



UNIVERSITAS INDONESIA

**EFEK ANTIHIPERLIPIDEMIA SUSU KACANG KEDELAI
(*Glycine max* (L.) Merr.) PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG
DIBERI DIET TINGGI KOLESTEROL DAN LEMAK**

SKRIPSI

HAVIANI RIZKA NURCAHYANINGTYAS

0806398303

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**EFEK ANTIHIPERLIPIDEMIA SUSU KACANG KEDELAI
(*Glycine max* (L.) Merr.) PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG
DIBERI DIET TINGGI KOLESTEROL DAN LEMAK**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi

HAVIANI RIZKA NURCAHYANINGTYAS

0806398303

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**

ii

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan tindakan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 12 Juli 2012



Haviani Rizka Nurcahyaningtyas

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Haviani Rizka Nurcahyaningtyas

NPM : 0806398303

Tanda Tangan : 

Tanggal : 12 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Haviani Rizka Nurcahyaningtyas
NPM : 0806398303
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Efek Antihiperlipidemia Susu Kacang Kedelai
(*Glycine max* (L.) Merr.) pada Tikus Putih Jantan
yang Diberi Diit Tinggi Kolesterol dan Lemak

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dra. Azizahwati, M. S., Apt.

Pembimbing II : Nadia Farhanah Syafhan, M.Si., Apt.

Penguji I : Dr. Anton Bahtiar, M. Si., Apt.

Penguji II : Dr. Retnosari Andrajati, MS.

()
()
()
()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 12 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi FMIPA UI.

Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangat sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

- 1) Ibu Dra. Azizahwati, M. S., Apt, selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, pikiran, dan bantuan untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi;
- 2) Ibu Nadia Farhanah Syafhan, M.Si., Apt, selaku dosen pembimbing skripsi yang juga telah menyediakan waktu, pikiran, dan bantuan untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi;
- 3) Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Indonesia; Bapak Sutriyo S.Si., M.Si., Apt, selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan bantuan selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Indonesia; Bapak dan Ibu staf pengajar atas ilmu pengetahuan dan bantuan yang telah diberikan selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi UI;
- 4) Bapak dan ibuku tersayang yang senantiasa memberikan doa, nasehat, perhatian, dan semangat demi kelancaran studi dan penyusunan skripsi ini;
- 5) Teman satu angkatan yang membantu kelancaran skripsi Septi, Jaka, Khesia, Dita, Evennia, Mawar, Nada, Melda, Ka Indana, dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu.

Penulis berharap Tuhan yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini dapat berguna bagi para pembaca.

Penulis
2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Haviani Rizka Nurcahyaningtyas
NPM : 0806398303
Program Studi : S1
Fakultas : Farmasi
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Efek Antihiperlipidemia Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) pada Tikus Putih Jantan yang Diberi Diit Tinggi Kolesterol dan Lemak

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal: 12 Juli 2012
Yang menyatakan



(Haviani Rizka Nurcahyaningtyas)

ABSTRAK

Nama : Haviani Rizka Nurcahyaningtyas
Program Studi : Farmasi
Judul : Efek Antihiperlipidemia Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) pada Tikus Putih Jantan yang Diberi Diit Tinggi Kolesterol dan Lemak

Hiperlipidemia merupakan peningkatan kadar kolesterol atau trigliserida atau kedua-duanya di atas batas normal yang menjadi penyebab utama aterosklerosis. Susu kacang kedelai telah diteliti memiliki efek antihiperlipidemia karena diduga mengandung senyawa isoflavon, protein, dan lesitin. Tujuan penelitian untuk mengetahui efek susu kacang kedelai terhadap penurunan kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL, dan peningkatan kolesterol LDL pada tikus putih jantan. Tikus diberi diit tinggi kolesterol dan lemak dengan komposisi kuning telur 80%, larutan sukrosa 65% sebesar 15%, dan lemak hewani 5%. Tikus putih jantan galur *Sprague dawley* sebanyak 30 ekor dengan berat sekitar 200 g dibagi dalam enam kelompok yang terdiri dari kontrol normal (CMC 0,5%), kontrol perlakuan (diit tinggi kolesterol dan lemak), kontrol pembanding (simvastatin), dan kelompok uji yang diberi susu kacang kedelai dengan dosis 2,25 g/kg bb, 4,5 g/kg bb, dan 9 g/kg bb. Setelah 56 hari perlakuan dilakukan pengujian terhadap kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL, dan kolesterol LDL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa susu kacang kedelai dengan dosis 9 g/kg bb dapat menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, dan kolesterol LDL serta meningkatkan kadar kolesterol HDL paling baik dibandingkan dengan dosis 2,25 g/kg bb dan dosis 4,5 g/kg bb karena memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol normal.

Kata Kunci : HDL, hiperlipidemia, kolesterol, LDL, susu kacang kedelai, trigliserida

xv + 96 halaman; 8 gambar; 12 tabel

Daftar Acuan : 60 (1972-2012)

ABSTRACT

Name : Haviani Rizka Nurcahyaningtyas
Program Study : Pharmacy
Title : Antihyperlipidemia Effect of Soymilk (*Glycine max* (L.) Merr.)
in White Male Rats Which Given High Cholesterol and Fat Diet

Hyperlipidemia is elevated levels of cholesterol or triglycerides or both of them above normal limit that is a major cause of atherosclerosis. Soymilk have been studied for antihyperlipidemia effects because expected contain isoflavone, protein, and lecithin. This study aimed to determine effects of soymilk to decreased levels of total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol, LDL cholesterol and an increased in male white rats. Rats given high cholesterol and fat diet by composition of 80% yolk, 65% sucrose solution 15%, and 5% animal fat. Thirty white male rats *Sprague dawley* strain with body weight 200 gram were divided into 6 groups are normal control (CMC 0,5%), treatment control (high cholesterol and fat diet), comparator control (simvastatin), and test group who were given doses of soy milk with 2,25 g / kg body weight, 4,5 g / kg body weight, and 9 g / kg body weight. After 56 days, examination carried out on total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol, and LDL cholesterol. Result findings showed that soymilk with dose 9 g/kg body weight can reduced levels of total cholesterol, triglycerides, and LDL cholesterol and increased HDL cholesterol levels are best compared with a dose of 2,25 g / kg body weight and a dose of 4,5 g / kg body weight because it gives results that not significantly different compared with normal control.

Key Words : cholesterol, HDL, hyperlipidemia, LDL, soymilk, triglyserides
xv + 96 pages ; 8 pictures; 12 tables
Bibliography : 60 (1972-2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
1.3 Hipotesis	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Kedelai (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.).....	4
2.1.1 Klasifikasi	4
2.1.2 Morfologi	4
2.1.3 Nama daerah	6
2.1.4 Kandungan kimia kacang kedelai	6
2.1.5 Khasiat dan kegunaan	6
2.1.6 Farmakokinetika	8
2.1.7 Efek samping	8
2.2 Susu Kacang Kedelai	9
2.3 Lipid Plasma	10
2.3.1 Lipoprotein	10
2.3.1.1 Kilomikron	11
2.3.1.2 VLDL (<i>Very Low Density Lipoprotein</i>)	12
2.3.1.3 IDL (<i>Intermediate Density Lipoprotein</i>)	12
2.3.1.4 LDL (<i>Low Density Lipoprotein</i>)	12
2.3.1.5 HDL (<i>High Density Lipoprotein</i>)	13
2.3.2 Apolipoprotein	14
2.3.3 Kolesterol	15
2.3.4 Trigliserida	16
2.4 Klasifikasi Kadar Lipid dalam Plasma	17
2.5 Transpot Lipid	17
2.5.1 Jalur eksogen	17
2.5.2 Jalur endogen	18

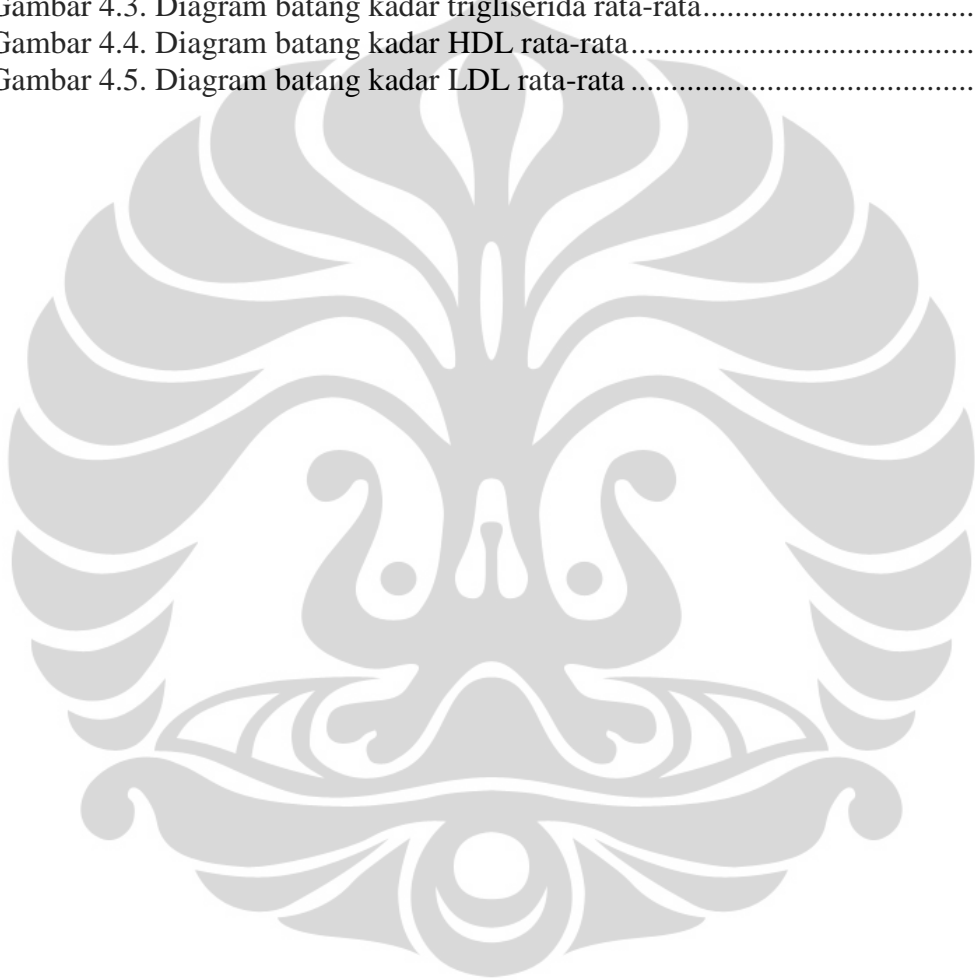
2.5.3 Jalur <i>reverse cholesterol transport</i>	19
2.6 Hiperlipidemia	19
2.7 Aterosklerosis	21
2.8 Penatalaksanaan Hiperlipidemia	22
2.8.1 Penatalaksanaan non farmakologi	22
2.8.1.1 Terapi nutrisi medis	22
2.8.1.2 Berat badan	23
2.8.1.3 Latihan fisik	23
2.8.2 Penatalaksanaan farmakologi	23
2.8.2.1 Penghambat HMG KoA reduktase	24
2.8.2.2 Resin	24
2.8.2.3 Asam fibrat	25
2.8.2.4 Asam nikotinat	26
2.8.2.5 Probukol	27
2.9 Metode Pengukuran Lipid Plasma	27
3. METODE PENELITIAN	31
3.1 Tempat dan Waktu	31
3.2 Bahan	31
3.2.1 Bahan uji	31
3.2.2 Bahan kimia	31
3.3 Hewan Uji	31
3.4 Alat	31
3.5 Cara Kerja	32
3.5.1 Penyiapan hewan uji	32
3.5.2 Penetapan dosis	32
3.5.2.1 Simvastatin	32
3.5.2.2 Kacang kedelai	32
3.5.3 Penyiapan bahan uji	33
3.5.3.1 Pembuatan susu kacang kedelai	33
3.5.3.2 Pembuatan suspensi simvastatin	33
3.5.3.3 Pembuatan makanan diit tinggi kolesterol dan lemak	33
3.5.4 Pelaksanaan percobaan	33
3.5.4.1 Pengelompokkan hewan uji dan perlakuan	33
3.5.4.2 Cara pengambilan darah	35
3.5.4.3 Penetapan kadar kolesterol total dalam plasma darah	35
3.5.4.4 Penetapan kadar trigliserida dalam plasma darah	36
3.5.4.5 Penetapan kadar kolesterol HDL dalam plasma darah	37
3.5.4.6 Penetapan kadar kolesterol LDL dalam plasma darah	39
3.5.5 Pengolahan data	39

4. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Pemberian Diit Tinggi Kolesterol dan Lemak	40
4.2 Proses Pembuatan Susu Kacang Kedelai	41
4.3 Pelaksanaan Percobaan Antihiperlipidemia	43
4.4 Pengukuran Kadar Kolesterol Total	45
4.5 Pengukuran Kadar Trigliserida	46
4.6 Pengukuran Kadar HDL.....	48
4.7 Pengukuran Kadar LDL	49
4.8 Aktivitas Kandungan Kimia dalam Susu Kacang Kedelai.....	50
5. KESIMPULAN DAN SARAN	55
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran	55
DAFTAR ACUAN	56



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Tanaman kedelai (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.).....	5
Gambar 2.2. Kacang kedelai (<i>Glycine Max</i> Semen).....	5
Gambar 2.3. Struktur umum lipoprotein plasma.....	11
Gambar 4.1. Susu kacang kedelai dalam variasi dosis	43
Gambar 4.2. Diagram batang kadar kolesterol total rata-rata	46
Gambar 4.3. Diagram batang kadar trigliserida rata-rata.....	47
Gambar 4.4. Diagram batang kadar HDL rata-rata.....	49
Gambar 4.5. Diagram batang kadar LDL rata-rata	50



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Apoprotein pada lipoprotein	15
Tabel 2.2. Klasifikasi kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan trigliserida.....	17
Tabel 2.3. Komposisi makanan untuk hiperkolesterolemia	22
Tabel 3.1. Pembagian kelompok dan perlakuan hewan uji.....	34
Tabel 3.2. Pengukuran kadar kolesterol total	36
Tabel 3.3. Pengukuran kadar trigliserida	37
Tabel 3.4. Prosedur presipitasi HDL.....	38
Tabel 3.5. Pengukuran kolesterol HDL.....	38
Tabel 4.1. Kadar kolesterol total rata-rata setiap kelompok	45
Tabel 4.2. Kadar trigliserida rata-rata setiap kelompok.....	46
Tabel 4.3. Kadar HDL rata-rata setiap kelompok	48
Tabel 4.4. Kadar LDL rata-rata setiap kelompok	49



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Tabel kadar kolesterol total tikus setelah perlakuan 56 hari	63
Lampiran 2.	Tabel kadar trigliserida tikus setelah perlakuan 56 hari	64
Lampiran 3.	Tabel kadar HDL tikus setelah perlakuan 56 hari	65
Lampiran 4.	Tabel kadar LDL tikus setelah perlakuan 56 hari.....	66
Lampiran 5.	Tabel kadar kolesterol total, trigliserida, HDL, dan LDL setelah perlakuan 56 hari.....	67
Lampiran 6.	Perhitungan dosis dan pembuatan susu kacang kedelai	68
Lampiran 7.	Perhitungan dosis dan pembuatan suspensi simvastatin.....	69
Lampiran 8.	Pembuatan diet tinggi kolesterol dan lemak	70
Lampiran 9.	Uji kualitatif protein susu kacang kedelai	71
Lampiran 10.	Uji kualitatif flavonoid susu kacang kedelai	72
Lampiran 11.	Uji kualitatif lesitin susu kacang kedelai.....	73
Lampiran 12.	Uji normalitas (Uji <i>Saphiro-Wilk</i>) terhadap kadar kolesterol total plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)	74
Lampiran 13.	Uji homogenitas (Uji <i>Levene</i>) terhadap kadar kolesterol total plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)	75
Lampiran 14.	Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap kadar kolesterol total plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0).....	76
Lampiran 15.	Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar kolesterol total plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)	77
Lampiran 16.	Uji normalitas (Uji <i>Saphiro-Wilk</i>) terhadap kadar trigliserida plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)	79
Lampiran 17.	Uji homogenitas (Uji <i>Levene</i>) terhadap kadar trigliserida plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0).....	80
Lampiran 18.	Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap kadar trigliserida plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0).....	81
Lampiran 19.	Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar trigliserida plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)	82
Lampiran 20.	Uji normalitas (Uji <i>Saphiro-Wilk</i>) terhadap kadar HDL plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0).....	84
Lampiran 21.	Uji homogenitas (Uji <i>Levene</i>) terhadap kadar HDL plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)	85
Lampiran 22.	Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap kadar HDL plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)	86
Lampiran 23.	Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar HDL plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)	87
Lampiran 24.	Uji normalitas (Uji <i>Saphiro-Wilk</i>) terhadap kadar LDL plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0).....	89
Lampiran 25.	Uji homogenitas (Uji <i>Levene</i>) terhadap kadar LDL plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)	90
Lampiran 26.	Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap kadar LDL plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)	91
Lampiran 27.	Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar LDL plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)	92

Lampiran 28.	Surat keterangan hewan uji	94
Lampiran 29.	Sertifikat analisis simvastatin.....	95
Lampiran 30.	Surat determinasi tanaman kedelai.....	96



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperlipidemia adalah peningkatan kadar kolesterol atau trigliserida atau kedua-duanya di atas batas normal (Brown, 2003). Hiperlipidemia merupakan penyebab utama aterosklerosis dan penyakit yang berkaitan dengan aterosklerosis, seperti penyakit jantung koroner, penyakit serebrovaskular iskemia, dan penyakit pembuluh perifer (Mahley dan Bersot, 2003).

Penelitian pada hewan coba memberikan harapan bahwa aterosklerosis bersifat reversibel. Atas dasar tersebut, dilakukan usaha untuk mencegah dan memperbaiki aterosklerosis antara lain dengan menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida dalam plasma (Suyatna, 2007).

Kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) telah digunakan secara luas sebagai obat tradisional dan sebagai makanan di negara-negara Asia. Pada negara-negara Asia mengkonsumsi 20–80 g makanan kacang kedelai setiap harinya yang mengandung komponen aktif biologis yang bervariasi, termasuk saponin, fitat, asam fenolat, lesitin, fitosterol, isoflavon, dan asam lemak omega-3 (Fukuda, Tsutsui, Yoshida, Toda, Tsuda, dan Ashida, 2011).

Terdapat bukti dari penelitian pada hewan dan penelitian klinik yang menyatakan bahwa kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) memberikan manfaat kesehatan, termasuk perbaikan profil lipid plasma yang diteliti oleh Chiechi, *et al* (2002), penurunan kondisi atau penyakit bergantung hormon seperti penyakit posmenopausal yang diteliti oleh Chiechi, Putignano, Guerra, Schiavelli, Cisternino, Carriero (2003), kanker payudara yang diteliti oleh Watanabe, Uesugi, dan Kikuchi (2002) dan osteoporosis yang diteliti oleh Devareddy, *et al.* (2006) serta Arjmandi dan Smith (2002).

Mekanisme aksi kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai agen terapi hiperkolesterolemia dan penyakit kardiovaskular adalah kacang kedelai mengandung fitoestrogen (isoflavon genistein dan daidzein) yang mungkin bertanggung jawab sebagai sifat penurun kolesterol (Ulbricht dan Seamon, 2010). Protein kacang kedelai nampaknya juga dapat menurunkan kolesterol serum,

terutama pada subjek hiperkolesterolemia (Sirtori, Anderson, dan Arnoldi, 2007). Selain isoflavon dan protein kacang kedelai, lesitin kacang kedelai juga dapat memberikan efek terapi atau pencegahan hiperlipidemia dan aterosklerosis dengan menurunkan absorpsi kolesterol di intestinal dan akhirnya dapat menurunkan kadar kolesterol darah (Mastellone, *et al.*, 2000).

Kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) dapat dimanfaatkan dalam berbagai bentuk, yaitu berupa kacang segar, terfermentasi atau kering. Hasil olahannya berupa susu, tahu, tempe, miso, kecap, dan kecambah (Sutarno, 1993). Menurut Hodgson, Croft, Puddey, dan Beilin (1996) makanan kacang kedelai, seperti tofu dan susu kacang kedelai, merupakan sumber makanan yang penting untuk populasi orang Asia.

Pada penelitian ini digunakan susu kacang kedelai sebagai objek perlakuan untuk mengetahui dan menguji efek antihiperlipidemia dibandingkan dengan hasil olahan kacang kedelai lain karena susu kacang kedelai merupakan minuman terbaik untuk mengganti produk susu sapi untuk orang-orang yang intoleransi terhadap laktosa (Chen, Liu, Yang, dan Suetsuna, 2004) dan kasein. Susu kacang kedelai merupakan minuman yang bergizi tinggi, terutama karena kandungan proteinnya (Esti dan Sediadi, 2000). Selain itu, susu kacang kedelai mempunyai serat pangan yang baik untuk melancarkan proses pencernaan tubuh. Terdapat beberapa penelitian tentang susu kacang kedelai dalam perbaikan profil lipid plasma (Chen, Liu, Yang, dan Suetsuna, 2004) dan aterosklerosis (Daniel, 2006). Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, dilakukan penelitian terhadap susu kacang kedelai dengan variasi dosis yang berbeda dengan harapan memperoleh hasil yang lebih baik terhadap penurunan kadar lipid dalam darah.

1.2 Tujuan Penelitian

Menganalisis efek antihiperlipidemia susu kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) ditinjau dari penurunan kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, dan peningkatan kadar kolesterol HDL pada tikus putih jantan yang diberi diet tinggi kolesterol dan lemak.

1.3 Hipotesis

Susu kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) dapat menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, dan kolesterol LDL serta meningkatkan kolesterol HDL pada tikus putih jantan yang diberi diit tinggi kolesterol dan lemak.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.)

2.1.1 Klasifikasi (Plowden, 1972)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Filum	: Angiosperms
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Polypetalae
Famili	: Leguminosae
Genus	: <i>Glycine</i>
Spesies	: <i>Glycine max</i> (L.) Merr.

2.1.2 Morfologi

Tanaman kedelai merupakan tanaman tahunan yang tumbuh lebat, berbulu, dan dapat tumbuh dengan tinggi sampai 2 meter (6,6 kaki) (Palaniswamy, 2008). Akar tanaman kedelai berupa akar tunggang yang membentuk cabang-cabang akar. Akar tumbuh ke arah bawah, sedangkan cabang akar berkembang menyamping (horizontal) tidak jauh dari permukaan tanah. Jika kelembapan tanah turun, akar akan berkembang lebih ke dalam agar dapat menyerap air dan unsur hara. Pertumbuhan ke samping dapat mencapai jarak 40 cm, dengan kedalaman hingga 120 cm. Selain berfungsi sebagai tempat bertumpunya tanaman dan alat pengangkut air maupun unsur hara, akar tanaman kedelai juga merupakan tempat terbentuknya bintil akar (Pitojo, 2003).

Tanaman kedelai berbatang pendek (30-100 cm), memiliki 3-6 percabangan, dan berbentuk tanaman perdu. Pada pertanaman yang rapat sering kali tidak terbentuk percabangan atau hanya bercabang sedikit. Batang tanaman kedelai berkayu, biasanya kaku dan tahan rebah (Pitojo, 2003).

Pada node pertama tanaman kedelai yang tumbuh dari biji terbentuk sepasang daun tunggal. Selanjutnya, pada semua node di atasnya terbentuk satu daun bertiga (trifoliat). Daun majemuk, bertangkai pendek bentuk daun oval (Mun'im dan Hanani, 2011).



Gambar 2.1. Tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.)

Bunga berwarna putih, merah muda, biru kehijauan, violet, atau ungu; polong membujur dan menggantung dengan panjang 2-8 cm dan lebar 0,5-2 cm (Palaniswamy, 2008). Biji, atau yang dikenal sebagai kacang, terdapat di dalam polong. Setiap polong berisi 1-4 biji. Pada saat masih muda, biji berukuran kecil, berwarna putih kehijauan, dan lunak. Pada perkembangan selanjutnya biji semakin berisi, mencapai berat maksimal, dan keras. Biji atau kacang kedelai berkeping dua dan terbungkus oleh kulit tipis (Pitojo, 2003). Pada umumnya, biji berbentuk bulat telur-lonjong dan kulit biji berwarna kuning, coklat sampai hitam (Mun'im dan Hanani, 2011).



Gambar 2.2. Kacang kedelai (*Glycine Max Semen*)

2.1.3 Nama daerah

Tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) dikenal dengan berbagai nama daerah yaitu sojaboom, soja, soja bohne, soybean, kedele, kacang gimbol, kacang bulu, kacang ramang, retak mejong, kacang bulu, kacang jepun, dekeman, dekenana, demekun, dele, kadele, kadang jepun, lebei bawak, lawui, sarupapa titak, dole, kadule, puwe mon, dan gadelei (Pitojo, 2003).

2.1.4 Kandungan kimia kacang kedelai

Kedelai mengandung dua tipe fitoestrogen, yaitu isoflavon termasuk genistein, daidzein dan derivatnya, ononin, isoformononetin, dan komestan seperti komestrol. Terdapat kandungan minyak yang komponen utamanya adalah linoleat dan asam linolenat, dan fitosterol yang mengandung β -sitosterol dan stigmasterol (Heinrich, Barnes, Gibbons, dan Williamson, 2004).

Kacang kedelai dapat dinyatakan mengandung 35% karbohidrat, protein hingga 45-50%, 20% minyak, saponin, sterol, tokoferol, fosfolipid, lektin, dan isoflavonoid. Minyaknya mengandung gliserida asam linoleat (50%), asam oleat (30-35%), asam linolenat (6-7%), palmitat (6%) dan asam stearat (4%) (Daniel, 2006; Samuelsson, 1999). Kedelai kering mengandung 35% protein, 19% minyak, 28% karbohidrat, 5% mineral, vitamin B, dan tokoferol (Palaniswamy, 2008).

Setiap 100 g bagian kering kacang kedelai yang dapat dimakan mengandung: 35 g protein, 32 g karbohidrat, 18 g lemak, 4 g serat, dan nilai energinya 1.680 kJ/100 g (Sutarno, 1993).

2.1.5 Khasiat dan kegunaan

Isoflavon dan komestan yang merupakan fitoestrogenik, sekarang digunakan sebagai terapi pengganti hormon dari bentuk natural. Inklusi diet makanan kacang kedelai menghasilkan penurunan dalam beberapa faktor risiko klinis osteoporosis dan penyakit kardiovaskular pada wanita menopause, dan perbaikan profil lipid (Heinrich, Barnes, Gibbons, dan Williamson, 2004). Manfaat kesehatan utama yang terkait dengan konsumsi kacang kedelai yaitu pencegahan osteoporosis dan penyakit kardiovaskular, pengaturan metabolisme lipid, dan promosi koagulasi darah. Kacang kedelai telah menunjukkan efek

hipokolestrolemik, antiaterogenik, antikarsinogenik, dan antialergenik (Palaniswamy, 2005).

Nahas, Nahas-Neto, Orsatti, Carvalho, Oliveira, dan Dias (2007) melakukan sebuah penelitian terhadap 80 wanita pascamenopause sehat yang 5 orang atau lebih pernah melaporkan mengalami episode rasa panas (*hot flush*) per hari di kelompokkan secara acak, 40 wanita diberikan 250 mg ekstrak isoflavon kacang kedelai sedangkan 40 wanita pascamenopause lainnya sebagai plasebo. Setelah 10 bulan, terdapat penurunan rasa panas yang signifikan pada kelompok yang diberi ekstrak isoflavon kacang kedelai dibandingkan kelompok plasebo. Terdapat penelitian tentang isoflavon kacang kedelai memperlihatkan peningkatan fungsi kognitif secara signifikan pada wanita pascamenopause yang diberi 60 mg isoflavon kacang kedelai per hari selama 12 minggu (Yoon-Bok Lee, Hyong Joo Lee, dan Sohn, 2005).

Pada peneliti mengemukakan bahwa komponen kedelai spesifik, seperti isoflavon genistein dan daidzein yang mungkin bertanggung jawab sebagai sifat penurun kolesterol. Tetapi hal ini belum didemonstrasikan dengan jelas dalam penelitian dan masih diperdebatkan. Produk yang mengandung isolat isoflavon kedelai masih belum diketahui apakah mempunyai efek yang sama sebagai asupan makanan protein kedelai (Ulbricht, 2010).

Penambahan protein kacang kedelai dalam makanan cukup dapat menurunkan kadar kolesterol LDL sampai 10%. Sedikit reduksi pada trigliserida juga dapat terjadi, kadar HDL tampaknya tidak berubah secara signifikan. Efek terbaik tampak terjadi pada orang dengan kadar kolesterol tinggi, dan manfaat berlangsung selama diet dilanjutkan (Ulbricht dan Seamon, 2010).

Beberapa studi melaporkan tentang efek antiobesitas dan hipoglikemik makanan kaya isoflavon pada manusia dan hewan. Genistein merupakan isoflavon utama dalam kedelai, dilaporkan secara nyata menurunkan berat badan dan jumlah lemak. Protein kedelai tampaknya mempengaruhi pengaturan gen yang terlibat dalam metabolisme lipid dan glukosa, meningkatkan sensitivitas insulin, mengatur oksidasi asam lemak di hati, dan meningkatkan metabolisme lemak di jaringan adiposa. Pola makan diet dengan kedelai telah terbukti mengurangi lemak tubuh

dan kelebihan berat badan dari pasien obesitas dari segi pembatasan kalori (Mun'im dan Hanani, 2011).

Minyak kacang kedelai dikenal dapat menurunkan trombosis dan bermanfaat dalam pengobatan koletiasis. Susu kacang kedelai bermanfaat dalam pengobatan diare (pada infant) dan aterosklerosis. Isoflavon adalah estrogenik dan bermanfaat dalam pengobatan kanker payudara dengan penghambatan aktivitas protein tirosin kinase (Daniel, 2006).

2.1.6 Farmakokinetika

Di dalam saluran pencernaan, kedelai mengalami metabolisme oleh bakteri usus, kemudian diabsorpsi di dalam usus, dan ditransportasikan melalui vena porta dan dimetabolisme di hati. Sekitar 10-22% isoflavon yang terkandung dalam kedelai diekskresikan melalui urin. Waktu paruh isoflavon daidzein dan genistein sekitar 7-8 jam (Mun'im dan Hanani, 2011).

2.1.7 Efek samping

Kedelai termasuk katagori GRAS (*Generally Regarded As Safe*) dan telah lama digunakan sebagai makanan pokok di Asia. Efek samping yang paling sering terjadi adalah reaksi alergi dan gangguan lambung dan usus seperti sakit perut, mual, dan konstipasi (Mun'im dan Hanani, 2011). Rentang gejala reaksi alergi dari hidung berair sampai dapat terjadi penurunan tekanan darah secara tiba-tiba. Berdasarkan laporan kasus pada manusia dan penelitian pada hewan, kedelai mungkin dapat mempengaruhi jumlah hormon tiroid pada infant yaitu menyebabkan penyakit gondok karena meningkatnya ukuran tiroid walaupun jarang terjadi. Jumlah hormon akan kembali normal lagi setelah menghentikan konsumsi kedelai. Sakit kepala karena migrain akut telah dilaporkan karena mengkonsumsi produk isoflavon kedelai. Terdapat laporan kasus riketsia defisiensi vitamin D pada infant karena konsumsi susu kacang kedelai (formula tidak dikhususkan untuk infant). Dalam sebuah studi pada manusia, infant berjenis kelamin laki-laki yang lahir dari wanita yang mengkonsumsi susu kacang kedelai atau produk kedelai lainnya selama kehamilan mempunyai pengalaman lebih sering terjadi hipospadia. Tetapi studi pada hewan dan pada manusia lainnya yang

diuji pada infant laki-laki atau perempuan yang diberi formula kedelai tidak ditemukan abnormalitas dalam pertumbuhan infant, yaitu pertumbuhan lingkaran kepala, panjang, dan berat (penis), pubertas, menstruasi, atau kemampuan reproduksi (Ulbricht, 2010).

Kacang kedelai dapat dimanfaatkan dalam berbagai bentuk, yaitu berupa kacang segar, terfermentasi atau kering. Hasil olahannya berupa susu, tahu, tempe, miso, kecap, dan kecambah. Minyak hasil ekstraksi dari kacangnya digunakan untuk berbagai industri, seperti untuk membuat margarin, minyak salad, dan minyak goreng (Sutarno, 1993).

2.2 Susu Kacang Kedelai

Susu kacang kedelai adalah sari kedelai yang diproses dengan menghancurkan biji kedelai dalam air dingin atau panas (Jumadi, 2009). Susu kacang kedelai dapat dibuat dengan teknologi dan peralatan yang sederhana, serta tidak memerlukan keterampilan khusus (Esti dan Sediadi, 2000). Susu kacang kedelai tradisional adalah ekstrak air sederhana kedelai yang dibuat dari rendaman kedelai dalam air semalaman, penggilingan kedelai basah, pengukusan massa gilingan kedelai untuk meningkatkan rasa dan nilai nutrisi, dan saring (Saidu, 2005, hal. 17). Karena kandungan protein yang tinggi, susu kacang kedelai merupakan minuman terbaik untuk mengganti produk susu sapi untuk orang-orang yang intoleransi terhadap laktosa (Chen, Liu, Yang, dan Suetsuna, 2004) dan kasein. Susu kacang kedelai memiliki protein 3,6 % dengan fraksi protein utama mengandung glisinin dan konglisinin sedangkan susu sapi memiliki protein 3,29% dengan fraksi protein utamanya mengandung sebagian besar kasein (Panchal, 2009).

Secara umum, susu kedelai mengandung protein sekitar 3,6%, karbohidrat 2,9%, lemak 2,0%. Setiap 100 g kacang kedelai kering yang dibuat susu kacang kedelai dengan perendaman pada temperatur air mengandung 3,6% protein, 2,9% karbohidrat, 2,0% lemak (40-48% berupa asam lemak jenuh dan 52-60% berupa asam lemak tak jenuh), 1,3 % serat, dan nilai energinya 44 kalori/100 g berat kering kacang kedelai. Susu kacang kedelai mengandung isoflavon dalam jumlah

besar yang merupakan agen fitokimia utama untuk meningkatkan dan menjaga kesehatan (Panchal, 2009).

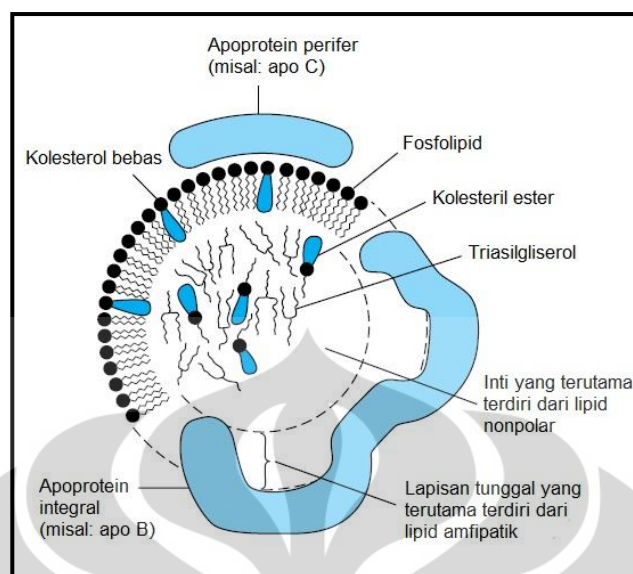
Tahap pengolahan susu kacang kedelai meliputi pembersihan, perendaman, penghancuran, penyaringan, pemanasan, serta penambahan rasa dan aroma. Perendaman dimaksudkan untuk menghilangkan zat-zat yang rasanya tidak enak atau yang menimbulkan bau langu. Perendaman dalam air yang ditambahkan natrium hidroksida 0,1%, natrium fosfat, atau essen dapat memperbaiki rasa susu kacang kedelai (Jumadi, 2009).

2.3 Lipid Plasma

Lipid plasma terdiri dari triasilgliserol (16%), fosfolipid (30%), kolesterol (14%), dan ester kolesterol (36%), serta sedikit asam lemak rantai panjang tak teresterifikasi (asam lemak bebas, FFA) (4%) merupakan lemak plasma yang paling aktif secara metabolik (Botham dan Mayes, 2006). Lipid plasma tersebut diangkut dari sirkulasi ke dalam hati dan otot dalam bentuk lipoprotein.

2.3.1 Lipoprotein

Di dalam darah ditemukan tiga jenis lipid yaitu kolesterol, trigliserid, dan fosfolipid. Sifat lipid sukar larut dalam air oleh karena itu dibutuhkan suatu zat pelarut yaitu suatu protein yang dikenal dengan nama apolipoprotein atau apoprotein. Senyawa lipid dengan apoprotein ini dikenal dengan nama lipoprotein (Adam, 2006). Lipoprotein ini memiliki struktur misel, dengan lipid nonpolar terkandung dalam pusat hidrofobik yang dikelilingi oleh lipid amfipatik dan protein. Protein hidrofilik dan komponen lipid bertugas mengangkut lipid nonpolar (Montgomery, Dryer, Conway, dan Spector, 1993). Setiap lipoprotein terdiri atas kolesterol (bebas atau ester), trigliserid, fosfolipid, dan apoprotein. Lipoprotein berbentuk sferik dan mempunyai inti trigliserid dan kolesterol ester dan dikelilingi oleh fosfolipid dan sedikit kolesterol bebas. Apoprotein ditemukan pada permukaan lipoprotein.



[sumber: Mayes dan Botham, 2003, telah diolah kembali]

Gambar 2.3. Struktur umum lipoprotein plasma

Setiap lipoprotein berbeda dalam ukuran, densitas, komposisi lemak, dan komposisi apoprotein. Dengan elektroforesis, lipoprotein dibedakan menjadi 5 golongan besar yaitu:

2.3.1.1 Kilomikron

Lipoprotein ini terdiri dari trigliserida (lebih dari 80%) dan kolesterol ester (kurang dari 5%) (Suyatna, 2007). Kilomikron disintesis dalam mukosa usus selama proses penyerapan produk pencernaan lemak. Kilomikron berupa kompleks molekul yang sangat besar dengan kepadatan yang sangat rendah. Kilomikron merefraksi cahaya dan menyebabkan plasma nampak seperti susu bila berada dalam konsentrasi yang terlampaui tinggi. Lipoprotein ini disekresi ke dalam limfe dan memasuki darah melalui duktus torasikus (Montgomery, Dryer, Conway, dan Spector, 1993).

Kilomikron dibersihkan dari sirkulasi oleh kerja lipoprotein lipase, yang terletak di permukaan endotel kapiler. Enzim ini mengatalisis pemecahan trigliserida di dalam kilomikron menjadi asam lemak bebas dan gliserol yang kemudian masuk ke sel adiposa dan direesterifikasi, jika tidak, asam lemak bebas tetap berada di dalam sirkulasi dengan terikat pada albumin. Kilomikron yang

kehabisan trigliseridanya tetap berada di sirkulasi sebagai lipoprotein kaya kolesterol yang disebut sisa kilomikron (kilomikron remnant). Sisa kilomikron ini dibawa ke hati, tempat sisa kilomikron ini berikatan dengan kilomikron lain dan reseptor LDL. Sisa kilomikron ini segera diinternalisasi melalui proses endositosis berperantara reseptor dan diuraikan di dalam lisosom (Ganong, 2005).

2.3.1.2 VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*)

Lipoprotein ini merupakan kelas lipoprotein dengan densitas terendah kedua (Cenedella, 1997) yang memiliki Apo C, Apo E, dan Apo B-100 (Forster, 1998). VLDL disintesis di dalam hati dan mempunyai waktu paruh kira-kira 12 jam. Fungsi VLDL adalah mengangkut asam lemak bebas dari hati ke jaringan perifer (Forster, 1998). VLDL juga mengangkut sejumlah kolesterol secara signifikan yang berasal dari sintesis *de novo* dan dari makanan secara tidak langsung. Trigliserida dari VLDL, seperti kilomikron, didegradasi oleh lipoprotein lipase menjadi VLDL remnant atau IDL setelah dihilangkan sejumlah trigliserida (Cenedella, 1997).

2.3.1.3 IDL (*Intermediate Density Lipoprotein*)

Lipoprotein ini mengandung trigliserida (30%), kolesterol (20%), dan relatif lebih banyak mengandung apoprotein B dan apoprotein E. IDL adalah zat perantara yang terjadi sewaktu VLDL dikatabolisme menjadi LDL, tidak terdapat dalam kadar yang besar kecuali bila terjadi hambatan konversi lebih lanjut (Suyatna, 2007). IDL secara langsung dibersihkan dari sirkulasi dengan cara berinteraksi dengan reseptor apoprotein B/E hepatic atau dikonversi menjadi LDL. Konversi IDL menjadi LDL melibatkan penghilangan trigliserida dan apoprotein E (Cenedella, 1997).

2.3.1.4 LDL (*Low Density Lipoprotein*)

Lipoprotein ini mempunyai waktu paruh sekitar 3 hari. LDL mengandung sekitar 65% kolesterol dan bertindak sebagai pengangkut kolesterol dari darah ke hati dan jaringan ekstrahepatik. Hanya Apo B-100 yang bergabung dengan LDL (Forster, 1998).

Jalur utama katabolisme LDL berlangsung lewat endositosis berperantara reseptor di hati dan sel lain. Ester kolesterol dari inti LDL dihidrolisis menghasilkan kolesterol bebas untuk sintesis sel membran dan hormon steroid. Selain lewat proses endositosis sel juga mendapat kolesterol dari sintesis *de novo* lewat HMG KoA reduktase. Produksi enzim ini dan reseptor LDL diatur lewat transkripsi genetik berdasarkan tinggi rendahnya kadar kolesterol dalam sel (Suyatna, 2007).

Sebagian LDL tampaknya dibentuk dari VLDL. Waktu paruh untuk hilangnya apo B-100 dalam LDL dari sirkulasi darah adalah sekitar 2 hari. Sekitar 30% LDL akan diuraikan di jaringan ekstrahepatik dan 70% lainnya di hati (Mayes, 2001b).

2.3.1.5 HDL (*High Density Lipoprotein*)

Lipoprotein ini disintesis dalam hati dan usus, namun sintesis di usus terjadi lewat rute tak langsung. HDL bekerja sebagai katalis, mempermudah katabolisme VLDL dan kilomikron. HDL memberikan komponen protein yang diperlukan untuk mengaktifkan lipoprotein lipase dan LCAT (*lecithin cholesterol acyltransferase*). HDL yang dilepaskan ke dalam plasma tersusun terutama dari fosfolipid dan apoprotein, dan mempunyai struktur datar dan diskoid dinamakan *HDL nascent* (Montgomery, Dryer, Conway, dan Spector, 1993). *HDL nascent* (HDL yang baru disekresikan yang terdiri atas lapisan-ganda fosfolipid berbentuk cakram yang mengandung apo A dan kolesterol bebas) dari intestinum tidak mengandung apoprotein C atau E, tetapi hanya mengandung apoprotein A. Jadi, apo C dan E disintesis di hati dan dipindahkan kepada HDL intestinum ketika HDL ini memasuki plasma darah (Mayes, 2001b).

HDL yang berasal dari kilomikron disekresi oleh sel mukosa usus. Oleh karena itu usus tidak langsung melepas *HDL nascent* ke dalam plasma (Montgomery, Dryer, Conway, dan Spector, 1993). Fungsi utama HDL adalah bertindak sebagai tempat penyimpanan untuk apo C dan E yang dibutuhkan dalam metabolisme kilomikron dan VLDL (Mayes, 1001b). HDL merupakan lipoprotein protektif yang menurunkan risiko penyakit jantung koroner. Efek protektifnya diduga karena mengangkut kolesterol dari perifer untuk dimetabolisasi di hati dan

menghambat modifikasi oksidatif LDL melalui paraoksonase, suatu protein antioksidan yang berasosiasi dengan HDL (Suyatna, 2007).

2.3.2 Apolipoprotein

Apolipoprotein atau apoprotein merupakan unsur pokok protein pada lipoprotein dan mempunyai struktur dan fungsi yang penting. Apoprotein memiliki bagian polar dan non polar. Bagian polar terletak mengarah ke medium akueous dan bagian nonpolar terikat dan mengelilingi trigliserida dan kolesterol ester. Fungsi apoprotein sebagai sel ligan yang dapat berikatan dengan sel permukaan spesifik reseptor lipoprotein, abnormalitas pada ikatan tersebut dapat menyebabkan dislipidemia. Apoprotein juga berfungsi mengaktifkan dan menghambat enzim. Misalnya, lipoprotein lipase diaktifkan oleh apo C-II dan dihambat oleh apo C-III. Defisiensi apo C-II menyebabkan kerusakan dalam aktivasi lipoprotein lipase dan menyebabkan hidrolisis kilomikron dan VLDL menjadi tidak sempurna. Apo A-I merupakan kofaktor untuk mengaktifkan LCAT yang harus diaktifkan sebelum esterifikasi kolesterol terjadi (Forster, 1998).

Beberapa apoprotein bersifat menyatu (integral) dan tidak bisa dilepaskan, sementara sebagian lagi dapat berpindah dengan bebas ke lipoprotein lainnya. Satu atau lebih apoprotein ditemukan pada setiap lipoprotein. Menurut tatanama ABC, apoprotein utama HDL (α -lipoprotein) diberi simbol A. Apoprotein utama LDL (β -lipoprotein) adalah apoprotein B, yang juga ditemukan pada VLDL dan kilomikron. Akan tetapi, apo B pada kilomikron (B-48) lebih kecil daripada Apo B-100 di hati. Apoprotein C-I, C-II, dan C-III merupakan polipeptida berukuran lebih kecil yang dipindahkan secara bebas di antara beberapa lipoprotein yang berlainan. Beberapa apoprotein lainnya telah ditemukan pula pada lipoprotein plasma. Salah satunya adalah apoprotein E yang kaya akan arginin dan diisolasi dari VLDL serta HDL (Mayes, 2001b).

Tabel 2.1. Apoprotein pada lipoprotein

Apoprotein	Lipoprotein	Lokasi sintesis	Fungsi
Apo A-I	HDL, kilomikron	hati, usus	sebagai struktur di HDL; kofaktor LCAT; ligan reseptor HDL; transpor balik kolesterol
Apo A-II	HDL, kilomikron	hati	membentuk kompleks -S-S- dengan apo E-2 dan E-3, yang menghambat pengikatan E-2 dan E-3 dengan reseptor lipoprotein
Apo B-100	LDL, VLDL, IDL	hati	protein struktur VLDL, IDL, LDL; ligan reseptor LDL
Apo B-48	Kilomikron, sisa kilomikron	usus	protein struktur kilomikron
Apo C-I	VLDL, HDL, kilomikron	hati	aktivator LCAT, memodulasi pengikatan reseptor pada remnan
Apo C-II	VLDL, HDL, kilomikron	hati	kofaktor lipoprotein lipase
Apo C-III	VLDL, HDL, kilomikron	hati	memodulasi pengikatan reseptor pada remnan
Apo E	VLDL, IDL, HDL, kilomikron, sisa kilomikron	Hati, otak, kulit, gonad, limpa	ligan untuk reseptor LDL dan reseptor yang mengikat remnan; transpor balik kolesterol (HDL dengan apo E)

[Sumber: Mahley dan Bersot, 2008; Mayes, 2001b, telah diolah kembali]

2.3.3 Kolesterol

Kolesterol adalah prekursor hormon steroid dan asam empedu dan merupakan unsur pokok yang penting dalam membran sel. Zat ini hanya ditemukan pada hewan. Kebanyakan kolesterol dalam diet terkandung di dalam kuning telur dan lemak hewani. Kadar kolesterol plasma menurun oleh hormon tiroid dan estrogen. Kedua hormon ini meningkatkan jumlah reseptor LDL di hati. Estrogen juga meningkatkan kadar HDL plasma (Ganong, 2005).

Biosintesis kolesterol dapat dibagi menjadi lima tahap. (1) Mevalonat, yang merupakan senyawa enam-karbon, disintesis dari asetil KoA. (2) Unit isoprenoid dibentuk dari mevalonat dengan menghilangkan CO₂. (3) Enam unit

isoprenoit mengadakan kondensasi untuk membentuk intermediat, skualen. (4) Skualen mengalami siklisasi untuk menghasilkan senyawa steroid induk, yaitu lanosterol. (5) Kolesterol dibentuk dari lanosterol setelah melewati beberapa tahap lebih lanjut, termasuk menghilangnya tiga gugus metil. Sintesis kolesterol dikendalikan oleh regulasi HMG KoA reduktase. Diantara unsur-unsur lipid serum, kolesterol adalah yang paling sering dianggap sebagai satu-satunya lipid yang terlibat dalam hubungan dengan insiden aterosklerosis dan penyakit jantung koroner (Mayes, 2001d).

2.3.4 Trigliserida

Trigliserida (triasilgliserol) merupakan ester dari alkohol gliserol dengan asam lemak. Hampir seluruhnya merupakan asilgliserol campuran (Mayes, 2001a). Trigliserida adalah bentuk lemak yang paling efisien untuk menyimpan kalor yang penting untuk proses-proses yang membutuhkan energi dalam tubuh. Trigliserida banyak didapatkan dalam sel-sel lemak; merupakan 99% dari volume sel (kecuali pada masa kanak-kanak, yang jumlahnya berkurang). Disamping digunakan sebagai sumber energi, trigliserida dapat dikonversi menjadi kolesterol, fosfolipid dan bentuk lipid lain jika dibutuhkan. Sebagai jaringan lemak, trigliserida juga mempunyai fungsi fisik yaitu sebagai bantalan tulang-tulang dan organ-organ vital; melindungi organ-organ tersebut dari guncangan atau kerusakan. Jantung, ginjal, epididimus, dan kelenjar air susu yang terbungkus oleh lapisan jaringan lemak. Lemak bawah kulit (subkutan) juga berfungsi sebagai insulator dari panas maupun dingin (Linder, 2006).

Biosintesis triasilgliserol terbentuk dari senyawa gliserol 3-fosfat. Dua molekul asil KoA bergabung dengan gliserol 3-fosfat untuk membentuk senyawa fosfatidat (1,2-diasilgliserol fosfat). Reaksi ini terjadi dalam 2 tahap lewat lisofosfatidat, yang mula-mula dikatalisis oleh gliserol-3-fosfat asiltransferase dan kemudian oleh 1-asilgliserol-3-fosfat asiltransferase. Senyawa fosfatidat dikonversi oleh fosfatidat fosfohidrolase menjadi 1,2-diasilgliserol. Molekul asil KoA yang berikutnya akan diesterifikasi dengan diasilgliserol untuk membentuk triasilgliserol yang dikatalisis oleh diasilgliserol asiltransferase (Mayes, 2001c).

2.4 Klasifikasi Kadar Lipid dalam Plasma

Tabel 2.2. Klasifikasi kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan trigliserida

Kolesterol total	
< 200 mg/dL	Optimal
200-239 mg/dL	Diinginkan
≥ 240 mg/dL	Tinggi
Kolesterol LDL	
< 100 mg/dL	Optimal
100-129 mg/dL	Mendekati optimal
130-159 mg/dL	Diinginkan
160-189 mg/dL	Tinggi
≥ 190 mg/dL	Sangat Tinggi
Kolesterol HDL	
< 40 mg/dL	Rendah
≥ 60 mg/dL	Tinggi
Trigliserida	
< 150 mg/dL	Optimal
150-199 mg/dL	Diinginkan
200-499 mg/dL	Tinggi
≥ 500 mg/dL	Sangat Tinggi

[sumber: Adam, 2006, telah diolah kembali]

2.5 Transpor Lipid

Lipid darah diangkut dengan 3 cara yaitu jalur eksogen, jalur endogen, dan jalur *reverse cholesterol transport*. Kedua jalur pertama berhubungan dengan metabolisme kolesterol LDL dan trigliserida, sedangkan jalur *reverse cholesterol transport* khusus mengenai metabolisme kolesterol HDL (Adam, 2006).

2.5.1 Jalur eksogen (Suyatna, 2007)

Trigliserida dan kolesterol yang berasal dari makanan dalam usus dikemas sebagai kilomikron. Kilomikron ini akan diangkut dalam saluran limfe lalu ke dalam darah via duktus torasikus. Di dalam jaringan lemak, trigliserida dalam

kilomikron mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase yang terdapat pada permukaan sel endotel. Akibat hidrolisis ini akan terbentuk asam lemak dan kilomikron remnan. Asam lemak bebas akan menembus endotel dan masuk ke dalam jaringan lemak atau sel otot untuk diubah menjadi trigliserida kembali (cadangan) atau dioksidasi (energi).

Kilomikron remnan adalah kilomikron yang telah dihilangkan sebagian besar trigliseridanya sehingga ukurannya mengecil tetapi jumlah ester kolesterol tetap. Kilomikron remnan ini akan dibersihkan oleh hati dari sirkulasi dengan mekanisme endositosis oleh lisosom. Hasil metabolisme ini berupa kolesterol bebas yang akan digunakan untuk sintesis berbagai struktur (membran plasma, mielin, hormon steroid, dsb.), disimpan dalam hati sebagai kolesterol ester lagi atau diekskresi ke dalam empedu (sebagai kolesterol atau asam empedu) atau diubah menjadi lipoprotein endogen yang dikeluarkan ke dalam plasma. Kolesterol juga dapat disintesis dari asetat yang dikatalisis oleh HMG KoA reduktase yang menjadi aktif jika terdapat kekurangan kolesterol endogen. Asupan kolesterol dari darah juga diatur oleh jumlah reseptor LDL yang terdapat pada permukaan sel hati.

2.5.2 Jalur endogen (Suyatna, 2007)

Trigliserida dan kolesterol yang disintesis oleh hati diangkut secara endogen dalam bentuk VLDL kaya trigliserida dan mengalami hidrolisis dalam sirkulasi oleh lipoprotein lipase yang juga menghidrolisis kilomikron menjadi partikel lipoprotein yang lebih kecil yaitu IDL dan LDL. LDL merupakan lipoprotein yang mengandung kolesterol paling banyak (60-70%). LDL mengalami katabolisme melalui reseptor seperti di atas dan jalur non reseptor. Jalur katabolisme reseptor dapat ditekan oleh produksi kolesterol endogen. Pasien hiperkolesterolemia familial heterozigot mempunyai kira-kira 50% reseptor LDL yang fungsional. Pada pasien ini katabolisme LDL oleh hati dan jaringan perifer berkurang sehingga kadar kolesterol plasmanya meningkat. Peningkatan kadar kolesterol sebagian disalurkan ke dalam makrofag yang akan membentuk sel busa (*foam cells*) yang berperan dalam terjadinya aterosklerosis prematur.

Bentuk homozigot lebih jarang dan lebih berbahaya sehingga pada usia anak dapat terjadi serangan infark jantung. HDL berasal dari hati dan usus sewaktu terjadi hidrolisis kilomikron di bawah pengaruh enzim *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT). Ester kolesterol ini akan mengalami perpindahan dari HDL kepada VLDL atau IDL sehingga dengan demikian terjadi kebalikan arah transpor kolesterol dari perifer menuju ke hati untuk dikatabolisasi. Aktivitas ini mungkin berperan sebagai sifat antiaterogenik.

2.5.3 Jalur *reverse cholesterol transport* (Adam, 2006)

HDL dilepaskan sebagai partikel kecil miskin kolesterol yang mengandung apolipoprotein (apo) A, C, dan E; dan disebut HDL *nascent*. HDL *nascent* berasal dari usus halus dan hati, mempunyai bentuk gepeng dan mengandung apolipoprotein A1. HDL *nascent* berubah menjadi HDL dewasa yang berbentuk bulat. Agar dapat diambil oleh HDL *nascent*, kolesterol (kolesterol bebas) di bagian dalam dari makrofag harus dibawa ke permukaan membran sel makrofag oleh suatu transporter yang disebut ABC-1 (*adenosine triphosphate-binding cassette transporter-1*).

Setelah mengambil kolesterol bebas dari sel makrofag, kolesterol bebas akan diesterifikasi menjadi kolesterol ester oleh *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT). Selanjutnya sebagian kolesterol ester yang dibawa oleh HDL akan mengambil dua jalur. Jalur pertama ialah ke hati dan ditangkap oleh *scavenger receptor class B* tipe 1 dikenal dengan SR-B1. Jalur kedua adalah kolesterol ester dalam HDL akan dipertukarkan dengan trigliserida dari VLDL dan IDL dengan bantuan CETP (*cholesterol ester transfer protein*). Dengan demikian, fungsi HDL sebagai penarik kolesterol dari makrofag mempunyai dua jalur yaitu langsung ke hati dan jalur tidak langsung melalui VLDL dan IDL untuk membawa kolesterol kembali ke hati.

2.6 Hiperlipidemia

Istilah hiperlipidemia menyatakan peningkatan kolesterol dan/atau trigliserida serum di atas batas normal. Kasus dengan kadar tinggi yang disebabkan oleh gangguan sistemik disebut sebagai hiperlipidemia sekunder.

Penyebab utama hiperlipidemia adalah obesitas, asupan alkohol yang berlebihan, diabetes melitus, hipotiroidisme, dan sindrom nefrotik. Hiperlipidemia akibat kelainan genetik terhadap metabolisme lipid dalam mengode enzim, apoprotein, atau reseptor yang terlibat disebut sebagai hiperlipidemia primer (Brown, 2003).

Pada hiperlipidemia primer, gangguan familial (genetik) dapat diklasifikasikan, yaitu: (a) Hiperkolesterolemia primer seperti hiperkolesterolemia familial yang ditandai dengan kadar kolesterol meningkat yang disebabkan oleh mutasi gen reseptor LDL yang bervariasi dalam satu keluarga ke keluarga lainnya. Pasien dengan hiperkolesterolemia familial mempunyai kadar kolesterol LDL dua sampai tiga kali lebih tinggi dari populasi umum; (b) Hiperlipidemia kombinasi familial yang ditandai dengan kedua kadar kolesterol dan trigliserida meningkat yang dihubungkan dengan sintesis VLDL yang berlebihan; (c) Hipertrigliseridemia primer seperti hiperlipoproteinemia tipe III yang ditandai oleh akumulasi kilomikron dan VLDL remnant yang gagal dibersihkan pada laju normal oleh reseptor hepatic yang disebabkan oleh adanya bentuk polimorfis apoprotein E yang kurang aktif, defisiensi lipoprotein lipase familial yang ditandai oleh keadaan hipertrigliseridemia dan kilomikronemia, dan biasanya terjadi pada masa kanak-kanak yang disebabkan oleh defisiensi enzim ekstrahepatik lipoprotein lipase yang menyebabkan kegagalan pada proses lipolisis dan terjadi akumulasi kilomikron dalam plasma, dan defisiensi apo C II familial yang dihubungkan dengan penurunan kadar apolipoprotein C II (aktivator lipoprotein lipase) (Walker, 2003).

Klasifikasi hiperlipoproteinemia yang dikenal adalah klasifikasi Frederickson atau NHLBI yang membagi hiperlipoproteinemia atas dasar fenotip plasma yaitu (a) Tipe I, tipe ini memperlihatkan hiperkilomikronemia pada waktu puasa bahkan dengan diet lemak normal dan biasanya disebabkan oleh defisiensi lipoprotein lipase yang dibutuhkan untuk metabolisme kilomikron; (b) Tipe II, tipe ini terjadi peninggian LDL dan apoprotein B dengan VLDL kadar normal (tipe IIa) atau meningkat sedikit (tipe IIb); (c) Tipe III, penimbunan IDL pada tipe ini mungkin disebabkan oleh blokade parsial dalam metabolisme VLDL menjadi LDL, peningkatan produksi apoprotein B atau peningkatan kadar apoprotein E total; (d) Tipe IV, tipe ini mungkin merupakan hiperlipidemia yang terbanyak

dijumpai di negeri Barat, terjadi peningkatan VLDL dengan hipertrigliseridemia; (e) Tipe V, tipe ini memperlihatkan akumulasi VLDL dan kilomikron, mungkin karena gangguan katabolisme trigliserida endogen dan eksogen. Karena semua lipoprotein terdiri dari kolesterol, kadar kolesterol mungkin meningkat jika kadar trigliserida terlalu tinggi (Suyatna, 2007).

Hiperlipidemia merupakan penyebab utama aterosklerosis dan penyakit yang berkaitan dengan aterosklerosis, seperti penyakit jantung koroner, penyakit serebrovaskular iskemia, dan penyakit pembuluh perifer (Mahley dan Bersot, 2003).

2.7 Aterosklerosis

Aterosklerosis, atau pengerasan arteri, adalah kondisi pada arteri besar dan kecil yang ditandai penimbunan endapan lemak, trombosit, neutrofil, monosit, dan makrofag di seluruh kedalaman tunika intima (lapisan sel endotel) dan akhirnya ke tunika media (lapisan otot polos). Arteri yang paling sering terkena adalah arteri koroner, aorta, dan arteri serebral (Corwin, 2009).

Hiperkolesterolemia dapat mengganggu fungsi endotel dengan meningkatkan produksi radikal bebas oksigen. Radikal ini menonaktifkan oksida nitrat (suatu vasodilator kuat). Apabila terjadi hiperlipidemia kronis, lipoprotein tertimbun dalam lapisan tunika intima di tempat meningkatnya permeabilitas endotel. Pemajanan terhadap radikal bebas dalam sel endotel dinding arteri menyebabkan oksidasi kolesterol LDL, yang berperan dan mempercepat timbulnya plak ateromatosa. Hiperkolesterolemia memicu adhesi monosit, migrasi sel otot polos subendotel, dan penimbunan lipid dalam makrofag dan sel-sel otot polos. Apabila terpajan dengan kolesterol LDL yang teroksidasi, makrofag menjadi sel busa, yang beragregasi dalam lapisan tunika intima, yang terlihat secara makroskopis sebagai bercak lemak. Akhirnya, deposisi lipid dan jaringan ikat mengubah bercak lemak ini menjadi ateroma lemak fibrosa matur. Ruptur menyebabkan inti bagian dalam plak terpajan dengan kolesterol LDL yang teroksidasi dan meningkatnya perlekatan elemen sel, termasuk trombosit. Akhirnya, lemak dan jaringan ikat mengubah plak fibrosa menjadi ateroma, yang dapat mengalami pendarahan, ulserasi, kalsifikasi, atau trombotik (Brown, 2003).

Penyebab terjadinya aterosklerosis adalah kolesterol serum tinggi, tekanan darah tinggi, infeksi, kadar besi darah tinggi, dan peningkatan kadar homosistein darah. Apa pun yang menjadi faktor pemicunya, aterosklerosis menyebabkan penurunan diameter arteri dan peningkatan kekakuan (Corwin, 2009).

2.8 Penatalaksanaan Hiperlipidemia

2.8.1 Penatalaksanaan non farmakologi

Penatalaksanaan ini dikenal juga dengan nama perubahan gaya hidup. Sebelum membuat keputusan untuk memulai pengobatan dengan agen penurun lipid, faktor resiko harus ditangani terlebih dahulu seperti terapi nutrisi medis, menurunkan berat badan bagi yang gemuk, aktivitas fisik, mengurangi konsumsi minuman beralkohol dan merokok (Adam, 2006).

2.8.1.1 Terapi nutrisi medis

Tahap awal penatalaksanaan seseorang dengan hiperlipidemia disarankan untuk berkonsultasi dengan ahli gizi. Pada dasarnya adalah pembatasan jumlah kalori dan jumlah lemak. Pasien dengan kadar kolesterol LDL atau kolesterol total tinggi dianjurkan untuk mengurangi asupan lemak jenuh dan meningkatkan asupan lemak tidak jenuh rantai tunggal dan ganda (*mono unsaturated fatty acid* = MUFA dan *poly unsaturated fatty acid* = PUFA). Pada pasien dengan kadar trigliserida tinggi perlu dikurangi asupan karbohidrat, alkohol dan lemak (Adam, 2006).

Tabel 2.3. Komposisi makanan untuk hiperkolesterolemia

Makanan	Asupan yang dianjurkan
Total lemak	20-25 % dari kalori total
- Lemak jenuh	< 7% dari kalori total
- Lemak PUFA	Sampai 10 % dari kalori total
- Lemak MUFA	Sampai 10 % dari kalori total
Karbohidrat	60% dari kalori total (terutama karbohidrat kompleks)
Serat	30 g per hari
Protein	Sekitar 15% dari kalori total
Kolesterol	< 200 mg/hari

[Sumber: Adam, 2006, telah diolah kembali]

2.8.1.2 Berat badan

Pasien yang kelebihan berat badan dapat meningkatkan resiko penyakit aterosklerosis dan ditandai dengan meningkatnya trigliserida dan kolesterol LDL serta menurunnya kolesterol HDL dalam plasma. Pengurangan berat badan secara umum akan meningkatkan profil lipid dan mengurangi seluruh resiko kardiovaskular. Klasifikasi tingkat berat badan dihitung dari indeks massa tubuh atau *body mass index* (BMI) (Walker, 2003).

$$\text{BMI (kg/m}^2\text{)} = \frac{\text{berat (kg)}}{\text{tinggi}^2 \text{ (m)}} \quad (2.1)$$

Keterangan:

BMI \leq 18,5	kurus
BMI = 18,6-24,9	ideal
BMI = 25-29,9	berat badan berlebih
BMI = 30-40	obesitas
BMI $>$ 40	obesitas (resiko tinggi)

2.8.1.3 Latihan fisik

Pada prinsipnya pasien dianjurkan untuk meningkatkan aktivitas fisik sesuai dengan kondisi dan kemampuannya. Penting sekali agar jenis olahraga disesuaikan dengan kemampuan dan kesenangan pasien sehingga dapat berlangsung terus-menerus (Adam, 2006). Latihan aerobik yang cukup (jalan cepat, *jogging*, berenang, bersepeda) diperlukan untuk memperbaiki profil lemak (Walker, 2003).

2.8.2 Penatalaksanaan farmakologi

Sebelum memulai terapi menurunkan lemak, asupan makanan dan perubahan gaya hidup sudah dilakukan selama 3-6 bulan. Jika tidak mendapatkan manfaat dalam perbaikan profil lemak, terapi dengan obat dapat dimulai tetapi membutuhkan pengobatan jangka panjang dan dianjurkan mengatur asupan makanan dan perubahan gaya hidup sebagai terapi tambahan (Walker, 2003). Obat-obat yang dapat menurunkan kadar lipid plasma sebagai berikut:

2.8.2.1 Penghambat HMG KoA reduktase

Golongan statin (penghambat HMG KoA reduktase) merupakan hipolipidemic yang paling aman dan efektif terutama untuk menurunkan kolesterol. Statin bekerja dengan cara menghambat sintesis kolesterol dalam hati, dengan menghambat HMG KoA reduktase (Suyatna, 2007) sehingga menyebabkan berkurangnya kadar kolesterol dalam intraselular. Terjadi juga peningkatan dalam reseptor LDL sehingga meningkatkan katabolisme termediasi reseptor dan klirens kolesterol LDL dari sirkulasi. Produksi kolesterol LDL juga berkurang oleh inhibisi sintesis kolesterol VLDL di hati, prekursor kolesterol LDL. Keseluruhan efek dari golongan statin ini adalah mengurangi kolesterol, kolesterol LDL, kolesterol VLDL dan trigliserida serta meningkatkan kolesterol HDL (Walker, 2003).

Obat penghambat HMG KoA reduktase telah dipasarkan enam jenis yaitu simvastatin, lovastatin, pravastatin, fluvastatin, atorvastatin, dan rosuvastatin. Efek samping yang sering terjadi adalah miositis yang ditandai dengan nyeri otot dan meningkatnya kadar kreatin fosfokinase. Efek samping yang paling ditakutkan adalah terjadinya rabdomiolisis yang dapat mematikan. Efek samping lainnya ialah terjadinya gangguan fungsi hati. Oleh karena itu, penting sekali untuk memantau fungsi hati. Tampaknya ada korelasi antara efek samping dengan dosis obat, makin tinggi dosis makin besar kemungkinan terjadinya efek samping obat (Adam, 2006).

Pemberian statin sebaiknya diberikan dengan dosis kecil lalu ditingkatkan hingga dosis yang lebih tinggi sampai didapatkan efek yang diinginkan. Lovastatin dimulai dari dosis 20 mg hingga maksimal 80 mg per hari, pravastatin 10-80 mg/hari, simvastatin 5-80 mg/hari, fluvastatin 20-80 mg/hari, atorvastatin 10-80 mg/hari, dan rosuvastatin 10-40 mg/hari (Suyatna, 2007).

2.8.2.2 Resin

Resin merupakan obat yang tidak larut dalam air, tidak dipengaruhi oleh enzim pencernaan, dan tidak diabsorpsi melalui saluran pencernaan. Kolestiramin dan kolestipol merupakan resin kationik yang mengikat asam empedu dan mencegah absorpsinya dalam saluran intestinal sehingga terjadi peningkatan

sekresi asam empedu dalam feses dan sebagai kompensasi terjadi peningkatan produksi asam empedu dari kolesterol melalui sintesis *de novo* di dalam hati. Akibatnya terjadi penurunan kolesterol, peningkatan dalam reseptor LDL dan peningkatan HMG KoA reduktase. Peningkatan jumlah reseptor LDL menyebabkan peningkatan klirens LDL dari plasma dan penurunan kolesterol LDL. Pasien (homozigot) yang mengalami gangguan genetik dalam produksi reseptor LDL tidak dapat merespon terapi dengan obat ini. Efek samping yang sering terjadi yaitu mual, perut kembung, dan konstipasi. Karena resin berikatan dengan asam empedu juga menyebabkan gangguan absorpsi makanan yang mengandung lemak sehingga pada dosis tinggi dapat menyebabkan *steatorrhea* (Forster, 1998).

Obat yang termasuk resin selain colessevelam yaitu kolestiramin dan colestipol. Dosis untuk kolestiramin adalah 8-16 g/hari, colestipol 10-20 g/hari, dan colessevelam 6,5 g/hari. Obat ini digunakan untuk pasien dengan hiperkolesterolemia saja (Adam, 2006).

2.8.2.3 Asam fibrat

Obat-obat yang masuk dalam golongan asam fibrat yaitu bezafibrat, siprofibrat, fenofibrat, dan gemfibrozil. Mekanisme aksinya adalah dengan cara berikatan dengan reseptor alfa *peroxisome proliferator – activated receptor* (PPAR- α) pada hepatosit. Hal ini menyebabkan perubahan dalam ekspresi gen termasuk metabolisme lipoprotein dengan mengaktifkan lipoprotein lipase yang kerjanya memecah trigliserida. Oleh karena itu, fibrat menurunkan trigliserida dan kadar kolesterol LDL ketika kolesterol HDL meningkat. Efek pada kolesterol VLDL fibrat yang diberikan 2-5 hari dapat diukur dengan efek optimum pemberian selama 4 minggu (Walker, 2003).

Fibrat biasanya merupakan obat pilihan untuk mengobati hipertrigliseridemia parah dan sindrom kilomikronemia. Gemfibrozil menurunkan kolesterol total sebesar 10% dan kolesterol LDL sebesar 11%, meningkatkan kadar kolesterol HDL sebesar 11% dan menurunkan trigliserida sebesar 35%. Semua obat fibrat diabsorpsi secara cepat dan efisien (>90%) jika diberikan pada saat makan. Fibrat terdistribusi luas ke seluruh tubuh dan konsentrasinya dalam

hati, ginjal, dan usus melebihi kadarnya dalam plasma. Gemfibrozil ditransfer melintasi plasenta. Penggunaan fibrat dikontraindikasikan pada pasien gagal ginjal. Efek samping gastrointestinal terjadi pada 5% pasien. Efek samping lain jarang dilaporkan yang meliputi ruam kulit urtikaria, rambut rontok, sedikit peningkatan transaminase di hati dan penurunan fosfatase (Mahley dan Bersot, 2003).

2.8.2.4 Asam nikotinat

Asam nikotinat (niasin) merupakan salah satu vitamin B-kompleks yang digunakan untuk pengobatan dislipidemia. Untuk mendapatkan efek hipolipidemik, asam nikotinat harus diberikan dalam dosis yang lebih besar daripada yang diperlukan untuk efeknya sebagai vitamin. Pada jaringan lemak, asam nikotinat menghambat hidrolisis trigliserida oleh *hormone-sensitive lipase* sehingga mengurangi transport asam lemak bebas ke hati dan mengurangi sintesis trigliserida hati. Penurunan trigliserida ini akan menyebabkan berkurangnya produksi VLDL sehingga kadar LDL menurun. Selain itu, asam nikotinat juga meningkatkan aktivitas lipoprotein lipase yang akan menurunkan kadar kilomikron dan trigliserida VLDL. Kadar HDL meningkat sedikit sampai sedang karena menurunnya katabolisme Apo A-I. Obat ini tidak mempengaruhi katabolisme VLDL, sintesis kolesterol total atau ekskresi asam empedu. Asam nikotinat merupakan hipolipidemik yang paling efektif dalam meningkatkan HDL (30-40%). Obat ini menurunkan trigliserida sebaik fibrat (35-45%) dan menurunkan LDL (20-30%) (Suyatna, 2007).

Dua efek samping niasin, kulit memerah dan dispepsia, membatasi kepatuhan pasien. Efek pada kulit antara lain kulit memerah dan pruritus pada muka dan tubuh bagian atas, ruam kulit, dan *acanthosis nigricans* (akantosis difus seperti beludru dengan pigmentasi gelap). Dispepsia dan episode mual, muntah, dan diare jarang terjadi, kemunculannya berkurang jika obat diminum setelah makan. Pasien dengan riwayat penyakit tukak lambung tidak boleh diberi niasin. Niasin juga meningkatkan kadar asam urat dan dapat menyebabkan kekambuhan pirai. Efek samping yang lebih jarang terjadi antara lain ambliopia toksis dan makulopati toksis yang bersifat reversibel. Dilaporkan terjadinya takiaritmia

atrium dan fibrilisasi atrium yang lebih sering terjadi pada pasien berusia lanjut. Niasin, pada dosis yang digunakan pada manusia, menyebabkan kecacatan bayi pada hewan percobaan dan tidak boleh dikonsumsi oleh wanita hamil (Mahley dan Bersot, 2003).

2.8.2.5 Probukol

Obat ini larut dalam lemak tetapi terabsorpsi kurang baik setelah pemberian oral. Penurunan kadar kolesterol dalam plasma cukup dapat diharapkan, tapi penurunan di dalam kolesterol LDL (15-20%) lebih kecil daripada dibandingkan dengan resin atau asam nikotinat. Probukol menurunkan kadar LDL dengan mekanisme yang unik: terapi probukol bekerja pada produksi LDL secara struktural yang akan menyebabkan pengeluaran LDL dari sirkulasi lebih cepat dari normal. Probukol dapat menurunkan LDL, tetapi tidak dengan trigliserida plasma. Karena kelarutannya tinggi dalam lemak, probukol membutuhkan beberapa minggu untuk dieleminasi dari tubuh setelah terapi yang terus-menerus (Cenedella, 1997).

Efek samping yang sering terjadi berupa gangguan gastrointestinal ringan sekitar 10% pasien (diare, flatus, nyeri perut dan mual). Kadang-kadang terjadi eosinofilia, parestesia, dan edema angioneurotik. (Forster, 1998).

2.9 Metode Pengukuran Lipid Plasma

Kolesterol total dapat diukur dengan membutuhkan gangguan pada lipoprotein dengan menghidrolisis kolesterol ester secara kuantitatif sebelum pengukuran kolesterol total. Metode yang dapat dilakukan untuk pengukuran kolesterol total adalah metode kolorimetri modifikasi Abell yang dikembangkan oleh *Lipid Standardisation Laboratory of the Centers for Disease Control and Prevention* (CDC; Atlanta, Georgia, USA). Prosedur kimia manual ini membutuhkan perhatian yang sangat teliti terhadap protokol yang terperinci untuk mencapai akurasi dan presisi yang diperlukan. Metode ini meliputi beberapa tahap, yaitu (1) Hidrolisis alkali kolesterol ester dan pelarut ekstraksi yang digunakan bebas kolesterol; (2) Evaporasi pelarut ekstrak; (3) Kolesterol yang terekstraksi direaksikan dengan asam sulfurat dan asetat anhidrida di dalam asam

asetat (reaksi Liebermann-Burchard) sampai terbentuk warna biru-hijau dan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum 620 nm (Winder, Richmond, dan Vallance, 1997).

Selain metode modifikasi Abell, terdapat metode lain yang dapat dilakukan yaitu metode kolorimetri enzimatis yang semua reaktannya dikombinasikan di dalam reagen tunggal. Rangkaian reaksi tersebut, yaitu (1) Kompleks lipoprotein diganggu dengan menghidrolisis kolesterol ester oleh aksi dari detergen, lipase, dan kolesterol esterase; (2) Oksidasi kolesterol bebas menjadi 4-kolestenon oleh kolesterol oksidase dan hidrogen peroksida sebagai produksi stoikiometri; (3) Kopleng 4-aminofenazon dan fenol (atau analog komponen ini) dioksidasi oleh hidrogen peroksida yang dikatalisis oleh peroksidase menjadi bentuk kuinonimin yang dapat diukur secara fotometri dengan panjang gelombang maksimum 500 nm (Winder, Richmond, dan Vallance, 1997).

Pengukuran trigliserida dalam plasma membutuhkan hidrolisis dan kemudian pengukuran dilakukan pada gliserol yang dibebaskan atau asam lemak. Metode referensi sementara telah diterima oleh *National Committee* untuk *Laboratory Standard*, berdasarkan metode CDC. Metode adalah metode kimia, hanya sesuai untuk referensi laboratorium, dan meliputi sampel ekstraksi asam silikat-kolofom, alkalin hidrolisis trigliserida, dan reaksi pembebasan gliserol dengan metaperiodat-asam kromotropik ke bentuk produk yang berwarna (Winder, Richmond, dan Vallance, 1997).

Metode pengukuran trigliserida yang dapat dilakukan yaitu metode enzimatis dengan prosedur sebagai berikut: (1) Triasilgliserol dihidrolisis secara enzimatis oleh lipase; (2) Gliserol yang bebas difosforilasi secara enzimatis oleh gliserol kinase dan gliserol-3-fosfat dioksidasi secara enzimatis oleh gliserofosfat oksidase menjadi dihidroksiaseton fosfat dan hidrogen peroksida; (3) Seperti kolesterol, kopleng 4-aminofenazon dan fenol (atau analog komponen ini) dioksidasi oleh hidrogen peroksida yang dikatalisis oleh peroksidase menjadi bentuk kuinonimin yang dapat diukur secara fotometri dengan panjang gelombang maksimum 500 nm. Formasi produk berwarna, 4-(p-benzokuinon-monoimino)-

fenazon dimonitor pada panjang gelombang 500 nm yang berlawanan dengan reagen blanko (Winder, Richmond, dan Vallance, 1997).

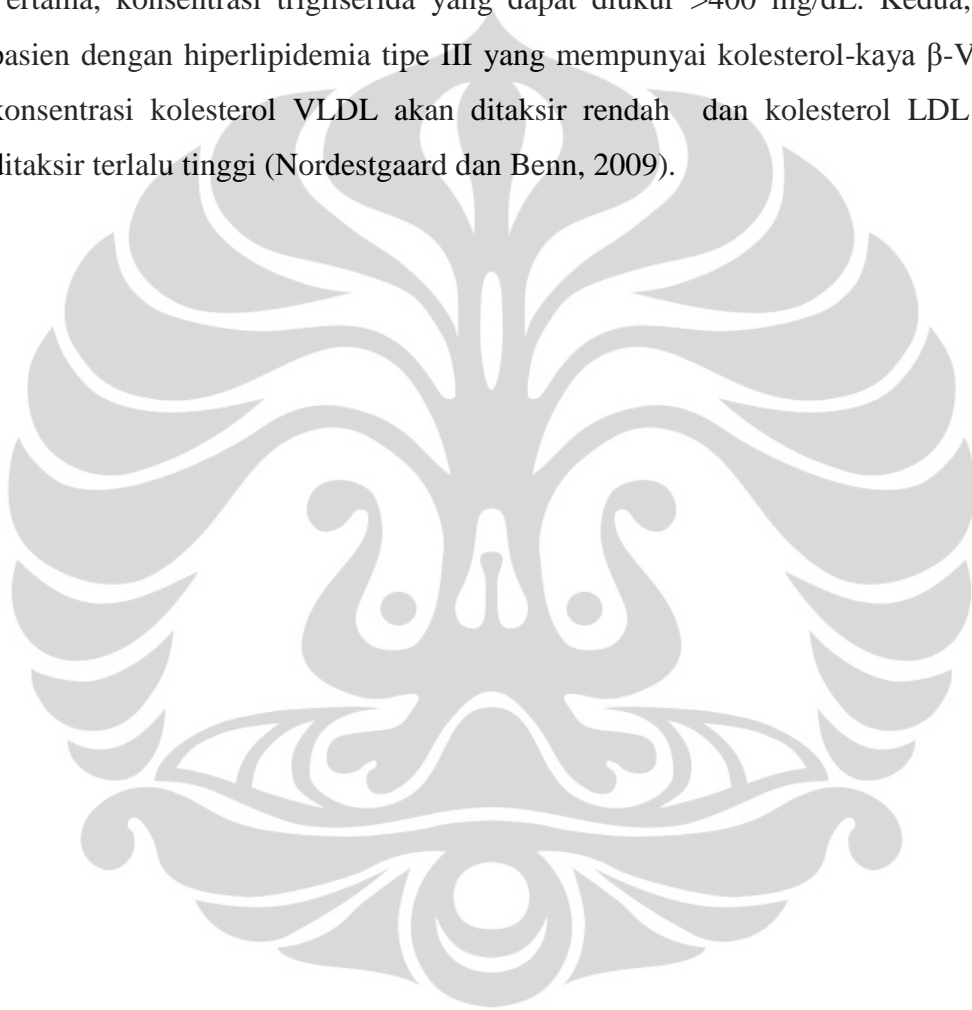
Teknik yang bervariasi telah digunakan untuk mengisolasi HDL termasuk ultrasentrifugasi, elektroforesis, filtrasi gel, imunoafinitas kromatografi kolom, dan teknik presipitasi spesifik. Ultrasentrifugasi dan teknik presipitasi adalah metode yang paling banyak digunakan. Fraksi utama lipoprotein, termasuk partikel HDL, diklasifikasi secara konvensional berdasarkan sifat mengambang dalam larutan garam selama ultrasentrifugasi. Ketika hal ini dipertimbangkan sebagai calon metode referensi, metode tersebut menghasilkan perolehan kembali HDL yang tidak lengkap, kontaminasi fraksi HDL oleh apoB yang bergabung dengan kolesterol, kebanyakan Lp(a), dan kehilangan apo A-I dari HDL. Pada dasarnya, presipitasi Lp(a) secara menyeluruh dengan menggunakan polietilen glikol PEG 6000 (Winder, Richmond, dan Vallance, 1997).

Metode CDC mengkombinasikan ultrasentrifugasi dengan presipitasi selektif, menggunakan heparin-mangan klorida metode: (1) Hilangkan kilomikron dan VLDL dengan ultrasentrifugasi, (2) Endapkan LDL dan IDL dari fraksi bawah dengan menggunakan metode heparin-mangan klorida, (3) Ukur kolesterol HDL di dalam supernatan dengan menggunakan metode referensi Abell-Kendall untuk kolesterol. Teknik presipitasi hampir selalu digunakan untuk pengukuran rutin kolesterol HDL sebagai prosedur yang cepat, tidak mahal, dan tidak membutuhkan ultrasentrifugasi (Winder, Richmond, dan Vallance, 1997).

Kolesterol LDL dapat diukur secara langsung dengan *homogeneous assays* setelah kelas lipoprotein lain diblokir atau dilarutkan. Metode ini tidak atau hanya sedikit mempengaruhi adanya kilomikron dan kilomikron remnant dan oleh karena itu secara teori tidak akan mempengaruhi pada keadaan puasa. Pengukuran dengan Homogeneous assays secara langsung mempunyai keterbatasan, termasuk (a) fraksi khusus kolesterol LDL bermacam-macam sehingga konsentrasi kolesterol LDL ditaksir rendah secara umum (perolehan kembali kolesterol LDL 87%-105%); dan (b) terkadang kolesterol VLDL terdapat pada fraksi LDL (Nordestgaard dan Benn, 2009).

Kolesterol LDL dapat juga diperoleh secara tidak langsung melalui persamaan Friedewald sebagai kolesterol total dikurangi kolesterol VLDL

dikurangi kolesterol HDL. Kolesterol VLDL dihitung sebagai trigliserida dibagi faktor 5 ketika lipid diukur dalam miligram per desiliter dan dibagi faktor 2,22 ketika diukur dalam milimol per liter. Rasio trigliserida/5 sebagai wakil kolesterol VLDL berdasarkan observasi bahwa rasio massa trigliserida terhadap kolesterol VLDL relatif konstan (Nordestgaard dan Benn, 2009). Namun, estimasi kolesterol VLDL yang diperkenalkan oleh persamaan Friedewald memiliki keterbatasan. Pertama, konsentrasi trigliserida yang dapat diukur >400 mg/dL. Kedua, pada pasien dengan hiperlipidemia tipe III yang mempunyai kolesterol-kaya β -VLDL, konsentrasi kolesterol VLDL akan ditaksir rendah dan kolesterol LDL akan ditaksir terlalu tinggi (Nordestgaard dan Benn, 2009).



BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia yang berlangsung dari bulan Februari sampai Mei 2012.

3.2 Bahan

3.2.1 Bahan uji

Bahan uji yang digunakan adalah kacang kedelai lokal kering (*Glycine max* (L.) Merr.) varietas Grobogan yang dipanen pada umur 4 bulan, berwarna kuning kecoklatan yang diperoleh dari Badan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor dan dideterminasi di Herbarium Bogorinse, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Cibinong. Kacang kedelai kering ini dibuat menjadi susu kacang kedelai. Bahan uji lainnya sebagai kontrol pembanding yaitu simvastatin (PT. Hexpharm Jaya Laboratories).

3.2.2 Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan yaitu Reagen Kit Kolesterol Total (Enzymatic Endpoint Method, Randox), Reagen Kit Triglicerida (GPO-PAP Method, Randox), Reagen Kit Kolesterol HDL (Precipitant, Human), Eter (Merck), CMC (Daichii), Heparin (Merck), Aquabidest, dan Aquadest.

3.3 Hewan Uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih jantan galur *Sparague dawley* sebanyak 30 ekor, berumur 2 bulan, berat badan sekitar 200 gram, dan sehat. Hewan uji diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

3.4 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu spektrofotometer UV-VIS *single beam* Genesys 20, kuvet semimikro, sentrifugator (Zengji TGL-16),

mikrohematokrit (NRIS), pipet Eppendorf (Socorex), spuit (Terumo), sonde lambung, timbangan analitik (Ohaus), mikrotube, pipet Pasteur, timbangan hewan (Mettler Toledo), water bath (Lab-Line), hot plate (Termolyne), termometer ($^1/1$ C), alat-alat gelas (Pyrex), blender (National), dan kain saring.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Penyiapan hewan uji

Tikus diaklimatisasi terlebih dahulu selama 2 (dua) minggu dengan tujuan mengadaptasikan hewan uji dengan lingkungan baru dan meminimalisasi efek stres pada tikus yang dapat berpengaruh pada metabolismanya yang dapat mengganggu penelitian. Setiap tikus diberi makan dan minum serta ditimbang berat badannya secara rutin. Tikus diamati keadaan umumnya. Tikus yang digunakan dalam penelitian harus sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri, warna putih bersih, mata merah jernih, tingkah laku normal dan aktif.

3.5.2 Penetapan dosis

3.5.2.1 Simvastatin

Obat ini diberikan dalam bentuk suspensi dengan CMC sesuai dosis efektif manusia, yaitu 10 mg, yang dikonversi berdasarkan konversi Paget dan Barnes, yaitu dosis untuk setiap 200 g bb tikus setara dengan 0,018 kali dosis manusia dan dikalikan faktor farmakokinetika 10, sehingga dosis yang digunakan adalah 1,8 mg/200 g bb tikus.

3.5.2.2 Kacang kedelai

Berdasarkan rekomendasi FDA, untuk menurunkan kolesterol sedikitnya mengkonsumsi 25 g kedelai per hari (Ulbricht dan Seamon, 2010). Dosis dikonversi berdasarkan konversi Paget dan Barnes, yaitu dosis untuk setiap 200 g bb tikus setara dengan 0,018 kali dosis manusia dan dikalikan faktor farmakokinetika 10, sehingga dosis yang digunakan adalah 4,5 g/200 g bb tikus/hari (Dosis II). Dosis I adalah setengah dosis dari dosis II yaitu 2,25 g/200 g bb. Dosis III adalah kelipatan dua dari dosis II yaitu 9 g/200 g bb tikus/hari.

3.5.3 Penyiapan bahan uji

3.5.3.1 Pembuatan susu kacang kedelai

Kedelai dibersihkan dari segala kotoran, kemudian cuci. Rebus kedelai yang telah dibersihkan selama \pm 15 menit, lalu rendam dalam air bersih selama \pm 12 jam. Cuci sampai kulit arinya terkelupas, hancurkan kedelai yang telah ditambahkan air dengan penggiling atau blender. Saring campuran dengan kain saring sehingga diperoleh larutan susu kacang kedelai. Panaskan susu kacang kedelai sambil diaduk (tidak sampai mendidih), lalu dinginkan (Jumadi, 2009; Esti dan Sediadi, 2000). Kemudian susu kacang kedelai tersebut diuapkan pada suhu di bawah 60°C sampai mendapatkan volume yang diinginkan (Lampiran 6).

3.5.3.2 Pembuatan suspensi simvastatin

Simvastatin sesuai dosis yang digunakan yaitu 10,8 mg/kg bb disuspensikan dengan CMC 0,5%. Suspensi simvastatin yang telah siap diberikan ke tikus secara peroral dengan volume sesuai berat badan.

3.5.3.3 Pembuatan diit tinggi kolesterol dan lemak

Komposisi diit tinggi kolesterol dan lemak:

Kuning telur	80%
Sukrosa	15%
Lemak hewan	5%

Diit tinggi kolesterol dan lemak dibuat dalam bentuk suspensi, semua bahan dicampur, kemudian dikocok dengan kecepatan tinggi hingga homogen. Makanan dibuat baru setiap harinya dan diberi secara per oral ke tikus sebanyak 2,5 g / 200 g bb.

3.5.4 Pelaksanaan percobaan

3.5.4.1 Pengelompokkan hewan uji dan perlakuan

Hewan uji dibagi ke dalam 6 (enam) kelompok, dimana pengelompokkan hewan uji dilakukan secara acak lengkap dengan jumlah minimal per kelompok mengikuti rumus Federer, yaitu:

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15 \quad (3.1)$$

Keterangan : t adalah jumlah perlakuan

n adalah jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan

Maka : $(n - 1)(6 - 1) \geq 15$

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Jadi, jumlah minimum tikus yang digunakan dalam tiap kelompok adalah 4 ekor. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 5 ekor tiap kelompok.

Tabel 3.1. Pembagian kelompok dan perlakuan hewan uji

No.	Kelompok	Jumlah Tikus (ekor)	Perlakuan selama 56 hari	Hari ke-57
1.	Kontrol normal	5	Diberi larutan CMC 0,5%	Pengambilan plasma darah
2.	Kontrol perlakuan	5	Diberi diit tinggi kolesterol dan lemak 2,5 g/200 g bb, dan larutan CMC 0,5%	Pengambilan plasma darah
3.	Kontrol pembanding	5	Diberi diit tinggi kolesterol dan lemak 2,5 g/200 g bb, dan suspensi simvastatin 1,8 mg/200 g bb	Pengambilan plasma darah
4.	Dosis I	5	Diberi diit tinggi kolesterol dan lemak 2,5 g/200 g bb dan susu kacang kedelai 2,25 g/200 g bb	Pengambilan plasma darah
5.	Dosis II	5	Diberi diit tinggi kolesterol dan lemak 2,5 g/200 g bb, dan susu kacang kedelai 4,5 g/200 g bb	Pengambilan plasma darah
6.	Dosis III	5	Diberi diit tinggi kolesterol dan lemak 2,5 g/200 g bb, dan susu kacang kedelai 9 g/200 g bb	Pengambilan plasma darah

Pada percobaan digunakan tiga kelompok kontrol, yaitu kelompok kontrol normal, kelompok kontrol perlakuan, dan kelompok kontrol perbandingan. Kontrol normal diperlukan untuk mengetahui kadar plasma lipid tikus yang tidak mengalami hiperlipidemia. Kontrol perlakuan diperlukan untuk mengetahui kadar plasma lipid tikus yang mengalami hiperlipidemia namun tidak diberi bahan uji (susu kacang kedelai). Kontrol perbandingan diperlukan untuk melihat perbandingan pengaruh antara pemberian bahan uji. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan yang dipilih secara acak. Makanan diit tinggi kolesterol dan lemak dan bahan uji (susu kacang kedelai) diberikan secara peroral (dengan sonde lambung) selama 8 minggu (56 hari). Setelah 56 hari perlakuan, tikus diambil darahnya melalui sinus orbital mata tikus, lalu diukur kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL, dan kolesterol LDL.

3.5.4.2 Cara pengambilan plasma darah

Sebelum pengambilan sampel darah, *mikrotube* dioleskan heparin 5000 UI/ml secukupnya. Pada hari ke-57 dilakukan pengambilan darah pada masing-masing kelompok tikus. Pengambilan darah dilakukan melalui sinus orbital mata tikus. Tikus dianestesi terlebih dahulu secara inhalasi menggunakan eter. Pada mata tikus, mikrohematokrit dimasukkan ke pangkal sudut bola mata sambil diputar halus ke arah belakang bola mata hingga darah mengalir melalui mikrohematokrit tersebut.

Darah kemudian ditampung secara hati-hati ke dalam mikrotube yang telah diberi heparin, kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan putaran 7000 rpm. Plasma yang diperoleh kemudian dipisahkan dengan pipet Pasteur lalu disimpan dalam lemari pendingin hingga dilakukan pengukuran kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL, dan kolesterol LDL.

3.5.4.3 Penetapan kadar kolesterol total dalam plasma darah

Kadar kolesterol total ditetapkan dengan metode kolorimetri enzimatik dengan kolesterol esterase, kolesterol oksidase, dan peroksidase sebagai katalis indikator reaksi (*Cholesterol Enzymatic Endpoint Method Manual*, 2010). Jumlah

sampel, standard, dan reagen kit kolesterol yang dibutuhkan dapat dilihat pada tabel 3.2.

Prinsip:

Kolesterol ester + H₂O $\xrightarrow{\text{kolesterol esterase}}$ kolesterol + asam lemak

Kolesterol + O₂ $\xrightarrow{\text{kolesterol oksidase}}$ kolesten-3-on + H₂O₂

2 H₂O₂ + 4-aminoantipirin + fenol $\xrightarrow{\text{peroksidase}}$ kuinonimin + 4H₂O

Tabel 3.2. Pengukuran kadar kolesterol total

Ke dalam kuvet dipipetkan:

	Blangko (µl)	Standard (µl)	Sampel (µl)
Aquabidest	10	-	-
Sampel (plasma)	-	-	10
Standard	-	10	-
Larutan reagen kit kolesterol	1000	1000	1000

Campuran sampel plasma dengan larutan reagen kit kolesterol dan campuran standard dan reagen kit kolesterol diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20-25°C. Serapan sampel (A sampel) dan serapan standard (A standard) diukur terhadap blangko pada panjang gelombang 500 nm dalam waktu 5 menit.

Perhitungan:

Kadar kolesterol total diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$C \text{ kolesterol total (mg/dL)} = \frac{A \text{ sampel}}{A \text{ standard}} \times C \text{ standard} \quad (3.2)$$

3.5.4.4 Penetapan kadar trigliserida dalam plasma darah

Kadar trigliserida ditetapkan dengan metode kolorimetri enzimatik menggunakan gliserol-3-fosfat oksidase (GPO) (*Triglycerides GPO-PAP Method Manual*, 2011; Winder, Richmond, dan Vallance, 1997). Jumlah sampel, standard, dan reagen kit trigliserida yang dibutuhkan dapat dilihat pada tabel 3.3.

Prinsip:

Trigliserida $\xrightarrow{\text{lipase}}$ gliserol + asam lemak

Gliserol + ATP $\xrightarrow{\text{gliserol kinase}}$ gliserol-3-fosfat + ADP

Gliserol-3-fosfat + O₂ $\xrightarrow{\text{GPO}}$ dihidroksiaseton + fosfat + H₂O₂

2 H₂O₂ + 4-aminofenazon + 4-klorofenol $\xrightarrow{\text{peroksidase}}$ kuinonimin + HCl + 4H₂O

Tabel 3.3. Pengukuran kadar trigliserida

Ke dalam kuvet dipipetkan:

	Blangko (μl)	Standard (μl)	Sampel (μl)
Standard	-	10	-
Sampel	-	-	10
Larutan reagen kit trigliserida	1000	1000	1000

Campuran sampel plasma dengan larutan reagen kit trigliserida dan campuran standard dengan larutan reagen kit trigliserida diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20-25°C. Serapan sampel (A sampel) dan serapan standard (A standard) diukur terhadap blangko pada panjang gelombang 500 nm dalam waktu 5 menit.

Perhitungan:

Kadar trigliserida diperoleh dengan rumus:

$$C \text{ trigliserida (mg/dL)} = \frac{A \text{ sampel}}{A \text{ standard}} \times C \text{ standard} \quad (3.3)$$

3.5.4.5 Penetapan Kadar Kolesterol HDL dalam Plasma Darah

Dalam pengukuran kadar kolesterol HDL, dilakukan presipitasi HDL dengan reagen kit pengendapan (*HDL Cholesterol Precipitant Manual*, 2007) terlebih dahulu. Jumlah sampel, standard, dan reagen kit pengendapan yang dibutuhkan dapat dilihat pada tabel 3.4.

Tabel 3.4. Prosedur presipitasi HDL

Prosedur presipitasi:	
Sampel / standard	200 µl
Reagen kit pengendapan	500 µl

Campuran sampel dengan reagen kit pengendapan dan campuran standard dengan reagen kit pengendapan diinkubasi selama 10 menit pada temperatur ruang, kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 4000 rpm. Supernatan jernih dapat ditentukan kadarnya setelah disentrifugasi.

Kadar kolesterol HDL ditetapkan dengan metode kolorimetri enzimatik dengan menggunakan kit kolesterol. Jumlah sampel, standard, dan reagen kit kolesterol yang dibutuhkan dapat dilihat pada tabel 3.5.

Tabel 3.5. Pengukuran kolesterol HDL

Ke dalam kuvet dipipetkan:

	Blangko (µl)	Standard (µl)	Sampel (µl)
Aquabidest	100	-	-
Supernatan standard	-	100	-
Supernatan sampel	-	-	100
Reagen kit kolesterol	1000	1000	1000

Campuran supernatan sampel dengan larutan reagen kit kolesterol dan campuran supernatan standard dengan larutan reagen kit kolesterol diinkubasi pada suhu 20-25°C selama 10 menit. Serapan sampel (A sampel) dan serapan standard (A standard) diukur terhadap blangko pada panjang gelombang 500 nm dalam waktu 5 menit.

Perhitungan:

Kadar kolesterol HDL diperoleh dengan rumus:

$$\text{Kolesterol HDL (mg/dL)} = \frac{A \text{ sampel}}{A \text{ standard}} \times C \text{ standard} \quad (3.4)$$

3.5.4.6 Penetapan Kadar Kolesterol LDL dalam Plasma Darah (Mahley dan Bersot, 2003; Nordestgaard dan Benn, 2009; Mora, Rifai, Buring, dan Ridker, 2009)

Kadar kolesterol LDL dapat ditetapkan secara tidak langsung dengan menggunakan rumus *Friedewald*:

$$\text{Kolesterol LDL (mg/dl)} = \text{kolesterol total} - \frac{\text{trigliserida}}{5} - \text{kolesterol HDL} \quad (3.5)$$

3.5.5 Pengolahan data

Data yang diperoleh dalam penelitian dianalisis secara statistik. Masing-masing data diuji normalitasnya dengan Shapiro-Wilk dan diuji homogenitasnya dengan menggunakan uji Levene. Jika didapatkan data homogen dan terdistribusi normal, dilakukan uji ANAVA satu arah untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dilakukan untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hewan uji yang digunakan dalam pengujian efek antihiperlipidemia ini adalah tikus putih jantan galur *Sparague dawley* dalam kondisi sehat sebanyak 30 ekor yang berumur 2 bulan dengan berat badan sekitar 200 gram. Dalam penelitian ini digunakan tikus putih jantan bertujuan untuk menghindari variasi biologis tikus sehingga didapatkan hasil yang bervariasi homogen karena pada tikus betina mempunyai hormon estrogen yang akan menekan sintesis dan akumulasi asam lemak dan gliserolipid (Tiano, *et al*, 2011) serta meningkatkan katabolisme lemak (Unitly, 2008) sehingga jika diinduksi dengan diit tinggi kolesterol dan lemak kemungkinan kadar kolesterol dan lemak pada tikus jantan lebih tinggi dibandingkan dengan tikus betina. Hal itu berarti induksi diit tinggi kolesterol dan lemak pada tikus jantan kemungkinan akan lebih berhasil dibandingkan pada tikus betina yang mempunyai hormon estrogen dan hasilnya akan lebih bervariasi homogen daripada menggunakan tikus betina.

4.1 Pemberian Diit Tinggi Kolesterol dan Lemak

Tikus dikelompokkan ke dalam 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol normal, kontrol perlakuan, kontrol pembanding, dan tiga kelompok variasi dosis susu kacang kedelai. Seluruh kelompok tikus tersebut diberi diit tinggi kolesterol dan lemak kecuali kelompok kontrol normal yang hanya diberi larutan CMC 0,5%. Pemberian diit tinggi kolesterol dan lemak bertujuan untuk meningkatkan kadar kolesterol dan lemak dalam darah. Komposisi diit tinggi kolesterol dan lemak yang digunakan terdiri dari kuning telur 80%, larutan sukrosa 65% sebanyak 15%, dan lemak hewan 5%. Pada penelitian terdahulu, komposisi diit ini dapat meningkatkan kadar kolesterol dan trigliserida secara bermakna (Hernasari, 2010).

Lemak hewan yang digunakan adalah lemak ayam Broiler yang diambil dari kulitnya. Lemak ayam tersebut diperoleh dengan cara memanaskan kulit ayam dengan menggunakan api kecil dan didapatkan cairan berwarna kuning (minyak) yang ditampung didalam wadah yang kedap udara dan terlindung dari cahaya untuk menghindari oksidasi lemak. Kuning telur dan lemak hewan

merupakan sumber kolesterol dan lemak yang dapat meningkatkan kolesterol total dan lemak secara eksogen. Larutan sukrosa 65% dapat meningkatkan kolesterol dan lemak secara endogen dengan cara sukrosa dihidrolisis menjadi fruktosa dan glukosa di dalam tubuh. Glukosa akan mengalami glikolisis menjadi piruvat. Di dalam mitokondria, piruvat mengalami dekarboksilasi oksidatif menjadi asetil KoA yang akan masuk ke dalam siklus asam sitrat sehingga dihasilkan energi. Jika kebutuhan energi sudah mencukupi, asetil KoA akan mengalami lipogenesis menjadi asam lemak dan selanjutnya dapat disimpan menjadi trigliserida (Mayes, 2001e). Jika dibutuhkan, trigliserida dapat dihidrolisis kembali menjadi asam lemak dan dapat dibentuk menjadi kolesterol (Mayes, 2001d).

Induksi untuk hiperlipidemia sebenarnya ada beberapa macam, antara lain adalah induksi dengan pemberian propiltiourasil (Kelompok Kerja Ilmiah Phyto Medica, 1993), makanan tinggi kolesterol dan lemak, kolesterol yang dapat langsung diberikan ke tikus, dan induksi menggunakan triton (Parmart dan Prakash, 2006). Dalam penelitian ini, digunakan makanan diit tinggi kolesterol dan lemak sebagai pilihan untuk induksi hiperlipidemia karena dibuat model hiperlipidemia dari tikus seperti yang dialami penderita hiperlipidemia yaitu pola makan yang tidak sehat dengan mengkonsumsi makanan yang banyak mengandung lemak dan kolesterol. Selain itu, komposisi makanan tinggi kolesterol dan lemak yaitu kuning telur, larutan gula, dan lemak hewan mudah didapat dan harganya pun terjangkau.

4.2 Proses Pembuatan Susu Kacang Kedelai

Kacang kedelai yang digunakan untuk pembuatan susu kacang kedelai yaitu kacang kedelai lokal varietas Grobogan. Kacang kedelai dipanen pada saat polong kedelai berwarna kecoklatan dan daun tanaman kedelai sudah luruh. Keunggulan kacang kedelai lokal varietas Grobogan yaitu tingkat kematangan polong dan daun bersamaan, jadi pada saat kacang kedelai dipanen daun tanamannya sudah luruh sekitar 95–100% (Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, 2010) sehingga umur dan kematangan kacang kedelai yang dihasilkan relatif homogen. Selain itu, polong yang dihasilkan besar dan polong yang masak tidak mudah pecah (Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman

Pangan, 2010) sehingga cocok untuk dibuat susu kacang kedelai karena dapat menghasilkan massa susu kacang kedelai yang banyak.

Dalam penelitian ini digunakan susu kacang kedelai mengetahui efek penurunan kadar kolesterol, trigliserida, dan LDL serta efek peningkatan kadar HDL dalam darah. Penggunaan susu kacang kedelai dalam penelitian karena susu kacang kedelai merupakan minuman terbaik untuk mengganti produk susu sapi bagi orang-orang yang intoleransi terhadap laktosa karena kekurangan enzim laktase sehingga laktosa tidak dapat dihidrolisis menjadi glukosa dan galaktosa untuk keperluan metabolisme di dalam tubuh. Susu kacang kedelai juga merupakan minuman yang bergizi tinggi dilihat dari nilai gizi susu kacang kedelai mirip dengan susu sapi, terutama kandungan proteinnya (Saidu, 2005). Selain itu, pembuatan susu kacang kedelai relatif mudah sehingga semua lapisan masyarakat dapat membuatnya sendiri di rumah, disamping itu bahan dasar pembuatan susu kacang kedelai, yaitu kacang kedelai sangat banyak tersedia di pasaran dengan harga yang lebih terjangkau.

Pada proses pembuatan susu kacang kedelai, suhu diatur dan dipertahankan dibawah 60°C. Hal ini dilakukan untuk mencegah denaturasi protein. Proses dalam pembuatan susu kacang kedelai yang berbeda dapat menyebabkan perbedaan jumlah kandungan senyawa di dalam susu kacang kedelai, seperti kandungan isoflavon. Lama perendaman dan suhu yang berbeda dalam proses pembuatan susu kacang kedelai dapat menghasilkan jumlah kandungan isoflavon yang berbeda. Pemanasan dapat meningkatkan proses hidrolisis glukosida isoflavon menjadi bentuk aglikonnya sehingga komponen isoflavon dalam kacang kedelai berubah. Ketika kacang kedelai direndam di dalam air pada suhu 50°C selama 30 menit, kandungan daidzein dan genistein meningkat dibandingkan tanpa pemanasan. Seiring bertambahnya waktu perendaman dan suhu, kandungan isoflavon juga meningkat. Dalam kondisi perendaman pada suhu 60°C selama 8 jam, jumlah kandungan isoflavon meningkat secara nyata. Perubahan kandungan isoflavon dalam kacang kedelai selama perendaman berhubungan dengan aktivitas β -glukosidase yang akan meningkat aktivitasnya seiring bertambahnya suhu dan perendaman kacang kedelai (Saidu, 2005).



Gambar 4.1. Susu kacang kedelai dalam variasi dosis

4.3 Pelaksanaan Percobaan Antihiperlipidemia

Dalam penelitian, tikus dibagi menjadi 6 kelompok, selain kelompok dosis variasi susu kacang kedelai untuk pengujian efek antihiperlipidemia, terdapat juga kelompok kontrol pembanding. Terdapat dua obat yang mungkin menjadi kontrol pembanding, yaitu simvastatin (golongan statin) dan gemfibrozil (golongan fibrat). Gemfibrozil merupakan hipolipidemik yang baik untuk menurunkan trigliserida hingga 30-50%, tetapi kurang baik untuk menurunkan kolesterol (hanya menurunkan 10-20%) (Walker, 2003). Simvastatin (golongan statin) digunakan sebagai kontrol pembanding karena merupakan hipolipidemik yang paling aman dan efektif terutama untuk menurunkan kolesterol dengan menghambat HMG KoA reduktase sehingga dapat menghambat sintesis kolesterol di hati (Suyatna, 2007). Selain dapat menurunkan kolesterol hingga 20-45%, golongan statin juga dapat menurunkan trigliserida sebesar 10-45% (Walker, 2003).

Percobaan ini dilakukan selama 2 bulan dengan tujuan untuk memastikan bahwa hewan percobaan sudah mengalami hiperlipidemia yang sudah dilakukan penelitian sebelumnya (Hernasari, 2010) karena induksinya berasal dari makanan yang membutuhkan waktu yang cukup lama untuk meningkatkan kadar kolesterol dan trigliserida plasma. Setelah pemberian diit tinggi kolesterol dan lemak melalui sonde lambung ke tikus, diperlukan selang waktu 1 jam untuk pemberian

simvastatin atau susu kacang kedelai. Hal ini dimaksudkan agar induksi dengan diet tinggi kolesterol dan lemak berhasil meningkatkan kadar kolesterol dan trigliserida di dalam tubuh tikus karena pengosongan lambung dan pembentukan kolesterol dan trigliserida secara endogen mempunyai proses yang cukup panjang sehingga membutuhkan waktu.

Setelah 56 hari perlakuan, pada hari ke-57 dilakukan pengambilan darah tikus. Darah diambil melalui sinus orbital mata tikus karena pengambilan darah relatif cepat dan lancar sehingga dapat meminimalisasi terjadinya hemolisis. Kemudian darah ditampung ke dalam *mikrotube* yang telah dioleskan heparin. Penambahan heparin dimaksudkan untuk mencegah koagulasi darah sehingga didapatkan plasma darah setelah disentrifugasi yang akan diukur kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL, dan kolesterol LDL. Konsentrasi heparin yang dapat digunakan sebagai antikoagulan yaitu minimal 75 UI/ml (*Cholesterol Enzymatic Endpoint Method Manual*, 2010), tetapi konsentrasi heparin yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5000 UI/ml karena heparin dengan konsentrasi 5000 UI/ml yang tersedia di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi UI. Oleh karena itu, penggunaan heparin secukupnya saja dengan pengolesan yang tipis pada dinding *mikrotube*. Setelah plasma darah dipisahkan, plasma dapat disimpan selama 4 hari pada suhu 4°C (*Cholesterol Enzymatic Endpoint Method Manual*, 2010) atau dapat langsung diukur kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL, dan kolesterol LDL.

Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida menggunakan metode kolorimetri enzimatis karena metode ini menghasilkan kadar yang akurat dan spesifik untuk mengukur kadar kolesterol total dan trigliserida melalui reaksi enzimatis dan menghasilkan senyawa yang berwarna yang dapat diukur serapannya secara spektrofotometri. Pada pengukuran kolesterol HDL, dilakukan isolasi HDL terlebih dahulu. Ultrasentrifugasi dan presipitasi adalah metode yang paling banyak digunakan. Pemilihan metode presipitasi karena prosedurnya cepat, tidak mahal, dan tidak membutuhkan ultrasentrifugasi (Winder, Richmond, dan Vallance, 1997). Pengukuran kolesterol LDL ditetapkan secara tidak langsung dengan menggunakan rumus *Friedewald* (Mahley dan Bersot, 2003; Nordestgaard dan Benn, 2009; Mora, Rifai, Buring, dan Ridker, 2009) karena penetapan kadar

kolesterol LDL diperoleh dengan mudah dan cepat dengan perhitungan menggunakan rumus. Selain itu, penetapan kadar kolesterol LDL tidak mengeluarkan biaya untuk memperoleh reagen kit sehingga lebih ekonomis dan menghemat waktu daripada penetapan kadar kolesterol LDL secara langsung.

4.4 Pengukuran Kadar Kolesterol Total

Kadar kolesterol total rata-rata tiap kelompok setelah 56 hari perlakuan:

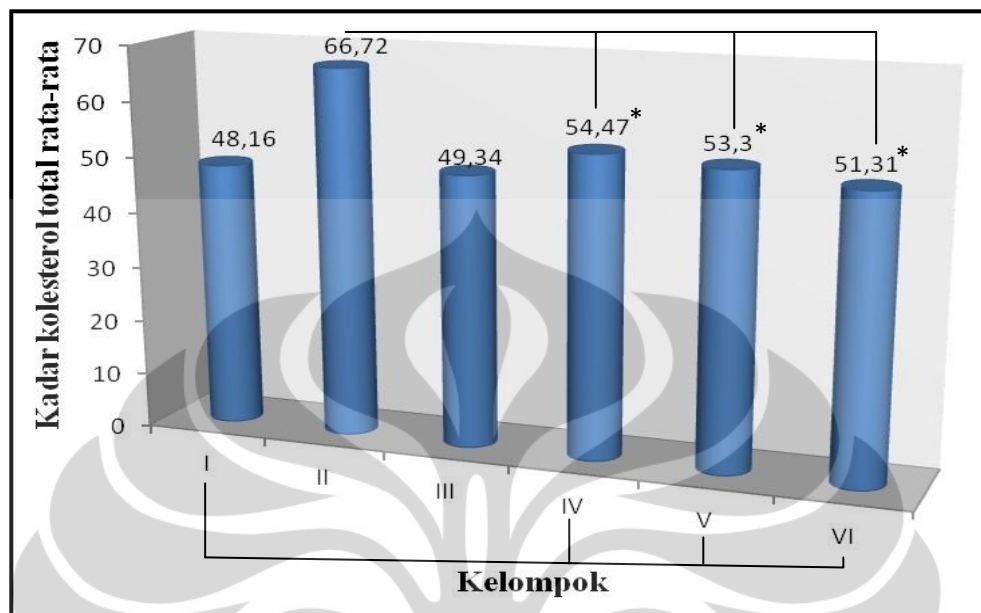
Tabel 4.1. Kadar kolesterol total rata-rata setiap kelompok

Kelompok	Kadar kolesterol total rata-rata (mg/dl)±SD
I. Kontrol normal	48,16±5,43
II. Kontrol perlakuan	66,72±5,01
III. Kontrol pembanding(simvastatin 9 mg/kg bb)	49,34±3,56
IV. Dosis I (2,25 g/kg bb)	54,47±4,23
V. Dosis II (4,5 g/kg bb)	53,30±2,98
VI. Dosis III (9 g/kg bb)	51,31±3,49

Berdasarkan tabel di atas, dapat dilihat bahwa dosis I, II, dan III memiliki kadar kolesterol total lebih rendah dibandingkan kontrol perlakuan yang hanya diberi diet tinggi kolesterol dan lemak. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian susu kacang kedelai ketiga variasi dosis tersebut dapat menurunkan kadar kolesterol total dalam darah. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik. Berdasarkan Uji *Shapiro-Wilk* dan Uji *Levene* menunjukkan bahwa data kolesterol total terdistribusi normal dan bervariasi homogen. Uji selanjutnya yang dilakukan adalah uji ANAVA diperoleh hasil perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Kemudian dilakukan uji BNT untuk mengetahui perbedaan antar masing-masing kelompok.

Berdasarkan analisis dengan uji BNT diketahui bahwa dosis I, II, dan III berbeda secara bermakna dengan kontrol perlakuan yang hanya diberi diet tinggi kolesterol dan lemak. Pada kelompok dosis I, II dan III menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna secara statistik dengan kontrol normal dan kontrol

pembanding (simvastatin). Hal tersebut menunjukkan bahwa pada dosis I, II, dan III mampu menurunkan kadar kolesterol total seperti dengan pemberian simvastatin hingga kadar kolesterol total mendekati normal.



Keterangan: * = Kadar kolesterol total rata-rata antar kelompok berbeda secara bermakna, I = Kelompok kontrol normal, II = Kelompok kontrol perlakuan yang diinduksi dengan diet tinggi kolesterol dan lemak, III = Kelompok kontrol pembanding (simvastatin 9 mg/kg bb), IV = Kelompok dosis I (susu kacang kedelai 2,25 g/kg bb), V = Kelompok dosis II (susu kacang kedelai 4,5 g/kg bb), VI = Kelompok dosis III (susu kacang kedelai 9 g/kg bb)

Gambar 4.2. Diagram batang kadar kolesterol total rata-rata

4.5 Pengukuran Kadar Trigliserida

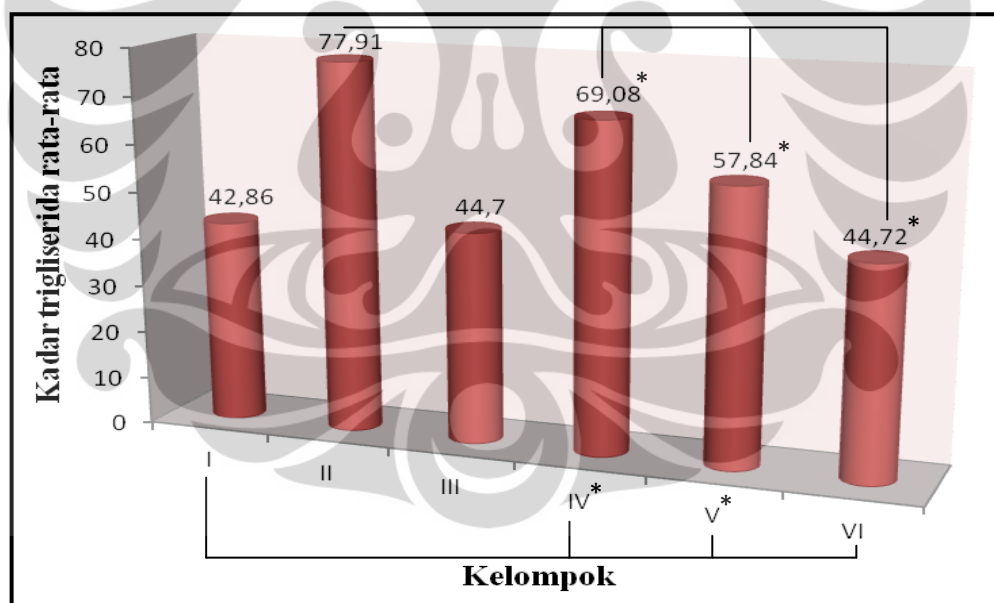
Kadar trigliserida rata-rata tiap kelompok setelah perlakuan 56 hari:

Tabel 4.2. Kadar trigliserida rata-rata setiap kelompok

Kelompok	Kadar trigliserida rata-rata (mg/dl)±SD
I. Kontrol normal	42,86±3,96
II. Kontrol perlakuan	77,91±4,88
III. Kontrol pembanding (simvastatin 9 mg/kg bb)	44,70±5,92
IV. Dosis I (2,25 g/kg bb)	69,08±3,71
V. Dosis II (4,5 g/kg bb)	57,84±2,06
VI. Dosis III (9 g/kg bb)	44,72±2,63

Menurut Tabel 4.2, dosis I, II, dan III memiliki kadar trigliserida lebih rendah dibandingkan kelompok yang hanya diberi diit tinggi kolesterol dan lemak (kontrol perlakuan). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian susu kacang kedelai ketiga variasi dosis tersebut dapat menurunkan kadar trigliserida dalam darah. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, Uji *Levene*, dan uji ANAVA menunjukkan bahwa data trigliserida terdistribusi normal, bervariasi homogen, dan diperoleh hasil yang berbeda bermakna antar kelompok perlakuan. Kemudian dilakukan uji BNT untuk mengetahui perbedaan antar masing-masing kelompok.

Pada analisis uji BNT diketahui bahwa dosis I, II, dan III berbeda secara bermakna dengan kontrol perlakuan yang hanya diberi diit tinggi kolesterol dan lemak. Pada kelompok dosis III menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna dengan kontrol normal yang menunjukkan bahwa dosis III dapat menurunkan kadar trigliserida mendekati normal.



Keterangan: * = Kadar trigliserida rata-rata antar kelompok berbeda secara bermakna, I = Kelompok kontrol normal, II = Kelompok kontrol perlakuan yang diinduksi dengan diit tinggi kolesterol dan lemak, III = Kelompok kontrol pembanding (simvastatin 9 mg/kg bb), IV = Kelompok dosis I (susu kacang kedelai 2,25 g/kg bb), V = Kelompok dosis II (susu kacang kedelai 4,5 g/kg bb), VI = Kelompok dosis III (susu kacang kedelai 9 g/kg bb)

Gambar 4.3. Diagram batang kadar trigliserida rata-rata

4.6 Pengukuran Kadar HDL

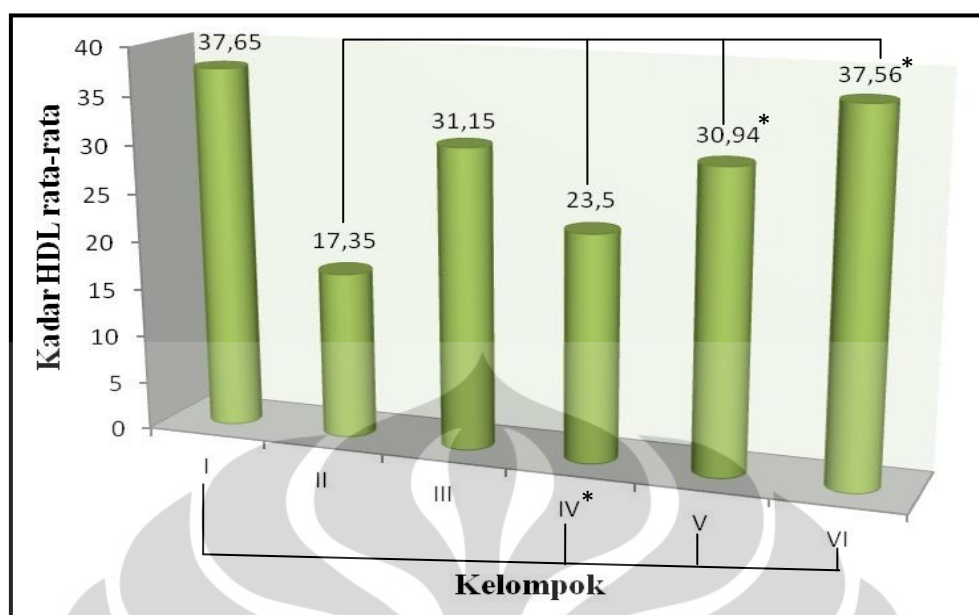
Kadar HDL rata-rata tiap kelompok setelah perlakuan 56 hari:

Tabel 4.3. Kadar HDL rata-rata setiap kelompok

Kelompok	Kadar HDL rata-rata (mg/dl) \pm SD
I. Kontrol normal	37,65 \pm 6,30
II. Kontrol perlakuan	17,35 \pm 5,11
III. Kontrol pembanding (simvastatin 9 mg/kg bb)	31,15 \pm 6,30
IV. Dosis I (2,25 g/kg bb)	23,50 \pm 10,67
V. Dosis II (4,5 g/kg bb)	30,94 \pm 5,00
VI. Dosis III (9 g/kg bb)	37,56 \pm 4,81

Berdasarkan tabel di atas, kontrol perlakuan memiliki kadar HDL lebih rendah dibandingkan kelompok dosis I, II, dan III. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian susu kacang kedelai ketiga variasi dosis tersebut dapat meningkatkan kadar HDL dalam darah. Data kadar HDL terdistribusi normal setelah dianalisis dengan uji *Shapiro-Wilk* dan bervariasi homogen setelah dianalisis dengan uji *Levene*. Pada uji ANAVA diperoleh hasil perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Kemudian dilakukan uji BNT untuk mengetahui perbedaan antar masing-masing kelompok.

Berdasarkan analisis dengan uji BNT diketahui bahwa dosis II dan III berbeda secara bermakna dengan kontrol perlakuan yang hanya diberi diet tinggi kolesterol dan lemak, tetapi tidak dengan dosis I. Hal ini menunjukkan bahwa kadar HDL pada dosis I masih belum meningkat secara signifikan dibandingkan dengan kontrol perlakuan. Pada kelompok dosis II dan III menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna dengan kontrol normal. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis II dan III dapat meningkatkan kadar HDL mendekati normal. Selain kelompok dosis II dan III, ternyata dosis I dapat meningkatkan kadar HDL mendekati kadar HDL kontrol pembanding yang ditunjukkan secara statistik pada kontrol pembanding tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan dosis I, II, dan III.



Keterangan: * = Kadar HDL rata-rata antar kelompok berbeda secara bermakna, I = Kelompok kontrol normal, II = Kelompok kontrol perlakuan yang diinduksi dengan diit tinggi kolesterol dan lemak, III = Kelompok kontrol pembanding (simvastatin 9 mg/kg bb), IV = Kelompok dosis I (susu kacang kedelai 2,25 g/kg bb), V = Kelompok dosis II (susu kacang kedelai 4,5 g/kg bb), VI = Kelompok dosis III (susu kacang kedelai 9 g/kg bb)

Gambar 4.4. Diagram batang kadar HDL rata-rata

4.7 Pengukuran Kadar LDL

Kadar LDL rata-rata tiap kelompok setelah perlakuan 56 hari:

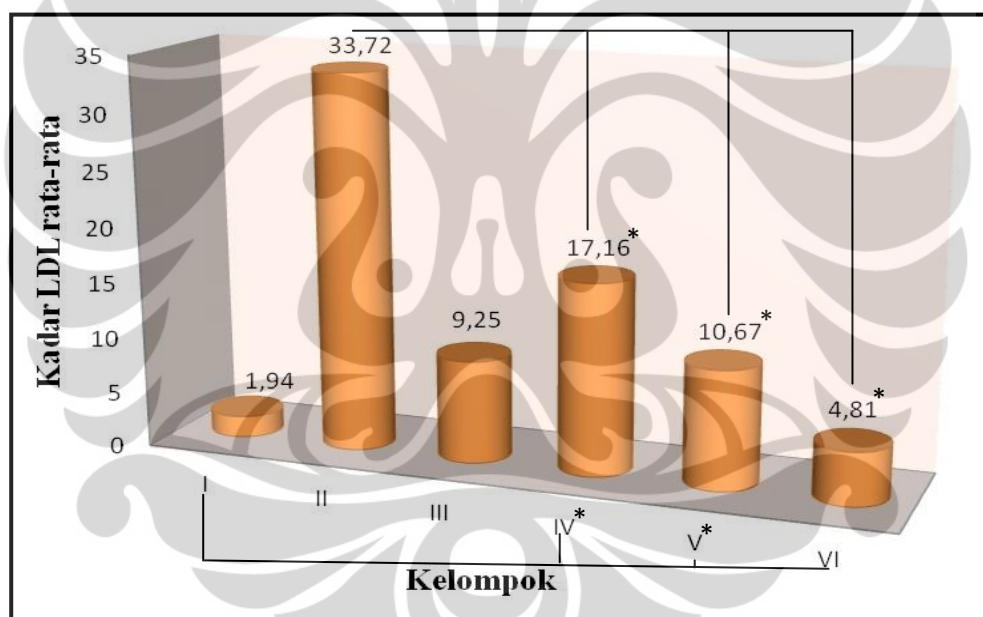
Tabel 4.4. Kadar LDL rata-rata setiap kelompok

Kelompok	Kadar LDL rata-rata (mg/dl)±SD
I. Kontrol normal	1,94±0,96
II. Kontrol perlakuan	33,72±4,84
III. Kontrol pembanding (simvastatin 9 mg/kg bb)	9,25±5,93
IV. Dosis I (2,25 g/kg bb)	17,16±8,31
V. Dosis II (4,5 g/kg bb)	10,67±5,80
VI. Dosis III (9 g/kg bb)	4,81±1,36

Berdasarkan tabel 4.4, dosis I, II, dan III memiliki kadar LDL lebih rendah dibandingkan kontrol perlakuan yang hanya diberi diit tinggi kolesterol dan lemak. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian susu kacang kedelai ketiga variasi

dosis tersebut dapat menurunkan kadar LDL dalam darah. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik. Berdasarkan Uji *Shapiro-Wilk* dan Uji *Levene* menunjukkan bahwa data LDL terdistribusi normal dan bervariasi homogen. Uji selanjutnya yang dilakukan adalah uji ANAVA diperoleh hasil perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Kemudian dilakukan uji BNT untuk mengetahui perbedaan antar masing-masing kelompok.

Berdasarkan analisis dengan uji BNT diketahui bahwa dosis I, II, dan III berbeda secara bermakna dengan kontrol perlakuan yang hanya diberi diet tinggi kolesterol dan lemak. Pada kelompok dosis III menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna dengan kontrol normal dan kontrol pembanding. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada dosis III adalah dosis yang paling baik untuk menurunkan kadar LDL plasma.



Keterangan: * = Kadar LDL rata-rata antar kelompok berbeda secara bermakna, I = Kelompok kontrol normal, II = Kelompok kontrol perlakuan yang diinduksi dengan diet tinggi kolesterol dan lemak, III = Kelompok kontrol pembanding (simvastatin 9 mg/kg bb), IV = Kelompok dosis I (susu kacang kedelai 2,25 g/kg bb), V = Kelompok dosis II (susu kacang kedelai 4,5 g/kg bb), VI = Kelompok dosis III (susu kacang kedelai 9 g/kg bb)

Gambar 4.5. Diagram batang kadar LDL rata-rata

4.8 Aktivitas Kandungan Kimia dalam Susu Kacang Kedelai

Penelitian yang serupa telah dilakukan oleh Chen, Liu, Yang, dan Suetsuna (2004) tentang pemberian susu kacang kedelai yang dapat menurunkan lipid plasma dan hati walaupun terdapat perbedaan dalam pemberian komposisi diit untuk meningkatkan kadar kolesterol dan trigliserida, penggunaan dosis susu kacang kedelai, dan metode yang digunakan untuk menganalisis kadar kolesterol HDL dan kolesterol LDL. Dalam penelitian tersebut, susu kacang kedelai diperoleh dari produk susu kacang kedelai komersial yang diserbukkan dengan cara *freeze-dried* dan dihasilkan serbuk susu kacang kedelai yang ditambahkan ke dalam diit yang diberikan ke tikus, menggunakan dosis 15% dan 22,5% serbuk susu kacang kedelai, dan menggunakan metode ultrasentrifugasi untuk menganalisis kadar kolesterol HDL dan kolesterol LDL. Hasil dari penelitian tersebut yaitu setelah pemberian susu kacang kedelai selama 8 minggu diperoleh penurunan kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, dan peningkatan kadar kolesterol HDL yang signifikan dibandingkan dengan kontrol perlakuan di dalam plasma. Di dalam hati, konsentrasi kolesterol total menurun secara signifikan dibandingkan dengan kontrol perlakuan walaupun kadar kolesterol hati tidak dipengaruhi oleh induksi diit yang diberikan ($P > 0,05$).

Aktivitas susu kacang kedelai dalam menurunkan kadar kolesterol, trigliserida, dan LDL serta meningkatkan kadar HDL diduga karena adanya senyawa protein, isoflavon, dan lesitin. Protein kacang kedelai diduga dapat menurunkan kolesterol pada subjek yang hiperkolesterolemia dengan meningkatkan aktivitas reseptor LDL sehingga meningkatkan pembersihan LDL dari sirkulasi. Selain itu, protein kacang kedelai dapat menghambat absorpsi kolesterol atau reabsorpsi asam empedu atau keduanya pada hewan coba dan meningkatkan klirens kolesterol. Tetapi mekanismenya masih belum jelas (Wang, Jones, Ausman, dan Lichtenstein, 2004). Selain dapat menurunkan kolesterol, protein kacang kedelai juga dapat menurunkan trigliserida. Penelitian yang dilakukan oleh Wang, Jones, Ausman, dan Lichtenstein (2004) dilaporkan bahwa protein kacang kedelai dapat menurunkan trigliserida sebesar 12,4%, kolesterol total sebesar 4,4%, dan kolesterol LDL sebesar 5,7% jika dibandingkan dengan protein hewani. Terjadi penurunan laju sintesis fraksi asam lemak trigliserida (TGFA-FSR) sebesar 13,3%. Oleh karena itu, kadar trigliserida dapat turun

karena beberapa mekanisme, salah satunya karena terjadi penurunan sintesis *de novo* asam lemak trigliserida.

Walaupun isoflavon tidak mempunyai efek secara langsung pada penurunan kadar kolesterol dan trigliserida, isoflavon mempunyai efek antiaterogenik dengan mencegah oksidasi LDL dengan cara berinteraksi dengan apo AI dan terakumulasi pada lipoprotein secara *in vitro*. Akumulasi genistein (aglikon isoflavon) pada lipoprotein mungkin dapat menjelaskan meningkatnya resistensi LDL terhadap oksidasi selama asupan isoflavon kacang kedelai (Kaamanen, Adlercreutz, Jauhiainen, Hakala, Rasanen, dan Tikkanen, 2004). Terdapat penelitian tentang asupan isoflavon dikombinasi dengan latihan fisik lebih efektif daripada hanya pemberian isoflavon atau latihan fisik dalam perbaikan profil lipid dan penghambatan dalam faktor perkembangan resiko penyakit kardiovaskular. Lee, *et al.* (2012) melakukan percobaan pada tikus yang diovariectomi yang dibagi dalam beberapa kelompok, yaitu, kelompok yang hanya diberi makanan biasa, kelompok yang diberi makanan yang mengandung isoflavon, kelompok diberi latihan fisik, dan kelompok yang diberi kombinasi makanan yang mengandung isoflavon dan latihan fisik. Data yang diperoleh dalam perbaikan profil lipid yaitu kelompok tikus ovariektomi dengan kombinasi makanan mengandung isoflavon dan latihan fisik memiliki kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL lebih rendah dan memiliki kadar kolesterol HDL lebih tinggi dari kelompok yang hanya diberi makanan mengandung isoflavon atau latihan fisik. Kekurangan estrogen menyebabkan penambahan berat badan dan dislipidemia, yang merupakan faktor risiko untuk penyakit kardiovaskular. Latihan fisik pada tikus menurunkan penumpukan lemak yang dapat mengurangi berat badan dan meningkatkan perbaikan profil lipid. Latihan aerobik yang teratur juga meningkatkan katabolisme, menurunkan laju pembentukan kolesterol sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Sementara itu, isoflavon yang merupakan fitoestrogen yang secara struktural dan fungsional mirip dengan estrogen dan meningkatkan perbaikan profil lipid dalam darah pada wanita menopause yang menderita hiperlipidemia.

Mekanisme lesitin kacang kedelai terhadap efek antihiperkolesterolemia masih belum jelas. Tetapi terdapat dugaan mekanisme lesitin kacang kedelai dari

beberapa penelitian yaitu sebagian lesitin dapat diserap utuh melalui usus dan tergabung secara khusus ke dalam HDL. Selain itu, lesitin kacang kedelai telah diketahui bertindak sebagai substrat yang baik untuk aktivitas *lecithin-cholesterol acyltransferase* (LCAT). Enzim tersebut dikaitkan dengan pembentukan ireversibel HDL2 dari HDL3 dan HDL2 memiliki kapasitas untuk membawa kolesterol dari jaringan perifer, seperti aorta, kembali ke hati dan kolesterol yang dibawa oleh HDL tersebut dapat diubah menjadi asam empedu. Pada penelitian sebelumnya memperlihatkan pemberian lesitin kacang kedelai kepada tikus dapat meningkatkan aktivitas LCAT yang akan meningkatkan pembersihan kolesterol dari darah melalui ekskresi asam empedu dalam tinja (Wilson, Meservey, dan Nicolosi, 1998).

Penelitian yang dilakukan Wilson, Meservey, dan Nicolosi (1998) yaitu pemberian modifikasi makanan *American Heart Association* (AHA) langkah I yaitu penambahan 3,4% lesitin kacang kedelai ke dalam makanan yang mengandung 30% kkal dari lemak, 9% energi dari lemak jenuh (SFA), 14% energi dari lemak tak jenuh tunggal (MUFA), and 7% energi dari lemak tak jenuh ganda (PUFA) dan 0,04% dari kolesterol kepada monyet (hewan coba) selama 8 minggu diperoleh hasil penurunan kadar kolesterol total sebesar 32% dan penurunan kadar trigliserida sebesar 25% jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang hanya diberi AHA langkah I tanpa modifikasi. Percobaan lain yaitu pemberian makanan yang mengandung 10% minyak kelapa dan 0,05% kolesterol serta penambahan 3,4% lesitin kacang kedelai kepada hamster selama 8 minggu. Hasil yang diperoleh adalah terjadi penurunan kolesterol total hingga 58%. Dari data penelitian tersebut menunjukkan dengan jelas bahwa lesitin kacang kedelai efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida plasma terhadap hewan coba yang dibuat hiperkolesterolemia.

Berdasarkan kandungan kimia dalam kacang kedelai yang dapat memberikan efek antihiperlipidemia, dilakukan uji kualitatif pada susu kacang kedelai terhadap protein, flavonoid, dan lesitin. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa kandungan protein, flavonoid, dan lesitin tidak hilang atau rusak akibat proses pengolahan kacang kedelai dalam pembuatan susu kacang kedelai. Hasil dari uji secara kualitatif dengan reaksi biuret dan xantoprotein

menunjukkan positif adanya protein dalam susu kedelai. Berdasarkan uji shinoda dan wilson-taubock, flavonoid positif terdapat dalam susu kacang kedelai. Reaksi untuk identifikasi secara kualitatif pada lesitin (suatu fosfolipid) yang telah dihidrolisis dengan asam dan pemanasan hingga mendidih, gliserol yang terbentuk (mengandung OH- polivalen) diuji dengan reaksi cuprifil dan memperoleh hasil yang positif sedangkan fosfat direaksikan dengan amonium molibdat juga memberikan hasil positif. Jadi, berdasarkan uji kualitatif, dalam susu kacang kedelai masih terdapat protein, flavonoid, dan lesitin. Uji kualitatif protein, flavonoid, dan lesitin terdapat pada lampiran 9, 10, dan 11.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Susu kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) memiliki efek antihiperlipidemia dengan dosis 2,25; 4,5; dan 9 g/kg bb tikus pada tikus putih jantan ditinjau dari penurunan kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, dan peningkatan kolesterol HDL. Susu kacang kedelai dengan dosis 9 g/kgbb tikus memberikan hasil yang paling baik dibandingkan dengan dosis 2,25 g/kg bb tikus dan dosis 4,5 g/kg bb tikus karena memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol normal.

5.2 Saran

Melakukan pengujian terhadap efek antihiperlipidemia pada produk olahan kacang kedelai lainnya seperti produk olahan kacang kedelai yang sudah terfermentasi berupa tempe atau yogurt susu kacang kedelai.

DAFTAR ACUAN

- Adam, John MF. Dislipidemia. *Dalam: Sudoyo, Aru W., Setiyohadi, Bambang., Alwi, Idrus., K, Marcellus S., dan Setiati, Siti (Ed.). (2006). Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. (Jilid III, Ed. IV). Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1926-1930.*
- Arjmandi, Brahma H. dan Smith, Brenda J. (2002). Soy Isoflavones' Osteoprotective Role in Postmenopausal Women: Mechanism of Action. *J. Nutr. Biochem* (13), 130-137.
- Botham, Kathleen M., dan Mayes, Peter A. Pengangkutan dan Penyimpanan Lemak. *Dalam: Murray, Robert K., Granner, Daryl K., dan Rodwell, Victor W (Ed.). (2006). Biokimia Harper (Ed. 27). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 225-234.*
- Brown, Carol T. Penyakit Aterosklerotik Koroner. *Dalam: Price, Sylvia A., dan Wilson, Lorraine M. (2003). Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit (Brahm U. Pendit, Huriawati Hartanto, Pita Wulansari, dan Dewi Asih Mahanani, Penerjemah). (Ed. Ke-6, Vol. 1). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 580-588.*
- Chen, Jiun-Rong., Liu, Shih-Ming., Yang, Suh-Ching., dan Suetsuna, Kunio. (2004). Soymilk Intake is Associated with Plasma and Liver Lipid Profiles in Rats Fed a High-Cholesterol Diet. Elsevier Inc. *Nutr* (20), 929–933.
- Chiechi, *et al.* (2002). The Effect of Soy Rich Diet on Serum Lipids: The Menfis Randomized Trial. *Maturitas* (41), 97-104.
- Chiechi, L. M., Putignano, G., Guerra, V., Schiavelli, M. P., Cisternino, A. M., Carriero C. (2003). The Effect of A Soy Diet on The Vaginal Epithelium in Postmenopause: A Randomized Double Blind Trial. *Maturitas* (45), 241-246.
- Cholesterol Enzymatic Endpoint Method Manual.* (2010). United Kingdom: RANDOX Laboratories Limited, 1-2.
- Corwin, Elizabeth J. (2007). *Buku Saku Patofisiologi* (Nike Budhi Subekti, Penerjemah). (Ed. Ke-3). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 477-481.

- Cenedella, Richard J. Cholesterol and Hypocholesterolemic Drugs. *Dalam*: Craig, Charles R., dan Stitzel, Robert E. (1997). *Modern Pharmacology with Clinical Applications* (5th ed.). United States of America: Little, Brown and Company, 281-288.
- Daniel, M. (2006). *Medicinal Plants Chemistry and Properties*. USA: Science Publishers, 167-168.
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Materia Medika Indonesia* (Jilid VI). Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 337.
- Devareddy, *et al.* (2006). Soy Moderately Improves Microstructural Properties Without Affecting Bone Mass in An Ovariectomized Rat Model of Osteoporosis. *Bone* (38), 686-693.
- Forster, C. Hyperlipoproteinemias and Antihyperlipidemic Drugs. *Dalam*: Kalant, Harold., dan Roschlau, Walter (Ed.). (1998). *Principles of Medical Pharmacology* (6th Ed.). New York: Oxford University Press, 488-499.
- Fukuda, Itsuko., Tsutsui, Miki., Yoshida, Tadashi., Toda, Toshida., Tsuda, Takanori., dan Ashida, Hitoshi. (2011). Oral Toxicological Studies of Black Soybean (*Glicine max*) Hull Extract: Acute Studies in Rats and Mice, and Chronic Studies in Mice. *Food and Chemical Toxicology* (49), 3272-3278.
- Ganong, William F. (2005). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* (Ed. Ke-22) (Brahm U. Pendi, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 316-321.
- HDL Cholesterol Precipitant Manual*. (2007). Germany: Human Gesellschaft, 1.
- Heinrich, Michael., Barnes, Joanne., Gibbons, Simon., dan Williamson, Elizabeth. (2004). *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytoterapy*. Toronto: Elsevier Science Limited, 255.
- Hernasari. (2008). *Efek Antihyperlipidemia Ekstrak Etanol Daun Alpukat (Persea americana Mill) pada Tikus Putih Jantan yang Diberi Diit Tinggi Kolesterol dan Lemak*. Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA UI, 24-28.
- Jumadi. Pengkajian Teknologi Pengolahan Susu Kedelai. *Dalam*: Kartasasmita, Unang G., *et al.* (Ed.). (2009). *Buletin Teknik Pertanian* (vol. 14, no. 1,

- hal. 34-36). Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian.
- Kaamanen, M. H., Adlercreutz, H., Jauhiainen, M., Hakala, T., Rasanen, K., dan Tikkanen, M. J. (2004). Accumulation of Genistein in Reconstituted Apolipoprotein-Lipid Discoidal Particles. *J. Nutr.* (134), 1273S.
- Kelompok Kerja Ilmiah Phyto Medica. (1993). *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica.
- Kurniawan, Anie. (2002). *Gizi Seimbang untuk Mencegah Hipertensi*. Januari 16, 2012. <http://gizi.depkes.go.id/makalah/gizi%20Seimbang%20Utk%20Hipertensi.PDF>.
- Lee, Jin., *et al.* (2012). Combined Effects of Exercise and Soy Isoflavon Diet on Paraoxonase, Nitric Oxide and Aortic Apoptosis in Ovariectomized Rats. *Appetite* (58), 462-469.
- Lee, Yoon-Bok., Lee, Hyong Joo, dan Sohn, Heon Soo. (2005). Soy Isoflavones and Cognitive Function. *J. Nutr. Biochem.* (16), 641-649.
- Linder, Maria C. (Ed.). (2006). *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan Pemakaian secara Klinis* (Aminuddin Parakkasi, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press), 64-65.
- Mahley, Robert W., dan Bersot, Thomas P. Terapi Obat untuk Hiperkolesterolemia dan dislipidemia. *Dalam: Hardman, Joel G., dan Limbird, Lee E.* (2003). *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi* (Tim Ahli Bahasa Sekolah Farmasi ITB, Penerjemah). (Ed. Ke-10, Vol. 1). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 943-966.
- Markham, K. R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid* (Kosasih Padmawinata, Penerjemah). Bandung: Penerbit ITB, 74-75.
- Mayes, Peter A. Lipid yang Memiliki Makna Fisiologis. *Dalam: Murray, Robert K., Graner, Daryl K., Mayes, Peter A., dan Rodwell, Victor W.* (2001a). *Biokimia Harper* (Andry Hartono, Penerjemah). (Ed. Ke-25). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 151.

- Mayes, Peter A. Pengangkutan dan Penyimpanan Lipid. *Dalam*: Murray, Robert K., Graner, Daryl K., Mayes, Peter A., dan Rodwell, Victor W. (2001b). *Biokimia Harper* (Andry Hartono, Penerjemah). (Ed. Ke-25). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 255-256.
- Mayes, Peter A. Metabolisme Asilgliserol dan Sfingolipid. *Dalam*: Murray, Robert K., Graner, Daryl K., Mayes, Peter A., dan Rodwell, Victor W. (2001c). *Biokimia Harper* (Andry Hartono, Penerjemah). (Ed. Ke-25). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 245-246.
- Mayes, Peter A. Sintesis, Pengangkutan, dan Ekskresi Kolesterol. *Dalam*: Murray, Robert K., Graner, Daryl K., Mayes, Peter A., dan Rodwell, Victor W. (2001d). *Biokimia Harper* (Andry Hartono, Penerjemah). (Ed. Ke-25). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 270-271.
- Mayes, Peter A. Biosintesis Asam Lemak. *Dalam*: Murray, Robert K., Graner, Daryl K., Mayes, Peter A., dan Rodwell, Victor W. (2001e). *Biokimia Harper* (Andry Hartono, Penerjemah). (Ed. Ke-25). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 220-221.
- Mayes, Peter A., dan Botham, Kathleen M. Lipid Transport & Storage. *Dalam*: Murray, Robert K., Graner, Daryl K., Mayes, Peter A., dan Rodwell, Victor W. (2003). *Harper's Illustrated Biochemistry* (29th Ed.). United States: McGraw-Hill Companies, 207.
- Montgomery, Rex., Dryer, Robert L., Conway, Thomas W., dan Spector, Arthur A. (1993). *Biokimia Suatu Pendekatan Berorientasi-Kasus* (M. Ismadi, Penerjemah). (Ed. Ke-4, jilid 2). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, 718-729.
- Mora, Samia., Rifai, Nader., Buring, Julie E., dan Ridker, Paul M. (2009). Comparison of LDL Cholesterol Concentrations by Friedewald Calculation and Direct Measurement in Relation to Cardiovascular Events in 27 331 Women. *Clin. Chem.* (55:5), 888–894.
- Mun'im, Abdul, dan Hanani, Endang. (2011). *Fitoterapi Dasar*. Jakarta: Dian Rakyat, 237-239.
- Nahas, Eliana A. P., Nahas-Neto, Jorge., Orsatti, Fabio L., Carvalho, Eduardo P., Oliveira, Maria Luiza C. S., dan Dias, Rogerio. (2007). Efficacy and

- Safety of A Soy Isoflavone Extract in Postmenopausal Women: A Randomized, Double-Blind, and Placebo-Controlled Study. *Maturitas* (58), 249-258.
- Nordestgaard, Borge G., dan Marianne, Benn. (2009). Fasting and Nonfasting LDL Cholesterol: To Measure or Calculate?. *Clin. Chem.* (55:5), 845-847.
- Osada, Kyoichi., Inoue, Tomoko., Nakamura, Shingo., dan Sugano, Michihiro. (1999). Dietary Soybean Protein Moderates the Deleterious Disturbance of Lipid Metabolism Caused by Exogenous Oxidized Cholesterol in Rats. Elsevier Science B.V: *Biochimica et Biophysica Acta* (1427), 337-350.
- Palaniswamy, Usha. (2008). *Asian Crops and Human Dietetics*. New York: The Haworth Press, Taylor and Francis Group.
- Panchal, Vandana. (2009). *Phytochemicals and Flavor Profiles of Soymilk*. Thesis Master Specialization in Human and Food Science South Dakota State University, 21-23.
- Parmart, N. S., dan Prakash, Shiv. (2006). *Screening Methods in Pharmacology*. Oxford: Alpha Science International Ltd, 299-303.
- Pitojo, Setijo. (2003). *Seni Penangkaran Benih Kedelai*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius, 18-20.
- Plowden, C. Chicheley. (1972). *A Manual of Plant Names* (3th Edition). London: George Allen & Unwin Ltd, 219-234.
- Esti dan Sediadi, Agus (Ed.). (2000). *Susu Kedelai*. Januari 13, 2012. http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/pangan/piwp/susu_kedelai.pdf
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. (2010). *Kedelai Varietas Lokal Grobogan*. Juni 25, 2012. <http://pustaka.litbang.deptan.go.id/bppi/lengkap/bpp10034.pdf>
- Saidu, Janette E.P. (2005). *Development, Evaluation and Characterization of Protein-Isoflavone Enriched Soymilk*. Januari 13, 2012. http://etd.Isu.edu/docs/available/etd-11162005-150755/unrestricted/Saidu_dis.pdf, 1, 66-68.

- Samuelsson, Gunnar. (1999). *Drugs of Natural Origin A Textbook of Pharmacognosy* (4th ed.). Sweden: Swedish Pharmaceutical Society, Swedish Pharmaceutical Press, 174-175.
- Shriner, Ralph L., Fuson, Reynold C., Curtin, David Y., dan Morrill, Terence C. (1980). *The Systematic Identification of Organic Compounds* (6th ed.). Canada: John Wiley & Sons. Inc., 249-253.
- Sirtori, Cesare R., Anderson, James W., dan Arnoldi, Anna. (2007). Nutritional and nutraceutical considerations for dyslipidemia. *Future Lipidol* 2(3), 313–339.
- Sutarno, Hadi. Kedelai. *Dalam: Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi-LIPI dan Balai Metodologi Informasi Pertanian Ciawi-DEPTAN.* (1993). *Lembaran Informasi PROSEA (Plant Resources of South-East Asia)*. Vol. 1 No. 1. PROSEA Indonesia: PROSEA Fondation, 7-8.
- Suyatna, F.D. Hipolipidemik. *Dalam: Gunawan, S.G., R. Setiabudy, Nafrialdi, Elysaabeth (Ed.).* (2007). *Farmakologi dan Terapi.* (Ed. Ke-5). Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 373-385.
- Svehla, G. (1985). *Vogel Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro* (Ed. Ke-5) (Setiono dan Hadyana Pudjaatmaka, Penerjemah). Jakarta: PT. Kalman Media Pusaka, 378-379.
- Thomas, L. C., dan Chamberlin, G. J. (1980). *Colorimetric Chemical Analytical Method* (9th Ed.). Salisbury: The Tintometer Ltd., 426-428.
- Tiano, Joseph P., *et al.* (2011). Estrogen Receptor Activation Reduces Lipid Synthesis in Pancreatic Islets and Prevents β cell Failure in Rodent Models of Type 2 Diabetes. *J. Clin. Inves.* (121), number 8.
- Triglycerides GPO-PAP Method Manual. (2011). United Kingdom: RANDOX Laboratories Limited, 1-2.
- Ulbricht, Catherine. (2010). *Natural Standard Herb & Supplement Guide: An Evidence-Based Reference*. United States of America: Mosby Elsevier Inc., 667-670.
- Ulbricht, Catherine., dan Seamon, Erica. (2010). *Natural Standard Herbal Pharmacotherapy*. Missouri: Elsevier Inc., 187.

- Unitly, Adrien J A. (2008). *Efektivitas Pemberian Tepung Kedelai dan Tepung Tempe terhadap Kinerja Uterus Tikus Ovariectomi*. Bogor: Tesis Magister Biologi IPB, 39.
- Walker, Roger. Dyslipidaemia. *Dalam: Walker, Roger., dan Edwards, Clive (Ed.). (2003). Clinical Pharmacy and Therapeutics (3rd edition)*. Spanyol: Churchill Livingstone, 364.
- Wang, Yanwen., Jones, Peter J. H., Ausman, Lynne M., dan Lichtenstein, Alice H. (2004). Soy Protein Reduces Triglyceride levels and Triglyceride Fatty Acid Fractional Synthesis Rate in Hypercholesterolemic. *Atherosclerosis (173)*, 269-275.
- Wilson, Thomas A., Meservey, Craig M., dan Nicolosi, Robert J. (1998). Soy Lecithin Reduces Plasma Lipoprotein Cholesterol and Early Atherogenesis in Hypercholesterolemic Monkeys and Hamsters: Beyond Linoleated. *Atherosclerosis (140)*, 147-153.
- Winder, A F., Richmond, W., dan Vallance, D T. (1997). Investigation of Dyslipidaemias. *Journal of Clinical Pathology (50)*, 721-734.

A large, light gray watermark of a traditional Indonesian floral motif, possibly a batik pattern, is centered on the page. It features a central vertical axis with symmetrical, flowing, petal-like shapes that radiate outwards, creating a complex, organic design.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel kadar kolesterol total tikus setelah perlakuan 56 hari

Kelompok	Kadar Kolesterol Total (mg/dl)
I. Kontrol normal (CMC 0,5%)	53,22
	48,65
	42,03
	54,94
	41,97
Kadar kolesterol total rata-rata±SD	48,16±5,43
II. Kontrol perlakuan (Diit tinggi kolesterol dan lemak)	62,11
	64,06
	64,81
	76,39
	66,22
Kadar kolesterol total rata-rata±SD	66,72±5,01
III. Kontrol pembanding (Simvastatin 9 mg/kg bb tikus)	50,57
	52,24
	52,70
	46,43
	44,77
Kadar kolesterol total rata-rata±SD	49,34±3,56
IV. Dosis 1 (Susu kacang kedelai 2,25 g/kg bb tikus)	49,13
	58,80
	57,08
	50,82
	56,52
Kadar kolesterol total rata-rata±SD	54,47±4,23
V. Dosis II (Susu kacang kedelai 4,5 g/kg bb tikus)	52,02
	53,65
	56,01
	48,31
	56,52
Kadar kolesterol total rata-rata±SD	53,30±2,98
VI. Dosis III (Susu kacang kedelai 9 g/kgbb tikus)	52,02
	51,93
	54,81
	44,64
	53,17
Kadar kolesterol total rata-rata±SD	51,31±3,49

Lampiran 2. Tabel kadar trigliserida tikus setelah perlakuan 56 hari

Kelompok	Kadar Trigliserida (mg/dl)
I. Kontrol normal (CMC 0,5%)	36,53
	48,85
	43,97
	43,22
	41,75
Kadar trigliserida rata-rata±SD	42,86±3,96
II. Kontrol perlakuan (Diit tinggi kolesterol dan lemak)	80,81
	72,21
	73,21
	77,94
	85,39
Kadar trigliserida rata-rata±SD	77,91±4,88
III. Kontrol pembanding (Simvastatin 9 mg/kg bb tikus)	52,87
	47,71
	44,65
	34,79
	43,49
Kadar trigliserida rata-rata±SD	44,70±5,92
IV. Dosis 1 (Susu kacang kedelai 2,25 g/kg bb tikus)	64,37
	65,76
	71,54
	72,29
	71,44
Kadar trigliserida rata-rata±SD	69,08±3,71
V. Dosis II (Susu kacang kedelai 4,5 g/kg bb tikus)	58,86
	54,74
	57,99
	60,89
	56,73
Kadar trigliserida rata-rata±SD	57,84±2,06
VI. Dosis III (Susu kacang kedelai 9 g/kgbb tikus)	43,20
	43,56
	49,29
	41,75
	45,81
Kadar trigliserida rata-rata±SD	44,72±2,63

Lampiran 3. Tabel kadar HDL tikus setelah perlakuan 56 hari

Kelompok	Kadar HDL (mg/dl)
I. Kontrol normal (CMC 0,5%)	43,58
	36,87
	31,35
	46,05
	30,42
Kadar HDL rata-rata±SD	37,65±6,30
II. Kontrol perlakuan (Diit tinggi kolesterol dan lemak)	13,76
	11,04
	15,19
	22,73
	24,01
Kadar HDL rata-rata±SD	17,35±5,11
III. Kontrol pembanding (Simvastatin 9 mg/kg bb tikus)	22,58
	36,94
	37,30
	24,56
	34,38
Kadar HDL rata-rata±SD	31,15±6,30
IV. Dosis 1 (Susu kacang kedelai 2,25 g/kg bb tikus)	7,42
	24,01
	33,72
	19,94
	32,40
Kadar HDL rata-rata±SD	23,50±10,67
V. Dosis II (Susu kacang kedelai 4,5 g/kg bb tikus)	35,85
	35,98
	32,56
	26,88
	23,42
Kadar HDL rata-rata±SD	30,94±5,00
VI. Dosis III (Susu kacang kedelai 9 g/kgbb tikus)	38,67
	36,12
	40,54
	33,44
	39,04
Kadar HDL rata-rata±SD	37,56±2,50

Lampiran 4. Tabel kadar LDL tikus setelah perlakuan 56 hari

Kelompok	Kadar LDL (mg/dl)
I. Kontrol normal (CMC 0,5%)	2,33
	2,01
	1,89
	0,25
	3,20
Kadar LDL rata-rata±SD	1,94±0,96
II. Kontrol perlakuan (Diit tinggi kolesterol dan lemak)	32,19
	38,24
	34,98
	38,07
	25,13
Kadar LDL rata-rata±SD	33,72±4,84
III. Kontrol pembanding (Simvastatin 9 mg/kg bb tikus)	17,42
	5,76
	6,47
	14,91
	1,69
Kadar LDL rata-rata±SD	9,25±5,93
IV. Dosis 1 (Susu kacang kedelai 2,25 g/kg bb tikus)	28,84
	21,64
	9,05
	16,42
	9,83
Kadar LDL rata-rata±SD	17,16±8,31
V. Dosis II (Susu kacang kedelai 4,5 g/kg bb tikus)	4,40
	6,72
	11,85
	9,25
	21,15
Kadar LDL rata-rata±SD	10,67±5,80
VI. Dosis III (Susu kacang kedelai 9 g/kgbb tikus)	4,71
	7,10
	4,41
	2,85
	4,97
Kadar LDL rata-rata±SD	4,81±1,36

Lampiran 5. Tabel kadar kolesterol total, trigliserida, HDL, dan LDL setelah perlakuan selama 56 hari

Kelompok	Kadar kolesterol total	Kadar trigliserida	Kadar HDL	Kadar LDL
I. Kontrol normal (CMC 0,5%)	53,22	36,53	43,58	2,33
	48,65	48,85	36,87	2,01
	42,03	43,97	31,35	1,89
	54,94	43,22	46,05	0,25
	41,97	41,75	30,42	3,20
Rata-rata ±SD	48,16±5,43	42,86±3,96	37,65±6,30	1,94±0,96
II. Kontrol negatif (Diit tinggi kolesterol dan lemak)	62,11	80,81	13,76	32,19
	64,06	72,21	11,04	38,24
	64,81	73,21	15,19	34,98
	76,39	77,94	22,73	38,07
	66,22	85,39	24,01	25,13
Rata-rata±SD	66,72±5,01	77,91±4,88	17,35±5,11	33,72±4,84
III. Kontrol positif (Simvastatin 9 mg/kg bb tikus)	50,57	52,87	22,58	17,42
	52,24	47,71	36,94	5,76
	52,70	44,65	37,30	6,47
	46,43	34,79	24,56	14,91
	44,77	43,49	34,38	1,69
Rata-rata±SD	49,34±3,56	44,70±5,92	31,15±6,30	9,25±5,93
IV. Dosis I (Susu kacang kedelai 2,25 g/kg bb tikus)	49,13	64,37	7,42	28,84
	58,8	65,76	24,01	21,64
	57,08	71,54	33,72	9,05
	50,82	72,29	19,94	16,42
	56,52	71,44	32,4	9,83
Rata-rata±SD	54,47±4,23	69,08±3,71	23,50±10,67	17,16±8,31
V. Dosis II (Susu kacang kedelai 4,5 g/kg bb tikus)	52,02	58,86	35,85	4,4
	53,65	54,74	35,98	6,72
	56,01	57,99	32,56	11,85
	48,31	60,89	26,88	9,25
	56,52	56,73	23,42	21,15
Rata-rata±SD	53,30±2,98	57,84±2,06	30,94±5,00	10,67±5,80
VI. Dosis III (Susu kacang kedelai 9 g/kgbb tikus)	52,02	43,2	38,67	4,71
	51,93	43,56	36,12	7,1
	54,81	49,29	40,54	4,41
	44,64	41,75	33,44	2,85
	53,17	45,81	39,04	4,97
Rata-rata±SD	51,31±3,50	44,72±2,63	37,56±2,50	4,81±1,36

Lampiran 6. Perhitungan dosis dan pembuatan susu kacang kedelai

Dosis susu kacang kedelai yang digunakan adalah sebagai berikut:

Dosis I : 2,25 g/200 g bb tikus/hari

Dosis II : 4,5 g/200 g bb tikus/hari

Dosis III : 9 g/200 g bb tikus/hari

Susu kacang kedelai dibuat 4 hari sekali. Jumlah tikus yang digunakan adalah 5 ekor. Jadi, berat kering kacang kedelai yang ditimbang untuk masing-masing dosis adalah:

Dosis I : $2,25 \text{ g} \times 4 \text{ hari} \times 5 \text{ ekor} = 45 \text{ g}$

Dosis II : $4,5 \text{ g} \times 4 \text{ hari} \times 5 \text{ ekor} = 90 \text{ g}$

Dosis III : $9 \text{ g} \times 4 \text{ hari} \times 5 \text{ ekor} = 180 \text{ g}$

Pembuatan susu kacang kedelai dilakukan pada masing-masing dosis. Pada dosis I, sebanyak 45 g kacang kedelai kering dicuci dan dibersihkan, kemudian direbus selama \pm 15 menit, lalu direndam dalam air bersih selama 12 jam. Kacang kedelai yang telah direndam dalam air dicuci sampai kulit arinya terkelupas, lalu diblender dengan 90 ml aquadest (perbandingan air : kacang kedelai yaitu 2 : 1). Campuran tersebut disaring dengan kain saring sehingga diperoleh larutan susu kacang kedelai. Susu kacang kedelai yang diperoleh dipanaskan sambil diaduk (tidak sampai mendidih). Kemudian susu kacang kedelai tersebut diuapkan pada suhu di bawah 60°C sampai mendapatkan volume sebanyak 60 ml (volume pemberian adalah 3 ml). Dosis II dan dosis III juga dibuat seperti dosis I dengan kacang kedelai yang digunakan masing-masing sebanyak 90 g dan 180 g.

Lampiran 7. Perhitungan dosis dan pembuatan suspensi simvastatin

Dosis efektif simvastatin pada manusia adalah 10 mg/hari maka dosis untuk tikus per 200 g bb adalah $10 \text{ mg/hari} \times 0,018 \times 10 = 1,8 \text{ mg/hari}$. Volume larutan yang diberikan adalah 3 ml maka volume yang dibutuhkan adalah: 5 ekor $\times 3 \text{ ml} = 15 \text{ ml}$. Jumlah simvastatin yang ditimbang:

$$\frac{15 \text{ ml}}{3 \text{ ml}} \times 1,8 \text{ mg} = 9 \text{ mg} \text{ (disuspensikan dengan larutan CMC 0,5\% ad 15 ml)}$$

$$\text{CMC yang ditimbang} = \frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 15 \text{ ml} = 0,075 \text{ g}$$

Larutan CMC 0,5% dibuat dengan menimbang 0,1 g CMC lalu ditaburkan dalam air panas pada suhu 80°C dengan volume 20 kali berat CMC yaitu 2 ml dan didiamkan selama kurang lebih 30 menit hingga CMC mengembang. Setelah pendiaman, CMC digerus hingga homogen, lalu ditambahkan aquadest hingga 15 ml.

Lampiran 8. Pembuatan diit tinggi kolesterol dan lemak

Diit tinggi kolesterol dan lemak dibuat dengan komposisi:

Kuning telur	80%
Larutan sukrosa 65%	15%
Lemak hewan	5%

Volume emulsi yang diberikan adalah 3 ml maka volume yang dibutuhkan adalah:

$$[(5 \text{ kelompok} \times 5 \text{ ekor}) \times 3 \text{ ml}] = 75 \text{ ml}$$

$$\text{Kuning telur} \quad : \quad \frac{80 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 75 \text{ ml} = 60 \text{ g}$$

$$\text{Larutan sukrosa 65\%} \quad : \quad \frac{15 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 75 = 11,25 \text{ g}$$

$$\text{Lemak hewan} \quad : \quad \frac{5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 75 \text{ ml} = 3,75 \text{ g}$$

Diit tinggi kolesterol dan lemak dibuat dalam bentuk emulsi, semua bahan dicampur, kemudian dikocok dengan kecepatan tinggi hingga homogen. Diit dibuat baru setiap harinya.

Lampiran 9. Uji kualitatif protein susu kacang kedelai

a. Reaksi biuret (Thomas dan Chamberlin, 1980)

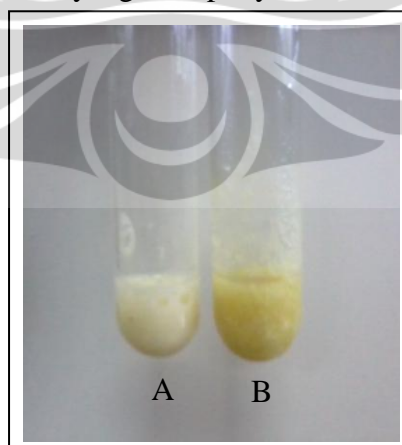
- Cara : 1 ml susu kacang kedelai + larutan NaOH sampai alkalis + 1 tetes larutan $\text{CuSO}_4 \rightarrow$ terbentuk larutan berwarna biru ungu
- Hasil : Terbentuk larutan berwarna biru ungu yang menunjukkan positif adanya protein dalam susu kacang kedelai



Gambar reaksi biuret

b. Reaksi xantoprotein (Shriner, Fuson, Curtin, dan Morrill, 1980)

- Cara : 1 ml susu kacang kedelai + larutan $\text{HNO}_{3(p)}$ \rightarrow terbentuk larutan berwarna kuning
- Hasil : Terbentuk larutan berwarna kuning yang menunjukkan positif adanya protein yang mempunyai inti benzen



Keterangan: A = Blanko susu kacang kedelai, B = Susu kacang kedelai yang telah direaksikan dengan pereaksi xantoprotein.

Gambar reaksi xantoprotein

Lampiran 10. Uji kualitatif flavonoid susu kacang kedelai

4.9.2 Reaksi Shinoda (Markham, 1988)

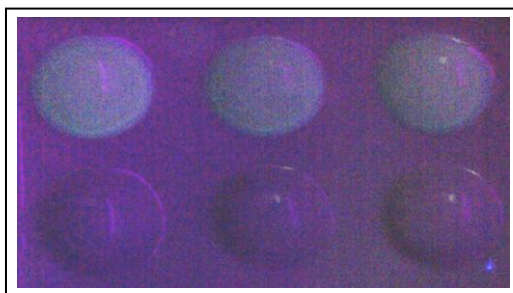
- Cara : Susu kacang kedelai ditambahkan 4 mL etanol 95% hingga tercampur homogen. 2 mL larutan tersebut ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium. Kemudian ditambahkan 10 tetes HCl (p) P, kocok perlahan, terbentuk warna merah jingga
- Hasil : Terbentuk warna merah jingga yang menunjukkan positif adanya flavonoid



Gambar reaksi shinoda

4.9.3 Reaksi Wilson – Taubock (Departemen Kesehatan RI, 1995)

- Cara : Susu kacang kedelai ditambahkan aseton, kocok homogen. Kemudian tambahkan sedikit serbuk asam borat dan asam oksalat, dipanaskan hati-hati dan hindari pemanasan berlebihan, tambahkan 10 mL eter. Diamati dengan sinar ultraviolet 366 nm. Larutan akan berfluoresensi kuning intensif (positif flavonoid)
- Hasil : Berfluoresensi kuning yang menunjukkan positif adanya flavonoid.



Gambar reaksi wilson-taubock

Lampiran 11. Uji kualitatif lesitin susu kacang kedelai

Lesitin merupakan suatu senyawa fosfolipid. Susu kacang kedelai dihidrolisis terlebih dahulu dengan menggunakan asam pekat dan dengan pemanasan hingga mendidih. Hal ini dilakukan untuk menghidrolisis lesitin menjadi asam lemak dan gliserol. Kemudian dilakukan pengujian terhadap gliserol dengan reaksi cuprifil dan fosfat.

a. Reaksi cuprifil

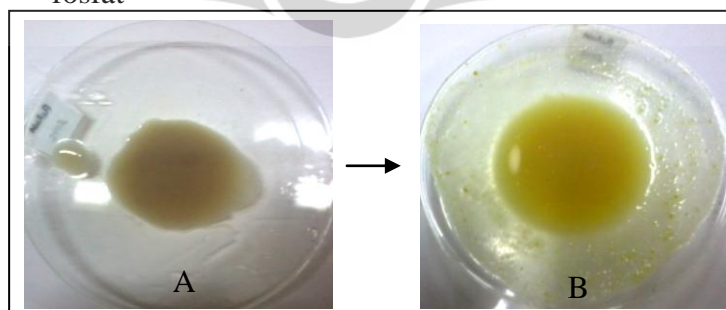
- Cara : 1 ml susu kacang kedelai + larutan NaOH sampai alkalis + 1 tetes larutan $\text{CuSO}_4 \rightarrow$ terbentuk larutan berwarna biru ungu
- Hasil : Terbentuk larutan berwarna biru ungu yang menunjukkan positif adanya alkohol polivalen yang terdapat pada gliserol



Gambar reaksi cuprifil

b. Reaksi dengan reagen amonium molibdat (Svehla, 1985)

- Cara : $\frac{1}{2}$ ml susu kacang kedelai + 1 ml larutan $\text{HNO}_3(p)$ + 2-3 ml larutan amonium molibdat \rightarrow terbentuk endapan berwarna kuning
- Hasil : Terbentuk endapan kuning yang menunjukkan positif adanya fosfat



Keterangan: A = Blanko susu kacang kedelai, B = Susu kacang kedelai yang telah diberi reagen amonium molibdat, endapan terbentuk dan terletak di dinding kaca arloji B.

Gambar reaksi fosfat dengan reagen amonium molibdat

Lampiran 12. Uji normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) terhadap kadar kolesterol total plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk melihat data kadar kolesterol total plasma seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: Ho = Data kadar kolesterol total plasma tikus terdistribusi normal

Ha = Data kadar kolesterol total plasma tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi > 0,05

Ho ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Kadar_kolesterol_total	1	.868	5	.257
	2	.797	5	.077
	3	.881	5	.312
	4	.880	5	.309
	5	.929	5	.588
	6	.816	5	.108

Keputusan: Data kadar kolesterol total plasma tikus pada tiap kelompok terdistribusi normal

Lampiran 13. Uji homogenitas (Uji *Levene*) terhadap kadar kolesterol total plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk melihat data kadar kolesterol total plasma seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = Data kadar kolesterol total plasma tikus bervariasi secara homogen

Ha = Data kadar kolesterol total plasma tikus tidak bervariasi secara homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kadar_kolesterol_total	Based on Mean	.765	5	24	.584

Keputusan: Data kadar kolesterol total plasma tikus pada tiap kelompok bervariasi homogen

Lampiran 14. Uji analisis variansi (ANAVA) satu arah terhadap kadar kolesterol total plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data terhadap kadar kolesterol total plasma seluruh kelompok hewan uji

Hipotesis: Ho = Data kadar kolesterol total plasma tikus tidak berbeda secara bermakna

Ha = Data kadar kolesterol total plasma tikus berbeda secara bermakna

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1126.848	5	225.370	10.795	.000
Within Groups	501.067	24	20.878		
Total	1627.915	29			

Keputusan: Data kadar kolesterol total plasma tikus antar kelompok perlakuan berbeda secara bermakna

Lampiran 15. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar kolesterol total plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk mengetahui letak perbedaan data kadar kolesterol total plasma antar kelompok hewan uji

Hipotesis: Ho = Data kadar kolesterol total plasma tikus tidak memiliki perbedaan

Ha = Data kadar kolesterol total plasma tikus berbeda memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-18.55600*	2.88983	.000	-24.5203	-12.5917
	3	-1.18000	2.88983	.687	-7.1443	4.7843
	4	-6.30800*	2.88983	.039	-12.2723	-.3437
	5	-5.14000	2.88983	.088	-11.1043	.8243
	6	-3.15200	2.88983	.286	-9.1163	2.8123
2	1	18.55600*	2.88983	.000	12.5917	24.5203
	3	17.37600*	2.88983	.000	11.4117	23.3403
	4	12.24800*	2.88983	.000	6.2837	18.2123
	5	13.41600*	2.88983	.000	7.4517	19.3803
	6	15.40400*	2.88983	.000	9.4397	21.3683
3	1	1.18000	2.88983	.687	-4.7843	7.1443
	2	-17.37600*	2.88983	.000	-23.3403	-11.4117
	4	-5.12800	2.88983	.089	-11.0923	.8363
	5	-3.96000	2.88983	.183	-9.9243	2.0043
	6	-1.97200	2.88983	.502	-7.9363	3.9923
4	1	6.30800*	2.88983	.039	.3437	12.2723
	2	-12.24800*	2.88983	.000	-18.2123	-6.2837
	3	5.12800	2.88983	.089	-.8363	11.0923
	5	1.16800	2.88983	.690	-4.7963	7.1323
	6	3.15600	2.88983	.286	-2.8083	9.1203

5	1	5.14000	2.88983	.088	-.8243	11.1043
	2	-13.41600*	2.88983	.000	-19.3803	-7.4517
	3	3.96000	2.88983	.183	-2.0043	9.9243
	4	-1.16800	2.88983	.690	-7.1323	4.7963
	6	1.98800	2.88983	.498	-3.9763	7.9523
	6	1	3.15200	2.88983	.286	-2.8123
2		-15.40400*	2.88983	.000	-21.3683	-9.4397
3		1.97200	2.88983	.502	-3.9923	7.9363
4		-3.15600	2.88983	.286	-9.1203	2.8083
5		-1.98800	2.88983	.498	-7.9523	3.9763

Kesimpulan: Tanda * menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$ artinya pada dua kelompok tersebut memiliki kadar kolesterol total yang berbeda secara bermakna

Lampiran 16. Uji normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) terhadap kadar trigliserida plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk melihat data kadar trigliserida plasma seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: H_0 = Data kadar trigliserida plasma tikus terdistribusi normal

H_a = Data kadar trigliserida plasma tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Kadar_trigliserida	1	.969	5	.869
	2	.944	5	.692
	3	.968	5	.864
	4	.804	5	.088
	5	.998	5	.999
	6	.921	5	.537

Keputusan: Data kadar trigliserida plasma tikus pada tiap kelompok terdistribusi normal

Lampiran 17. Uji homogenitas (Uji *Levene*) terhadap kadar trigliserida plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk melihat data kadar trigliserida plasma seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = Data kadar trigliserida plasma tikus bervariasi secara homogen

Ha = Data kadar trigliserida plasma tikus tidak bervariasi secara homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kadar_trigliserida	Based on Mean	.851	5	24	.528

Keputusan : Data kadar trigliserida plasma tikus pada tiap kelompok bervariasi secara homogen

Lampiran 18. Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap kadar trigliserida plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data terhadap kadar trigliserida plasma seluruh kelompok hewan uji

Hipotesis: Ho = Data kadar trigliserida plasma tikus tidak berbeda secara bermakna

Ha = Data kadar trigliserida plasma tikus berbeda secara bermakna

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi > 0,05

Ho ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5408.989	5	1081.798	53.659	.000
Within Groups	483.857	24	20.161		
Total	5892.846	29			

Keputusan: Data kadar trigliserida plasma tikus antar kelompok berbeda secara bermakna

Lampiran 19. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar trigliserida plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk mengetahui letak perbedaan data kadar trigliserida plasma antar kelompok hewan uji

Hipotesis: Ho = Data kadar trigliserida plasma tikus tidak memiliki perbedaan

Ha = Data kadar trigliserida plasma tikus berbeda memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi > 0,05

Ho ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-35.04800*	2.83977	.000	-40.9090	-29.1870
	3	-1.83800	2.83977	.524	-7.6990	4.0230
	4	-26.21600*	2.83977	.000	-32.0770	-20.3550
	5	-14.97800*	2.83977	.000	-20.8390	-9.1170
	6	-1.85800	2.83977	.519	-7.7190	4.0030
2	1	35.04800*	2.83977	.000	29.1870	40.9090
	3	33.21000*	2.83977	.000	27.3490	39.0710
	4	8.83200*	2.83977	.005	2.9710	14.6930
	5	20.07000*	2.83977	.000	14.2090	25.9310
	6	33.19000*	2.83977	.000	27.3290	39.0510
3	1	1.83800	2.83977	.524	-4.0230	7.6990
	2	-33.21000*	2.83977	.000	-39.0710	-27.3490
	4	-24.37800*	2.83977	.000	-30.2390	-18.5170
	5	-13.14000*	2.83977	.000	-19.0010	-7.2790
	6	-.02000	2.83977	.994	-5.8810	5.8410
4	1	26.21600*	2.83977	.000	20.3550	32.0770
	2	-8.83200*	2.83977	.005	-14.6930	-2.9710
	3	24.37800*	2.83977	.000	18.5170	30.2390
	5	11.23800*	2.83977	.001	5.3770	17.0990
	6	24.35800*	2.83977	.000	18.4970	30.2190

5	1	14.97800*	2.83977	.000	9.1170	20.8390
	2	-20.07000*	2.83977	.000	-25.9310	-14.2090
	3	13.14000*	2.83977	.000	7.2790	19.0010
	4	-11.23800*	2.83977	.001	-17.0990	-5.3770
	6	13.12000*	2.83977	.000	7.2590	18.9810
	6	1	1.85800	2.83977	.519	-4.0030
2		-33.19000*	2.83977	.000	-39.0510	-27.3290
3		.02000	2.83977	.994	-5.8410	5.8810
4		-24.35800*	2.83977	.000	-30.2190	-18.4970
5		-13.12000*	2.83977	.000	-18.9810	-7.2590

Kesimpulan: Tanda * menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$ artinya pada dua kelompok tersebut memiliki kadar trigliserida yang berbeda secara bermakna

Lampiran 20. Uji normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) terhadap kadar HDL plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk melihat data kadar HDL plasma seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: Ho = Data kadar HDL plasma tikus terdistribusi normal

Ha = Data kadar HDL plasma tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Kadar_HDL 1	.897	5	.396
2	.890	5	.358
3	.821	5	.119
4	.922	5	.544
5	.883	5	.323
6	.938	5	.654

Keputusan: Data kadar HDL plasma tikus tiap kelompok terdistribusi normal

Lampiran 21. Uji homogenitas (Uji *Levene*) terhadap kadar HDL plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk melihat data kadar HDL plasma seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = Data kadar HDL plasma tikus bervariasi secara homogen

Ha = Data kadar HDL plasma tikus tidak bervariasi secara homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi > 0,05

Ho ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kadar_HDL	Based on Mean	1.778	5	24	.156

Keputusan: Data kadar HDL plasma tikus tiap kelompok bervariasi secara homogen

Lampiran 22. Uji analisis variansi (ANAVA) satu arah terhadap kadar HDL plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data terhadap kadar HDL plasma seluruh kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data kadar HDL plasma tikus tidak berbeda secara bermakna

H_a = Data kadar HDL plasma tikus berbeda secara bermakna

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1599.019	5	319.804	6.737	.000
Within Groups	1139.296	24	47.471		
Total	2738.315	29			

Kesimpulan: Data kadar HDL plasma tikus antar kelompok berbeda secara bermakna

Lampiran 23. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar HDL plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk mengetahui letak perbedaan data kadar HDL plasma antar kelompok hewan uji

Hipotesis: Ho = Data kadar HDL plasma tikus tidak memiliki perbedaan

Ha = Data kadar HDL plasma tikus berbeda memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	20.30800*	4.35755	.000	11.3145	29.3015
	3	6.50200	4.35755	.149	-2.4915	15.4955
	4	14.15600*	4.35755	.003	5.1625	23.1495
	5	6.71600	4.35755	.136	-2.2775	15.7095
	6	.09200	4.35755	.983	-8.9015	9.0855
2	1	-20.30800*	4.35755	.000	-29.3015	-11.3145
	3	-13.80600*	4.35755	.004	-22.7995	-4.8125
	4	-6.15200	4.35755	.171	-15.1455	2.8415
	5	-13.59200*	4.35755	.005	-22.5855	-4.5985
	6	-20.21600*	4.35755	.000	-29.2095	-11.2225
3	1	-6.50200	4.35755	.149	-15.4955	2.4915
	2	13.80600*	4.35755	.004	4.8125	22.7995
	4	7.65400	4.35755	.092	-1.3395	16.6475
	5	.21400	4.35755	.961	-8.7795	9.2075
	6	-6.41000	4.35755	.154	-15.4035	2.5835
4	1	-14.15600*	4.35755	.003	-23.1495	-5.1625
	2	6.15200	4.35755	.171	-2.8415	15.1455
	3	-7.65400	4.35755	.092	-16.6475	1.3395
	5	-7.44000	4.35755	.101	-16.4335	1.5535
	6	-14.06400*	4.35755	.004	-23.0575	-5.0705

5	1	-6.71600	4.35755	.136	-15.7095	2.2775
	2	13.59200*	4.35755	.005	4.5985	22.5855
	3	-.21400	4.35755	.961	-9.2075	8.7795
	4	7.44000	4.35755	.101	-1.5535	16.4335
	6	-6.62400	4.35755	.142	-15.6175	2.3695
	6	1	-.09200	4.35755	.983	-9.0855
2		20.21600*	4.35755	.000	11.2225	29.2095
3		6.41000	4.35755	.154	-2.5835	15.4035
4		14.06400*	4.35755	.004	5.0705	23.0575
5		6.62400	4.35755	.142	-2.3695	15.6175

Kesimpulan: Tanda * menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$ artinya pada dua kelompok tersebut memiliki kadar HDL yang berbeda secara bermakna

Lampiran 24. Uji normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) terhadap kadar LDL plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk melihat data kadar LDL plasma seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: Ho = Data kadar LDL plasma tikus terdistribusi normal

Ha = Data kadar LDL plasma tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
SQRT_Kadar_LDL	1	.842	5	.171
	2	.865	5	.247
	3	.935	5	.633
	4	.931	5	.601
	5	.965	5	.841
	6	.954	5	.762

Keputusan: Data kadar LDL plasma tikus tiap kelompok terdistribusi normal

Lampiran 25. Uji homogenitas (Uji *Levene*) terhadap kadar LDL plasma seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk melihat data kadar LDL plasma seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = Data kadar LDL plasma tikus bervariasi secara homogen

Ha = Data kadar LDL plasma tikus tidak bervariasi secara homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi > 0,05

Ho ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
SQRT_Kadar_LDL	Based on Mean	2.282	5	24	.079

Keputusan: Data kadar LDL plasma tikus tiap kelompok bervariasi secara homogen

Lampiran 26. Uji analisis variansi (ANAVA) satu arah terhadap kadar LDL plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data terhadap kadar LDL plasma seluruh kelompok hewan uji

Hipotesis: Ho = Data kadar LDL plasma tikus tidak berbeda secara bermakna

Ha = Data kadar LDL plasma tikus berbeda secara bermakna

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

SQRT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	60.654	5	12.131	18.806	.000
Within Groups	15.481	24	.645		
Total	76.135	29			

Kesimpulan: Data kadar LDL plasma tikus antar kelompok berbeda secara bermakna

Lampiran 27. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar LDL plasma kelompok hewan uji (SPSS 18.0)

Tujuan: Untuk mengetahui letak perbedaan data kadar LDL plasma antar kelompok hewan uji

Hipotesis: Ho = Data kadar LDL plasma tikus tidak memiliki perbedaan

Ha = Data kadar LDL plasma tikus berbeda memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$


SQRT

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-4.46943*	.50795	.000	-5.5178	-3.4211
	3	-1.53418*	.50795	.006	-2.5825	-.4858
	4	-2.72203*	.50795	.000	-3.7704	-1.6737
	5	-1.83296*	.50795	.001	-2.8813	-.7846
	6	-.84891	.50795	.108	-1.8973	.1994
2	1	4.46943*	.50795	.000	3.4211	5.5178
	3	2.93525*	.50795	.000	1.8869	3.9836
	4	1.74740*	.50795	.002	.6990	2.7958
	5	2.63647*	.50795	.000	1.5881	3.6848
	6	3.62051*	.50795	.000	2.5722	4.6689
3	1	1.53418*	.50795	.006	.4858	2.5825
	2	-2.93525*	.50795	.000	-3.9836	-1.8869
	4	-1.18785*	.50795	.028	-2.2362	-.1395
	5	-.29878	.50795	.562	-1.3471	.7496
	6	.68526	.50795	.190	-.3631	1.7336
4	1	2.72203*	.50795	.000	1.6737	3.7704
	2	-1.74740*	.50795	.002	-2.7958	-.6990
	3	1.18785*	.50795	.028	.1395	2.2362
	5	.88907	.50795	.093	-.1593	1.9374
	6	1.87311*	.50795	.001	.8248	2.9215

5	1	1.83296*	.50795	.001	.7846	2.8813
	2	-2.63647*	.50795	.000	-3.6848	-1.5881
	3	.29878	.50795	.562	-.7496	1.3471
	4	-.88907	.50795	.093	-1.9374	.1593
	6	.98404	.50795	.065	-.0643	2.0324
	6	1	.84891	.50795	.108	-.1994
6	2	-3.62051*	.50795	.000	-4.6689	-2.5722
	3	-.68526	.50795	.190	-1.7336	.3631
	4	-1.87311*	.50795	.001	-2.9215	-.8248
	5	-.98404	.50795	.065	-2.0324	.0643

Kesimpulan: Tanda * menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$ artinya pada dua kelompok tersebut memiliki kadar LDL yang berbeda secara bermakna

Lampiran 28. Surat keterangan hewan uji



**BAGIAN PRODUKSI TERNAK DAGING KERJA DAN ANEKA TERNAK
DEPARTEMEN ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

Sekretariat : Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680
Telepon : (0251) 8624774, Fax. (0251) 8624774

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dr. Ir. Asnath M Fuah, MS

Jabatan : Kepala Bagian Produksi Ternak Daging Kerja dan Aneka Ternak

Alamat : Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga-Bogor



Telp. 0251-8624774, Fax. 0251-8624774

Menyatakan bahwa tikus putih (*Rattus novergicus*) strain *sprague dawley* (SD) yang dikembangkan di Laboratorium Aneka Ternak, Fakultas Peternakan IPB, Telah memenuhi syarat sebagai hewan uji untuk penelitian atau kegiatan praktikum.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar-benarnya.


Bogor 8 maret 2012

Kepala Bagian
Produksi Ternak Daging, Kerja dan Aneka Ternak



Dr. Ir. Asnath M. Fuah, MS
NIP.195410151979032001

Lampiran 29. Sertifikat analisis simvastatin


 **Zhejiang Kangle Pharmaceutical Co., Ltd**
 Zhejiang Road, Economic Technological Development Zone, Jinhua, Zhejiang, China
 Tel: +86-577-88503558, 35789711, 78823335 Fax: +86-577-88515775


Certificate of Analysis

Product: Simvastatin Quantity: 150kgs
 Batch No.: 101-602-10401 Mfg Date: Apr, 2011
 Specification: USP31 Expiry Date: Apr, 2013


Test	Result	Specification
Description	Complies	A white crystalline powder
Identification	Positive	Positive
Specific Rotation	+289°	-285° - -298°
Loss On Drying	<0.1%	Not more than 0.5%
Residue on Ignition	<0.1%	Not more than 0.1%
Heavy Metals	<0.002%	Not more than 0.002%
Assay (By HPLC)	98.8%	98.0-102.0%
Chromatographic purity		
Simvastatin Hydroxyacid	0.08%	Not more than 0.4%
Lovastatin and epilovastatin	0.30%	Not more than 1.0%
Methylol simvastatin	0.10%	Not more than 0.4%
Acetyl simvastatin	0.07%	Not more than 0.4%
Anhydro simvastatin	0.11%	Not more than 0.4%
Simvastatin dimer	0.17%	Not more than 0.4%
Any other individual impurity	0.05%	Not more than 0.1%
Total Impurity	0.63%	Not more than 1.0%
Concomitants: Comply with the requirements of USP31.		
Signature		
Analyst: 	Approver: 	

page : 1 OF 1


 reliable partner in raw material business

Disampling Oleh : 

Lampiran 30. Surat determinasi tanaman kedelai



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA.
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)
 Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 15 Februari 2012

Nomor : 171 /IPH.1.02/If.8/II/2012
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/ determinasi Tumbuhan


Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Haviani Rizka Nurcahyaningtyas
 Mhs. Univ. Indonesia

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Kacang Kedelai	<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Fabaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

 Dr. Joeni Setijoe Rahajoe
 NIP. 196706241993032004

D:\Ident 2012\Haviani Rizka Nurcahyaningtyas.doc\IS-DG

Page 1 of 1