

**EFEK PEMBERIAN BEKATUL TERHADAP  
KADAR TRIGLISERIDA DAN GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI AORTA PADA TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) MODEL DIET  
TINGGI KOLESTEROL**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**PUTRI CITRAWATI**  
145130101111024



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**EFEK PEMBERIAN BEKATUL TERHADAP  
KADAR TRIGLISERIDA DAN GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI AORTA PADA TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) MODEL DIET  
TINGGI KOLESTEROL**

**SKRIPSI**

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran  
Hewan**

Oleh:  
**PUTRI CITRAWATI**  
**145130101111024**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**Efek Pemberian Bekatul terhadap Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Aorta pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diet Tinggi Kolesterol**

**Oleh:  
PUTRI CITRAWATI  
145130101111024**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal 30 Juli 2018 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I



Pembimbing II

Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS  
NIP. 19520412 198002 1 001

drh. Viski Fitri Hendrawan, M.Vet  
NIP. 19880518 201504 1 003

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

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



**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Putri Citrawati

NIM : 145130101111024

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

**Efek Pemberian Bekatul terhadap Kadar Triglicerida dan Gambaran Histopatologi Aorta pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diet Tinggi Kolesterol**

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.
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, 30 Juli 2018

Yang menyatakan,

Putri Citrawati

NIM. 145130101111024

## Efek Pemberian Bekatul terhadap Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Aorta pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diet Tinggi Kolesterol

### ABSTRAK

Kolesterol merupakan senyawa steroid yang terdapat di dalam tubuh hewan dan manusia. Kadar kolesterol total normal pada tikus yaitu 10-54 mg/dL dan trigliserida 26-145 mg/dL. Kadar kolesterol dalam darah dapat mengalami peningkatan. Penyebab meningkatnya kadar kolesterol adalah makanan yang mengandung kolesterol tinggi. Akibatnya produksi asam empedu dan radikal bebas meningkat, sehingga kadar trigliserida akan meningkat dan menyebabkan kerusakan sel. Bekatul mempunyai kandungan serat kasar dan antioksidan yang dapat digunakan untuk mengatasi keadaan tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari bekatul sebagai terapi pada tikus (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol terhadap kadar trigliserida dan gambaran histopatologi aorta. Tikus (*Rattus norvegicus*) dibagi dalam 5 kelompok dengan 4 kali pengulangan. Kelompok A sebagai kontrol negatif, kelompok B kontrol diberi pakan tinggi kolesterol, kelompok C tikus model diet tinggi kolesterol dengan terapi bekatul 16%/ekor/hari, kelompok D tikus model diet tinggi kolesterol dengan terapi bekatul 38%/ekor/hari, dan kelompok E tikus model diet tinggi kolesterol dengan terapi bekatul 57%/ekor/hari. Terapi bekatul dilakukan selama 21 hari. Kadar trigliserida dihitung dengan metode GPO-PAP dan gambaran histopatologi aorta diamati dengan pewarnaan HE (Hematoksillin-Eosin). Pengaruh pemberian bekatul terhadap kadar trigliserida dalam darah dianalisis dengan *one way ANOVA (Analysis of Variance)* dengan tingkat kepercayaan  $\alpha=5\%$  dan analisis histopatologi aorta secara kualitatif deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi bekatul dapat menurunkan kadar trigliserida secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) dengan dosis terapi 57%/ekor/hari menunjukkan dosis terbaik dalam menurunkan kadar trigliserida. Terapi bekatul juga terbukti dapat memperbaiki gambaran histopatologi aorta tikus model diet tinggi kolesterol.

Kata kunci : Kolesterol, Trigliserida, Bekatul, *Rattus norvegicus*, dan Aorta

## The Effect of Rice Braning on Triglyceride Levels and Histopatologic Aorta in Rat (*Rattus norvegicus*) of High Cholesterol Dietary Model

### ABSTRACT

Cholesterol is a steroid compound found in animals and humans. Total cholesterol normal levels in rat is 10-54 mg/dL and triglyceride 26-145 mg/dL. Blood cholesterol levels may increase. The cause of increased levels of cholesterol is foods that contain high cholesterol. As a result the production of bile acids and free radicals increases, so triglyceride levels will increase and cause cell damage. Rice bran has a crude fiber content and antioxidants that can be used to resolve these conditions. This study aims to determine the effect of rice bran as therapy in rat (*Rattus norvegicus*) high-cholesterol dietary model towards triglyceride levels and histopathologic of aorta. Rat (*Rattus norvegicus*) is divided into 5 groups with 4 repetitions. Group A as negative control, group B was fed high cholesterol, group C rat high-cholesterol diet model with rice bran therapy of 16%/rat/day, group D rat high-cholesterol diet model with rice bran therapy of 38%/rat/day, and group E rat diet high cholesterol model with rice bran therapy of 57%/rat/day. Rice bran therapy performed for 21 days. Triglyceride levels were calculated by the GPO-PAP method and aortic histopathologic features were observed with HE staining (Hematoxillin-Eosin). The effect of rice braning on blood triglyceride levels was analyzed by one way ANOVA (Analysis of Variance) with  $\alpha=5\%$  and aortic histopathologic analysis was qualitatively descriptive. The results showed that rice bran therapy could significantly reduce triglyceride levels ( $p < 0,01$ ) with a dose of 57%/rat/day to decrease triglyceride levels. Rice bran therapy is also repair aortic tissue histopathology of rat high cholesterol diet model.

Key words : Cholesterol, Triglyceride, Rice Bran, *Rattus norvegicus*, and Aorta

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa atas berkat dan anugerah-Nya penulis dapat menyusun skripsi dengan judul **“EFEK PEMBERIAN BEKATUL TERHADAP KADAR TRIGLISERIDA DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI AORTA PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL DIET TINGGI KOLESTEROL”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

Skripsi ini disusun berdasarkan literatur yang penulis peroleh dari berbagai referensi. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

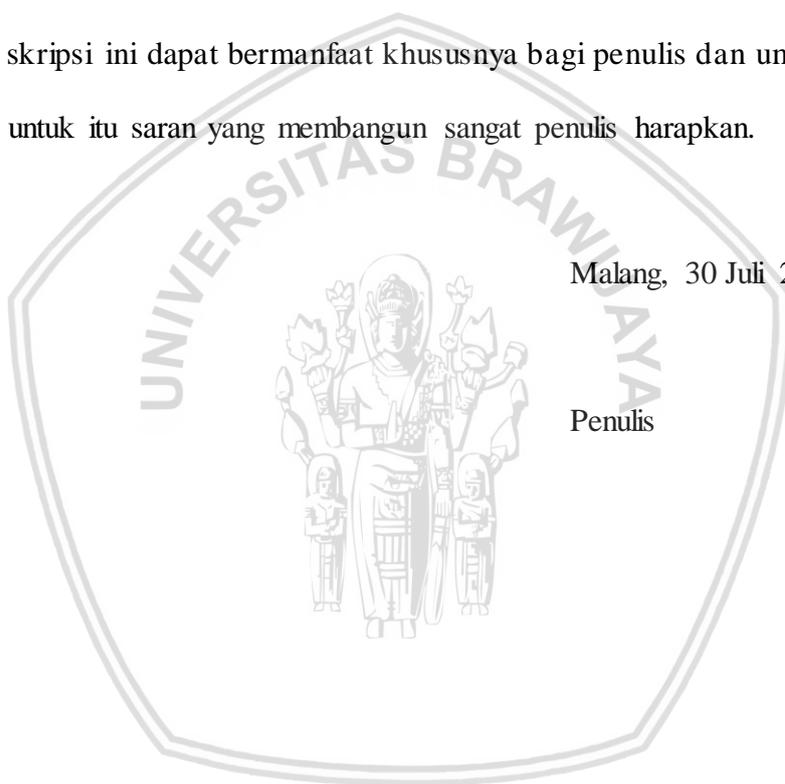
1. Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS dan drh. Viski Fitri Hendrawan, M.Vet selaku dosen pembimbing yang telah menyisihkan waktunya untuk membimbing penulisan skripsi ini.
2. drh. Wawid Purwatiningsih, M.Vet dan drh. Rahadi Swastomo, M.Biomed selaku penguji yang telah bersedia untuk menjadi dosen penguji dalam skripsi ini.
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
4. Keluarga tercinta yang selalu memberi kasih sayang, dorongan, dukungan, dan doa untuk menyelesaikan studi penulis serta perhatiannya akan kebutuhan penulis baik secara moril maupun materi.
5. Sahabat – sahabat penulis Udin, Nike, Asri, Ade, Brenda, Agnesya, Mimin, dan Huda yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini.

6. Seluruh dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
7. Seluruh kolegium Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, khususnya kepada teman-teman Brave.

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca untuk itu saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Malang, 30 Juli 2018

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG</b> .....	xiii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Batasan Masalah .....	4
1.4 Tujuan Penelitian .....	5
1.5 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1 Kolesterol .....	7
2.2 Hiperkolesterolemia .....	9
2.3 Diet Tinggi Kolesterol .....	11
2.4 Beras Putih .....	13
2.5 Bekatul .....	14
2.6 Antioksidan .....	16
2.7 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	18
2.8 Trigliserida .....	19
2.9 Aorta .....	21
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....	24
3.1 Kerangka Konseptual .....	24
3.2 Hipotesis Penelitian .....	26
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN</b> .....	27
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	27
4.2 Alat dan Bahan .....	27
4.2.1 Alat Penelitian .....	27
4.2.2 Bahan Penelitian .....	28
4.3 Tahapan Penelitian .....	28
4.4 Prosedur Kerja .....	29
4.4.1 Rancangan Penelitian dan Persiapan Hewan Coba .....	29
4.4.2 Analisis Proksimat Kandungan Serat Kasar Bekatul .....	31
4.4.3 Pembuatan Hewan Model Diet Tinggi Kolesterol .....	32
4.4.4 Penentuan dan Pemberian Terapi Bekatul .....	32
4.4.5 Isolasi Serum Darah .....	33



4.4.6 Pengukuran Kadar Trigliserida .....	34
4.4.7 Isolasi Aorta .....	35
4.4.8 Pembuatan dan Pengamatan Histopatologi Aorta .....	35
4.4.8.1 Pengambilan Sampel dan Fiksasi .....	35
4.4.8.2 Dehidrasi .....	36
4.4.8.3 <i>Clearing</i> .....	36
4.4.8.4 <i>Impregnasi</i> .....	36
4.4.8.5 <i>Embedding</i> dan <i>Blocking</i> .....	36
4.4.8.6 Pemotongan dan Penempelan pada <i>Object Glass</i> .....	37
4.4.8.7 Pewarnaan Hematoksin-Eosin .....	37
4.4.8.8 <i>Mounting</i> .....	38
4.4.8.7 Pengamatan Preparat Histopatologi .....	38
4.4.9 Analisis Data .....	38
<b>BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	39
5.1 Pengaruh Pemberian Bekatul terhadap Kadar Trigliserida Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Model Diet Tinggi Kolesterol .....	39
5.2 Pengaruh Pemberian Bekatul terhadap Perbaikan Kerusakan Histopatologi Aorta Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Model Diet Tinggi Kolesterol .....	46
<b>BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	55
6.1 Kesimpulan .....	55
6.2 Saran .....	55
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	56
<b>LAMPIRAN</b> .....	63



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Pemberian Perlakuan .....	33
5.1 Kadar Trigliserida Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Model Diet Tinggi	
Kolesterol .....	40



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur Molekul Kolesterol.....	7
2.2 Beras Putih .....	14
2.3 Bekatul .....	16
2.4 Struktur Kimia (a) $\gamma$ -oryzanol (b) Tokoferol (c) Tokotrienol .....	17
2.4 <i>Rattus norvegicus</i> .....	19
2.5 Struktur Molekul Trigliserida .....	21
2.6 Histologi Aorta Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	22
2.7 Histopatologi Aorta Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	23
3.1 Kerangka Konseptual .....	24
5.1 Grafik Kadar Trigliserida .....	42
5.2 Gambaran Histopatologi Aorta (A) Kelompok A (Kontrol Negatif), (B) Kelompok B (Kontrol Positif), (C) Kelompok C (Perlakuan 1), (D) Kelompok D (Perlakuan 2), dan (E) Kelompok E (Perlakuan 3) .....	48

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Laik Etik .....	63
2. Hasil Uji Serat Kasar pada Bekatul .....	64
3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan pada Bekatul .....	65
4. Surat Determinasi .....	66
5. Kerangka Operasional .....	67
6. Analisis Proksimat Kandungan Serat Kasar Bekatul .....	68
7. Komposisi Pakan Kolesterol .....	70
8. Perhitungan Dosis Terapi Bekatul .....	71
9. Diagram Kerja Pengukuran Kadar Trigliserida .....	72
10. Pembuatan Preparat Histopatologi Aorta .....	73
11. Data Hasil Uji Kadar Trigliserida .....	75
12. Hasil Uji Statistika Kadar Trigliserida Post-Terapi dengan SPSS 16 .....	76
13. Dokumentasi Pribadi .....	79



## DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
mg/dL	miligram per desiliter
%	persen
gr	gram
mL	mililiter
mg	miligram
PTU	<i>Propil tiourasil</i>
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
IDL	<i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
Ko-A	Koenzim-A
≥	lebih dari samadengan
NADPH	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotida Phosphat Hidrogen</i>
PUFA	<i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>
<	kurang dari
>	lebih dari
μL	mikroliter
mmol/L	milimol per liter
U/mL	unit per mililiter
N	Normalitas
±	kurang lebih
cc	centimeter cubic
°C	derajat celsius
GPO-PAP	<i>Gliserolphosphat Oksidase-Peroxisidase Aminoantipyrine</i>
ATP	<i>Adenosine Triphosphat</i>
ADP	<i>Adenosine Diphosphat</i>
nm	nanometer
PFA	<i>paraformaldehid</i>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
BNJ	Beda Nyata Jujur
α	alfa
μg/mL	mikrogram per mililiter
γ	gamma
cm	centimeter



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pemberian pakan berlemak dan tinggi kolesterol sering terjadi pada hewan kesayangan seperti anjing dan kucing. Salah satu contohnya adalah pemberian *pet food* berupa daging dan jeroan. *Pet food* berupa daging dan jeroan tersebut dapat meningkatkan kadar kolesterol darah pada anjing dan kucing (Irawan, dkk., 2014). Menurut Riesanti, dkk. (2014) menyatakan bahwa makanan seperti daging, hati, otak, dan jeroan yang diberikan pada hewan dalam bentuk *pet food* dapat menyebabkan kolesterol dalam tubuhnya berlebih.

Kolesterol adalah senyawa steroid yang terdapat di dalam hewan dan manusia. Kolesterol berfungsi menyelubungi serabut-serabut sel saraf, sebagai substrat untuk pembentukan asam empedu, vitamin D, dan hormon steroid (Widyaningsih, dkk., 2010). Kadar kolesterol total pada tikus normalnya adalah 10-54 mg/dL (Riesanti, dkk., 2014). Kolesterol dalam darah dapat mengalami peningkatan yang disebut dengan hiperkolesterolemia. Hiperkolesterolemia adalah suatu keadaan dimana terjadi peningkatan kadar kolesterol di atas normal dalam darah. Kondisi hiperkolesterolemia ditandai dengan kadar kolesterol total dalam darah  $\geq 240$  mg/dL (Setyaji, 2011). Sedangkan menurut Larasathi, dkk. (2014) menyatakan bahwa kadar kolesterol total yang dikategorikan dalam kondisi hiperkolesterolemia yaitu  $\geq 200$  mg/dL.

Jumlah kejadian hiperkolesterolemia pada kucing dan anjing sebanyak 13% (Maulana, dkk., 2014). Hiperkolesterolemia sering terjadi pada *pet animal* seperti

anjing yaitu sekitar 25% sampai 44% di negara-negara barat (Rufaida, dkk., 2014). Jenis anjing *Miniature schnizer* di United State mengalami hiperkolesterolemia sebanyak 32,8% (Irawan, dkk., 2014).

Tingginya kadar kolesterol dalam darah akan menyebabkan tubuh mengubahnya menjadi asam empedu. Semakin banyak asam empedu yang dihasilkan akan mengakibatkan produksi radikal bebas semakin tinggi. Sehingga antioksidan tubuh tidak mampu mengatasinya (Sugiarto, dkk., 2014). Radikal bebas yang tinggi dalam tubuh akan menghasilkan stres oksidatif sehingga menyebabkan kerusakan pada sel, jaringan, atau organ (Susantiningsih, 2015). Salah satu organ yang rusak adalah aorta. Radikal bebas yang tinggi juga menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid sehingga kadar trigliserida akan meningkat. Kadar trigliserida pada tikus normalnya adalah 26-145 mg/dL (Kinenda, 2017). Kadar trigliserida yang tinggi akan mengakibatkan terbentuknya plak pada pembuluh darah sehingga terjadi penghambatan aliran darah dan menyebabkan aterosklerosis (Niza, dkk., 2015).

Penggunaan obat hiperkolesterolemia pada hewan berhasil mengendalikan dan menurunkan kadar kolesterol dalam darah, namun penggunaannya dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping (Riesanti, dkk., 2014). Sehingga masyarakat lebih memilih menggunakan obat herbal untuk mengobati penyakit gangguan metabolik (Rufaida, dkk., 2014). Penelitian ini menggunakan bekatul padi sebagai terapi untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Alasannya yaitu jumlah produksi padi di Indonesia tinggi. Indonesia menempati negara terbesar ketiga yang memproduksi padi sebesar 8,8% padi di dunia setelah Cina dan

India pada tahun 2006 (Iriyani, 2011). Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik Indonesia (2016) jumlah produksi padi di Indonesia pada tahun 2014-2016 menunjukkan adanya peningkatan, yaitu 70.846.465 ton tahun 2014, 75.397.841 ton tahun 2015, 79.354.767 ton tahun 2016, dan diperkirakan pada tahun 2017 akan mencapai 81.382.451 ton. Sehingga bekatul yang dihasilkan juga akan semakin bertambah setiap tahunnya. Bekatul merupakan lapisan luar dari beras yang mengandung protein, serat, lemak, dan vitamin E (Iriyani, 2011). Kandungan bekatul lainnya adalah antioksidan diantaranya tokoferol, tokotrienol, dan orizanol (Indra dan Binar, 2015). Jenis bekatul padi yang digunakan adalah bekatul padi beras putih. Kandungan serat kasar di dalam bekatul beras putih lebih tinggi dibandingkan bekatul beras merah yaitu  $15,06 \pm 2,09\%$  sedangkan bekatul beras merah hanya  $13,44 \pm 0,40\%$  (Iriyani, 2011).

Serat kasar dapat mempercepat laju pakan dalam mengikat asam empedu bebas sehingga absorpsi lemak terhambat dan ekskresi lemak termasuk kolesterol melalui feses meningkat. Asam empedu bebas akan menurun di dalam tubuh sehingga tubuh akan membentuk asam empedu baru dari kolesterol dalam darah. Akibatnya kolesterol dalam darah akan menurun (Teru, dkk., 2017). Antioksidan dalam bekatul dapat menurunkan radikal bebas tubuh (Indra dan Binar, 2015). Sehingga kadar trigliserida dalam tubuh akan menurun dan kerusakan sel, jaringan, atau organ aorta akan berkurang. Menurunnya kadar trigliserida akan menyebabkan berkurangnya plak pada pembuluh darah. Berdasarkan penjelasan tersebut, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dari bekatul sebagai terapi pada tikus (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol terhadap kadar trigliserida

dan mengetahui pengaruhnya pada tingkat kerusakan sel aorta melalui gambaran histopatologinya.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah yang diselesaikan adalah:

1. Bagaimana pengaruh pemberian bekatul terhadap kadar trigliserida tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol?
2. Bagaimana pengaruh pemberian bekatul terhadap tingkat kerusakan sel aorta tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol?

## 1.3 Batasan Masalah

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

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan gallur wistar umur 8 minggu dengan berat badan  $\pm$  100 gram dan diperoleh dari Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dengan KEP. No. 861-KEP-UB.
2. Hewan model diberikan diet tinggi kolesterol berupa campuran antara minyak babi 2 gram, asam kolat 0,02 gram, kuning telur puyuh rebus 1 gram, dan aquades sampai 2 ml yang diperoleh dari pasar besar Malang dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, diberikan secara oral

menggunakan sonde lambung dengan dosis 3,02 gr/2 ml/ekor/hari selama 35 hari mulai hari ke-8.

3. Bekatul yang digunakan berasal dari padi beras putih dari penggilingan padi kelompok tani makmur Jalan Raya Jarakan Desa Karangsono Kecamatan Trenggalek Kabupaten Trenggalek dan telah dilakukan determinasi di Materia Medika Batu.
4. Dosis terapi bekatul yang diberikan adalah 16%/ekor/hari, 38%/ekor/hari, dan 57%/ekor/hari selama 21 hari mulai hari ke-23 dan metode pemberiannya seperti pemberian pakan standart tetapi waktu pemberiannya berbeda.
5. Variabel yang akan diamati dalam penelitian ini adalah kadar trigliserida yang dilihat menggunakan metode GPO-PAP dan mengetahui tingkat kerusakan dari sel aorta melalui gambaran histopatologinya.

#### 1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui kadar trigliserida tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol.
2. Mengetahui peran bekatul dalam memperbaiki kerusakan sel aorta dengan gambaran histopatologinya pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol.

### 1.5 Manfaat Penelitian

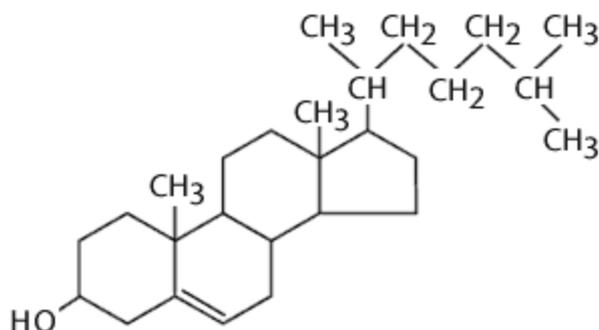
Penelitian ini bermanfaat dalam memberikan informasi perkembangan obat herbal di Indonesia serta untuk memberikan informasi mengenai manfaat bekatul sebagai terapi alternatif untuk menurunkan kadar trigliserida dan memperbaiki kerusakan sel aorta pada hewan.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kolesterol

Kolesterol adalah senyawa steroid yang terdapat di dalam hewan dan manusia. Kolesterol merupakan salah satu komponen dari lipoprotein darah. Fungsi kolesterol adalah menyelubungi serabut-serabut sel saraf, sebagai substrat untuk pembentukan asam empedu, vitamin D, dan hormon steroid (Widyaningsih, dkk., 2010). Kolesterol sebagian disintesis secara endogen sedangkan sebagian besar diproduksi oleh hepar (Widada, dkk., 2016). Kolesterol merupakan kelompok sterol yang mempunyai 10 atom karbon (**Gambar 2.1**). Kolesterol terbagi menjadi dua macam, yaitu *endogenous cholesterol* dan *exogeneous cholesterol*. *Endogeneous cholesterol* merupakan kolesterol yang berada di dalam sel dan jaringan tubuh, otak, syaraf, ginjal, limpa, hati, dan kulit. Sedangkan *exogeneous cholesterol* merupakan kolesterol yang berasal dari bahan makanan, seperti kuning telur, ikan, udang, otak dan hati sapi, dan lemak hewan lainnya (Manurung, 2009).



**Gambar 2.1** Struktur Molekul Kolesterol (Manurung, 2009).

Metabolisme kolesterol terjadi di hepar. Kolesterol dari asupan makanan akan dibawa oleh kilomikron ke dalam hepar. Kolesterol sebagian akan mengalami sirkulasi *enterohepatic* sehingga membentuk asam empedu dan sebagian lainnya akan menjadi satu dengan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL). *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) dimetabolisme oleh *lipoprotein lipase* menjadi *Low Density Lipoprotein* (LDL) melalui zat antara *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL) secara endositosis. Vesikel-vesikel yang mengandung IDL akan bergabung dengan lisosom dan enzim lisosom yang berfungsi menghidrolisis IDL menjadi kolesterol. Kolesterol diubah menjadi ester kolesterol di aparatus golgi dan berdifusi ke membran sel. Proses tersebut menyebabkan kadar kolesterol dalam darah naik. Kolesterol yang berlebih di sel atau jaringan akan dibawa kembali ke hepar oleh *High Density Lipoprotein* (HDL). Sehingga kadar kolesterol dalam darah turun (Widyaningsih, dkk., 2010).

Biosintesis kolesterol terbagi menjadi empat tahap. Tahap pertama terjadi penggabungan dari tiga molekul asetil Ko-A sehingga menghasilkan mevalonat. Tahap kedua mevalonat akan mengikat tiga gugus fosfat sehingga terfosforilasi menjadi *3-fosfo-S-pirofosfomevalonat*. *3-fosfo-S-pirofosfomevalonat* melepaskan CO<sub>2</sub> dan fosfat sehingga terbentuk *3-isopentenil-pirofosfat*. Enam gugus isopentenil bergabung dengan membebaskan gugus pirofosfatnya. Hasil dari tahap tersebut adalah terbentuknya hidrokarbon skualen. Tahap ketiga dari biosintesis kolesterol adalah skualen yang terbentuk akan mengalami proses enzimatik yang kompleks sehingga struktur linearnya melipat dan membentuk lingkaran. Hasil dari proses tersebut adalah terbentuknya lanosterol. Tahap keempat yaitu

lanosterol akan diubah menjadi kolesterol. Kecepatan biosintesis kolesterol dipengaruhi oleh tingkat kolesterol jaringan dan steroid lainnya, puasa, variasi makanan, dan kanker (Lehninger, 2004).

## 2.2 Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia adalah suatu keadaan dimana terjadi peningkatan kadar kolesterol di atas normal dalam darah. Hal tersebut ditandai dengan adanya peningkatan kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*), trigliserida, dan kolesterol total. Tubuh dinyatakan mengalami hiperkolesterolemia apabila konsentrasi kolesterol total  $\geq 240$  mg/dL, LDL  $\geq 160$  mg/dL, dan trigliserida  $\geq 150$  mg/dL (Setyaji, 2011). Menurut Larasathi, dkk. (2014) hiperkolesterolemia adalah suatu keadaan yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total dalam darah yaitu  $\geq 200$  mg/dL pada manusia. Definisi lain dari hiperkolesterolemia adalah suatu penyakit gangguan metabolisme kolesterol yang diakibatkan jumlah kadar kolesterol yang melebihi batas normal dalam darah. Hiperkolesterolemia dapat menyebabkan terjadinya penyakit jantung koroner dan arteriosklerosis (Rufaida, dkk., 2014). Penyebab terjadinya hiperkolesterolemia adalah mengkonsumsi lemak jenuh dalam jumlah yang banyak (Indra dan Binar, 2015). Faktor-faktor lainnya yang menyebabkan terjadinya hiperkolesterolemia adalah umur, genetik, dan jenis kelamin (Setyaji, 2011).

Hiperkolesterolemia terjadi karena adanya akumulasi kolesterol dan lipid pada dinding pembuluh darah (Dewi, 2013). Hiperkolesterolemia terbagi menjadi dua tipe, yaitu hiperkolesterolemia poligenik dan hiperkolesterolemia familial.

Hiperkolesterolemia poligenik adalah penyebab paling sering dari peningkatan kolesterol. Sedangkan hiperkolesterolemia familial terjadi defisiensi reseptor LDL (*Low Density Lipoprotein*) sehingga menyebabkan hiperkolesterolemia (Rubenstein, *et al.*, 2007). Hiperkolesterolemia familial terjadi karena terdapat mutasi pada gen reseptor LDL sehingga terjadi perubahan struktur maupun fungsi dari reseptor yang mengikat kolesterol LDL plasma (Prawitasari, dkk., 2011).

Hewan yang mengalami hiperkolesterolemia akan mengalami peningkatan kadar trigliserida karena adanya penumpukan *visceral fat* dan penurunan aktivitas enzim lipoprotein lipase yang dipicu oleh adanya radikal bebas yang akan mengganggu hidrolisis trigliserida sehingga kadar trigliserida meningkat (Arauna, 2013). Kondisi hiperkolesterolemia akan menyebabkan terjadinya peningkatan radikal bebas. Radikal bebas adalah senyawa reaktif yang dapat merusak sel pada tubuh. Apabila produksi radikal bebas terjadi berlebihan akan berakibat antioksidan dalam tubuh tidak mampu mengatasinya (Irawan, dkk., 2014).

Tubuh dalam keadaan hiperkolesterol akan berusaha untuk menyeimbangkan kadar kolesterol dengan cara melakukan sintesis asam empedu (Sugiarto, dkk., 2014). Jalur sintesa asam empedu terjadi di hepar (Kinenda, 2017). Asam empedu dikatalisis oleh kolesterol *7 $\alpha$ -hidroksilase*. *7 $\alpha$ -hidroksilase* merupakan enzim mikrosom. Enzim tersebut adalah suatu monooksigenase tipikal yang memerlukan oksigen, NADPH (*Nicotinamide Adenine Dinucleotida Phosphat Hidrogen*), dan sitokrom P450. Enzim antioksidan yang menurun akan menyebabkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oleh pereaksi feton akan diubah menjadi radikal hidroksil (OH<sup>-</sup>) yang sifatnya lebih toksik terhadap senyawa PUFA (*Polyunsaturated Fatty*

*Acid*) (Jessica, 2013). Semakin banyak asam empedu yang disintesis maka akan semakin banyak juga radikal bebas yang dihasilkan sebagai hasil sampingan (Sugiarto, dkk., 2014).

Radikal bebas adalah suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal bebas cenderung mengadakan reaksi berantai yang apabila terjadi di dalam tubuh akan dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus menerus (Wahdaningsih, dkk., 2011). Ketidakseimbangan antara radikal bebas atau prooksidan dan antioksidan dapat menyebabkan adanya stres oksidatif. Penyebabnya adalah tingginya produksi radikal bebas dan sedikitnya antioksidan dalam tubuh. Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan, sampai organ (Susantiningsih, 2015).

### **2.3 Diet Tinggi Kolesterol**

Diet tinggi kolesterol merupakan pakan yang mempunyai kadar kolesterol yang tinggi di dalamnya. Salah satu pakan dengan kolesterol yang tinggi adalah kuning telur. Kuning telur adalah sumber kolesterol eksogen di dalam tubuh yang dapat meningkatkan kolesterol darah. Kandungan kuning telur terdiri dari 66% trigliserida, 25% phospholipid, dan 5% kolesterol (Niza, dkk., 2015). Kuning telur ayam kampung mengandung kolesterol sebesar 1.881,30 mg/100 gr, 1.274,50 mg/100 gr pada kuning telur ayam ras, 2.118,75 mg/100 gr pada kuning telur itik, dan 2.139,17 mg/100 gr pada kuning telur puyuh (Chahyanto, dkk., 2016).

Makanan yang dapat meningkatkan konsentrasi kolesterol dalam darah tikus terdiri dari 1,5% kuning telur ayam, 10% lemak kambing, dan 1% minyak kelapa. Pakan kolesterol 1,5% mempunyai arti bahwa dalam setiap 100 gr pakan terkandung 1,5 gr kolesterol. Pemberian campuran lemak kambing dan PTU (*Propil Tiourasil*) ke dalam ransum tikus dapat meningkatkan konsentrasi kolesterol pada serum tikus. *Propil tiourasil* (PTU) merupakan suatu zat antitiroid yang dapat merusak kelenjar tiroid sehingga menghambat pembentukan hormon tiroid. Hormon tiroid dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan meningkatkan pembentukan LDL (*Low Density Lipoprotein*) di hati sehingga mengakibatkan peningkatan pengeluaran kolesterol dari sirkulasi. Apabila kekurangan hormon tiroid maka akan mengakibatkan katabolisme kolesterol menurun sehingga akan terjadi peningkatan kolesterol dalam darah (Hardiningsih dan Novik, 2006).

Pakan lain yang tinggi kolesterol yaitu lemak kambing, asam kolat, dan minyak goreng. Asam kolat mempunyai fungsi untuk meningkatkan kadar kolesterol serta membentuk sel busa. Pemberian pakan yang tinggi kolesterol dalam jumlah banyak akan meningkatkan kadar trigliserida dalam darah begitu juga sebaliknya. Tingginya asupan makanan yang tinggi kolesterol dapat menyebabkan terjadinya penyakit kardiovaskuler. Penyebabnya adalah adanya penebalan dan penimbunan lipid di tunika intima arteri sehingga menyebabkan penyempitan pada pembuluh darah. Akibatnya aliran darah ke jantung akan mengalami gangguan dan terjadi kerusakan pada otot jantung (Niza, dkk., 2015).

## 2.4 Beras Putih

Beras putih merupakan bahan makanan pokok dari sebagian besar masyarakat Indonesia. Beras putih adalah jenis beras yang mempunyai kandungan aleuron yang sedikit. Nama latin dari beras putih adalah *Oryza sativa* L. (Hernawan dan Vita, 2016). Aleuron adalah lapisan dari beras yang banyak mengandung protein, lemak, vitamin, dan mineral (Hasbullah dan Pramita, 2013). Beras putih didapatkan dari hasil penggilingan karena telah terpisah dari bagian dedaknya yang berwarna cokelat (**Gambar 2.2**) (Dianti, 2010).

Beras putih mempunyai masa simpan yang lebih lama. Karena lapisan yang mengandung minyak pada beras putih telah hilang ketika proses penyosohan. Lapisan kulit padi beras putih pada bagian dalam ikut dikupas sehingga kandungan minyak dalam lapisan tersebut yang kaya akan fiber dan selulosa juga akan hilang (Fibriyanti, 2012). Sehingga kandungan fiber dan selulosa banyak ditemukan di bekatul dari beras putih. Kandungan serat kasar pada bekatul dari padi beras putih sekitar 15,06% dan aktivitas antioksidan 42,22% (Iriyani, 2011).

Taksonomi dari beras putih (Tripathi, *et al.*, 2011):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Poales
Famili	: Poaceae
Genus	: <i>Oryza</i>
Spesies	: <i>Oryza sativa</i> L.



**Gambar 2.2** Beras Putih (Dianti, 2010).

## 2.5 Bekatul

Bekatul merupakan lapisan terluar dari beras yang terlepas ketika proses penggilingan padi (**Gambar 2.3**) (Auliana, 2011). Kandungan nutrisi yang terdapat di dalamnya antaralain protein, serat, lemak, dan vitamin E. Vitamin E yang terkandung dalam satu kilogram bekatul sekitar 300 mg, sedangkan kandungan protein, lemak, dan serat dalam bentuk persentase yaitu 17-22,9% lemak, 13,7-17,3% protein, dan 19,3-23,8% serat. Kandungan lainnya yang terdapat dalam bekatul yaitu 39,8-48,1% pati, 2,8-4,1% abu, dan 2,4-20,7% gula (Iriyani, 2011). Serat kasar akan mempercepat laju pakan dalam mengikat asam empedu sehingga absorpsi lemak terhambat dan meningkatkan ekskresi lemak termasuk kolesterol melalui feses. Serat kasar mempunyai sifat mengikat bahan organik lainnya seperti asam empedu dan akan terbuang bersama dengan feses. Asam empedu berfungsi memecah lemak hingga terurai menjadi asam lemak yang akan diserap oleh tubuh. Serat makanan yang mengikat asam empedu tersebut akan menurunkan jumlah asam empedu bebas sehingga akan dibutuhkan asam empedu baru. Asam empedu baru dibentuk dari kolesterol yang ada di dalam darah sehingga kolesterol dalam darah menjadi turun (Teru, dkk., 2017).

Bekatul merupakan salah satu bahan makanan yang mempunyai kandungan serat yang tinggi. Bekatul terdiri dari lapisan aleuron, endosperm, dan germ. Bekatul berwarna coklat muda sampai coklat tua. Kandungan gizi pada 100 gram bekatul adalah 11,52 gram protein, 7,68 gram lemak, 59,82 gram karbohidrat, 8,11 gram serat, dan 3,85 mg vitamin B1. Bekatul mengandung lemak yang cukup tinggi sehingga menyebabkan mudah rusak. Namun terdapat cara untuk meningkatkan ketahanan simpan bekatul yaitu dengan teknik penyangraian. Penyangraian dilakukan selama 10 menit (Anggraini, 2015).

Bekatul adalah salah satu sumber antioksidan, diantaranya tokoferol, tokotrienol, dan oryzanol. Antioksidan tokotrienol dapat menghambat sintesis kolesterol dan menurunkan kadar kolesterol (Indra dan Binar, 2015). Manfaat bekatul lainnya yaitu dapat menurunkan kadar trigliserida. Komponen di dalam bekatul yang dapat menurunkan kadar trigliserida antaralain, minyak, fraksi tak tersabunkan, oryzanol, dan serta pangan larut (Nashriana, dkk., 2015). Bekatul dapat diolah menjadi sereal sehingga meningkatkan daya tarik dan memudahkan untuk mengkonsumsinya. Sereal adalah salah satu jenis olahan makanan yang dibuat dari tepung biji-bijian dan diolah menjadi bentuk serpihan, ekstrudat, dan siap untuk dimakan (Iriyani, 2011).



**Gambar 2.3** Bekatul (Auliana, 2011).

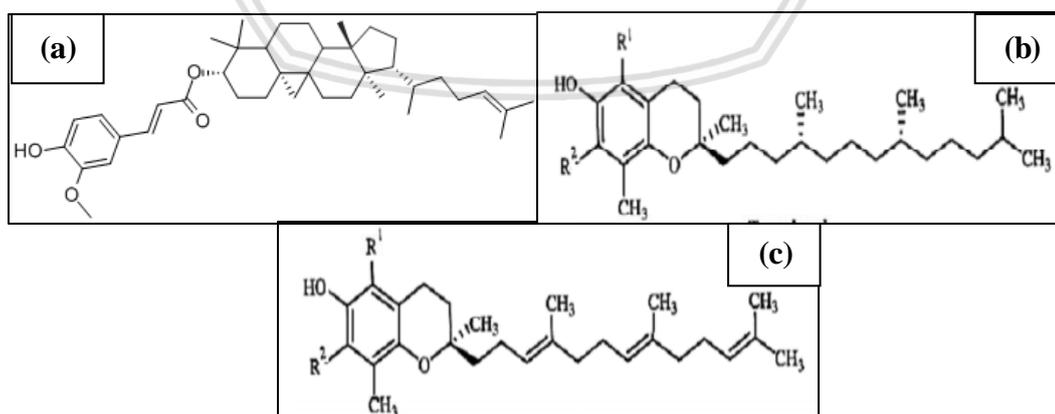
## 2.6 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai peranan penting dalam menjaga kesehatan disebabkan dapat menangkap molekul radikal bebas, sehingga akan menghambat reaksi oksidatif dalam tubuh (Adawiah, dkk., 2015). Antioksidan merupakan suatu molekul yang dapat menghambat terjadinya oksidasi dari molekul lainnya. Apabila terjadi reaksi oksidasi maka dapat menghasilkan radikal bebas berantai yang akan menyebabkan terjadinya kerusakan atau kematian dari sel. Sehingga antioksidan akan menghentikan reaksi berantai tersebut dengan cara menghilangkan intermediet radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi oksidasi lainnya (Asmarani, 2017).

Antioksidan yang terkandung di dalam bekatul antara lain *γ-oryzanol*, tokoferol, dan tokotrienol. Ketiga antioksidan tersebut mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi (Susanto, 2011). *γ-oryzanol* merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. *γ-oryzanol* tersusun atas *trans-ferulic acid esters* (*trans-hydroxycinnamic acid*) dan *phytosterols* (*sterol* dan *triterpenic alcohols*) seperti *cycloartenol*, *β-sitosterol*, *24-methylenecycloartenol*, dan *campesterol* (Bemvenuti, et al., 2012). *γ-oryzanol* mempunyai manfaat mengurangi total

kolesterol plasma dan meningkatkan kadar kolesterol HDL (Juliano, et al., 2005). Struktur kimia dari  $\gamma$ -oryzanol dapat dilihat pada **Gambar 2.4 (a)**.

Tokoferol dan tokotrienol merupakan bagian dari vitamin E. Tokoferol dan tokotrienol merupakan antioksidan non polar yang mempunyai fungsi menghambat peroksidasi lipid dan mencegah terjadinya stres oksidatif. Tokoferol berfungsi mempertahankan integritas membran dengan cara bekerja sebagai *scavenger* radikal bebas oksigen, peroksidasi lipid, dan *singlet* oksigen (Mumpuni, 2013). Tokotrienol mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih kuat daripada tokoferol. Reaksi tokotrienol dengan radikal lipid dalam membran lebih tinggi dibandingkan tokoferol (Rodzian, et al., 2013). Perbedaan terletak pada struktur kimia, tokoferol mempunyai rantai samping *phytyl* yang jenuh sedangkan tokotrienol mempunyai rantai samping *isoprenoid* yang tidak jenuh (Mumpuni, 2013). Struktur kimia dari tokoferol dan tokotrienol dapat dilihat pada **Gambar 2.4 (b) dan (c)**.



**Gambar 2.4** Struktur Kimia (a)  $\gamma$ -oryzanol (b) Tokoferol (c) Tokotrienol (Colombo, 2010).

## 2.7 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih mempunyai nama ilmiah yaitu *Rattus norvegicus*. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan salahsatu contoh hewan rodentia yang sering digunakan sebagai hewan coba pada suatu penelitian. Pemilihan hewan coba menggunakan tikus dikarenakan tikus mempunyai sistem faal yang mirip dengan manusia (Fitria dan Mulyati, 2014). Hewan coba merupakan hewan yang digunakan untuk suatu uji atau percobaan yang bertujuan untuk mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam ruang lingkup penelitian dan pengamatan laboratorium. Tikus mempunyai beberapa macam galur, diantaranya *Wistar*, *Sprague-Dawley*, *Long Evans*, dan *Holdzman* (Maula, 2014). Galur yang sering digunakan dalam suatu penelitian adalah galur *Wistar*. Galur *Wistar* pertama kali dikembangkan di Wistar Institute pada tahun 1906 (Fitria dan Mulyati, 2014).

Klasifikasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Maula, 2014):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) mempunyai sifat-sifat yang menguntungkan untuk digunakan sebagai hewan coba. Sifat-sifat menguntungkan yang dimiliki oleh tikus putih (*Rattus norvegicus*) antara lain, cepat berkembangbiak, ukurannya lebih besar dari mencit, dan mudah dipelihara dalam jumlah banyak. Ciri-ciri morfologi dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) yaitu, albino, kepala kecil, ekornya lebih panjang daripada badannya, pertumbuhannya cepat, dan temperamennya baik (**Gambar 2.5**) (Akbar, 2010). Keuntungan lainnya yang dimiliki oleh tikus adalah tikus tidak dapat muntah. Hal tersebut dikarenakan struktur anatomi yang tidak lazim pada tempat esofagus bermuara ke dalam lambung dan tidak adanya kantong empedu (Pambudi, 2017).



**Gambar 2.5** *Rattus norvegicus* (Akbar, 2010).

## 2.8 Triglicerida

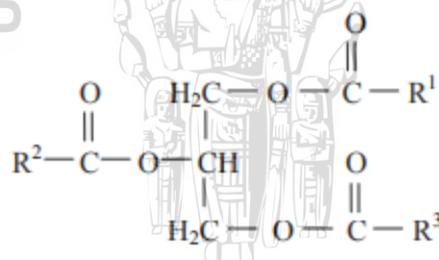
Triglicerida adalah turunan dari gliserol. Triglicerida terbentuk dari tiga asam lemak dan gliserol (**Gambar 2.6**). Fungsi utama triglicerida yaitu sebagai zat energi (Renata, 2009). Triglicerida merupakan salah satu jenis lemak yang berada di dalam darah dan berbagai organ tubuh lainnya. Triglicerida terbentuk

dari gliserol dan lemak yang berasal dari makanan. Terdapat dua jalur dalam mentransportasikan trigliserida, yaitu jalur endogen dan jalur eksogen (Arifnaldi, 2014). Transportasi melalui jalur endogen yaitu trigliserida yang terbentuk dari asam lemak hasil pengubahan karbohidrat dalam hati akan dibawa melewati aliran darah dalam bentuk *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL). Trigliserida dalam bentuk VLDL ini akan ditransportasikan ke jaringan adiposa dan otot (Sutioso, 2012). *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) tersebut akan dihidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase. Sisa dari hidrolisis tersebut akan dimetabolisme oleh hati menjadi kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL). Transportasi jalur eksogen yaitu trigliserida yang berada di dalam usus dikemas dalam kilomikron. Trigliserida dalam kilomikron tersebut akan mengalami penguraian yang diakibatkan oleh enzim *lipoprotein lipase*. Sehingga terbentuk asam lemak bebas dan kilomikron remnan. Asam lemak bebas bergerak masuk ke jaringan otot dan jaringan adiposa yang berada di bawah kulit. Asam lemak bebas tersebut akan diubah menjadi trigliserida lagi. Fungsinya adalah sebagai cadangan energi. Sedangkan kilomikron remnan akan bergerak ke hati (Arifnaldi, 2014).

Kadar trigliserida pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) secara normal rata-rata adalah 26-145 mg/dL (Kinenda, 2017). Trigliserida dalam darah mempunyai kadar normal yaitu <150 mg/dL. Apabila kadar trigliserida >150 mg/dL maka dapat dikatakan kadar trigliserida dalam darah tersebut tinggi. Kadar trigliserida yang tinggi (>150 mg/dL) akan meningkatkan risiko terjadinya penyakit jantung dan pembuluh darah sebesar 2,8 kali dibandingkan kadar trigliserida darah <150 mg/dL (Ramadhani, 2014). Kadar trigliserida yang tinggi dapat membentuk plak

pada pembuluh darah sehingga akan menghambat aliran darah dan menyebabkan aterosklerosis (Niza, dkk., 2015). Kadar trigliserida dalam darah akan meningkat dikarenakan terjadinya peroksidasi lipid akibat jumlah radikal bebas dalam tubuh yang meningkat. Peningkatan radikal bebas tersebut dikarenakan proses sintesa asam empedu yang meningkat (Kinenda, 2017).

Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar trigliserida adalah umur, jenis kelamin, dan aktivitas fisik. Asupan makanan yang mengandung lemak dan karbohidrat berlebih juga dapat mempengaruhi kadar trigliserida, sehingga terjadi peningkatan (Ramadhani, 2014).



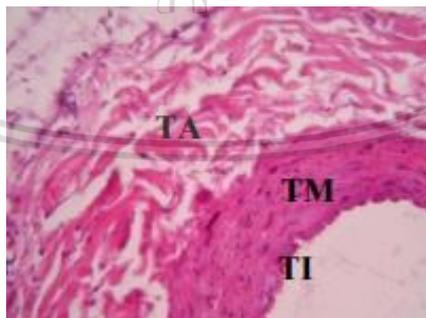
**Gambar 2.6** Struktur Molekul Trigliserida (Renata, 2009).

## 2.9 Aorta

Aorta merupakan pembuluh darah besar yang ada di dalam tubuh. Aorta adalah pembuluh darah yang pertama akan mengalami kerusakan apabila terjadi hiperkolesterolemia (Kartika, 2017). Aorta merupakan pembuluh darah besar dari seluruh pembuluh darah yang cabang-cabangnya mempunyai fungsi membawa darah teroksigenasi ke berbagai jaringan di tubuh untuk memenuhi kebutuhan

nutrisi. Aorta terbagi menjadi empat bagian, yaitu *ascenden* aorta, *arcus* aorta, *descenden (thoracica)* aorta, dan abdominal aorta. Aorta abdominal merupakan salah satu tempat utama dalam pembentukan plak aterosklerosis (Putra, 2016).

Dinding aorta dilapisi oleh sel endotel yang berbentuk pipih hingga poligonal dan tunika intima lebih tebal daripada arteri atau pembuluh darah kecil. Lapisan *sub endotel* disusun oleh serabut-serabut elastis dan kolagen yang tersusun secara longitudinal. Bagian dalam dari tunika intima terdapat berkas-berkas otot polos. Tunika media terdiri dari membran elastis yang tersusun secara konsentris dan mengalami perforasi sehingga disebut membrana fenestrata. Ruang yang berada diantara membran elastis mengandung fibroblast dan otot polos. Tunika adventisia dari aorta merupakan selubung yang tipis mengandung serabut elastis dan kolagen (Harini, 2009). Aorta terdiri dari tiga bagian yaitu tunika intima, tunika media, dan tunika adventisia (**Gambar 2.7**) (Riesanti, dkk., 2014).



**Gambar 2.7** Histologi Aorta Tikus (*Rattus norvegicus*) (Riesanti, dkk., 2014).

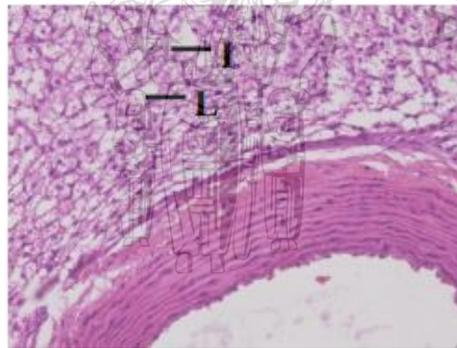
Keterangan:

TA = Tunika Adventisia

TM = Tunika Media

TI = Tunika Intima

Patomekanisme akibat pemberian pakan tinggi kolesterol yaitu terjadi peningkatan kadar kolesterol dalam darah. Kolesterol yang tinggi dalam darah akan menyebabkan kolesterol menempel di dinding pembuluh darah dan menimbulkan plak kolesterol. Plak kolesterol tersebut akan menyebabkan inflamasi pada dinding pembuluh darah dan cedera pada sel-sel endotel yang melapisi lumen dari arteri (Kartika, 2017). Aorta pada tikus dengan kadar kolesterol tinggi akan menunjukkan adanya infiltrasi sel inflamasi dan adanya perlemakan pada lapisan tunika adventisia (**Gambar 2.8**) (Riesanti, dkk., 2014). Tingginya kadar kolesterol dalam darah juga dapat menyebabkan aorta mengalami disfungsi sel pada tunika intima (Kartika, 2017).



**Gambar 2.8** Histopatologi Aorta Tikus (*Rattus norvegicus*) (Riesanti, dkk., 2014).

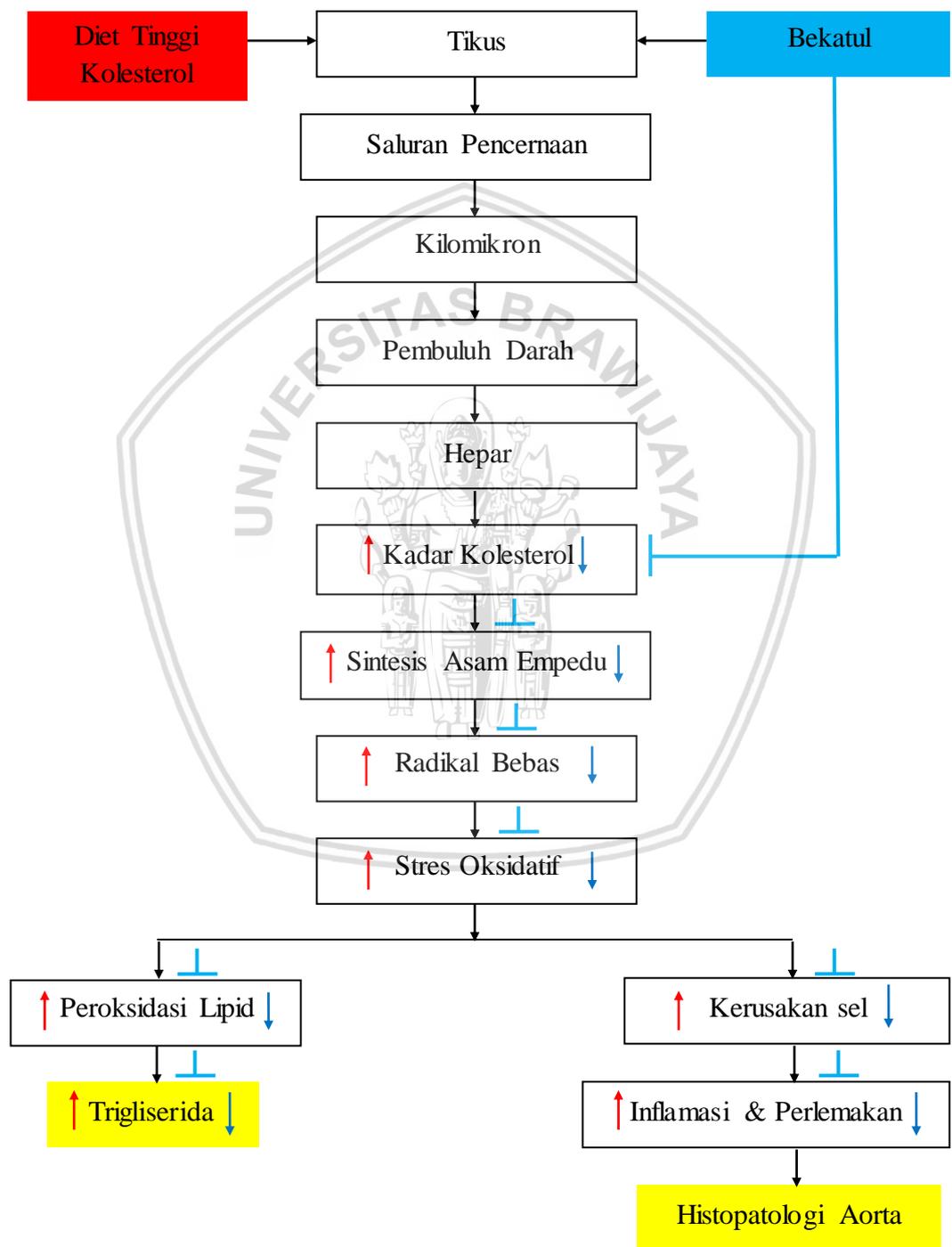
Keterangan:

I = Sel Inflamasi

L = Perlemakan

**BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

**3.1 Kerangka Konseptual**



**Gambar 3.1.** Kerangka Konseptual

Keterangan :

- |                                       |                          |
|---------------------------------------|--------------------------|
| ↑ : Pengaruh Diet Tinggi Kolesterol   | ■ : Terapi Bekatul       |
| ↓ : Efek Terapi Bekatul               | ■ : Parameter Penelitian |
| ■ : Pemberian Pakan Tinggi Kolesterol | ⊥ : Menghambat           |
|                                       | ↓ : Patomekanisme        |

### Kolesterol

Diet tinggi kolesterol merupakan pakan yang dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam tubuh karena kandungan kolesterolnya yang tinggi. Pemberian diet tinggi kolesterol secara oral. Pakan yang diberikan masuk ke saluran pencernaan dan dibawa ke aliran darah dalam bentuk kilomikron. Kilomikron yang tinggi menyebabkan jumlah kadar kolesterol dalam darah meningkat. Kadar kolesterol yang tinggi dalam darah akan membuat tubuh berusaha untuk menyeimbangkannya dengan cara mengubah kolesterol menjadi asam empedu melalui jalur sintesa asam empedu yang di proses di hepar. Proses sintesa asam empedu akan meningkatkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh. Antioksidan tubuh tidak mampu mengatasi radikal bebas di dalam tubuh, sehingga terjadi reaksi peroksidasi lipid dan menyebabkan trigliserida dalam darah meningkat.

Radikal bebas akan memicu terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan suatu keadaan tubuh yang tidak mampu menyeimbangkan antara radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh karena jumlah radikal bebas yang tinggi dan antioksidan yang rendah. Stres oksidatif akan menyebabkan terjadinya kerusakan oksidatif sehingga terjadi kerusakan pada sel aorta. Kerusakan tersebut akan menyebabkan terjadinya inflamasi. Aorta juga akan mengalami penebalan

dan terdapat timbunan lemak pada tunika intima dikarenakan asupan makanan yang tinggi kolesterol.

Bekatul merupakan lapisan luar dari beras yang mengandung serat yang tinggi. Serat kasar akan mempercepat pengikatan asam empedu, sehingga absorpsi lemak terganggu dan ekskresi lemak dan kolesterol melalui feses akan meningkat. Asam empedu yang diikat oleh serat tersebut adalah asam empedu bebas. Sehingga tubuh akan membutuhkan asam empedu baru. Asam empedu baru dihasilkan dari kolesterol yang ada di dalam darah sehingga kadar kolesterol dalam darah akan menurun dan penumpukan lemak di aorta akan berkurang.

Bekatul juga mengandung antioksidan diantaranya tokoferol, tokotrienol, dan orizanol. Antioksidan ini akan menghentikan reaksi radikal bebas dengan cara menghilangkan intermediet radikal bebas, sehingga menurunkan stres oksidatif dan menghambat reaksi peroksidasi lipid. Hasilnya kadar trigliserida akan menurun dan memperbaiki kerusakan aorta.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

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

1. Bekatul mampu menurunkan kadar trigliserida tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol.
2. Bekatul mampu memperbaiki kerusakan sel aorta tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol.

## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya untuk uji proksimat, Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sebagai tempat perlakuan dan perawatan terhadap hewan coba, Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya untuk uji aktifitas antioksidan, Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pengukuran kadar trigliserida, dan pembuatan preparat aorta di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pelaksanaan penelitian berlangsung selama 3 bulan mulai bulan Februari – April 2018.

### 4.2 Alat dan Bahan

#### 4.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain spektrofotometer, gunting bedah, *cold plate*, mikroskop Olympus, mikropipet 10-100  $\mu$ L, yellow tip, *cover glass*, *object glass*, *rotary microtome*, lemari pendingin, *hot plate*, penangas air, corong *Buchner*, *tissue floating bath*, erlenmeyer, kompresor, cawan porselen, timbangan, kertas saring, oven, *exicator*, tanur listrik, kaset *for tissue*, sonde lambung, papan bedah, jarum pentul, spuit 5 ml, tabung ependorf, sentrifus,

inkubator, microhematokrit, cawan petri, kandang tikus beserta kelengkapan pakan dan minum.

#### 4.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini, antara lain bekatul, asam kolat, minyak babi, kuning telur puyuh, entelan, eosin, hematoksillin, parafin, xylol I dan II, *pipes buffer* 45 mmol/L, *magnesium clorida* 5 mmol/L, 4 *chlorophenol* 6 mmol/L, lipase >100 U/ml, *glycerol kinase* >1,5 U/ml, *glycerol-3-phosphatase oxidase* >4 U/ml, *peroksidase* >0,8 U/ml, 4 *aminoantipyrine* 0,75 mmol/L, dan ATP 0,9 mmol/L, aquades, air panas, NaOH 1,5 N, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,3 N, sekam, alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, alkohol absolut I, II, III, NaCl fisiologis, *Formalin* 10%, tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan gallur wistar jenis kelamin jantan 8 minggu dengan berat badan  $\pm$  100 gram, pakan BR1, dan air minum.

#### 4.3 Tahapan Penelitian

Tahap kerja penelitian yang dilaksanakan adalah sebagai berikut:

1. Perancangan penelitian dan persiapan hewan coba
2. Analisis proksimat kandungan serat kasar bekatul
3. Analisis aktifitas antioksidan bekatul
4. Pembuatan hewan model diet tinggi kolesterol
5. Penentuan dan pemberian terapi bekatul
6. Isolasi serum darah
7. Pengukuran kadar trigliserida
8. Isolasi aorta

9. Pembuatan dan pengamatan histopatologi aorta
10. Analisis data

#### **4.4 Prosedur Kerja**

##### **4.4.1 Rancangan Penelitian dan Persiapan Hewan Coba**

Hewan model dibagi secara acak menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok A (tikus sebagai kontrol negatif), kelompok B (tikus sebagai kontrol positif diberi pakan tinggi kolesterol), kelompok C (tikus terinduksi pakan tinggi kolesterol diberikan terapi bekatul 16%/ekor/hari), kelompok D (tikus terinduksi pakan tinggi kolesterol diberikan terapi bekatul 38%/ekor/hari), dan kelompok E (tikus terinduksi pakan tinggi kolesterol diberikan terapi bekatul 57%/ekor/hari).

Variabel yang diamati pada penelitian ini antara lain:

- Variabel bebas : Dosis bekatul dan pakan tinggi kolesterol.
- Variabel terikat : Kadar trigliserida dan histopatologi aorta.
- Variabel kontrol : Berat badan tikus, umur tikus, jenis kelamin tikus, suhu, pakan, jenis bekatul, kandang, air minum adlibitum, dan ruangan.

Estimasi besar sampel yang dihitung berdasarkan rumus (Kusriningrum, 2010):

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 15+5$$

$$5n \geq 20$$

$$n \approx 4$$

Keterangan:

p = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan tersebut maka ulangan yang dibutuhkan pada 5 macam perlakuan paling sedikit membutuhkan 4 kali ulangan dalam setiap kelompoknya, sehingga membutuhkan 20 ekor hewan coba. Hewan coba yang digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan gallur wistar umur 8 minggu sebanyak 20 ekor dengan berat badan  $\pm$  100 gram. Hewan coba tersebut diadaptasi selama 7 hari dan diberi pakan satu kali sehari dengan pakan BR1 dan minum secara *ad libitum* pada masing-masing tikus. Hewan coba tersebut dikandangan pada kandang yang terbuat dari bak plastik dan diberi sekat dan penutup dari kawat. Alas kandangnya berupa serbuk gergaji yang fungsinya untuk menyerap urin tikus sehingga keadaan kandang tidak lembab.

#### 4.4.2 Analisis Proksimat Kandungan Serat Kasar Bekatul

Bekatul yang digunakan berasal dari penggilingan padi kelompok tani makmur Jalan Raya Jarakan Desa Karangsoke Kecamatan Trenggalek Kabupaten Trenggalek. Pengujian kandungan serat kasar pada bekatul secara diagram alir dapat dilihat pada **Lampiran 2**. Pengujian dilakukan dengan menimbang terlebih dahulu  $\pm 1$  gram sampel (A) dan memasukkannya ke dalam erlenmeyer 300 cc. Lalu menambahkan 50 cc  $H_2SO_4$  0,3 N dan mendidihkannya di atas penangas air selama 30 menit. Kemudian menambahkan 25 cc NaOH 1,5 N dan mendidihkannya kembali selama 30 menit. Corong *Buchner* dialasi dengan kertas saring yang telah diketahui beratnya (B). Larutan dalam erlenmeyer tadi disaring dengan menggunakan corong *Buchner* dan membilas erlenmeyer dengan 50 cc air panas, disaring kembali.

Asam klorida (HCl) 0,3 N sebanyak 50 cc dimasukkan ke dalam corong *Buchner* dan dibiarkan selama 1 menit lalu dihisap dengan kompresor melalui lubang yang ada pada erlenmeyer. Residu dalam corong *Buchner* dibilas dengan air panas beberapa kali (5 kali) lalu dituangkan acetone 5 cc ke dalamnya dan dibiarkan selama 1 menit. Setelah itu dihisap dengan menggunakan kompresor. Cawan porselen dipanaskan selama 1 jam dalam oven  $105^\circ C$  lalu didinginkan dalam *exicator* 10-15 menit dan ditimbang (C). Kertas saring yang berisi residu diangkat dan diletakkan dalam cawan porselen tersebut lalu dikeringkan dalam oven suhu  $105^\circ C$  selama 1,5 jam dan didinginkan dalam *exicator* selama  $\pm 30$  menit kemudian ditimbang (D). Cawan porselen tersebut dimasukkan ke dalam tanur listrik suhu  $550^\circ C$  selama 2 jam. Tanur listrik dimatikan dan ditunggu

sampai suhu menunjukkan angka 0°C. Setelah itu cawan porselen dikeluarkan dan dimasukkan dalam *exicator* selama ±15 menit dan ditimbang (E). Rumusnya dapat dilihat di bawah ini (Setiawan, 2010).

Rumus perhitungan serta kasar:

$$\text{Kadar serat kasar} = \frac{D-E-B}{A} \times 100\%$$

#### 4.4.3 Pembuatan Hewan Model Diet Tinggi Kolesterol

Kelompok tikus B, C, D, dan E diberikan pakan tinggi kolesterol secara sonde lambung. Pakan tinggi kolesterol dibuat dengan metode pakan diet hiperkolesterol Larasathi, dkk. (2014) yaitu mencampurkan minyak babi sebanyak 2 gram, asam kolat 0,02 gram, kuning telur puyuh yang telah dipanaskan pada suhu 100°C sebanyak 1 gram, dan aquades sampai 2 ml. Pakan tinggi kolesterol tersebut diberikan mulai hari ke-8 selama 35 hari sebanyak 3,02 gram/2 ml antara pukul 11.00-13.00. Pemberian pakan standart dilakukan setelah 1 jam pemberian pakan diet tinggi kolesterol untuk kelompok kontrol positif, sedangkan kelompok C, D, dan E pakan diberikan pada pukul 07.30. Pakan yang diberikan sebanyak 20 gram/ekor/hari. Perhitungannya dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

#### 4.4.4 Penentuan dan Pemberian Terapi Bekatul

Terapi bekatul diberikan pada kelompok C, kelompok D, dan kelompok E. Pemberian terapi dilakukan secara per oral seperti pemberian pakan standarnya dengan dosis bekatul sesuai dengan kelompok. Pemberian perlakuan pada tikus dapat dilihat pada **Tabel 4.1**. Pemberian terapi rutin dilakukan sehari sekali mulai

hari ke-23 selama 21 hari dan diberikan pada jam 16.00. Perhitungan dosisnya dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

**Tabel 4.1** Pemberian Perlakuan

<b>Kelompok</b>	<b>Perlakuan</b>
<b>Kelompok A</b>	Kontrol Negatif
<b>Kelompok B</b>	Tikus model diet tinggi kolesterol
<b>Kelompok C</b>	Tikus model diet tinggi kolesterol + Terapi bekatul dosis 1 (16%/ekor/hari)
<b>Kelompok D</b>	Tikus model diet tinggi kolesterol + Terapi bekatul dosis 2 (38%/ekor/hari)
<b>Kelompok E</b>	Tikus model diet tinggi kolesterol + Terapi bekatul dosis 3 (57%/ekor/hari)

Keterangan :

Kelompok A = Kontrol Negatif

Kelompok B = Kontrol Positif

Kelompok C = Perlakuan 1

Kelompok D = Perlakuan 2

Kelompok E = Perlakuan 3

#### 4.4.5 Isolasi Serum Darah

Darah diambil pada masing-masing kelompok pada hari ke- 22 dan ke-44. Pengambilan darah pada hari ke-22 dilakukan di sinus orbitalis, sedangkan hari ke-44 di jantung. Langkah pengambilan darah melalui sinus orbitalis berdasarkan Krisnansari, dkk. (2012) yaitu *canthus medialis* mata ditusuk menggunakan mikrohematokrit sampai mengenai vena retro-orbitalis, lalu darah yang keluar ditampung pada tabung reaksi sebanyak  $\pm 2$  ml. Pengambilan darah melalui jantung menurut Baso (2017) caranya adalah tikus dianastesi dengan ketalar 0.004

cc/ekor, lalu dilakukan pembedahan dengan segera untuk mencegah jantung berhenti berdenyut. Dinding abdomen dibuka dari umbilikus sampai epigastrium, lalu memotong *costae* sampai rongga dada terbuka dan organ jantung terlihat. Langkah selanjutnya adalah menusukkan spuit 5 mL ke jantung dan melakukan pengambilan darah, lalu menampung darah tersebut ke dalam tabung venoject. Obat anastesi lain yang dapat digunakan adalah campuran ketamin 10% dosis 50 mg/kgBB dan xylazin 2% dosis 5 mg/kgBB secara intraperitoneal (Syafikriatillah, dkk., 2016). Setelah darah diambil baik pada pengambilan darah hari ke-22 maupun hari ke-44 dilakukan isolasi serum darah yaitu dengan cara melakukan sentrifugasi pada darah tersebut dengan kecepatan 3.000 rpm (*rounds per minute*) selama 15 menit (Riesanti, dkk., 2014).

#### 4.4.6 Pengukuran Kadar Trigliserida

Penetapan kadar trigliserida menggunakan metode GPO-PAP (*Gliserolphosphat Oksidase-Peroxisidase Aminoantipyrine*). Pemeriksaan kadar trigliserida terdiri dari pembuatan regensia, pengukuran absorpsi larutan blanko dengan spektrofotometer, dan pengukuran nilai absorbansi trigliserida serum darah yang dilakukan secara otomatis dengan menggunakan *Biosystem tipe A15* (Arauna, 2013).

Prinsip kerja dari metode GPO (*Gliserolphosphat Oksidase*) yaitu trigliserida oleh lipase akan diubah menjadi gliserol dan asam lemak. Gliserol dan ATP (*Adenosine Triphosphat*) oleh gliserol kinase akan diubah menjadi gliserol-3-fosfat dan ADP (*Adenosine Diphosphat*). Gliserol-3-fosfat dan O<sub>2</sub> oleh GPO akan diubah menjadi dihidroksiaseton, fosfat, dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. 2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, amino-4-antipirin, dan

4-klorofenol oleh peroksidase diubah menjadi kuinonimin, HCl, dan  $4H_2O$  (Kurniawati, 2015). Pembuatan reagensia terdiri dari *pipes buffer* 45 mmol/L, *magnesium clorida* 5 mmol/L, 4 *chlorophenol* 6 mmol/L, lipase >100 U/ml, *glycerol kinase* >1,5 U/ml, *glycerol-3-phosphatase oxidase* >4 U/ml, *peroksidase* >0,8 U/ml, 4 *aminoantiphrine* 0,75 mmol/L, dan ATP 0,9 mmol/L (Nurrakhman, 2016).

Pengukuran kadar trigliserida menggunakan serum darah. Serum diambil dengan menggunakan mikropipet sebanyak 500 $\mu$ l dan dimasukkan ke dalam cup sampel dan dilakukan pemeriksaan. Reagen yang digunakan diencerkan di rak reagen. Reagen dan sampel dimasukkan ke alat *Spektrofotometer Biosystem A15* lalu dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm (Kinenda, 2017). Pengukuran kadar trigliserida dalam bentuk diagram alir dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

#### 4.4.7 Isolasi Aorta

Organ aorta diambil pada masing-masing kelompok hewan coba tikus. Pengambilan dilakukan setelah pengambilan darah pada jantung selesai dilakukan. Bagian aorta yang diambil adalah aorta abdominalis sepanjang 5 cm. Setelah aorta diisolasi dari tubuh maka aorta dicuci dengan NaCl fisiologis (Riesanti, dkk., 2014).

#### 4.4.8 Pembuatan dan Pengamatan Histopatologi Aorta

##### 4.4.8.1 Pengambilan Sampel dan Fiksasi

Langkah kerja dari pembuatan preparat dapat dilihat pada **Lampiran 6**. Aorta diambil setelah melakukan pengambilan darah melalui jantung pada akhir

penelitian. Setelah itu sampel aorta tersebut dicuci menggunakan NaCl fisiologis (Riesanti, dkk., 2014). Fiksasi dilakukan dengan cara memasukkan aorta ke dalam formalin 10% selama 3 jam, lalu dicuci dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali (Putra, 2016).

#### **4.4.8.2 Dehidrasi**

Fungsi dari dehidrasi adalah untuk mengeluarkan air dari dalam jaringan. Aorta dimasukkan ke dalam alkohol bertingkat dengan konsentrasi 70%, 80%, 90%, alkohol absolute I, II, dan III, masing-masing selama 2 jam (Rahmawati, 2015). Sehingga jaringan tersebut dapat diisi dengan parafin cair.

#### **4.4.8.3 Clearing**

Fungsi *clearing* adalah menggantikan tempat alkohol pada jaringan dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin cair. Caranya dengan memasukkannya ke dalam xylol I dan II, masing-masing selama 30 menit (Putra, 2016).

#### **4.4.8.4 Impregnasi**

Impregnasi merupakan proses pembedaan. Caranya adalah memasukkan organ ke dalam parafin I, lalu memasukkannya ke dalam oven suhu 60°C selama 2 jam. Setelah itu dimasukkan ke dalam parafin II dan dioven dengan suhu 60°C selama 2 jam. Fungsi impregnasi adalah untuk mengeluarkan cairan clearing dan diganti dengan parafin (Rahmawati, 2015).

#### **4.4.8.5 Embedding dan Blocking**

*Embeding* adalah penempelan organ ke dalam parafin dan *blocking* adalah pembuatan blok preparat untuk dapat dipotong dengan mikrotom. Langkah

pertama dalam tahap ini adalah menyiapkan *base mould* dan kaset *for tissue* pada suhu 60°C, lalu kran parafin dispenser ditekan pada *base mould* sampai volumenya cukup. Kemudian spesimen dimasukkan ke dasar *base mould* dengan menggunakan pinset, lalu kaset diletakkan di atas *base mould*. Setelah itu diletakkan pada *cold plate* selama 2-4 menit, lalu kaset dilepas dari *base mould* (Rahmawati, 2015).

#### 4.4.8.6 Pemotongan dan Penempelan pada *Object Glass*

Alat *tissue rotation bath* diisi air dan dipanaskan pada suhu 43°C dan *hot plate* pada suhu 60°C (Rahmawati, 2015). Pemotongan dilakukan dengan ketebalan 4-5 mikrotom menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife* (Putra, 2016). Hasil pemotongan diletakkan pada *tissue floating bath* sampai mengambang, lalu diambil dan diletakkan pada *object glass*. Kemudian *object glass* diletakkan pada *hot plate* selama 15 menit (Rahmawati, 2015).

#### 4.4.8.7 Pewarnaan Hematoksillin-Eosin

Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan zat pewarna hematoksillin dan eosin. Hematoksillin akan memberikan warna biru pada inti sel, sedangkan eosin akan memberikan warna merah muda pada sitoplasma sel. Proses pewarnaannya menurut Putra (2016) yaitu memasukkan preparat ke dalam larutan xylol I dan II, masing-masing 5 menit. Lalu dimasukkan ke dalam ethanol absolut selama 1 jam. Setelah itu memasukkannya pada alkohol 96% dan 70%, masing-masing selama 2 menit. Kemudian dimasukkan ke dalam air selama 10 menit. Setelah itu dilakukan pewarnaan dengan memasukkannya pada hematoksilin selama 15 menit, lalu dibilas dengan air mengalir. Kemudian dimasukkan ke dalam eosin selama 1

menit, lalu dicuci dengan air mengalir. Kemudian dilakukan dehidrasi dengan alkohol 70%, 96%, dan alkohol absolut, masing-masing selama 2 menit. Setelah itu dimasukkan ke dalam Xylol I dan II selama 2 menit.

#### **4.4.8.8 Mounting**

Slide yang telah diwarnai diletakkan di atas kertas tisu pada tempat yang datar, lalu slide ditetesi dengan entelan. Setelah itu ditutup dengan *cover glass* (Putra, 2016).

#### **4.4.8.9 Pengamatan Preparat Histopatologi**

Pengamatan preparat histopatologi menggunakan mikroskop Olympus dengan perbesaran awal 100 kali. Pengamatan dilanjutkan dengan perbesaran 400 kali. Fungsinya untuk melihat adanya kerusakan dari sel aorta dan abnormalitas lainnya.

#### **4.4.9 Analisis Data**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan empat ulangan. Data kadar trigliserida dalam darah dari masing-masing kelompok sebelum dan sesudah perlakuan dikumpulkan dan dilakukan *editing*, *coding*, dan *entering* pada program SPSS versi 16 serta dilanjutkan *cleaning* dan *organizing* untuk persiapan analisis data. Pengaruh dari pemberian bekatul terhadap kadar trigliserida dianalisis dengan menggunakan *one way ANOVA (Analysis of Variance)*. Apabila terdapat perbedaan perlakuan nyata, maka perbedaan nilai tengahnya diuji dengan perbandingan berganda uji *Tukey* atau Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan  $\alpha=5\%$ . Analisa data histopatologi dari kerusakan sel aorta dilakukan secara kualitatif deskriptif.

## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pengaruh Pemberian Bekatul terhadap Kadar Trigliserida Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Diet Tinggi Kolesterol

Trigliserida merupakan salah satu senyawa yang jumlahnya akan meningkat ketika terjadi peningkatan peroksidasi lipid. Pengukuran kadar trigliserida menggunakan metode GPO-PAP (*Gliserolphosphat Oksidase-Peroxisidase Aminoantipyrine*) bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian bekatul dalam menurunkan kadar trigliserida pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol. Hasil pengukuran kadar trigliserida yang telah didapatkan kemudian dianalisa secara statistik menggunakan uji *one way* ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *Tukey* atau BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan  $\alpha = 5\%$ . Uji kadar trigliserida dilakukan sebanyak dua kali yaitu *pre*-terapi dan *post*-terapi. Data hasil uji kadar trigliserida *pre*-terapi dan *post*-terapi dapat dilihat pada **Lampiran 7**. Data hasil uji kadar trigliserida *pre*-terapi menunjukkan hasil yang melebihi batas normal kadar trigliserida tikus pada kelompok B, C, D, dan E, sedangkan kelompok A masih dalam batas normal. Data yang dianalisa secara statistik adalah data hasil uji kadar trigliserida *post*-terapi yang dapat dilihat pada **Tabel 5.1** dan **Lampiran 8**.

**Tabel 5.1** Kadar Triglicerida Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Diet Tinggi Kolesterol

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Kadar Triglicerida (mg/dL)
Kelompok A (Kontrol Negatif)	89,00±10,39 <sup>bc</sup>
Kelompok B (Kontrol Positif)	186,00±3,92 <sup>d</sup>
Kelompok C (Perlakuan 1)	100,75±29,34 <sup>c</sup>
Kelompok D (Perlakuan 2)	60,75±6,65 <sup>ab</sup>
Kelompok E (Perlakuan 3)	33,75±2,63 <sup>a</sup>

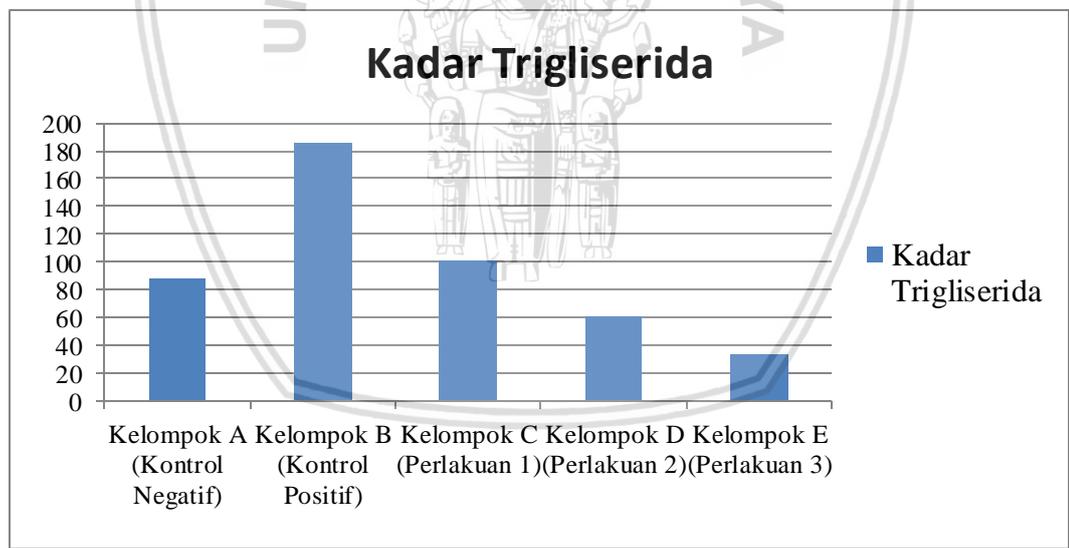
Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan ( $p < 0,01$ )

Hasil analisa uji *one way* ANOVA kadar triglicerida *post*-terapi menunjukkan bahwa pemberian bekatul pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) mampu menurunkan kadar triglicerida ( $p < 0,01$ ), hal tersebut ditunjukkan dengan adanya 4 jenis notasi pada uji lanjutan *Tukey* (**Tabel 5.1**). Kelompok A sebagai kontrol negatif berbeda nyata dengan kelompok B dan E, tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok C dan D. Kelompok B sebagai kontrol positif berbeda nyata dengan kelompok A, C, D, dan E. Kelompok C sebagai perlakuan 1 berbeda nyata dengan kelompok B, D, dan E, tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok A. Kelompok D sebagai perlakuan 2 berbeda nyata dengan kelompok B dan C, tetapi berbeda nyata dengan kelompok A dan E. Kelompok E sebagai perlakuan 3 berbeda nyata dengan kelompok A, B, dan C, tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok D.

Kadar trigliserida normal pada tikus adalah 26-145 mg/dL (Gani, dkk., 2013). Berdasarkan **Tabel 5.1** di atas menunjukkan bahwa kelompok A sebagai kontrol negatif yaitu kelompok yang tidak diberi perlakuan apapun didapatkan kadar trigliserida  $89,00 \pm 10,39$  mg/dL. Kadar trigliserida pada kelompok A masih berada pada kadar normal trigliserida tikus. Kelompok B sebagai kontrol positif yaitu kelompok yang diberikan perlakuan berupa diet tinggi kolesterol tanpa diberikan terapi didapatkan kadar trigliserida  $186,00 \pm 3,92$  mg/dL. Kadar kelompok B melebihi batas normal kadar trigliserida tikus, sedangkan kelompok C, D, dan E sebagai kelompok perlakuan yang diberi diet tinggi kolesterol dan terapi didapatkan kadar trigliserida masing-masing yaitu kelompok C  $100,75 \pm 29,34$  mg/dL, kelompok D  $60,75 \pm 6,65$  mg/dL, dan kelompok E  $33,75 \pm 2,63$  mg/dL. Kadar trigliserida dari ketiga kelompok tersebut berada pada kadar normal trigliserida tikus. Hasil dari setiap kelompok menunjukkan rata-rata kadar trigliserida yang berbeda, hal tersebut kemungkinan dikarenakan faktor-faktor yang ada dari masing-masing individu di kelompok tersebut. Faktor-faktor yang mempengaruhi besar kecilnya kadar trigliserida antara lain, faktor gen, asupan makanan, dan aktivitas.

Hasil kadar trigliserida yang di atas normal pada kelompok B, C, D, dan E pre-terapi (**Lampiran 7**) dikarenakan pemberian diet tinggi kolesterol berupa minyak babi 10%, kuning telur puyuh rebus 5%, dan asam kolat 0,1%. Minyak babi mengandung asam lemak jenuh sekitar 38-43% dan kolesterol, sehingga pemberiannya secara terus menerus selama 14 hari dapat mengakibatkan peningkatan kadar kolesterol dan trigliserida (Kusumastuty, 2014). Kuning telur

puyuh mempunyai kandungan kolesterol yang sangat tinggi yaitu 2.139,17 mg/100 gr, jumlah kolesterol tersebut lebih tinggi bandingkan kandungan kolesterol dalam kuning telur ayam dan itik (Chahyanto, dkk., 2016). Asam kolat dalam diet tinggi kolesterol mempunyai fungsi mempercepat terjadinya peningkatan kolesterol dalam darah (Paulina, dkk., 2015). Ketiga bahan tersebut menyebabkan kolesterol dalam darah meningkat. Kolesterol yang meningkat dalam darah akan menyebabkan jumlah radikal bebas dalam tubuh juga mengalami peningkatan (Irawan, dkk., 2014). Radikal bebas yang meningkat akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid sehingga kadar trigliserida mengalami peningkatan (Kinenda, 2017).



**Gambar 5.1** Grafik Kadar Trigliserida

Kelompok C, D, dan E pada grafik di atas (**Gambar 5.1**) menunjukkan bahwa kadar trigliserida tikus lebih rendah dari kelompok B (kontrol positif). Kelompok C (perlakuan 1) mempunyai hasil yang lebih tinggi dari kelompok A

(kontrol negatif), D (perlakuan 2), dan E (perlakuan 3). Kelompok D (perlakuan 2) memberikan hasil lebih rendah dari kelompok A (kontrol negatif) dan C (perlakuan 1), tetapi lebih tinggi dari kelompok E (perlakuan 3). Kelompok E (perlakuan 3) menunjukkan hasil paling rendah diantara keempat kelompok yang lain.

Kelompok C, D, dan E yang diberikan terapi bekatul dengan dosis masing-masing 16%/ekor/hari, 38%/ekor/hari, dan 57%/ekor/hari mengalami penurunan kadar trigliserida. Penurunan tersebut dapat dilihat dari hasil uji *pre*-terapi ke hasil uji *post*-terapi pada **Lampiran 7**. Berdasarkan perhitungan rata-rata hasil uji kadar trigliserida pada masing-masing kelompok perlakuan tersebut diketahui bahwa kelompok C mengalami penurunan sebesar 93 mg/dL dari 193,75 mg/dL menjadi 100,75 mg/dL. Kelompok D mengalami penurunan sebesar 107,25 mg/dL dari 168 mg/dL menjadi 60,75 mg/dL. Kelompok E mengalami penurunan sebesar 131,75 mg/dL dari 165,5 mg/dL menjadi 33.75 mg/dL. Kelompok C, D, dan E mempunyai kadar trigliserida akhir yang berada pada kadar normal trigliserida tikus, tetapi kelompok E yang mengalami penurunan kadar trigliserida paling besar. Sehingga dosis terapi yang paling efektif dari ketiga dosis yang diberikan yaitu dosis bekatul 57%/ekor/hari. Dosis yang diberikan pada kelompok E (perlakuan 3) efektif menurunkan kadar trigliserida lebih banyak dibandingkan kelompok yang lain karena kadar serat kasar dan antioksidan yang dikandungnya lebih besar daripada kelompok C (perlakuan 1) dan kelompok D (perlakuan 2).

Terapi bekatul dapat menurunkan kadar trigliserida yang ditunjukkan melalui perubahan kadar trigliserida dari *pre*-terapi ke *post*-terapi. Perubahan

kadar trigliserida tersebut dikarenakan bekatul mengandung serat kasar dan antioksidan yang dapat membantu menurunkan kadar trigliserida. Serat kasar pada bekatul yang digunakan untuk terapi mengandung 21,20% dan antioksidan IC<sub>50</sub> 51,79 µg/mL. Serat kasar mempunyai fungsi mempercepat laju pakan dalam mengikat asam empedu sehingga proses pengeluaran asam empedu dari tubuh lebih cepat. Akibatnya tubuh akan membentuk asam empedu baru dari kolesterol yang berlebih di darah dan menyebabkan jumlah kolesterol dalam darah menurun (Teru, dkk., 2017).

Tahap awal terbentuknya asam empedu melalui reaksi 7 $\alpha$ -hidroksilasi yang dikatalisis oleh 7 $\alpha$ -hidroksilase. 7 $\alpha$ -hidroksilase merupakan suatu enzim mikrosom. Reaksi 7 $\alpha$ -hidroksilasi memerlukan oksigen, NADPH, dan sitokrom P-450. Biosintesis asam empedu awalnya terbagi menjadi satu subjalur yang akan menghasilkan kolil-KoA yang ditandai dengan bertambahnya gugus  $\alpha$ -OH di posisi 12 dan jalur lainnya yang menghasilkan kenodeoksilkolil-KoA. Jalur kedua terjadi di mitokondria yang melibatkan 27-hidroksi kolesterol oleh sterol 27-hidroksilase sehingga menghasilkan asam empedu primer. Proses tersebut terjadi di dalam hepar. Asam empedu primer akan masuk ke usus dan mengalami dekonjugasi dan 7 $\alpha$ -dehidroksilasi akibat aktivitas bakteri usus menghasilkan asam empedu sekunder (Jessica, 2013).

Oksigen yang digunakan pada reaksi 7 $\alpha$ -hidroksilasi mudah mengalami reduksi menjadi radikal bebas anion superoksida. Pembentukan radikal bebas akan semakin meningkat ketika terjadi peningkatan aktivitas sitokrom P-450 (Arauna, 2013). Penurunan kolesterol menyebabkan produksi asam empedu

menurun sehingga jumlah radikal bebas yang dihasilkan dari aktivitas pembentukan asam empedu tersebut akan turun. Radikal bebas yang menurun akan menyebabkan peroksidasi lipid turun, sehingga kadar trigliserida akan mengalami penurunan.

Serat kasar mempunyai kemampuan mengikat asam empedu sehingga tidak dapat diabsorpsi dan disirkulasikan kembali. Serat kasar yang telah mengikat asam empedu kemudian akan masuk ke dalam usus besar untuk digradasi dan diekskresikan. Serat kasar juga mampu mengalihkan timbunan asam empedu dari asam kolat menjadi *chenodeoxycholic acid*. *Chenodeoxycholic acid* mampu menghambat HMG CoA reduktase yang merupakan enzim yang mempunyai peran dalam biosintesis kolesterol, sehingga kadar kolesterol darah akan menurun. Selain itu mikroorganisme pendegradasi serat dalam usus mampu menghasilkan propionat atau asam lemak rantai pendek lainnya yang dapat menghambat sintesis asam lemak dan kolesterol (Sayekti dan Ninik, 2014). Sehingga kolesterol akan mengalami penurunan dan menyebabkan trigliserida juga akan menurun jumlahnya.

Antioksidan  $IC_{50}$  merupakan suatu parameter yang digunakan untuk menentukan konsentrasi dari senyawa antioksidan dalam menghambat 50% oksidasi (Lung dan Dika, 2017). Semakin kecil hasil dari uji antioksidan  $IC_{50}$  maka semakin baik aktivitas antioksidannya (Filbert, dkk., 2014). Aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai  $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ , kuat apabila nilai  $IC_{50} 50-100 \mu\text{g/mL}$ , sedang apabila nilai  $IC_{50} 100-150 \mu\text{g/mL}$ , dan lemah apabila nilai  $IC_{50} 150-200 \mu\text{g/mL}$  (Agustina, 2017). Berdasarkan hasil uji antioksidan  $IC_{50}$  yang

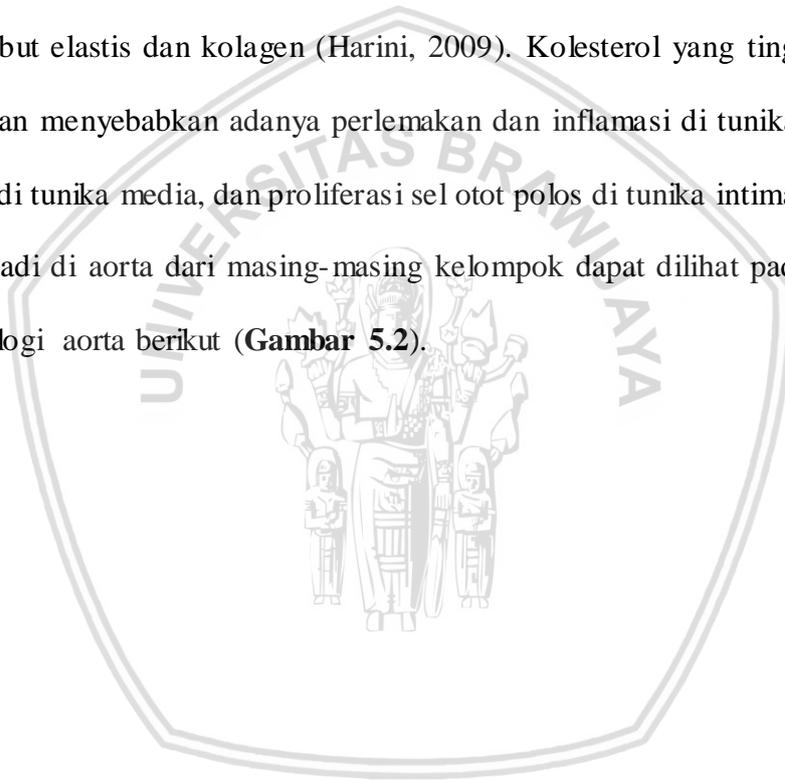
diperoleh menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari bekatul yang digunakan untuk terapi adalah kuat. Akibatnya bekatul yang digunakan untuk terapi mampu menambah jumlah antioksidan dalam tubuh sehingga akan membantu menurunkan radikal bebas dan memberikan hasil akhir berupa penurunan kadar trigliserida. Senyawa antioksidan yang terdapat dalam bekatul yaitu *γ-oryzanol*.

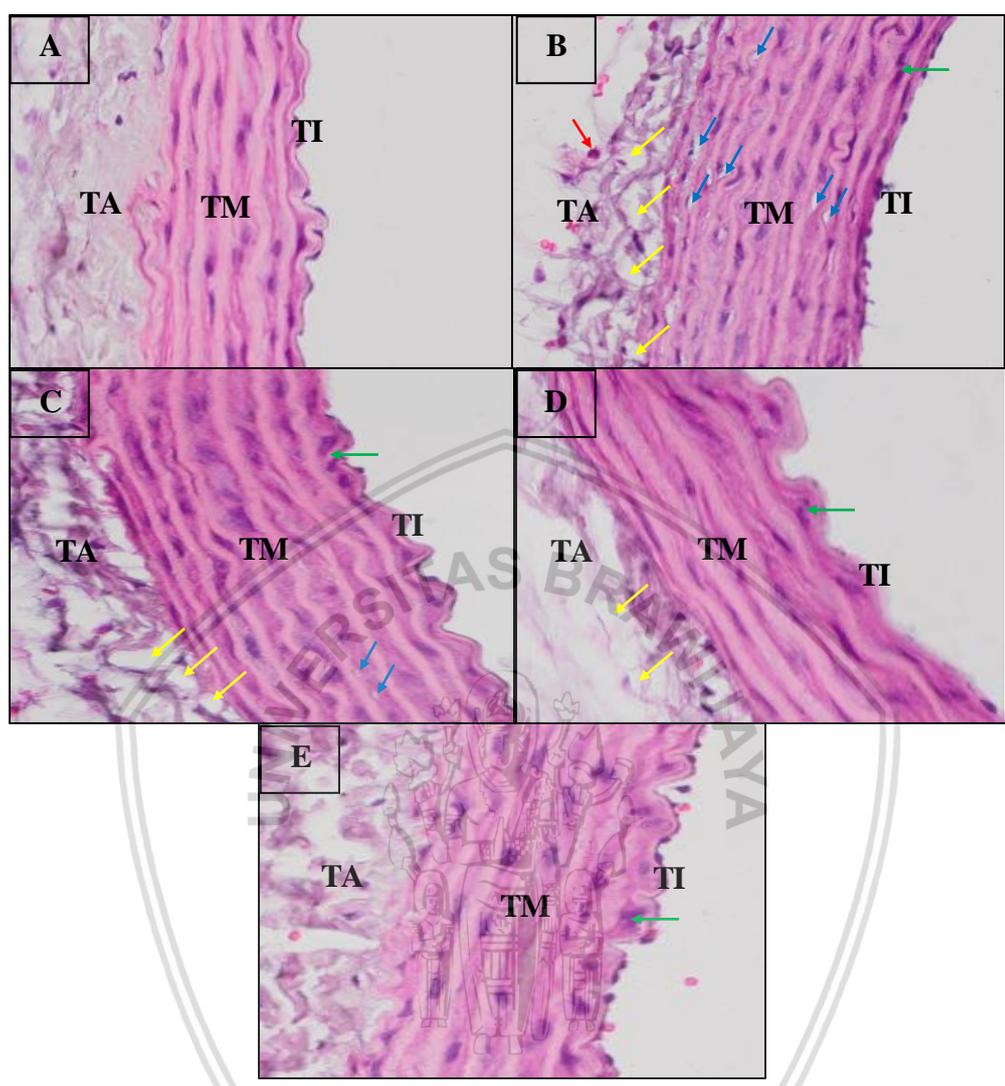
*γ-oryzanol* mempunyai kemampuan menurunkan trigliserida dan kolesterol. Caranya dengan menekan lipogenesis di hepar dan meningkatkan ekskresi lemak melalui feses (Tuarita, dkk., 2017). *γ-oryzanol* merupakan antioksidan non polar yang mempunyai fungsi menghambat peroksidasi lipid dan mencegah stres oksidatif. Kadar antioksidan yang semakin tinggi akan menyebabkan semakin tinggi laju penghambatan peroksidasi lipid oleh radikal bebas (Mumpuni, 2013). Pencegahan terjadinya stres oksidatif oleh *γ-oryzanol* akan menyebabkan penurunan peroksidasi lipid sehingga kadar trigliserida akan menurun. Penurunan kadar trigliserida didukung dengan fungsi lainnya dari *γ-oryzanol* yaitu menghambat peroksidasi lipid. Sehingga kadar trigliserida akan semakin cepat mengalami penurunan.

## **5.2 Pengaruh Pemberian Bekatul terhadap Perbaikan Kerusakan Histopatologi Aorta Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Diet Tinggi Kolesterol**

Kerusakan yang terjadi pada organ aorta tikus putih (*Rattus norvegicus*) dapat diketahui melalui pengamatan preparat histopatologi aorta dengan uji pewarnaan HE (Hematoksilin-Eosin). Bagian aorta yang digunakan untuk uji

pewarnaan HE adalah aorta abdominalis. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop Olympus pada perbesaran 400x. Bagian aorta yang diamati adalah adanya perlemakan dan inflamasi pada tunika adventisia, sel busa di tunika media, dan proliferasi sel otot polos di tunika intima. Aorta tersusun dari tiga lapisan yaitu tunika intima, tunika media, dan tunika adventisia. Tunika intima dan tunika media terdiri dari otot polos, sedangkan tunika adventisia terdiri dari serabut elastis dan kolagen (Harini, 2009). Kolesterol yang tinggi di dalam darah akan menyebabkan adanya perlemakan dan inflamasi di tunika adventisia, sel busa di tunika media, dan proliferasi sel otot polos di tunika intima. Perubahan yang terjadi di aorta dari masing-masing kelompok dapat dilihat pada gambaran histopatologi aorta berikut (**Gambar 5.2**).





**Gambar 5.2** Gambaran Histopatologi Aorta (A) Kelompok A (Kontrol Negatif), (B) Kelompok B (Kontrol Positif), (C) Kelompok C (Perlakuan 1), (D) Kelompok D (Perlakuan 2), dan (E) Kelompok E (Perlakuan 3).

Keterangan:

- |                        |                |                          |
|------------------------|----------------|--------------------------|
| TI = Tunika Intima     | ↑ = Perlemakan | ↑ = Proliferasi Sel Otot |
| TM = Tunika Media      | ↑ = Sel Radang | Polos                    |
| TA = Tunika Adventisia | ↑ = Sel Busa   |                          |

Gambaran histologi aorta kelompok A (kontrol negatif) (**Gambar 5.2 (A)**) merupakan gambaran normal dari aorta. Tunika adventisia dari aorta kelompok A tidak terlihat adanya perlemakan dan sel radang. Pada tunika media tidak terlihat adanya sel busa dan pada tunika intima tidak terlihat adanya proliferasi sel otot polos. Gambaran histopatologi aorta kelompok B (kontrol positif) (**Gambar 5.2 (B)**) yang diberikan diet tinggi kolesterol menunjukkan adanya perlemakan dan sel radang yang terdapat di tunika adventisia, selain itu terdapat beberapa sel busa di tunika media. Pada tunika intima terlihat adanya proliferasi sel otot polos. Perlemakan ditunjukkan oleh tanda panah berwarna kuning, sel radang ditunjukkan oleh tanda panah berwarna merah, sel busa ditunjukkan oleh tanda panah berwarna biru, dan proliferasi sel otot polos ditunjukkan oleh tanda panah warna hijau.

Gambaran histopatologi kelompok C (perlakuan 1) (**Gambar 5.2 (C)**) yang diberi diet tinggi kolesterol dan terapi bekatul 16%/ekor/hari menunjukkan adanya perlemakan tanpa diikuti adanya sel radang di tunika adventisia yang ditunjukkan dengan tanda panah warna kuning, pada tunika media terdapat sel busa yang ditunjukkan dengan tanda panah warna biru, dan pada tunika intima terlihat adanya proliferasi sel otot polos yang ditunjukkan dengan tanda panah warna hijau. Gambaran histopatologi kelompok D (perlakuan 2) (**Gambar 5.2 (D)**) yang diberi diet tinggi kolesterol dan terapi bekatul 38%/ekor/hari menunjukkan adanya perlemakan dan tidak terdapat sel radang di tunika adventisia, pada tunika media tidak terdapat sel busa, tetapi pada tunika intima terlihat adanya proliferasi sel otot polos.

Gambaran histopatologi kelompok E (perlakuan 3) (**Gambar 5.2 (E)**) yang diberi diet tinggi kolesterol dan terapi bekatul 57%/ekor/hari menunjukkan tidak adanya perlemakan dan sel radang di tunika adventisia, selain itu tidak terdapat sel busa di tunika media. Tetapi terlihat adanya proliferasi sel otot polos di tunika intima. Adanya proliferasi sel otot polos tersebut kemungkinan dikarenakan masih adanya makrofag di dalamnya atau adanya pewarnaan yang kurang sempurna sehingga terlihat selnya berproliferasi. Sel lemak di dalam sel akan dibawa oleh HDL ke hepar untuk dimetabolisme dan sel radang jumlahnya semakin berkurang karena peradangan yang berkurang, sedangkan sel busa akan diemigrasikan ke sistem limfatik sehingga jumlahnya akan berkurang. Gambaran histopatologi dari kelompok E tersebut mendekati gambaran normal aorta yang ditunjukkan oleh kelompok A sebagai kontrol negatif.

Pada tunika adventisia terdapat perlemakan dan sel radang. Perlemakan ditandai dengan adanya sel lemak. Sel lemak mempunyai ciri-ciri yaitu bervakuola besar dan intinya datar dan terletak di perifer (Permana, 2007). Sel radang merupakan ciri-ciri adanya inflamasi pada daerah tersebut. Perlemakan dan inflamasi pada tunika adventisia aorta disebabkan oleh pemberian diet tinggi kolesterol. Salah satu bahan yang digunakan sebagai diet tinggi kolesterol adalah minyak babi yang berasal dari lemak babi. Lemak babi mengandung asam lemak jenuh yang tinggi. Asam lemak jenuh yang tinggi menyebabkan kadar kolesterol meningkat (Maramis, dkk., 2014). Kadar kolesterol yang tinggi dalam darah menyebabkan plak kolesterol. Plak kolesterol yang menempel pada dinding pembuluh darah menyebabkan terjadinya inflamasi (Kartika, 2017).

Pada tunika media terdapat sel busa. Sel busa terbentuk dari makrofag yang menfagosit LDL (*Low Density Lipoprotein*) teroksidasi (Welinsa, dkk., 2014). Makrofag menghasilkan oksigen toksik sehingga terbentuk LDL teroksidasi. LDL yang tertangkap di dinding pembuluh darah akan mengalami oksidasi progresif dan masuk ke dalam makrofag melalui reseptor *scavenger* pada permukaan sel, sehingga terbentuk peroksidase lemak dan memudahkan penimbunan ester kolesterol kemudian membentuk sel busa (Lintong, 2009). Proses terbentuknya sel busa diawali dengan adanya gangguan fungsi endotel akibat meningkatnya pembentukan radikal bebas oksigen yang mendeaktivasi nitrat oksida. Lemak di dalam pembuluh darah akan mengalami perubahan secara kimiawi akibat radikal bebas tersebut sehingga menghasilkan LDL teroksidasi. LDL teroksidasi selanjutnya akan ditangkap oleh makrofag melalui *scavenger receptor* secara terus menerus dan makrofag tersebut akan berubah menjadi sel busa (Maramis, dkk., 2014).

Pada tunika intima terlihat adanya proliferasi sel otot polos. Proliferasi sel otot polos adalah bertambahnya jumlah sel otot polos yang berasal dari pembelahan satu sel menjadi dua sel dan seterusnya. Proliferasi terjadi disebabkan oleh makrofag yang mengeluarkan faktor pertumbuhan (Welinsa, dkk., 2014). Kerusakan endotel menyebabkan terjadinya disfungsi endotel, sehingga menstimuli molekul adhesi yang menyebabkan perlekatan monosit ke endotel. Monosit akan penetrasi ke tunika intima melalui celah endotel dan teraktivasi menjadi makrofag. Makrofag akan melepaskan faktor-faktor pertumbuhan seperti PDGF (*Platelet Derived Growth Factor*), FGF (*Fibroblast Growth Factor*), dan

TGF- $\alpha$  (*Transforming Growth Factor- $\alpha$* ), sehingga akan memicu penggandaan/proliferasi sel-sel otot polos (Lintong, 2009).

Kolesterol yang tinggi di dalam darah akan menyebabkan produksi asam empedu juga mengalami peningkatan. Asam empedu yang meningkat akan meningkatkan jumlah produksi radikal bebas (Arauna, 2013). Radikal bebas dihasilkan dari reduksi oksigen pada reaksi  $7\alpha$ -hidroksilasi dalam proses pembentukan asam empedu (Arauna, 2013). Radikal bebas yang tinggi menyebabkan antioksidan dalam tubuh tidak seimbang jumlahnya, sehingga menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif mengakibatkan terjadi kerusakan sel (Susatiningsih, 2015). Kerusakan sel tersebut menyebabkan terjadinya luka pada sel-sel endotel. Luka pada sel-sel endotel mengakibatkan terjadinya reaksi inflamasi dan menyebabkan terjadinya vasodilatasi yang akan meningkatkan permeabilitas sel-sel endotel terhadap berbagai bahan di dalam plasma. Akibatnya akan terbentuk rongga antar sel, dan terjadi infiltrasi lemak dan sel inflamasi pada tunika adventisia (Riesanti, dkk., 2014).

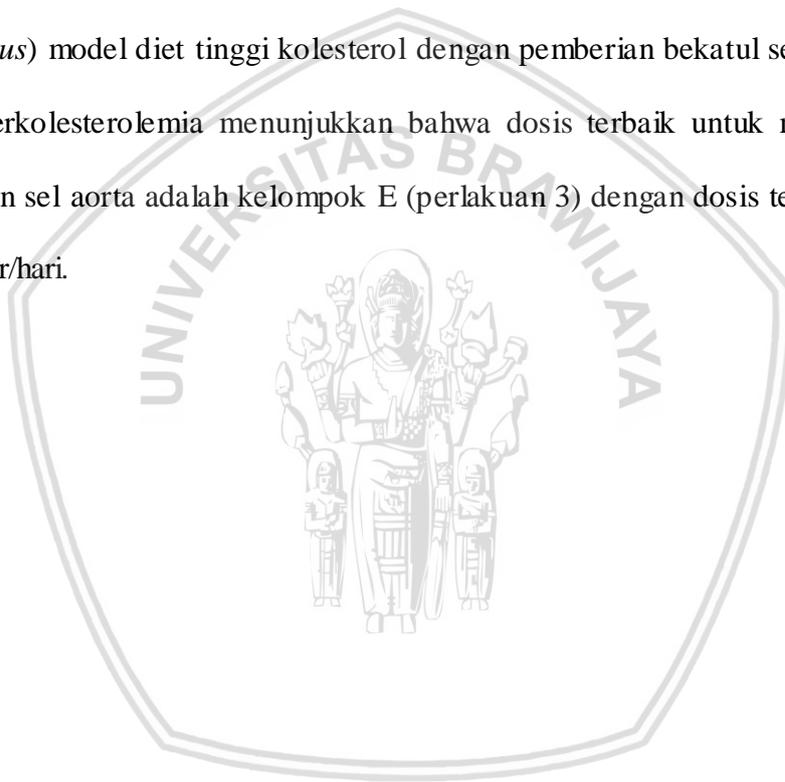
Kelompok C, D, dan E yang diberi terapi bekatul dengan dosis masing-masing 16%/ekor/hari, 38%/ekor/hari, dan 57%/ekor/hari mengalami perbaikan pada tunika adventisia dan tunika media. Hal tersebut ditunjukkan dengan semakin berkurangnya sel lemak dan inflamasi di tunika adventisia, serta berkurangnya sel busa di tunika media. Sel busa berada di tunika media disebabkan adanya gangguan fungsi endotel akibat radikal bebas. Sel lemak dan inflamasi berada di tunika adventisia dikarenakan adanya luka pada sel endotel yang disebabkan oleh kerusakan sel. Kerusakan sel tersebut karena stres oksidatif

yang meningkat dalam tubuh. Stres oksidatif meningkat diakibatkan oleh ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang ada di dalam tubuh, sehingga tubuh membutuhkan antioksidan tambahan dari luar agar dapat menyeimbangi jumlah radikal bebas tersebut. Jumlah radikal bebas juga dapat dikurangi dengan cara menurunkan produksi asam empedu di dalam tubuh.

Bekatul mengandung serat kasar dan antioksidan yang mampu memperbaiki kerusakan sel endotel. Mekanisme perbaikannya yaitu dengan mempercepat proses pembuangan asam empedu keluar tubuh dan juga menambah antioksidan dalam tubuh untuk mencegah terjadinya stres oksidatif. Kandungan antioksidan dalam bekatul berupa  $\gamma$ -oryzanol meningkatkan metabolisme kolesterol (Minatel, *et al.*, 2016).  $\gamma$ -oryzanol dapat menurunkan kadar kolesterol, mempunyai aktivitas antiinflamasi, dan dapat menghambat oksidasi kolesterol (Nashriana, dkk., 2015). Kadar kolesterol yang menurun akan menyebabkan sintesis asam empedu menurun. Penurunan sintesis asam empedu akan menurunkan jumlah radikal bebas. Penurunan jumlah radikal bebas juga disebabkan oleh fungsi  $\gamma$ -oryzanol yang menghambat terjadinya proses oksidasi kolesterol. Akibat dari menurunnya radikal bebas adalah menurunnya stres oksidatif. Penurunan stres oksidatif akan memperbaiki kerusakan sel sehingga inflamasi, perlemakan, dan sel busa berkurang. Selain itu adanya aktivitas antiinflamasi akan mengurangi inflamasi yang terjadi.

Kadar kolesterol total akan mengalami penurunan dengan meningkatkan ekskresi kolesterol melalui feses (Wang, *et al.*, 2015). Kolesterol dalam darah akan menurun sehingga radikal bebas akan berkurang. Radikal bebas yang

berkurang akan menyebabkan kerusakan sel berkurang, sehingga tidak terjadi luka di sel-sel endotel dan inflamasi mengalami penurunan. Serat kasar juga membantu mempercepat proses pengikatan asam empedu dan meningkatkan ekskresi kolesterol melalui feses (Teru, dkk., 2017). Hal tersebut menyebabkan lemak dalam darah berkurang sehingga inisiasi lemak tidak terjadi pada tunika adventisia (Riesanti, dkk., 2014). Hasil pengamatan histopatologi aorta tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol dengan pemberian bekatul sebagai terapi dari hiperkolesterolemia menunjukkan bahwa dosis terbaik untuk memperbaiki kerusakan sel aorta adalah kelompok E (perlakuan 3) dengan dosis terapi bekatul 57%/ekor/hari.



## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan antara lain:

1. Pemberian bekatul dapat menurunkan kadar trigliserida pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol dengan dosis efektifnya yaitu 57%/ekor/hari.
2. Pemberian bekatul dapat memperbaiki kerusakan sel aorta pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol dengan dosis efektifnya yaitu 57%/ekor/hari.

### 6.2 Saran

Bekatul padi beras putih di setiap daerah mempunyai varietas yang berbeda-beda sehingga perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang kandungan bekatul dari masing-masing varietas padi tersebut, agar dapat dibandingkan varietas padi beras putih mana yang lebih baik dalam menurunkan kadar trigliserida dan memperbaiki kerusakan sel aorta akibat diet tinggi kolesterol. Selain itu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk pengaplikasian terapi bekatul pada hewan untuk menurunkan kadar trigliserida dan memperbaiki kerusakan sel aorta akibat diet tinggi kolesterol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adawiah, D. Sukandar, dan A. Muawanah. 2015. *Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam*. Jurnal Kimia Valensi: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia, 1 (2): 130-136.
- Agustina, E. 2017. *Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Daun Tiin (Ficus Carica Linn) dengan Pelarut Air, Metanol, dan Campuran Metanol-Air*. Klorofil, 1 (1): 38-47.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press. Jakarta.
- Anggraini, E. F. 2015. *Pengaruh Substitusi Bekatul (Rice Bran) terhadap Sifat Organoleptik Donat*. E-Journal Boga, 4 (8): 63-70.
- Arauna, Y. 2013. *Studi Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia yang Diterapi dengan Ekstrak Air Benalu Mangga (Dendrophthoe petandra)* [Skripsi]. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Arifnaldi, M. S. 2014. *Hubungan Kadar Trigliserida dengan Kejadian Stroke Iskemik di RSUD Sukoharjo* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Asmarani, M. 2017. *Analisis Adaptasi Padi Sawah Beras Merah yang Digogokan* [Skripsi]. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung.
- Auliana, R. 2011. *Manfaat Bekatul dan Kandungan Gizinya*. <http://www.staffney.uny.ac.id/upload/132048525/pengabdian/manfaat-bekatul-dan-kandungan-gizinya.pdf>. [16 Januari 2017]
- Baso, B. 2017. *Efek EMSA Eritin terhadap Penghambatan Disfungsi Endotel pada Tikus Diabetes Melitus* [Disertasi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Hasanudin Makassar.
- Bemvenuti, R. H., N. S. Nora, and E. B. Furlong. 2012. *Extraction of  $\gamma$ -Oryzanol From Rice Bran*. Cienc. Agrotec, 36 (6): 665-673.
- Chahyanto, B. A., Rimbawan, S. A. Marliyati, dan W. Winarsih. 2016. *Efek Diet Tinggi Kolesterol terhadap Peningkatan Kolesterol Darah, Gambaran Histopatologi Hati, dan Bobot Badan Kelinci New Zealand White Jantan*. Jurnal Sain Veteriner, 34 (1): 50-59.



- Colombo, M. L. 2010. *An Update on Vitamin E, Tocopherol, and Tocotrienol Perspectives*. *Journal Molecules*, 15: 2103-2113.
- Dewi, N. C. P. 2013. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Hijau (Phaseolus radiatus) terhadap Kadar Kolesterol LDL Serum Tikus Hiperkolesterolemia*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Dianti, R. W. 2010. *Kajian Karakteristik Fisikokimia dan Sensori Beras Organik Mentik Susu dan IR64; Pecah Kulit dan Giling Selama Penyimpanan* [Skripsi]. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret.
- Fibriyanti, Y.W. 2012. *Kajian Kualitas Kimia dan Biologi Beras Merah (Oryza nivara) dalam Beberapa Pewadahan Selama Penyimpanan* [Skripsi]. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret.
- Filbert, H. S. J. Koleangan, M. R. J. Runtuwene, dan V. S. Kamu. 2014. *Penentuan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Metanol dan Fraksi Hasil Partisinya pada Kulit Biji Pinang Yaki (Areca vestiaria Giseke)*. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 3 (2): 149-154.
- Fitria, L dan M. Sarto. 2014. *Profil Hematologi Tikus (Rattus norvegicus Berkenhout, 1979) Galur Wistar Janta dan Betina Umur 4,6, dan 8 Minggu*. *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*, 2 (2): 94-100.
- Gani, N., L. I. Momuat, dan M. M. Pitoi. 2013. *Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (Abelmoschus manihot L.)*. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 2 (1): 44-49.
- Hardiningsih, R. dan N. Nurhidayat, 2006. *Pengaruh Pemberian Pakan hiperkolesterolemia terhadap Bobot Badan Tikus Putih Wistar yang Diberi Bakteri Asam Laktat*. *Biodiversitas*, 7 (2): 127-130.
- Harini, M. 2009. *Kadar Kolesterol Darah dan Ekspresi VCAM-1 pada Endotel Aorta Tikus Putih (Rattus norvegicus L.) Hiperkolesterolemik Setelah Perlakuan VCO*. Pascasarjana Program Studi Biosains. Universitas Sebelas Maret.
- Hasbullah, R. Dan P. Riskia D. P. 2013. *Pengaruh Lama Perendaman terhadap Mutu Beras Pratanak pada Padi Varietas IR 64*. *Jurnal Keteknik Pertanian*, 27 (1): 53-60.
- Hernawan, E. dan V. Meylani. 2016. *Analisis Karakteristik Fisikokimia Beras Putih, Beras Merah, dan Beras Hitam (Oryza sativa L., Oryza nivara, dan Oryza sativa L. Indica)*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 15 (1): 79-91.

- Hernawati, W. Manalu, A. Suprayogi, dan D. A. Astuti. 2013. *Perbaikan Parameter Lipid Darah Mencit Hiperkolesterolemia dengan Suplemen Pangan Bekatul*. MKB, 45 (1): 1-9.
- Indra, I. R. dan B. Panunggal. 2015. *Pengaruh Pemberian Selai Kacang Tanah dengan Substitusi Bekatul terhadap Kadar Kolesterol LDL dan HDL Tikus Hiperkolesterolemia*. Journal of Nutrition College, 4 (2): 171-179.
- Irawan, R. H. W., C. Mahdi, dan M. C. Padaga. 2014. *Pengaruh Pemberian Yogurt Susu Kambing sebagai Pencegahan untuk Hiperkolesterolemia melalui Pengamatan Malondehida (MDA) dan TNF- $\alpha$  pada Jantung Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*)*. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Iriyani, N. 2011. *Sereal dengan Substitusi Bekatul Tinggi Antioksidan*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Jessica, C. Y. 2013. *Efek Pemberian Serbuk Buah Pisang Kepok (*Musa x Paradisiaca L. (pro sp.)*) terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Jantan Galur Wistar* [Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Juliano, C., M. Cossu, M. C. Alamanni, and L. Piu. 2005. *Antioxidant Activity of Gamma-Oryzanol: Mechanism of Action and Its Effect on Oxidative Stability of Pharmaceutical Oils*. International Journal of Pharmaceutics, 299: 146-154.
- Kartika, Y. D. A. 2017. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Tomat (*Solanum lycopersicum L.*) terhadap Kadar LDL dan Gambaran Histopatologi Aorta pada Model Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Kinenda, D. P. M. 2017. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Buah Tomat (*Solanum lycopersicum L.*) terhadap Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Hepar pada Model Hewan Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Krisnansari, D., A. T. Hapsari, E. Sulistyoningrum, dan A. Prastowo. *Pengaruh Propolis terhadap Profil Lipid Plasma Tikus Model Hiperkolesterolemia*. Jurnal Gizi Klinik Indonesia, 8 (3): 106-112.
- Kusriningrum. 2010. *Perancangan Percobaan*. Universitas Airlangga Press. Surabaya.

- Kusumastuty, I. 2014. *Sari Buah Markisa Ungu Mencegah Peningkatan MDA Serum Tikus dengan Diet Aterogenik*. Indonesian Journal of Human Nutrition, 1 (1): 50-56.
- Larasathi, A. S., C. Mahdi, dan M. C. Padaga. 2014. *Pengaruh Terapi Yogurt Susu Kambing terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Ekspresi Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) Organ Hati Hewan Model Tikus (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia*. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Lehninger, A. L. 2004. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 2*. Penerbit Erlangga. Surabaya.
- Lintong, P. M., 2009. *Perkembangan Konsep Patogenesis Aterosklerosis*. Jurnal Biomedik, 1 (1): 12-22.
- Lung, J. K. S. Dan D. P. Destiani. 2017. *Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH*. Farmaka Suplemen, 15 (1): 53-62.
- Manurung, D. M. 2009. *Komposisi Kimia, Asam Lemak, dan Kolesterol Udang Ronggeng (Harpiosquilla raphidea) Akibat Perebusan* [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Maramis, R., M. Kaseke, dan G. N. Tanudjadja. 2014. *Gambaran Histologi Aorta Tikus Wistar dengan Diet Tinggi Lemak Babi Setelah Pemberian Ekstrak Daun Sirsak (annona muricata L.)*. Jurnal e-Biomedik, 2 (2): 431-435.
- Maula, I. F. 2014. *Uji Antifertilitas Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) pada Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus) Galur Sprague Dawley secara In Vivo* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Maulana, B., M. C. Padaga, dan D. K. Wuragil. 2014. *Pengaruh Pemberian Susu Kambing untuk Pencegahan Hiperkolesterolemia: Studi Ekspresi Inducible Nitric Oxide Syntase (iNOS) dan Gambaran Histopatologi Duodenum pada Tikus (Rattus norvegicus) Model Hiperkolesterolemia*. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Minatel, I. O., F. V. Francisqueti, C. R. Correa, and G. P. P. Lima. 2016. *Antioxidant Activity of  $\gamma$ -Oryzanol: A Complex Network of Interactions*. Vol. 17: 1107-1121.
- Mumpuni, P. D. 2013. *Analisis Kadar Tokoferol,  $\gamma$ -Oryzanol, dan  $\beta$ -Karoten serta Aktivitas Antioksidan Minyak Bekatul Kasar* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro Semarang.

- Nashriana, N., B. Wirjatmadi, dan M. Adriani. 2015. *Combined Food (Bekatul dan Lemak) Menurunkan Kadar Kolesterol Total, Trigliserida, dan LDL pada Tikus Galur Wistar*. Jurnal Kedokteran Brawijaya, 28 (3): 208-212.
- Niza, R. S., E. Asni, W. Ade, dan Ismawati. 2015. *Hubungan Lama Pemberian Diet Aterogenik terhadap Kadar Trigliserida Rattus norvegicus Jantan Strain Wistar*. Jom FK, 2 (2): 1-12.
- Nurrakhman, M. A. 2016. *Pengaruh Aktivitas Fisik Menggunakan Treadmill terhadap Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Hepar pada Tikus (Rattus norvegicus) Obesitas Induksi HFD (High-Fructose Diet)* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Pambudi, R. 2017. *Perbedaan Panjang serta Berat Tubuh Fetus Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Sprague-Dawley terhadap Pemberian Asam Folat pada Periode Kehamilan yang Berbeda* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung.
- Paulina, A. J., E. Asni, dan M. Gaffar. 2015. *Pengaruh Lama Pemberian Diet Aterogenik terhadap Indeks Aterogenik Serum Rattus norvegicus Strain Wistar Jantan*. Jom FK, 2 (2): 1-15.
- Permana, H. 2007. *Sel Adiposit sebagai Organ Endokrin*. Fakultas Kedokteran. Universitas Padjadjaran Bandung.
- Prawitasari, T., S. Sastroasmoro, dan D. R. Sjarif. 2011. *Skrining Sistematis terhadap Hiperkolesterolemia Familial pada Anak berdasarkan Kriteria Medped Simon Broome Register Register dan Dutch Lipid Clinic*. Sari Pediatri, 13 (2): 152-158.
- Putra, M. M. A. 2016. *Pengaruh Pemberian Minyak Jelantah terhadap Ketebalan Dinding Aorta Abdominal Tikus Putih (Rattus norvegicus) Jantan Galur Sprague dawley* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung.
- Rahmawati, Y. W. 2015. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Metanol Daun Kayu Kuning (Arcangelisia flava (L.) Merr) terhadap Histopatologi Aorta Tikus Wistar Hiperlipidemia* [Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Jember.
- Ramadhani, A. 2014. *Perbedaan Kadar Triliserida Sebelum dan Setelah Pemberian Sari Bengkuang (Pachyrrhizus erosus) pada Wanita*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Renata, A. 2009. *Profil Asam Lemak dan Trigliserida Biji-Bijian* [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.

- Riesanti, D. G., M. C. Padaga, dan Herawati. 2014. *Kadar HDL, Kadar LDL, dan Gambaran Histopatologi Aorta pada Hewan Model Tikus ((Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (Dendrophthoe pentandra)*. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Rodzian, M. N. S., I. A. A. Ibrahim, N. A. M. Fahami, and N. M. Ismail. 2013. *Pure Tocotrienol Concentrate Protected Rat Gastric Mucosa From Acute Stress-Induced Injury by A Non-Antioxidant Mechanism*. Pol J Pathol, 1: 52-58.
- Rubenstein, D., D. Wayne, and J. Bradley. 2007. *Lecture Notes: Kedokteran Klinis Edisi 6*. 2007. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Rufaida, F., Aulanni'am, S. Murwani. 2014. *Profil Kadar Kolesterol Total, Low Density Lipoprotein (LDL), dan Gambaran Histopatologi Aorta pada Tikus (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (Dendrophthoe Pentandra)*. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Sayekti, N. A. dan N. Rustanti. 2014. *Pengaruh Pemberian Yogurt Koro Pedang (Canavalia ensiformis) terhadap Kadar Kolesterol LDL dan HDL Serum Tikus Sprague Dawley Dislipidemia*. Journal of Nutrition College, 3 (1): 125-133.
- Setiawan, A. 2010. *Kandungan Serat Kasar dan Protein Kasar Bekatul yang Difermentasi Acidothermus Cellulolyticus dan Aspergillus Terreus dari Cairan Rumen Sapi [Skripsi]*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Setyaji, D. Y. 2011. *Pengaruh Pemberian Nata De Coco terhadap Kadar Kolesterol LDL dan HDL pada Tikus Hiperkolesterolemia*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Sugiarto, M., M. C. Padaga, dan D. K. Wuragil. 2014. *Efek Terapi Yogurt Susu terhadap Ekspresi Inducible Nitric Oxyde Synthase (iNOS) dan Kadar Malondialdehida (MDA) pada Aorta Hewan Model Tikus (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia*. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Susantiningsih, T. 2015. *Obesitas dan Oksidatif*. JuKe Unila, 5 (9): 89-93.
- Susanto, D. 2011. *Potensi Bekatul Sebagai Sumber Antioksidan dalam Produk Selai Kacang [Skripsi]*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro Semarang.

- Sutioso, H. 2012. *Pemanfaatan Pektin yang Diisolasi dari Daun Jambu Biji (Psidium guajava) dalam Uji In Vitro dan In Vivo Penurunan Kadar Kolesterol* [Skripsi]. Fakultas Teknik. Universitas Indonesia.
- Syafikriatillah, A. R., D. Darwis, B. Abbas, H. Maheshwari, Erwin, D. Noviana. 2016. *Profil Darah Putih Tikus Sprague Dawley Pascaimplantasi Tandur Tulang DFDBX dan Membran Nata De Coco pada Defek Tulang Kalvaria*. Prosiding KIVNAS ke-14: 11-12.
- Teru, V., M. H. Natsir, dan E. Widodo. 2017. *Pemanfaatan Tepung Kulit Bawang Merah (Allium ascalonicum) sebagai Imbuhan Pakan terhadap Penampilan, Profil Darah, dan Kolesterol pada Puyuh Petelur*. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan, 27 (3): 76-82.
- Tripathi, K.K., O. P. Govila, R. Warriar, and V. Ahuja. 2011. *Biologi of Oryza sativa L. (Rice)*. Department of Biotechnology Ministry of Science & Technology Government of India. India.
- Tuarita, M. Z., N. F. Sadek, Sukarno, N. D. Yuliana, dan S. Budijanto. 2017. *Pengembangan Bekatul sebagai Pangan Fungsional: Peluang, Hambatan, dan Tantangan*. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Wahdaningsih, S., E. P. Setyowati, dan S. Wahyuono. 2011. *Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (Alsophila glauca J. Sm)*. Majalah Obat Tradisional, 16 (3): 156-160.
- Wang, O., J. Liu, Q. Cheng, X. Guo, Y. Wang, L. Zhao, F. Zhou, and B. Ji. 2015. *Effects of Ferulic Acid and  $\gamma$ -Oryzanol on High-Fat and High-Fructose Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats*. PloS ONE. Vol. 10: 1-14.
- Welinsa, F., E. Asni, Z. Malik, dan Ismawati. 2014. *Histopatologi Aorta Torasika Rattus norvegicus Strain Wistar Jantan Setelah 8 Minggu Pemberian Diet Aterogenik*. Jom FK, 2 (1): 1-11.
- Widada, S. T., M. A. Martsiningsik, dan S. C. Carolina. 2016. *Gambaran Perbedaan Kadar Kolesterol Total Metode CHOD-PAP (Cholesterol Oxidase-Peroksidase Amidoantypirin) Sampel Serum dan Sampel Plasma EDTA*. Jurnal Teknologi Laboratorium, 5 (1): 41-44.
- Widyaningsih, W., A. Prabowo, dan Sumiasih. 2010. *Pengaruh Ekstrak Etanol Daging Bekicot (Achantina fulica) terhadap Kadar Kolesterol Total, HDL, dan LDL Serum Darah Tikus Jantan Galur Wistar*. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, 15 (1): 1-10.