PENGARUH YOGHURT SUSU KAMBING SEBAGAI PENCEGAHAN UNTUK HIPERKOLESTEROLEMIA MELALUI PENGAMATAN MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN TNF-α PADA JANTUNG HEWAN MODEL TIKUS (*Rattus norvegicus*)

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

RACHMAD HERI WIBOWO IRAWAN
105130101111032

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Pengaruh Yoghurt Susu Kambing Sebagai Pencegahan Untuk Hiperkolesterolemia Melalui Pengamatan Malondialdehida (MDA) dan TNF-α Pada Jantung Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*)

Oleh :
RACHMAD HERI WIBOWO IRAWAN
105130101111032

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 01 Oktober 2014
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I	Pembimbing II
Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS	**drh. Masdiana C. Padaga, M. App. Sc**
NIP. 19520412 198002 1 001	NIP. 19560210 198403 2 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kedokteran Hewan
Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

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

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Rachmad Heri Wibowo Irawan

NIM : 105130101111032

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Pengaruh Yoghurt Susu Kambing Sebagai Pencegahan Untuk Hiperkolesterolemia Melalui Pengamatan Malondialdehida (MDA) dan TNF-α Pada Jantung Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*)

Dengan ini menyatakan bahwa`:

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

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 01 Oktober 2014
Yang Menyatakan,

Rachmad Heri Wibowo Irawan
NIM. 105130101111032

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Kuasa, karena atas rahmat, karunia, dan hidayahNya, skripsi yang berjudul "**PENGARUH YOGHURT SUSU KAMBING SEBAGAI PENCEGAHAN UNTUK HIPERKOLESTEROLEMIA MELALUI PENGAMATAN MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN TNF-α TIKUS (*Rattus norvegicus*)**" dapat selesai disusun.

Pada penulisan skripsi ini penulis tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS selaku dosen pembimbing I atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu selama penyusunan skripsi demi kesempurnaan skripsi.
2. drh. Madiana C. Padaga, M. App. Sc selaku dosen pembimbing II atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu selama penyusunan skripsi demi kesempurnaan skripsi.
3. drh. Dyah Ayu Oktavianie, M. Biotech dan drh. Citra Sari selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan saran dan kritik kepada penulis.
4. Prof. Dr. Aulanni'am, drh, DES, selaku Ketua Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
5. Dr. Agung Pramana Warih Mahendra, MS, selaku Ketua Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang
6. Keluarga penulis, Bapak Drs. Hergani, MM dan Ibu Dra. Sri Poerwani, M,Si yang senantiasa memberikan dorongan, semangat, dan doa yang tiada henti demi keberhasilan anaknya. Kakak saya Pratama Herwandinata Putra yang selalu memberikan kehangatan dan keceriaan dalam setiap langkah perjalanan hidup yang telah terlewati.
7. Seluruh staf serta asisten Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, khususnya mbak Vivi Shofia dan mas Elhaq selaku asisten pendamping, Pak Har yang telah membantu merawat hewan coba.

8. Teman-teman satu penelitian saya Hendra S, Wahyuni O. P, Sultan A. A. A, Lailaturrizqiyah A. A, Adhika R. P, Maulida Ratri, Aman Y. I, Ivan R. Y, Anggun S, Sugiarto, Sukarno, Nur Fahmi, Gigihsetyo H, Adin N, Yusvani S, Serena O. N, Bondan M, Ida T, Anindya N. K, Desi R dan Maya R atas semangat, kerja sama serta berjuang bersama dalam penelitian ini.
9. Sahabat saya Riski N, Ganendra A. K, Wahyuni O. P, Lailaturrizqiyah A. A, Sultan A. A. A, Uno W, Adik Putri F, Zulfikar S, Bernadhita G. S, Rinta N. A, Friski R. A, Fitria R dan Berlya Putri yang telah memberikan dukungan kepada saya.
10. Teman-teman angkatan 2010, khususnya 2010 B yang selalu memberikan semangat dan inspirasi.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan karya tulis ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan proposal skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Malang, 01 Oktober 2014

Penulis

Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Sebagai Pencegahan Untuk Hiperkolesterolemia Melalui Pengamatan Malondialdehida (MDA) dan TNF-α pada Jantung Hewan Model TIKUS (*Rattus norvegicus*)

ABSTRAK

Konsumsi makanan yang mengandung kolesterol tinggi dapat menyebabkan kondisi hiperkolesterolemia. Kondisi hiperkolesterolemia akan ditandai dengan peningkatan LDL. Yoghurt susu kambing mengandung bakteri asam laktat yang dapat mengasimilasi kolesterol dan mendekonjugasi asam empedu untuk menjaga kadar kolesterol darah agar tetap dalam batas normal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh yoghurt susu kambing sebagai pencegahan hiperkolesterolemia terhadap kadar Malondialdehida (MDA) dan ekspresi *Tumor Necrosis Factor* (TNF-α) jantung tikus. Kadar MDA ditentukan dengan uji TBA dan ekspresi TNF-α melalui metode pewarnaan imunohistokimia. Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus *Rattus norvegicus*, strain wistar yang berumur 10-12 minggu dengan berat 150-200g, dibagi dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok hiperkolesterolemia, kelompok pencegahan hiperkolesterolemia dengan yoghurt susu kambing dosis 300mg/kg BB+diet hiperkolesterolemia, dosis 600mg/kg BB+diet hiperkolesterolemia dan dosis 900mg/kg+diet hiperkolesterolemia. Pada kelompok pencegahan hiperkolesterolemia, yoghurt susu kambing diberikan terlebih dahulu selama 28 hari kemudian diberi yoghurt dan diet hiperkolesterolemia selama 14 hari. Pada kelompok hiperkolesterolemia diberikan diet hiperkolesterol selama 14 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa yoghurt susu kambing berpengaruh terhadap kadar MDA, pada dosis 300mg/kgBB terjadi penurunan sebesar 36%, dosis 600mg/kgBB sebesar 60% dan dosis 900mg/kgBB sebesar 73%. Yoghurt susu kambing juga berpengaruh ekspresi TNF-α, terdapat penurunan rata-rata ekspresi TNF-α pada dosis 300mg/kgBB sebesar 24%, dosis 600mg/kgBB sebesar 37% dan dosis 900mg/kgBB sebesar 68%, dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa setiap dosis memberikan efek penurunan yang sangat nyata pada kadar MDA dan ekspresi TNF-α ($P<0,01$). Pada kelompok pencegahan dengan yoghurt mampu memberikan hasil yang berbeda sangat signifikan terhadap kelompok tikus hiperkolesterolemia.

Kata kunci : hiperkolesterolemia, yoghurt susu kambing, MDA, TNF-α, Jantung

Influence of Goat Milk Yogurt as Prevention For Hypercholesterolemia by Monitoring of Malondialdehyde (MDA) and TNF-α in Heart of Rat (*Rattus norvegicus*) as Animal Model

ABSTRACT

Consumption of high cholesterol foods can lead to the hypercholesterolemia condition that indicated with the increasing of LDL. Goat milk yogurt contains lactit acid bacteria that can assimilate cholesterol and deconjugate bile acid to keep the blood cholesterol level normal. The purpose of this research is to examine the effect of goat milk yogurt treatment as Hypercholesterolemia prevention toward Malondialdehyde level (MDA) and the expression of Tumor Necrosis Factor (TNF-α) of rats' heart. MDA level was obtained by using TBA test, while the expression of TNF-α using immunohistochemistry. This study used 20 Wistar strain rats (Rattus Norvegicus), age 10-12 weeks, weight 150-200 gram divided into 5 groups. They were control group, hypercholesterolemia group, hypercholesterolemia prevention group using 300mg/kgBB, 600mg/kgBB and 900mg/kgBB of goat milk yogurt + hypercholesterolemia diet. In hypercholesterolemia prevention group, yogurt was given 28 days then continued by giving yogurt and hypercholesterolemia diet for 14 days. Meanwhile, hypercholesterolemia group was given hypercholesterolemia diet for 14 days. The result showed that goat milk yogurt does have an effect toward the level of MDA. The using of 300mg/kgBB dosage decreases the level of MDA 36%, 600mg/kgBB dosage decreases MDA level 60% and 900mg/kgBB dosage decreases the MDA level 73%. In addition, goat milk yogurt also affects the TNF-α expression. It was revealed that there was a decreasing of TNF-α expression into 24% for 300mg/kgBB dosage, 37% decreasing of TNF-α for 600mg/kgBB dosage and 68% decreasing of TNF-α expression for 900mg/kgBB dosage. Thus, it can be concluded that each dosage can significantly decrease MDA level and TNF-α expression ($P<0.01$). The hypercholesterolemia prevention group can show results that very significant by hypercholesterolemia group.

Keywords: hypercholesterolemia, goat milk yogurt, MDA, TNF-α, heart

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PENGESAHAN ii
LEMBAR PERNYATAAN iii
KATA PENGANTAR iv
ABSTRAK vi
ABSTRACT vii
DAFTAR ISI viii
DAFTAR TABEL x
DAFTAR GAMBAR xi
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG xii
DAFTAR LAMPIRAN xiii
BAB 1 PENDAHULUAN
1.1. Latar Belakang 1
1.2. Rumusan Masalah 3
1.3. Batasan Masalah 3
1.4. Tujuan Penelitian 4
1.5. Manfaat Penelitian 5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Yoghurt Susu Kambing Untuk Hiperkolesterolemia 6
2.1.1 Kelebihan Yoghurt Susu Kambing 6
2.1.2 Mekanisme BAL (Bakteri Asam Laktat) Dalam Menurunkan Kadar Kolesterol 8
2.2 Hewan Model Tikus Hiperkolesterolemia 9
2.3 Hiperkolesterolemia 11
2.3.1 Pengertian Hiperkolesterolemia 11
2.3.2 Hubungan Patomekanisme Hiperkolesterolemia Dengan TNF-α 12
2.3.3 Pengaruh Hiperkolesterolemia Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) 13
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN
3.1 Kerangka Konsep 15
3.2 Hipotesis Penelitian 18
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian 19
4.2 Alat dan Bahan Penelitian 19
4.3 Tahapan Penelitian 20
4.4 Prosedur Kerja 20
4.4.1 Kerangka Penelitian 20

4.4.2 Pembuatan Yoghurt.....23
4.4.2.1 Pembuatan Starter.....23
4.4.2.2 Pembuatan Yoghurt.....23
4.4.2.3 Pembuatan Freeze Dry.....24
4.4.3 Pemberian Dosis Yoghurt Sebagai Pencegahan Hiperkolesterolemia.....24
4.4.4 Pemberian Diet Hiperkolesterolemia.....25
4.4.5 Pegambilan Organ Jantung Tikus.....26
4.4.6 Pengukuran Kadar MDA Pada Jantung.....26
4.4.6.1 Pembuatan Kurva Standart MDA.....26
4.4.6.2 Pengukuran Kadar MDA menggunakan Uji *Thiobarbituric Acid* (TBA).....27
4.4.7 Analisis TNF-α Dengan Metode Pewarnaan Imunohistokimia.....27
4.4.8 Analisa Data.....28

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Yoghurt Susu Kambing Pencegahan Hiperkolesterolemia Melalui Pengamatan Kadar Malondialdehida (MDA) Jantung Tikus (*Rattus norvegicus*).....29
5.2 Pengaruh Yoghurt Susu Kambing Pencegahan Hiperkolesterolemia Melalui Pengamatan Ekspresi *Tumor Necrosis Factor* (TNF-α) Jantung Tikus (*Rattus norvegicus*).....33

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan.....39
6.2 Saran.....39

DAFTAR PUSTAKA.....40
LAMPIRAN.....45

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

2.1 Komposisi Air Susu Kambing 7
4.1 Kelompok Perlakuan 21
5.1 Kadar Malondialdehia (MDA) Pada Kelompok Tikus Perlakuan 29
5.2 Ekspresi *Tumor Necrosis Factor* (TNF-α) Pada Kelompok Perlakuan .. 35

DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Simbol/Singkatan	Keterangan
ANOVA	*Analysis Of Variance*
BAL	Bakteri Asam Laktat
BSA	*Bovine Serum Albumin*
BSH	*Bile Salt Hydrolase*
DAB	*Diaminobenzidine*
GPx	*Glutathione Peroxidase*
H_2O_2	Hidrogen Peroksida
HCL	Asam Klorida
HDL	*High Density Lipoprotein*
IDL	*Intermediet Density Lipoprotein*
IHK	Imunohistokimia
IKB	*Inhibitor Kappa Beta*
LDL	*Low Density Lipoprotein*
MDA	Malondialdehida
PBS	*Phospat Buffer Saline*
NFKB	*Nuclear Factor Kappa Beta*
O_2^-	Anion Superoksida
OH^-	Radikal Hidroksil
PFA	*Paraformaldehide*
PUFA	*Polyunsaturated Fatty Acid*
RAL	Rancangan Acak Lengkap
ROS	*Reactive Oxygen Species*
SA-HRP	*Strepta Avidin-Horseradish Peroxidase*
SOD	*Superoxyde Dismutase*
TBA	*Thiobarbituric Acid*
TCA	Trikloroasetat
TNF	*Tumor Necrosis Factor*
VLDL	*Very Low Density Lipoprotein*

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran Halaman

1 Keterangan Kelaikan Etik 45
2 Kerangka Operasional Rancangan Penelitian 46
3 Yogurt Susu Kambing 47
4 Diet Hiperkolesterol 53
5 Preparasi Larutan Sebelum Bedah 55
6 Pengambilan Organ Jantung 57
7 Diagram Pembuatan Homogenat Organ Jantung 58
8 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum MDA 59
9 Pembuatan Kurva Baku MDA 60
10 Absorbasi dan Konsentrasi MDA pada Jantung 61
11 Pengukuran Kadar MDA Homogenat Jantung 62
12 Pembuatan Preparat Histologi dan Pewarnaan Imunohistokimia 63
13 Uji Statistika 66

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperkolesterolemia adalah keadaan dimana kadar kolesterol di dalam darah melebihi normal, yakni pada manusia 200 mg/dl dan tikus 10-54 mg/dl. Konsumsi masyarakat terhadap makanan yang mengandung kolesterol tinggi seperti *fast food,* gorengan dan jeroan yang terlalu sering menyebabkan keadaan hiperkolesterolemia. Kondisi hiperkolesterolemia tidak hanya menyerang manusia tetapi juga dapat menyerang hewan khususnya hewan peliharaan seperti anjing dan kucing melalui pemberian *pet food* yang berupa daging dan jeroan pada hewan peliharaan. Menurut Tapan (2005), sekitar 13% hiperkolesterolemia menyerang anjing dan kucing. Hal tersebut juga diperkuat oleh Xernoulis and Steiner (2010) hiperkolesterolemia menyerang anjing *Miniature Schnizer* sebanyak 32,8% di United State.

Kondisi hiperkolesterolemia ditandai dengan meningkatnya kadar LDL *(Low Density Lipoprotein)* pada tubuh. Pada kondisi hiperkolesterolemia akan terjadi peningkatan radikal bebas, dimana radikal bebas merupakan senyawa reaktif yang dapat merusak sel pada tubuh (Price dan Wilson 2006), apabila produksi radikal bebas terjadi berlebihan akan berakibat antioksidan dalam tubuh tidak mampu mengatasinya (Wresdiyati dan Astawan, 2005). Malondialdehida (MDA) merupakan salah satu indikator dari radikal bebas. Semakin tinggi kadar

radikal bebas pada suatu organ maka semakin tinggi kadar MDA (Luczaj and Elzbieta, 2003).

Radikal bebas yang tinggi didalam tubuh akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif, sehingga memicu aktifnya NFKB (*Nuclear Factor Kappa Beta*) dimana NFKB merupakan faktor transkripsi yang mengatur ekspresi banyak gen yang terlibat dalam respon imun dan inflamasi. NFKB yang aktif dapat meningkatkan ekspresi gen iNOS, dimana gen tersebut merupakan gen yang berperan dalam proses keradangan. Proses keradangan akan melibatkan sel radang seperti makrofag dimana makrofag akan mengeluarkan sitokin pro inflamasi, salah satunya adalah TNF-α. TNF-α dapat menyebabkan rusaknya endotel dan otot pada jantung (Kontush and Chapman, 2006).

Salah satu alternatif untuk menjaga kadar kolesterol dalam darah adalah modifikasi diet. Diet yang dianjurkan yaitu dengan membatasi konsumsi makanan yang mengandung kolesterol dan lemak terutama lemak jenuh yang tinggi. Diet tersebut sangat dianjurkan sebelum memilih untuk mencegah kolesterol dengan menggunakan obat-obatan, selain diet dari bahan pangan yang mengandung rendah kolesterol dan lemak sebaiknya juga mengkonsumsi bahan makanan antihiperkolesterolemia seperti yoghurt susu kambing.

Yoghurt susu kambing mengandung Bakteri Asam Laktat (BAL) seperti *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus dan Lactobacillus acidophilus* yang dapat menurunkan kadar LDL dalam tubuh. Bakteri asam laktat yang ada di dalam yoghurt susu kambing dapat mengasimilasi kolesterol melalui

membran sel dari bakteri tersebut. Bakteri asam laktat juga dapat menghasilkan enzim BSH (*Bile Salt hydrolase*) yang mampu mendekonjugasi asam empedu, sehingga asam empedu dapat dibuang melalui feses dan membuat kolesterol akan membuat asam empedu baru, sehingga membuat kolesterol yang akan digunakan untuk pembentukan LDL semakin sedikit. Yoghurt susu kambing juga mengandung antioksidan dimana antioksidan tersebut akan melawan radikal bebas yang berasal dari metabolisme kolesterol.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang sudah dijelaskan, maka dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah terjadi penurunan kadar Malondiandehida (MDA) pada jantung tikus (*Rattus novergicus*) yang diberi yoghurt susu kambing sebagai pencegahan terhadap hiperkolesterolemia?
2. Apakah terjadi penurunan ekspresi TNF-α pada jantung tikus (*Rattus novergicus*) yang diberi yoghurt susu kambing sebagai pencegahan terhadap hiperkolesterolemia?

1.3 Batasan Masalah

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

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) yang diperoleh dari UPHP Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dengan umur 10-12 minggu

dan berat badan antara 150-200 gram. Penggunaan hewan coba ini telah mendapat persetujuan Laik Etik dari KEP UB No: 217 (Lampiran 1).

2. Hewan model hiperkolesterolemia adalah tikus (*Rattus norvegicus*) yang di induksi diet hiperkolesterolemia selama 14 hari (Gani *et al*., 2013).
3. Susu kambing yang digunakan adalah susu kambing yang diperoleh dari Balai Besar Pelatihan Peternakan (BBPP) Kota Batu,Jatim.
4. Stater yang digunakan adalah bakteri *Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus* thermophillus yang diperoleh dari *yogertmet Freeze Dried Yoghurt Starter. Lyo-San Inc. 500 Aeroparc, C. P. 598, Lachute, Qc, Canada, J8H 4G4* dengan dosis 300 mg/kgBB, 600 mg/kgBB dan 900 mg/kgBB (Tamime and Robinson, 2007)
5. Variabel yang diukur dalam penelitian ini adalah ekspresi TNF-α dengan imunohistokimia dan kadar malondialdehida (MDA) dengan uji TBA.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka tujuan penelitian yakni sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh yoghurt susu kambing sebagai pencegahan hiperkolesterolemia terhadap kadar Malondialdehida (MDA) jantung tikus (*Rattus novergicus*).
2. Mengetahui pengaruh yoghurt susu kambing sebagai pencegahan hiperkolesterolemia terhadap ekspresi *Tumor Necrosis Factor* (TNF-α) jantung tikus (*Rattus novergicus*).

1.5 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini dapat menambah pengetahuan pengaruh yoghurt susu kambing dalam menurunkan kadar MDA (Malondialdehida) dan ekspresi TNF-α jantung hewan model tikus hiperkolesterolemia.
2. Dapat meningkatkan wawasan dan memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh yoghurt susu kambing sebagai pencegahan untuk hiperkolesterolemia.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Yoghurt Susu Kambing Untuk Hiperkolesterolemia

2.1.1 Kelebihan Yoghurt Susu Kambing

Susu kambing tidak memiliki kandungan *β-lactoglobulin*. *β-lactoglobulin* dapat memicu reaksi alergi seperti asma, infeksi radang telinga, eksim, kemerahan pada kulit, dan gangguan pencernaan makanan. Susu kambing juga mengandung laktosa 13% lebih rendah dibanding susu sapi (Tabel 2.1). Karakteristik susu kambing dibandingkan dengan susu sapi antara lain warna susu lebih putih, globula lemak susu lebih kecil dengan diameter 0,73 – 8,58 μm, mengandung mineral kalsium, fosfor, vitamin A, E, dan B kompleks yang tinggi, dapat diminum oleh orang-orang yang alergi minum susu sapi dan untuk orang-orang yang mengalami berbagai gangguan pencernaan (*lactose intolerance*). Produksi susu kambing lebih cepat karena kambing telah dapat memproduksi susu pada umur 1,5 tahun, sedangkan sapi baru dapat memproduksi susu pada umur 3 – 4 tahun (Maheswari dan Ronny, 2008).

Susu kambing diduga mengandung beberapa bioaktif peptida yang bermanfaat untuk kesehatan. Boaktif peptida tersebut berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi dan *immunomodulatory*. Substansi aktif yang terdapat dalam bioaktif peptida tersebut pun berbeda-beda, seperti substansi aktif untuk antiinflamasi adalah laktoferin, *immunomodulatory* yaitu *immunopeptides* dan antioksidan yaitu vitamin E (Ebringer *et al.*, 2008).

Tabel 2.1. Komposisi air susu kambing

Komponen	Presentasi (%)
Bahan kering	13,2
Lemak	4,5
Protein	2,9
Kasein	2,5
Laktosa	4.1

Sumber. Hidayat *et al*., (2006)

Susu kambing dapat diolah menjadi yoghurt. Yoghurt merupakan minuman yang berasal dari bahan baku susu yang telah difermentasi menggunakan starter mempunyai tekstur agak kental dengan rasa agak asam. Yoghurt mengandung Bakteri Asam Laktat (BAL) antara lain *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacillus acidophilus.* Bakteri-bakteri tersebut akan terus berkembang dan akan mempengaruhi jumlah pH dari yoghurt (Khoiriyah dan Fatchiyah, 2013). Bakteri yang terdapat didalam yoghurt dapat terus berkembang sehingga membuat yoghurt akan menjadi bertambah asam, agar bakteri tidak berkembang dengan cepat dan yoghurt dapat bertahan lama perlu dilakukan proses *Freeze Dry* (Wawan, 2000).

Proses fermentasi menyebabkan kadar laktosa dalam yoghurt berkurang karena terjadi pemecahan laktosa menjadi glukosa dan galaktosa oleh enzim laktase yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, sehingga yoghurt aman dikonsumsi oleh orang yang lanjut usia atau yang alergi terhadap laktosa susu. Hasil metabolisme dari BAL juga akan membentuk asam laktat berupa senyawa diasetil dan asetoin yang memberikan bau dan rasa yoghurt yang khas (Khoiriyah

dan Fatchiyah, 2013).

2.1.2 Mekanisme BAL (Bakteri Asam Laktat) Dalam Menurunkan Kadar Kolesterol

Menurut Ngatirah (2000), pengaruh bakteri probiotik dalam menurunkan kolesterol disebabkan karena kemampuannya dalam mengasimilasi kolesterol dan mendekonjugasi garam empedu. Kemampuan mengasimilasi kolesterol pada bakteri asam laktat pertama kali ditunjukkan oleh beberapa galur *L. achidophilus* melalui penelitian Gilliland *et al.,* (1985), yakni dengan terjadinya penurunan konsentrasi kolesterol pada medium pertumbuhan bakteri karena kolesterol tersebut diasimilasi oleh bakteri.

Menurut Elisabeth (1981), asimilasi adalah proses pengambilan molekul-molekul sederhana dari makanan yang telah dicerna, kemudian diserap ke dalam sel hidup dan dikonversi menjadi molekul kompleks yang menyusun suatu organisme. Berdasarkan hasil penelitian Noh *et al*. (1997), pada asimilasi kolesterol oleh *L. acidophilus*, ditemukan terjadi penggabungan kolesterol pada membran seluler bakteri tersebut. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan yang Purwaningsih dan Yuniastuti (2005), bahwa pada mekanisme asimilasi kolesterol bakteri asam laktat akan mengambil atau mengabsorpsi kolesterol karena membran seluler bakteri diduga mengandung asam amino yang mampu mengikat kolesterol.

Dekonjugasi garam empedu membantu menurunkan kolesterol serum darah karena asam empedu terdekonjugasi memiliki kelarutan yang rendah

sehingga sulit diserap kembali di dalam usus dan diekskresikan lebih cepat dibandingkan asam empedu yang terkonjugasi, akibatnya lebih banyak kolesterol yang dibutuhkan untuk sintesis asam empedu baru untuk menggantikan asam empedu yang hilang sehingga jumlah kolesterol yang tersedia untuk diserap ke dalam tubuh menjadi berkurang. Asam empedu terdekonjugasi tidak berfungsi sebaik asam empedu terkonjugasi dalam membantu proses penyerapan kolesterol dalam usus. Asam empedu terdekonjugasi lebih mudah menempel pada sel bakteri atau serat makanan dibandingkan asam empedu terkonjugasi sehingga jumlah asam empedu yang diekskresikan meningkat (Usman dan Hosono, 1999).

Enzim yang bertanggung jawab dalam proses dekonjugasi garam empedu adalah enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH) (E.C.3.5.1.24). Enzim ini akan memisahkan glisin atau taurin dari garam empedu terkonjugasi sehingga menghasilkan garam empedu bebas atau terdekonjugasi (Surono, 2004). Enzim BSH akan memberikan keuntungan untuk strain bakteri probiotik yang tumbuh dalam saluran pencernaan dengan memberikan daya tahan yang lebih baik terhadap garam empedu, serta membantu dalam menurunkan kadar kolesterol darah (Begley *et al*., 2006).

2.2 Hewan Model Tikus Hiperkolesterolemia

Hewan coba yang digunakan adalah tikus yang dibuat hiperkolesterolemia sehingga kadar kolesterol darah tikus tersebut melebihi batas normalnya, kadar kolesterol total normal tikus yaitu 10-54 mg/dl (Harini dan Okid, 2009). Tikus yang dipilih sebagai hewan model hiperkolesterolemia adalah

tikus jantan, karena tikus jantan memiliki hormon esterogen yang sedikit, sehingga tidak dapat berpengaruh terhadap kadar kolesterol dalam darah (Ganong, 1983). Menurut Sitepoe (1992), tikus jantan mempunyai kadar kolesterol yang tidak berpengaruh pada variasi hormonnya. Tikus dibuat hiperkolesterolemia dengan cara pemberian diet hiperkolesterolemia. Diet hiperkolesterolemia merupakan komposisi pakan yang terdiri dari kuning telur puyuh rebus, minyak babi dan asam kholat. Pemberian induksi diet hiperkolesteol selama 14 hari akan menyebabkan terganggunya metabolisme kolesterol dalam tubuh (Gani *et al*., 2013).

Klasifikasi tikus yang digunakan adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) menurut Smith dan Mangkoewidjojo, 1988 :

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Famili : Muridae

Genus : Rattus

Species : *Rattus norvegicus*

Umumnya berat tikus (*Rattus norvegicus*) pada umur empat minggu beratnya 35-40 gram, dan berat dewasa rata-rata 200-250 gram (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Tikus digunakan sebagai hewan model dikarenakan tikus memiliki kemampuan reproduksi yang tinggi, pemeliharaan dan

penanganannya mudah, tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang berbeda pada esofagus yang bermuara ke dalam lambung dan tikus tidak mempunyai kantung empedu serta lebih mudah dalam pemberian terapi dengan sonde lambung (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Gambar 2.1 *Rattus norvegicus* (Rahmadian, 2011)

2.3 Hiperkolesterolemia

2.3.1 Pengertian Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia merupakan kondisi saat kadar kolesterol dalam darah meningkat dan melebihi batas normal, pada manusia kadar kolesterol normal adalah 200 mg/dl. Diet kolesterol dan lemak jenuh yang tinggi dapat memicu pembentukan *Low Density Lipoprotein* (LDL) sehingga menyebabkan jumlah kolesterol meningkat di dalam darah, keadaan ini dapat memicu terjadinya hiperkolesterolemia. Reseptor LDL terdapat dalam seluruh permukaan sel yang memiliki inti terutama sel hati (Kasim *et al.*, 2006). Sebanyak 68% kasus hiperkolesterolemia menyebabkan kematian pada manusia dan sekitar 13 % kondisi hiperkolesterolemia ditemukan pada hewan terutama pada anjing dan kucing (Tapan, 2005).

2.3.2 Hubungan Patomekanisme Hiperkolesterolemia Dengan TNF-α

Lemak yang berasal dari makanan mengalami proses pencernaan di dalam usus menjadi asam lemak bebas, trigliserid, fosfolipid dan kolesterol. Hasil proses pencernaan tersebut diserap dalam tubuh dalam bentuk kilomikron. Sisa pemecahan kilomikron tersebut di salurkan ke hati lalu oleh hati dipilah-pilah menjadi kolesterol. Sebagian kolesterol ini dibuang ke empedu sebagai asam-asam empedu, sebagian lagi bersama dengan trigliserida dan berikatan dengan protein tertentu dan membentuk *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) lalu dipisah oleh enzim lipoprotein menjadi *Intermediet Density Lpoprotein* (IDL) selama 2-6 jam kemudian langsung diubah menjadi *Low Density Lipoprotein* (LDL) (Soeharto, 2004).

Enzim lipoprotein lipase yang terdapat di dinding kapiler darah. Enzim ini sering kali ditemukan di dalam jantung, jaringan adipose, limpa, paru-paru, medulla ginjal, aorta, diafragma dan kelenjar mamaria dalam keadaan laktasi. Enzim lipoprotein lipase tidak mudah bereaksi daengan VLDL namun lebih berhubungan dengan metabolisme *High Density Lipoprotein* (HDL) dan sisa kilomikron (Goldberg, 2001). Pada kasus hiperkolesterolemia dijumpai peningkatan trigliserida dan LDL serta terjadi penurunan HDL dan enzim lipoprotein lipase (Marks *et al*., 1996).

Low Density Lipoprotein (LDL) merupakan lipoprotein yang memiliki kandungan kolesterol tertinggi dibandingkan lipoprotein lainnya dan bertugas mengedarkan kolesterol ke sel-sel jaringan melalui darah untuk digunakan

didalam sel (Murray *et al*., 2003). *Low Density Lipoprotein* (LDL) yang tinggi sangat mudah teroksidasi oleh radikal bebas, sehingga LDL oksidasi mudah menempel dan menumpuk pada dinding pembuluh darah pada jantung, hal tersebut dapat merusak endotel pada pembuluh darah jantung sehingga aliran darah yang menuju ke otot jantung menjadi terganggu. Sirkulasi koroner meliputi seluruh permukaan jantung, membawa oksigen dan nutrisi ke miokardium melalui cabang-cabang intramiokardial. Sirkulasi koroner meliputi arteri koroner kanan dan arteri koroner kiri. Oksidasi LDL melalui pembuluh darah koroner masuk ke miokardium dan menyebabkan aktifnya NFKB (*Nuclear Factor Kappa Beta*) kemudian NFKB akan memicu meningkatnya ekspresi gen INOS sebagai gen yang berperan dalam proses keradangan sehingga melibatkan sel radang seperti makrofag (Robbins dan Cotran, 2002).

Low Density Lipoprotein (LDL) yang teroksidasi difagositosis oleh makrofag melalui reseptor LDL *scavenger* sehingga makrofag penuh dengan *foam cell*, kemudian *foam cell* memicu sekresi sitokin-sitokin pro inflamasi, salah satunya adalah TNF-α. Sekresi TNF-α yang berlebih dapat menyebabkan inflamasi pada miokardium jantung dan kerusakan pada sel otot jantung. Inflamasi merupakan respon sistem kekebalan terhadap infeksi yang terjadi pada jaringan hidup (Kontush and Chapman, 2006).

2.3.3 Pengaruh Hiperkolesterolemia Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA)

Pada keadaan hiperkolesterolemia, tubuh berusaha menyeimbangkan kadar kolesterol darah dengan cara mengubah kolesterol menjadi asam empedu.

Sintesis asam empedu melibatkan oksigen, NADPH dan sitokrom P-450. Oksigen yang masuk kedalam tubuh akan berubah menjadi senyawa yang sangat reaktif dan mudah tereduksi oleh NADPH menjadi radikal bebas anion superoksida (O_2^-). Anion sperоksida yang terikat dengan sitokrom P-450 akan membuat oksidasi oksigen semakin banyak dan cepat pada berbagai reaksi hidroksidasi sehingga membuat radikal bebas terbentuk semakin banyak (Mayes and Botham, 1996)

Menurut Clarkson and Thompson (2000), radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri. Radikal bebas akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel. Peroksidasi lipid akan terbentuk dalam rantai yang makin panjang dan dapat merusak organisasi membran sel (Yustika, 2013). Pengukuran tingkat peroksidasi lipid diukur dengan mengukur produk akhirnya, yaitu Malondialdehida (MDA), yang merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh dan yang bersifat toksik terhadap sel. Pengukuran kadar MDA merupakan pengukuran aktivitas radikal bebas secara tidak langsung sebagai indikator stres oksidatif (Slater, 1984; Powers and Jackson, 2008), terdapat beberapa metode yang dapat digunakan dalam pengukuran peroksidase lipid, salah satunya adalah TBA (*Thiobarbituric acid*) reactivity test. Tes ini didasarkan pada reaksi kondensasi antara satu molekul MDA dengan dua molekul TBA pada kondisi asam. Hasilnya adalah pigmen berwarna merah yang dapat diukur pada panjang gelombang 532 nm (Algameta, 2009).

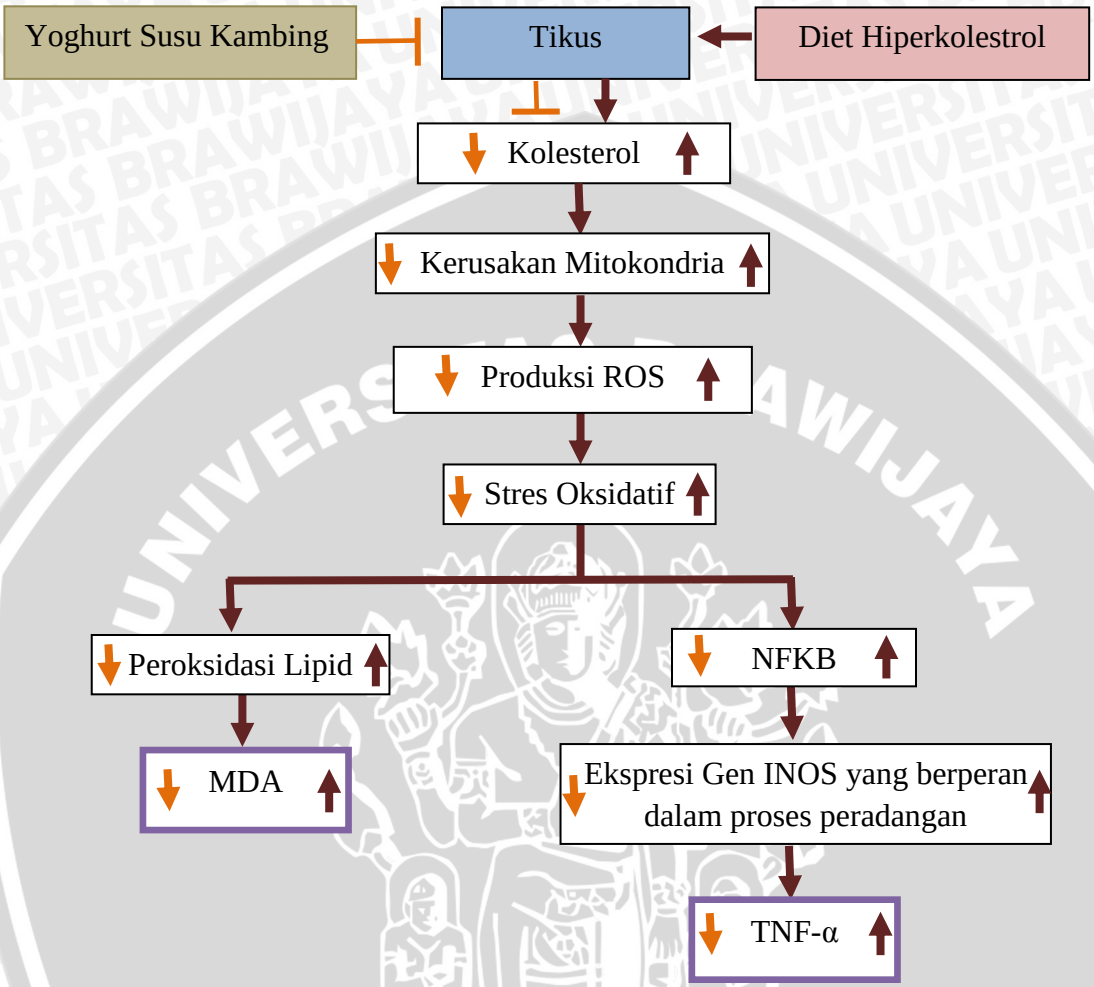
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

Pemberian diet hiperkolesterol pada tikus akan mempengaruhi sistem metabolisme kolesterol menjadi terganggu. Kolesterol yang masuk melalui makanan akan diserap ke dalam usus bersama dengan lipid lainnya ketika kolesterol yang diserap semakin banyak maka menyebabkan kadar kolesterol dalam darah akan menjadi tinggi, sehingga memicu terjadinya kondisi hiperkolesterolemia. Keadaan hiperkolesterolemia akan menimbulkan disfungsi miosit pada jantung sehingga berdampak negatif pada mitokondria jantung, hal tersebut dapat meningkatkan respirasi dari mitokondria sehingga akan memicu tingginya produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) oleh mitokondria. *Reactive Oxygen Species* yang tinggi membuat antioksidan yang ada di dalam tubuh tidak bekerja secara optimal sehingga terjadi stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang terdapat pada membran sel otot jantung, peroksidasi lipid membuat ikatan PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acid*) terputus sehingga terbentuk senyawa toksik seperti Malondialdehida (MDA) pada miosit dan membran sel otot jantung. Radikal bebas yang dihasilkan oleh mitokondria akan menuju sitoplasma dan menyebabkan aktivasi NFKB (*Nuclear Factor Kappa Beta*) pada miosit jantung, hat tersebut membuat ikatan NFKB (*Nuclear Factor Kappa Beta*) dan IKB (*Inhibitor Kappa Beta*) terdegradasi. NFKB yang aktif bergerak menuju nukleus sehingga menyebabkan peningkatan

ekspresi gen iNOS dimana gen iNOS merupakan gen yang berperan dalam proses peradangan. Proses keradangan akan melibatkan sel radang seperti makrofag dimana makrofag akan mengeluarkan sitokin pro inflamasi, salah satunya adalah TNF-α.

Pemberian yoghurt susu kambing terlebih dahulu sebelum diet hiperkolesterolemia mampu mencegah kondisi hiperkolesterolemia. Yoghurt tersebut menggunakan bakteri asam laktat diantaranya *L. bulgaricus*, *L. achidopilus* dan *S. thermophilus*. Bakteri tersebut menghasilkan enzim BSH (*Bile Salt Hydrolase*) yang dapat mencegah pembentukan LDL berlebih melalui dekonjugasi asam empedu, ketika asam empedu terdekonjugasi maka kolesterol akan banyak digunakan untuk pembentukan asam empedu baru sehingga kolesterol yang digunakan untuk pembentukan LDL semakin sedikit. Bakteri asam laktat juga memproduksi *ferulic acid* yang dapat menghambat biosintesis kolesterol melalui aktivitas inhibitor HMG Co-A reduktase. Pembentukan kolesterol yang dicegah oleh yoghurt akan membuat kerusakan mitokondria pada jantung tidak terjadi dan radikal bebas dalam tubuh tidak akan berlebih. Radikal bebas yang tidak berlebih didalam tubuh akan mencegah terjadinya stres oksidatif sehingga pembentukan peroksidasi lipid dan MDA dapat di hambat serta NFKB tetap berikatan dengan IKB di sitoplasma dan ekspresi gen iNOS dapat dikurangi. Penurunan ekspresi gen iNOS membuat pembentukan TNF-α oleh makrofag dapat dihindari. Secara sistematis kerangka konsep penelitian ini dapat diketahui pada **Gambar 3.1**



Gambar 3.1. Kerangka Konseptual Penelitian

Keterangan Gambar:

: Pencegahan Yoghurt
: Hewan coba
: Diet Hiperkolesterol
: Variabel yang diamati
: Pencegahan
: Stimulasi
: Efek Yoghurt
: Efek Hiperkolesterolemia

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah sebagai berkut:

Pemberian yoghurt susu kambing sebagai tindakan preventif untuk hiperkolesterolemia pada tikus *(Rattus norvegicus)* dapat menurunkan kadar Malondialdehida (MDA) dan ekspresi TNF-α jantung.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Hewan, Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Laboratorium Kesmavet Pendidikan Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya dan Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit dr. Soetomo Surabaya. Waktu penelitian yaitu pada bulan Agustus 2013 - Juni 2014.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian antara lain: inkubator (Memmert), mesin *freeze dry* (Christ beta 1-8k), timbangan digital (Precissa 3000D), spektofotometri (UV-260 Shimadzu), mikroskop cahaya (olympus BX51), gelas ukur, labu ukur, *reagent bottle*, *object glass*, *beakker glass*, *thermometer*, corong kaca, *erlenmeyer*, *microtube*, bulb, alat sentrifuge, auto mikro pipet, pH meter, pH indikator, neraca ohauss dan *refrigerator*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar (usia 10-12 minggu berat 150-200 gram) diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM Yogyakarta, susu kambing yang diperoleh dari Balai Besar Pelatihan Peternakan (BBPP), Stater *Yougertmet Freeze Dried* Yoghurt Starter. Lyo-San Inc. 500 Aeroparc, C. P. 598, Lachute,

Qc, Canada, J8H 4G4, kuning telur puyuh, asam kholat (Catalog No: M5M5306), miyak babi, PFA, alkohol (70%, 80%, 90%, 100%), larutan PBS pH 7,4, formalin buffer 10%, SA-HRP, Antibodi TNF-α, TCA 100%, Na-Thio 1%, HCl 1 N dan NACL fisiologis 0,9%.

4.3 Tahapan Penelitian

Adapun tahapan penelitian sebagai berikut:

1. Kerangka Penelitian.
2. Pembuatan Yoghurt.
3. Pemberian Dosis Yoghurt Sebagai Pencegahan Hiperkolesterolemia
4. Pemberian Diet Hiperkolesterolemia.
5. Pengambilan Organ Jantung Tikus.
6. Analisis Kadar Malondialdehida (MDA) Jantung.
7. Analisis TNF-α Jantung dengan Metode Pewarnaan Imunohistokimia
8. Analisis Data.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Kerangka Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dan rancangan untuk penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan (Tabel 4.1), yaitu:

Tabel 4.1 Kelompok Perlakuan

	Kontrol				Hiperkolesterolemia				Pencegahan Hiperkolesterolemia dengan Yoghurt Susu Kambing											
									Dosis 300 mg/kg BB				Dosis 600 mg/kg BB				Dosis 900 mg/kg BB			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Kadar MDA																				
Ekspresi TNF-α																				

Keterangan: Kontrol: Kelompok tanpa pemberian yoghurt susu kambing dan diet hiperkolesterolemia. Hiperkolesterolemia : Kelompok dengan pemberian diet hiperkolesterolemia

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

Variabel bebas : Dosis yoghurt susu kambing (300 mg/kg BB, 600 mg/kg BB dan 900 mg/kg BB) dan diet hiperkolesterolemia.

Variabel terikat : Kadar malondialdehida (MDA) dan ekspresi TNF-α jantung

Variabel kontrol :Umur, berat badan, tikus strain wistar, pakan, kondisi pemeliharaan.

Sampel penelitian menggunakan tikus sebagai hewan percobaan. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Rattus norvegicus* strain wistar berumur 10-12 minggu. Berat badan tikus sekitar 150-200 gram. *Rattus norvegicus* dipakai karena tergolong omnivora dan kebutuhan asam amino esensialnya seperti halnya hewan mamalia lainnya. Hewan coba diaklimatisasi terlebih dahulu selama tujuh hari untuk menyesuaikan kondisi di laboratorium.

Estimasi sampel yang dibutuhkan dapat dihitung berdasarkan rumus (Montgomery *and* Kowalsky, 2011):

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

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

$5n-5 \geq 15$

$5n \geq 20$

$n \geq 20/5 = n \geq 4$

Keterangan

p = jumlah kelompok perlakuan (terdiri dari lima macam kelompok perlakuan yakni Kelompok kontrol, Kelompok hiperkolesterolemia, Kelompok pencegahan hiperkolesterolemia dengan yoghurt dosis 300mg/kgBB, Kelompok pencegahan hiperkolesterolemia dengan yoghurt dosis 600mg/kgBB dan Kelompok pencegahan hiperkolesterolemia dengan yoghurt dosis 900mg/kgBB).

n = jumlah ulangan yang diperlukan (empat kali ulangan).

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk hewan menjadi 5 kelompok diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 4 kali dalam setiap kelompok sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba.

Preparasi tikus perlu dilakukan tindakan untuk menyesuaikan keadaan tikus dengan lingkungan laboratorium. Hal tersebut dilakukan selama 7 hari dengan pemberian pakan dan minum secara *ad libitum*. Tikus kemudian di bagi

menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdapat 4 ulangan didalamnya. Kandang tikus berukuran 17,5 cm x 23,75 cm x 17,5 cm berbahan plastik dengan tutup besi serta lantai kandang mudah disanitasi dan dibersihkan. Ditempatkan di lokasi yang bebas dari keributan serta asap dan polutan lainnya.

4.4.2 Pembuatan Yoghurt

4.4.2.1 Pembuatan Starter

Susu kambing yang sudah siap di masukkan kedalam *erlenmeyer* sebanyak 50 ml dan ditutup dengan aluminium foil. Dipanaskan sampai mencapai suhu 72^0C selama ± 5 menit. Ditunggu sampai suhu susu turun menjadi 45^0C. Dilakukan inokulasi starter, campurkan 50 ml susu pasteurisasi dengan 0,25 gram starter. *Reagent bottle* ditutup dengan aluminium foil lalu digoyang ringan (Posecion *et al*., 2005)

Reagent bottle yang berisi campuran susu dengan starter diinkubasi pada suhu 45^0C selama ± 4 jam. Dilakukan pengukuran pH, dalam hal ini adalah pH 4,5-5 (Posecion *et al*., 2005).

4.4.2.2 Pembuatan Yoghurt

Susu kambing sebanyak 500 ml dipanaskan sampai suhu 72^0C selama ± 5 menit. Kemudian ditunggu suhu susu turun menjadi 45^0C. Setelah itu dilakukan inokulasi starter cair sebanyak 15 ml (3% dari volume susu) dan dicampurkan kedalam susu. Setelah itu di inkubasi pada suhu 45^0C selama 4 jam. Dilakukan pengujian pH, dalam hal ini adalah pH 4,5-5 (Posecion *et al*., 2005).

4.4.2.3 Pembuatan *Freeze Dry*

Yoghurt yang sudah jadi masing-masing disiapkan sebanyak 250 ml. *Reagent bottle* dipasang pada alat pemutar pada mesin *freeze dry* yakni *Christ Beta 1-8 K* dan botol harus menempel pada permukaan etanol. Botol yang berisi yoghurt tersebut diputar selama 5-7 menit pada suhu -33^{0}C sampai yoghurt berbentuk es, setelah yoghurt yang ada di labu scott tersebut menjadi es, labu scott tersebut dilepas lalu dipasangkan pada selang penyublim vakum. Dilakukan proses penyubliman dimana udara yang hangat dialirkan pada labu scott yang berisi yoghurt beku sampai menimbulkan uap. Uap yang dihasilkan ditangkap oleh mesin spiral yang ada di mesin *freeze dry* (*Christ Beta 1-8 K*) sampai tersisa sari-sari dari yoghurt yang berbentuk serbuk. Yoghurt menjadi serbuk tersebut membutuhkan waktu 14 jam.

4.4.3 Pemberian Dosis Yoghurt Sebagai Pencegahan Hiperkolesterolemia

Metode pemberian yoghurt per oral tiap ekor tikus yaitu dari perhitungan dosis yoghurt. Dosis yoghurt ada 3 yakni, dosis 300 mg/kg BB, dosis 600 mg/kg BB dan dosis 900 mg/kg BB (Tamime and Robinson, 2007) dengan perhitungannya (Lampiran 3).

Dosis 300 mg/kg BB digunakan untuk kelompok C, dosis 600 mg/kg BB untuk tikus kelompok D dan dosis 900 mg/kg BB untuk tikus kelompok E. Masing - masing kelompok terdapat 4 ekor tikus. Tikus diberi yoghurt yang dicampur dengan 1,5 ml air atau akuades per tikus pada hari ke-8 sampai hari ke-36 untuk kotak C, D dan E. Pemberian yoghurt dan diet hiperkolesterolemia pada

hari ke-37 sampai hari ke-51 dengan dosis yang sama sesuai perhitungan dan dicampur 1 ml air atau akuades per tikus untuk kotak C, D dan E, sehingga pada hari ke-37 sampai ke-51 dilakukan dua penyondean yakni yoghurt sebanyak 1 ml dan diet hiperkolesterolemia sebanyak 1 ml (Hirano *et al*., 1999)

4.4.4 Pemberian Diet Hiperkolesterolemia

Kelompok yang diberi diet kolesterol adalah B yang digunakan sebagai kelompok hiperkolesterolemia, kelompok C yang sudah diberi yoghurt sebelumnya sebagai tindakan pencegahan dengan dosis 300 mg/kg BB, kelompok D dengan dosis 600 mg/kg BB dan kelompok E dengan dosis 900 mg/kg BB.

Metode pembuatan pakan diet hiperkolesterolemia sesuai dengan Gani *et al*., 2013 yang terdiri dari asam kholat 0,1%, minyak babi 10%, dan kuning telur puyuh rebus 5% yang dicampurkan kemudian dilakukan penambahan air atau akuades sampai volume 1 ml per tikus sehingga penyondean yoghurt sebanyak 1 ml +diet hiperkolesterolemia sebanyak 1 ml per tikus untuk kelompok C, D dan E, sedangkan untuk kelompok B asam kholat 0,1%, minyak babi 10%, dan kuning telur puyuh rebus 5% dicampur dengan air atau akuades 2 ml per tikus (Lampiran 4). Pakan diet hiperkolesterolemia diberikan setiap hari dengan sonde lambung per tikus sebanyak 3,02gr/2ml. Pemberian diet kolesterol ini dilakukan selama 14 hari.

4.4.5 Pengambilan Organ Jantung Tikus

Pengambilan organ jantung dilakukan pada hari ke-14 pada kelompok hiperkolesterolemia dan hari ke-42 pada kelompok pencegahan hiperkolesterolemia dengan yoghurt. Tikus terlebih dahulu dieuthanasia dengan cara dislokasi leher, selanjutnya dilakukan pembedahan. Pembedahan dilakukan pada rongga abdomen, dimana tikus diletakkan dengan posisi rebah dorsal. Organ jantung yang diambil kemudian dicuci dengan NaCl fisiologis 0.9 % kemudian di potong atau dibagi menjadi 2 lalu sebagian dari potongan jantung direndam pada larutan Paraformaldehid (PFA) 4% dan sebagian dari potongan jantung yang satunya lagi di rendam pada Phospat Buffer Saline (PBS).

4.4.6 Analisis Kadar Malondialdehida (MDA) Jantung

4.4.6.1 Pembuatan Kurva Standart MDA

Pembuatan kurva standar MDA dengan konsentrasi 0, 1 , 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 µg/ml masing-masing diambil 100µL, dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda, setelah itu ditambahkan 550 µl aquades. Masing-masing tabung yang berisi 650 µl larutan standar ditambahkan 100 µl TCA 100%, 250 µL HCl 1 N dan 100 µL Na-Thio 1 %. Dihomogenkan dengan vortex mixer, tabung ditutup dengan plastik dan diberi lubang. Diinkubasi dengan penangas air dengan suhu 100˚C selama 30 menit kemudian didinginkan pada suhu 27^0C. Selanjutnya MDA dengan konsentrasi 4 µg/ml diukur absorbansinya pada range panjang gelombang 500-600 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum MDA, kemudian dibuat kurva standar MDA dengan dibaca absorbansinya pada

variasi konsentrasi (1,2,3,4,5,6,7 dan 8 µg/ml) pada panjang gelombang maksimumnya (Shofia, 2012).

4.4.6.2 Pengukuran Kadar MDA Menggunakan Uji *Thiobarbiburic Acid* (TBA)

Jaringan jantung dari setiap kelompok, masing-masing diambil sebanyak 0,1 gram dipotong kecil-kecil lalu digerus dalam mortar dingin yang diletakkan diatas balok es. Selanjutnya ditambahkan 1 ml NaCl 0,9%. Homogenat dipindah kedalam *microtube* dan disentrifugasi dengan kecepatan 8000rpm selama 20 menit dan diambil supernatannya, setelah itu diambil 100 µL supernatan bronkus ditambah 550 µL akuades. Ditambahkan 100 µL TCA, 250 µL HCl 1N, dan 100 µL Na-Thio. Pada setiap penambahan reagen, larutan campuran tersebut dihomogenkan dengan vortex, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 15 menit. Supernatan dipisahkan dan dipindahkan pada *microtube* baru, kemudian larutan diinkubasi dalam waterbath pada suhu 100˚C selama 30 menit dan dibiarkan pada suhu 27^0C. Sampel diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 532 µm untuk uji TBA dan diplotkan pada kurva standar yang telah dibuat untuk menghitung konsentrasi sampel (Shofia, 2012).

4.4.7 Analisis TNF-α dengan Metode Pewarnaan Imunohistokimia

Langkah-langkah dalam metode pewarnaan imunohistokimia yaitu dengan pembuatan preparat jantung yang direndam dengan xylol I, xylol II dan alcohol bertingkat (100%, 90%, 80% dan 70%) serta aquades , hal tersebut dilakukan selama 5 menit kemudian preparat dicuci dengan PBS (*Phospat Buffer Saline*) pH 7,4 selama 3x5 menit, setelah dicuci bersih ditetesi 3% hidrogen

peroksida H_2O_2 (dalam doionize water) selama 20 menit, setelah itu dicuci kembali dengan PBS (*Phospat Buffer Saline*) pH 7,4 selama menit sebanyak 3 kali atau sampai bersih. Diberi BSA 1%, dicuci PBS pH 7,4 untuk membersihkan selama 20 menit. Diinkubasi dengan antibodi primer (Rat Anti TNF-α), dilakukan semalaman dengan suhu 4^0C, setelah itu dicuci kembali dengan PBS selama 20 menit. Diberi antibodi sekunder yang berlabel biotin (*Goat Anti Rat Biotin Labelled*) selama 1 jam dalam suhu 27^0C. Preparat dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 20 menit (Pratomo, 2013).

Ditetesi SA-HRP (*Strepta Avidin-Horseradish Peroxidase*) dan didiamkan pada suhu 27^0C selama 30-60 menit. Preparat dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 20 menit, selanjutnya preparat ditetesi dengan Chromogen DAB (3,3-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride) selama 10 menit pada suhu 27^0C. Terakhir preparat dicuci dengan aquades selama 5 menit 3 kali, selanjutnya counter staining (Hematoxylen) pada suhu 27^0C selama 5 menit. Tahap terakhir mounting dengan entellan dan ditutup dengan cover glass. Hasil diamati menggunakan mikroskop electron dengan pembesaran 400 x (Pratomo, 2013).

4.4.8 Analisis Data

Data yang diperoleh pada percobaan ini dianalisis dengan analisa ragam pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang mana tikus diberi lima perlakuan dan masing - masing perlakuan dengan 4 kali ulangan. Metode yang dapat digunakan yaitu uji parametrik *one way* ANOVA (*analysis of variance*). Apabila terdapat perbedaan yang nyata diuji lebih lanjut dengan uji *Tukey* α 0.01%.

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Yoghurt Susu Kambing Pada Pencegahan Hiperkolesterolemia Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) Jantung Tikus (*Rattus norvegicus*).

Hasil pengukuran kadar Malondialdehida (MDA) organ jantung pada kelompok tikus perlakuan yang dianalisis dengan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Tukey* (Lampiran 12) menunjukkan perbedaan yang sangat nyata seperti (Tabel 5.1).

Tabel 5.1 Kadar Malondialdehia (MDA) Organ jantung Pada Kelompok Tikus Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kadar MDA *(µg/ml)* ± SD	Peningkatan terhadap kelompok kontrol (%)	Penurunan terhadap kelompok hiperkoleste rolemia (%)
Tikus Kontrol	0,1440 ± 0,03964[a]	0	-
Tikus Hiperkolesterolemia	0,5810 ± 0,04134[c]	100	-
Pencegahan 300mg/kgBB	0,3720 ± 0,03598[b]	-	36
Pencegahan 600mg/kgBB	0,2330 ± 0,02249[a]	-	60
Pencegahan 900mg/kgBB	0,1588 ± 0,02616[a]	-	73

Ket : Notasi yang berbeda menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p<0,01$).

Nilai rata-rata kadar MDA pada kelompok tikus kontrol merupakan standar rata-rata kadar MDA jantung tikus dalam keadaan normal. Adanya kadar MDA tersebut menunjukkan bahwa radikal bebas juga terdapat pada tikus

kontrol. Hal itu terjadi karena radikal bebas juga diperlukan didalam tubuh. Radikal bebas merupakan senyawa yang digunakan untuk pematangan sel didalam tubuh. Radikal bebas juga digunakan oleh tubuh untuk membunuh mikroorganisme patogen sebagai salah satu pertahanan tubuh melawan infeksi (Matsue *et al*., 2003).

Nilai rata-rata kadar MDA yang ditunjukkan oleh kelompok tikus hiperkolesterolemia, terdapat perbedaan yang sangat nyata dan peningkatan sebanyak 100% dibanding dengan kelompok tikus kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa diet hiperkolesterolemia dapat menyebabkan kadar LDL (*Low density Lipoprotein*) dalam darah meningkat. *Low Dinsity Lipoprotein* (LDL) yang tinggi dapat menyebabkan disfungsi miosit otot jantung dan dapat merusak mitokondria jantung, sehingga dapat meningkatkan respirasi dari mitokondria dan memicu tingginya produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) pada jantung. Produksi ROS yang tinggi menyebabkan antioksidan tidak berfungsi dengan maksimal kemudian terjadi stress oksidatif. Stres oksidatif dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid yang terdapat pada membran sel otot jantung. Peroksidasi lipid akan memutus ikatan PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acid*) dan membentuk senyawa MDA. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Bowless *et al*. (2011) bahwa kondisi hiperkolesterolemia dapat merusak mitrokondria jantung dan menyebabkan tingginya kadar radikal bebas pada jantung.

Nilai rata-rata kadar MDA pada kelompok tikus hiperkolesterolemia menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dengan nilai kadar MDA kelompok

tikus pencegahan hiperkolesterolemia dengan yoghurt dosis 300 mg/kg BB, 600 mg/kg BB dan 900 mg/kg BB, selain itu terjadi penurunan nilai kadar MDA pada dosis 300 mg/kg BB sebanyak 36%, dosis 600 mg/kg BB sebanyak 60% dan dosis 900 mg/kg BB sebanyak 73%. Hal tersebut menunjukkan bahwa yoghurt susu kambing memiliki kemampuan untuk mencegah pembentukan kolesterol darah berlebih, kolesterol yang rendah dalam darah akan membuat kerusakan mitokondria pada miosit jantung dapat dicegah sehingga pembentukan radikal bebas berlebih dapat dihindari dan stres oksidatif tidak akan terjadi. Stres oksidatif yang terhambat akan membuat peroksidasi lipid tidak terbentuk yang ditandai dengan menurunnya nilai kadar MDA pada jantung, menurut Usman dan Harsono (1999) dan Jones *et al*. (2014) bahwa bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophillus* yang ada didalam yoghurt mampu mengasimilasi kolesterol dan memproduksi enzim BSH (*Bile Salt Hydrolase*) yang dapat mencegah pembentukan LDL berlebih. Bakteri asam laktat juga dapat memproduksi *ferulic acid* yang dapat menghambat biosintesis kolesterol melalui penghambatan ikatan HMG Co-A reduktase.

Pada kelompok tikus pencegahan hiperkolesterolemia dengan yoghurt dosis 300 mg/kg BB menunjukkan rata-rata nilai kadar MDA yang berbeda sangat nyata dengan nilai kadar MDA kelompok tikus kontrol. Hal ini mengartikan bahwa yoghurt susu kambing pada dosis 300 mg/kg BB tidak mampu mencegah kondisi hiperkolesterolemia dan tidak dapat menurunkan nilai

kadar MDA mendekati nilai kadar MDA tikus kontrol. Kelompok tikus dengan yoghurt dosis 600 mg/kg BB dan 900 mg/kg BB tidak menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dengan kelompok tikus kontrol, yang berarti bahwa yoghurt susu kambing dosis 600 mg/kg BB dan 900 mg/kg BB mampu mencegah kondisi hiperkolesterolemia yang ditandai dengan penurunan nilai kadar MDA mendekati nilai kadar MDA kelompok tikus kontrol. Hal tersebut terjadi karena selain menghasilkan enzim BSH (Bile Salt Hydrolase) dan *firulic acid*, yoghurt susu kambing juga mengandung antioksidan yang dapat mencegah radikal bebas berlebih dalam tubuh sehingga stres oksidatif dapat dihindari. Stres oksidatif yang terhambat mengakibatkan peroksidasi lipid dalam membran miosit jantung tidak terbentuk dan terjadi penurunan nilai kadar MDA jantung. Hal tersebut diperkuat oleh Gartner *et al*. (2002) bahwa susu yang difermentasi menjadi yoghurt mengandung banyak antioksidan diantaranya *Superoxide Dismutase* (SOD) dan *Glutathione Peroxidase* (GPx). Antioksidan tersebut mampu memberikan atom hidrogen serta memecah reaksi berantai (polimerisasi) pembentuk radikal bebas.

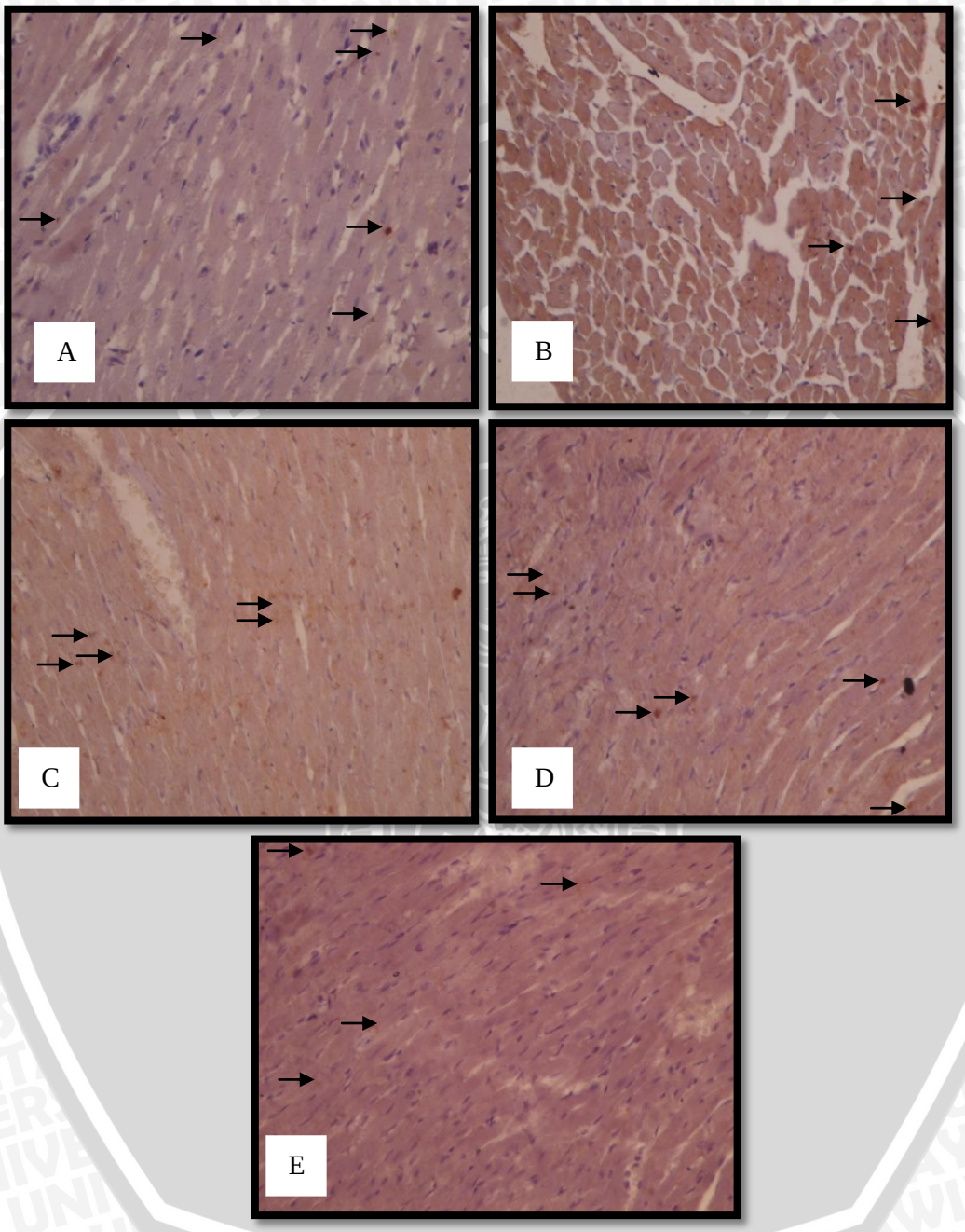
Pada kelompok tikus yoghurt susu kambing dosis 300 mg/kg BB menunjukkan nilai kadar MDA yang berbeda sangat nyata dengan kelompok tikus yoghurt dosis 600 mg/kg BB dan 900 mg/kg BB sedangkan tikus dengan yoghurt dosis 600 mg/kg BB menunjukkan hasil nilai kadar MDA yang tidak berbeda sangat nyata terhadap tikus dengan yoghurt 900 mg/kg BB, tetapi dosis 900 mg/kg BB memiliki persentase penurunan yang lebih besar dibanding

dengan yoghurt dosis 600 mg/kg BB. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis maka penurunan nilai kadar MDA akan semakin banyak dan semakin mendekati nilai kadar MDA pada kelompok tikus kontrol.

5.2 Pengaruh Yoghurt Susu Kambing Pada Pencegahan Hiperkolesterolemia Terhadap Ekspresi *Tumor Necrosis Factor* (TNF-α) Jantung Tikus (*Rattus norvegicus*).

Hasil ekspresi *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF-α) jantung pada setiap kelompok tikus perlakuan dengan pewarnaan imunohistokimia dan pengambilan gambar menggunakan mikroskop cahaya (Olympus BX 51), terlihat ekspresi yang berwarna coklat pada otot jantung (Gambar 5.1).

Ekspresi TNF-α ditunjukkan dengan adanya ekspresi warna coklat pada otot jantung setelah pewarnaan Imunohistokimia (IHK). Pada tikus hiperkolesterolemia terlihat adanya ekspresi TNF-α dan kerusakan pada susunan otot jantung, sedangkan pada tikus yang diberi yoghurt susu kambing mampu mencegah terbentuknya ekpresi TNF-α dan kerusakan otot jantung, semakin tinggi dosis yoghurt yang diberikan maka ekspresi TNF-α semakin sedikit dan otot jantung semakin tersusun rapi, seperti pada Gambar 5.1. Ekspresi TNF-α dihitung dengan *axio vision* dan didapatkan jumlah rata-rata ekspresi TNF-α yang diamati menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *tukey* (Lampiran 12) menunjukkan perbedaan yang sangat nyata seperti (Tabel 5.2).



Gambar 5.1 Ekspresi *Tumor Necrosis Factor* (TNF-α) Pada Jantung (Panah Hitam) (Perbesaran 400x). Jantung Tikus Hiperkolesterolemia (A), Jantung Tikus Kontrol (B), Jantung Tikus Pencegahan Dosis 300mg/kgBB (C), Jantung Tikus Pencegahan Dosis 600mg/kgBB (D), Jantung Tikus Pencegahan Dosis 900mg/kgBB (E).

Tabel 5.2 Ekspresi *Tumor Necrosis Factor* (TNF-α) Pada Kelompok Tikus Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Ekspresi TNF-α (% area) ± SD	Peningkatan terhadap kelompok kontrol (%)	Penurunan terhadap kelompok hiperkolesterolemia (%)
Tikus Kontrol	0,3550 ± 0,08367[a]	0	-
Tikus Hiperkolesterolemia	2,9900 ± 0,04830[e]	100	-
Pencegahan 300mg/kgBB	2,2600 ± 0,08869[d]	-	24
Pencegahan 600mg/kgBB	1,8900 ± 0,14720[c]	-	37
Pencegahan 900mg/kgBB	0,9600 ± 0,05292[b]	-	68

Ket : Notasi yang berbeda menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p<0,01$)

Nilai rata-rata ekspresi TNF-α organ jantung pada kelompok tikus kontrol merupakan standar rata-rata ekspresi TNF-α jantung tikus dalam keadaan normal. Pada tikus kontrol terdapat sedikit ekspresi TNF-α karena dalam keadaan normal sitokin pasti terdapat didalam tubuh walaupun dalam jumlah yang sedikit, sebagai sistem pertahanan tubuh. TNF-α juga berfungsi untuk membantu proses remodeling jantung. Remodeling jantung secara normal terjadi karena perubahan kompensasi dan fungsi jantung dalam merespon proses fisiologis (Bozkurt, 2002).

Nilai rata-rata ekspresi TNF-α yang ditunjukkan oleh kelompok tikus hiperkolesterolemia, terdapat perbedaan yang nyata dan peningkatan sebanyak 100% dibanding dengan kelompok tikus kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa

diet hiperkolesterolemia mampu meningkatkan kadar LDL darah. *Low Density Lipoprotein* (LDL) yang tinggi dapat menyebabkan stres oksidatif dimana kadar radikal bebas lebih banyak dibandingkan dengan kadar antioksidan. Stres oksidatif tersebut meningkatkan inflamasi pada miosit otot jantung dengan ditandainya peningkatan nilai rata-rata ekspresi TNF-α pada organ jantung, hal tersebut sesuai dengan pendapat wakkad *et al*. (2010) dan Christman *et al*. (2000) bahwa tingkat kolesterol yang tinggi akan memicu terbentuknya stres oksidatif. Stres oksidatif dapat memicu reaksi inflamasi dan sekresi TNF- α.

Nilai rata-rata ekspresi TNF-α pada tikus hiperkolesterolemia juga menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dengan kelompok tikus pencegahan hiperkolesterolemia dengan yoghurt susu kambing dan terjadi penurunan ekspresi TNF-α sebanyak 24% pada tikus dengan dosis 300 mg/kg BB, 37% pada tikus dengan dosis 600 mg/kg BB dan 68% pada tikus dengan dosis 900 mg/kg BB dibanding dengan tikus hiperkolesterolemia. Hal ini menunjukkan bahwa yoghurt susu kambing memiliki kemampuan untuk mecegah kondisi hiperkolesterolemia sehingga kadar kolesterol masih tetap dalam keadaan normal. Kolesterol yang dalam keadaan normal mampu mencegah kerusakan mitokondria jantung sehingga pembentukan radikal bebas berlebih dapat dihindari dan proses inflamasi akibat radikal bebas juga dapat dihambat. Penghambatan prosen inflamasi akan membuat sitokin proinflamasi seperti TNF-α tidak terbentuk. Hal ini sesuai dengan Jones *et al*. (2014) bahwa yoghurt yang mengandung bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus*

bulgaricus dan *Streptococcus thermophillus* mampu mengasimilasi kolesterol dan memproduksi enzim BSH (*Bile Salt Hydrolase*) yang dapat mencegah pembentukan LDL. Bakteri asam laktat juga dapat memproduksi *ferulic acid* yang dapat menghambat biosintesis kolesterol melalui penghambatan ikatan HMG Co-A reduktase.

Pada kelompok tikus pencegahan hiperkolesterolemia dengan yoghurt susu kambing dosis 300 mg/kg, dosis 600 mg/kg BB dan dosis 900 mg/kg BB menunjukkan perbedaan yang sangat nyata terhadap kelompok tikus kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian yoghurt susu kambing belum mampu mempertahankan nilai ekspresi TNF-α agar tetap mendekati nilai ekspresi TNF-α pada kelompok tikus kontrol akan tetapi walaupun tidak mendekati ekspresi TNF-α tikus kontrol, yoghurt susu kambing mampu menurunkan nilai ekspresi TNF-α. Hal ini terjadi karena yoghurt susu kambing memiliki kandungan biopeptida salah satunya adalah laktoferin yang berfungsi sebagai antiinflamasi, sehingga proses inflamasi dapat di hambat. Hal ini didukung oleh Artym (2003) bahwa laktoferin diduga dapat menghambat produksi sitokin proinflamasi yang dihasilkan oleh makrofag seperti IL-1 dan TNF-α.

Pada kelompok tikus yoghurt susu kambing dosis 300 mg/kg menunjukkan nilai ekspresi TNF-α yang berbeda sangat nyata dengan kelompok tikus yoghurt dosis 600 mg/kg BB dan 900 mg/kg BB. Dosis 600 mg/kg BB juga menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dengan dosis 300 mg/kg BB dan 900 mg/kg BB. Dosis 900 mg/kg BB memiliki persentase penurunan yang lebih besar

dibanding persentase penurunan pada dosis 600 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yoghurt yang diberikan akan memiliki kandungan laktoferin yang tinggi juga sehingga akan semakin baik untuk mencegah pembentukan sitokin proinflamasi.

BAB 6. PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian maka dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian yoghurt susu kambing dapat mencegah kondisi hiperkolesterolemia yang ditandai dengan penurunan kadar malondialdehida (MDA) pada organ jantung tikus kelompok terapi pencegahan yoghurt dosis 300mg/kgBB (36%), 600mg/kgBB (60%) dan dosis 900mg/kgBB (73%).
2. Pemberian yoghurt susu kambing dapat mencegah kondisi hiperkolesterolemia yang ditandai dengan penurunan ekspresi TNF-α pada jantung tikus kelompok terapi pencegahan tikus yoghurt dosis 300mg/kgBB (24%), 600mg/kgBB (37%) dan dosis 900mg/kgBB (67%).
3. Dosis yoghurt 900mg/kgBB merupakan dosis terbaik dalam mencegah kondisi hiperkolesterolemia.

6.2 Saran

- Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang kandungan bioaktif peptida yoghurt susu kambing dalam menurunkan kadar kolesterol darah.

DAFTAR PUSTAKA

Algameta, E. D. 2009. *Uji Aktivitas Antioksidan Tablet Effervescent Dewandaru (Eugenia uniflora L.) dan Sambiloto (Adrographis paniculata) pada Tikus yang Dibebani Glukosa* [Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Artym, J. 2003. *Orally Administered Lactoferrin Restores Humoral Immune Response in Immunocompromised Mice.* lmmunol Lett. 9(1):9-15

Begley, M., C. Hill, C. G. M. Grahan. 2006. Bile salt hydrolase activity in probiotics. *Appl Environ Microbiol* 72: 1729-1738.

Bowless, D. K., K. S. McCommis, A. M. McGee, M. H. Laughlin and C. P. Baines. 2011. *Hypercholesterolemia Increases Mitochondrial Oxidatives Stress and Enhances The MTP Response In The Porcine Myocardium: Beneficial Effects Of Chronic Exercise*. Am J Physio Regul Integr Comp Physiol. Nov 2011; 301 (5): R1250-R1258.

Bozkurt, B., S. B. Kribbs, F. J. Clubb, L. H. Michael, V. V. Didenko, P. J. Hornsby, Y. Seta, H. Oral, F. G. Spinale and D. L. Mann. 2002. *Pathophysiologically Relevant Concentrations of Tumor Necrosis Factor-α Promote Progressive Left Ventricular Dysfunction and Remodeling in Rats*. V. A Medical Center. Houston TX 77030.

Christman, J. W., T. S. Blackwell and B. H. J. Juurlink. 2000. *Redox Regulation of Nuclear Factor Kappa Beta: Therapeutic Potential for Attenuating Inflammatory Responses*. Brain Pathology 10: 153-162 (2000).

Clarkson, P. M. and H. S. Thompson. 2000. *Antioxidants: what role do they play in physical activity and health.* Am J Clin Nutr, 72**,** 637S-46S.

Ebringer, L., M. Ferencik and J. Krajcovik. 2008. *Beneficial Health Effects of Milk and Fermented Dairy Products*. Folia Microbiol. 53 (5), 378–394.

Elisabeth, T. 1981. *Dictionary of Biology*. New York: Facts on File Inc.

Gani, N., I. Lidya dan P. Mariska. 2013. *Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (Abelmoschus manihot L.).* http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmou. Manado. Jurusan Kimia FMIPA Unsrat.

Ganong, W. F. 1983. *Fisiologi Kedokteran.* Jakarta : CV. EGC.

Gilliland, S. E, C. R. Nelson dan Maxwell. 1985. *Assimilation of cholesterol by Lactobacillus acidophilus.* App Environ Microbiol. 49: 377–381.

Goldberg, I.J. and M. Merkel. 2001. *Lipoprotein Lipase, physiology, biochemistry and molecular biology*. Front Biosci 6:D388.

Gartner, R., C. Barbara, H. Gasnier, W. Johannes and W. Dietrich. 2002. *Selenium Supplementation in Patients with Autoimmune Thyroiditis Decreases Thyroid Peroxidase Antibodies Concentrations*. Clin Endocrinol & Metabolism 87 (4) : 1687-1691

Harini, M. dan D. A. Okid. 2009. *Blood Cholesterol Level of Hypercholesterolemia Rat (Rattus norvegicus) After VCO Treatment.* Journal Bioscience Vol 1 No 2 : 53-58.

Hidayat, N., M. C. Padaga dan S. Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Edisi I. Penerbit Andi. Yogyakarta.

Hirano, R., M. Hirano and M-Ooka. 1999. *Laktoproxidase Effect On Rheological Properties Of Yogurt*. Hokaido University Press. Japan.

Jones, M. L., C. T. Duchesneau, D. Shah, P. Jain, S. Saha and S. Prakash. 2014. *Cholesterol Assimilation by Lactobacillus Probiotic Bavteria: An In Vitro Investigation*. Biomed Research International. Volume 2014.

Kasim, E., Y. Kurniawati dan N. Nurhidayat. 2006. *Pemanfaatan Isolat Lokal Monascus purpureus untuk Menurunkan Kolesterol Darah pada Tikus Putih galur Sprangue Dawley.* Biodiversitas. 7(2): 122-124.

Khoiriyah, L. K. dan Fatchiyah. 2013. *Karakter Biokimia dan Profil Protein Yogurt Kambing PE Difermentasi Bakateri Asam Laktat (BAL).* J.Exp. Life Sci. Vol. 3 No. 1. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.

Kontush, A. and M. J. Chapman. 2006. *Functionally Defective High-Density Lipoprotein: A New Therapeutic Target at the Crossroads of Dyslipidemia, Inflammation, and Atherosclerosis*. Pharmacol Rev.58:342-374.

Luczaj, W. and S. Elzbieta. 2003. *DNA Damage Caused by Lipid Peroxidation Products.* Cellular and Molecular Biology Letters 8: 391 – 413.

Maheswari, R. R. A. dan R. N. Ronny. 2008. *Perbandingan Kandungan Nutrisi ASI, Susu Sapi, dan Susu Kambing*. // http.www.ipb.ac.id. [24 Mei 2010].

Marks, B.D., A.D. Mark and C.M. Smith. 1996. *Biokimia Kedokteran Dasar, Alih Bahasa: Brahm U Pendit*. EGC.

Matsue, H., D. Edelbaum, D. Shalhevet, N. Mizumoto, C. Yang, M. E. Mummert, J. Oeda, H. Masayusu and A. Takashima. 2003. *Generation and Function of Reactive Oxygen Species in Dendritic Cell During Antigen Presentation*. J immunol 2003; 171: 3010-3018

Mayes ,P. A. and K. M. Botham. 1996. *Biologic Oxidation*. Di dalam: Murray RK, 19 Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Illustrated Biochemistry Twenty-Sixth Edition*. New York:McGraw-Hill. hlm 11: 86-91.

Montgomery, D., and S. Kowalsky. 2011. *Design and Analysis of Experiment*. John Willey and Sains Inc. ISBN 978-0-470-16990-2.

Murray, R. K., Granner and Rodwell. 2003. *Biokimia Harper*. Penerjemah: Andry Hartono. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

Ngatirah. 2000. *Seleksi Bakteri Asam Laktat Sebagai Agensi Probiotik Yang Berpotensi Menurunkan Kolesterol*. Makalah Ilmiah. Yogyakarta: Program Pascasarjana UGM.

Noh, D. O., S. H. Kim dan S. E. Gilliland. 1997. *Incorporation cholesterol into the celluler membran of Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. J Dairy Sci 80:3107-3113.

Posecion, N. P., N. L. Crowe and Robin Robinson. 2005. *The Development Of A Goat's Milk Yogurt.* Journal Of The Science Of Food and Agriculture. Volume 85, Issue 11 Pages 1909-1913.

Powers, S. K. and M. J. Jackson. 2008. *Exercise-Induced Oxidative Stress*: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. Physiol Rev, 88, 1243-76.

Pratomo, F. A. 2013. *Efek Pemberian Tepung Tulang Ikan Tuna Madidihang (Thunus Albacares) Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Model Overiektomi*

Berdasarkan Histopatologis Tulang Femur Dan Ekspresi TNF-α. [Skripsi]. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.

Price. S. A. dan L. M. Wilson. 2006. *Patofisiologi. Ed 6*. Jakarta: EGC.

Purwaningsih, E. dan A. Yuniastuti. 2005. *Pengaruh Kombinasi Oligosakarida dengan Lactobacillus acidophilus Terhadap Fraksi Lipid Serum Tikus Hiperkolesterolemi*. J MIPA. 8 (2): 99-104.

Rahmadian, A. W. 2011. *Pengaruh Paparan Morfin Pada Media Bangkai Rattus norvegicus strain Wistar Terhadap Tumbuh Kembang Larva Lalat Sarcophaga sp. Sebagai Acuan Penentuan Post-Mortem Interval (PMI) Pada Kasus Entomologi Forensik* [Tugas Akhir]. Fakultas Kedoteran. Universitas Brawijaya.

Robbins, S. dan R. Cotran. 2002. *Dasar Patologi Penyakit* (Terjemahan). Penerbit Buku Kedokteran. Sumber Agung Podomoro. Jakarta.

Shofia, V. 2012. *Studi Pemberian Ekstrak Rumput Laut Coklat (Sargassum prismaticum) Terhadap Kadar Malondialdehid dan Gambaran Histologi Jaringan Ginjal pada Tikus (Rattus norvegicus) Diabetes Melitus Tipe 1* [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya.

Sitepoe, M. 1992. *Kolesterol Fobia Keterkaitannya dengan Penyakit Jantung*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Slater, T. F. 1984. *Free-Radical Mechanisms in Tissue Injury*. Biochem J, 222, 1-15.

Smith dan Mangkoewidjojo, 1988. *Bersahabat dengan Hewan Coba,* Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

Soeharto, I. 2004. *Serangan Jantung dan Stroke, Hubungannya dengan Lemak dan Kolesterol*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Surono. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. YAPMMI. Jakarta.

Tamime, A. Y. and R. K. Robinson. 2007. *Yoghurt Science and Technology*. 3rd ed Abington, Cambridge. England.

Tapan, T. 2005. *Penyakit Degeneratif*. Alex Media Komputindo. Jakarta.

Usman dan A. Hosono. 1999. *Bile tolerance, taurocholate deconjugation, and binding of cholesterol by Lactobacillus gasseri strains*. J Dairy Sci. 82:243–248.

Wakkad, A. E., N. E. Hassan, L. Sherif, A. Azza, H. Sibaii and S. Zayat. 2010. *Hypercholesterolemia enhances the release of proinflammatory cytokines in obese Egyptian adolescents*. Journal of American Science 6(8): 428-35

Wawan, S. 2002. *Teknik Pengawetan Bakteri, Khamir dan Kapang Dengan Metode Pengeringan-Bekuan (Freeze Drying)*. Temu Teknis Fungsional Non Peneliti. Balai Penelitian Veteriner. Bogor.

Wresdiyati, T. dan M. Astawan. 2005. *Detekasi Secara Imunohistokimia, Antioksidan Dismutase (SOD) pada jaringan tikus Hiperkolesterolemia Yang Diberi Pakan Rumput Laut*. [Laporan Peelitian]. Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Bogor.

Xernoulis, P. G. and J. M. Steiner. 2010. *Lipid Metabolismand Hyperlipidemia in Dog*. College of Veterinary Medicine and Biomedical Science. Texas A&M University. The Veterinary Journal 183 (2010) 12-21

Yustika, A. R., Aulanni'am, dan S. Prasetyawan. 2013. *Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi pada Ginjal Tikus Putih (Rattus norvegicus) Pasca Induksi Cylosporine-A*. Kimia Student Journal, Vol. 1, No. 2, pp. 222-228 Universitas Brawijaya. Malang.