



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PEMANFAATAN PEKTIN YANG DIISOLASI DARI DAUN  
JAMBU BIJI (*Psidium guajava*) DALAM UJI *IN VITRO* DAN *IN  
VIVO* PENURUNAN KADAR KOLESTEROL**

**SKRIPSI**

**HARI SUTIOSO  
0806460484**

**FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA  
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA  
DEPOK  
JUNI 2012**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PEMANFAATAN PEKTIN YANG DIISOLASI DARI DAUN  
JAMBU BIJI (*Psidium guajava*) DALAM UJI *IN VITRO* DAN *IN  
VIVO* PENURUNAN KADAR KOLESTEROL**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik**

**HARI SUTIOSO  
0806460484**

**FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA  
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA  
DEPOK  
JUNI 2012**

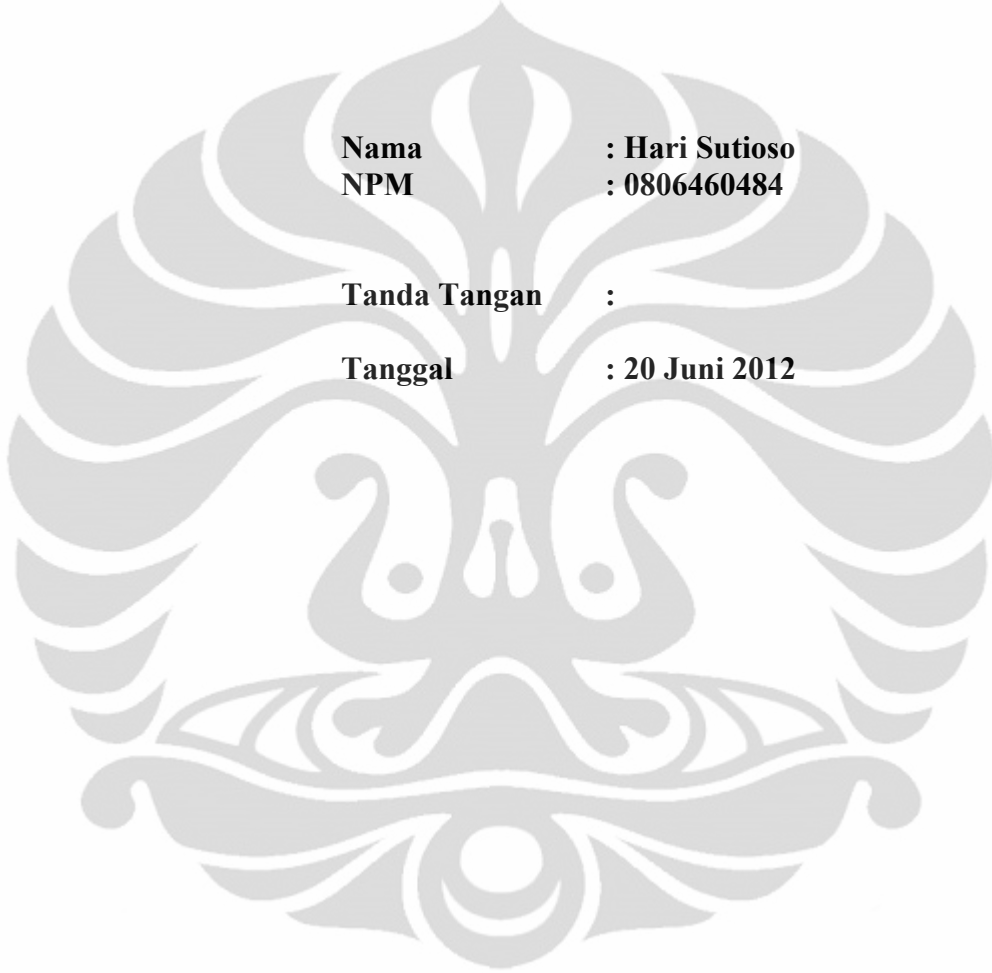
## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

**Nama** : Hari Sutioso  
**NPM** : 0806460484

**Tanda Tangan** :

**Tanggal** : 20 Juni 2012



## LEMBAR PENGESAHAN

Makalah Skripsi dengan Judul:

**PEMANFAATAN PEKTIN YANG DIISOLASI DARI DAUN  
JAMBU BIJI (*Psidium guajava*) DALAM UJI *IN VITRO* DAN *IN  
VIVO* PENURUNAN KADAR KOLESTEROL**

Oleh:

**HARI SUTIOSO**

**0806460484**

**Dibuat untuk melengkapi persyaratan menjadi Sarjana Teknik pada  
program studi Teknologi Bioproses Departemen Teknik Kimia Fakultas  
Teknik Universitas Indonesia telah diperiksa dan disetujui untuk diajukan  
dalam sidang skripsi**

Depok, 20 Juni 2012

Menyetujui,  
**Pembimbing**

**Ir. Rita Arbianti, M.Si**  
NIP. 196902021995122001

**Dr. Tania Surya Utami, M.T**  
NIP. 197405121998022001

## HALAMAN PENGESAHAN

**Skripsi ini diajukan oleh**

**Nama** : Hari Sutioso  
**NPM** : 0806460484  
**Program Studi** : Teknologi Bioproses  
**Judul Skripsi** : Pemanfaatan Pektin Yang Diisolasi Dari Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) Dalam Uji *In Vitro* dan *In Vivo* Penurunan Kadar Kolesterol

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi Teknologi Bioproses Fakultas Teknik Universitas Indonesia

### DEWAN PENGUJI

**Pembimbing 1** : Ir. Rita Arbianti, M. ( )  
**Pembimbing 2** : Dr. Tania Surya Utami, S.T., M.T. ( )  
**Penguji** : Dr. Ing. Ir. Misri Gozan, M. Tech. ( )  
**Penguji** : Prof. Dr. Ir. Anondho Wijarnako, M. Eng. ( )  
**Penguji** : Dr. Ir. Praswati PDK Wulan, M.T. ( )

**Ditetapkan di** : Departemen Teknik Kimia, Universitas Indonesia, Depok

**Tanggal** : 28 Juni 2012

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah, Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan hikmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknik Program Studi Teknologi Bioproses pada Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Widodo W. Purwanto, DEA selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTUI dan Pembimbing Akademis penulis.
2. Ir. Rita Arbianti, M.Si. dan Dr. Tania Surya Utami, M.T. selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini.
3. Seluruh dosen dan staff karyawan Departemen Teknik Kimia atas ilmu dan jasa yang telah diberikan kepada penulis selama masa perkuliahan dan penyusunan skripsi ini.
4. Keluarga dan rekan-rekan program studi teknologi bioproses 2008 yang telah memberikan banyak dukungan kepada penulis.

Akhirnya penulis berharap agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi para pembaca, serta dunia pendidikan dan ilmu pengetahuan

Depok, 13 Juni 2012

Penulis

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

---

---

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

Nama : Hari Sutioso  
NPM : 0806460484  
Program Studi : Teknologi Bioproses  
Departemen : Teknik Kimia  
Fakultas : Fakultas Teknik  
Jenis Karya : Skripsi

demikian 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:

**Pemanfaatan Pektin yang Diisolasi Dari Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*)**

**Dalam Uji *In Vitro* dan *In Vivo* Penurunan Kadar Kolesterol**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, 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 : 13 Juni 2012

Yang menyatakan

(Hari Sutioso)

## ABSTRAK

Nama : Hari Sutioso  
Study Program : Teknologi Bioproses  
Judul : Pemanfaatan Pektin yang Diisolasi Dari Daun Jambu Biji  
(*Psidium guajava*) Dalam Uji *In Vitro* dan *In Vivo* Penurunan  
Kadar Kolesterol

Pektin merupakan polimer yang berasal dari tanaman, salah satunya terdapat pada daun jambu biji (*Psidium guajava*), diketahui memiliki aktivitas sebagai penurun kadar kolesterol dalam darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penurunan kadar kolesterol dalam uji *in vitro* dan *in vivo*. Dari uji *in vitro* diketahui bahwa penurunan kadar kolesterol tidak dapat dideteksi karena masih terdapatnya senyawa tannin yang mempengaruhi warna sampel pada saat pengukuran absorbansi. Dari uji *in vivo* diketahui bahwa pektin yang diisolasi dari daun jambu biji mampu menurunkan kadar kolesterol secara signifikan pada hari ke-28. Hal ini dibuktikan dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf signifikansi satu arah dengan taraf signifikansi 99%. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian simvastatin 0,18 mg/ BB tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar selama 28 hari memberikan penurunan kadar kolesterol lebih baik dibandingkan pektin dengan dosis 0,108 g dan 0,216 g.

Kata kunci: pektin, daun jambu biji, *Psidium guajava*, tikus putih



## ABSTRACT

Name : Hari Sutioso  
Study Program : Bioprocess Engineering  
Title : Utilization of Pectin Isolated From Guava Leaves (*Psidium guajava*) in *In Vitro* and *In Vivo* Cholesterol Reduction Tests

Pectin is a polymer comes from plants, which one of them finds on guava leaves (*Psidium guajava*) has an activity to reduce cholesterol level in blood. This study aims to know the activity of cholesterol reduction *in vitro* and *in vivo* test. From *in vitro* test it was known that the cholesterol reduction level cannot be detected because of pectin compound which affects the color of the sample in absorbance determination with UV-Vis spectrophotometer. From *in vivo* test it was known that pectin which is isolated from guava leaves could reduce the blood cholesterol level of Wistar strain white rat (*Rattus norvegicus*) significantly in 28 days. This was proofed by *Analysis of Variance* (ANOVA) with 99% significance level. This study showed that 0,18 mg simvastatin which was given to rats in 28 days, had a better blood cholesterol reduction activity than pectins which doses are 0,108 g dan 0,216 g.

Keywords: cholesterol, pectin, guava leaves, *Psidium guajava*, white rat

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	vi
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Batasan Masalah .....	3
1.5 Sistematika Penulisan .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> ) .....	5
2.1.1 Pemanfaatan <i>Psidium guajava</i> dalam pengobatan tradisional .....	6
2.1.2 Fitokimia <i>Psidium guajava</i> .....	7
2.2 Pektin .....	10
2.2.1 Sifat Kimia Pektin .....	10
2.2.2 Aktivitas pektin dalam menurunkan kolesterol .....	11
2.3 Hiperkolesterolemia .....	12
2.3.1 Kolesterol .....	12
2.3.2 Lipoprotein .....	14
2.3.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi tingkat kolesterol darah .....	14
2.4 Jalur Pengangkutan Lemak Dalam Darah .....	15
2.4.1 Jalur eksogen .....	16
2.4.2 Jalur endogen .....	16
2.5 Metode Ekstraksi .....	17
2.5.1 Proses yang berlangsung dalam ekstraksi .....	17
2.5.2 Faktor yang mempengaruhi ekstraksi .....	18
2.5.3 Metode ekstraksi soxhlet .....	19
2.6 Spektrofotometer .....	20

2.6.1 Spektrofotomer UV-Vis .....	22
2.7 Analisis Varians (ANOVA) .....	22
2.7.1 Asumsi dasar analisis varians .....	23
2.7.2 Prosedur uji anova .....	23
2.8 State of The Art .....	25
2.8.1 Penelitian pemanfaatan <i>Psidium guajava</i> .....	25
<b>3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>29</b>
3.1 Rancangan Penelitian .....	29
3.2 Peralatan dan Bahan .....	31
3.2.1 Peralatan .....	31
3.2.2 Bahan .....	31
3.3 Prosedur Penelitian .....	32
3.3.1 Pengaturan pH pelarut .....	32
3.3.2 Tahap ekstraksi soxhlet & isolasi pektin .....	32
3.3.3 Tahap uji penurunan kadar kolesterol <i>in vitro</i> .....	33
3.3.4 Tahap uji penurunan kadar kolesterol <i>in vivo</i> .....	34
3.3.5 Analisis data .....	36
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>37</b>
4.1 Analisis Prosedur Penelitian .....	37
4.1.1 Tahap preparasi sampel daun <i>Psidium guajava</i> .....	37
4.1.2 Tahap ekstraksi dan isolasi pektin .....	38
4.1.3 Tahap uji <i>in vitro</i> penurunan kadar kolesterol .....	39
4.1.4 Tahap uji <i>in vivo</i> penurunan kadar kolesterol .....	40
4.2 Analisis Hasil Penelitian .....	43
4.2.1 Variasi pemberian gram pektin terhadap kadar kolesterol <i>in vitro</i> .....	43
4.2.2 Kadar kolesterol total tikus putih pada uji <i>in vivo</i> .....	44
4.2.3 Uji ANOVA aktivitas uji <i>in vivo</i> penurunan kadar kolesterol .....	47
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>50</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>52</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>60</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bagian tumbuhan <i>psidium guajava</i> .....	5
Gambar 2.2 Struktur kimia pektin .....	11
Gambar 2.3 Struktur kimia kolesterol .....	13
Gambar 2.4 Soxhlet ekstraktor .....	19
Gambar 3.1 Diagram alir penelitian .....	30
Gambar 4.1 Pengambilan darah dari pembuluh kaki .....	42
Gambar 4.2 Kurva variasi penambahan berat pektin vs absorbansi .....	44
Gambar 4.3 Grafik rata-rata kadar kolesterol total tikus putih .....	45
Gambar 4.4 Diagram rata-rata perubahan kadar kolesterol ekstrak sambiloto .....	47

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Pemanfaatan <i>Psidium guajava</i> dalam pengobatan tradisional .....	6
Tabel 2.2 Tingkat dan kategori kolesterol pada tubuh .....	14
Tabel 2.3 Pemetaan penelitian daun <i>Psidium guajava</i> .....	26
Tabel 3.1 Peralatan dan kegunaan .....	31
Tabel 3.2 Bahan-bahan dan kegunaannya .....	31
Tabel 4.1 Data rata-rata kadar kolesterol dalam darah tikus putih .....	45
Tabel 4.2 Data kadar kolesterol total tikus putih hari ke-14 .....	47
Tabel 4.3 Tabel ANOVA kolesterol total tikus putih hari ke-14 .....	48
Tabel 4.4 Data kadar kolesterol total tikus putih hari ke-28 .....	48
Tabel 4.5 Tabel ANOVA kolesterol total tikus putih hari ke-28 .....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data pengukuran absorbansi larutan kolesterol standar .....	60
Lampiran 2. Kurva kalibrasi larutan kolesterol standar.....	60
Lampiran 3. Data absorbansi larutan kolesterol yang diberi pektin .....	60
Lampiran 4. Kadar kolesterol darah tikus sebelum dan sesudah perlakuan .....	61
Lampiran 5. Gambar peralatan, bahan, serta pelaksanaan .....	61



## **BAB 1**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang Masalah**

Perubahan gaya hidup yang terjadi di kota-kota besar, berpengaruh pada pola hidup dan pola makan masyarakat yang kurang baik, yaitu makanan tinggi kalori, lemak dan kolesterol menjadi makanan yang banyak digemari masyarakat. Tentunya hal ini berdampak terhadap meningkatnya resiko terhadap berbagai macam penyakit. Salah satu penyakit akibat perubahan gaya hidup adalah hiperkolesterolemia, yaitu suatu kondisi ketika terjadi peningkatan kadar kolesterol didalam darah (Polychronopoulos *et al.*, 2005).

Tingginya kadar kolesterol dalam darah merupakan faktor utama yang menyebabkan terjadinya resiko penyakit jantung koroner. Pada umumnya, kebanyakan masyarakat lebih memilih untuk mengatasi penyakit hiperkolesterolemia dengan obat-obatan sintesis yang bersifat menurunkan kadar kolesterol tubuh. Akan tetapi harga dari obat-obatan ini sangatlah mahal, karena baik bahan baku maupun obat tersebut masih diimpor. Selain itu juga, penanggulangan dengan obat-obatan memiliki tingkat keberhasilan yang rendah, karena perlu kedisiplinan yang tinggi. Hampir 70% pasien penderita hiperkolesterolemia gagal mencapai sasaran kadar kolesterol sesuai dengan panduan pengobatan. Dari suatu studi di Asia dengan total responden 7.281 pasien hiperkolesterolemia menyatakan bahwa hampir setengah dari mereka yang menjalankan terapi, kerap lupa mengkonsumsi obat penurun kadar kolesterol dalam jangka waktu satu minggu atau lebih (Pratiwi, 2010).

Jambu biji (*Psidium guajava*) merupakan tanaman yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis di seluruh penjuru dunia. Buah jambu biji biasa digunakan sebagai makanan atau diolah untuk menjadi produk minuman jus dan selai. Tanaman jambu biji memiliki manfaat kesehatan dari setiap bagian tumbuhannya yaitu dari bagian daun, buah, bunga, kulit kayu, hingga akar tanaman tersebut. Manfaat tersebut antara lain sebagai antioksidan, hepatoprotektif, antialergi, antimikroba, antigenotoksik, antiplasmodial, sitotoksik, antispasmodik,

kardioaktif, antibatuk, antidiabetes, antiinflamasi, dan antinosieptif (Gutierrez *et al.*, 2008).

Salah satu manfaat dari daun tanaman jambu biji adalah sebagai antihiperkolesterolemia. Hal ini dikarenakan daun jambu biji memiliki kandungan pektin. Telah diketahui bahwa dengan mengkonsumsi pektin akan mampu mengurangi kadar kolesterol dalam darah (Sriamonsark, 2001; Malviya dan Srivastava, 2011). Dengan mengkonsumsi sedikitnya 6 gram pektin per hari akan mampu mengurangi kadar kolesterol dalam darah hingga 13% dalam jangka waktu 2 minggu (Sriamonsark, 2001). Akan tetapi pemanfaatan daun jambu biji sebagai antihiperkolesterolemia belum dikembangkan untuk dikomersilkan bagi masyarakat luas. Oleh karena itulah dilakukanlah penelitian ini dengan harapan agar dapat menjadi langkah awal untuk pengembangan pemanfaatan daun jambu biji sebagai antihiperkolesterolemia sehingga dapat dikomersilkan kepada masyarakat luas.

Metode ekstraksi yang dipilih adalah metode ekstraksi *soxhlet*. Metode ini dipilih karena prosesnya yang cukup sederhana dan waktu ekstraksi yang diperlukan lebih sedikit bila dibandingkan dengan metode ekstraksi maserasi (Perdana, 2007). Metode pengujian penurunan kadar kolesterol dilakukan dengan dua cara yaitu uji *in vitro* dan uji *in vivo*. Uji *in vitro* penurunan kadar kolesterol dilakukan dengan menggunakan metode Rudel – Morris, yakni dengan cara pengukuran absorbansi pada perubahan warna yang dipengaruhi oleh kadar kolesterol dalam larutan. Uji *in vivo* penurunan kadar kolesterol dilakukan dengan cara melakukan pengujian pada hewan uji tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar selama dua minggu.

## 1.2 Rumusan Permasalahan

Berdasarkan latar belakang yang dijelaskan sebelumnya maka dapat dikemukakan beberapa permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak pektin daun jambu biji yang diperoleh dengan menggunakan metode ekstraksi *soxhlet* memiliki aktivitas penurunan kolesterol dalam pengujian secara *in vitro* dan *in vivo*?



2. Bagaimanakah pengaruh penambahan pektin terhadap penurunan kadar kolesterol yang diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dalam pengujian *in vitro*?
3. Bagaimanakah pengaruh variasi pemberian pektin terhadap penurunan kadar kolesterol hewan uji apabila dibandingkan dengan pemberian simvastatin sebagai kontrol positif dalam pengujian *in vivo*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah:

1. Membuktikan bahwa ekstrak pektin daun jambu biji yang diperoleh dengan menggunakan metode ekstraksi *soxhlet* memiliki aktivitas penurunan kolesterol dalam uji *in vitro* dan *in vivo* penurunan kadar kolesterol.
2. Menganalisis pengaruh penambahan pektin terhadap penurunan kadar kolesterol yang diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dari uji *in vitro* penurunan kadar kolesterol.
3. Menganalisis pengaruh variasi pemberian pektin terhadap penurunan kadar kolesterol hewan uji apabila dibandingkan dengan pemberian simvastatin sebagai kontrol positif dari uji *in vivo* dengan menggunakan uji anova.

### 1.4 Batasan Masalah

Penelitian ini mempunyai batasan masalah sebagai berikut:

1. Sampel yang akan diekstraksi adalah daun jambu biji (*Psidium guajava*) yang diperoleh dari pohon yang sama dan diambil pada hari yang sama di wilayah Bekasi Selatan, kawasan perumahan Taman Galaxy Indah.
2. Uji aktivitas penurunan kadar kolesterol ekstrak pektin dari daun jambu biji dilakukan dengan menggunakan metode uji *in vitro* dan *in vivo*.
3. Uji aktivitas penurunan kadar kolesterol *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode Rudel – Morris.
4. Uji aktivitas penurunan kadar kolesterol *in vivo* dilakukan pada hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang diukur kadar kolesterol totalnya setelah 4 minggu pemberian sampel.

5. Pengecekan kadar kolesterol total pada uji *in vivo* dilakukan dengan menggunakan Cardiochek<sup>®</sup> Lipid Analyzer (Polymer Technology System, Inc., Indianapolis, IN, USA).

## 1.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan skripsi ini adalah sebagai berikut:

### BAB 1: PENDAHULUAN

Berisi pendahuluan yang terdiri dari latar belakang, rumusan masalah, tujuan penelitian, batasan masalah dan sistematika tulisan.

### BAB 2: TINJAUAN PUSTAKA

Berisi pembahasan tentang penjelsan mengenai tanaman jambu biji (*Psidium guajava*), pektin, hiperkolesterolemia, ekstraksi *soxhlet*, spektrofotometer UV-VIS dan state of the art penelitian.

### BAB 3: METODE PENELITIAN

Berisi diagram alir penelitian, peralatan, bahan dan prosedur yang digunakan dalam penelitian.

### BAB 4: HASIL DAN PEMBAHASAN

Berisi perumusan hasil penelitian dan analisis yang berkaitan dengan ekstraksi pektin, uji *in vitro* dan *in vivo* penurunan kadar kolesterol, serta variabel-variabel yang digunakan.

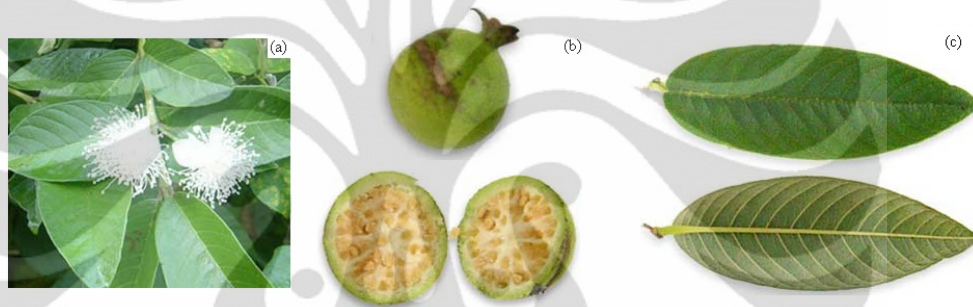
### BAB 5: KESIMPULAN

Berisi kesimpulan dari hasil penelitian.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Jambu biji adalah salah satu tanaman buah jenis perdu, yang berasal dari Meksiko, kemudian tersebar hingga Amerika Selatan, Eropa, Afrika dan Asia. Tanaman ini tumbuh di daerah tropis dan subtropis di seluruh penjuru dunia. Tanaman jambu biji telah dikenal dalam pengobatan tradisional untuk mengobati diare, disentri dan berbagai macam penyakit perut lainnya (Gutierrez *et al.*, 2008). Gambar 2.1 menunjukkan bagian-bagian tumbuhan jambu biji.



**Gambar 2.1** Bagian tumbuhan *Psidium guajava*: (a) bunga; (b) buah; (c) daun

Tanaman jambu biji tumbuh dengan ketinggian hingga 10 m, dengan batang yang kurus, mulus, memiliki banyak cabang dan ranting dengan kulitnya yang terkelupas. Daun dari tanaman ini memiliki bentuk bercorak bulat telur dengan ukuran yang agak besar dengan panjang 5-15 cm dan lebar 3-6 cm. Bunganya kecil-kecil berwarna putih dan muncul dari balik ketiak daun. Buahnya berwarna agak kekuningan dan berbentuk bulat dengan panjang sekitar 5 cm. berikut adalah hierarki taksonomi tumbuhan jambu biji (Anggraini, 2008):

Divisio : Spermatophyta  
 Sub divisio : Angiospermae  
 Klass : Dicotyledonae  
 Ordo : Myrtales  
 Famili : Myrtaceae  
 Genus : *Psidium*  
 Spesies : *Psidium guajava*

Buah jambu biji biasa digunakan sebagai makanan atau diolah untuk menjadi produk minuman jus dan selai. Pemanfaatan lain untuk tanaman ini selalu dikaitkan dengan bidang kesehatan. Gutierrez *et al.* telah mengungkapkan potensi aktivitas farmakologis ekstrak tanaman jambu biji secara keseluruhan dari bagian daun, buah, bunga, kulit kayu, hingga akar tanaman tersebut. Aktivitas tersebut antara lain antioksidan, hepatoprotektif, antialergi, antimikroba, antigenotoksik, antiplasmodial, sitotoksik, antispasmodik, kardioaktif, antibatuk, antidiabetes, antiinflamasi, dan antinosieptif (Gutierrez *et al.*, 2008).

### 2.1.1 Pemanfaatan *Psidium guajava* dalam Pengobatan Tradisional

Berdasarkan studi etnofarmakologis meunjukkan bahwa *Psidium guajava* dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional di beberapa wilayah di dunia untuk mengobati berbagai jenis penyakit seperti antiinflamasi, diabetes, hipertensi, luka, memar, demam dan sakit gigi. Sebagaimana diungkapkan pada tabel 2.1 berikut:

Tabel 2.1 Pemanfaatan etnomedis *Psidium guajava* (Gutierrez *et al.*, 2008)

Tempat, Negara	Bagian digunakan	Pemanfaatan	Preparasi
Kolombia, Meksiko	Daun	Gastroenteritis, diare, disentri, rematik, luka, bisul/ borok, sakit gigi	direbus, digodok
Suku Maya, Nahuatl, Zapotec, wilayah Populca, Meksiko	Daun	Batuk, diare	direbus, infusi
Amerika Latin, Meksiko	Daun	Diare, sakit perut	direbus, infusi
Mozambik, Meksiko	Tunas, daun, kulit kayu, buah	Persalinan, demam, batuk, hipoglikemia, penyakit kulit dan kelamin, penyakit pernapasan, demam, dehidrasi, antiinflamasi	direbus, digodok
Panama, Kuba, Kosta Rika, Meksiko, Nikaragua, Panama, Peru, Venezuela, Mozambik, Guatemala, Argentina	Daun	Antiinflamasi	Digodok
Afrika Selatan	Daun	Diabetes, Hipertensi	direbus, infusi
Karibia	Daun	Diabetes	direbus, infusi
Cina	Daun	Diare, antiseptik, diabetes	direbus, infusi
Filipina	Daun, kulit kayu, buah, akar	diare, luka, bisul/ borol, astringent	direbus, digodok
India	Daun	Demam, antipasmodik, rematik, kejang	direbus, infusi

Tabel 2.1 Pemanfaatan etnomedis *Psidium guajava* (Lanjutan)

Ghana	Tunas	Kejang, Astringent	direbus, infusi
Peru	Bunga, daun	Konstipasi, konjungtivitis, batuk, diare, gangguan pencernaan, disentri, bengkak, encok, gastroenteritis, gastritis, pendarahan, kejang, sakit tenggorokan, vertigo, cacingan, jantung, antiamoeba	direbus, infusi
Kinshasa, Kongo	Daun, kulit kayu	Diare, antiamoeba	direbus, infusi
Senegal	Tunas, akar	Diare, antiamoeba	direbus, infusi
Uruguay	Daun	Leucorrhoea	digodok
Fiji	Daun, akar, buah	Diare, batuk, sakit perut, disentri, sakit gigi, konstipasi	digodok
Tahiti, Samoa	keseluruhan tanaman, tunas	tonik kulit, menstruasi, pendarahan uterus, persalinan prematur	direbus, infusi
Papua Nugini, Samoa, Tonga, Niue, Futuna, Tahiti	Daun	kudis	direbus
Kepulauan Cook	Daun	keselo, luka memar, luka sobek, luka bakar	direbus, infusi
Trinidad	Daun	Infeksi bakteri, cuci darah, diare, disentri	direbus, infusi
Panama, Bolivia, Venezuela	Daun dan kulit kayu	Disentri, astringent, penyakit kulit	direbus
Brazil	buah, bunga, daun	Anoreksia, kolera, diare, gangguan pencernaan, laringyitis, penyakit kulit, pembengkakan mukus membran, penyakit vagina	Dimemarkan, direbus
Amerika Serikat	Daun	Antibiotik, diare	Direbus
Afrika tengah dan barat, Asia tenggara	Daumn	Gangguan tenggorokan, laryngitis, pembengkakan mulut, borok, iritasi vagina	Direbus

### 2.1.2 Fitokimia *Psidium guajava*

#### 1. Buah

Buah jambu biji memiliki kandungan karbohidrat (13,2%), lemak (0,53%), protein (0,88%) dan kandungan air yang tinggi (84,9%). Pada 100 gram buah jambu biji terkandung : Kalori 36-50 kcal, moisture 77-86 g, *crude* fiber 2,8-5,5 g, abu 0,43-0,47 g, kalsium 9,1-17 mg, fosfor 17,8-30 mg, besi 0,3-0,7 mg, vitamin A 200-400 I.U., tiamin 0,046 mg, riboflavin 0,03-0,04 mg, niasin 0,6-1,068 mg, asam askorbat 100 mg, vitamin B3 40 I.U. Beberapa referensi juga menyebutkan

terdapat kandungan mangan, dengan kombinasi fosfor, asam malat dan asam olat (Gutierrez *et al.*, 2008).

Meskipun memiliki spesies yang sama, daging buah jambu biji memiliki variasi warna mulai dari warna putih hingga kemerahan. Daging buah jambu biji putih diketahui memiliki minyak atsiri dengan kandungan heksanal (65,9%),  $\gamma$ -butirolakton (7,6%), (E)-2-heksenal (7,4%), (E,E)-2,4-heksadienal (2,2%), (Z)-3-heksenal (2%), (Z)-2-heksenal (1%), (Z)-3-heksenil asetat (1,3%) dan fenol (1,6%) (Gutierrez *et al.*, 2008). Selain itu juga diketahui bahwa 3-karofilen (24,1%), nerolidol (17,3%), 3-fenilpropil asetat (5,3%), karofilen oksida (5,1%) telah diisolasi dari minyak atsiri yang terdapat pada daging buah jambu biji. Berdasarkan referensi lain juga diketahui bahwa terdapat konstituen aromatik aktif pada daging jambu biji merah muda, yaitu 3-penten-2-ol dan 2-butenil asetat yang berhasil diisolasi. Buah jambu biji juga mengandung glikosen 4,14%, sakarosa 1,62% dan protein 1,62% (Gutierrez *et al.*, 2008).

Buah jambu biji yang belum matang tidak dapat dimakan secara langsung dan dapat menyebabkan muntah dan demam. Buah tersebut memiliki kandungan tannin yang tinggi dan dapat menyebabkan konstipasi, sehingga buah yang belum matang bisa digunakan untuk menyembuhkan diare. Semakin matang buah jambu biji, maka komposisi kimianya akan berubah, yaitu aktivitas enzim hidrolitik (aktivitas  $\alpha$ -amilase dan  $\beta$ -amilase akan menurun), klorofil, selulosa, hemiselulosa, kandungan lignin yang meningkat, sedangkan kandungan karotenoidnya menurun (Gutierrez *et al.*, 2008).

## 2. Kulit buah

Asam askorbat adalah konstituen utama yang terkandung pada kulit buah, kemudian pada daging buahnya dan kandungannya akan semakin sedikit hingga pada bagian tengah buah sekitar 56-600 mg. Kandungannya akan berubah pada buah yang hampir matang, sekitar 350-450 mg. Jika dilakukan proses pemanasan maka kandungan asam askorbatnya akan mengalami kerusakan hingga 50%. Bau yang kuat dari buah timbul karena adanya senyawa karbonil (Gutierrez *et al.*, 2008).

### 3. Daun

Daun jambu biji mengandung minyak atsiri dengan komponen utamanya yaitu  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, limonen, terpenil asetat, isopropil alkohol, longisiklena, karofilen,  $\beta$ -bisabolena, sineol, karofilen oksida,  $\beta$ -kopenan, farnesen, humulen, selinen, kardinen dan kurkumen, Daun jambu biji mengandung kombinasi flavanoid, saponin dan kurkumen, nerolidiol,  $\beta$ -sitosterol, ursolik, katekolik, guayavolik, Pada referensi lain disebutkan bahwa daun jambu biji juga mengandung asam triterpenik seperti flavonoid, avikularin, dan 3-L-4 piranosida, minyak (6%), resin (3,15%), tannin (8,5%) dan sejumlah substansi seperti lemak, selulosa, klorofil dan garam mineral. Kandungan lain yang berhasil diisolasi adalah 20 $\beta$ -asetoksi-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihidroksiurs-12-en-28-oik (asam guavanoik), asam guavakoumarik, asam 2 $\alpha$ -hidroksiursolik, asam 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihidroksi-24-*p-z*-koumaroiloksiurs-12-en-28-oik (asam guavakoumarik), asam isoneriukoumarik, asam asiatik, ilelatifol-D,  $\beta$ -sitosterol-3-*o*- $\beta$ -D-glukopiranosida. Pada daun yang tua kandungan flavonoid yang ditemukan adalah myrisetin (208,44 mg/kg), kuersetin (2883,08 mg/kg), luteolin (51,22 mg/kg), kaempferol (97,25 mg/kg) (Gutierrez *et al.*, 2008).

### 4. Kulit kayu, akar, biji, bunga, dan ranting

Kulit kayu memiliki kandungan tannin 12-30%, resin dan kristal kalsium oksalat. Akarnya memiliki kandungan tannin, leukosianidin, sterol, asam galik, karbohidrat dan garam. Kandungan kulit kayu dan akar memiliki kandungan tannin yang paling besar. Bijinya memiliki kandungan minyak atsiri 14%, protein 15%, pati 13%, senyawa fenolik dan flavonoid termasuk kuersetin-3-*o*- $\beta$ -D-(2''-*o*-galloil-glukosida)-4'-*o*-vinilpropionat yang bersifat sitotoksik. Bunganya memiliki kandungan myrisetin (256 mg/kg), kuersetin (3605 mg/kg), luteolin (229 mg/kg), kaempferol (229 mg/kg), dan apigenin (252 mg/kg) dengan konsentrasi yang tinggi. Rantingnya memiliki kandungan kalsium (0,3-1%), magnesium (0,06-0,3%), fosfor (0,1-0,38%), potasium (0,21-0,39%), sodium (0,03-0,2%). Selain tu juga ranting memiliki kandungan flouride (0,02-0,11 ppm), tembaga (0,02-0,14 ppm), besi (2,86-5,14 ppm), seng (0,31-0,57 ppm), mangan (0-0,26

ppm) dan timah (0-0,11 ppm), flavanoid, seskuiterpen, alkohol dan asam triterpenoid (Gutierrez *et al.*, 2008).

## 2.2 Pektin

Pektin adalah suatu senyawa heteropolisakarida yang secara umum terdapat pada dinding sel primer tanaman, khususnya pada sela-sela antara selulosa dan hemiselulosa. Senyawa pektin dapat berfungsi sebagai perekat antara dinding sel yang satu dengan lainnya. Pektin pertama kali diisolasi dan diperkenalkan pada tahun 1825 oleh Heneri Bracanot. Jumlah, struktur dan komposisi kimia dari senyawa pektin berbeda-beda pada setiap jenis tumbuhan dan bagian dari tumbuhan itu sendiri. Pektin merupakan bagian diet dari manusia, yaitu merupakan serat yang larut dalam air (Srivastava dan Malviya, 2011).

Pada umumnya setiap orang mengkonsumsi 5 gram pektin setiap harinya dari buah dan sayur yang dimakan sebanyak 500 gram. Telah diketahui bahwa dengan mengkonsumsi pektin mampu menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Pada usus besar dan kolon, pektin akan didegadasi dan diubah menjadi rantai asam lemak sehingga bermanfaat bagi kesehatan saluran pencernaan, hal ini dikenal sebagai efek prebiotik (Srivastava dan Malviya, 2011).

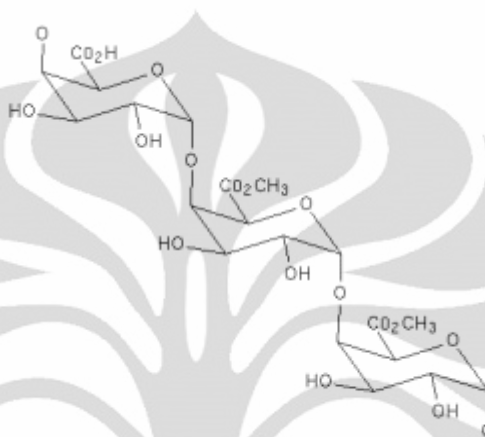
### 2.2.1 Sifat Kimia Pektin

Apabila ditinjau dari strukturnya, pektin merupakan polisakarida linear. Seperti polisakarida yang berasal dari tanaman, yaitu bersifat polidispersi dan polimolekuler, serta komposisinya bervariasi dan bergantung pada sumber dan kondisi ketika diisolasi. Bahkan pada suatu sampel dari pektin, parameter seperti berat molekul atau kandungan sub-unit partikelnya berbeda-beda dari molekul yang satu dengan lainnya. Meskipun begitu, struktur dan komposisi pektin sebenarnya masih belum dimengerti setelah ditemukan sejak 200 tahun lalu. Setelah dilakukan berbagai studi, diketahui bahwa struktur pektin sulit untuk ditentukan karena komposisi sub-unitnya dapat berubah ketika proses isolasi (Srivastava dan Malviya, 2011).

Komposisi utama pektin adalah unit-unit asam D-Galakturonik (GalA) yang membentuk rantai ikatan  $\alpha$ -(1,4) glikosidik. Asam uronik ini mempunyai



kelompok gugus karboksil yaitu metil ester dan gugus lainnya yang apabila direaksikan dengan amonia akan menghasilkan gugus karboksiamida. Terdapat ratusan hingga ribuan sakarida dengan bentuk konfigurasi rantai dan berat molekulnya sekitar lima puluh ribu Dalton (Srivastava dan Malviya, 2011). Gambar 2.2 menunjukkan struktur kimia dari pektin.



Gambar 2.2 Struktur kimia pektin (Sharma *et al.*, 2006)

Berdasarkan referensi literatur, rantai utama yang merupakan tulang punggung pektin terbuat dari glikosida. Pada rantai utama ini terdapat hingga 25 asam galakturonik yang tersubstitusikan dengan ikatan (1,2)-L-Rhamnosa. Pektin jenis ini dinamakan sebagai Rhamnagalakturonan I. Kandungan gula yang terdapat pada molekul pektin adalah D-galaktosa, L-arabinosa dan D-xilosa dimana tipe dan proporsinya bergantung dari sumber pektin yang diperoleh. Struktur pektin jenis lainnya adalah Rhamnagalakturonan II yang memiliki struktur lebih kompleks dan tergolong kedalam polisakarida tingkat tinggi. Pektin jenis ini memiliki berat molekul 60-130.000 g/mol, bergantung pada jenis tumbuhan, kondisi ekstraksi dan umur tumbuhan itu sendiri (Srivastava dan Malviya, 2011)

### 2.2.2 Aktivitas Pektin dalam Menurunkan Kadar Kolesterol

Dari studi yang dilakukan oleh Frank Mattes, seorang pakar teknologi pangan dan presiden Herbstreith & Fox Inc., Amerika Serikat, membuktikan bahwa pektin dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah (Mattes, 2005).

Dengan mengkonsumsi sedikitnya 6 gram pektin per hari akan mampu mengurangi kadar kolesterol dalam darah hingga 13% dalam jangka waktu 2 minggu (Sriamonsark, 2001). Pektin juga telah diketahui sebagai serat solubel yang paling efektif sebagai penurun kadar kolesterol apabila dibandingkan dengan fisilium, oat dan guar gum (Mattes, 2005).

Pektin bersifat resisten terhadap sistem pencernaan manusia, akan tetapi hampir terdegradasi sempurna oleh *Aerobacillus*, *Lactobacillus*, *Micrococcus* dan *Enterococcus bacteria* pada kolon. Bakteri tersebut memproduksi enzim pektolitik yang mendegradasi pektin menjadi rantai asam lemak pendek (asam asetat, asam butirat, asam propionat) dan karbon dioksida, kemudian produk ini akan diserap tubuh. Hal inilah yang menyebabkan pektin bersifat laksatif dan menstimulasi pertumbuhan bakteri pada kolon (Mattes, 2005).

Mekanisme kerja pektin adalah pektin mampu mengikat kolesterol yang terdapat pada sistem pencernaan, sehingga mencegahnya untuk diserap menuju aliran darah. Semakin tinggi viskositas pektin, maka akan semakin efektif didalam menyerap kolesterol. Pektin dengan viskositas yang tinggi akan menurunkan kadar kolesterol dengan cara meningkatkan eksresi asam empedu feses dan sterol netral. Pektin yang memiliki viskositas tinggi tersebut akan berperan dalam membentuk misela dan asam empedu dengan laju difusi rendah melalui bolus untuk mengikat kolesterol pada saluran pencernaan (Sharma *et al.*, 2006).

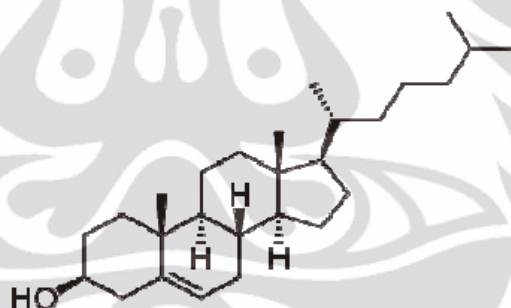
### **2.3 Hiperkolesterolemia**

Hiperkolesterolemia adalah suatu kondisi ketika terjadi peningkatan kadar kolesterol didalam darah. Hal ini akan membentuk suatu tembok penghalang di arteri, sehingga menghambat atau menghalangi aliran darah yang menuju jantung ataupun ke organ lainnya. Penderita hiperkolesterolemia biasanya tidak akan menyadari bahwa ia mengalami kondisi ini, karena kondisi ini tidak menyebabkan gejala yang dapat dirasakan secara langsung. Hiperkolesterolemia merupakan pengklasifikasian dari penyakit hiperlipidemia (Fatmawati, 2008).

### 2.3.1 Kolesterol

Pada dasarnya kolesterol merupakan salah satu jenis lemak yang memiliki peran penting bagi kehidupan karena kolesterol memiliki peran dalam menyusun dan memperbaiki dinding sel, berperan dalam jaringan syaraf dan memproduksi hormon testosteron, estrogen, dan kortisol (Uren dan Collins, 2008). Kolesterol memiliki fungsi utama untuk menyediakan komponen esensial membran setiap sel tubuh, digunakan untuk membantu empedu yang berperan penting pada proses pencernaan makanan berlemak, membentuk penghambat produksi hormon yang utama dalam kehidupan, merupakan salah satu bahan yang diperlukan oleh tubuh untuk membuat vitamin D, dan membantu melapisi saraf dan menyediakan suatu zat anti air pada permukaan arteri (Fatmawati, 2008).

Kolesterol berada didalam sel, tersebar diseluruh tubuh dan merupakan jenis lipid yang disebut steroid. Steroid merupakan lipid yang memiliki struktur kimia yang terdiri atas 4 cincin atom karbon seperti pada Gambar 2.3 berikut.



Gambar 2.3 Struktur kimia kolesterol (Baluja *et al.*, 2009)

Kolesterol memiliki tekstur lembut dan berkilin, dengan konsistensi seperti tetesan lilin panas dan berwarna putih kehijauan. Hati memproduksi 3000 mg kolesterol selama satu hari. Sekitar dua pertiga kolesterol tubuh diproduksi dengan cara ini menggunakan substansi yang diperoleh dari lemak pada makanan. Sehingga makin banyak lemak yang kita makan, maka hati akan semakin terpacu untuk mensintesis lebih banyak kolesterol. Kolesterol yang berada didalam tubuh berasal dari rute yang berbeda-beda, sebagian besar berasal dari dinding usus kecil sebagai hasil dari lemak yang kita makan. Kolesterol akan bersirkulasi pada aliran darah, berkombinasi dengan protein sehingga membentuk lipoprotein (Uren dan

Collins, 2008; Anonim 2012). Tabel 2.2 menunjukkan tingkat dan kategori kolesterol pada tubuh.

**Tabel 2.2 Tingkat dan kategori kolesterol pada tubuh (Anonim, 2012)**

<b>Tingkat kolesterol total</b>	<b>Kategori</b>
< 200 mg/dL	Rendah, baik untuk mengurangi resiko jantung koroner.
200-239 mg/dL	Sedang
>240 mg/dL	Tinggi, memiliki resiko jantung koroner dua kali lebih besar dari kategori rendah.
<b>Tingkat HDL</b>	<b>Kategori</b>
< 40 mg/dL (pria) < 50 mg/dL (wanita)	Rendah, faktor utama pemicu serangan jantung .
>240 mg/dL	Tinggi, baik untuk mencegah terjadinya serangan jantung.
<b>Tingkat LDL</b>	<b>Kategori</b>
< 100 mg/dL	Optimal (baik)
100-129 mg/dL	Mendekati optimal
130-159 mg/dL	Sedang
160-189 mg/dL	Tinggi
190 mg/dL	Sangat tinggi (Buruk)

### 2.3.2 Lipoprotein

Lipoprotein adalah jenis lipid plasma yang bersifat hidrofobik. Secara umum lipoprotein dikenal menjadi dua jenis yaitu HDL dan LDL. Lipoprotein jenis pertama adalah lipoprotein dengan densitas tinggi atau High-density lipoprotein (HDL) dikenal sebagai kolesterol baik, berperan dalam membawa kolesterol dalam darah dari jaringan tubuh kembali ke hati untuk dieliminasi. Kadar HDL yang tinggi dalam darah adalah kondisi yang baik bagi tubuh. Apabila kadar HDL rendah (< 40) dalam darah, maka hal ini dapat memicu terjadinya pembentukan plak pada arteri jantung, serangan jantung dan kematian kardiovaskular. (Uren dan Collins, 2008)

Lipoprotein jenis kedua adalah lipoprotein dengan densitas rendah atau Low-density lipoprotein (LDL) dikenal sebagai kolesterol jahat. LDL merupakan pemicu terjadinya pembentukan plak pada arteri, serangan jantung dan kematian kardiak. LDL akan berbahaya apabila berkombinasi dengan oksigen, akan tetapi hal ini dapat dicegah dengan cara asupan nutrisi dan vitamin yang cukup kedalam tubuh, seperti vitamin B6, B12, E dan asam folat.

### 2.3.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi tingkat kolesterol dalam darah

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi tingkat kolesterol dalam darah, baik faktor yang dapat diubah maupun tidak: (Uren dan Collins, 2008; Anonim 2012)

#### 1. Pola makan

Lemak jenuh dan kolesterol yang terdapat pada makanan yang dimakan akan meningkatkan kolesterol pada tubuh, terutama lemak jenuh. Mengurangi pola makan pada makanan yang mengandung lemak jenuh dan kolesterol akan membantu mengurangi kadar kolesterol dalam tubuh.

#### 2. Berat

Seseorang yang mengalami obesitas atau *overweight* akan memiliki resiko untuk terkena penyakit jantung. Dengan melakukan upaya untuk mengurangi berat badan, akan membantu menurunkan kadar LDL, kolesterol dan trigliserida dalam darah.

#### 3. Aktivitas fisik

Dengan melakukan aktivitas fisik secara rutin akan mampu menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL dalam darah.

#### 4. Usia dan gender

Seiring dengan bertambahnya usia maka kadar kolesterol dalam darah akan bertambah secara alami, baik pada pria ataupun wanita. Pada wanita yang belum menopause memiliki kadar LDL yang lebih rendah dari pria pada umur yang sama. Setelah mengalami menopause kadar LDL wanita cenderung lebih tinggi dari pria.

#### 5. Genetik

Faktor genetik juga mempengaruhi kadar kolesterol didalam tubuh. Seseorang penderita hiperkolesterolemia akan mewariskan kondisi tersebut kepada keturunannya. Penyakit ini dinamakan *Familial Hypercholesterolemia* (FH).

### 2.4 Jalur Pengangkutan Lemak dalam Darah

Lemak dalam darah diangkut dengan dua cara, yaitu melalui *extrahepatic pathway* (jalur eksogen) dan *endogenous pathway* (jalur endogen).

#### 2.4.1 Jalur Eksogen (*Extrahepatic Pathway*)

Kolesterol dan *Free fatty acid* yang masuk ke dalam tubuh lewat asupan akan diserap di intestinal mikrovili dimana mereka akan diubah menjadi kolesterol ester dan trigliserida. Kedua zat ini kemudian dikemas dalam bentuk kilomikron dan disekresi ke dalam sistem limfatik dan memasuki sirkulasi sistemik. Trigliserida mengalami hidrolisis di kapiler jaringan lemak dan otot menjadi asam lemak bebas (mono dan diglyserida) dan kilomikron remnan, sehingga ukuran kilomikron menjadi berkurang dan karenanya ditranfer menjadi HDL (Fatmawati, 2008).

Kilomikron remnan akan dimetabolisme dalam hati sehingga menghasilkan kolesterol bebas. Sebagian kolesterol yang mencapai organ hati akan diubah menjadi asam empedu, yang akan dikeluarkan ke dalam usus, berfungsi sebagai detergen dan membantu proses penyerapan dari makanan. Sebagian lagi dari kolesterol dikeluarkan melalui saluran empedu tanpa dimetabolisme menjadi asam empedu kemudian organ hati akan mendistribusikan kolesterol ke jaringan tubuh lainnya melalui jalur endogen. Kilomikron yang tersisa (yang lemaknya telah diambil) pada akhirnya dibuang dari aliran darah oleh hati. Kolesterol juga dapat diproduksi oleh hati dengan bantuan enzim yang disebut *HMG Koenzim-A Reduktase*, kemudian dikirimkan ke dalam aliran darah (Fatmawati, 2008).

#### 2.4.2 Jalur Endogen (*Endogenous pathway*)

Hati mengubah karbohidrat menjadi asam lemak, kemudian membentuk trigliserida, trigliserida ini dibawa melalui aliran darah dalam bentuk *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) yang kemudian disirkulasi ke jaringan lemak dan otot. VLDL kemudian akan dimetabolisme oleh enzim lipoprotein lipase menjadi IDL (*Intermediate Density Lipoprotein*). IDL kemudian berubah menjadi LDL (*Low Density Lipoprotein*) yang kaya akan kolesterol melalui serangkaian proses. LDL ini bertugas menghantarkan kolesterol ke dalam tubuh. Kolesterol yang tidak diperlukan akan dilepaskan ke dalam darah, dimana pertama-tama akan berikatan

dengan HDL (*High density Lipoprotein*). HDL bertugas membuang kelebihan kolesterol dari dalam tubuh (Fatmawati, 2008).

## 2.5 Metode Ekstraksi

Ekstraksi yang digunakan untuk memperoleh senyawa anti-hiperkolesterolemia merupakan suatu metode ekstraksi padat-cair, dimana padatan diekstraksi dengan pelarut cair agar zat-zat yang terkandung didalamnya dapat diperoleh. Prinsip dasar ekstraksi adalah distribusi suatu zat terlarut dalam larutan yang berbeda fasa yaitu fasa cair dengan fasa padat. Proses ekstraksi merupakan metode yang mudah, cepat dan hemat energi. Hal inilah yang merupakan kelebihan dari ekstraksi sehingga dipilih untuk memperoleh senyawa anti-hiperkolesterolemia.

Prinsip dasar metode ekstraksi padat-cair adalah berdasarkan pada kelarutan. Untuk memisahkan zat analit yang terdapat pada matriks padatan, maka fase cair dikontakan dengan fase padat sehingga zat terlarut mengalami difusi dari fase padat ke fase cair.

### 2.5.1 Proses yang Berlangsung dalam Ekstraksi

Proses ekstraksi melibatkan tiga faktor utama, yaitu tingkat kelarutan, difusi dan matriks. Pertama, komponen yang terlarut (*solute*) harus dapat terlarut didalam pelarut. Kedua, *solute* harus dapat berpindah secara cepat, baik melalui difusi atau mekanisme lain, dari bagian dalam matriks tempat *solute* berada. Proses difusi tersebut dapat berupa difusi normal dari *solute* seperti dalam polimer, atau melibatkan difusi dalam fluida melalui pori-pori matriks. Waktu terjadinya difusi akan bergantung kepada koefisien difusi dan bentuk, serta ukuran dari matriks atau partikel matriks. Ketiga, *solute* harus dilepaskan oleh matriks. Proses terakhir ini dapat melibatkan proses desorpsi dari pusat matriks, melewati dinding sel, atau keluar dari bentuk yang mengurungnya, seperti pada rantai polimer. Proses ini dapat berlangsung secara lambat dan pada beberapa kasus, komponen yang ingin diekstrak terkunci dalam struktur matriks. Biasanya hal ini disebabkan oleh kehadiran air yang bersifat tidak larut dan dapat menghalangi

komponen yang ingin diekstrak. Oleh karena itulah diperlukan proses pengeringan sebelum dilakukan proses ekstraksi (Perdana, 2007).

### **2.5.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi**

Berikut adalah faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi (Miereles, 2009):

#### **1. Ukuran partikel**

Struktur dan ukuran dari zat padat merupakan faktor penting yang perlu diperhatikan. Ukuran partikel padat harus dibuat sekecil mungkin untuk mendapatkan kinerja ekstraksi yang lebih tinggi. Semakin kecil ukuran partikel padat maka akan meningkatkan luas permukaan padat sehingga akan meningkatkan luas kontak antara padat dan cair.

#### **2. Konsentrasi pelarut**

Untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang banyak dibutuhkan konsentrasi yang lebih besar. Dengan konsentrasi yang lebih besar maka partikel-partikel pelarut akan lebih banyak untuk mengekstraksi suatu senyawa dari padatan.

#### **3. Suhu**

Temperatur yang digunakan saat ekstraksi harus optimum. Suhu yang tinggi akan meningkatkan solubilitas zat yang ingin diperoleh dalam pelarut. Akan tetapi suhu tinggi juga menyebabkan reaksi yang tidak diinginkan seperti terjadinya degradasi senyawa yang termolabil.

#### **4. Waktu**

Terdapat hubungan yang menunjukkan bahwa dengan peningkatan waktu ekstraksi maka jumlah analit yang diekstrak akan meningkat, meskipun terdapat resiko terjadinya degradasi analit

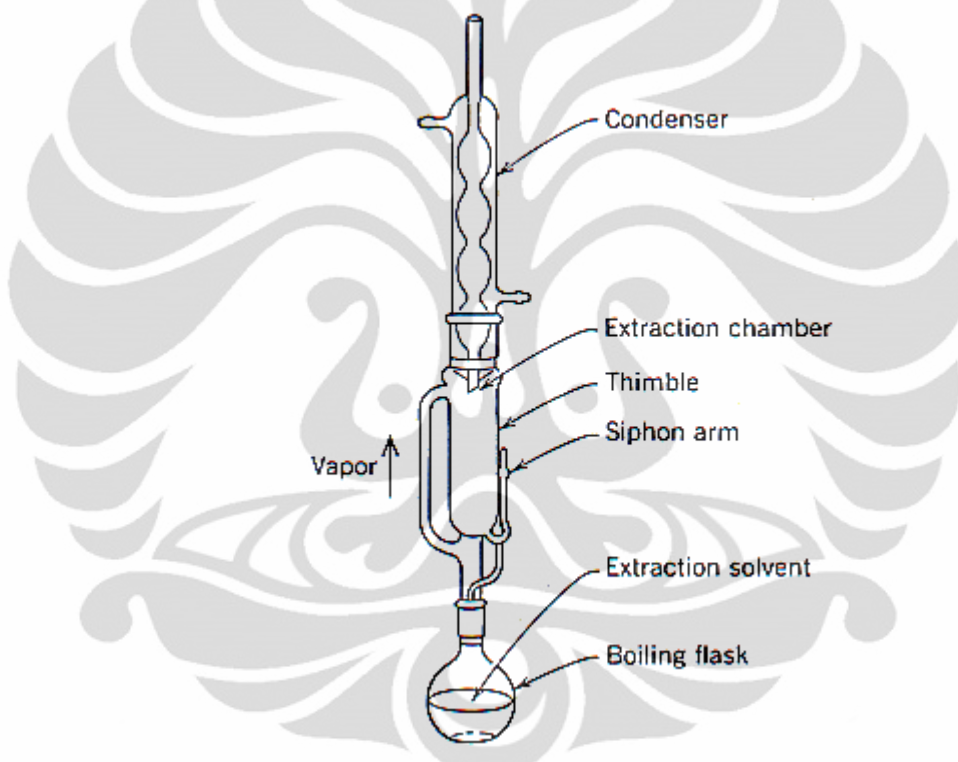
#### **5. Kecepatan Penguapan Pelarut**

Kecepatan penguapan pelarut dipengaruhi oleh konsentrasi pelarutnya, dimana pelarut etanol murni lebih cepat menguap dibandingkan dengan etanol dengan konsentrasi dibawah 100%. Kecepatan penguapan pelarut mempengaruhi waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi senyawa tersebut. Dengan semakin meningkatnya kecepatan penguapan pelarut, maka waktu yang dibutuhkan untuk mengekstraksi semakin sedikit.



### 2.5.3 Metode Ekstraksi Soxhlet

Metode ekstraksi *soxhlet* ditemukan pada tahun 1978 oleh Franz Von *Soxhlet*. Peralatan yang digunakan untuk ekstraksi dinamakan sebagai *Soxhlet* Ekstraktor. Pada awalnya *soxhlet* ekstraktor digunakan untuk mengekstraksi lemak dari susu, kemudian diketahui bahwa *soxhlet* juga dapat mengekstraksi lemak dari bahan padatan lainnya. Dari sinilah ekstraksi *soxhlet* dikembangkan untuk mengekstraksi suatu senyawa dari padatan. Gambar 2.4 menunjukkan rancangan peralatan ekstraksi *soxhlet*.



Gambar 2.4 Soxhlet ekstraktor (Handa *et al.*, 2008)

Metode ekstraksi *soxhlet* merupakan metode yang relatif sederhana dan ekonomis. Secara umum bahan kering yang diuji diletakkan kedalam selaput penyaringan yang terbuat dari kertas saring, kemudian dimasukan kedalam ruang ekstraksi. Ekstraktor kemudian disambungkan dengan labu dan kondenser. Pada labu dilakukan pemanasan terhadap pelarut agar menguap. Uap yang terbentuk akan menuju kondenser, dimana pelarut mengembun dan menetes kedalam ruang ekstraksi. Setelah itu ruangan yang berisi padatan ini akan terisi oleh pelarut hangat yang berasal dari tetesan tersebut, setelah hampir penuh pelarut mengalir

kembali ke labu dengan membawa senyawa yang dilarutkannya. Proses ini dilakukan berulang-ulang, dimana pada setiap pengulangan proses konsentrasi senyawa pada labu akan meningkat karena semakin banyak senyawa yang dapat diekstrak dari padatan (Perdana, 2007)

Kelebihan proses ekstraksi ini adalah senyawa yang terlarut dan sampai di labu tidak akan ikut dalam pengulangan proses, hanya pelarut yang menguap pada labu yang kemudian mengekstraksi kembali senyawa yang masih terdapat dalam padatan. Metode ini meningkatkan efisiensi dari ekstraksi bila dibandingkan dengan metode pemanasan padatan dalam labu dengan pelarut (Perdana, 2007)

Proses ini biasanya selesai pada saat campuran yang terdapat pada ruang ekstraksi memiliki warna yang sama dengan pelarut murni. Ini berarti sudah tidak ada lagi senyawa yang dapat diekstraksi dari padatan. Pada akhir proses ekstraksi, pelarut yang terkandung pada produk akhir dapat dihilangkan dengan *rotary evaporator* (Perdana, 2007).

## 2.6 Spektrofotometer

Spektrofotometer adalah sebuah alat untuk mengukur intensitas cahaya yang dapat mengukur intensitas sebagai fungsi dari wana atau lebih spesifiknya, panjang gelombang dari cahaya. Pada umumnya, spektrofotometer diklasifikasikan berdasarkan pada besar panjang gelombang, teknik pengukuran yang digunakan, cara memperoleh spektrum dan variasi intensitas dari sumber yang akan diukur. Hal penting lainnya adalah lebar spektral dan jangkauan linear. Penggunaan paling umum dari spektrofotometer adalah untuk pengukuran pada cahaya absorpsi, meskipun dapat juga didesain untuk mengukur cahaya yang tersebar atau refleksi spekular (Perdana, 2007).

Terdapat dua jenis spektrofotometer yang utama yaitu *single beam* dan *double beam*. Jenis *double beam* digunakan untuk mengukur rasio dari intensitas cahaya pada dua garis cahaya yang berbeda, sementara *single beam* mengukur intensitas cahaya absolut. *Double beam* memiliki keunggulan dalam pengukuran rasio cahaya, yaitu lebih mudah dan lebih stabil, sedangkan *single beam* memiliki jangkauan dinamik yang lebih besar (Perdana, 2007).

Spektrofotometer yang paling umum digunakan adalah dalam wilayah sinar ultraviolet dan sinar tampak. Beberapa dari instrumen ini juga dapat beroperasi pada wilayah sinar inframerah. Desain spektrofotometer yang digunakan pada wilayah inframerah sedikit berbeda karena kebutuhan teknis pengukuran pada wilayah tersebut. Salah satu faktor utamanya adalah tipe dari fotosensor yang tersedia pada wilayah pencahayaan yang berbeda dan pengukuran inframerah yang menantang, karena sesuatu yang memancarkan sinar inframerah juga memberikan radiasi termal, khususnya pada panjang gelombang diatas 5  $\mu\text{m}$  (Perdana, 2007).

Untuk menganalisis spektrum, pada umumnya spektrofotometer menggunakan monokromator, meskipun ada juga yang menggunakan susunan fotosensor. Pada inframerah, terdapat spektrofotometer yang menggunakan *fourier transform* untuk mendapatkan informasi spektral. Spektrofotometer dapat mengukur secara kuantitas fraksi dari cahaya yang melewati senyawa yang diberikan. Cahaya dari lampu dalam spektrofotometer IR/ UV/ Vis (Khususnya lampu yang menggunakan gas deuterium) diarahkan menuju monokromator, dimana akan dipilih cahaya dari satu partikular panjang gelombang keluar dari spektrum kontinu. Cahaya ini melewati sampel yang sedang diukur. Intensitas cahaya yang masih tersisa diukur dengan fotodioda, sensor cahaya lainnya dan transmittan dari panjang gelombang ini diperhitungkan (Perdana, 2007).

### **2.6.1 Spektrofotometer UV-Vis**

Spektrofotometer UV-Vis menggunakan dua sumber pencahayaan dengan sinar tampak (Vis), ultraviolet (UV) dan dapat juga digunakan *Near Infrared* (NIR). Pada suatu wilayah dalam jarak energi tertentu inilah molekul mengalami transisi elektronik. Bagian utama dari spektrofotometer adalah sumber cahaya (Pijaran lampu untuk panjang gelombang tampak dan lampu yang memancarkan deuterium dalam UV), tempat sampel, monokromator untuk memisahkan panjang gelombang yang berbeda dari cahaya dan detektor (fotiodida atau CCD).

Penggunaan utama dari spektrofotometer UV-Vis adalah untuk menentukan kuantitas suatu senyawa ion logam transisi dan senyawa organik. Warna dari senyawa ion logam dipengaruhi oleh keberadaan senyawa lainnya,

seperti anion atau ligan. Pada senyawa organik, derajat konjugasi yang tinggi dapat menyerap cahaya dalam wilayah sinar UV dan sinar tampak dari spektrum elektromagnetik. Pada umumnya, pelarut pada penentuan ini adalah air ataupun etanol untuk senyawa terlarut (Perdana, 2007).

Sampel untuk spektrofotometer UV-Vis sebagian besar adalah cairan, meskipun absorbansi dari gas dan padatan juga dapat diukur. Sampel biasanya ditempatkan didalam tempat transparan yang dinamakan kuvet. Kuvet yang paling baik terbuat dari kwarsa, meskipun pada umumnya yang digunakan terbuat dari kaca dan plastik. Kuvet yang digunakan memiliki bentuk segiempat dan lebar internal 1 cm. Spektrofotometer UV-Vis terdiri atas *single beam* dan *double beam*. Jenis *single beam* seperti Spectronic 20, semua cahaya akan dilewatkan melalui kuvet. Sedangkan untuk jenis *double beam* cahaya dibagi menjadi dua sebelum mencapai sampel, dimana terdapat dua detektor untuk pengukuran (Perdana, 2007).

## 2.7 Analisis Varians (ANOVA)

Analisis varians (ANOVA) merupakan suatu teknik statistik yang memungkinkan untuk mengetahui apakah dua atau lebih *mean* populasi akan bernilai sama dengan menggunakan data dari sampel-sampel masing-masing populasi. Analisis varians juga dapat digunakan dalam pengujian hipotesis sampel ganda untuk *mean*, namun biasanya analisis varians lebih efektif digunakan untuk menguji tiga atau lebih populasi. Tentunya jumlah variabel yang berkaitan dengan sampel bisa satu atau lebih (Reza, 2009).

### 2.7.1 Asumsi Dasar Analisis Varians

Analisis varians akan menjadi teknik statistik yang valid untuk diterapkan dengan menggunakan asumsi-asumsi sebagai berikut (Reza,2009):

1. Populasi yang dikaji memiliki distribusi normal.
2. Pengambilan sampel dilakukan secara acak dan setiap sampel independen/tidak terikat sampel yang lain.
3. Populasi-populasi di mana nilai sampel-sampel diperoleh memiliki nilai varians populasi yang sama.

Jadi asumsi ketiga dapat dinyatakan sebagai:

$$\sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2 = \dots = \sigma_k^2$$

di mana:

k = jumlah populasi

### 2.7.2 Prosedur Uji ANOVA

Secara umum prosedur uji ANOVA mengikuti prosedur uji hipotesis yang terdiri dari tujuh langkah, yaitu (Harinaldi,2005):

#### 1. Pernyataan hipotesis nol dan hipotesis alternatif

Dalam uji ANOVA, hipotesis nolnya adalah sampel-sampel yang diambil dari populasi-populasi saling independen yang memiliki *mean* sama. Dengan kata lain, hipotesis nol dan hipotesis alternatifnya adalah:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_k$$

$H_1$  : tidak seluruh *mean* populasi sama

di mana: k = jumlah seluruh *mean* populasi sama

Jika hipotesis alternatif diterima maka dapat disimpulkan bahwa sekurangnya terdapat satu *mean* populasi yang berbeda dari populasi yang lainnya. Namun, analisis varians tidak dapat mengungkapkan dengan pasti berapa banyak populasi yang *mean*-nya berbeda dan analisis varians juga tidak bisa menjelaskan *mean* dari populasi yang mana yang berbeda.

#### 2. Pemilihan tingkat kepentingan.

Biasanya digunakan tingkat kepentingan 0,01 atau 0,05.

#### 3. Penentuan distribusi pengujian yang digunakan:

Dalam uji ANOVA yang digunakan adalah distribusi *F*. Nilai-nilai dalam distribusi disajikan dalam bentuk tabel (terdapat pada bagian lampiran), yang dapat ditentukan dengan mengetahui:

- tingkat kepentingan.
- Derajat kebebasan, ( $df_{num}$ ) yang digunakan sebagai pembilang dalam rasio uji adalah  $df_{num} = k - 1$

Di mana: k = jumlah populasi/sampel

- Derajat kebebasan, ( $df_{den}$ ) yang digunakan sebagai penyebut dalam rasio uji adalah  $df_{den} = T - k$

Di mana:

$T$  = jumlah total anggota sampel di seluruh populasi yang diuji

$$= n_1 + n_2 + n_3 + \dots + n_k$$

$k$  = jumlah populasi/sampel

#### 4. Pendefinisian daerah penolakan atau daerah kritis:

Daerah penerimaan dan penolakan dibatasi oleh nilai kritis  $F_{cr}$

#### 5. Pernyataan aturan keputusan (*decision rules*):

Tolak  $H_0$  dan terima  $H_1$  jika  $RU_F > F_{cr}$ . Jika sebaliknya terima  $H_0$ .

#### 6. Rasio uji:

$$RU_F = F_{test} = \left( \frac{SS_{treat}}{SS_{err}} \right) \quad (2.1)$$

di mana, perhitungan untuk bagian pembilang dan penyebut untuk rumus ini:

$$SS_{treat} = \frac{\left( \sum x_{ijA} \right)^2 + \left( \sum x_{ijB} \right)^2 + \left( \sum x_{ijC} \right)^2 + \dots}{k} - \left( \frac{GT^2}{T} \right) \quad (2.2)$$

$$SS_{err} = SS_{tot} - SS_{treat} \quad (2.3)$$

$$SS_{tot} = \sum (x_{ij})^2 - \left( \frac{GT^2}{T} \right) \quad (2.4)$$

di mana:

$x_{ij}$  = data pada setiap sampel uji

$k$  = jumlah sampel

$GT$  = jumlah semua sampel uji

$T$  = jumlah total anggota sampel di seluruh populasi yang diuji

#### 7. Pengambilan keputusan secara statistik:

Jika nilai rasio uji berada pada daerah penerimaan maka hipotesis nol diterima, sedangkan jika berada pada daerah penolakan maka hipotesis nol ditolak.

## 2.8 State of The Art

### 2.8.1 Penelitian Pemanfaatan Daun *Psidium guajava*

Penelitian mengenai pemanfaatan daun jambu biji telah dilakukan dalam berbagai bidang sebagaimana ditampilkan pada Tabel 2.3. Penelitian yang paling pertama dilakukan pada tahun 1999 oleh Jaiarj *et al.* sebagai antibakteri. Dari penelitian ini diketahui bahwa ekstrak daun jambu biji memiliki aktivitas antibakteri penyebab batuk. Selanjutnya dalam bidang yang sama, penelitian dilakukan oleh Rattanachaikunsopon dan Phumkhachorn pada tahun 2007. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa ekstrak daun jambu biji memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen pada ikan.

Pada tahun 2009 Adeyemi *et al.* melakukan penelitian yang menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak daun jambu biji sebagai antibakteri *Trypanosoma brucei brucei* yang merupakan penyebab penyakit tidur di Afrika, yang lebih besar dibandingkan tannin. Pada tahun 2010 Egharevba melakukan penelitian mengenai board spektrum aktivitas antimikroba. Dari penelitian ini diketahui bahwa ekstrak memiliki aktivitas yang berbeda pada setiap mikroba yang berbeda. Pada tahun yang sama, Rahim *et al.* melakukan penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji memiliki aktivitas yang kuat sebagai antibakteri *Vibrio Cholerae*, penyebab penyakit kolera. Selain itu juga, di tahun yang sama, Nuraeni dan Suwandojo membuktikan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji memiliki aktivitas anti bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Penelitian aktivitas daun jambu biji sebagai anti diare dilakukan oleh Husin dan Goncalves. Pada tahun 2003, Husin melakukan penelitian yang membuktikan bahwa tannin, pektin dan minyak atsiri yang diperoleh dari ekstrak daun jambu biji memiliki peran aktivitas antidiare. Pada tahun 2004, Adnyana *et al.* membuktikan dengan melakukan penelitian yang sama. Pada tahun 2008, Goncalves melakukan penelitian mengenai aktivitas ekstrak daun jambu biji sebagai antibakteri penyebab diare yang diisolasi dari udang *Xiphopenaeus kroyeri*. Dari penelitian ini diketahui bahwa ekstrak metanol memiliki aktivitas antibakteri diare *S. aureus* dan *Salmonella*.

Tabel 2.3 Pemetaan Penelitian Daun *Psidium guajava*

Fungsi Metode	Antibakteri	Antidiare	Antioksidan	Antiinfla- masi	Pengawet pangan	Hepato- protektif	Antidiabetes	Kardiova- skular	Anti-demam berdarah	Studi Fitokimia & Farmakologis	Penurunan kadar kolesterol
Maserasi	Jaiarj <i>et al.</i> , 1999	Ajizah, 2004	He dan Venant, 2004	Anggraini, 2008	Maryati <i>et al.</i> , 2008	Roy <i>et al.</i> , 2005	Oh <i>et al.</i> , 2005	Garcia <i>et al.</i> , 2003			
	Adeyemi <i>et al.</i> , 2009		Vyas <i>et al.</i> , 2010				Deguchi dan Miyazaki, 2010				
	Egharevba, 2010		Indriani, 2006				Soman <i>et al.</i> , 2011			Long <i>et al.</i> , 2008	
	Nuraeni, 2010		Orgunlana, 2008							Olajide dan Makinde, 2008	
	Rahim <i>et al.</i> , 2010										
Soxhlet		Goncalves, 2008				Roy dan Das, 2010		Bello <i>et al.</i> , 2010			Penelitian yang dilakukan
Refluks		Adnyana <i>et al.</i> , 2004									
Distilasi						Roy dan Das, 2011					
Supercritic al Fluida										Moura, 2011	
Tidak Disebutkan	Rattanachaikunsopon dan Phumkhachorn, 2007								Soewandojo, 2010	Furlan <i>et al.</i> , 2005	
										Begum <i>et al.</i> , 2002	



Penelitian aktivitas sebagai antioksidan dilakukan oleh He dan Venant pada tahun 2004, serta Venant *et al.* pada tahun 2010 membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji memiliki aktivitas antioksidan yang dibuktikan dengan penurunan absorbansi sebagaimana perubahan warna dari ungu ke kuning yang dihasilkan dari DPPH. Pada tahun 2006, Indriani membuktikan bahwa ekstrak etanol 70% dari daun jambu biji memiliki aktivitas antioksidan dengan metode tiosianat. Pada tahun 2008 Orgunlana melakukan penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji memiliki aktivitas anti-radikal bebas yang dilakukan dengan uji *in vitro* terhadap senyawa radikal bebas seperti hidrogen peroksida, superoksida dan 1,1-Difenil-2-pikrilhidrasil (DPPH). Antioksidan sintetik, yaitu Butil Hidroksinasol (BHA) digunakan sebagai referensi terhadap aktivitas antiradikal bebas.

Penelitian aktivitas sebagai hepatoprotektif dilakukan oleh Roy dan das, serta Roy *et al.* pada tahun yang berbeda. Mereka melakukan penelitian dengan tujuan yang sama, dengan menggunakan variasi dan pelarut yang berbeda. Dari penelitian tersebut, terbukti bahwa ekstrak daun jambu biji memiliki aktivitas hepatoprotektif, setelah diujikan pada liver tikus yang diinduksikan hepatotoksin karbon tetraklorida. Dari penelitian ini diketahui bahwa ekstrak daun jambu biji pada dosis tinggi memiliki aktivitas hepatoprotektif yang lebih baik dibandingkan dengan dosis rendah.

Penelitian aktivitas sebagai antidiabetes dilakukan Oh, Soman *et al.*, Deguchi dan Miyazaki. Pada tahun 2005, Oh *et al.* melakukan penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji mampu menurunkan kadar gula darah tikus. Pada tahun 2010, Deguchi dan Miyazaki melakukan penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji mampu menurunkan kadar gula darah, yang telah diujikan baik pada tikus maupun manusia. Pada tahun 2011, Soman *et al.* melakukan penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak etil asetat daun jambu biji mampu mencegah komplikasi kardiovaskular pada tikus yang berkomplikasi dengan diabetes.

Penelitian aktivitas terhadap kardiovaskular dilakukan oleh Garcia *et al.* dan Bello *et al.* Pada tahun 2003, Garcia *et al.* melakukan penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji mampu menekan miokardial

inotropisme yang diujikan terhadap atrium marmut. Pada tahun 2010, Bello *et al.* melakukan penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji dapat memberikan efek kontraktile dari pada cincin aorta yang diisolasi dari tikus.

Penelitian yang terkait studi fitokimia dan farmakologis telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Pada tahun 2002, Begum *et al.* berhasil mengisolasi dua senyawa triterpenoid asam 20b-asetoksi-2a,3b-dihidroksiurs-12-en-28-oik (asam guavanoik) dan asam 2a,3b-dihidroksi-24-p-z-koumaroiloksiurs-12-en-28-oik (asam guavakomarik), serta struktur dari senyawa tersebut. Pada tahun 2005, Furlan *et al.* melakukan penelitian yang membuktikan bahwa daun jambu biji yang masih berada pada pohonnya dapat berperan sebagai indikator polusi udara di suatu wilayah. Hal ini diukur dengan kadar lilin yang dihasilkan dari daun jambu biji tersebut. Pada tahun 2008, Long *et al.* berhasil mengisolasi komponen baru dan menemukan struktur dua dimensi senyawa guajadial dari ekstrak daun jambu biji. Pada tahun 2011, Moura melakukan penelitian untuk mengetahui komposisi ekstrak daun jambu biji yang diperoleh dengan berbagai metode ekstraksi. Berikut adalah letak penelitian pemanfaatan daun jambu biji ini berdasarkan tujuan dari pemanfaatan ekstrak yang digunakan.

Pada tahun 2008, Anggraini melakukan penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji memiliki aktivitas antioksidan, setelah diujikan dengan tikus yang diinduksikan karagenin 1%. Pada tahun yang sama Maryati *et al.* melakukan penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji berperan sebagai pengawet telur ayam. Ekstrak akan menutup pori-pori telur dan menjadikannya impermeabel. Pada tahun 2010, Soewandojo membuktikan bahwa sirup ekstrak daun jambu biji dapat meningkatkan jumlah trombosit penderita demam berdarah dengue pada evaluasi 24 jam dan 48 jam.

## BAB 3

### METODE PENELITIAN

Untuk mendapatkan senyawa pektin dari ekstrak daun jambu biji, maka daun jambu biji harus mengalami beberapa tahapan yang terdiri dari pemisahan klorofil, ekstraksi dan isolasi. Selanjutnya sampel akan diuji dengan metode *in vitro* dan *in vivo*, untuk kemudian dianalisis mengenai hasil penurunan kadar kolesterolnya.

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Dasar Proses Kimia dan Laboratorium Bioproses Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia, Depok. Prosedur ekstraksi menggunakan metode *soxhlet*, yang dilakukan selama 2 jam dan proses sirkulasinya diset setiap 20 menit. Prosedur uji penurunan kadar kolesterol *in vitro* mengacu pada penelitian Khushbu *et al.* dan Nalole *et al.* yang diadaptasi dari penetapan kadar kolesterol metode Rudel dan Morris. Sedangkan prosedur uji penurunan kadar kolesterol *in vivo* dilakukan dengan menggunakan tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan uji. Proses aklimatisasi tikus, pemberian pakan dan variasi sampel dilakukan dengan mengacu pada penelitian Haznam (1967) sedangkan untuk pengujian penurunan kadar kolesterol darah tikus dilakukan dengan mengacu beberapa penelitian dengan menggunakan alat uji kolesterol Cardiochek<sup>®</sup> Lipid Analyzer diantaranya adalah Clark *et al.* (2012), Hawkins *et al.* (2006), Huang (2007), Kong (2004), Kluger *et al.* (2010), dan Sweazea *et al.* (2010).

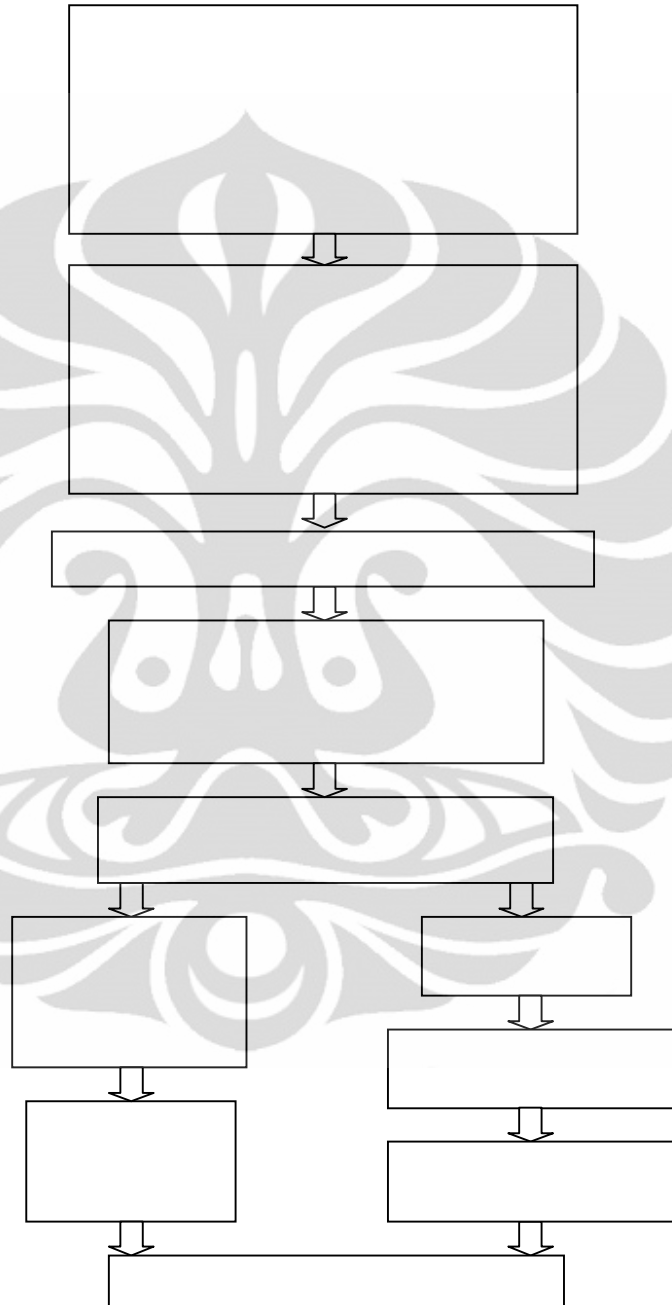
Penelitian dimulai dengan melakukan preparasi sampel dengan cara dikeringkan kemudian diolah hingga menjadi bentuk serbuk. Selanjutnya masing-masing sampel diekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi *soxhlet*, untuk kemudian diisolasi senyawa pektinnya. Kemudian pelarutnya dipisahkan untuk dilakukan uji aktivitas penurunan kadar kolesterol secara *in vitro* dan *in vivo*.

Berikut disajikan diagram alir penelitian ekstraksi daun jambu biji sebagai bahan boaktif antikolesterol yang dapat dilihat pada Gambar 3.1 berikut. Untuk

Pemisahan belerang dengan menggunakan *hotplate*

- Mengukur kadar belerang pada ekstrak Variasi sampel
- Uji *in vitro* dengan menggunakan *UV-Vis* untuk kadar
- Memisahkan daun dengan *sieve analysis* menjadi lemak
- Mengukur kadar belerang pada *cholesterol in vivo*
- Mengukur kadar belerang pada *cholesterol in vivo*
- Uji *in vitro* dengan menggunakan *UV-Vis*
- Larutan kloroform dengan diameter serbuk daun 50 mesh
- asam sitrat dipisahkan dari endapan
- Menambahkan serbuk daun ke dalam kertas
- Berat simpul per mL pelarut : 5/250
- saringan 20 mesh
- waktu ekstraksi 2 jam dengan proses sirkulasi
- setiap 20 menit

langkah-langkah pelaksanaan penelitian lebih lengkapnya dapat dibaca pada sub bab 3.3.



Gambar 3.1 Diagram alir penelitian

### 3.2 Peralatan dan Bahan

#### 3.2.1 Peralatan

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini beserta kegunaannya dapat dilihat pada Tabel 3.1.

**Tabel 3.1 Peralatan dan Kegunaannya**

No.	Alat	Kegunaan
1.	Spatula	Mengambil bahan
2.	Timbangan digital	Menimbang bahan
3.	Kaca arloji	Wadah untuk menimbang bahan
4.	Gelas beaker	Menampung ekstrak
5.	Gelas ukur	Mengukur banyaknya larutan
6.	<i>Waterbath</i>	Menguapkan pelarut
7.	<i>Hot plate</i>	Menguapkan pelarut
8.	<i>Soxhlet extractor</i>	Mengekstraksi daun jambu biji
9.	Spektrofotometer UV-Vis	Mengukur absorbansi sampel
10.	Kertas saring	Membungkus simplisia
11.	<i>Sieve analyzer</i>	Menghomogenkan ukuran serbuk daun
12.	Cardiochek <sup>®</sup> lipid analyzer	Mengukur kadar kolesterol darah tikus
13.	Cholesterol test strips	Tempat meneteskan darah tikus uji kadar kolesterol darah.
14.	Pipet kapiler 15 $\mu$ L	Mengambil darah tikus uji
15.	Syringe 5 cc (tanpa jarum)	Mencekakan sampel pada tikus
16.	Jarum Syringe 10 cc	Meneteskan darah tikus

#### 3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini beserta kegunaannya dapat dilihat pada Tabel 3.2.

**Tabel 3.2 Bahan-bahan dan Kegunaannya**

No.	Bahan-bahan	Kegunaan
1.	Daun jambu biji	Sebagai simplisia
2.	Etanol absolut	Sebagai pelarut

Tabel 3.2 Bahan-bahan dan Kegunaannya (Lanjutan)

3.	Cholesterol	Untuk uji penurunan kolesterol <i>in vitro</i>
4.	FeCl <sub>3</sub>	Pengukuran absorbansi kolesterol
5.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Pengukuran absorbansi kolesterol
6.	Air distilasi	Sebagai pelarut
7.	Reagen kolesterol	Untuk uji penurunan kolesterol <i>in vivo</i>
8.	Asam sitrat	Untuk isolasi pektin

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Tahap Preparasi Simplisia

Simplisia yang digunakan adalah daun dari tanaman jambu biji putih (*Psidium guajava*) yang dipetik pada pohon yang sama di kawasan perumahan Taman Galaxy Indah, Bekasi Selatan. Tahapan preparasinya adalah sebagai berikut:

1. Mencuci daun dan mengeringkannya pada suhu ruang selama 14 hari sehingga daun menjadi mudah untuk dihancurkan.
2. Menghancurkan daun hingga menjadi bentuk serbuk dengan menggunakan blender.
3. Mengayak daun dengan menggunakan *sieve analyzer* sehingga diperoleh serbuk daun dengan diameter 50 mesh.
4. Memasukan serbuk dedaunan kedalam kertas saring yang telah dilipat seperti bentuk kantung teh untuk memudahkan proses ekstraksi *soxhlet*.

#### 3.3.2 Pengaturan pH pelarut

1. Menuangkan pelarut air distilasi kedalam erlenmeyer sebanyak 250 mL.
2. Menambahkan asam sitrat 5% sebanyak 2,5 mL untuk pelarut air distilasi sebanyak 250 mL.
3. Meratakan asam sitrat 5% dan pelarut tersebut dengan cara menggoyangkan tabung erlenmeyer selama beberapa detik.
4. Mengukur pH pelarut dengan indikator pH sehingga diperoleh pelarut dengan pH=4.

### 3.3.3 Tahap Ekstraksi *Soxhlet* & Isolasi Pektin

Berikut adalah langkah-langkah yang dilakukan untuk menghasilkan ekstrak dari daun jambu biji menggunakan metode *soxhlet*:

1. Mempersiapkan peralatan *soxhlet* yang terdiri dari 3 bagian yaitu, labu pemanasan, ekstraktor, dan refluks, serta *electromantle* sebagai media pemanas.
2. Memasang selang refluks ke kran air dan menyetel laju alir pendinginnya. Refluks merupakan bagian atas dari *soxhlet* yang digunakan untuk mengembunkan uap pelarut.
3. Memasukkan sampel sebanyak 5 gram yang telah dibungkus kedalam kolom ekstraksi, yang merupakan bagian tengah *soxhlet*.
4. Memasukkan pelarut yang telah diatur keasamannya ( $\text{pH} = 4$ ) sebanyak 250 mL kedalam labu pemanasan (*boiling flask*) yang merupakan bagian bawah *soxhlet*.
5. Menyusun ketiga bagian *soxhlet* menjadi satu kesatuan.
6. Menyetel level pemanasan sebesar 7 pada *electromantle*. Mendinginkannya selama 10 menit agar suhu pemanasannya *steady*.
7. Meletakkan *Soxhlet* kedalam *electromantle* dimana hanya bagian labu pemanasan yang diselimuti.
8. Mengukur suhu tengah labu dan menjaganya agar tetap  $80^{\circ}\text{C}$ .
9. Melakukan ekstraksi selama 2 jam. Proses yang terjadi pada *soxhlet* adalah proses sirkulasi, yang diset setiap 20 menit agar dapat terjadi. Sehingga dalam 2 jam terjadi 6 kali sirkulasi.
10. Menguapkan pelarut yang terdapat dalam campuran yang dihasilkan dari proses ekstraksi dengan *waterbath* pada suhu  $70^{\circ}\text{C}$  hingga campuran tersisa sekitar setengah dari volume awal.
11. Menambahkan 175 mL etanol 95% dan mendinginkannya selama 10 menit.
12. Membagi larutan tersebut kedalam beberapa tabung, kemudian mensentrifugasinya selama 15 menit pada 8000 rpm.
13. Memisahkan supernatan dari presipitat dan menguapkan pelarut yang tersisa dengan menggunakan cawan petri pada suhu rendah.

### 3.3.4 Tahap Uji Penurunan Kadar Kolesterol *In vitro*

#### 3.3.4.1 Pembuatan Larutan Reagen FeCl<sub>3</sub> dan Larutan Kolesterol

Sebelum melakukan uji penurunan kolesterol, maka perlu dibuat terlebih dahulu larutan reagen FeCl<sub>3</sub> dan kolesterol etanol dengan tahapan sebagai berikut:

1. Membuat larutan reagen FeCl<sub>3</sub> dengan cara melarutkan 840 mg FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O dalam 10 mL asam asetat glasial, kemudian mendinginkannya selama 24 jam, larutan ini akan tetap stabil hingga beberapa bulan kedepan.
2. Memanaskan 10 mL etanol absolut pada suhu 45°C diatas *hotplate*
3. Memasukkan kolesterol powder kedalam etanol absolut dan mengaduknya hingga terlarut sempurna

#### 3.3.4.2 Uji Penurunan Kadar Kolesterol *in vitro*

Setelah pembuatan larutan kolesterol etanol dan kurva standar, maka uji penurunan kadar kolesterol *in vitro* dapat dilakukan dengan tahap-tahap sebagai berikut:

1. Membagi sampel sebanyak 0.2, 0.5 dan 1 mg, kemudian masing-masing disuspensikan kedalam 4 mL larutan kolesterol etanol dengan konsentrasi 1 mg/ 10 mL.
2. Meratakan campuran dengan menggunakan vorteks dan menginkubasikannya selama 60 menit pada suhu 37°C
3. Mensentrifugasi campuran pada 4000 rpm selama 5 menit.
4. Menambahkan 2 mL larutan reagen kedalam masing-masing sampel, mendinginkannya selama 10 menit, kemudian menutup lapisan luar tabung dengan aluminium voil untuk melindungi dari cahaya.
5. Menambahkan 1 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat kedalam masing-masing sampel.
6. Meratakan campuran dengan menggunakan vorteks, mendinginkannya selama 30 menit, dan mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm.

### 3.3.5 Tahap Uji Penurunan Kadar Kolesterol *In vivo*

#### 3.3.5.1 Aklimatisasi dan Perlakuan pada Hewan uji

1. Sebelum dilakukan uji penurunan kadar kolesterol *in vivo*, terlebih dahulu dilakukan aklimatisasi pada tikus putih (*R. norvegicus*) selama 28 hari. Hal ini



dilakukan agar tikus dapat beradaptasi terlebih dahulu dengan tempat baru dan pakannya.

2. Membagi Hewan uji kedalam 4 kelompok, dimana masing-masing kelompok terdapat 3 hewan uji:
  - Kelompok I: Hewan uji yang diberikan pakan air mineral dan pellet yang dicampur dengan lemak sapi (5:5).
  - Kelompok II: Hewan uji yang diberikan pakan air mineral dan pellet yang dicampur dengan lemak sapi (5:5) dan diikuti dengan pemberian simvastatin 0,18 mg/ BB per hari.
  - Kelompok III: Hewan uji yang diberikan pakan air mineral dan pellet yang dicampur dengan lemak sapi (5:5) dan diikuti dengan pemberian pektin 0,108 g/ BB per hari.
  - Kelompok IV: Hewan uji yang diberikan pakan air mineral dan pellet yang dicampur dengan lemak sapi (5:5) dan diikuti dengan pemberian pektin 0,216 g/ BB per hari.
3. Melarutkan masing-masing sampel untuk setiap kelompok kedalam 1 mL air, kemudian melakukan proses pencekakan dengan menggunakan syringe.
4. Setelah minggu ke-2 dan minggu ke-4 kadar kolesterol darah tikus diukur dengan menggunakan alat uji kolesterol Cardiochek<sup>®</sup> lipid analyzer.

#### 3.3.5.2 Pengecekan Kadar Kolesterol Darah Tikus

1. Mencukur bulu yang terdapat pada bagian kaki tikus hingga benar-benar bersih.
2. Mengoleskan alkohol pada bagian yang akan diberi sayatan
3. Memberikan sayatan pada pembuluh kaki tikus (*saphenous vein*) dengan menggunakan jarum pada syringe 10 cc.
4. Mengambil darah tikus yang keluar dengan pipet kapiler sebanyak 15  $\mu$ L.
4. Meneteskan darah tikus uji dari pipet kapiler pada kolesterol strip test yang telah dipasangkan pada Cardiochek<sup>®</sup> lipid analyzer.
5. Data kolesterol (mg/ dL) akan muncul setelah 3 menit dari saat darah hewan uji diteteskan pada kolesterol strip test yang telah dipasangkan pada Cardiochek<sup>®</sup> lipid analyzer.

### 3.3.6 Analisis Data

Data hasil pemeriksaan kadar kolesterol darah tikus yang diperoleh akan dianalisis dengan menggunakan uji statistik ANOVA (*Analysis of Variance*) dalam RAL dengan menggunakan program microsoft excel 2007.



## BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Analisis Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan meliputi tahap preparasi sampel daun *Psidium guajava*, ekstraksi dan isolasi pektin, serta uji penurunan kadar kolesterol secara *in vivo* dan *in vitro*.

#### 4.1.1 Tahap Preparasi Sampel Daun *Psidium guajava*

Sampel pada penelitian ini adalah daun dari tumbuhan *Psidium guajava* yang dipetik pada pohon yang sama dan di hari yang sama di kelurahan Pekayon Jaya, Bekasi Selatan. Dedaunan tersebut dikeringkan sehingga kadar air yang terkandung didalam sel daun hilang. Proses ini memerlukan waktu sekitar 2 minggu sehingga menjadi kecoklatan. Proses pengeringan daun dilakukan untuk memudahkan proses penghancuran daun menjadi bentuk serbuk dan proses ekstraksi.

Selanjutnya dedaunan tersebut dihancurkan hingga menjadi bentuk serbuk dengan menggunakan blender untuk kemudian ditumbuk. Setelah menjadi serbuk kasar, dedaunan tersebut diayak menggunakan *Sieve analyzer* dengan ukuran 50 mesh atau sebesar 0,3 mm. Proses penghancuran dan pengayakan daun ini dilakukan agar memperoleh serbuk daun menjadi seragam dan dengan mengubah ukuran fisik daun menjadi lebih kecil merupakan suatu upaya untuk memperluas budang kontak antara pelarut dengan daun sehingga memperbesar laju perpindahan massa komponen dari daun ke pelarut (Perdana, 2007).

Serbuk daun tersebut kemudian dibungkus dengan kertas saring yang dipotong dengan ukuran 10x12 cm. Pembungkusan ini dilakukan dengan melipat kertas saring tiga kali secara horizontal, ujung atas dan bawah dilipat dan memastikan bahwa lipatan tersebut tidak akan terbuka selama proses ekstraksi. Pembungkusan ini menyerupai kantong teh dan ukurannya disesuaikan dengan lebar *Soxhlet extractor* dan tinggi cairan maksimal yang terisi pada ekstraktor sebelum proses sirkulasi terjadi. Tujuan dilakukannya proses pembungkusan ini adalah untuk mencegah serbuk daun terbawa ke labu pemanasan/ *boiling flask*

selama proses ekstraksi, ketika terjadinya proses sirkulasi. Dengan adanya proses pembungkusan ini, pemisahan padatan sampel pada ekstrak yang diperoleh tidak perlu dilakukan karena padatan yang telah terekstrak tetap berada dalam pembungkus.

#### 4.1.2 Tahap Ekstraksi dan Isolasi Pektin

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi *Soxhlet*. Peralatan *Soxhlet* yang digunakan terdiri dari tiga bagian yaitu labu pemanasan, ekstraktor dan refluks. Peralatan ini dilengkapi dengan *electromantle* sebagai media pemanas. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut polar, yaitu air distilasi dengan volume 250 mL dan dengan berat sampel daun *Psidium guajava* sebanyak 5 gram.

Pada proses ekstraksi ini pelarut yang digunakan adalah air distilasi yang diatur tingkat keasamannya dengan pH 4. Pengaturan pH pelarut ini dilakukan dengan memberikan asam sitrat 5% sebanyak 2,5 mL untuk pelarut air distilasi sebanyak 250 mL dan untuk daun *Psidium guajava* sebanyak 5 gram. Pengaturan pH ini dilakukan karena pektin memiliki sifat asam dan dapat diekstraksi pada kondisi asam (Srivastava dan Malviya, 2011). Air distilasi dipilih sebagai pelarut karena air merupakan senyawa yang aman apabila dipandang dari sisi toksikologinya dibandingkan dengan jenis pelarutnya seperti aseton, metanol dan pelarut organik lainnya, sehingga senyawa bioaktif yang diperoleh aman untuk diberikan kepada makhluk hidup. Selain itu juga, salah satu cara untuk memperoleh pektin adalah dengan menggunakan pelarut air distilasi dalam proses ekstraksi (Singthong *et al.*, 2004).

Dari ekstraksi ini diperoleh *crude* ekstrak yang berwarna coklat tua, seperti teh dan berbau harum yang khas daun jambu biji. Warna kecoklatan ini disebabkan karena adanya kandungan tanin pada daun jambu biji (Gutierrez *et al.*, 2008). Tanin merupakan polifenol tanaman yang berfungsi mengikat dan mengendapkan protein. Selanjutnya *crude* ekstrak tersebut dikonsentrasikan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C hingga setengah volumenya kemudian dipresipitaskan dengan etanol 95% dan disentrifugasi pada 8000 rpm selama 15 menit.

Metode presipitasi etanol ini adalah suatu metode yang biasa digunakan untuk memurnikan DNA, RNA ataupun polisakarida seperti pektin. Etanol memiliki sifat yang kurang polar daripada air, sehingga ketika ditambah ke larutan akan mengacaukan interaksi molekul pektin, air dan ion-ion yang terdapat pada larutan. Molekul-molekul pektin akan bedekatan dan berinteraksi, kemudian membentuk *clump* atau suatu gumpalan yang dapat dipisahkan dengan cara sentrifugasi (Saunders, 2009). Selanjutnya supernatan dipisahkan dari presipitat, pelarut yang tersisa diuapkan dengan *hotplate* pada suhu rendah. Dari tahapan ekstraksi dan isolasi ini diperoleh pektin dengan berat sekitar 0,3 gram atau sekitar 6% dari massa sampel daun *Psidium guajava* sebanyak 5 gram.

#### 4.1.3 Tahap Uji *In vitro* Penurunan Kadar Kolesterol

Sebelum dilakukan uji *in vitro* penurunan kadar kolesterol, terlebih dahulu dibuat larutan reagen  $\text{FeCl}_3$  dengan cara melarutkan 840 mg  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  dalam 10 mL asam asetat glasial, kemudian mendinginkannya selama 24 jam, larutan ini akan tetap stabil hingga beberapa bulan kedepan. Proses pencampuran ini dilakukan pada tempat gelap dan botol yang digunakan untuk menampung larutan reagen  $\text{FeCl}_3$  ini dibungkus dengan aluminium foil, dengan tujuan untuk melindungi proses pencampuran dari cahaya. Perlindungan dari cahaya diperlukan karena  $\text{FeCl}_3$  memiliki sensitivitas terhadap cahaya, yakni apabila terkena cahaya  $\text{Fe}^{3+}$  akan tereduksi menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  (Rudel dan Morris, 1973).

Selanjutnya dilakukanlah pembuatan larutan kolesterol etanol dengan konsentrasi 1 mg kolesterol / 10 mL etanol absolut. Proses pembuatan larutan kolesterol etanol ini dilakukan dengan cara memanaskan etanol absolut pada suhu 45°C kemudian memasukan kolesterol yang berbentuk bubuk kristal putih dan mengaduknya hingga terlarut sempurna. Pelarutan kolesterol pada suhu 45°C ini dilakukan karena telah diketahui bahwa kelarutan kolesterol akan meningkat seiring dengan peningkatan suhu dan suhu yang optimum untuk melarutkan kolesterol dengan menggunakan pelarut etanol adalah pada suhu 45°C (Baluja *et al.*, 2009).

Setelah larutan kolesterol etanol dibuat dengan konsentrasi 1 mg kolesterol/ 10 mL etanol absolut, maka sampel pektin yang telah diperoleh dari

proses ekstraksi dan isolasi dibagi sebanyak 0.2 mg, 0.5 mg, dan 1 mg. disuspensikan dalam 4 mL larutan kolesterol etanol pada tabung reaksi yang berbeda. Selanjutnya masing-masing sampel diratakan dengan menggunakan vorteks dan menginkubasikannya selama 60 menit pada suhu 37°C. Setelah diinkubasikan, masing-masing sampel disentrifugasi pada 4000 rpm selama 5 menit. Mekanisme kerja pektin ketika bereaksi dengan kolesterol adalah pektin akan mengikat kolesterol yang terdapat dalam larutan kolesterol etanol dan kolesterol akan terendapkan bersama dengan pektin setelah disentrifugasi.

Setelah itu supernatan dari masing-masing sampel pada tabung reaksi diambil dan ditambahkan reagen FeCl<sub>3</sub> sebanyak 2 mL yang telah dibuat dari tahapan sebelumnya dan mendinginkan sampel selama 10 menit. Kemudian pada masing-masing sampel ditambahkan kembali 1 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Setelah ditambahkan asam sulfat pekat, reagen FeCl<sub>3</sub> akan bereaksi dengan supernatan untuk membentuk larutan berwarna, semakin besar konsentrasi kolesterol yang tersisa dalam supernatan maka akan semakin pekat warna dari larutan tersebut. Semakin pekat warna larutan akan menyerap lebih banyak cahaya dan mentransmisikan lebih sedikit cahaya, sehingga berpengaruh terhadap absorbansinya ketika diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 550 nm (Rudel dan Morris, 1973).

#### 4.1.4 Tahap Uji *In vivo* Penurunan Kadar Kolesterol

Uji *in vivo* penurunan kadar kolesterol dilakukan dengan menggunakan tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin jantan sebanyak 12 ekor yang berumur 3 bulan dengan berat 188 sampai 245 gram yang dibeli dari suplier tikus untuk penelitian di kawasan Prumpung, Jakarta Timur. Tikus putih galur wistar dipilih sebagai hewan uji karena tikus putih memiliki metabolisme yang mirip dengan manusia (Berata *et al.*, 2010). Jika ditinjau dari jenis kelaminnya, tikus putih dengan kelamin jantan lebih dipilih dalam penelitian karena tikus putih jantan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil. Selain itu kecepatan metabolisme obat pada tikus putih jantan lebih cepat dan kondisi biologis tubuhnya lebih stabil apabila dibandingkan dengan tikus putih betina (Nugroho, 2011).

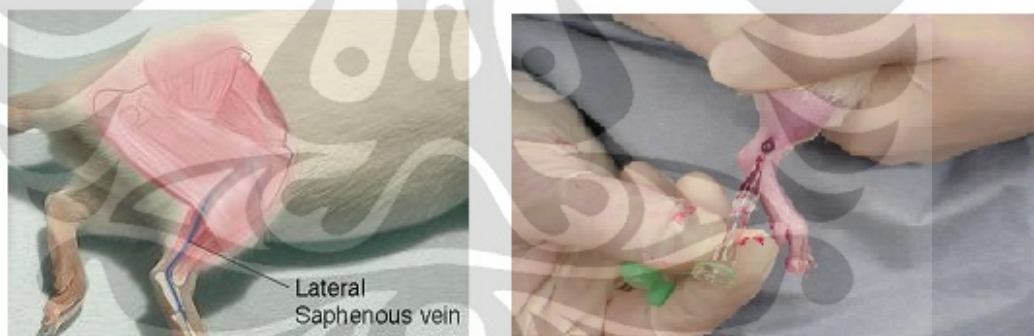
Tikus uji tersebut diaklimatisasi selama 2 minggu dengan cara diberi makan pellet dan air mineral dan ditempatkan pada kandang yang sama. Tujuan dari dilakukannya aklimatisasi pada tikus adalah agar tikus dapat beradaptasi dengan pakan dan perlakuan yang baru, sehingga detika dilakukan pengukuran awal kadar kolesterol darah tikus akan diperoleh hasil yang tidak jauh berbeda.

Kemudian dari 12 tikus tersebut dikelompokkan menjadi 4 kelompok dimana masing-masing kelompok terdiri dari 3 tikus uji. Kelompok I adalah kontrol negatif, yaitu kelompok tikus yang diberi makan dengan pakan diet lemak tinggi. Pakan diet lemak tinggi ini dibuat dengan cara mencampur pellet dengan lemak sapi dengan perbandingan 5:5. Metode pemberian pakan diet lemak tinggi ini dilakukan berdasarkan referensi pada penelitian Harini dan Astirin (2009). Kelompok II adalah kontrol positif, yaitu kelompok tikus yang diberi makan dengan diet lemak tinggi dan diikuti dengan pemberian simvastatin sebanyak 0,18 mg per berat badan tikus. Pemberian dosis simvastatin ini sebanyak 0,18 mg per berat badan tikus dilakukan berdasarkan penelitian Haznam (1967) yakni untuk tikus dengan berat rata-rata 200 gram. Penetapan dosis 0,18 mg simvastatin dilakukan dengan perhitungan dengan cara mengkalikan dosis simvastatin pada manusia dengan tetapan pada tabel konversi Laurence dan Bacharach yaitu  $10 \text{ mg/ hari} \times 0,018 = 0,18 \text{ mg/ hari}$  per berat badan. Kelompok III dan kelompok IV adalah kelompok tikus yang diberi pektin. Dosis pektin pada manusia per harinya adalah 6 sampai 30 gram dan dosis yang ditetapkan untuk diberikan kepada tikus uji adalah 6 gram untuk kelompok III dan 15 gram untuk kelompok IV. Maka dengan mengkonversikannya menggunakan tabel konversi Laurence dan Bacharach, dosis pektin yang diberikan pada tikus uji adalah 0,108 gram pektin/ hari per berat badan tikus untuk kelompok III dan 0,216 gram pektin/ hari per berat badan tikus untuk kelompok IV.

Setelah masing-masing tikus uji dikelompokkan, kadar kolesterol darah awal tikus uji diukur dengan menggunakan Cardiochek<sup>®</sup> Lipid Analyzer (Polymer Technology System, Inc., Indianapolis, IN, USA). Pengukuran kadar lipida dalam darah tikus dengan menggunakan alat ini telah dilakukan dalam beberapa penelitian diantaranya adalah Clark *et al.* (2012), Hawkins *et al.* (2006), Huang (2007), Kong (2004), Kluger *et al.* (2010), dan Sweazea *et al.* (2010). Metode

dengan menggunakan *Home Cholesterol Monitor* ini dipilih karena dalam melakukan metode ini tidak diperlukan kemampuan khusus dalam hal pembedahan tikus. Cara kerja dari alat ukur lipida darah Cardiochek® ini adalah dengan menggunakan reflektansi fotometri, yakni Memo chip dan Analyzer akan bekerja secara bersama mendeteksi perubahan warna dari test strip yang telah ditetaskan darah sampel. Perubahan warna dari test strip tersebut dipengaruhi oleh besarnya kadar lipida dalam darah sampel.

Proses pengambilan darah pada tikus uji dilakukan dengan mengambil darah dari pembuluh saphenous yang terdapat pada kaki tikus seperti pada Gambar 4.1. Pengambilan darah pada titik ini lebih dipilih karena tidak perlu dilakukan pembiusan pada tikus uji karena hanya menyebabkan rasa sakit yang sedikit pada tikus. Dengan menggunakan metode ini *yield* darah yang diperoleh juga cukup besar dibandingkan dengan darah yang diambil dari pembuluh ekor (*tail vein*) yaitu sekitar 0,2 – 0,3 mL darah pada tikus dewasa (Hoff, 2000).



**Gambar 4.1** Pengambilan darah dari pembuluh kaki/ *saphenous vein* (Coutsoukis, 2008)

Pengambilan darah diawali dengan cara mencukur bulu pada bagian kaki tikus, kemudian mengoleskan alkohol di tempat yang akan diberi sayatan. Tujuan dari pemberian alkohol ini adalah untuk mencegah terjadinya infeksi. Selanjutnya pengambilan darah dilakukan dengan cara memberikan sayatan dengan menggunakan ujung jarum dari syringe 10 cc, sehingga darah akan keluar dari titik yang diberi sayatan tersebut. Pengambilan darah tikus uji dilakukan dengan menggunakan mikropipet sebanyak 15  $\mu$ L, kemudian meneteskannya pada kolesterol test strip yang telah dipasang pada analyzer. Hasil dari pengukuran kadar kolesterol dalam waktu sekitar 3 menit setelah darah uji ditetaskan. Setelah



dilakukan pengecekan kadar kolesterol awal tikus uji, maka prosedur selanjutnya adalah pemberian sampel sesuai masing-masing kelompok tikus uji selama 4 minggu.

Proses pemberian simvastatin dan pektin dilakukan dengan cara pencekokan secara oral pada tikus uji. Hal ini dilakukan dengan cara melarutkan sampel dengan dosis yang telah ditetapkan dalam 2 mL air distilasi, selanjutnya proses pencekokan dilakukan dengan menggunakan syringe dengan kapasitas 10 cc setiap hari untuk masing-masing tikus uji. Proses pemberian sampel ini dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Fatmawati (2008). Proses pemberian sampel ini dilakukan selama 4 minggu pada tikus uji untuk kemudian diukur kadar kolesterol darahnya dengan menggunakan metode seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Penetapan waktu 4 minggu dipilih karena berdasarkan referensi, waktu minimum yang diperlukan untuk pektin didalam menurunkan kadar kolesterol dalam darah adalah 2 minggu (Sriamonsark, 2001).

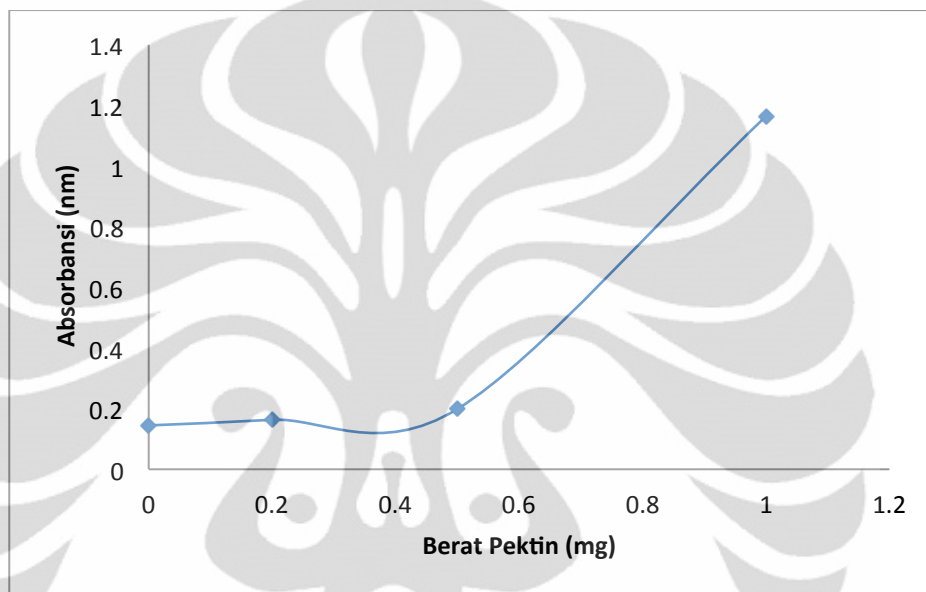
Mekanisme kerja pektin dalam sistem pencernaan tikus adalah pektin mampu mengikat kolesterol yang terdapat pada usus, sehingga mencegahnya untuk diserap menuju aliran darah. Semakin tinggi viskositas pektin, maka akan semakin efektif didalam menyerap kolesterol. Pektin dengan viskositas yang tinggi akan menurunkan kadar kolesterol dengan cara meningkatkan eksresi asam empedu feses dan sterol netral. Pektin yang memiliki viskositas tinggi tersebut akan berperan dalam membentuk misela dan asam empedu dengan laju difusi rendah melalui bolus untuk mengikat kolesterol pada saluran pencernaan (Sharma *et al.*, 2006).

#### **4.2 Analisis Hasil Penelitian**

Pada sub bab ini akan dibahas variasi pemberian berat pektin dalam larutan kolesterol pada uji *in vitro* dan pengukuran kadar kolesterol total tikus putih pada uji *in vivo* dari hasil penelitian yang telah dilakukan beserta analisisnya.

#### 4.2.1 Variasi Pemberian Pektin Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol pada Uji *In vitro*

Berikut adalah kurva konsentrasi kolesterol vs absorbansi setelah ditambahkan variasi pektin dengan berat 0.2, 0.5, dan 1 mg pektin dalam larutan kolesterol etanol 1 mg/ mL. Larutan standar yang digunakan adalah larutan kolesterol etanol 1 mg/ mL yang tidak diberi pektin.



**Gambar 4.2 Kurva Variasi Penambahan Pektin dalam larutan Kolesterol vs Absorbansi**

Dari Gambar 4.2 dapat disimpulkan bahwa besarnya absorbansi pada sampel akan meningkat dengan semakin banyaknya pektin yang ditambahkan dalam larutan kolesterol apabila dibandingkan dengan sampel yang tidak diberi pektin. Data tersebut tidak sesuai dengan yang diharapkan karena mekanisme kerja pektin ketika bereaksi dengan kolesterol adalah pektin akan mengikat kolesterol yang terdapat dalam larutan kolesterol etanol dan kolesterol akan terendapkan bersama dengan pektin setelah disentrifugasi. Sehingga absorbansi yang diukur adalah supernatan yang didalamnya terdapat kolesterol tersisa yang tidak terendapkan bersama dengan pektin. Faktor yang menyebabkan terjadinya hal ini adalah karena masih terdapatnya senyawa tannin yang terdapat pada pektin. Senyawa tannin ini dapat mempengaruhi warna dari supernatan yang akan diukur absorbansinya. Meskipun demikian, tannin memiliki aktivitas yang saling

mendukung dengan pektin didalam menurunkan kadar kolesterol (Latha *et al.*, 2010).

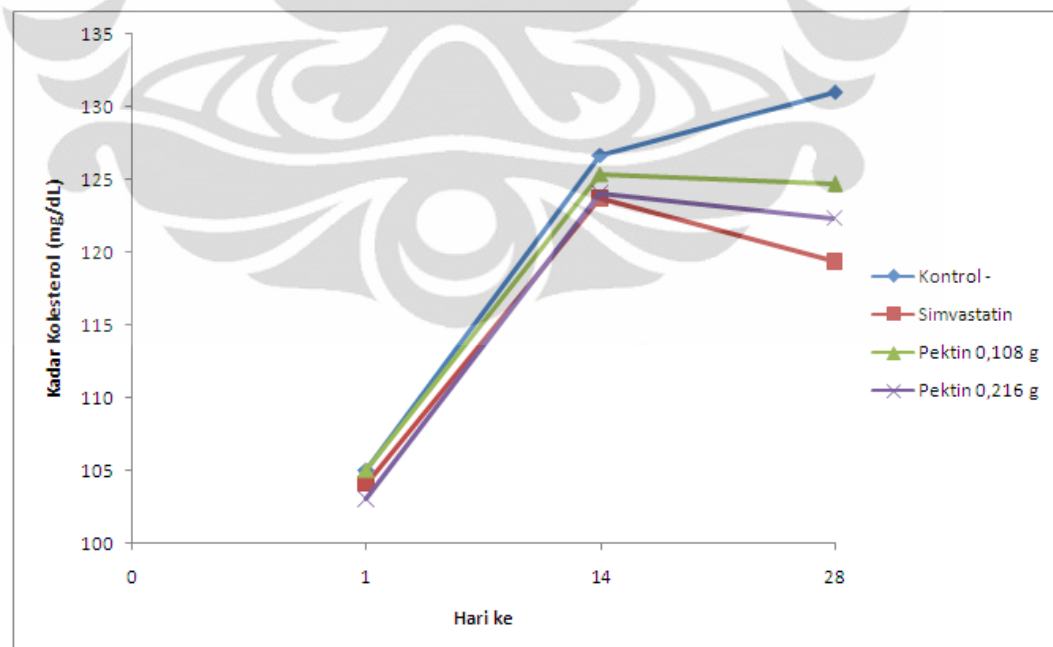
#### 4.2.2 Kadar Kolesterol Total Tikus Putih (*R. Norvegicus*) Pada Uji *In vivo*

Berikut adalah tabel 4.1 yang menunjukkan rata-rata kadar kolesterol total dalam darah tikus pada hari peratama sebelum perlakuan dan minggu kedua setelah perlakuan.

Tabel 4.1 Data rata-rata kadar kolesterol total dalam darah tikus putih (*R. norvegicus*)

Kelompok	Perlakuan	Hari ke-1 (mg/dL)	Hari ke-14 (mg/dL)	Hari ke-28 (mg/dL)
I	Kontrol -	105	126.67	131
II	Simvastatin	104	123.67	119.33
III	Pektin 0,108 gr	105	125.33	124.67
IV	Pektin 0,216 gr	103	124	122.33

Berikut adalah data rata-rata kadar kolesterol total dalam darah tikus putih (*R. norvegicus*) yang disajikan dalam bentuk grafik pada Gambar 4.3



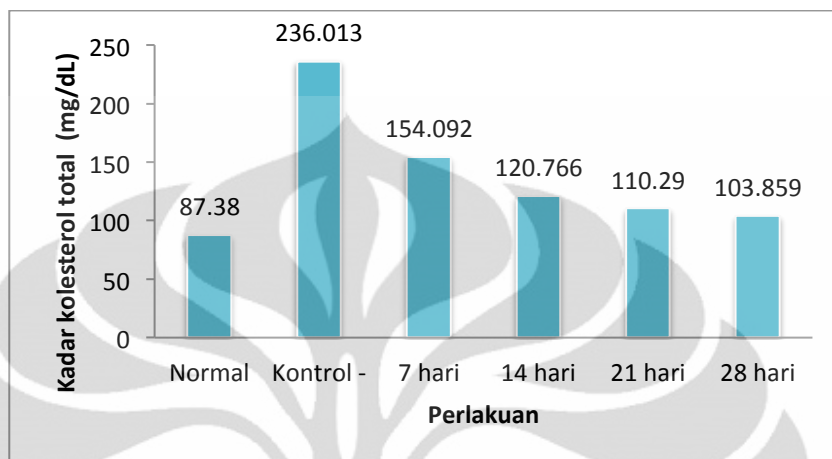
Gambar 4.3 Rata-rata kadar kolesterol total dalam darah tikus putih (*R. norvegicus*)

Dari Tabel 4.1 dan Gambar 4.3 diketahui bahwa rata-rata kadar kolesterol dalam darah awal tikus putih setelah dikukur dengan menggunakan alat Cardiochek<sup>®</sup> Lipid Analyzer adalah sekitar 103 – 105 mg/dL, kemudian diketahui bahwa kadar kolesterol darah tikus putih pada kelompok 1 meningkat drastis menjadi 126.67 mg/dL setelah dua minggu pemberian pakan dengan diet tinggi lemak dan kembali meningkat menjadi 131 mg/dL pada hari ke-28. Dari data ini diketahui bahwa pada hari ke-14 kadar kolesterol darah tikus putih masih belum dapat dikategorikan berada dalam kondisi hiperkolesterolemia karena kadar kolesterolnya masih berada didalam kondisi normal tikus putih (*R. Norvegicus*) yaitu pada rentang 40 – 130 mg/dL (Delaney, 1996). Akan tetapi setelah pengukuran pada hari ke-28 diketahui bahwa tikus putih telah berada dalam kondisi hiperkolesterolemia, hal ini diketahui dengan kadar kolesterol darah tikus sebesar 131 mg/dL.

Apabila dilihat pada grafik pada Gambar 4.3 diketahui bahwa kadar kolesterol untuk masing-masing kelompok tikus putih pada hari ke-14 meningkat drastis menjadi sekitar 124-126.67 mg/dL apabila dibandingkan dengan hari ke-1. Barulah pada hari ke-28 terlihat adanya penurunan kadar kolesterol tikus putih pada kelompok II hingga kelompok IV. Dari grafik tersebut diketahui bahwa terdapat penurunan rata-rata kadar kolesterol tikus putih dari hari ke-14 sampai hari ke-28 untuk kelompok II (simvastatin) sebesar 3,51%. Kemudian untuk kelompok III (pektin 0,108 g) sebesar 0,53% dan untuk kelompok IV (pektin 0,216 gr) sebesar 1,34%. Dari data tersebut diketahui bahwa pemberian simvastatin dengan dosis 0,18 mg pada tikus, lebih efektif dibandingkan dengan pemberian pektin dengan dosis 0,108 g dan 0,216 g. Hal ini disebabkan karena penggunaan pektin sebagai penurun kadar kolesterol darah dapat dikategorikan sebagai pengobatan herbal. Dibutuhkan waktu yang lebih lama bagi pengobatan herbal dibandingkan dengan pengobatan menggunakan obat kimia agar dapat memberikan hasil, meskipun efek samping yang diberikan dari pengobatan herbal relatif kecil ataupun tidak ada sama sekali jika digunakan secara tepat (Tilburt dan Kaptchuk, 2008).

Apabila data tersebut dibandingkan penelitian yang dilakukan oleh Fatmawati (2008) mengenai pengaruh lama pemberian ekstrak daun sambiloto

terhadap kadar kolesterol tikus putih (*R. norvegicus*) pada hari ke-14 seperti pada Gambar 4.4 berikut.



**Gambar 4.4** Diagram rata-rata perubahan kadar kolesterol pemberian ekstrak daun sambiloto (Fatmawati, 2008)

Dari diagram tersebut, apabila dilihat pada hari ke-14 diketahui bahwa ekstrak daun sambiloto yang diberikan sebanyak 0,5 g per hari mampu menurunkan kadar kolesterol sebesar 48,83%, yaitu dari 236,013 mg/dL ke 154,092 mg/dL. Apabila dilihat pada nilai tersebut diketahui bahwa nilai penurunan kadar kolesterol dengan ekstrak sambiloto jauh lebih baik dibandingkan dengan pektin dari ekstrak daun jambu biji yang mampu menurunkan kadar kolesterol sebesar 1,34% dari hari ke-14 hingga hari ke-28.

#### 4.2.3 Uji ANOVA Aktivitas Uji *In vivo* Penurunan Kadar Kolesterol

Untuk membandingkan aktivitas penurunan kadar kolesterol pada uji *in vivo* penurunan kadar kolesterol digunakan analisis ragam atau ANOVA. Analisis ragam dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian pektin terhadap kadar kolesterol total tikus hiperkolesterolemik pada hari ke-14 dan hari ke-28. Tabel 4.2 berikut menunjukkan data kadar kolesterol total tikus putih pada hari ke-14.

Tabel 4.2 Data kadar kolesterol total dalam darah tikus putih hari-14

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
<b>Kontrol -</b>	128.0	125.0	127.0	380.0	126.7
<b>Simvastatin</b>	125.0	122.0	124.0	371.0	123.7
<b>Pektin 0,108 g</b>	127.0	125.0	124.0	376.0	125.3
<b>Pektin 0,216 g</b>	126.0	124.0	122.0	372.0	124.0

Dengan perhitungan menggunakan microsoft excel diperoleh data ANOVA pada tabel 4.3 sebagai berikut.

Tabel 4.3 Data ANOVA data kadar kolesterol total dalam darah tikus putih hari-14

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F-tabel		P-value
					5%	1%	
<b>Perlakuan</b>	3	16.92	5.64	2.05	<i>tn</i>	4.07 7.59	0.165
<b>Galat</b>	8	22.00	2.75				
<b>Total</b>	11	38.92			KK =	1.33%	

Dari pengujian hipotesis ANOVA pada perhitungan kolesterol total dalam darah tikus putih hari-14 diperoleh bahwa F hasil perhitungan (F adalah rasio ragam) lebih kecil dari F kritis dengan  $\alpha = 0,05$  dan  $\alpha = 0,01$ , kemudian diketahui bahwa nilai P pengujian lebih besar dari 0,05. Data tersebut menunjukkan bahwa belum ada pengaruh pemberian sampel baik simvastatin maupun pektin terhadap penurunan kadar kolesterol pada hari ke-14. Sedangkan pada hari ke-28, berikut adalah kadar kolesterol total tikus putih. Tabel 4.4 berikut menunjukkan data kadar kolesterol total tikus putih pada hari ke-28

Tabel 4.4 Data kadar kolesterol total dalam darah tikus putih hari-28

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
<b>Kontrol -</b>	131.0	132.0	130.0	393.0	131.0
<b>Simvastatin</b>	119.0	119.0	120.0	358.0	119.3
<b>Pektin 0,108 g</b>	126.0	124.0	124.0	374.0	124.6
<b>Pektin 0,216 g</b>	124.0	122.0	121.0	3767.0	122.3

Dengan perhitungan menggunakan microsoft excel diperoleh data ANOVA pada tabel 4.5 sebagai berikut.

**Tabel 4.5 Data ANOVA data kadar kolesterol total dalam darah tikus putih hari-28**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel		P-value
						5%	1%	
<b>Perlakuan</b>	3	220.67	73.56	58.84	**	4.07	7.59	0.000
<b>Galat</b>	8	10.00	1.25					
<b>Total</b>	11	230.67			KK =	0.90%		

Dari pengujian hipotesis ANOVA pada perhitungan kolesterol total dalam darah tikus putih hari-28 diperoleh bahwa F hasil perhitungan (F adalah rasio ragam) lebih besar dari F kritis dengan  $\alpha = 0,05$  dan  $\alpha = 0,01$ , kemudian diketahui bahwa nilai P pengujian lebih kecil dari 0,05. Data tersebut menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian sampel baik simvastatin maupun pektin terhadap penurunan kadar kolesterol pada hari ke-28.

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, dapat diperoleh beberapa kesimpulan, yaitu:

- Penambahan pektin pada uji *in vitro* akan mempengaruhi warna sampel pada saat pengukuran absorbansi. Besar absorbansi dari sampel yang diberi pektin dengan massa 0, 0,2, 0,5, dan 1 mg berturut-turut adalah 0,1438, 0,1627, 0,1938, dan 1,164 nm.
- Ekstrak pektin yang diisolasi dari daun jambu biji (*Psidium guajava*) mampu menurunkan kadar kolesterol pada uji *in vivo* dengan menggunakan hewan uji tikus putih dari hari ke-14 sampai hari ke-28 sebesar 0,53% untuk dosis 0,108 g pektin dan 1,34% untuk dosis 0,216 g.
- Pemberian simvastatin dengan dosis 0,18 mg selama 28 hari pada tikus putih mampu menurunkan kadar kolesterol dalam darah tikus putih sebesar 3,51%, kemudian pada pemberian pektin dengan dosis 0,108 g dan 0,216 g berturut-turut mampu menurunkan kadar kolesterol sebesar 0,53% dan 1,34%. Hal ini menunjukkan bahwa dosis simvastatin 0,18 mg lebih baik didalam menurunkan kadar kolesterol tikus selama 28 hari dibandingkan pektin dengan dosis 0,108 g dan 0,216 g

#### **5.2 Saran**

Dalam penelitian ini penulis memberikan saran, diantaranya sebagai berikut:

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memisahkan senyawa tannin dari ekstrak pektin daun jambu biji (*Psidium guajava*) agar senyawa tannin mempengaruhi warna sampel pada saat pengukuran absorbansi.



- Perlu dilakukan lebih lanjut untuk menentukan dosis pektin dengan aktivitas penurun kadar kolesterol yang lebih baik dari simvastatin.



## DAFTAR PUSTAKA

- Adeyemi, Stephen, O., Akanji, M.A. dan Oguntoye, S.A. *Ethanollic leaf extract of Psidium guajava: Phytochemical and trypanocidal activity in rats infected with Trypanosoma brucei brucei*. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 3(5), pp. 420-423, May, 2009
- Adnyana, I Ketut, Yulinah, Elin, Sigit, Joseph, I., Fisheri, Neng, dan Insanu, Muhammad. *Efek Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih dan Jambu Biji Daging Buah Merah Sebagai Antidiare*. Departemen Farmasi ITB. Bandung, 2004
- Ajizah, Aulia. *Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L*. FKIP Universitas Lambung Mangkurat, 2004
- Anonim. *Hyperlipidemia (High Cholesterol)*. [http://cornerstoneprimaryhealthcare.com/images/A3\\_hypercholesterolemia.pdf](http://cornerstoneprimaryhealthcare.com/images/A3_hypercholesterolemia.pdf) (Diakses 10 Februari 2012)
- Anggraini, Wenny. *Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (Psidium guajava Linn.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2008
- Astuti, Meiria Sylvi. *Isolasi dan Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Umbi Teki (Cyperus rotundus)*. Skripsi. FMIPA Universitas Sebelas Maret, 2006
- Baluja, Shipra, Gajera, Ravi, Vekariya, Nayan, Bhatt, Mehul dan Bhalodia, Rahul. *Solubility of Cholesterol in some alcohols from 293.15 to 318.15 K*. Archives of Applied Science Research 1:2 263-270, 2009
- Begum, Sabira, Hassan, Syed Imran, Siddiqui, Bina S., Shaheen, Farhaa, Ghayur, M. Nabeel dan Gilani, Anwar H. *Triterpenoids from the leaves of Psidium guajava*. Journal of Phytochemistry 61, 399–403, 2002
- Bello, Olatunji, Odusanya, A.J., Raji, I., dan Ladipo, C.O. *Contractile effect of the aqueous extract of Psidium guajava leaves on aortic rings in rat*. Journal Fitoterapia 78, 241–243, 2007

- Berata, I Ketut, Arjana, Anak Agung, Sudira, I Wayan, Merdana, I Made, Budiasa, I Ketut, Oka, Ida Bagus. *Studi Patologi Kejadian Cysticercosis pada Tikus Putih*. Jurnal Veteriner Vol. 11 No. 4 : 232-237, 2010
- Clark, Cathy, Smith, Wayne, Lochner, Amanda dan Toit, Eugene. *The Effects of Gender and Obesity on Myocardial Tolerance to Ischaemia*. Physiological Research Pre-Press Article, 2012
- Coutsoukis, Photius. Basic Bi methodology for Laboratory Mice. [http://www.theodora.com/rodent\\_laboratory/blood\\_collection.html](http://www.theodora.com/rodent_laboratory/blood_collection.html), 2008
- Deguchi, Yoriko and Miyazaki, Kouji. *Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effects of guava leaf extract*. Journal of Nutrition and Metabolism 7:9, 2010
- Delaney, Johnson. 1996. *Exotic Animal Companion Medicine Handbook for Veterinarians*. Zoological Education Network, 1996
- Egharevba, Omoregie, Henry, Iliya, Ibrahim, Nneka, Ibekwe, Abdullahi, Sabo, Makailu, Okwute, dan Koma, Simon. *Broad Spectrum Antimicrobial Activity of Psidium guajava Linn. Leaf*. Journal of Nature and Science 8 (12), 2010
- Fatmawati, Emi. *Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (Andrographis paniculata Ness.) Terhadap Kadar Kolesterol, HDL dan Trigliserida Darah Tikus (Rattus norvegicus) Diabetes*. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang, 2008
- Furlan, Claudia. M, Santos, Deborah, Y.A.C, Salatino, Antonio, dan Domingos, Marisa. *n-Alkane distribution of leaves of Psidium guajava exposed to industrial air pollutants*. Journal of Environmental and Experimental Botany 58, 100–105, 2006
- Garcia, Conde, Nascimento, V.T., Santos, Santiago. *Inotropic effects of extracts of Psidium guajava L. (guava) leaves on the guinea pig atrium*. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 36: 661-618, 2003

- Gutierrez M.P., Mitchel S., and Solis R.V. *Psidium guajava: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology*. Journal of Ethnopharmacology 117 (2008) 1–27, 2008
- Goncalves, Flavia, Neto, Manoel Andrade, Bezzerá, Jose N.S., Macrae, Andrew, Sousa, Oscarina Viana, Fontelles-Filho, Antonio, Vieira, Regina. *Antibacterial Activity of Guava, Psidium guajava Linnaeus, Leaf Extracts on Diarrhea-Causing Enteric Bacteria Isolated From Seabob Shrimp, Xiphopenaeus kroyeri*. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 50(1):11-15, 2008
- Handa, Sukhdev Swami, Khanuja, Suman Preet, Longo, Genaro, Rakesh, Dev Dutt. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Itali: ICS-UNINDO, 2008
- Hawkins, Lunden, Norwood, Brooks, Egleton. *Increased blood–brain barrier permeability and altered tight junctions in experimental diabetes in the rat: contribution of hyperglycaemia and matrix metalloproteinases*. Journal of Diabetologia 50:202–21, 2007
- He, Quant and Venant, Nihorimbere. *Antioxidant power of phytochemicals from Psidium guajava leaf*. Journal of Zhejiang University Science, 5(6):676-683, 2004
- Hoff, Janet. *Methods of Blood Collection in the Mouse*. Journal of Lab Animal Volume 29, No.10, 2000
- Huang, Yu Wen. *Anti-obesity Effects of Green Tea EGCG, Orange Pee Extract, Black Tea Extract and Caffeine in Mice Fed on A High-fat Diet*. Dissertation of Master Science. Graduate Program in Food Science. The State University of New Jersey. 2007
- Husin, Winsa. *Property of Psidium guajava L. leaves in treatment of diarrhea*. TWINMAP Program, Universiteit Leiden and University of Padjajaran, 2003

- Indriani, Susi. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.)*. J. Pert. Indon. Vol. 11 (1), 2006
- Jaiarj, Khoohaswan, Wongkrajang, Peungvicha, Suriyawong, Saraya, dan Ruangsomboon. *Anticough and antimicrobial activities of Psidium guajavaLinn. leaf extract*. Journal of Ethnopharmacology 67, 203–212, 1999
- Tilburt, John C and Ted J Kaptchuk. *Herbal medicine research and global health: an ethical analysis*. Bulletin of the World Health Organization 86 (8), 2008
- Khushbu, Singhal, Harshada, Joshi, dan Chaudary, B.L.. *Influence of Initial Concentrations of Cholesterol on the Uptake of Cholesterol by the Standard Lactobacillus Strains and Lactobacillus Isolates*. IJPI's Journal of Biotechnology and Biotherapeutics Vol. 1:4, 2011
- Kluger, E.K, Dhand, Baral, Snow, Malik dan Govendir, M. *Assessment of the Accutrend GCT and PTS CardioChek meters to measure blood triglyceride concentrations in cats*. ElSevier Journal of Feline Medicine & Surgery Vol 12, Issue 6, Pages 458 – 465, 2010
- Kong, Natalie. *The Barrious Oil Wrapping System (Bows), A Dietary Supplement to Aid In The Treatment of Obesity*. Thesis of Master Science. Molecular Biosciences and Bioengineering. University of Hawaii, 2004
- Latha, B. Pushpa, Reddy, Rama Manohar, Ismail, S. Mannur,dan Vijaya, T. *Medicinal Plants and Their Derivatives as Potential Source in Treatment of Obesity*. Asian Journal of Experimental Biological Science Vol 4:719-727, 2010
- Long, Yang-Xiao, Kun-Lung, dan Ji-Kai, Liu. *Diguajadial: A Dimer of the Meroterpenoid from the Leaves of Psidium guajava (Guava)*. Chinese Journal of Natural Medicines, 6(5): 333–335, 2008

- Maryati, Jusmawati dan Karmila, Mila. *Pemanfaatan Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) Sebagai Pengawet Telur Ayam Ras*. FMIPA UNM, 2008
- Mattes, Frank. *Cholesterol and the Power of Pectin*. Herbstreith & Fox Inc. Elmsford/NY, USA, 2005
- Murini, Tri, Fernandes, Fiki, Ade, Marda, Muchayat, Siti, dan Utoro, Totok. *Pengaruh Jus Buah Jambu Biji Merah (Psidium guajava L.) Terhadap Profil Lipid Darah dan Kejadian Aterosklerosis pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) yang Diberi Diet Tinggi Lemak*. Fakultas Kedokteran UGM. Yogyakarta, 2011
- Moura, P.M., Prado, G.H.C., Meireles, C.G., dan Pereira, C.G.. *Supercritical fluid extraction from guava (Psidium guajava) leaves: Global yield, composition and kinetic data*. J. of Supercritical Fluids 62, 116– 122, 2012
- Nalole, Rahmawati, Djide, M. Natsir, Wahyudin, Ellie, dan Makhmud, Ilham. *Uji In vitro Penurunan Kadar Kolesterol oleh Sari Kedelai Hitam (Glycine max Merr)*. Majalah Farmasi dan Farmakologi Vol.13 No.1, 2009
- Noviyanti, Lenia. *Modifikasi Teknik Kromatografi Kolom Untuk Pemisahan Trigliserida dari Ekstrak Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)*. Skripsi. FMIPA Universitas Sebelas Maret, 2010
- Nugroho, Joko. *Uji Efek Antipiretik Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Etanol Herba Meniran (Phyllanthus niruri. L) Terhadap Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus) Galur Wistar*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2011
- Nuraeni. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Susu (Psidium guajava L. 'Susu') dan Daun Jambu Biji Merah Getas (Psidium guajava L. 'Merah getas') Terhadap Staphylococcus epidermidis Serta Profil Kromatografinya*. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta, 2010

- Ogunlana, O.E. and Ogunlana, O.O. *In vitro Assessment of the Free Radical Scavenging Activity of Psidium Guajava*. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 4(6): 666-671, 2008
- Oh, Won Keun, Lee, Chul Ho, Lee, Myung Sun, Bae, Eun Yong, Shon, Cheon Bae, Oh, Hyuncheol, Kim, Bo Yeon, dan Ahn, Jong Seog. *Antidiabetic effects of extracts from Psidium guajava*. Journal of Ethnopharmacology 96, 411–415, 2005
- Olajide, O.A., Awe, S.O., dan Makinde, J.M. *Pharmacological studies on the leaf of Psidium guajava*. Journal of Fitoterapia 70, 25-31, 1999
- Perdana, Gede Adi. *Pengaruh Konsentrasi Ekstrak dan Waktu Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Sempur Air (Dillenia indica) Dengan Ekstraksi Soxhlet*. Skripsi. Departemen Teknik Kimia. FTUI. Depok, 2007
- Pratiwi, Elisabeth Noviana Dewi. *Pengaruh Penambahan Bekatul Pada Pakan Terhadap Gambaran Histologi Organ Hati Mencit (Mus musculus L.) Jantan Galur Swiss Webster*. Skripsi. Jurusan Biologi. FMIPA UPI. Bandung, 2010
- Polychronopoulos, Evangelos, Panagiotakos, Demosthenes B dan Polystiopi, Anna. *Diet, lifestyle factors and hypercholesterolemia in elderly men and women from Cyprus*. Journal of Lipids Health Disease 4: 17, 2005
- Rahim, Niaz, Gomes, Donald James, Watanabe, Haruo, Rahman, Sabita Rizwana, Chomvarin, Chariya, Endtz, Hubert Ph. Dan Alam, Manirul. *Antibacterial Activity of Psidium guajava Leaf and Bark against Multidrug-Resistant Vibrio cholerae: Implication for Cholera Control*. J. Infect. Dis., 63, 271-274, 2010
- Rattanachaikunsopon, Pongsak and Phumkhachorn, Parichat. *Bacteriostatic effect of flavonoids isolated from leave of Psidium guajava on fish pathogens*. Fitoterapia 78, 434–436, 2007

- Roy, C.K. and Das, A.K. *Comparative Evaluation of Different Extracts of Leaves of Psidium guajava Linn. for Hepatoprotective Activity*. J. Pharm. Sci., Vol.23, No.1, pp.15-20, 2010
- Roy, C.K. and Das, A.K. *Effect of Psidium guajava Linn. leaf extract on liver cells*. Journal of Pharmacy and Healthcare Management Vol. 02, pp. 83-88, 2011
- Roy, C.K., Kamath, J.V., dan Asad, M. *Hepatoprotective activity of Psidium guajava Linn. Leaf extract*. Indian Journal of Experimental Biology, Vol.44, pp. 305-311, 2006
- Rudel, L.L. and Moris, M.D. 1973. *Determination of Cholesterol using o-phthalaldehyde*. Journal of Lipid Research Volume 14, 1973.
- Saunders, Neil. *Why use alcohol to precipitate polysaccharides (levan)*. MadSci Network: Biochemistry, 2009
- Sharma, B.R., L, Naresh, Dhuldoya, N.C., Merchant, S.U., Merchant, U.C. *An Overview of Pectins*. Times Food Processing Journal, June-July Issue, Page no. 44-51, 2006
- Singthong, Jithra, Ningsamond, Suwayd, Cui, Steve W, dan Goff, H. Douglas. *Extraction and physicochemical characterization of Krueo Ma Noy pectin*. Journal of Food Hydrocolloids 19: 793–801, 2005
- Soewandojo, Eddy. *Pengaruh Sirup Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium Guajava L) Terhadap Jumlah Trombosit Penderita Demam Berdarah Dengue Dewasa Derajat I dan II*. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 2010
- Soman, S., Rajamanickam, C., Rauf, A.A., dan Indira, M. *Beneficial effects of Psidium guajava leaf extract on diabetic myocardium*. Experimental and Toxicologic Pathology, 2010



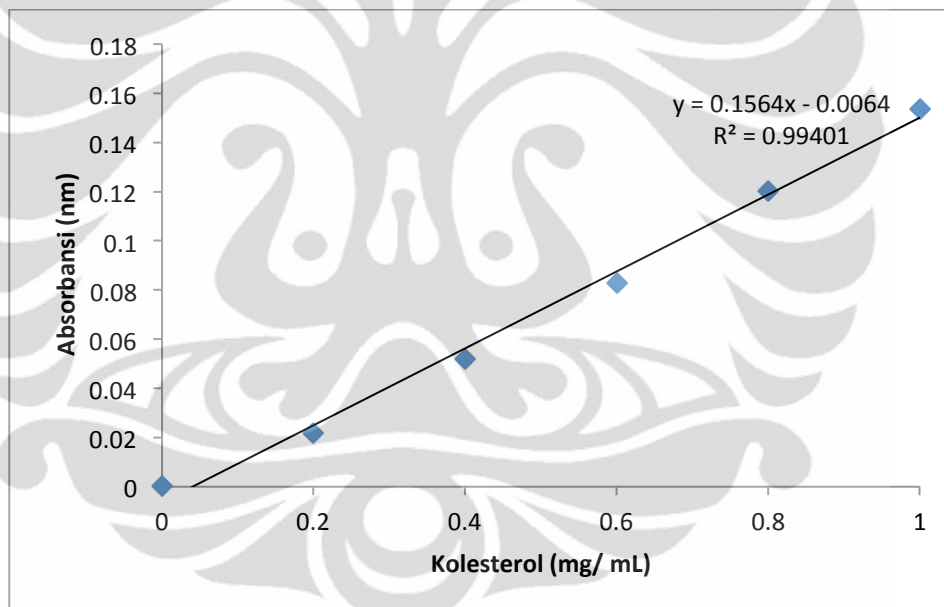
- Srivastava, Pranati and Rishabha, Malviya. *Sources of pectin, extraction and its application in pharmaceutical industry – An overview*. Indian Journal of Natural Products and Resources. Vol. 2, pp. 10-18, 2011
- Sweazea, Karen L., Lekic, Mateja dan Walker, Benjimen R. *Comparison of mechanisms involved in impaired vascular reactivity between high sucrose and high fat diets in rats*. Journal of Nutrition and Metabolism 7:48, 2010
- Uren, Neal, and Collins, Stephen. *High cholesterol level (hypercholesterolemia)*. <http://www.netdoctor.co.uk/diseases/facts/hypercholesterolaemia.htm>  
(Diakses 10 Februari 2012)
- Vyas, Narendra, Tailang, Mukul, Gavatia, Narayan Prasad dan Gupta, Bhaskar K. *Antioxidant Potential of Psidium Guajava Linn*. International Journal of PharmTech Research, Vol.2, No.1, pp 417-419, 2010
- Wiralis. *Pengaruh Pemberian Jus Jambu Biji (Psidium guajava L) Terhadap Kadar Ion Nitrit dan Gambaran Histopatologik Panus Sendi Adjuvant Induced Arthritis*. Tesis. Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro. Semarang, 2008

## LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Data Pengukuran Absorbansi Larutan Kolesterol Dalam Pembuatan Kurva Kolesterol Standar

Konsentrasi Kolesterol (mg/mL)	Absorbansi (nm)
0	0
0.2	0.022
0.4	0.052
0.6	0.083
0.8	0.1203
1	0.1538

**Lampiran 2.** Kurva Kalibrasi Larutan Kolesterol Standar



**Lampiran 3.** Data Absorbansi Larutan Kolesterol Pada larutan kolesterol yang diberi pektin

Pektin (mg)	Absorbansi (nm)
0	0.1438
0.2	0.1627
0.5	0.1938
1	1.164

**Lampiran 4. Kadar Kolesterol Darah Tikus Sebelum dan Sesudah Perlakuan**

	I			II		
	Hari-1	Hari-14	Hari-23	Hari-1	Hari-14	Hari-23
	105	128	131	102	125	119
	104	125	132	106	122	119
	106	127	130	104	124	120
<b>Rata-rata</b>	<b>105</b>	<b>126.6667</b>	<b>131</b>	<b>104</b>	<b>123.6667</b>	<b>119.3333</b>

	III			IV		
	Hari-1	Hari-14	Hari-23	Hari-1	Hari-14	Hari-23
	105	127	126	105	126	124
	106	125	124	101	124	122
	104	124	124	103	122	121
<b>Rata-rata</b>	<b>105</b>	<b>125.3333</b>	<b>124.6667</b>	<b>103</b>	<b>124</b>	<b>122.3333</b>

Catatan:

Kelompok I: Kontrol negatif (Diet Tinggi Lemak)

Kelompok II: Simvastatin

Kelompok III: Pektin 0,108 g

Kelompok IV: Pektin 0,126 g

**Lampiran 5. Gambar Peralatan, Bahan, Serta Pelaksanaan Penelitian**

(c) (g)  
(e)

(d) (f)



Keterangan

- (a) Pembungkusan botol sampel uji *in vitro* dengan menggunakan aluminium foil
- (b) Tikus putih galur wistar (*R. norvegicus*) berumur 3 bulan
- (c) Proses pencekakan tikus dengan pektin 1
- (d) Proses pencekakan tikus dengan pektin 2
- (e) Strip kolesterol untuk uji *in vivo*
- (f) Proses pengambilan darah tikus pada *saphenous vein* dengan pipet kapiler
- (g) Pengukuran kadar kolesterol darah tikus dengan Cardiochek<sup>®</sup> Lipid Analyzer

