

**EFEK KOMBINASI EKSTRAK AIR DAUN Physalis DENGAN
ALBUMIN TERHADAP KADAR TOTAL KOLESTEROL PADA
TIKUS PASCA OVARIEKTOMI**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Sarjana Kedokteran



Oleh:

Feronia Augustine Setiawan

NIM 165070107111015

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

MALANG

2018

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK KOMBINASI EKSTRAK AIR DAUN *Physalis* DENGAN ALBUMIN TERHADAP KADAR TOTAL KOLESTEROL PADA TIKUS PASCA OVARIEKTOMI

Oleh :
Feronia Augustine Setiawan
NIM. 165070107111015

Telah diuji pada
Hari : Selasa
Tanggal : 22 Oktober 2019
Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I



dr. Muhammad Saim Rohman, Sp.JP (K), Ph.D
NIP. 2012018608162001

Pembimbing I/Penguji II,



Dr. drg. Nur Permatasari, MS
NIP. 196010051991032001

Pembimbing II/Penguji III,



Dr. dr. Setyawati Soeharto, MKes
NIP. 19521027198103200

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)
NIP. 196310221996012

ABSTRAK

Setiawan, Feronia Augustine. 2019. **EFEK KOMBINASI EKSTRAK AIR DAUN
PHYSALIS DENGAN ALBUMIN TERHADAP KADAR TOTAL
KOLESTEROL SERUM PADA TIKUS PASCA OVARIEKTOMI.**

Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran
Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. drg. Nur Permatasari, MS
(2) Dr.dr. Setyawati Soeharto, MKes

Menopause adalah terhentinya siklus menstruasi selama 12 siklus berturut-turut. Salah satu gejala *postmenopausal syndrome* adalah peningkatan total kolesterol. Sejauh ini, telah ditemukan *Hormon Replacement Therapy* (HRT) untuk mengatasi gejala *postmenopausal syndrome*, tetapi terapi tersebut meningkatkan resiko kanker payudara dan endometrium. Maka, dewasa ini mulai dikembangkan terapi fitoestrogen, yaitu senyawa non steroid dari tanaman yang memiliki mekanisme kerja menyerupai estrogen. Salah satu tanaman yang mengandung fitoestrogen adalah *Physalis*. Selain itu, wanita menopause juga mengalami penurunan kadar albumin serum, sehingga penelitian ini menggunakan kombinasi ekstrak air daun *Physalis* dengan albumin berbagai dosis dalam menurunkan kadar total kolesterol tikus yang diovariektomi. Tikus yang diovariektomi diberikan kombinasi *Physalis* dan albumin berbagai dosis kemudian diukur kadar total kolesterolnya setelah 9 minggu. Hasil penelitian dianalisis dengan *One-Way ANOVA* dan korelasi Pearson. Hasil uji *One-Way ANOVA* menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara kadar total kolesterol tikus normal dan tikus yang diovariektomi. Begitu juga dengan tikus yang diovariektomi dan tikus yang diberi kombinasi *Physalis* dan albumin maupun *Physalis* saja. Hasil uji korelasi Pearson menunjukkan korelasi negatif yang sangat lemah antara dosis albumin dengan kadar total kolesterol tikus. Sehingga dapat disimpulkan dari penelitian ini bahwa, pemberian ekstrak air daun *Physalis* dengan kombinasi albumin berbagai dosis tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar total kolesterol tikus.

Kata kunci: *Postmenopausal syndrome*, total kolesterol, fitoestrogen, *Physalis*, albumin

ABSTRACT

Setiawan, Feronia Augustine. 2019. **THE EFFECT OF PHYSALIS LEAF EXTRACT AND ALBUMIN COMBINATION TOWARDS SERUM CHOLESTEROL IN OVARIECTOMIZED RATS.** Final Project, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1)_Dr. drg. Nur Permatasari, MS (2) Dr.dr. Setyawati Soeharto, MKes

Menopause occurs when menstrual cycle stops for 12 months in a row. One of the symptoms of postmenopausal syndrome is the rise of cholesterol. Current management for postmenopausal syndrome is Hormone Replacement Therapy (HRT). However, HRT increases the risk of breast and endometrial cancer. Nowadays, studies have discovered phytoestrogen, which is a non steroidal compound with mechanism of action similar to estrogen. Phytoestrogen can be found on Physalis. In addition, postmenopausal women experience a decrease in serum albumin level. Therefore, this study uses the combination of Physalis leaf extract and albumin to lower cholesterol level in ovariectomized rats. After ovariectomy, rats were treated with the combination of extract and albumin Physalis. Rats were euthanaized after 9 weeks, then cholesterol level were measured. Result were analyzed with One-Way ANOVA and Pearson correlation test. One-Way ANOVA result shows no significant difference between cholesterol level in normal rats and ovariectomized rats. There is no significant difference between cholesterol level in ovariectomized rats and rats which were treated with combination of Physalis and albumin. Pearson correlation test shows very weak negative correlation between albumin dosage and cholesterol level in rats. In conclusion, the combination of albumin with Physalis leaf extract only cause insignificant effect to cholesterol level in rats.

Keyword: Postmenopausal syndrome, cholesterol level, phytoestrogen, *Physalis*, albumin



DAFTAR ISI

Halaman

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak	vii
Abstract	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Lampiran.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Menopause	6
2.1.1 Estrogen.....	7
2.1.1.1 Pengaruh Estrogen pada Metabolisme Lipid.....	7
2.1.1.2 Pengaruh Estrogen terhadap <i>Post Menopausal Syndrome</i>	8
2.1.2 Kolesterol	9
2.1.2.1 Sintesis Kolesterol.....	10
2.1.2.2 Transpor Kolesterol.....	11
2.1.2.2.1 Transpor Kilomikron.....	12
2.1.2.2.2 Transpor VLDL dan LDL.....	13
2.1.2.2.3 Transpor HDL.....	13
2.1.2.2.4 Ekskresi Kolesterol.....	15
2.1.2.3 Peningkatan Total Kolesterol pada <i>Post-Menopausal Syndrome</i>	15
2.1.2.4 Hubungan Total Kolesterol dengan Estrogen.....	16
2.1.2.5 Dampak Peningkatan Total Kolesterol.....	17
2.1.3 Albumin.....	18

2.1.3.1 Hubungan Albumin dengan Estrogen.....	18
2.1.3.2 Hubungan Albumin dan Peningkatan Total Kolesterol.....	19
2.2 Terapi Hormon.....	19
2.3 Fitoestrogen.....	21
2.4 <i>Physalis angulata</i>	22
2.4.1 Taksonomi.....	22
2.4.2 Morfologi.....	22
2.4.3 Kandungan Kimia <i>Physalis Angulata</i>	23
2.4.3.1 Withanolides.....	24
2.4.4 Penggunaan di Masyarakat.....	25
2.4.5 Uji Keamanan.....	25
2.5 Tikus Wistar.....	25
2.5.1 Sistematika Tikus Wistar.....	26
2.5.2 Karakteristik Tikus Wistar.....	26
2.5.3 Hewan Coba Model Menopause.....	26
2.5.3.1 Siklus Reproduksi Tikus.....	26
2.5.3.2 Perbandingan Siklus Reproduksi Tikus dengan Manusia.....	27
2.5.3.3 Ovariektomi.....	28
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	29
3.1 Kerangka Konsep.....	29
3.2 Hipotesis.....	31
BAB IV METODE PENELITIAN	32
4.1 Rancangan Penelitian.....	32
4.2 Sampel Penelitian.....	32
4.2.1 Pemilihan Sampel.....	32
4.2.2 Estimasi Besar Sampel.....	32
4.3 Variabel Penelitian.....	33
4.3.1 Variabel Bebas.....	33
4.3.2 Variabel Tergantung/Terikat.....	33
4.4 Tempat dan Waktu Penelitian.....	33
4.5 Pembuatan Ekstrak Air Daun <i>Physalis angulata</i>	34
4.5.1 Alat Penelitian.....	34
4.5.1.1 Alat.....	34
4.5.1.2 Bahan.....	34
4.5.2 Pemeliharaan Tikus.....	34
4.5.2.1 Alat.....	34
4.5.2.2 Bahan.....	34
4.5.3 Ovariektomi Tikus.....	34
4.5.3.1 Alat.....	34
4.5.3.2 Bahan.....	34
4.5.4 Pemberian Perlakuan pada Tikus.....	35
4.5.4.1 Alat.....	35



4.5.4.2 Bahan.....	35
4.5.5 Pembedahan Tikus.....	35
4.5.5.1 Alat.....	35
4.5.5.2 Bahan.....	35
4.5.6 Sentrifugasi Serum Darah Tikus.....	35
4.5.6.1 Alat.....	35
4.5.6.2 Bahan.....	35
4.5.7 Analisis Kadar Total Kolesterol pada Serum Tikus.....	35
4.5.7.1 Alat.....	35
4.5.7.2 Bahan.....	35
4.6 Definisi Operasional.....	35
4.7 Prosedur Penelitian.....	37
4.7.1 Pembuatan Ekstrak Air Daun <i>Physalis</i> dan Penyediaan Albumin ...	37
4.7.2 Persiapan Hewan Coba	37
4.7.3 Penimbangan Tikus	38
4.7.4 Ovariectomi	38
4.7.5 Pemberian Kombinasi Ekstrak <i>Physalis</i> dan Albumin.....	38
4.7.6 Pemberian Ekstrak <i>Physalis</i>	39
4.7.7 Pembedahan Tikus	39
4.7.8 Pengukuran Kadar Total Kolesterol Tikus.....	39
4.8 Analisis Data	40
4.9 Alur Penelitian	41
4.10 Jadwal Pelaksanaan.....	42
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....	43
5.1 Hasil Penelitian.....	43
5.1.1 Hasil Pembuatan Ekstrak Air Daun <i>Physalis</i>	43
5.1.2 Hasil Penelitian.....	43
5.1.3 Pengukuran Kadar Total Kolesterol Serum Tikus.....	43
5.2 Analisis Data.....	44
5.2.1 Uji Normalitas Data dan Homogenitas	44
5.2.2 Uji <i>One-way ANOVA</i>	45
5.2.3 Uji Post Hoc LSD	46
5.2.4 Uji Korelasi Pearson.....	47
BAB VI PEMBAHASAN	48
6.1 Kadar total kolesterol Tikus <i>Rattus norvegicus</i> Strain Wistar pada kontrol negatif dan kontrol positif OVX5 dan OVX9.....	48
6.2 Kadar total kolesterol Tikus <i>Rattus norvegicus</i> Strain Wistar pada perlakuan C, D1, D, D3	50
6.3 Keterbatasan Penelitian.....	54
BAB VII PENUTUP	55
7.1 Kesimpulan.....	55

7.2 Saran.....	55
Daftar Pustaka.....	57
Lampiran.....	63



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menopause adalah terhentinya siklus menstruasi pada wanita yang menandakan akhir dari masa reproduktif, dimana fungsi ovarium telah berhenti.

Menurut Biro Pusat Statistik (2005), penduduk Indonesia pada tahun 2020 diproyeksikan mencapai 262.6 juta, dimana wanita menopause berjumlah sekitar 48.2 juta. Wanita menopause mengalami beberapa gejala karena perubahan hormonal, yang disebut *post menopausal syndrome* (Fatma et al., 2017). Gejala-gejala yang berkaitan dengan *post menopausal syndrome* yaitu; insomnia, osteoporosis, depresi, dyslipidemia, dan lain-lain (Dalal dan Agarwal, 2015).

Menurut Murano et al (2003), pada wanita menopause terjadi penurunan kadar estrogen, sehingga kadar total kolesterol dalam serum meningkat 10% dalam tahun pertama menopause (Murano et al., 2003). Menurut Jagtap et al (2017), penurunan kadar estrogen juga menyebabkan total protein dan kadar albumin pada serum menurun secara signifikan pada wanita menopause (Jagtap et al., 2017). Selain itu, pada penelitian Vaziri et al (2003), pada tikus *nephrotic syndrome* dan analbuminemia hereditas, terjadi peningkatan ekspresi HMG-CoA reductase, sehingga total kolesterol meningkat (Vaziri et al., 2003).

Keadaan hipoestrogen pada *post menopausal syndrome* dapat diatasi dengan *Hormone replacement therapy* (HRT). HRT dapat mencegah osteoporosis, dislipidemia, dan insomnia. Cara pemberian HRT adalah dengan menggunakan estrogen yang dikombinasikan dengan progesteron atau terapi dengan estrogen saja. Terapi estrogen dan progesteron dapat mencegah

hiperplasia endometrium atau kanker, sehingga terapi estrogen tunggal ditujukan kepada wanita yang telah mengalami prosedur histerektomi (The North American Menopause Study, 2017). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Ki *et al* (2015), kadar total kolesterol (TC) lebih rendah pada kelompok yang diterapi dengan HRT daripada kelompok yang tidak diterapi HRT (Ki *et al.*, 2015). Tetapi, HRT memiliki beberapa efek samping, yaitu peningkatan resiko kanker payudara dan kanker endometrium (Paterni *et al.*, 2015).

Melihat berbagai efek samping HRT, dewasa ini mulai dikembangkan alternatif terapi lain, yaitu dengan menggunakan fitoestrogen. Fitoestrogen adalah komponen polifenol non-steroid dengan aktivitas biologis menyerupai estrogen dan memiliki struktur yang mirip dengan 17β -estradiol. Menurut Cos *et al* (2014) konsumsi fitoestrogen dapat menghasilkan efek protektif terhadap kondisi yang berhubungan dengan estrogen, seperti *menopausal symptoms*, kanker payudara, kanker prostat, osteoporosis, dan penyakit kardiovaskular (Cos *et al.*, 2014).

Fitoestrogen dapat ditemukan pada tanaman genus *Physalis*. *Physalis* (Family: *Solanaceae*) telah dimanfaatkan sebagai antispasmodik, diuretik, antiseptik, sedatif, dan analgesik di seluruh dunia (Perk *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil penelitian Permatasari (2009), ekstrak *Physalis minima* dapat menstimulasi *nuclear colocalization endothelial Nitric Oxide* dalam mekanisme vasodilatasi pada kultur *human umbilical vein endothelial cells* (HUVECs). Pada kondisi pre-menopause, mekanisme ini distimulasi oleh estrogen yang berikatan dengan reseptor estrogen (Permatasari *et al.*, 2009). Menurut penelitian Lestari (2016), daun *Physalis* mengandung fitoestrogen *withanolides*, yang menurunkan *ventricular fibrosis* dengan menghinhinbi TNF α pada tikus yang diovarektomi.

Pada kondisi pre-menopause, mekanisme ini dilaksanakan oleh estrogen yang memiliki sifat anti-inflamasi dengan menghambat transkripsi sitokin pro-inflamasi (Lestari *et al.*, 2016). Oleh karena itu, ekstrak *P.minima* diduga memiliki mekanisme kerja yang mirip dengan 17 β -estradiol, sehingga dapat diusulkan menjadi sumber fitoestrogen baru.

Selain itu, fitoestrogen *Physalis* aman untuk dikonsumsi karena tidak menimbulkan kerusakan genetik, hepatic, renal, dan hematologi (Perk *et al.*, 2013). Pada studi toksisitas akut oleh Arun dan Asha (2007), tidak ditemukan gejala toksisitas klinis dan mikroskopis yang signifikan pada tikus wistar jantan diberikan ekstrak air daun *Physalis* 1250 mg/kg per oral. (Arun dan Asha, 2007). Menurut Perk *et al* (2013), LD50 ekstrak buah *Physalis* peruviana adalah 5000mg/kg (Perk *et al.*, 2013).

Selain peningkatan kadar total kolesterol plasma, kondisi hipoestrogen juga menyebabkan penurunan kadar albumin plasma. Selain itu, menurut Bairagi *et al* (2015) albumin dapat meningkatkan waktu paruh dan *bioavailability* molekul obat (Bairagi *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian di atas maka, kombinasi albumin diharapkan dapat meningkatkan efek *Physalis* dalam menurunkan total kolesterol sekaligus memberikan koreksi hipoalbuminemia pada *postmenopausal syndrome*. Sejalan ini, belum ada penelitian yang menguji efek kombinasi albumin dan ekstrak *Physalis* terhadap kadar total kolesterol pada *postmenopausal syndrome*, sehingga hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai terapi alternatif untuk *postmenopausal syndrome*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak air daun *Physalis* dengan kombinasi albumin dapat menurunkan kadar total kolesterol pada tikus pasca ovariektomi?

1.2.1 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek kombinasi albumin dengan ekstrak air daun *Physalis* dalam menurunkan kadar total kolesterol pada tikus pasca ovariektomi.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Membandingkan kadar total kolesterol tikus yang tidak diovariektomi dengan kadar total kolesterol tikus pasca ovariektomi yang tidak diberikan terapi.
- b. Membandingkan kadar total kolesterol tikus pasca ovariektomi yang tidak diberikan terapi dengan tikus pasca ovariektomi yang diberikan ekstrak *Physalis* saja maupun kombinasi ekstrak *Physalis* dan albumin berbagai dosis.
- c. Membuktikan adanya hubungan kombinasi dosis albumin dan ekstrak *Physalis* terhadap penurunan kadar total kolesterol pada tikus pasca ovariektomi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

1. Hasil penelitian ini dapat menjadi sumber informasi ilmiah kebermanfaatan *Physalis* dalam menurunkan kadar total kolesterol pada *postmenopausal syndrome*.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber referensi bagi penelitian lain yang juga memanfaatkan *Physalis*.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penggunaan terapi herbal alternatif dengan harga yang terjangkau untuk menurunkan kadar total kolesterol pada *postmenopausal syndrome*.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Menopause

Menopause adalah proses fisiologis pada wanita yang mengalami penuaan, dimana menstruasi berhenti selama 12 bulan berturut-turut sehingga wanita tidak lagi fertil. Setiap tahun, 25 juta wanita di seluruh dunia diprediksi mengalami menopause. Selain itu, jumlah wanita yang mencapai usia 50 tahun meningkat dari 500 juta menjadi lebih dari 1 miliar pada tahun 2030. Menurut WHO, pada tahun 2025, jumlah wanita usia lanjut di Asia meningkat dari 107 juta menjadi 373 juta. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya angka harapan hidup dan gaya hidup postmenopause yang lebih aktif (Siregar, 2014). Sedangkan, menurut Biro Pusat Statistik (2005), penduduk Indonesia pada tahun 2020 diproyeksikan mencapai 262,6 juta, dimana wanita menopause berjumlah sekitar 48.2 juta (Biro Pusat Statistik, 2005).

Sebelum menopause, terdapat masa premenopause dan perimenopause. Masa premenopause adalah masa ketika wanita tidak mengalami gejala perimenopause dan menopause, masih dalam masa reproduktif, serta masih mengalami menstruasi. Masa perimenopause adalah masa transisi dari premenopause ke postmenopause, ditandai dengan mulainya siklus menstruasi yang tidak teratur, fluktuasi hormon reproduksi, dan insomnia. Menopause adalah periode menstruasi terakhir yang diikuti oleh amenorea selama 12 bulan. Masa postmenopause adalah periode setelah menstruasi terakhir (Dalal dan Agarwal, 2015). Hal ini disebabkan oleh deplesi folikel ovarium sehingga terjadi penurunan produksi estrogen dan progesteron. Kemudian penurunan hormon

tersebut akan mencetuskan *negative feedback* pada hipotalamus sehingga sekresi *follicle stimulating hormones* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH) meningkat (Kamrava, 2017).

Peningkatan hormon FSH dan LH serta penurunan kadar plasma estrogen menyebabkan kumpulan gejala setelah menopause yang disebut *post menopausal syndrome* (Kamrava, 2017). Gejala-gejala yang berkaitan dengan *postmenopausal syndrome* yaitu; perubahan *mood*, insomnia, osteoporosis, depresi, dislipidemia, dan lain-lain (Dalal et al., 2015).

2.1.1 Estrogen

Estrogen adalah hormon endokrin yang terutama diproduksi di ovarium. Selain ovarium, estrogen diproduksi di jaringan adiposa dan kulit (Nelson, 2001). Dalam plasma, estrogen diangkut oleh *sex-hormone binding globulin* (SHBG) dan albumin, kemudian melepaskan diri dan berdifusi melewati membran sel menuju jaringan. Jenis estrogen yang dominan ditemui pada manusia adalah 17β -estradiol (E2) (Palmisano et al., 2018).

2.1.1.1 Pengaruh Estrogen pada Metabolisme Lipid

Estrogen memberikan efek kardioprotektif bagi wanita premenopause dengan menjaga kadar *high density lipoprotein* (HDL) tetap tinggi dan menurunkan kadar *low-density lipoprotein cholesterol* (LDL), serta trigliserida (TG). (Tiwari et al., 2013)

Estrogen mempertahankan kadar HDL tetap tinggi dengan meningkatkan produksi apolipoprotein A-1 dan menghambat aktivitas enzim hepatic lipase (Swapnali et al., 2011). Apolipoprotein A-1 berperan dalam maturasi HDL dengan mengaktifkan LCAT, sedangkan enzim hepatic lipase berperan dalam katabolisme HDL (Murray et al., 2012).

2.1.1.2 Pengaruh Estrogen terhadap *Postmenopausal Syndrome*

Estrogen berperan dalam regulasi massa dan kekuatan tulang dengan mengontrol aktivitas osteoblas dan menghambat aktivitas osteoklas. Keadaan hipoestrogen pada wanita menopause dapat mengurangi densitas tulang dan menimbulkan ketidakseimbangan osteoklas dan osteoblas. Hal ini menyebabkan terjadinya *postmenopausal osteoporosis*. Dengan demikian, terapi estrogen pada wanita menopause diharapkan dapat memperbaiki massa dan kekuatan tulang (Horstman *et al.*, 2012).

Estrogen meningkatkan efek serotonin dan norepinefrin dengan cara menurunkan aktivitas monoamine oxidase (MAO) di sistem saraf pusat. Keadaan hipoestrogen pada wanita menopause mengakibatkan penurunan kadar hormon-hormon tersebut dan menimbulkan gejala depresi menopause (Dalal dan Agarwal, 2015). Dengan demikian, menurut Schneider (1977), pemberian estrogen pada wanita menopause diharapkan dapat mengatasi depresi postmenopause (Schneider, 1977).

Menurut Murphy dan Campbell (2007), terapi estrogen dapat memperbaiki kualitas tidur secara subjektif dan objektif (Murphy dan Campbell, 2007). Meskipun mekanismenya belum diketahui dengan jelas, penurunan kadar estrogen dan progesteron menyebabkan penurunan kadar melatonin dan *growth hormone* yang berpengaruh terhadap kualitas tidur (Dalal dan Agarwal, 2015).

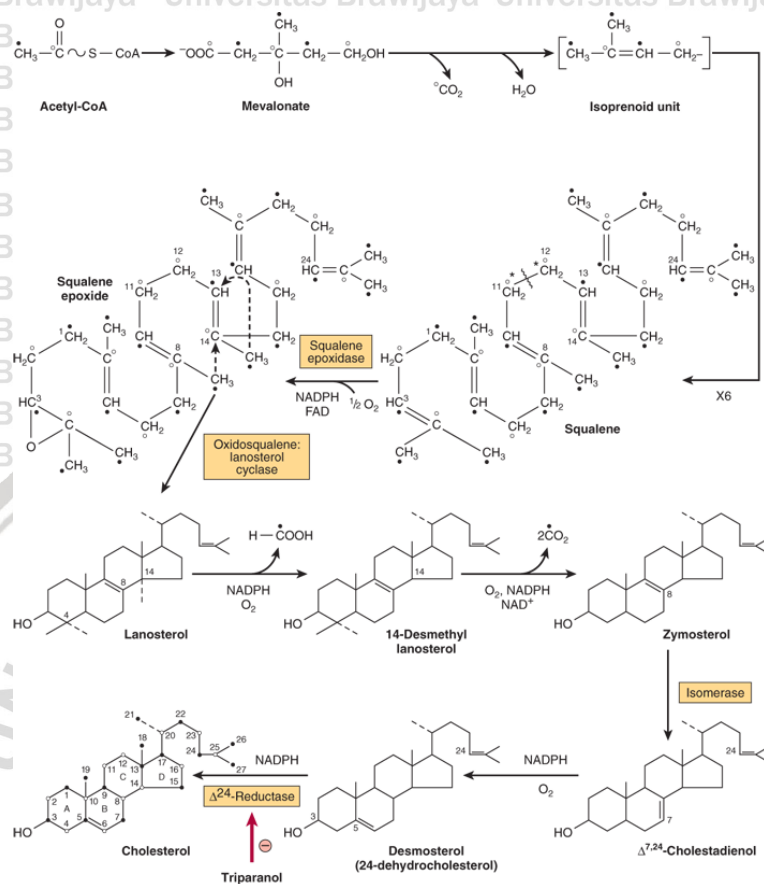
Estrogen sebagai agen kardioprotektif mempertahankan kadar HDL yang tinggi dan kadar LDL serta TG yang rendah. Pada wanita menopause, keadaan hipoestrogen menyebabkan dislipidemia, yaitu penurunan kadar HDL dan peningkatan LDL serta TG. Efek kardioprotektif estrogen hilang sehingga resiko penyakit kardiovaskular pada wanita postmenopause meningkat (Pardhe *et al.*,

2017). Dengan demikian, menurut Crespo *et al* (2002), terapi estrogen dapat memperbaiki profil lipid wanita postmenopause (Crespo *et al.*, 2002).

2.1.2 Kolesterol

Kolesterol adalah komponen karbon yang terdiri dari 4 cincin sterol yang ditemukan pada jaringan tubuh dan plasma. Kolesterol dibutuhkan untuk membangun struktur membran sel dan memodulasi membran sel agar tetap fleksibel dalam keadaan fisiologis tubuh yang berubah-ubah. Selain itu, kolesterol juga berperan dalam proses endositosis, pembentukan selubung myelin, dan prekursor vitamin D dan hormon steroid seperti aldosteron, kortisol, estrogen, dan progesteron. Pada plasma, kolesterol diangkut dalam bentuk lipoprotein. *Low density lipoprotein* (LDL) berfungsi untuk mengangkut kolesterol ke jaringan ekstrahepatik. *High density lipoprotein* (HDL) berfungsi untuk membawa kolesterol dari jaringan ekstrahepatik ke hepar. *Very low density lipoprotein* (VLDL) berfungsi untuk mengangkut triasilgliserol dari liver ke jaringan ekstrahepatik. Kilomikron berfungsi untuk mengangkut semua lipid dari makanan ke dalam sirkulasi. Kemudian, kolesterol dimetabolisme menjadi asam empedu (Murray *et al.*, 2012). Menurut persamaan Friedewald, $VLDL = TG/5$ dan $LDL = Total\ kolesterol - (HDL + LDL)$ (Knopfholz *et al.*, 2014).

2.1.2.1 Sintesis kolesterol



Gambar 2.1a Sintesis Kolesterol (Murray et al., 2012)

Kolesterol disintesis dari *acetyl-CoA* melalui suatu alur yang terdiri dari 5 langkah, yaitu sintesis *mevalonate* dari *acetyl-CoA*, pembentukan unit *isoprenoid* dari *mevalonate* dengan menghilangkan CO₂, kondensasi 6 unit *isoprenoid* membentuk *squalene*, pembentukan lanosterol, dan pembentukan kolesterol (Kumari, 2018).

Dua molekul *acetyl-CoA* berkondensasi membentuk *acetoacetyl-CoA*.

Proses ini dikatalisasi oleh *cytosolic thiolase*. *Acetoacetyl-CoA* berkondensasi dengan molekul *acetyl-CoA*. Proses ini dikatalisasi oleh *HMG-CoA synthase* untuk membentuk HMG-CoA. Kemudian HMG-CoA diubah menjadi *mevalonate* oleh NADPH dalam reaksi yang dikatalisasi oleh *HMG-CoA reductase*.

Mevalonate difosforilasi menggunakan ATP dengan tiga kinase. Setelah dekarboksilasi unit aktif *isoprenoid*, *isopentenyl diphosphate* terbentuk (Goldstein dan Brown, 1990).

Isopentenyl diphosphate diisomerasi sehingga membentuk *dimethylallyl diphosphate*, kemudian dikondensasi dengan molekul *isopentenyl diphosphate* lainnya untuk membentuk *10-carbon intermediate geranyl diphosphate*.

Kemudian dikondensasi lebih lanjut oleh *isopentenyl diphosphate* membentuk *farnesyl diphosphate*. Dua molekul *farnesyl diphosphate* dikondensasikan pada ujung *diphosphate* untuk membentuk *squalene* (Murray et al., 2012).

Squalene kemudian membentuk struktur yang mirip dengan nukleus steroid. Sebelum cincin menutup, *squalene* dikonversi menjadi *2,3-epoxide* dengan *mixed-function oxidase* di retikulum endoplasma. Gugus metil pada C14 dipindahkan ke C13 dan dari C8 menuju C14 saat terjadi siklisasi. Proses ini dikatalisasi oleh *oxidosqualene-lanosterol cyclase* (Kelly, 1999).

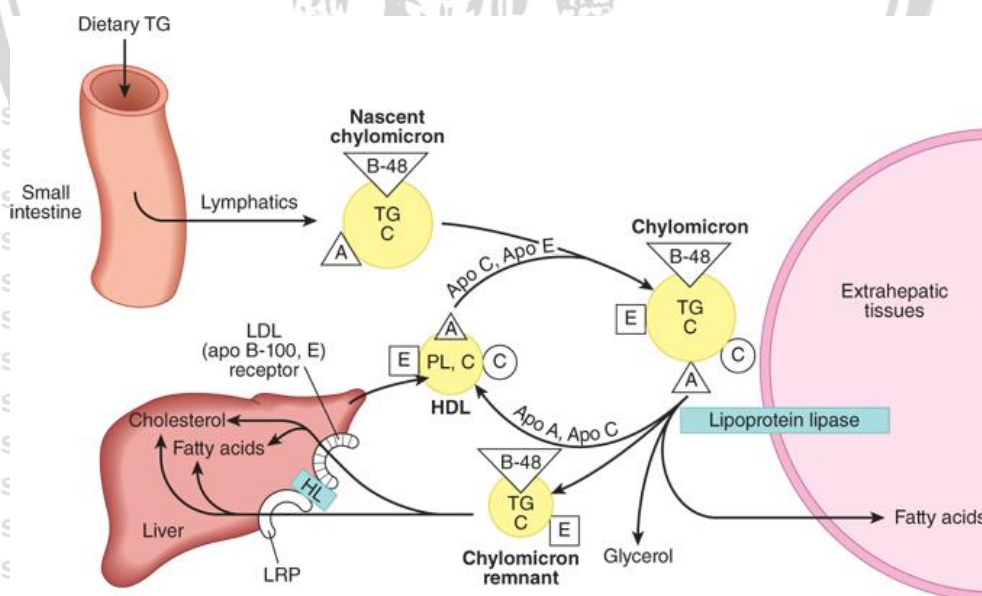
Pembentukan kolesterol dari lanosterol terjadi di membran retikulum endoplasma dan melibatkan perubahan nukleus steroid dan *side chain*. Gugus metil C14 dan C4 dihilangkan untuk membentuk *14-desmethyl lanosterol* yang kemudian menjadi *zymosterol*. Ikatan rangkap pada C8'C9 dipindahkan ke C5'C6 dalam dua langkah, membentuk *desmosterol*. Setelah itu, ikatan rangkap pada *side chain* dihilangkan sehingga membentuk kolesterol (Song et al., 2005).

2.1.2.2 Transpor kolesterol

Kolesterol dalam plasma diangkut dalam bentuk lipoprotein, sebagian besar dalam bentuk kolesterol ester. Pada manusia, proporsi terbesar ditemukan dalam bentuk LDL (Murray et al., 2012).

2.1.2.2.1 Transpor kilomikron

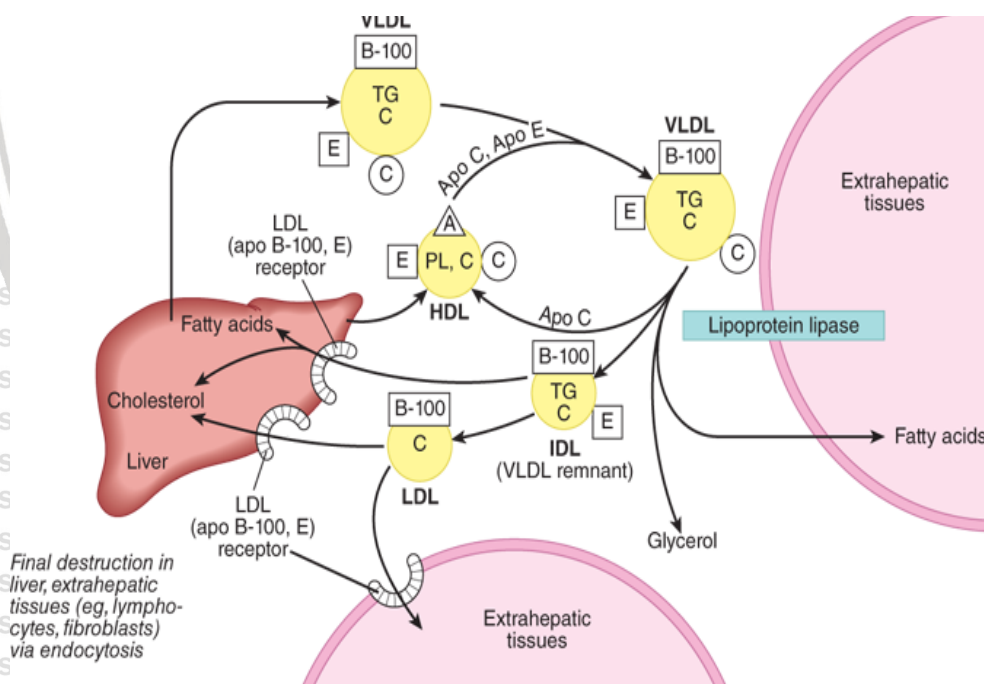
Triasilgliserol dari makanan memasuki usus halus kemudian diangkut ke sirkulasi oleh *Nascent chylomicron*. Kemudian, *nascent chylomicron* memperoleh Apolipoprotein C, Apolipoprotein E, dan fosfolipid dari HDL. Fosfolipid diperlukan sebagai kofaktor lipoprotein lipase yang akan menghidrolisis triasilgliserol. Setelah itu, hidrolisis menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol. Sebagian besar asam lemak dibawa ke jaringan, sementara itu, sebagian kecil asam lemak kembali ke sirkulasi. *Nascent chylomicron* kemudian menjadi *chylomicron remnant* karena kandungan triasilgliserol telah berkurang dan yang tersisa hanya kolesterol ester dan kolesterol. Setelah itu, *chylomicron remnant* diserap oleh hati melalui reseptor LDL (apo B-100,E) dan *LDL receptor related protein* (LRP). Sisa-sisa triasilgliserol dan fosfolipid dihidrolisis oleh hepatic lipase menjadi asam lemak dan gliserol (Cooper, 1997).



Gambar 2.1b Transpor Kilomikron (Murray et al., 2012)

2.1.2.2.2 Transpor VLDL dan LDL

Asam lemak bebas diangkut dari hati dalam bentuk VLDL. Sintesis VLDL berlangsung di retikulum endoplasma yang dibantu oleh *microsomal triacylglycerol transfer protein* (MTP). MTP memasukkan triasilgliserol ke dalam retikulum endoplasma sehingga dapat bergabung dengan kolesterol, fosfolipid, dan apo B-100. Transpor VLDL mirip dengan kilomikron, perbedaannya VLDL mengandung apo B-100. VLDL dapat dimetabolisme menjadi IDL lalu diserap oleh liver secara langsung melalui reseptor LDL (apo B-100 dan apo E) atau diubah menjadi LDL. Selanjutnya, LDL diserap oleh hati atau jaringan ekstrahepatik melalui reseptor LDL (apo B-100 dan apo E) (Olson, 1998).

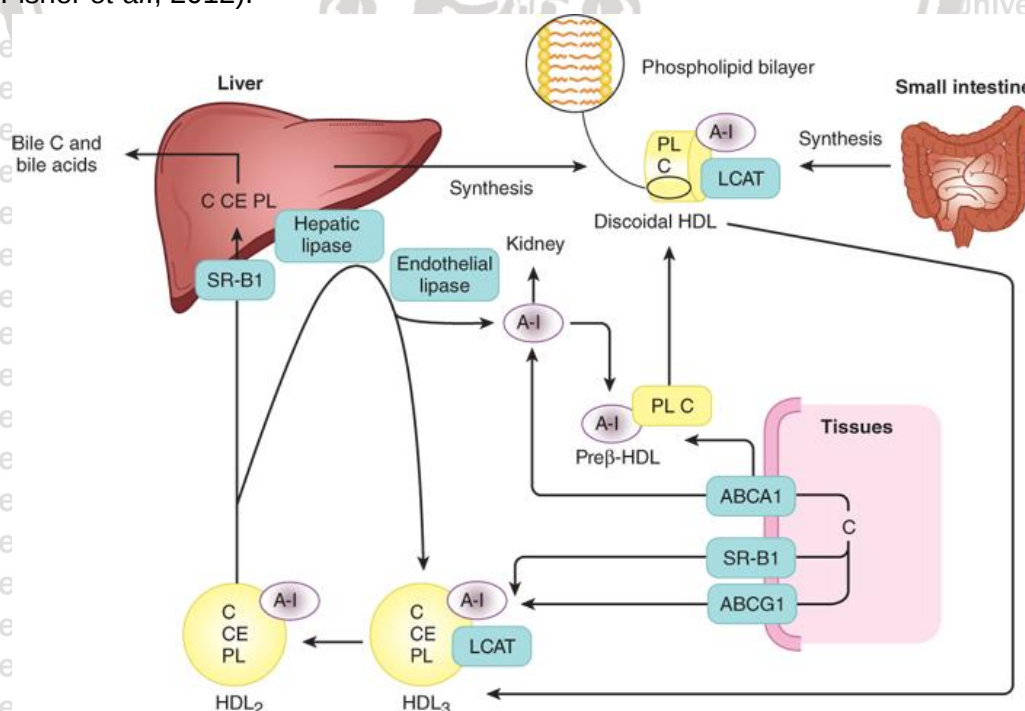


Gambar 2.1c Transpor VLDL dan LDL (Murray *et al.*, 2012)

2.1.2.2.3 Transpor HDL

Nascent HDL diproduksi oleh liver dan usus halus. Nascent HDL terdiri dari fosfolipid yang mengandung apo A-1 dan kolesterol bebas. Apo A-1

kemudian diaktifkan oleh LCAT dan berikatan dengan *nascent* HDL. Setelah itu, *nascent* HDL mengkonversi kolesterol bebas menjadi kolesterol ester. *Nascent* HDL yang telah mengalami proses ini disebut HDL₃. HDL₃ menerima kolesterol bebas dari jaringan melalui SR-B1 (*class B scavenger receptor B1*) dan ABCG1 (*ATP-binding cassette transporter G1*). Kemudian kolesterol bebas dikonversi oleh LCAT menjadi kolesterol ester. Hal ini menyebabkan ukuran partikel meningkat sehingga terbentuk HDL₂ yang kurang padat. HDL₂ dapat kembali menjadi HDL₃ dengan siklus HDL, yaitu pengiriman kolesterol ester ke liver melalui SR-B1 atau hidrolisis triasilgliserol dan fosfolipid oleh hepatic lipase. Proses ini menghasilkan apo A-1 bebas. Apo A-1 ini akan bergabung dengan fosfolipid dan kolesterol bebas untuk membentuk pra HDL β . Kemudian kolesterol bebas dari jaringan ditambahkan ke pra HDL β oleh ABCA1 (*ATP-binding cassette transporter A1*) dan dengan demikian pra HDL β menjadi *nascent* HDL (Fisher et al., 2012).



Gambar 2.1d Transpor HDL (Murray et al., 2012)

2.1.2.2.4 Ekskresi kolesterol

Kolesterol diekskresikan dari tubuh melalui empedu, baik dalam bentuk yang belum diesterifikasi ataupun yang sudah dikonversi menjadi asam empedu di liver. Kolesterol dihidroksilasi oleh *7 α -hydroxylase* menjadi *7 α -hydroxycholesterol*. Kemudian *7 α -hydroxycholesterol* melalui 2 jalur, yaitu jalur yang menghasilkan *cheryl-CoA* dan jalur yang menghasilkan *chenodeoxycheryl-CoA*. Kedua jalur ini dihidroksilasi oleh *cytochrome P450 sterol 27-hydroxylase* (CYP27A1). Asam empedu primer memasuki kantong empedu sebagai konjugat *glycine* atau *taurine*. Konjugasi terjadi di peroksisom liver. Asam empedu primer kemudian dimetabolisme di usus oleh bakteri usus. Lalu, terjadi dekonjugasi oleh *7 α dehydroxylation* yang menghasilkan asam empedu sekunder, *deoxycholic acid*, dan *lithocholic acid* (Norlin dan Wikvall, 2007).

2.1.2.3 Peningkatan Total Kolesterol pada *Post Menopausal Syndrome*

Pada penelitian Tiwari *et al* (2018), ditemukan peningkatan kadar total kolesterol pada wanita postmenopause jika dibandingkan dengan wanita premenopause. Rata-rata kadar total kolesterol pada kelompok wanita premenopause adalah 172.83 ± 26.49 mg/dl, sedangkan pada kelompok wanita postmenopause, kadar total kolesterol mencapai 199.16 ± 20.86 mg/dl, dan peningkatan ini signifikan secara statistik ($p < 0.05$). Pada wanita postmenopause, akibat penurunan kadar estrogen, konsentrasi semua lipoprotein aterogenik meningkat, sehingga kadar total kolesterol juga meningkat (Tiwari *et al.*, 2018).

Pada kelompok wanita premenopause, rata-rata kadar HDL lebih tinggi secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok wanita postmenopause ($p < 0.05$) karena pada wanita premenopause, estrogen menyebabkan penurunan

aktivitas *hepatic lipase* yang mengkatabolisme HDL dan peningkatan aktivitas apolipoprotein – A1 (Tiwari *et al.*, 2018).

Pada premenopause, estrogen menstimulasi sintesis reseptor LDL sehingga terjadi peningkatan klirens partikel LDL oleh hepatosit. Selain itu, sebelum menopause, korteks adrenal dan kelenjar gonad menggunakan LDL sebagai prekursor hormon seks steroid. Penggunaan LDL ini menurun setelah menopause sehingga kadar LDL meningkat (Tiwari *et al.*, 2018). Sehingga dapat disimpulkan, kadar VLDL dan LDL juga meningkat dengan signifikan pada kelompok postmenopause jika dibandingkan dengan kelompok premenopause ($p < 0.05$).

2.1.2.4 Hubungan Total Kolesterol dengan Estrogen

Estrogen (E2) berikatan dengan ER α dan ER β . ER α dan ER β memiliki domain *Activation Function 1* (AF1), *ligan binding domain*, *DNA binding domain*, *Activation Function 2* (AF2). Ketika tidak berikatan dengan ligan, ER α dan ER β berikatan dengan *Heat Shock Protein 90* (Hsp90) di sitosol, menjadi bentuk inaktif. Ketika estrogen berikatan dengan ER α atau ER β , terjadi perubahan bentuk sehingga ER α dan ER β terdisosiasi dari Hsp90 dan mengalami dimerisasi serta translokasi ke nukleus. Di nukleus, ER α dan ER β berikatan dengan lokus gen sesuai dengan *DNA binding domain*-nya. Seluruh proses di atas disebut *Estrogen Response Elements* (EREs), yang memiliki karakteristik sebuah pengulangan terbalik yang dipisahkan oleh tiga nukleotida (5'AGGTCAnnn.TGACCT 3'). EREs ini umumnya ditemukan di bagian promotor atau *enhancer* pada gen liver, yang transkripsinya diatur oleh estrogen (Palmisano *et al.*, 2017). EREs dapat berikatan dengan *Peroxisome proliferator-activated receptors* (PPAR). Salah satu jenis PPAR, yaitu PPAR α memicu up-

regulation apolipoprotein A-1 dan apolipoprotein A-2, sehingga terjadi peningkatan kadar HDL dan peningkatan ekspresi gen yang berkaitan dengan metabolisme trigliserida (Robinson *et al.*, 2017).

Estrogen (E2) yang berkaitan dengan ER α memicu *Liver X receptor* (LXR) berkaitan dengan gen yang berhubungan dengan homeostasis kolesterol dan menginduksi transkripsinya. LXR meregulasi ekspresi ABCA1 dan meningkatkan *reverse cholesterol transport* (Robinson *et al.*, 2017). Tetapi, ABCA1 tidak berinteraksi secara langsung dengan *mature* HDL. Dua anggota dari subfamili ABC, yaitu ABCG1 dan ABCG4 adalah mediator efluks kolesterol dari sel ke HDL. ABCG1 diekspresikan terutama pada makrofag dan aktivitasnya memegang peran penting dalam hubungan antara kadar HDL dan resiko aterosklerosis (Fievet dan Staels, 2009).

Pada penelitian Muzzio *et al* (2007), ditemukan aktivitas *hepatic lipase* yang tinggi pada wanita postmenopause. Peningkatan *hepatic lipase* mengakibatkan peningkatan hidrolisis TG menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Sejauh ini mekanismenya belum diketahui (Muzzio *et al.*, 2007).

2.1.2.5 Dampak Peningkatan Total Kolesterol

Peningkatan kadar total kolesterol (> 5.2 mmol/L) dapat menyebabkan aterosklerosis, yaitu deposisi kolesterol dan kolesterol ester dari lipoprotein pada dinding arteri. Aterosklerosis adalah penyebab utama penyakit kardiovaskular.

Penyakit-penyakit dimana terdapat peningkatan kadar VLDL, IDL, *chylomicron remnant*, atau LDL dalam darah (seperti diabetes melitus, *lipid nephrosis*, *hypothyroidism*, dan kondisi hiperlipidemia lainnya) umumnya disertai oleh aterosklerosis prematur atau aterosklerosis yang parah. Kerentanan seorang individu terhadap aterosklerosis berbeda-beda pada setiap spesies. Pada

manusia, aterosklerosis dapat diinduksi dengan diet kaya kolesterol (Murray *et al.*, 2012).

2.1.3 Albumin

Albumin adalah protein globular yang larut dalam air dan dapat terdenaturasi oleh panas. Bentuk yang paling sering ditemukan adalah serum albumin yang dapat dijumpai pada plasma darah (Murray *et al.*, 2012). Albumin adalah protein terbanyak dalam darah yang mengikat steroid dan molekul lipofilik lainnya secara nonspesifik. Konsentrasi albumin pada plasma darah relatif konstan dan 1000 kali lebih tinggi daripada *steroid-binding protein* lainnya. Tetapi, afinitas albumin terhadap steroid 3-4 kali lebih rendah daripada SHBG, yang konsentrasi plasmanya lebih fluktuatif (Dunn *et al.*, 1981). Selain itu, menurut Bairagi *et al* (2015) albumin dapat meningkatkan waktu paruh dan *bioavailability* molekul obat yang kecil (Bairagi *et al.*, 2015).

2.1.3.1 Hubungan albumin dengan estrogen

Penelitian Gallagher *et al* (1999) membuktikan, pada tikus ovariectomi yang diberikan terapi estrogen, ditemukan penurunan transkripsi mRNA *angiotensin converting enzyme* (ACE), sehingga menyebabkan *down-regulation* translasi ACE dan konversi angiotensin I ke angiotensin II, kemudian menurunkan tekanan eferen arteriolar. Hal ini menurunkan tekanan intraglomerular dan kadar albuminuria. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa estrogen dapat memodulasi sistem renin-angiotensin-aldosteron, sehingga menurunkan kadar albuminuria. Sedangkan, pada kondisi postmenopause, terjadi defisiensi estrogen, sehingga meningkatkan albuminuria dan menciptakan keadaan hipoalbuminemia. (Gallagher *et al.*, 1999).

2.1.3.2 Hubungan Albumin dan Peningkatan Total Kolesterol

Penelitian Vaziri (2003) membuktikan pada tikus dengan *nephrotic syndrome* dan tikus dengan analbuminemia hereditas terjadi *up regulation* ekspresi HMG-CoA *reductase* yang signifikan. Seperti yang telah dijelaskan di atas, HMG-CoA *reductase* berperan dalam sintesis kolesterol. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa keadaan hipoalbuminemia menyebabkan *up-regulation* ekspresi HMG-CoA *reductase*, sehingga menyebabkan peningkatan kadar total kolesterol yang diangkut oleh VLDL dan LDL (Vaziri, 2003).

2.2 Terapi Hormon

Hormone replacement therapy (HRT) dimanfaatkan oleh wanita menopause untuk meredakan gejala vasomotor terkait menopause dan mencegah osteoporosis, dislipidemia, serta insomnia. Estrogen juga mempengaruhi tonus vaskular, peredaran darah, dan metabolisme lipid (The North American Menopause Study, 2017). Penggunaan progesteron bersamaan dengan estrogen dipopulerkan pada pertengahan 1975 untuk mencegah resiko terjadinya karsinoma endometrium pada terapi tunggal estrogen. Progesteron yang digunakan adalah *medroxyprogesterone acetate* (MPA) dan *norethindrone* (NE). Pada wanita pasca histerektomi, terapi dengan progesteron tidak lagi diperlukan (Kamrava *et al*, 2017).

Percobaan terapi *postmenopausal estrogen/progestin intervention* (PEPI) menunjukkan bahwa HRT meningkatkan HDL dan menurunkan LDL. Penelitian yang dilakukan Crespo *et al* (2002) mengamati hubungan HRT estrogen dengan glukosa puasa dan profil lipid pada wanita postmenopause penderita diabetes dan non diabetes. Pada wanita penderita diabetes yang menjalani HRT, kadar total kolesterol lebih rendah (225 mg/ dL) daripada wanita yang tidak pernah atau

tidak lagi melanjutkan HRT (240 mg/dL). Sementara itu, perbedaan kadar HDL diantara kedua kelompok tersebut tidak terlalu signifikan. Pada wanita non diabetes, kadar HDL lebih tinggi pada kelompok yang menjalani HRT daripada kelompok yang tidak pernah atau tidak lagi melanjutkan HRT (Crespo *et al.*, 2002).

Penelitian yang dilakukan Kika *et al* (2009) mendemonstrasikan bahwa kadar HDL meningkat dengan signifikan dalam 12 bulan setelah memulai HRT, sedangkan kadar TC dan LDL menurun dalam 3 bulan setelah memulai HRT, selain itu, kadar TG meningkat dalam 3 bulan setelah memulai HRT. Kadar serum TG menurun setelah bulan ke-6 terapi, ($p < 0.05$), tetapi kadar TC menurun sementara pada bulan ke-3 terapi. ($p < 0.05$), sedangkan kadar HDL meningkat ($p < 0.05$ pada bulan ke-12), kadar LDL menurun ($p < 0.05$ pada bulan ke-3) (Kika *et al.*, 2009).

Menurut Ki *et al* (2013), HDL meningkat lebih pesat pada terapi estrogen tunggal daripada terapi lain yang mungkin disebabkan oleh efek androgenik progesteron. Kombinasi estrogen dan *medroxyprogesterone* menurunkan kadar LDL dan TG dengan signifikan (Ki *et al.*, 2013).

Terapi HRT ini memiliki beberapa efek samping. Aktivasi ER α oleh estrogen dapat meningkatkan proliferasi sel, sedangkan ER β memiliki efek antiproliferatif. Secara teori, pasien kanker payudara seharusnya dapat merespon terapi ER α -antagonist dan ER β -agonist. Tetapi, pada kenyataannya respon pasien bergantung pada tingkat ekspresi kedua reseptor tersebut pada jaringan kanker dan stadium neoplasia. Sebagai contoh, *ductal breast cancer* yang sangat proliferasif menunjukkan ekspresi ER α yang tinggi dan ekspresi ER β yang rendah saat stadium awal. Pada *high-grade invasive ductal cancer*

ekspresi kedua reseptor hilang. Sementara itu, *early-stage lobular breast cancer* menunjukkan ekspresi ER α and ER β yang tinggi, dimana stadium lebih lanjut menunjukkan ekspresi ER α saja dan ekspresi ER β menghilang (Paterni et al., 2014).

2.3 Fitoestrogen

Fitoestrogen adalah komponen polifenol-non steroid dari tanaman dengan aktivitas yang menyerupai 17 β -estradiol. Berdasarkan struktur kimianya, fitoestrogen diklasifikasikan menjadi 4 kelompok, yaitu isoflavonoid (daidzein, genistein, biochanin a, formononetin, coumestan), flavonoid (flavon, flavanone, chalcon), stilbene (resveratrol) dan lignan (enterolactone, enterodiol) (Cos et al., 2003).

Konsumsi fitoestrogen diketahui memiliki efek protektif terhadap beberapa penyakit terkait estrogen, seperti *postmenopausal syndrome*, kanker payudara, dan penyakit kardiovaskular (Cos et al., 2003). Fitoestrogen isoflavonoid seperti genistein, daidzein, dan equol memiliki *binding affinity* yang lebih kuat terhadap ER β . Sedangkan, coumestrol adalah isoflavonoid dengan *binding affinity* yang terkuat, hampir sekuat 17 β -estradiol dalam berikatan dengan ER α dan ER β . Sejumlah penelitian *double blind clinical trial* membuktikan bahwa konsumsi protein kacang kedelai dapat menurunkan kadar LDL dan total kolesterol (Gardner et al., 2001; Crouse et al., 1999; Teede et al., 2001; Glazier et al., 2001). Isoflavonoid pada protein kacang kedelai menurunkan kadar LDL dengan memicu *up-regulation* aktivitas reseptor LDL (Cos et al., 2003).

2.4 *Physalis angulata*

2.4.1 Taksonomi

Kingdom: Plantae

Divisi: Tracheophyta

Subdivisi: Spermatophytina

Kelas: Magnoliopsida

Famili: Solanaceae

Genus: *Physalis*

Spesies: *Physalis angulata*



Gambar 2.4 Daun *Physalis angulata* (Lim, 2013)

2.4.2 Morfologi

Physalis angulata adalah tanaman semusim dengan tinggi 10 - 100 cm.

Batangnya berongga, berwarna hijau dan berbentuk persegi empat. Daunnya sedikit berambut, berbentuk bulat telur dengan tulang daun menyirip dan tepi bergerigi. Tangkai daun sepanjang 0.5-4.0 cm dan sedikit berambut. Tangkai bunganya sepanjang 1,3 cm, berwarna coklat kehijauan, dan tidak berambut.

Bunganya memiliki putik dan benang sari, berbentuk bintang, *hypogynous*. Daun

kelopak berjumlah 5, daun-daun kelopak berlekatan, kelopak bunga sepanjang 0,4 cm, berwarna hijau keunguan, tepi sedikit berambut. Kelopak buah sepanjang 3 cm, berwarna hijau dengan tulang daun berwarna ungu, permukaannya halus. Mahkota bunga berjumlah 5, *gamopetalous*, berwarna kuning pucat, permukaan bagian dalamnya bisa disertai noda kecoklatan maupun tidak, sedikit berambut. kepala sari berjumlah 5, *epipetalous*, tegak, dan berbentuk oval, Tangkai sari sepanjang 0,4 cm, berwarna hijau muda, permukaannya halus, Kepala sari memiliki 2 sel, berwarna biru pucat. Putik berjumlah 2, *syncarpous*, bertangkai 1 sepanjang 0,5 cm, berwarna pucat, permukaannya halus, berwarna hijau muda. Buah berbentuk bulat, dilingkupi oleh kelopak buah. Biji berjumlah banyak dan berwarna coklat. Tanaman ini berbunga dan berbuah sepanjang tahun (Sultana *et al.*, 2008).

2.4.3 Kandungan kimia *Physalis angulata*

Physalis memiliki beberapa kandungan kimia yaitu, physalin (*Physalis* B, D, G, E, D, I, U, dan *Physalis* W) *withanolides* (*Withangulatin* A, B, I, *physagulin* A, B, C, D, H, I, J, dan *Physanolide* A), karotenoid, *Myricetin* 3-O-*neohesperidoside*, dan *oleanoic acid* (Rengifo, 2013). Penelitian Permatasari *et al* (2010) berhasil membuktikan efek estrogenik *Physalis*. Penelitian dilakukan dengan HUVEC yang diberikan terapi ekstrak *Physalis minima* (0,05%), 17β -*estradiol* /E2 (10^{-7} M) dan physalin (10%). Hasil penelitian menunjukkan pada stimulasi estrogen, eNOS dan ER ter-*colocalized* di nukleus. Efek biologis 17β -*estradiol* (E2) dimediasi oleh ER. Pada sel endotel, ER terlokalisasi di *caveolae* dan mengaktivasi eNOS yang membuat produksi NO mengalami *up-regulation* melalui fosforilasi eNOS yang diperantarai oleh protein kinase. eNOS yang telah diaktivasi mengubah lokalisasi subselularnya dari retikulum endoplasma ke

membran sel. Akhir-akhir ini, eNOS juga terdeteksi di nukleus dan ber-*colocalized* dengan ER. Pada penelitian ini, ekstrak *P.minima* juga dapat menstimulasi *colocalization* eNOS dan ER pada nukleus. Kesimpulannya, ekstrak *P. Minima* memiliki mekanisme yang sama dengan estrogen, sehingga *P. minima* dapat diklasifikasikan sebagai sumber fitoestrogen baru. Sementara itu, *physalin* tidak dapat menginduksi translokasi eNOS di nukleus. Hal ini menunjukkan bahwa *physalin* bukan substansi aktif dari ekstrak *P.minima* yang memiliki efek estrogenik (Permatasari, 2009).

2.4.3.1 Withanolides

Withanolides adalah komponen steroid dengan rangka ergosterol dimana C-22 dan C-26 teroksidasi untuk membentuk α -lactone. *Withanolides* telah diteliti sebagai potensi agen anti-bakteri, antileishmania, anti-trypanosoma, anti-inflamasi, anti-tumor, anti-ulkus, anti-stress, sitotoksik, imunosupresif, imunomodulator, dan penginduksi aktivitas *quinone reductase* dan proteksi terhadap hepatotoksitas akibat CCl₄ (Damu, 2007).

Penelitian yang dilakukan Machin *et al* (2010) mengamati efek antiproliferatif 22 jenis withanolides terhadap sel kanker payudara manusia. Sel-sel tersebut terbagi menjadi kelompok sel yang mengandung ER, dan yang tidak mengandung ER. Mayoritas jenis withanolides dapat menginduksi inhibisi pertumbuhan pada semua sel kanker tersebut. Tetapi, withanolides jenis ke-19 menunjukkan aktivitas spesifik pada sel yang mengandung ER. Hal ini terjadi karena *withanolides* jenis ke-19 mengandung cincin aromatik (Machin *et al.*, 2010).

Penelitian Lestari *et al* (2016) membuktikan ekstrak *Physalis minima* yang mengandung *physalin* dan *withanolides* dapat menginhibisi TNF- α pada

tikus model *ventricular fibrosis* yang diovariectomi. Estrogen memiliki potensi anti-inflamasi melalui *down-regulation* beberapa sitokin pro-inflamasi seperti TNF α . Terapi dengan ekstrak metanol daun *P. minima* menurunkan kadar TNF α secara signifikan dan mencapai kadar normal pada dosis terapi tertinggi (2500 mg/kgBB). Kesimpulannya, *withanolides* dapat bekerja menyerupai estrogen sehingga menghambat TNF- α (Lestari *et al.*, 2016).

2.4.4 Penggunaan di Masyarakat

Berdasarkan sejumlah penelitian terkini, *Physalis* memiliki efek anti-parasit, anti-inflamasi, anti-nosiseptif, anti-mikrobia, anti-malaria, anti-leishmania, immunosupresif, anti-asmatik, diuretik, dan anti-kanker. Pada masyarakat, daun *Physalis* dimanfaatkan sebagai terapi asma, dermatitis, diuretik, nyeri telinga, demam, gonore, perdarahan, hepatitis, infeksi, inflamasi, penyakit liver, malaria, infeksi postpartum, gejala reumatik, penyakit kulit, rawat luka, mencegah aborsi, dan schistosomiasis (Salgado *et al.*, 2013).

2.4.5 Uji Keamanan

Pada studi toksisitas akut, Rathore *et al* (2011) membuktikan bahwa ekstrak methanol daun *Physalis angulata* tidak menunjukkan tanda-tanda mortalitas pada dosis 2000 mg/kg, sehingga ekstrak tersebut aman untuk penelitian *in vivo* (Rathore *et al.*, 2011). Menurut studi toksisitas subkronik pada ekstrak air daun *Physalis* oleh Setyawati *et al* (2018), ekstrak air daun *Physalis minima* tidak mengubah berat badan secara signifikan dan tidak menimbulkan toksisitas hematologi, hepatic dan renal, serta tidak berpengaruh terhadap metabolisme lipid dan glukosa pada tikus Wistar betina (Setyawati *et al.*, 2018).

2.5 Tikus Wistar

2.5.1 Sistematika Tikus Wistar

Menurut Adiyati (2011), taksonomi hewan coba *Rattus norvegicus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Divisi : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Subfamili : Murinae
Genus : *Rattus*
Spesies : *Rattus norvegicus* L

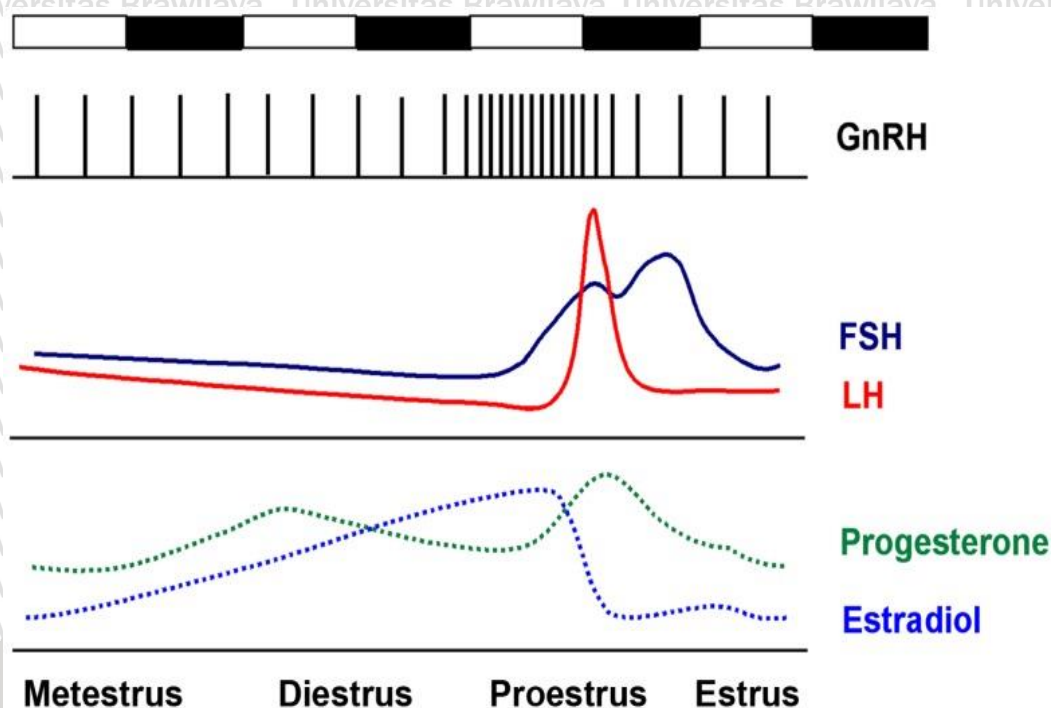
2.5.2 Karakteristik Tikus Wistar

Berdasarkan penelitian Triliana *et al.* (2012), tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar memiliki metabolisme kolesterol yang mirip dengan manusia dilihat dari fungsi HDL dan LDL yang sama yaitu memproduksi apolipoprotein yang sama (Triliana *et al.*, 2012). Selain itu, gen *quantitative trait locus* (QTL) tikus telah diketahui memiliki relevansi dengan fenotip penyakit manusia. (Aitman *et al.*, 2008).

2.5.3 Hewan Coba Model Menopause

2.5.3.1 Siklus Reproduksi Tikus

Tikus mengalami siklus estrous, berbeda dengan manusia yang mengalami siklus menstruasi. Pada tikus, dinding uterus direabsorpsi dan tidak dikeluarkan dalam menopause. Siklus estrous terjadi setiap 4-5 hari dan terdiri dari 4 fase; proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Pada fase-fase ini terjadi fluktuasi hormon ovarium seperti pada siklus menstruasi manusia.



Gambar 2.5 Siklus Estrus pada Tikus (Miller, 2013)

Pada usia 9-12 bulan, tikus mengalami siklus estrus yang tidak teratur, yang dinamakan estropause. Fase estrus yang persisten dapat terjadi, dimana fase estrus memanjang dan siklus anovulasi dapat terjadi. Tikus kemudian mengalami transisi menjadi fase anestrous, dimana siklus ovulasi telah berhenti dan kadar hormon steroid gonad menurun. (Koebele dan Nelson, 2016)

2.5.3.2. Perbandingan Siklus Reproduksi Tikus dengan Manusia

Tikus tidak mengalami deplesi folikel ovarium pada masa penuaan organ reproduksi seperti manusia. Selain itu, terdapat perbedaan kadar hormon gonad pada tikus lansia yang ovariumnya intak dengan wanita menopause. Wanita post menopause memiliki kadar 17β -estradiol dan progesterone yang sangat rendah dan peningkatan kadar FSH dan LH yang signifikan. Tikus mengalami beberapa tahap penuaan organ reproduksi dan cenderung mempertahankan 17β -estradiol

dalam jumlah sedang, meskipun terdapat disregulasi axis hipotalamus-pituitari-gonad (Koebele dan Nelson, 2016).

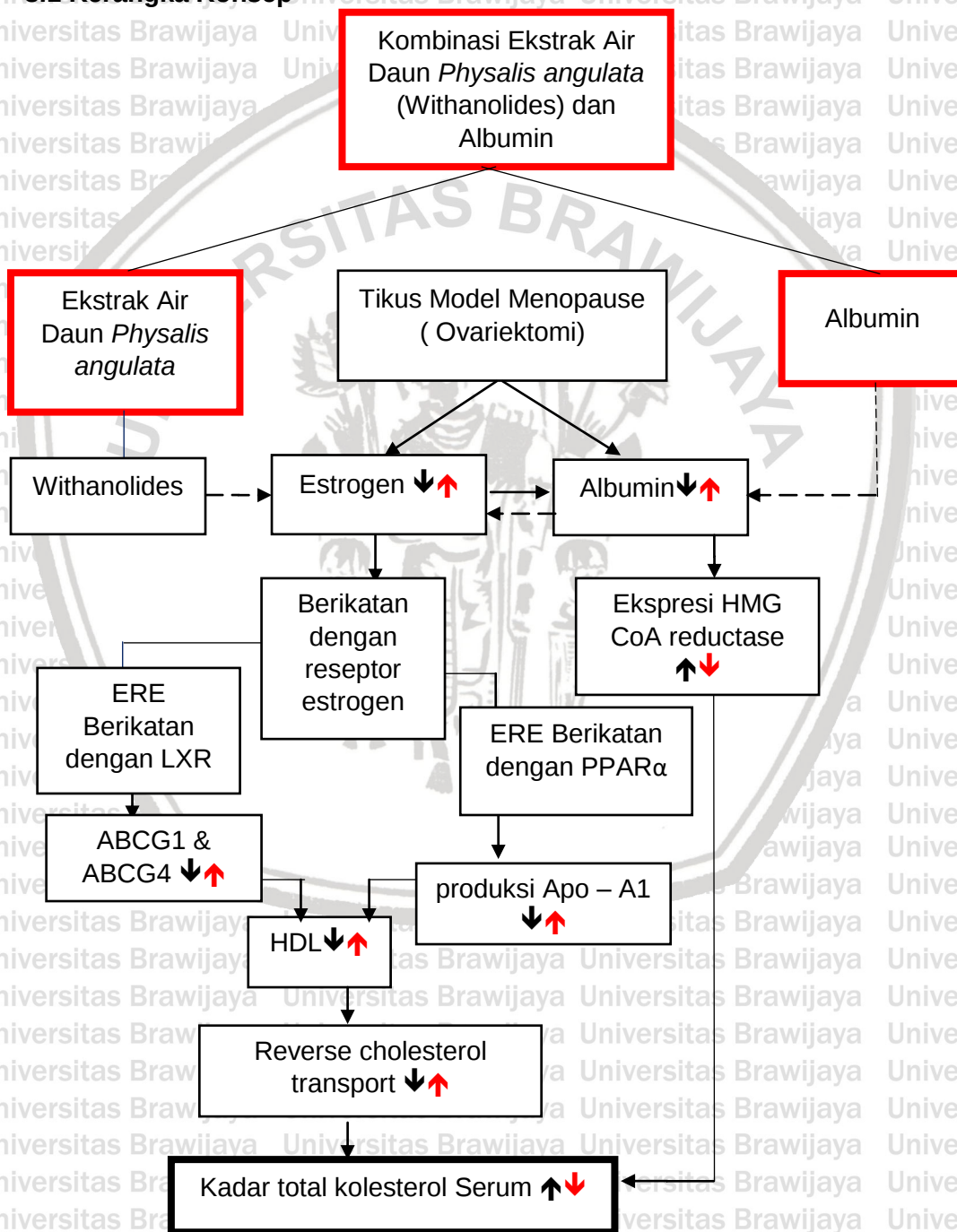
2.5.3.3 Ovariektomi

Ovariektomi adalah prosedur eksisi ovarium secara bilateral, termasuk oviduk dan ujung cornu uteri dari kavitas peritoneum. Waktu pemulihan tikus setelah ovariektomi adalah 7 hari. Ovariektomi dapat mensimulasikan menopause pada wanita dengan tepat. Ovariektomi adalah model yang ideal untuk mengevaluasi efek penurunan hormon gonad dan terapi hormon pada otak dan perifer karena menciptakan '*blank gonadal hormone slate*'. Sebagai contoh, estrogen dapat diberikan setelah ovariektomi, secara tunggal atau dengan kombinasi bersama hormon ovarium lainnya, dengan variasi jenis estrogen, cara pemberian, dosis, dan durasi terapi. Interaksi terhadap kadar hormon steroid endogen juga dapat dipantau. Terapi kombinasi seperti 17β -estradiol dengan progesteron dapat digunakan untuk mengevaluasi interaksi hormon tersebut pada suatu sistem (Koebele dan Nelson, 2016).

BAB 3

Kerangka Konsep dan Hipotesis Penelitian

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

— : terdiri dari

— → : mekanisme kerja kombinasi ekstrak air daun *Physalis* dan albumin

→ : mempengaruhi

↓ : sebelum perlakuan

↓ : setelah perlakuan

□ : perlakuan

□ : variabel yang diteliti

Daun *Physalis angulata* mengandung withanolides yang dapat diusulkan sebagai fitoestrogen (Lestari et al., 2016). Fitoestrogen adalah senyawa *polyphenolic non-steroidal* yang berikatan dengan *human estrogen receptor* (ER) dan mempunyai karakteristik seperti estrogen endogen (Cos et al., 2003). Fitoestrogen yang terkandung dalam *Physalis* adalah *withanolides* (Lestari et al., 2016).

Pada wanita dengan *postmenopausal syndrome*, salah satu gejalanya adalah dislipidemia berupa peningkatan kadar total kolesterol. Hal ini disebabkan oleh rendahnya kadar estrogen (Murano et al., 2003). Fitoestrogen *withanolides* diketahui memiliki aktivitas yang biologis menyerupai estrogen dan struktur yang mirip dengan *17 β -estradiol*, sehingga dapat berikatan dengan reseptor estrogen

dan memicu LXR untuk meningkatkan ekspresi gen ABCG1 dan ABCG4.

Peningkatan produksi ABCG1 dan ABCG4 dapat meningkatkan *reverse cholesterol transport*, sehingga kadar total kolesterol dalam serum berkurang.

Selain itu, reseptor estrogen juga dapat berikatan dengan PPAR α dan memicu *up-regulation* apolipoprotein A-1 dan apolipoprotein A-2. Peningkatan produksi apolipoprotein A-1 dan apolipoprotein A-2 dapat meningkatkan kadar HDL. Peningkatan kadar HDL dapat meningkatkan transpor kolesterol dari jaringan ekstrahepatik ke liver, sehingga kadar total kolesterol berkurang.

Pada wanita dengan *postmenopausal syndrome*, kadar total protein dan albumin mengalami penurunan (Jagtap *et al.*, 2017). Keadaan hipoalbuminemia dapat meningkatkan ekspresi gen HMG-CoA *reductase* sehingga terjadi peningkatan kadar total kolesterol. Pada penelitian ini, albumin ditambahkan pada ekstrak daun *Physalis angulata* untuk mengoreksi keadaan hipoalbuminemia. Selain itu, albumin juga dapat meningkatkan *bioavailability* dan paruh waktu obat (Bairagi *et al.*, 2015).

3.2 Hipotesis

Ekstrak air daun *Physalis* dengan kombinasi albumin dapat menurunkan kadar total kolesterol pada tikus pasca ovariektomi.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain *true experimental laboratory* dan metode *randomized posttest only controlled group design*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek penambahan kombinasi albumin pada ekstrak *Physalis* terhadap kadar total kolesterol tikus model menopause.

4.2. Sampel Penelitian

4.2.1 Pemilihan Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar.

1. Kriteria inklusi: jenis kelamin betina, umur 3 bulan, berat badan ± 200 gram, belum mengalami perlakuan apapun atau belum mendapat asupan bahan kimia apapun, dan dalam keadaan sehat dengan ditandai bergerak aktif, mata jernih, feses tidak lembek, serta bulu putih mengkilat dan tidak rontok.

2. Kriteria eksklusi: tikus kelompok ovariektomi yang mati sebelum pembedahan untuk pengambilan sampel darah.

4.2.2 Estimasi Besar Sampel

Jumlah sampel dihitung dengan rumus Federer (1977):

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

n = jumlah sampel tiap perlakuan

p = jumlah kelompok perlakuan

Pada penelitian ini diketahui perlakuan (t) = 7, yaitu 1 kelompok kontrol negatif, 2 kelompok kontrol positif, dan 4 kelompok perlakuan:

$$(n-1)(7-1) \geq 15$$

$$6n-6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3.5$$

Pada perhitungan di atas, didapatkan $n=3.5$ dibulatkan menjadi 4. Jadi, diperlukan minimal 4 tikus/kelompok.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah :

1. Dosis albumin dan dosis ekstrak air daun *Physalis* yang diberikan pada tikus model menopause.

4.3.2 Variabel Tergantung/ Terikat

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah :

1. Kadar total kolesterol pada serum tikus model menopause.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi lama FK UB untuk pemeliharaan dan pemberian perlakuan pada hewan coba.

Pembedahannya dilakukan di Laboratorium Farmakologi baru FK UB di Gedung

Pendidikan Baru. Analisis kadar total kolesterol dilakukan di Laboratorium

Patologi Klinik FKUB. Pembuatan ekstrak air daun *Physalis* dilakukan di

Laboratorium Farmakologi FKUB. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Mei

2018 sampai September 2018.

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 Pembuatan Ekstrak Air Daun *Physalis angulata*

4.5.1.1 Alat

Oven, timbangan, filter, kulkas

4.5.1.2 Bahan

Ekstrak daun *Physalis*, albumin

4.5.2 Pemeliharaan Tikus

4.5.2.1 Alat

Kandang plastik ukuran 45 cm x 30 cm x 15 cm, tutup kandang dari anyaman kawat, botol air minum tikus, rak tempat kandang tikus, timbangan neraca digital Merk Sartorius Melter (ketelitian 0,1 kg), baskom serba guna untuk alat bantu penimbangan berat badan tikus, dan lain-lain.

4.5.2.2 Bahan

Alas sekam pada kandang, pakan tikus Complete Feed BR-1 produksi PT. JAPFA Comfeed, dan minum tikus.

4.5.3 Ovariektomi Tikus

4.5.3.1 Alat

Gunting bedah, tali kur, spuit merk Terumo 1cc, jarum pentul, silet, pinset anatomis, dan papan alas bedah tikus.

4.5.3.2 Bahan

Benang *catgut* + *needle*, ketamine dosis 40 mg/kg BB, betadine, gentamycin (ampul, 2 mL), nebacetin powder, kassa steril, plester, alkohol 70%, kapas 500 gram.

4.5.4 Pemberian Perlakuan pada Tikus

4.5.4.1 Alat

Sprit yang sudah dimodifikasi untuk sonde tikus.

4.5.4.2 Bahan

Ekstrak daun *Physalis angulata* (1500 mg/kgBB), campuran ekstrak daun *Physalis angulata* (1500 mg/kgBB) dengan albumin dosis 3,3 g/kgBB, 6,7 g/kgBB, dan 10 g/kgBB.

4.5.5 Pembedahan Tikus

4.5.5.1 Alat

Gunting, pisau bedah, spuit merk Terumo 1cc dan 10 cc, jarum pentul, pinset anatomis, dan papan alas bedah tikus, *vacuntainer plain*, label.

4.5.5.2 Bahan

Ketamine dosis 40 mg/kg BB.

4.5.6 Sentrifugasi Serum Darah Tikus

4.5.6.1 Alat

RT centrifuge, *microtube*, pipet tetes.

4.5.7 Analisis Kadar Total Kolesterol pada Serum Darah Tikus

4.5.7.1 Alat

Pentra C200.

4.5.7.2 Bahan

Reagen ABX Cholesterol CP yaitu: *Good's Buffer* pH 6,7, phenol, 4-Aminoantipyrine, kolesterol esterase (CHE), kolesterol oxidase (CHO),

peroxidase (POD), dan sodium azide.

4.6 Definisi operasional

1. *Physalis angulata* yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Balitro dengan bibit tanaman dari UB dan diidentifikasi di ITB. Dosis ekstrak daun *Physalis* didapatkan sebesar 1500 mg/kgBB.
2. Tikus betina *Rattus norvegicus* galur Wistar yang digunakan berumur 3 bulan, berat badan ± 200 gram, belum mengalami perlakuan apapun atau belum mendapat asupan bahan kimia apapun, dan dalam keadaan sehat dengan ditandai bergerak aktif, mata jernih, feses tidak lembek, serta bulu putih mengkilat dan tidak rontok. Tikus ini didapatkan dari SITH ITB.
3. Albumin yang digunakan dalam penelitian disediakan oleh pihak perusahaan mitra dalam bentuk bubuk ekstrak dari ikan. Dosis albumin yang digunakan sebesar 3,3 g/kgBB, 6,7 g/kgBB, dan 10 g/kgBB.
4. Ovariektomi adalah eksisi ovarium secara bilateral, oviduk, dan cornu uteri dari kavitas peritoneum.
5. Kontrol positif yaitu kelompok tikus menopause yang tidak mendapatkan ekstrak *Physalis angulata* maupun albumin.
6. Kontrol negatif yaitu kelompok tikus normal yang tidak dibuat menopause.
7. Analisis kadar total kolesterol menggunakan metode CHOD-PAP (Cholesterol Oxidase-Peroxidase Aminoantipyrine Phenol) yaitu melakukan hidrolisis dan oksidasi kolesterol sehingga menghasilkan quinoneime yang menjadi indikator kolorimetri. Reagen didapatkan dari ABX Pentra Cholesterol CP, sedangkan analisisnya menggunakan *automated clinical chemistry analyzer* Pentra C200. Total kolesterol

dihitung dengan rumus $LDL + HDL + (TG/5)$. Satuan kadar total kolesterol menggunakan mg/dL.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Air Daun *Physalis* dan Penyediaan Albumin

Bahan simplisia didapatkan dari bibit tanaman UB berumur 3 bulan, dihaluskan hingga berbentuk bubuk, kemudian diambil sebanyak 5 gram. Setelah itu, ditambahkan air mendidih (50 mL) selama 1 jam lalu difilter. Sisa ekstraksi kemudian diekstraksi kembali sebanyak 2 kali. Hasil filtrasi dicampur dan disimpan pada suhu 4°C.

Albumin dalam penelitian ini didapatkan dari perusahaan mitra. Albumin dengan dosis 3,3 g/kgBB, 6,7 g/kgBB, dan 10 g/kgBB dicampurkan dengan ekstrak air daun *Physalis* dengan dosis 1500 mg/kgBB.

4.7.2 Persiapan Hewan Coba

Dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan, anyaman kawat, sekam, botol minum, alat semprot, tempat pakan, pakan tikus berbentuk pellet, hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*), dan seleksi tikus (jenis kelamin betina, umur 3 bulan, berat badan $\pm$ 200 gram, belum mengalami perlakuan apapun atau belum mendapat asupan bahan kimia apapun, dan dalam keadaan sehat dengan ditandai bergerak aktif, mata jernih, feses tidak lembek, serta bulu putih mengkilat dan tidak rontok).

Tikus diadaptasikan selama 2 minggu dengan kondisi laboratorium sebelum eksperimen. Dalam 1 kandang ukuran 45 cm x 30 cm x 15 cm ditempatkan 5 tikus, kandang diletakkan dalam suhu 20-25°C dan siklus gelap terang 12 jam/12 jam. Alas sekam pada kandang diganti 2 kali seminggu.

Semua tikus ditempatkan dalam kandang berukuran sama, sehingga aktivitas

dan *energy expenditure* setiap tikus sama. Tikus mendapatkan pakan *Complete Feed* BR-1 dengan kebutuhan 40 gram/ekor satu kali sehari pada sore hari, dan minum dengan kebutuhan 60 mL/ekor. Tikus kemudian diberi label di ekornya sesuai dengan kelompoknya. Setiap hari, dilakukan penimbangan pakan tikus sebelum diberikan pada tikus dan keesokan harinya dilakukan penimbangan sisa makanan tikus (jika ada).

4.7.3 Penimbangan Tikus

Tikus ditimbang seminggu sekali di pagi hari mulai dari adaptasi, ovariektomi, hingga sebelum pembedahan.

4.7.4 Ovariektomi

Tikus betina umur 3 bulan dianastesi dengan ketamine IM dengan dosis 40 mg/kgBB. Setelah itu, bulu tikus dicukur dengan silet dan kulitnya didesinfeksi dengan betadine dan alcohol 70%, lalu dilakukan insisi lateral paralumbar. Kemudian, dilakukan pengambilan ovarium sekaligus dengan oviduknya. Setelah itu, kulit dijahit kembali dengan benang *catgut*. Lalu, diberikan *Nebacetin powder* untuk mempercepat pengeringan luka. Untuk mencegah infeksi bakteri, pada hari ke 1, 2 dan 3 tikus diberikan suntikan gentamisin dengan dosis 60- 80 mg/Kg BB.

Ovariektomi dianggap berhasil apabila kadar estradiol plasma dan *follicle stimulating hormone* (FSH) menurun minggu ke-5 pasca ovariektomi yang menandakan terjadinya *postmenopausal syndrome* (Arsana et al., 2012).

4.7.5 Pemberian Kombinasi Ekstrak Physalis dan Albumin

Kombinasi ekstrak Physalis (1500 mg/kgBB dengan berbagai dosis albumin) diberikan dengan sonde setiap hari selama 4 minggu kepada kelompok D1, D2, dan D3 mulai dari minggu ke-6 sampai minggu ke-9 pasca ovariektomi.

secara intragastrik. Kombinasi ekstrak *Physalis* (1500 mg/kgBB) dan albumin dalam dosis 3,3 g/kgBB diberikan kepada kelompok D1. Kombinasi ekstrak *Physalis* (1500 mg/kgBB) dan albumin dalam dosis 6,7 g/kgBB diberikan kepada kelompok D2. Kombinasi ekstrak *Physalis* (1500 mg/kgBB) dan albumin dalam dosis 10 g/kgBB diberikan kepada kelompok D3.

4.7.6 Pemberian Ekstrak *Physalis*

Ekstrak daun *Physalis* (1500mg/kgBB) diberikan dengan sonde kepada kelompok C setiap hari selama 4 minggu mulai dari minggu ke-6 sampai minggu ke-9 pasca ovariektomi.

4.7.7 Pembedahan Tikus

Berat badan tikus ditimbang, kemudian tikus dianastesi menggunakan ketamine IM dengan dosis 40 mg/KgBB.. Tikus diposisikan pada papan bedah dan difiksasi pada papan menggunakan jarum pentul. Dilakukan insisi lapisan terluar kulit tikus dengan gunting lurus dan pisau bedah. Dilakukan insisi lapisan peritoneal dari daerah abdomen hingga toraks. Dilakukan *suction* darah tikus langsung pada jantung tikus kemudian spesimen darah dimasukkan dalam *vacuntainer plain* dan EDTA.

4.7.8 Pengukuran Kadar Total Kolesterol Tikus

Spesimen darah dalam *vacuntainer* disentrifugasi dengan *Refrigerated Centrifuge* selama 10 menit dengan kecepatan 3600 *rotation per minute* (rpm).

Kemudian serumnya dianalisis dengan *automated clinical chemistry analyzer*

Pentra C200 dengan memanfaatkan metode *enzymatic photometric test* CHOD

PAP (Cholesterol Oxidase-Peroxidase Aminoantipyrine Phenol), yaitu;





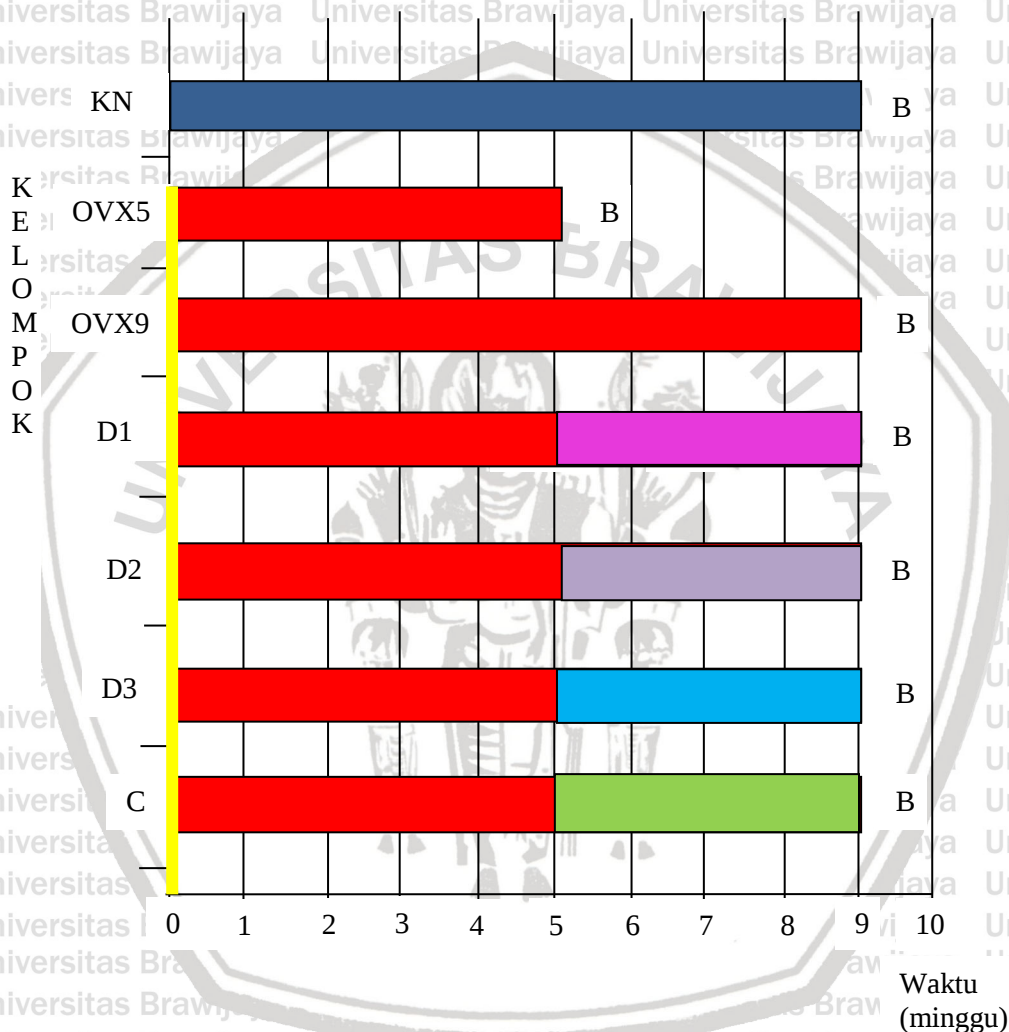
Keterangan: (CHE = *Cholesterol Esterase*, CHO = *Cholesterol Oxydase*, POD = *Peroxidase*)

Cholesterol esterase (CHE) dan menghidrolisis kolesterol, kemudian *cholesterol oxydase* (CHO) mengoksidasi kolesterol sehingga menghasilkan H_2O_2 . Kemudian, ditambahkan 4-Aminoantipyrine dan phenol pada H_2O_2 , lalu direaksikan dengan *peroxidase* menghasilkan quinoneime dengan panjang gelombang 546 nm yang menjadi indikator kolorimetri.

4.8 Analisis Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan analisa kuantitatif statistik *One-Way ANOVA* dan korelasi Pearson. Uji statistik *One-Way ANOVA* dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) digunakan untuk mengetahui signifikansi hasil analisis total kolesterol tikus model menopause terhadap pemberian kombinasi ekstrak *Physalis* dan albumin. Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan dan besarnya pengaruh dosis albumin yang ditambahkan pada ekstrak *Physalis* dengan total kolesterol tikus model menopause. Analisis data menggunakan SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) for Windows versi 17.0.

4.9 Alur Penelitian



Keterangan:

1. KN : kontrol negatif (tikus normal, tanpa ovariectomy)
2. OVX9 : kontrol positif (tikus diovariectomy tanpa mendapatkan ekstrak *Physalis* maupun albumin)
3. OVX5 : kontrol positif (tikus diovariectomy tanpa mendapatkan ekstrak *Physalis* maupun albumin) yang dibedah pada minggu ke 5.
4. D1 : tikus diovariectomy dan mendapatkan kombinasi ekstrak *Physalis* dosis 1500 mg/kgBB dan albumin dalam dosis 3.3 g/kgBB.
5. D2 : tikus diovariectomy mendapatkan kombinasi ekstrak *Physalis* dosis 1500 mg/kgBB dan albumin dalam dosis 6.7 g/kgBB.
6. D3 : tikus diovariectomy mendapatkan kombinasi ekstrak *Physalis* dosis 1500 mg/kgBB dan albumin dalam dosis 10 g/kgBB.

7. C: tikus diovariectomi mendapatkan ekstrak *Physalis* saja dengan dosis 1500 mg/kgBB.
8.  : dilakukan ovariectomi
9. B : dilakukan pembedahan untuk mengambil serum darah
10.  : Keadaan tanpa ovariectomi
11.  : Keadaan setelah ovariectomi
12.  : Keadaan setelah ovariectomi diberikan dosis kombinasi albumin 3.3 g/kgBB dan *Physalis* 1500 mg/kgBB.
13.  : Keadaan setelah ovariectomi diberikan dosis kombinasi albumin 6.7 g/kgBB dan *Physalis* 1500 mg/kgBB.
14.  : Keadaan setelah ovariectomi diberikan dosis kombinasi albumin 10 g/kgBB dan *Physalis* 1500 mg/kgBB.
15.  : Keadaan setelah ovariectomi diberikan dosis *Physalis* 1500 mg/kgBB.

4.10 Jadwal Pelaksanaan

Penelitian dilakukan selama 6 (enam) bulan dan dilaksanakan pada bulan Mei 2018 sampai September 2018.

Tabel 4.2 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

No	Kegiatan	Juni 2018				Juli 2018				Agustus 2018				September 2018			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Persiapan hewan pasca ovariectomi																
2	Pembuatan ekstrak																
3	Pembuatan formulasi kombinasi ekstrak <i>Physalis</i> dan albumin																
4	Perlakuan obat pada hewan coba																
5	Pengambilan data dan analisis statistik																

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Pembuatan Ekstrak Air Daun Physalis

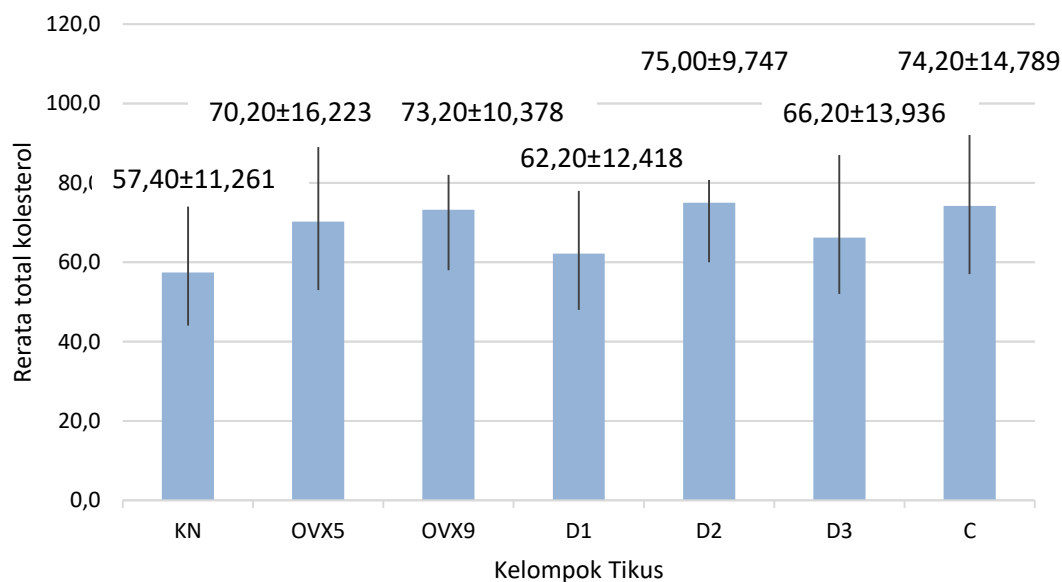
Didapatkan ekstrak air daun Physalis dan ditambahkan bubuk albumin. Foto hasil dapat dilihat pada Gambar 5.1 pada Lampiran 4.

5.1.2 Hasil Penelitian

Penelitian yang telah dilakukan berupa penelitian eksperimental laboratorik untuk membandingkan pengaruh kombinasi albumin dan ekstrak air daun Physalis terhadap penurunan kadar total kolesterol tikus yang telah diovariectomi. Setelah pembedahan, dilakukan pengukuran kadar total kolesterol pada semua serum tikus normal, OVX5, OVX9, D1, D2, D3, dan C.

5.1.3 Pengukuran Kadar Total Kolesterol Serum Tikus

Pengukuran kadar total kolesterol dilakukan pada serum darah tikus dengan *automated clinical chemistry analyzer* Pentra C200. Hasil analisis dapat dilihat pada Gambar 5.1 dibawah ini



Gambar 5.1 Rata-rata Hasil Pengukuran Kadar Total Kolesterol Tikus

Keterangan: Rata-rata total kolesterol OVX5 dan OVX 9 lebih tinggi daripada KN. Hal ini membuktikan bahwa kadar total kolesterol tikus yang diovariektomi lebih tinggi daripada tikus normal. Pada tikus D1 dan D3, rata-rata kadar total kolesterol tikus lebih rendah daripada rata-rata kadar total kolesterol tikus OVX5, tetapi tetap lebih tinggi daripada tikus normal. Sementara itu, pada tikus C dan D2 rata-rata total kolesterol tikus justru melebihi OVX9. Dari antara rata-rata total kolesterol tikus OVX9, D1, D2, D3, dan C, yang paling rendah adalah D1..

5.2 Analisa Data

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Pada penelitian ini digunakan analisa data dengan menggunakan SPSS for Windows versi 17.0. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan *One Sample Shapiro-Wilk Test* (Lampiran 2). Jika nilai signifikansi $> 0,05$ maka data berdistribusi normal. Hasil uji normalitas didapatkan nilai signifikansi 0,479 ($p > 0,05$) dapat

disimpulkan bahwa data berdistribusi normal (parametrik). Hasil uji homogenitas varian dengan *Levene Test Homogeneity of Variance* (Lampiran 2) didapatkan nilai signifikansi 0,726 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa variasi tiap sampel sama atau homogen.

Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa sampel berdistribusi normal dan memiliki variasi homogen sehingga dapat dilakukan uji statistik parametrik yaitu *One-Way ANOVA*.

5.2.2 Uji *One-Way ANOVA*

One-Way ANOVA test dilakukan dua kali. *One-Way ANOVA test* yang pertama membandingkan perbedaan kadar total kolesterol antara tikus normal, OVX5, dan OVX9, sedangkan, *One-Way ANOVA test* yang kedua membandingkan perbedaan kadar total kolesterol antara tikus OVX9, D1, D2, D3, dan C. Hasil *One-Way ANOVA Test* pertama didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,163 ($p < 0,05$), sehingga secara statistik, ovariectomi tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar total kolesterol tikus OVX5 dan OVX9. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa kadar total kolesterol tikus setelah diovariectomi meningkat, tetapi tidak signifikan secara statistik.

Sementara itu, *One-Way ANOVA test* yang kedua didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,412 ($p < 0,05$). sehingga secara statistik, pemberian Physalis dan albumin, serta Physalis saja tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar total kolesterol tikus D1, D2, D3, dan C. Tetapi, seperti yang telah dijelaskan di atas, rata-rata total kolesterol D1 dan D3 lebih rendah daripada OVX 5

dan OVX9. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa kombinasi Physalis dan albumin dengan dosis 3,3 g/kgBB dan 10 g/kgBB dapat menurunkan kadar total kolesterol hingga di bawah kadar total kolesterol setelah menopause, meskipun tidak signifikan secara statistik. Hasil uji *One-Way ANOVA test* dapat dilihat pada Lampiran 2.

5.2.3 Uji *Post Hoc* LSD

Berdasarkan output uji *Post Hoc* LSD diperoleh data yang dapat dilihat pada Lampiran 2, uji *Post Hoc* pertama membandingkan perbedaan kadar total kolesterol antara tikus normal (KN), OVX5, dan OVX9, sedangkan, *Post Hoc* LSD yang kedua membandingkan perbedaan kadar total kolesterol antara tikus OVX9, D1, D2, D3, dan C. Data dari hasil uji LSD pertama disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan di antara KN, OVX5, dan OVX9. Data dari hasil uji LSD kedua disimpulkan bahwa didapatkan perbedaan yang tidak signifikan antara OVX9, D1, D2, D3, dan C. Hasil uji *Post Hoc* LSD dapat dilihat pada tabel 5.2 dan 5.3 di bawah ini.

Tabel 5.2. Hasil Uji *Post Hoc* LSD (Nilai p) antara Kelompok Kontrol Negatif (N), Kontrol Positif (OVX5), dan Kontrol Positif (OVX9)

	Kontrol Negatif (N)	Kontrol Positif (OVX5)	Kontrol Positif (OVX9)
Kontrol Negatif (N)	-	0,142	0,076
Kontrol Positif (OVX5)	0,142	-	0,719
Kontrol Positif (OVX9)	0,076	0,719	-

Tabel 5.3. Hasil Uji *Post Hoc* LSD (Nilai p) antara Kelompok Kontrol Positif (OVX9), C, D1, D2, dan D3

	Kontrol Positif (OVX9)	C	D1	D2	D3
Kontrol Positif (OVX9)	-	0,900	0,176	0,821	0,383
C	0,900	-	0,142	0,920	0,320
D1	0,176	0,142	-	0,119	0,616
D2	0,821	0,920	0,119	-	0,275
D3	0,383	0,320	0,616	0,275	-

5.2.4 Uji Korelasi Pearson

Uji korelasi Pearson ditujukan untuk mengetahui hubungan antara dosis albumin dalam berbagai dosis terhadap kadar total kolesterol serum tikus. Hasil uji korelasi Pearson Lampiran 6 diperoleh angka signifikansi antara dua variabel yaitu 0,526 ($p > 0,05$) yang berarti tidak terdapat hubungan yang signifikan antara pemberian berbagai dosis albumin terhadap kadar total kolesterol serum tikus.

Didapatkan juga koefisien korelasi antara pemberian berbagai dosis albumin dengan kadar total kolesterol sebesar -0,178, artinya korelasinya sangat lemah. Angka yang didapat merupakan bilangan negatif sehingga hal ini menunjukkan korelasi negatif, yaitu semakin tinggi dosis albumin yang diberikan, maka kadar total kolesterol akan semakin meningkat. Hasil uji korelasi Pearson dapat dilihat pada Lampiran 2.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Kadar Total Kolesterol Tikus *Rattus norvegicus* Strain Wistar pada Kontrol Negatif dan Kontrol Positif OVX 5 dan OVX 9

Rata-rata kadar total kolesterol tikus yang diovariectomi tanpa diberi perlakuan lebih tinggi daripada tikus normal dan rata-rata total kolesterol tikus OVX9 lebih tinggi daripada tikus OVX5 (Gambar 5.1). Hal ini membuktikan bahwa kadar total kolesterol tikus yang diovariectomi lebih tinggi daripada tikus normal, dan jika keadaan hipoeestrogen ini tidak diterapi dalam waktu lama, kadar total kolesterol akan terus meningkat. Hal ini selaras dengan penelitian Jensen *et al* (1990) yang menunjukkan bahwa setelah menopause, total kolesterol serum meningkat seiring dengan bertambahnya usia jika tidak diterapi (Jensen *et al.*, 1990). Oleh karena itu, dapat disimpulkan sementara, bahwa kadar total kolesterol tikus pasca ovariektomi akan terus mengalami peningkatan apabila tidak diberikan terapi.

Peningkatan kadar total kolesterol pada tikus yang diovariectomi disebabkan oleh keadaan hipoeestrogen yang berakibat pada penurunan *reverse cholesterol transport* (Robinson *et al.*, 2007), penurunan kadar HDL (Fievet dan Staels, 2009), dan peningkatan ekspresi HMG-CoA reductase yang mengakibatkan peningkatan sintesis kolesterol (Vaziri, 2003). Salah satu mekanisme penurunan HDL berkaitan dengan ikatan ERE dan PPAR α . Estrogen berikatan dengan ER α dan membentuk *estrogen receptor element* (ERE). Kemudian, ERE berikatan dengan PPAR α , yang

memicu *up-regulation* Apo A-1, yaitu komponen utama partikel HDL. Hal ini menyebabkan peningkatan kadar partikel HDL (Fievet dan Staels, 2009). Menurut Paquette *et al* (2008), pada tikus yang diovariectomi, terjadi penurunan ekspresi PPAR α di liver. Hal ini menyebabkan *down-regulation* Apo A-1, sehingga terjadi penurunan kadar HDL.

Selain itu, mekanisme penurunan kadar HDL lainnya berkaitan dengan ABCG1 dan ABCA1. Estrogen yang berikatan dengan ER α memicu LXR meregulasi ekspresi ABCA1 dan ABCG1. ABCA1 berikatan dengan Apo A-1 yang berperan dalam memfasilitasi transport fosfolipid dan kolesterol melewati membran plasma bilayer. ABCG1 meningkatkan efluks kolesterol ke partikel HDL matur. Pada keadaan hipoestrogen, jumlah reseptor estrogen yang berikatan dengan estrogen sangat rendah sehingga terjadi penurunan ekspresi ABCG1 yang berakibat pada penurunan *reverse cholesterol transport* (Darabi *et al*, 2010).

Selain penurunan kadar HDL, kondisi menopause juga berdampak pada sintesis kolesterol. Pada kondisi postmenopause, terjadi defisiensi estrogen yang menyebabkan peningkatan transkripsi mRNA *angiotensin converting enzyme* (ACE), sehingga meningkatkan albuminuria dan menciptakan keadaan hipoalbuminemia. (Gallagher *et al.*, 1999). Menurut penelitian Vaziri (2003), ditemukan peningkatan ekspresi HMG-CoA reductase pada tikus analbuminemia dan *nephrotic syndrome*, sehingga terjadi peningkatan sintesis kolesterol (Vaziri, 2003).

Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini kadar total kolesterol tikus meningkat setelah ovariectomi karena keadaan hipoestrogen yang memicu penurunan *reverse cholesterol transport*, penurunan kadar HDL, dan

peningkatan ekspresi HMG-CoA reductase yang mengakibatkan peningkatan sintesis kolesterol.

6.2 Kadar Total Kolesterol Tikus *Rattus norvegicus* Strain Wistar yang Diberikan Terapi kombinasi Ekstrak Physalis dan Albumin dan Terapi Ekstrak Physalis Tanpa Albumin

Pada penelitian ini, kadar total kolesterol cenderung lebih rendah pada kelompok yang diberikan kombinasi albumin dan ekstrak Physalis jika dibandingkan dengan kelompok yang diberikan Physalis saja. Dengan demikian, dapat diduga bahwa penambahan albumin pada ekstrak Physalis dapat meningkatkan efektivitas ekstrak Physalis dalam menurunkan kadar total kolesterol, meskipun tidak signifikan secara statistik.

Pada tikus pasca ovariektomi yang diberikan terapi estrogen, penurunan kadar total kolesterol disebabkan oleh *up-regulation* reseptor LDL pada liver tikus (Lundeen, 1997). Menurut penelitian Borradaile (2002), pemberian fitoestrogen genistein and daidzein pada sel HepG2 juga dapat meningkatkan ekspresi reseptor LDL, *uptake* LDL, degradasi LDL, dan menghambat sintesis dan esterifikasi kolesterol (Borradaile, 2002). Meskipun begitu, hasil penelitian *randomized clinical trials* fitoestrogen lain pada manusia cenderung tidak konsisten dalam menurunkan total kolesterol. Pada penelitian Crouse et al/ (1999), pemberian 25 gram protein kedelai yang mengandung (3, 27, 37, dan 62 mg) isoflavonoid selama 9 minggu mampu menurunkan kadar total kolesterol plasma dan LDL pasien dengan LDL > 4,24 mmol/L (>164 mg/dL), meskipun penurunan ini tidak signifikan secara statistik.

(Crouse *et al.*, 1999). Hal ini sejalan dengan penelitian Lichtenstein (2002) yang menyatakan bahwa, pemberian isoflavonoid 50mg/4,2 MJ selama 42 hari tidak berpengaruh secara signifikan terhadap profil lipid dan apolipoprotein manusia dengan kadar LDL <4.14mmo/L (160,09 mg/dL). Demikian pula, pada manusia dengan LDL ≥4.14mmol (160,09 mg/dL), pemberian isoflavonoid dengan dosis tersebut hanya memberikan sedikit pengaruh (Lichtenstein, 2002). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian terapi estrogen tidak memberikan efek yang signifikan terhadap kadar total kolesterol.

Pada penelitian ini, diduga penambahan albumin pada ekstrak *Physalis* dapat meningkatkan efektivitas ekstrak *Physalis* dalam menurunkan kadar total kolesterol. Hal ini selaras dengan penelitian Gil *et al* (2017), yang menyatakan bahwa terjadi peningkatan pelepasan estrogen dari nanopartikel *Poly(lactic-co-glycolic acid)* (PLGA) pada penambahan albumin sebesar 3 g/dL. Tanpa albumin, estrogen tidak ditranspor melewati membran, sehingga *total release* estrogen menjadi tidak signifikan. Tetapi, jika ditambahkan albumin, 95% *free estrogen* dapat melewati membran pada 3 hari pertama. Hal ini disebabkan oleh kemampuan albumin untuk mentranspor komponen hidrofobik (dalam hal ini estrogen) melewati membran sel (Gil *et al.*, 2017). Dengan demikian, diduga bahwa kombinasi ekstrak *Physalis* dengan albumin dapat mentranspor kandungan fitoestrogen pada *Physalis* melewati membran semipermeabel, sehingga kombinasi tersebut lebih efektif dalam menurunkan total kolesterol daripada pemberian ekstrak *Physalis* saja.

Meskipun begitu, hasil penelitian ini masih kontroversial karena kadar total kolesterol tikus yang diberikan ekstrak *Physalis* dan albumin kadar 6,7 g/kgBB lebih

tinggi daripada tikus yang diberikan ekstrak *Physalis* dan albumin kadar 3,3 g/kgBB.

Pada keadaan hipoestrogen, terjadi penurunan reabsorpsi albumin karena penurunan ekspresi megalin. Megalin adalah reseptor endositik pada beberapa

epitel absorptif, seperti sel tubulus kontortus proksimal. Penurunan ekspresi megalin

pada kondisi hipoestrogen berakibat pada penurunan kemampuan reabsorpsi sel

tubulus kontortus proksimal (Plieschning *et al.*, 2012). Hal ini sejalan dengan

penelitian Birn *et al* (2000) yang menyatakan, tikus defisiensi megalin mengalami

peningkatan rasio ekskresi albumin/kreatinin tiga kali lipat (Birn *et al.*, 2000).

Penurunan reabsorpsi albumin ini menyebabkan albuminuria yang berujung pada

kondisi hipoalbuminemia, sehingga terjadi peningkatan HMG-CoA reductase dan

sintesis kolesterol. Selain itu, menurut penelitian Neves *et al* (2006), inkubasi sel

tubulus proksimal LLC-PK1 dengan konsentrasi albumin yang tinggi (10-20 mg/mL)

selama 24 jam menyebabkan fosforilasi Bad, sebuah protein pro apoptosis,

sehingga menyebabkan apoptosis sel tubulus tersebut, kemudian menurunkan

kemampuan reabsorpsi ginjal (Neves *et al.*, 2006).

Meskipun begitu, kadar total kolesterol tikus yang diberikan albumin

10g/kgBB lebih rendah daripada tikus yang diberikan albumin 6,7 g/kgBB, tetapi

mekanismenya masih belum diketahui. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh sifat

albumin sebagai *buffer* pada distribusi steroid plasma ketika konsentrasi steroid

tersebut meningkat sementara atau ketika produksi SHBG berubah karena kondisi

fisiologis atau penyakit (Hammond, 2016). Fungsi *buffer* albumin inilah yang

menyebabkan distribusi estrogen pada tikus berubah sehingga kadar total kolesterol

tikus juga berubah-ubah. Perubahan kadar estrogen ini juga menciptakan efek

bifasik. Menurut Parini *et al* (2000), pada tikus yang diinfus dengan E2 dosis 0,008 mg/kg/hari ditemukan peningkatan aktivitas HMG-CoA reductase pada hepatic microsome sebesar 75%. Peningkatan aktivitas HMG-CoA reductase maksimal, yaitu sebesar 90%, ditemukan pada tikus yang diberikan dosis E2 0,04 mg/kg/hari, sedangkan pada tikus yang diberikan dosis E2 0,2 mg/kg/hari, aktivitas microsomal HMG-CoA reductase hanya meningkat sebesar 45%. Dengan demikian, aktivitas HMG-CoA reductase terus meningkat pada dosis estrogen rendah dan menurun pada dosis E2 yang lebih tinggi (Parini *et al.*, 2000). Oleh karena itu, dapat diduga, perubahan estrogen ini mempengaruhi aktivitas HMG-CoA reductase, sehingga mempengaruhi sintesis kolesterol tikus.

Kemungkinan penyebab lain dari inkonsistensi hasil total kolesterol ini adalah mekanisme perlindungan tikus itu sendiri. Hewan mengakumulasi berbagai komponen lipofilik di darah saat mengonsumsi tanaman. Beberapa komponen memiliki efek toksik ketika berikatan dengan reseptor hormon atau enzim. Hewan melindungi diri dari komponen toksik tanaman dengan mendegradasi komponen fitokimianya, menonaktifkannya, atau memodifikasi dengan menambahkan *glucuronic acid*, sehingga bahan tersebut dapat diekskresikan tanpa menimbulkan efek terhadap hormon. Salah satu contohnya adalah fitoestrogen flavonoid yang dapat berikatan dengan ER. Albumin hewan mengurangi ikatan flavonoid dan komponen lipofilik lainnya ke ER, sehingga flavonoid dapat dinaktivasi, lalu diekskresikan (Baker, 1998).

Hal lain yang menyebabkan hasil penelitian ini masih kontroversial adalah jumlah sampel tiap kelompok yang terlalu sedikit, sehingga standar deviasinya

besar. Selain itu, pada penelitian ini, waktu pemberian perlakuan hanya 4 minggu.

Penelitian Harini *et al* (2015) membuktikan bahwa terjadi penurunan total kolesterol secara signifikan pada tikus pasca ovariectomi yang diberikan fitoestrogen isoflavonoid dalam kecambah *Cicer arietum* (1,2mg/kgBB) selama 8 minggu (Harini *et al*, 2015). Penelitian Kwon *et al* (2008) juga membuktikan bahwa terjadi penurunan total kolesterol secara signifikan pada tikus ovariectomi yang diberikan fitoestrogen flavonoid dalam ekstrak *Circius japonicum* selama 10 minggu (Kwon *et al*, 2008). Oleh karena itu, dapat disimpulkan dari penelitian di atas, bahwa setidaknya untuk mencapai penurunan kadar total kolesterol yang signifikan, setidaknya dibutuhkan waktu 8 minggu pemberian fitoestrogen.

Berdasarkan uji korelasi Pearson, hubungan antara dosis albumin dan kadar total kolesterol tikus sangat lemah ($r = -0,178$) dan berkorelasi negatif. Dengan demikian, semakin tinggi pemberian dosis albumin, semakin rendah kadar total kolesterol tikus. Lemahnya korelasi antara pemberian dosis albumin dan kadar kolesterol secara statistik disebabkan oleh afinitas albumin yang lebih rendah daripada *Sex Hormone Binding Globulin* (SHBG) dalam berikatan dengan steroid.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dari penelitian ini adalah peningkatan resiko infeksi pada tikus pasca ovariectomi sehingga meningkatkan resiko kematian tikus tersebut.

BAB 7**PENUTUP****7.1 Kesimpulan**

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

- a. Pemberian ekstrak *Physalis* dengan kombinasi albumin tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kadar total kolesterol pada tikus pasca ovariektomi.
- b. Ditemukan peningkatan kadar total kolesterol yang tidak signifikan pada tikus pasca ovariektomi yang tidak diberikan terapi jika dibandingkan dengan kadar total kolesterol tikus yang tidak diovariektomi.
- c. Pemberian ekstrak *Physalis* tanpa albumin maupun kombinasi ekstrak *Physalis* dan albumin tidak berpengaruh secara signifikan pada kadar total kolesterol tikus pasca ovariektomi jika dibandingkan dengan tikus pasca ovariektomi yang tidak diberikan terapi.
- d. Ditemukan hubungan yang tidak signifikan antara kombinasi dosis albumin dan ekstrak *Physalis* terhadap penurunan kadar total kolesterol pada tikus pasca ovariektomi.

Adapun saran yang dapat peneliti berikan dari penelitian ini adalah :

- a. Diperlukan pengukuran kadar albumin dan kolesterol tikus sebelum diovariektomi dan sebelum diberi perlakuan.

b. Diperlukan waktu pemberian perlakuan minimal 8 minggu untuk mendapatkan penurunan kadar kolesterol yang signifikan.

c. Diperlukan jumlah sampel yang lebih besar pada tiap kelompok agar standar deviasi tidak terlalu besar.

d. Diperlukan pemberian diet aterogenik agar menimbulkan kondisi hiperkolesterolemia yang signifikan pada tikus.



DAFTAR PUSTAKA

Altman T.J., Critser J.K., Cuppen E., Dominiczak A., Suarez X.M.F., Flint J., et al. Progress and Prospect in Rat Genetics: A Community View. *Nature Genetics*. 2008, Volume 40 No 5.

Arsana W., Hidayat M., Permatasari N. Peran Genistein dalam Meningkatkan Pembentukan dan Menghambat Resorpsi Tulang *Rattus norvegicus* Wistar Hipoestrogen Melalui Superoksida dan Hidrogen Peroksida. Disertasi PDIK FKUB.2012.

Arun, M., & Asha, V. V. Preliminary studies on antihepatotoxic effect of *Physalis peruviana* Linn. (Solanaceae) against carbon tetrachloride induced acute liver injury in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007, 111(1), 110–114.

Adiyati P.N. Ragam Jenis Ektoparasit pada Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague dawley. Skripsi. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. 2011.

Bairagi U., Mittal P., Mishra B. Albumin : A Versatile Drug Carrier. *Austin Therapeutics*. 2015, 2(2):1021.

Baker ME Albumin's role in steroid hormone action and the origins of vertebrates: is albumin an essential protein? *FEBS Lett*. 1998, 439:9–12.

Birn H, Moestrup S.K, Christensen E.I. Cubilin is an albumin binding protein important for renal tubular albumin reabsorption. *J Clin Invest*. 2000, 105(10):1353-1361.

Biro Pusat Statistik.2005. Proyeksi Penduduk Indonesia.

Cooper A.D. Hepatic Uptake of Chylomicron Remnants. *J. Lipid Res*. 1997. 38 2173-2192.

Cos P., Bruyne T.D., Apers S., Berghe D.V., Pieters L., Vlietnick A.J. Phytoestrogens : Recent Developments. *Planta Med*. 2003, 69 : 589-599.

Crespo C.J., Smit E., Snelling A., Sempos C.T., Andersen R.E. Hormone Replacement Therapy and Its Relationship to Lipid and Glucose Metabolism in Diabetic and Nondiabetic Postmenopausal Women. *Diabetes Care*. 2002, Volume 25 No 10.

Crouse J.R., Morgan T., Terry J.G., Ellis J., Vitolins M., Burke G.L. A Randomized Trial Comparing The Effect of Casein with that of Soy Protein Containing Varying Amounts of Isoflavones on Plasma Concentrations of Lipids and Lipoproteins. *Arch Intern Med*. 1999;159: 2070-6.

Dalal P.K. dan Agarwal M. Postmenopausal Syndrome. *Indian J Psychiatry*. 2015, 57(2):222-232.

Damu A.G., Kuo P.C., Su C.R., Kuo T.H., Chen T.H., Bastow K.F., Lee K.H., Wu T.S. Isolation, Structures, and Structure-Cytotoxic Activity Relationships of Withanolides and Physalins from *Physalis angulata*. *J Nat Prod*. 2007, 1146-1152.

Darabi, M., Rabbani, M., Ani, M., Zarean, E., Panjehpour, M., & Movahedian, A. Increased leukocyte ABCA1 gene expression in post-menopausal women on hormone replacement therapy. *Gynecological Endocrinology*. 2010, 27(9), 701–705.

Das J., Sharma J.D., Mazumdar S., Alam K.T., Sarkar S., Hossain I. Dyslipidemia in Postmenopausal Women: A Case Control Study. *Chattagram Maa-O-Shisu Hospital Medical College Journal*. 2013, Volume 12, Issue 2.

Dunn JF, Nisula BC & Rodbard D. Transport of steroid hormones: binding of 21 endogenous steroids to both testosterone-binding globulin and corticosteroid-binding globulin in human plasma. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1981, 53 58–68.

Fatma M.M., Nihad A.J., Pambuk C.I.A. A Comparative Study to Evaluate the Serum Lipid Profile in Pre and Postmenopausal Woman in Sulaymaniyah City _ Iraq. *Biomed J Sci & Tech Res* 1(3). 2017, BJSTR.MS.ID.000312.

Fievet C dan Staels B. Liver X Receptor Modulators: Effect on Lipid Metabolism and Potential Use in The Treatment of Atherosclerosis. *Biochemical Pharmacology* 77. 2009, pp 1316-1327.

Fisher E.A., Feig J.E., Hewing B., Hazen S.L., Smith JD. High-Density Lipoprotein Function, Dysfunction, and Reverse Cholesterol Transport. *Thromb Vasc Biol*, 2012, 32: 2813-2820.

Gallagher P.E., Li P., Lenhart J.R., Chappell M.C., Brosnihan K.B. Estrogen regulation of angiotensin-converting enzyme mRNA. *Hypertension* .1999,33(1 Pt 2):323-8.

Gardner C.D., Newell K.A., Cherin R., Haskell W.L., The Effect of Soy Protein With or Without Isoflavones Relative to Milk Protein on Plasma Lipids in Hypercholesterolemic Postmenopausal Women. *Am J Clin Nutr*. 2001, 73: 728-35.

Gil D, Frank-Kamenetskii A, Barry J, Reukov V, Xiang Y, Das A, et al. Albumin-Assisted Method Allows Assessment of Release of Hydrophobic Drugs From Nanocarriers. *Biotechnol. J*. 2017, 13, 1700337.

Glazier M.G dan Bowan M. A Review of the Evidence for the Use of Phytoestrogens as a Replacement for Traditional Estrogen Replacement Therapy. *Arch Intern Med*. 2001, 161: 1161-72.

Goldstein J.L., Brown M.S. Regulation of the Mevalonate Pathway. *Nature*. 1990, 343: 425-430.

Hammond GL. Plasma steroid-binding proteins: primary gatekeepers of steroid hormone action. *J Endocrinol*. 2016;230(1):R13–25. doi: 10.1530/JOE-16-0070.

Horstman A.M., Dillon E.L., Urban R.J., Moore M.S. The Role of Androgens and Estrogens on Health Aging and Longevity. *Journal of Gerontology: Biological Sciences*. 2012. 10.1093/gerona/gls068.

Jagtap V.R., Serum Total Proteins, Albumin and Magnesium Levels in Pre and Post Antiresorptive Therapy in Postmenopausal Osteoporosis. Can Magnesium Play a Key Role in Osteoporosis ? *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*. 2017, 13(1): 23-29.

Jayagopal, V., Albertazzi, P., Kilpatrick, E.S., Howarth, E.M., Jennings, P.E., Hepburn, D.A., et al. Beneficial Effects of Soy Phytoestrogen Intake in Postmenopausal Women with Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 2002, 25, 1709-1714

Jensen J., Nilas L., Christiansen C. Influence of menopause on serum lipids and lipoproteins. *Maturitas*, 1990, 12: 321-331

Kamrava M. Menopausal Hormone Replacement Therapy. *Journal of Gynecology and Women's Health*. 2017, Volume 5, Issue 2.

Kelly G.S. Squalene and its Potential Clinical Uses. *Alternative Medicine Review*. 1999, 4 (1): 29-36.

Ki E.Y., Hur S.Y., Park J.S., Han K.D., Park Y.G. Differences in the lipid profile and hormone replacement therapy use in Korean postmenopausal women: the Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES) 2010–2012 *Arch Gynecol Obstet*. 2016, 294:165–173.

Kika G., Izumi S., Mori A., Murano T., Cai L., Nakamura E., Goya K., Maeda H., Uchida N., Shida M. Beneficial Aspect of Oral Estriol as Hormone Replacement Therapy: Consideration on Bone and Lipid Metabolism. *J Exp Clin Med*. 2009, Vol 34 No 3, pp 92-98.

Knopfholz, J., Disserol, C. C. D., Pierin, A. J., Schirr, F. L., Streisky, L., Takito, L. L., et al. Validation of the Friedewald Formula in Patients with Metabolic Syndrome. *Cholesterol*, 2014, 1–5.

Koebele S.V., Nelson H.A.B. Modelling menopause: The utility of rodents in translational behavioural endocrinology research. *Maturitas*. 2016, 87: 5–17.

Kumari, A. Cholesterol Synthesis. *Sweet Biochemistry*. 2018, 27–31.

Lestari B., Permatasari N., Rohman M.S., Methanolic Extract of Ceplukan Leaf (*Physalis minima* L.) Attenuates Ventricular Fibrosis through

Inhibition of TNF- α in Ovariectomized Rats. *Advances in Pharmacological Sciences*. 2016, Volume 2016, Article ID 2428052, 7 pages.

Lim T.K. *Physalis angulata*. In: Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants. Springer, Dordrecht. 2013, pp 283-299.

Machin R.P., Veleiro A.S., Nicotra V.E., Oberti J.C., Padron J.M. Antiproliferative Activity of Withanolides against Human Breast Cancer Cell Lines. *J Nat Prod*. 2010, 73, 966–968.

Miller B.H., Takahashi J.S. Central Circadian Control of Female Reproductive Function. *Frontiers in Endocrinology: Systems and Translational Endocrinology*, 2014, Volume 4, Article 195.

Murano T., Izumi S., Kika G., Haque S.F., Okuwaki S., Mori A., Suzuki T., Matsubayashi H., Ikeda M., Goya K., Makino T. Impact of Menopause on Lipid and Bone Metabolism and Effect of Hormone Replacement Therapy. *Tokai J Exp Clin Med*. 2003, Vol. 28, No. 3, pp. 109-119.

Murray R.K., Bender D.A., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V.W., Weil P.A. Biokimia Harper, Ed.29., Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 2012. p. 280.

Murphy P.S dan Campbell S.S. Sex Hormones, Sleep, and Core Body Temperature in Older Postmenopausal Women. *SLEEP*. 2007, Vol 30, No 12, pp 1788-1794.

Nelson LR, Bulun SE. Estrogen production and action. *J Am Acad Dermatol*. 2001, 45(3 Suppl): S116–S124.

Neves C. C, Pinheiro A.A.S, Cai H, Menezes J.S, Guggino W.B. PKB and megalin determine the survival or death of renal proximal tubule cells. *PNAS*. 2006, 103 (49); 18810–18815.

Norlin, M., & Wikvall, K. Enzymes in the Conversion of Cholesterol into Bile Acids. *Current Molecular Medicine*. 2007, 7(2): 199–218.

Olson, R. E. Discovery of the Lipoproteins, Their Role in Fat Transport and Their Significance as Risk Factors. *The Journal of Nutrition*, 1998, 128(2): 439S–443S.

Palmisano B.T., Zhu L., Eckel R.H., Stafford J.F. Sex Differences in Lipid and Lipoprotein Metabolism. *Molecular Metabolism*. 2018. 10.1016/j.molmet.2018.05.008.

Pandey J.C., Prasad C.K. Lipid Profile Abnormalities in Nephrotic Syndrome. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Science*. 2016, 6(54) : 17 – 19.

Paquette, A., Wang, D., Jankowski, M., Gutkowska, J., & Lavoie, J.-M. Effects of ovariectomy on PPAR α , SREBP-1c, and SCD-1 gene expression in the rat liver. *Menopause*. 2008,15(6), 1169–1175.



Pardhe B.D., Ghimire S., Shakya J., Pathak S., Shakya S., Bhetwal A., et al. Elevated Cardiovascular Risks among Postmenopausal Women: A Community Based Case Control Study from Nepal. *Hindawi Biochemistry Research International*. 2017, Volume 2017, 3824903.

Parini P, Angelin B, Stavre´us-Evers A, Freyschuss B, Eriksson H, Rudling M. Biphasic Effects of the Natural Estrogen 17 β -Estradiol on Hepatic Cholesterol Metabolism in Intact Female Rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1817-1823.

Paterni I., Granchi C., Katzenellenbogen J.A., Minutolo F. Estrogen Receptor Alpha (ER α) and Beta (ER β): Subtype-Selective Ligands and Clinical Potential. *Steroids*. 2014, November 15; 0: 13–29.

Perk B.O., Ilgin S., Atli O., Duymus H.G., Sirmagul B. Acute and Subchronic Toxic Effect of The Fruits of *Physalis peruviana* L. *Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013, Volume 2013, Article ID 707285, 10 pages.

Permatasari N., Nugrahenny D., Prasetyawan S. Efek Daun Ceplukan (*Physalis minima* L.) dan Physalin pada Reseptor Estrogen pada Sel Endothel Pembuluh Darah Manusia (HUVECs). 2009.

Plieschnig, J. A., Gensberger, E. T., Bajari, T. M., Schneider, W. J., & Hermann, M. Renal LRP2 expression in man and chicken is estrogen-responsive. *Gene*, 2012, 508(1), 49–59.

Rathore C, Dutt K, Sahu S, Deb L. Antiasthmatic activity of the methanolic extract of *Physalis angulata* Linn. *J Med Plants*. 2011, Res 5: 5351 - 5355.

Rengifo E dan Vargas G. *Physalis angulata* L. (Bolsa Mullaca): a review of its traditional uses, chemistry and pharmacology. *Bol Latinoam Caribe*. 2013, 12:31–445.

Robinson G.A., Waddington K.E., Torra I.P., Jury E.C. Transcriptional Regulation of T-Cell Lipid Metabolism: Implications for Plasma Membrane Lipid Rafts and T-Cell Function. *Frontiers in Immunology*. 2017, Volume B, Article 1636..

Salgado E.R., Arana G.V. *Physalis angulata* L. (Bolsa Mullaca): A Review of Its Traditional Uses, Chemistry and Pharmacology. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2013, 12 (5): 431 – 445.

Schneider M.A, Brotherton P.L, Hailes J. The effect of exogenous oestrogens on depression in menopausal women. *Med J Aust*. 1977;2:162-3.

Soeharto S, Nugrahenny D, Permatasari N, Mayangsari E. Subchronic Toxicity of the *Physalis minima* Leaves. *Research Journal of Life Science* 5 (1), 77-82.

Song, B.-L., Javitt, N. B., dan DeBose-Boyd, R. A. Insig-mediated degradation of HMG CoA reductase stimulated by lanosterol, an intermediate in the synthesis of cholesterol. *Cell Metabolism*, 2005 1(3), 179–189.

Sultana N., Hassan M.A., Begum M., Sultana M. *Physalis angulata* L. (Solanaceae) - A New Angiospermic Record for Bangladesh. *Bangladesh J. Bot.* 2008, 37(2): 195-198.

Swapnali R.K., Kisan R., Murthy D.S.J. Effect of Menopause on Lipid Profile and Apolipoproteins. *Al Ameen J Med Sci*, 2011, 4(3): 221-228.

The North American Menopause Society. The 2017 Hormone Therapy Position Statement of The North American Menopause Society. *Menopause: The Journal of The North American Menopause Society*. 2017, Vol 24, No 7, pp 728-753.

Teede H.J., Dalais F.S., Kotsopolous D., Liang Y.L., Davis S., McGrath B.P. Dietary Soy Has Both Beneficial and Potentially Adverse Cardiovascular Effects: A Placebo-Controlled Study in Men and Postmenopausal Women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001, 86: 3053-60.

Tiwari R., Ghalaut V.S., Singhal S.R., Adhikari I.P. Comparison of General Physical and Lipid Profile of Pre and Post Menopausal Women Attending OPD of A Tertiary Health Care Institute of Haryana, India. *International Journal of Scientific Research*. 2018, Volume-7, Issue-3.

Triliana R., Soeatmadji D.W., Kalim H. Pengaruh Terapi Suplementasi Fitosterol pada Profil Lemak Plasma, Kadar Apolipoprotein (Apo) B-48, dan Penghitungan Sel Busa Aorta Tikus Pascadiet Atherogenik. *J.Exp. Life Sci.* 2012, Vol. 2 No. 2.

Vaziri N.D. Molecular Mechanism of Lipid Disorders in Nephrotic Syndrome. *Kidney International*. 2003, Vol. 63 pp1964-1976.

Veldhuis, J. D., Gwynne, J. T., Azimi, P., Garmey, J., & Juchter, D. Estrogen Regulates Low Density Lipoprotein Metabolism by Cultured Swine Granulosa Cells*. *Endocrinology*. 1985, 117(4), 1321–1327. doi:10.1210/endo-117-4-1321.