus sampel terkait dengan komposisi diet aterogenik yang terdiri atas diet normal (PARS dan terigu) ditambah dengan kuning telur bebek, minyak babi, minyak kelapa dan asam

kolat yang bertujuan untuk menginduksi peningkatan kolesterol dalam darah. Pemakaian minyak babi dikarenakan kandungan kolesterolnya lebih tinggi bila dibandingkan dengan minyak hewani lain dan minyak nabati. Kuning telur bebek dan minyak kelapa digunakan sebagai sumber kolesterol tambahan untuk meningkatkan kadar kolesterol pakan. Asam kolat diberikan karena tanpa penambahan asam kolat maka pemberian diet aterogenik selama 8 minggu tidak akan meningkatkan kadar kolesterol secara bermakna (Murwani, 2006).

Dengan komposisi diet aterogenik seperti yang telah diuraikan di atas menyebabkan kadar kolesterol total tikus pada kelompok diet aterogenik lebih tinggi (92,06 mg/dl) bila dibandingkan dengan kelompok diet normal (52,7 mg/dl). Adapun kadar kolesterol total tikus dalam kondisi normal berkisar antara 10-54 mg/dl (Kusumawati, 2004; Misitahari 2011). Uji statistik terhadap data tersebut juga menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok diet normal dan diet aterogenik ($p = 0,024$). Berdasarkan data dan hasil uji statistik tersebut maka dapat disimpulkan bahwa pemberian diet aterogenik yang dilakukan dalam penelitian ini dapat meningkatkan kadar kolesterol total tikus secara signifikan. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pemberian diet aterogenik dalam penelitian sudah mencapai kondisi hiperkolesterolemia.

6.3.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Bayam terhadap Kadar Kolesterol

Dari tabel 5.3 diketahui bahwa rerata kadar kolesterol total pada kelompok perlakuan 1 (dosis 20 mg/100gBB), kelompok perlakuan 2 (dosis 40 mg/100gBB) dan kelompok perlakuan 3 (dosis 60mg/100gBB) berturut-turut adalah 81,68 mg/dl; 69,12 mg/dl dan 57,66 mg/dl. Data tersebut menunjukkan bahwa bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (92,06 mg/dl), pemberian ekstrak bayam dalam beberapa dosis yang telah ditentukan pada

tikus yang diberi diet aterogenik mengakibatkan terjadinya penurunan kadar kolesterol total dari tikus tersebut. Walaupun demikian, hasil uji statistic *Tukey HSD* menunjukkan bahwa pemberian ketiga dosis ekstrak bayam (20mg/100gBB, 40mg/100gBB dan 60mg/100gBB) belum dapat menurunkan kadar kolesterol tikus secara signifikan. Pemberian ekstrak bayam dengan dosis 1 (20mg/100gBB) pada kelompok tikus perlakuan 1 (P3) dapat menurunkan kadar kolesterol tikus tetapi berbeda tidak secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan negatif ($p = 0,131$). Hal yang sama terjadi pula pada pemberian dosis 2 (40mg/100gBB) pada kelompok tikus perlakuan 2 (P4) dan dosis 3 (60mg/100gBB) pada kelompok tikus perlakuan 3 (P5). Pemberian ekstrak bayam pada dosis 2 dan 3 dapat menurunkan kadar kolesterol tikus tetapi berbeda tidak secara signifikan bila dibanding dengan kontrol negatif dengan p berturut-turut, $p = 0.61$ dan $p = 0,992$.

Dari hasil uji korelasi dapat diketahui bahwa pemberian ketiga dosis ekstrak metanol daun bayam (20mg/100gBB, 40mg/100gBB dan 60mg/100gBB) tidak mempunyai hubungan (korelasi) yang kuat terhadap kadar kolesterol total tikus ($R = -0,091$). Selain itu, diketahui juga bahwa walaupun nilai koefisien R menunjukkan angka negatif yang berarti jika konsentrasi ekstrak metanol daun bayam semakin tinggi, maka kadar kolesterol total tikus sampel akan semakin menurun tetapi penurunan tersebut tidak menunjukkan hasil yang signifikan ($p = 0,351$). Dari hasil uji regresi didapatkan bahwa nilai koefisien determinasi (R kuadrat) adalah 0,008 yang berarti pemberian ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp.*) berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol total tikus sampel hanya sebesar 8% sisanya disebabkan oleh faktor lain.

Terjadinya penurunan rerata kadar kolesterol total pada tikus perlakuan berkaitan dengan adanya bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak methanol bayam. Beberapa kandungan bahan aktif yang diperkirakan dapat mengakibatkan terjadinya hal tersebut diantaranya adalah saponin, flavonoid dan skualen (Akubugwo *et al.*, 2007).

Saponin termasuk ke dalam *phytochemical* yang memiliki efek pada serum lipid yaitu menurunkan sintesis asam lemak (Elekofehinti *et al.*, 2012). Saponin dalam ekstrak bayam juga dapat berinteraksi langsung dengan kolesterol membentuk molekul yang tidak larut air yang nantinya akan menghambat penyerapan kolesterol. Selain itu, saponin juga berpengaruh metabolisme kolesterol secara tidak langsung yaitu dengan berikatan dengan asam empedu dan meningkatkan ekskresi fekal dari asam empedu tersebut sehingga berakibat semakin sedikitnya asam empedu yang mengalami siklus enterohepatik. Berkurangnya asam empedu dalam siklus enterohepatik memicu hati untuk menggunakan kolesterolnya membentuk asam empedu baru (Oakenfull *and* Sidhu, 1990, Francis *et al.*, 2002).

Saponin dan asam empedu, keduanya adalah senyawa *amphiphilic*, sebagian hidrofobik dan sebagian lain hidrofilik. Dalam konsentrasi tinggi dalam air, masing-masing senyawa ini membentuk misel kecil dan molekul hidrofobiknya akan saling menyatu satu sama lain. Ketika beberapa beberapa asam empedu dan saponin menyatu maka akan terbentuk misel yang terlalu besar untuk melewati *brush border* usus untuk diserap kembali. Sehingga hanya asam empedu bebas, tidak membentuk misel, yang tersedia untuk direabsorpsi (Oakenfull *and* Sidhu, 1990, Francis *et al.*, 2002).

Selain itu, akibat ikatannya dengan saponin, fungsi transport kolesterol oleh misel asam empedu juga terganggu. Jika semakin banyak ikatan saponin dan misel asam empedu terbentuk, maka akan semakin sedikit kolesterol yang dapat berikatan dengan misel asam empedu untuk ditransport ke brush border usus. Dengan demikian, akan semakin sedikit pula kolesterol yang dapat diabsorpsi oleh tubuh. Mengingat, tanpa adanya fungsi dari misel-misel ini, tentu saja pada dasarnya tidak satu pun kolesterol yang dapat diabsorpsi (Guyton and Hall, 2006).

Sintesis kolesterol pada mamalia dikontrol oleh pengaturan HMG KoA reduktase. HMG KoA reduktase adalah enzim yang mengkatalis pembentukan asam mevalonat, suatu zat prekursor pembentukan kolesterol. Jalur pembentukan kolesterol yang dikatalis oleh HMG KoA reduktase ini merupakan tahap regulatorik utama di jalur sintesis kolesterol dan merupakan tempat kerja golongan obat penurun kolesterol paling efektif, yaitu inhibitor HMG KoA reduktase, contohnya obat-obatan dari golongan statin. Diharapkan dengan menghambat kerja enzim HMG KoA reduktase maka sintesis kolesterol akan terhambat dan menurunkan kadar kolesterol darah (Murray *et al.*, 2006).

Skualen banyak terkandung dalam *Amaranthus Sp.* Skualen, meskipun merupakan produk pertengahan dalam biosintesis kolesterol, pengkonsumsiannya belum menunjukkan terjadinya peningkatan serum kolesterol darah. Sebaliknya, banyak penelitian yang menyebutkan bahwa konsumsi skualen dapat menurunkan kadar kolesterol darah. Murray *et al.* (2006) menyebutkan bahwa kolesterol, mevalonat, skualen dan metabolit-metabolit kolesterol lainnya dapat menekan transkripsi HMG-KoA reduktase melalui pengaktifan faktor transkripsi *sterol regulatory element-binding protein* (SREBP).

SREBP adalah suatu famili protein yang mengatur transkripsi berbagai gen yang berperan dalam penyerapan dan metabolisme kolesterol serta lipid lain oleh sel. Escudero *et al.* (2006) menyebutkan bahwa injeksi skualene pada tikus dapat menurunkan aktivitas dari HMG CoA reduktase serta secara simultan meningkatkan jumlah kolesterol dan asam empedu dalam feses. Farvin *et al.* (2009) juga menemukan bahwa suplementasi skualen dapat meningkatkan ekskresi fekal dari kolesterol pada tikus eksperimen. Peneliti lain, Martirosyan *et al.* (2007) menemukan bahwa minyak bayam yang mengandung banyak skualen di dalamnya dapat menurunkan kadar kolesterol total, TG, LDL dan VLDL dalam darah secara signifikan.

Selain skualen kandungan lain yang berperan dalam menurunkan kadar kolesterol total hewan coba ialah flavonoid. Diantara berbagai jenis flavonoid yang ada, *Amaranthus hybridus* menjadi salah satu sumber terbaik untuk flavonoid rutin (Dadakova and Kalinova, 2009). Pada penelitian Mossadegh *et al.* (2004) menyebutkan bahwa terjadinya penurunan kadar kolesterol total dan kadar trigliserida pada tikus yang diberi diet tinggi kolesterol merupakan efek dari adanya flavonoid (isoquercetin dan rutin). Hasil yang sama diperoleh Silva *et al.* (2001) bahwa flavonoid rutin dan narigin dapat mengurangi kadar kolesterol total secara signifikan, kolesterol LDL, kolesterol VLDL dan trigliserida. Menurut Kabiri *et al.* (2010), penurunan profil lipid dapat dicapai karena flavonoid memiliki berfungsi untuk menurunkan sekresi apo B di hepatosit dan menghambat aktivitas enzim *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzim A reductase* (HMG CoA reduktase).

Ketiga dosis ekstrak methanol daun bayam pada penelitian ini dapat menurunkan kadar kolesterol total sampel. Namun berdasarkan hasil uji statistik,

penurunan tersebut menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Diperkirakan hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu penentuan dosis ekstrak, proses pengenceran ekstrak dan perhitungan kolesterol total serum.

Penentuan dosis pada penelitian kali ini merujuk pada penelitian Nagar *et al.* (2011) yang menggunakan ketiga dosis tersebut (20mg/100gBB, 40mg/100gBB dan 60mg/100gBB) untuk mengetahui efek antiinflamasi pada ekstrak metanol daun bayam. Namun penggunaan ketiga dosis yang sama untuk menurunkan kadar kolesterol total atau sebagai antihiperkolesterolemik pada penelitian kali ini ternyata belum berhasil. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui rentang dosis ekstrak metanol bayam yang memberikan efek optimal dan maksimal dalam menurunkan kadar kolesterol total tanpa menimbulkan efek toksik.

Pengenceran ekstrak bayam yang awalnya berbentuk gel/pasta juga memiliki resiko karena menggunakan teknik manual dalam prosesnya. Untuk mendapatkan ekstrak bayam cair digunakan penggerus untuk mencampurkan gel dengan aquades. Padatnya gel membuat proses pencampuran menghabiskan waktu yang cukup lama. Selain itu, beberapa gel ekstrak masih belum dapat bercampur dengan baik mengendap di dasar bejana. Hal ini mungkin mengurangi konsentrasi ekstrak yang diberikan pada sampel. Oleh karena itu, proses pengenceran sebaiknya dilakukan secara bertahap dengan jumlah pasta yang lebih sedikit sehingga memudahkan dalam prosesnya. Walaupun nantinya akan lebih sering melakukan proses pengenceran tetapi dengan proses yang bertahap dan jumlah pasta yang lebih sedikit dapat dipastikan bahwa nantinya seluruh pasta akan terencerkan dengan baik. Dengan demikian dosis yang diinginkan dapat tercapai dengan baik.

Penghitungan kadar kolesterol total dalam penelitian ini dihitung dengan menggunakan metode CHOD-PAP menggunakan alat spektrofotometer. Beberapa prosedur dalam proses penghitungan kadar kolesterol total membutuhkan ketelitian. Pengambilan sampel darah yang tidak hati-hati dapat membuat sel darah merah yang terambil akan mengalami lisis. Banyaknya sel darah merah yang mengalami lisis berakibat serum yang dihasilkan menjadi tidak sempurna. Hal ini dapat mengganggu pembacaan kadar kolesterol total pada spektrofotometri. Beberapa spesimen yang ada juga mengalami hemolisis ditandai dengan warna merah pada serum. Selain itu, sejumlah prosedur pengkondisian serum agar dapat terbaca oleh mesin spektrofotometer membutuhkan ketepatan jumlah dan waktu. Beberapa spesimen mungkin mengalami perlakuan yang tidak semestinya sehingga mengakibatkan hasil yang tidak sesuai dengan harapan. Adanya sampel yang mati sebelum hari yang telah ditentukan membuat beberapa data pada suatu kelompok perlakuan hilang. Pengaruh hilangnya beberapa data ini menjadi salah satu faktor yang berperan dalam tidak signifikannya hasil penelitian ini.

Berdasarkan uraian di atas, dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp*) pada tikus yang diberi diet aterogenik cenderung menurunkan kadar kolesterol total serum tikus sampel.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

7.1.1 Pemberian diet aterogenik pada kelompok tikus yang hanya diberi diet aterogenik dapat meningkatkan kadar kolesterol total tikus secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi diet normal.

7.1.2 Pemberian ekstrak metanol daun bayam (*Amaranthus sp*) pada tikus yang diberi diet aterogenik cenderung menurunkan kadar kolesterol total tikus tersebut meskipun tidak secara bermakna.

7.2 Saran

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis minimum, dosis optimum dan dosis maksimum pemberian ekstrak methanol daun bayam untuk menurunkan kadar kolesterol total tikus yang diberi diet aterogenik tanpa adanya efek toksik pada sampel.
- Pengambilan sampel darah sebaiknya dilakukan dengan sangat berhati-hati sesuai prosedur yang dianjurkan untuk menghindari kerusakan sampel.
- Pengukuran serum sebaiknya segera dilakukan setelah pengambilan darah untuk menghindari terjadinya lisis pada sampel serum sehingga didapatkan hasil yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

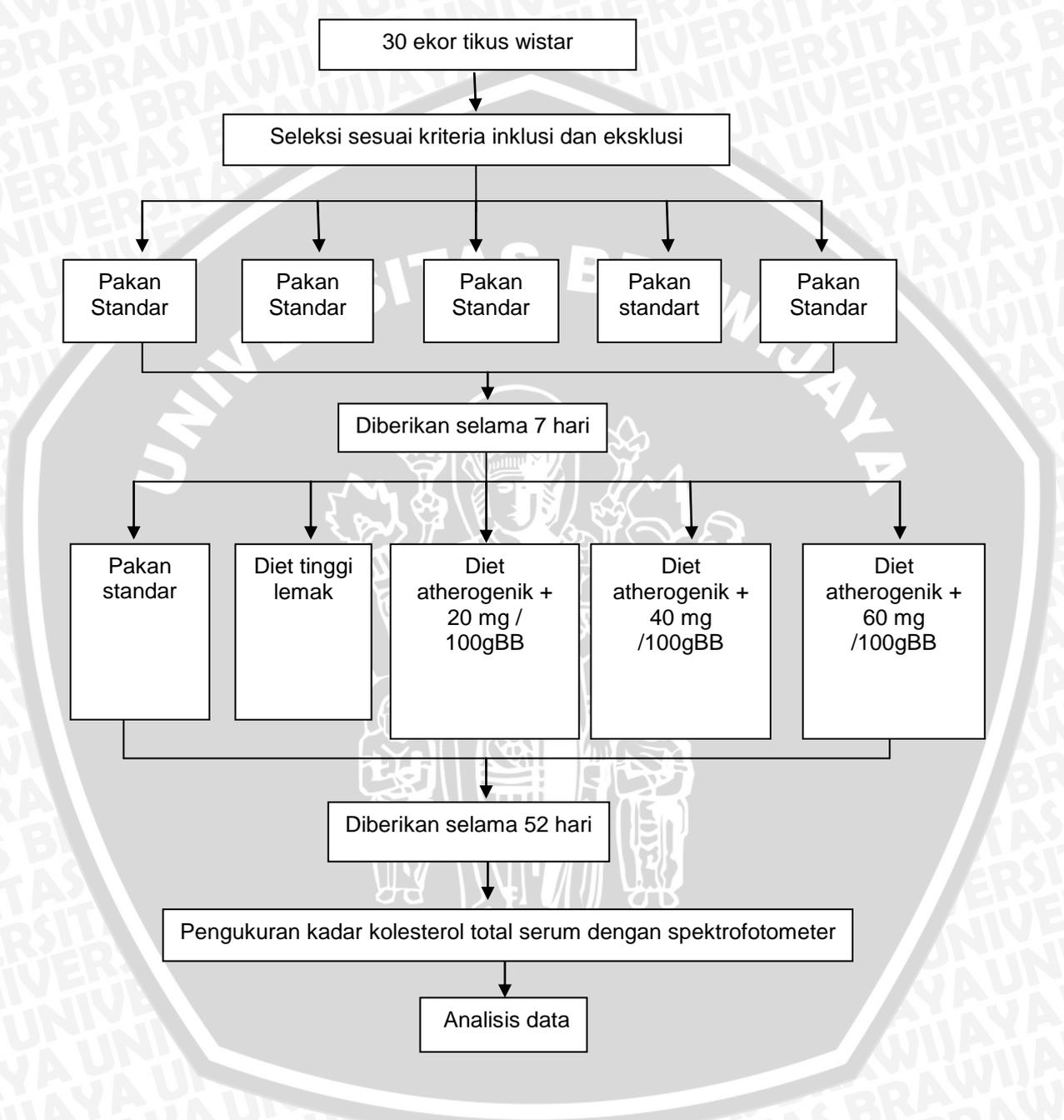
- Aaronson P I., Ward J. P.T., Wiener C. M., Schulman S. P., Gill J. S. 2000. *The Cardiovascular System at a Glance*. Alden Group. United Kingdom hal 66-72
- Akubugwo I. E., Obasi, N.A., Chinyere G.C, Ugbogu A. E. 2007. *Nutritional and Chemical Value of Amaranthus hybridus L. Leaves from Afikpo, Nigeria*. African Journal of Biotechnology Vol. 6 (24), pp. 2833-2839.
- Almatsier S.2003. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- American Heart Association. 2010. *Heart Disease and Stroke Statistic-2010 Update : A Report From the American Heart Association*. Circulation. 121:e46-e215.
- Anwar T. B. 2004. Dislipidemia Sebagai Faktor Resiko Penyakit Jantung Koroner., E-USU Repository Universitas Sumatera Utara, hal.2.
- Boren J., Olin K, Olin L, Isabelle C, Alan W., Thomasa N., Innerarity T L. 1998. *Identification of the Principal Proteoglycan-binding Site in LDL*. The American Society for Clinical Investigation.
- Cantrill Richard. 2008. *Phytosterol, Phytostanols and Their Esters*. (CTA) Page 1(13).
- Caselato-Sousa, V. M. and Amaya-Farfán, J. (2012), State of Knowledge on Amaranth Grain: A Comprehensive Review. Journal of Food Science, 77: R93–R104. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02645.x
- Dalimartha S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 5*, Pustaka Bunda, Jakarta.
- Dai J. and Mumper R.J. *Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties*. Molecules 2010, (15): 7313-7352.
- Das K., Tiwari R.K.S. and Shrivastava D.K. *Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends*. Journal of Medicinal Plants Research, 2010, 4(2): 104-111.
- DEPKES. 2009. Profil Kesehatan Indonesia 2008. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, hal.29-62.
- Dirks A J., and Jones, K M. 2006. *Statin Induced Apoptosis and Skeletal Myopathy*. (Online) (Abstract). (<http://physiologyajpcell.physiology.org> diakses 8 Agustus 2012)

- Elekofehinti O.O., Adanlawo I.G., Saliu J.A., Sodehinda S.A. 2012. *Saponins from Solanum anguivi fruits exhibit hypolipidemic potential in Rattus novgoricus*. Der Pharmacia Lettre, 2012, 4 (3):811-814.
- Escudero N.L., Zirulnik F., Gomez, N.N., Mucciarelli, S.I., Gimenez, M.S. 2006. *Influence of a Protein Concentrate from Amaranthus cruentus Seeds on Lipid Metabolism*. Exp Biol Med 231:50-9 PubMed, Web of Science
- Fatima S. 2009. *Studi Kadar Klorofil dan Zat besi (fe) pada beberapoa Jenis Bayam Terhadap jumlah Eritrosit tikus Putih (Rattus Novergicus) Anemia. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas sain dan Teknologi UIN Maulana malik Ibrahim, Malang.*
- Fauci A S., Kasper D L., Longo D L., Hauser S L., Jameson J.L., Loscalzo Joseph. 2008. *Harrison's Principles of Internal medicine, 17th ed.*, McGraw-Hill Medical, Newyork city, p.
- Francis G., Kerem Z., Makkar H. P.S., Becker K. 2002. *The biological action of saponins in animal systems: a review.* (online) (<http://journals.cambridge.org/BJN>, diakses 6 Desember 2012)
- Gersh, B. J., Sliwa, K., Mayosi, B M., Yusuf, S. 2010. *The epidemic of cardiovascular disease in the developing world: global implications*. European Heart Journal (2010) 31, 642–648
- Guyton AC., Hall JE. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Penerbit Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
- ICS, UNIDO.2008. *Extraction Technologies for medicinal and Aromatic Plants.* (online), (www.ics.trieste.it/media/136881/df4312.pdf, diakses tanggal 11 januari 2012).
- K.H.S. Farvin, A. Surendraraj and R. Anandan, 2009. Synergistic Effect of Squalene and Simvastatin on Fecal Cholesterol Excretion in Rats. *Asian Journal of Clinical Nutrition*, 1: 102-106
- Kabiri, N., Asgary S., Madani H., Mahzouni P. 2010. *Effect of Amaranthus caudatus l. Extract and lovastatin on Atherosclerosis in Hypercholesterolemic Rabbits.* (Online) (<http://academicjournals.org/JMPR> diakses 15 Juli 2012)
- Kalinova, J and Dadakova, E. 2009. *Rutin and Total Quercetin in Amaranth (Amaranth spp.). (Abstract). Plant Foods for Human Nutrition Volume 64, Issue 1, pp 68-74*
- Lenny S. 2006. *Isolasi dan Bioaktivitas Kandungan utama Kimia Puding Merah dengan Metoda Uji Brine Shrimps. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Universitas Sumatra Utara,*

- Misitahari M.I. 2011. *Pemberian Growth Hormone Menurunkan Kadar Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) pada Tikus Jantan yang Dislipidemia. Tidak diterbitkan. Universitas Udayana Denpasar.*
- Murray R. K., Granner D K., Rodwel V W. 2006. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 27th ed., McGraw-Hill Medical, Newyork city.
- Murwani S, Mulyohadi A, Muliarta K. 2005. Diet Atherogenik pada Tikus Putih sebagai Model Hewan Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, vol XXII, No. 1.
- Norvahidah A. 2009. *Pengaruh Pemberian Quercetin terhadap Pembentukan Foam Cell pada Tikus Wistar Jantan (Rattus Norvegicus) yang Diberi Diet Aterogenik*. Tugas Akhir tidak diterbitkan, Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
- Patar A and Yahaya B H. 2012. *The Analysis of Aquoues and Ethanolic Extracts of Malaysian Mikania Cordata Leaves towards the Potential for Medicinal Substances*. www.europeanjournalofscientificresearch.com
- Price S A and Wilson L. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit Edisi 6*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Rachmadan. 2012. *Tanaman Bayam Duri*, (online) (<http://www.rachmadan.com/2012/04/tanaman-bayam-duri-18.html>, diakses 8 Agustus 2012).
- Rahayu T. 2005. *Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih (Rattus norvegicus L) Setelah Pemberian Cairan Kombucha Per-Oral*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, Vol. 6, No. 2, 2005: 85 – 100
- Rodes J, Benhamou J P., Blei A, Reichen J, Rizzeto M. 2007. *The Textbook of Hepatology: From Basic Science to Clinical Practice, 3rded.*, Wiley-Blackwell, New jersey, p. 133-142.
- Sandhar H.K., Prasher S., Tiwari P., Salhan M., Sharma P. *A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids*. *Internationale Pharmaceutica Scienca*, 2011, 1(1):25-41.
- Sidhu, G. S. and Oakenfull, S.G (1990). *A mechanism for the hypocholesterolaemic activity of saponins*. *British Journal of Nutrition*, (online) (http://journals.cambridge.org/abstract_S0007114586000727 diakses 28 Agustus 2012)
- Sihombing, A B. H. 2003. *Pemanfaatan Rumput Laut sebagai Sumber Serat Pangan dalam Ransum untuk Menurunkan Kadar Kolesterol Darah Tikus Percobaan. Tidak diterbitkan. Institut Pertanian Bogor*

- Supriyadi L, Bayuardi W, Ratnasari J, Rofiq M, Wulansari D, Pribadi E.M., Ikkyu Y, Siradjuddin I, Rosalyn H E. 2003. *Sayuran bayam*, (online) (<http://www.situshijau.co.id/tanaman/sayuran/b.htm>, diakses 8 Agustus 2012).
- Suriaji. 2009. *Tanaman Bayam*, (online) (<http://ajichrw.wordpress.com/2009/07/15/tanaman-bayam>, diakses 8 Agustus 2012).
- Traub O and Berk, B C. 1998. *Laminar Shear Stress : Mechanism by Which Endothelial Cells Transduce an Atheroprotective Force*. (online) (<http://atvb.ahajournals.org> diakses 11 September 2012)
- Turkmen N, Velioglu S, Sari F, Polat G. 2007. *Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea*. *Molecules* 12: 484-496.
- USDA, NRCS. 2012. *Classification for Kingdom Plantae Down to Species Amaranthus hybridus L.*, (online) (<http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=profile&symbol=AMHY&display=31>, diakses 8 Agustus 2012).
- WHO. 2010. *World Health Organization Statistical Information System (WHOSIS)*, (online) (www.who.int/entity/gho/publications/world_health_statistics/EN_WHS10_Full.pdf, diakses 20 Juli 2012).
- Yucekutlu A. N., dan Bildacı I. *Determination of Plant Saponins and Some of Gypsophila Species: A review of the literature*. *Hacettepe J. Biol. & Chem.*, 2008, 36 (2): 129-135.

Lampiran 1 Diagram Alur Penelitian



Lampiran 2. Hasil Analisis Data Asupan Pakan Diet Aterogenik

Uji Shapiro-wilk

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Pakan 1	.265	6	.200*	.893	6	.334
2	.205	6	.200*	.931	6	.586
3	.120	6	.200*	.989	6	.987
4	.208	6	.200*	.902	6	.387

a. Lilliefors Significance Correction

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

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Pakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.164	3	20	.919

Uji One-Way ANOVA

ANOVA

Pakan	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	119.767	3	39.922	.779	.519
Within Groups	1024.621	20	51.231		
Total	1144.388	23			



Lampiran 3. Hasil Analisis Data Kolesterol Total Serum

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Kolesterol			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.559	4	15	.236

Uji Shapiro-wilk

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kolesterol	.126	20	.200*	.937	20	.209

a. Lilliefors Significance Correction

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

Uji One-Way ANOVA

ANOVA

Kolesterol					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4290.440	4	1072.610	4.164	.018
Within Groups	3864.331	15	257.622		
Total	8154.771	19			

Post Hoc Tests (Tukey HSD)

Multiple Comparisons

Dependent Variable:Kolesterol

	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	P1	P2	-39.34250*	11.34949	.024	-74.3889	-4.2961
		P3	-28.97500	11.34949	.131	-64.0214	6.0714
		P4	-16.41750	11.34949	.609	-51.4639	18.6289
		P5	-4.95500	11.34949	.992	-40.0014	30.0914
	P2	P1	39.34250*	11.34949	.024	4.2961	74.3889
		P3	10.36750	11.34949	.887	-24.6789	45.4139
		P4	22.92500	11.34949	.303	-12.1214	57.9714
		P5	34.38750	11.34949	.056	-.6589	69.4339
	P3	P1	28.97500	11.34949	.131	-6.0714	64.0214
		P2	-10.36750	11.34949	.887	-45.4139	24.6789
		P4	12.55750	11.34949	.801	-22.4889	47.6039
		P5	24.02000	11.34949	.263	-11.0264	59.0664
	P4	P1	16.41750	11.34949	.609	-18.6289	51.4639
		P2	-22.92500	11.34949	.303	-57.9714	12.1214
		P3	-12.55750	11.34949	.801	-47.6039	22.4889
		P5	11.46250	11.34949	.847	-23.5839	46.5089
	P5	P1	4.95500	11.34949	.992	-30.0914	40.0014
		P2	-34.38750	11.34949	.056	-69.4339	.6589
		P3	-24.02000	11.34949	.263	-59.0664	11.0264
		P4	-11.46250	11.34949	.847	-46.5089	23.5839

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



Hasil Homogenous Subsets

Kelompok	N	Subset untuk alpha = 0.05	
		1	2
P1	4	52.7025	
P5	4	57.6575	57.6575
P4	4	69.1200	69.1200
P3	4	81.6775	81.6775
P2	4		92.0450
Sig.		.131	.056

Uji Korelasi dan Regresi

Correlations			
		Kolesterol	Kelompok
Pearson Correlation	Kolesterol	1.000	-.091
	Kelompok	-.091	1.000
Sig. (1-tailed)	Kolesterol	.	.351
	Kelompok	.351	.
N	Kolesterol	20	20
	Kelompok	20	20

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable:Kolesterol

Equation	Model Summary					Parameter Estimates	
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1
Linear	.008	.151	1	18	.702	74.545	-1.302

The independent variable is Kelompok.



Lampiran 4

ASUPAN MAKANAN TIKUS

Tanggal 14-28 April 2012

Kelo m- pok	Tanggal														
	14 4 12	15 4 12	16 4 12	17 4 12	18 4 12	19 4 12	20 4 12	21 4 12	22 4 12	23 4 12	24 4 12	25 4 12	26 4 12	27 4 12	28 4 12
K(-)1	29	27	35	35	38	38	28	38	31	26	21	34	29	29	39
K(-)2	26	20	35	35	24	38	27	38	22	30	24	36	38	36	41
K(-)3	21	14	25	17	18	32	20	28	24	19	11	27	28	21	40
K(-)4	9	7	21	14	13	22	23	19	20	23	12	21	23	26	30
K(-)5	20	20	14	22	13	23	20	25	22	36	8	33	35	33	40
K(-)6	27	34	35	35	38	38	38	38	38	38	38	38	38	35	48
K(+1)	22	18	18	15	21	19	20	30	23	20	12	32	38	34	36
K(+2)	37	38	34	26	30	37	32	35	29	28	23	31	19	16	23
K(+3)	15	13	15	6	13	12	12	9	6	13	8	36	23	19	17
K(+4)	12	8	10	12	12	13	10	10	13	11	6	12	13	12	9
K(+5)	20	12	18	4	13	9	15	17	10	10	3	11	8	6	9
K(+6)	21	21	19	17	16	19	15	25	17	14	10	20	13	8	13
P1.1	20	12	13	10	22	22	18	25	18	18	11	22	13	37	26
P1.2	16	7	15	9	14	24	9	24	27	20	16	38	28	34	18
P1.3	24	18	21	18	21	15	15	15	10	15	12	24	15	24	9
P1.4	11	13	7	10	20	14	14	16	6	14	8	16	21	29	14
P1.5	38	38	35	35	38	38	30	38	38	28	38	0	36	38	22
P1.6	9	10	5	13	15	14	8	18	22	16	9	16	8	36	8
P2.1	16	15	15	6	14	13	16	20	14	18	12	38	27	23	23
P2.2	12	23	18	13	23	16	19	37	14	22	11	38	37	33	33
P2.3	15	15	18	16	38	32	31	34	30	36	12	38	37	26	29
P2.4	16	13	12	6	17	17	12	16	14	12	7	38	23	13	19
P2.5	26	24	35	35	38	36	38	33	27	37	38	38	36	32	36
P2.6	17	15	21	16	18	18	13	22	20	37	20	38	38	32	36
P3.1	15	13	14	10	11	8	11	8	11	19	9	16	17	18	15
P3.2	14	13	17	13	19	14	20	18	19	18	8	20	18	9	21
P3.3	9	17	18	11	14	7	14	37	35	36	12	38	38	37	34
P3.4	13	12	14	5	10	11	13	11	7	14	9	12	12	5	10
P3.5	27	13	16	12	18	11	18	22	19	18	6	38	33	4	13
P3.6	14	18	28	21	15	34	18	35	18	29	18	36	25	18	26

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)



Tanggal 29 April-17 Mei 2012

Ke Lom pok	Tanggal														
	29 4 12	30 4 12	1 5 12	2 5 12	3 5 12	4 5 12	5 5 12	7 5 12	8 5 12	12 5 12	13 5 12	14 5 12	15 5 12	16 5 12	17 5 12
K(-)1	26	36	22	25	38	20	32	30	29	37	13	19	45	22	16
K(-)2	41	46	32	28	39	32	33	39	43	39	39	39	44	21	42
K(-)3	27	34	24	24	26	18	20	25	22	32	13	17	30	16	25
K(-)4	30	42	24	26	25	24	19	35	30	39	32	30	19	30	23
K(-)5	41	38	29	41	36	31	31	35	40	39	38	15	17	16	38
K(-)6	46	48	45	38	43	32	36	37	40	39	39	47	16	42	40
K(+1)	33	39	36	19	22	22	23	35	26	39	34	33	38	42	40
K(+2)	28	30	32	22	26	18	27	32	35	39	33	41	39	38	39
K(+3)	24	20	15	8	17	12	18	25	14	36	14	18	37	7	33
K(+4)	9	27	19	9	13	11	14	25	10	20	8	13	44	12	36
K(+5)	6	10	8	5	10	8	11	2	7	15	8	13	43	2	7
K(+6)	13	22	27	21	23	19	24	12	10	8	5	13	45	4	16
P1.1	30	20	25	26	28	25	29	23	30	40	35	34	40	44	41
P1.2	16	17	12	8	23	14	24	30	16	35	5	12	13	16	19
P1.3	19	12	11	16	19	13	21	15	19	10	14	-----	-----	----	----
P1.4	23	24	20	13	15	14	16	20	6	28	14	11	21	21	34
P1.5	34	35	54	35	33	30	34	38	35	40	40	38	38	45	34
P1.6	18	3	9	11	15	15	16	16	21	40	13	19	28	18	24
P2.1	13	3	10	12	11	13	11	20	18	28	12	17	23	14	38
P2.2	36	37	33	15	21	18	21	38	37	35	32	45	43	45	45
P2.3	37	36	38	35	35	24	34	-----	-----	-----	-----	-----	----	-----	----
P2.4	17	10	10	5	16	12	15	7	11	36	14	28	38	30	44
P2.5	36	38	59	39	32	31	31	38	36	40	40	38	31	45	45
P2.6	37	37	37	21	26	26	25	30	34	-----	-----	-----	-----	----	-----
P3.1	14	13	11	9	14	10	13	2	11	9	4	11	14	13	20
P3.2	13	30	25	16	17	16	16	29	11	39	8	10	28	21	24
P3.3	36	38	34	26	20	19	18	36	31	40	39	38	38	43	44
P3.4	11	18	10	22	14	18	13	2	9	33	9	14	23	17	17
P3.5	26	30	32	18	25	27	24	16	13	35	9	20	27	18	41
P3.6	29	34	17	26	30	25	29	37	35	9	37	36	33	38	39

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)



Tanggal 18 Mei-1 Juni 2012

Ke Lom pok	Tanggal													
	18 5 12	19 5 12	20 5 12	21 5 12	22 5 12	23 5 12	24 5 12	25 5 12	27 5 12	29 5 12	30 5 12	31 5 12	1 6 12	
K(-)1	16	19	33	10	5	32	18	14	44	27	31	23	19	
K(-)2	42	20	41	39	34	24	24	10	23	35	29	41	42	
K(-)3	25	15	42	20	15	25	30	20	44	28	33	23	19	
K(-)4	23	31	40	30	17	23	16	13	42	27	23	34	29	
K(-)5	38	22	35	20	11	33	10	35	21	22	37	22	25	
K(-)6	40	34	39	40	41	25	25	10	30	43	25	21	35	
K(+1)	40	44	55	25	30	15	38	33	38	45	44	23	22	
K(+2)	39	42	32	35	40	16	18	15	39	39	40	41	25	
K(+3)	33	42	18	34	30	25	34	17	37	32	21	18	21	
K(+4)	36	44	15	20	25	35	40	20	44	18	41	27	33	
K(+5)	7	14	37	15	19	17	5	15	16	30	19	12	19	
K(+6)	16	15	12	16	17	19	21	25	35	34	40	36	20	
P1.1	41	43	43	40	44	41	43	27	45	45	32	39	44	
P1.2	19	32	20	21	30	20	18	16	25	36	27	27	24	
P1.3	----	----	-----	----	-----	-----	-----	-----	----	-----	-----	-----	----	
P1.4	34	15	20	17	15	26	12	24	42	39	39	40	41	
P1.5	34	33	35	42	40	43	41	22	44	45	25	45	44	
P1.6	24	17	33	26	35	25	24	23	33	32	36	11	39	
P2.1	38	40	39	44	40	30	20	15	20	18	17	15	20	
P2.2	45	44	43	30	45	43	44	15	45	45	28	44	45	
P2.3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
P2.4	44	41	42	17	40	35	38	31	42	45	25	29	42	
P2.5	45	38	33	35	45	39	41	32	44	45	15	42	44	
P2.6	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
P3.1	20	34	17	19	30	31	21	5	17	15	16	12	16	
P3.2	24	17	27	23	42	35	35	33	44	31	34	31	38	
P3.3	44	44	44	37	44	37	43	18	44	45	40	45	39	
P3.4	17	22	18	16	25	20	11	23	15	22	16	12	17	
P3.5	41	42	31	21	44	39	10	19	40	45	42	44	43	
P3.6	39	41	37	35	40	40	35	31	45	45	24	39	21	

Keterangan:

Asupan Makanan : berat pakan – sisa pakan (gr)

Lampiran 5

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Peneliti : Tito Rustanto N

NIM : 0910710124

Judul : Efek Ekstrak Metanol Daun Bayam (*Amaranthus sp*) terhadap Kadar Kolesterol Tikus (*Rattus norvegicus galur Wistar*) 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, Maret 2013

Tito Rustanto N

NIM: 0910710124