



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**EFEK PEMBERIAN JUS ANGGUR TERHADAP KADAR KOLESTEROL LDL SUBYEK  
DENGAN KADAR KOLESTEROL TOTAL BATAS TINGGI**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister**

**NIKEN MANOHARA  
0706171062**

**KEKHUSUSAN ILMU GIZI KLINIK  
PROGRAM STUDI ILMU GIZI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS INDONESIA  
SEPTEMBER, 2009**

## LEMBAR PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :  
Nama : Niken Manohara  
NPM : 0706171062  
Program studi : Ilmu Gizi, Kekhususan Ilmu Gizi Klinik  
Judul tesis : Efek Pemberian Jus Anggur Terhadap Perubahan Kadar Kolesterol LDL Subyek Dengan Kadar Kolesterol Total Batas Tinggi

**Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister pada Kekhususan Ilmu Gizi Klinik, Program Studi Ilmu Gizi, Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.**

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I	: dr. Victor Tambunan, MSc, SpGK	(  )
Pembimbing II	: dr. Ani Retno Prijanti, MS	(  )
Penguji	: dr. Sri Widia A.Jusman, MS	(  )
Penguji	: dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK	(  )
Penguji	: dr. Herqutanto, MPH, MARS	(  )
Penguji	: dr. Imam Subekti, SpPD, KEMD	(  )

Ditetapkan di : Jakarta  
Tanggal : 14 September 2009

## LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

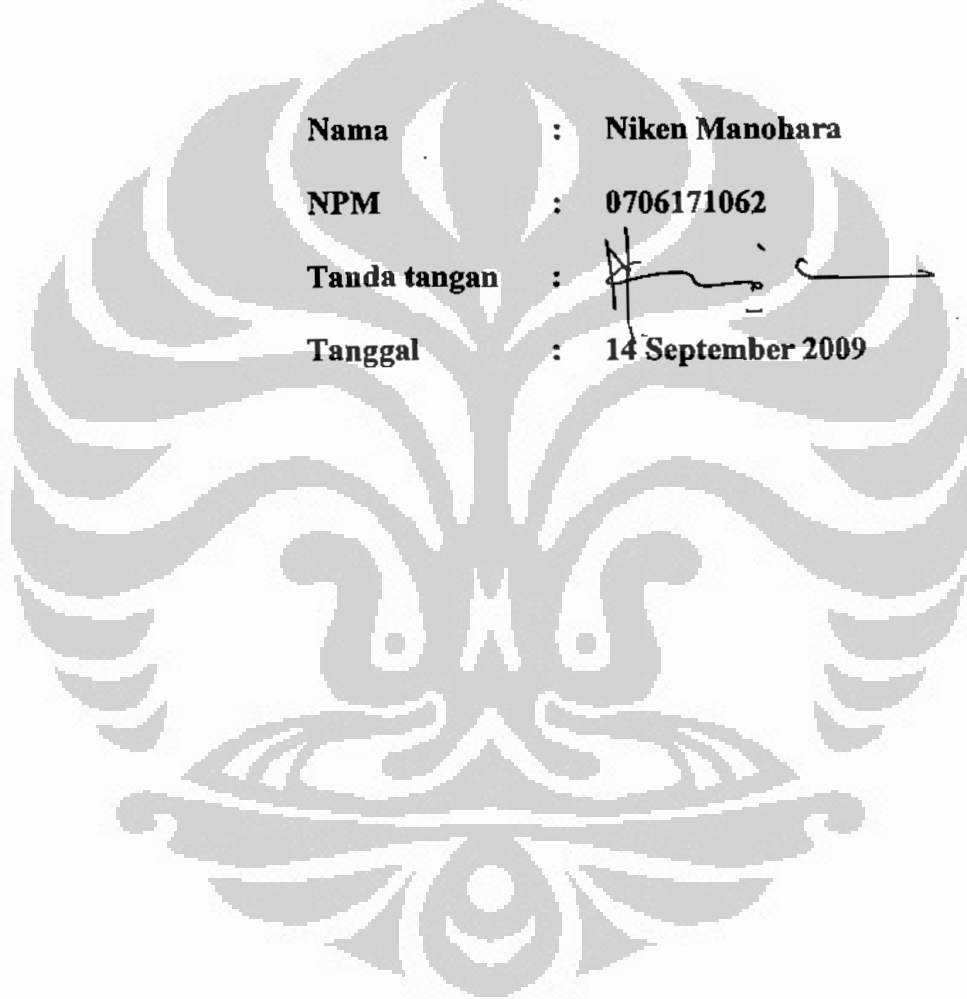
**Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun rujukan  
telah saya nyatakan dengan benar.**

**Nama : Niken Manohara**

**NPM : 0706171062**

**Tanda tangan : **

**Tanggal : 14 September 2009**



**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

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

Nama : Niken Manohara

NPM : 0706171062

Program Studi : Ilmu Gizi

Fakultas : Kedokteran

Jenis Karya : Tesis

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

**EFEK PEMBERIAN JUS ANGGUR TERHADAP KADAR KOLESTEROL LDL  
SUBYEK DENGAN KADAR KOLESTEROL TOTAL BATAS TINGGI**

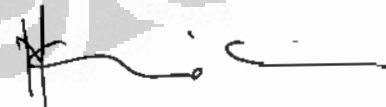
beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Jakarta

Pada tanggal 14 September 2009

Yang menyatakan,

  
(Niken Manohara)

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur kehadiran Allah SWT atas berkat, rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis ini.

Penelitian ini merupakan penelitian uji klinis mengenai efek pemberian jus anggur terhadap kadar kolesterol LDL subyek dengan kadar kolesterol total batas tinggi yang dilakukan pada anggota Polri atau PNS beserta pasangannya, warga asrama Polri Cipinang, Jakarta Timur.

Selesaiannya tesis ini tidak lepas dari tuntunan dan bimbingan dari dosen pembimbing dan staf pengajar Departemen Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada dr. Victor Tambunan, MSc, SpGK, sebagai pembimbing I dan Ketua Departemen Ilmu Gizi yang dengan penuh kesabaran, ketekunan, dan ketelitian yang terus diberikan sejak seminar tinjauan pustaka hingga selesaiannya penyusunan tesis ini.

Kepada dr. Ani Retno Prijanti, Msc, sebagai pembimbing II, penulis mengueapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya karena di sela-sela jadwal beliau yang padat, beliau masih meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada dr. Lanny Lestiani, MSC, SpGK, selaku ketua Program Studi Ilmu Gizi, dr. Erwin Christianto, MGizi, SpGK, selaku Ketua Kekhususan Ilmu Gizi Klinik beserta seluruh staf pengajar di Departemen Ilmu Gizi, atas bimbingan dan dukungan yang telah diberikan sejak awal menjalani pendidikan hingga saat ini.

Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada seluruh karyawan Departemen Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan seluruh peserta program Magister Kekhususan Ilmu Gizi Klinik, khususnya angkatan 2007 atas bantuan dan dukungannya selama ini.

Terima kasih kepada Kapusdokkes Polri, Brigjend. Pol. Dr. Eddy Suparwoko, SpJ, yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan. Terima kasih yang tak terhingga kepada seluruh subyek penelitian yang telah mengikuti rangkaian penelitian hingga selesai. Terima kasih juga kepada seluruh

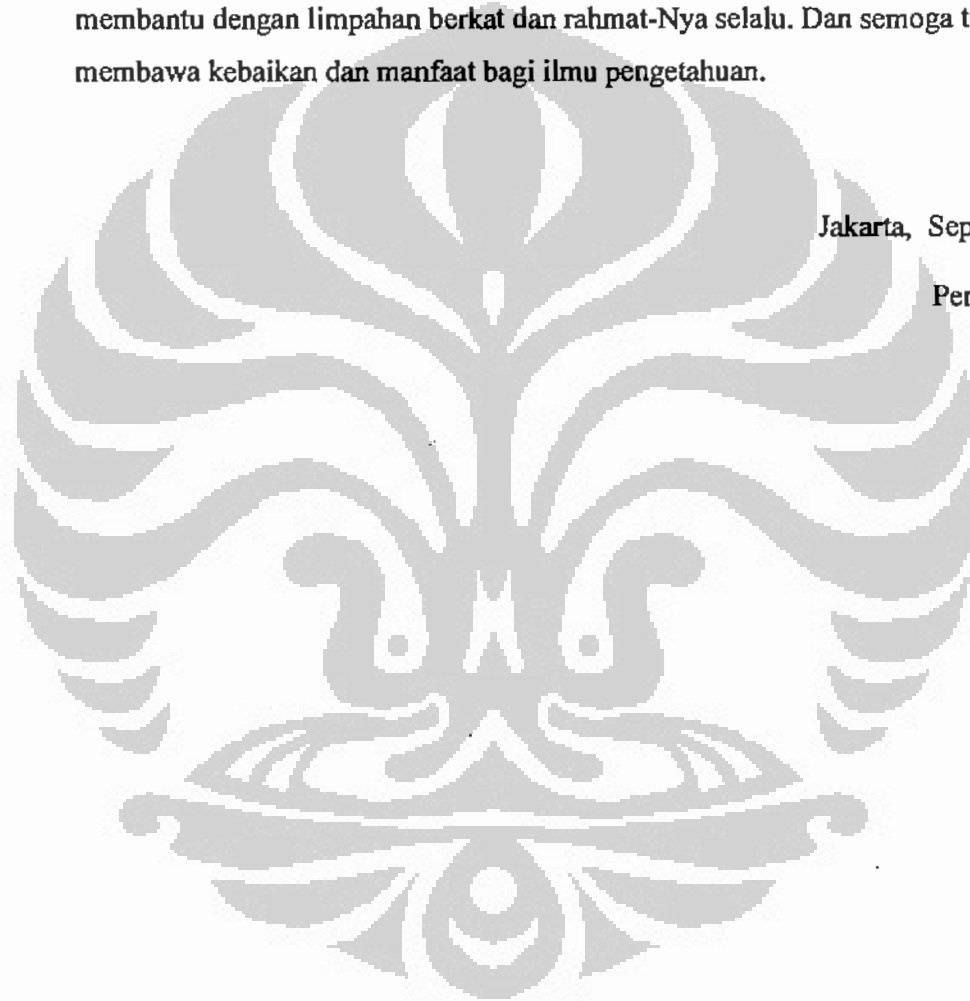
sahabat dan semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang selalu mendukung dan memotivasi selama menjalankan pendidikan.

Akhirnya, terima kasih yang setinggi-tingginya penulis haturkan kepada suami tercinta, Kombes. Pol. Drs. Arief Sulistyanto, Msi, atas segala dukungan, pengertian, dan bantuan moril materiil sejak memulai pendidikan hingga tesis ini diselesaikan, kepada kedua anakku tercinta Bhredipta Cresti Socarana dan Bhawika Tanggwa Prabhattama atas bantuan, pengertian dan dorongan semangatnya, dan kepada mama tercinta ibu Hj Heriana atas dorongan motivasinya.

Semoga Allah SWT membalas kebaikan semua pihak yang telah membantu dengan limpahan berkat dan rahmat-Nya selalu. Dan semoga tesis ini dapat membawa kebaikan dan manfaat bagi ilmu pengetahuan.

Jakarta, September 2009

Penulis



## ABSTRAK

**Nama** : Niken Manohara  
**Program studi** : Ilmu Gizi, Kekhususan Ilmu Gizi Klinik  
**Judul** : Efek pemberian jus anggur terhadap kadar kolesterol LDL subyek dengan kolesterol total batas tinggi

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian jus anggur 300 gram per hari selama dua minggu terhadap kadar kolesterol LDL laki-laki dan perempuan dengan kolesterol total batas tinggi. Penelitian ini merupakan uji klinik paralel, membandingkan 18 orang dalam kelompok yang mendapat jus anggur disertai penyuluhan gizi dengan 17 orang dalam kelompok yang hanya mendapat penyuluhan gizi. Subyek yang memenuhi kriteria penelitian dibagi menjadi dua kelompok dengan randomisasi sederhana. Data yang diambil meliputi usia, jenis kelamin, tingkat pendidikan, indeks massa tubuh (IMT), aktivitas fisik, riwayat hiperkolesterolemia, asupan energi, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol. Pemeriksaan IMT, asupan energi, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol serta kolesterol LDL dilakukan pada awal, selama, dan akhir perlakuan. Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji t tidak berpasangan dan Mann Whitney dengan batas kemaknaan 5%. Sebanyak 18 orang kelompok P dan 14 orang kelompok K dengan usia 25-44 tahun dapat mengikuti penelitian secara lengkap. Indeks aktivitas fisik rata-rata subyek kedua kelompok termasuk cukup. Data awal menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ( $p > 0,05$ ). Setelah 14 hari perlakuan, diketahui persentase asupan energi subyek terhadap kebutuhan energi total termasuk kategori cukup pada kelompok perlakuan ( $89,1 \pm 21,6\%$ ) dan kurang pada kelompok kontrol ( $78,8 \pm 17,2\%$ ). Asupan lemak kedua kelompok selama perlakuan tergolong cukup. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok. Asupan serat dan kolesterol kedua kelompok selama perlakuan tidak berbeda bermakna. Asupan polifenol lebih tinggi pada kelompok perlakuan 631,9 (594,4-753,4) mg/hari dibandingkan dengan asupan kelompok kontrol 63,1 (4,5-140,4) mg/hari. Pada kedua kelompok didapatkan penurunan kadar kolesterol LDL. Penurunan yang lebih besar terjadi pada kelompok perlakuan, namun tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ) dengan penurunan pada kelompok kontrol. Dengan pemberian 300 gram jus anggur selama dua minggu tidak didapatkan perbedaan bermakna penurunan kolesterol LDL antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

**Kata kunci :**  
kolesterol total, jus anggur, polifenol, kolesterol LDL.

## ABSTRACT

**Name** : Niken Manohara  
**Study Program** : Nutrition, Clinical Nutrition  
**Title** : Effect of grape juice on LDL-cholesterol level  
in borderline total cholesterol subjects

The aim of this study was to investigate the effect of 300 gram per day grape juice for two weeks on LDL-cholesterol levels in borderline total cholesterol of male and female subjects. The study is a parallel randomized clinical trial. The subjects random were divided into two groups using simple randomization. The treatment group was given grape juice and nutrition counseling (n = 18) and the control group received nutrition counseling alone, n=17. Data collected including age, sex, level of education, physical activity, body mass index (BMI), hypercholesterolemic history, intake of energy, fat, fiber, cholesterol, and polyphenol. Laboratory findings of LDL-cholesterol levels and BMI examination were done before and after treatment. Intake of energy, fat, fiber, cholesterol, and polyphenol were examined before, during, and after the treatment. Statistical analysis, was done using unpaired t and Mann Whitney tests with the significant level of 5%. Eighteen subjects, were age 25-44 years old, in the treatment group and fourteen subjects in the control group completed the study. The physical activity index in both groups is categorized as sufficient. The characteristics of the two groups not significantly different at base line ( $p > 0,05$ ). After fourteen days of treatment, all subjects in the treatment group had energy intake meet the requirement of  $89,1 \pm 21,6$  % whereas the control group average did not  $78,8 \pm 17,2$  %. Intake of fat in both groups was sufficient, the control group had above recommended intake. Intake of fiber and cholesterol in both group was not significantly different. The average intake of polyphenol in the treatment group increased significantly higher than in the control group 631,9 (594,4-753,4) and 63,12 (4,5-140,4) mg/day respectively. There was a greater decrease in LDL-cholesterol levels in the treatment group compared to the control group. although not statistically significant ( $p > 0,05$ ). In conclusions, the effects of 300 gram per day grape juice for two weeks decrease LDL-cholesterol the treatment group higher than the control but was not significantly.

**Keywords :**  
total cholesterol, grape juice, polyphenol, LDL-cholesterol level.



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iii
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
ABSTRAK .....	vii
<i>ABSTRACT</i> .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiii
1. PENDAHULUAN .....	
1.1. Latar belakang .....	1
1.2. Permasalahan .....	2
1.3. Hipotesis penelitian .....	3
1.4. Tujuan penelitian .....	3
1.5. Manfaat penelitian .....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1. Anggur .....	5
2.2. Polifenol .....	6
2.3. Hiperkolesterolemia .....	14
2.4. Efek pemberian jus anggur terhadap perubahan kadar kolesterol LDL .....	21
2.5. Kerangka teori .....	24
2.6. Kerangka konsep .....	25
3. METODE PENELITIAN .....	26
3.1. Rancangan penelitian .....	26
3.2. Tempat dan waktu penelitian .....	26
3.3. Bahan penelitian .....	26
3.4. Asupan makanan yang diberikan .....	28
3.5. Instrumen pengumpulan data .....	29
3.6. Cara kerja .....	30
3.7. Identifikasi variabel .....	35
3.8. Manajemen dan analisis data .....	36
3.9. Batasan operasional .....	37
3.10. Kerangka operasional .....	43
4. HASIL PENELITIAN .....	44
4.1. Seleksi subyek penelitian .....	44
4.2. Karakteristik Demografi .....	45
4.3. Asupan Energi, Lemak, Serat, Kolesterol, dan Polifenol .....	46

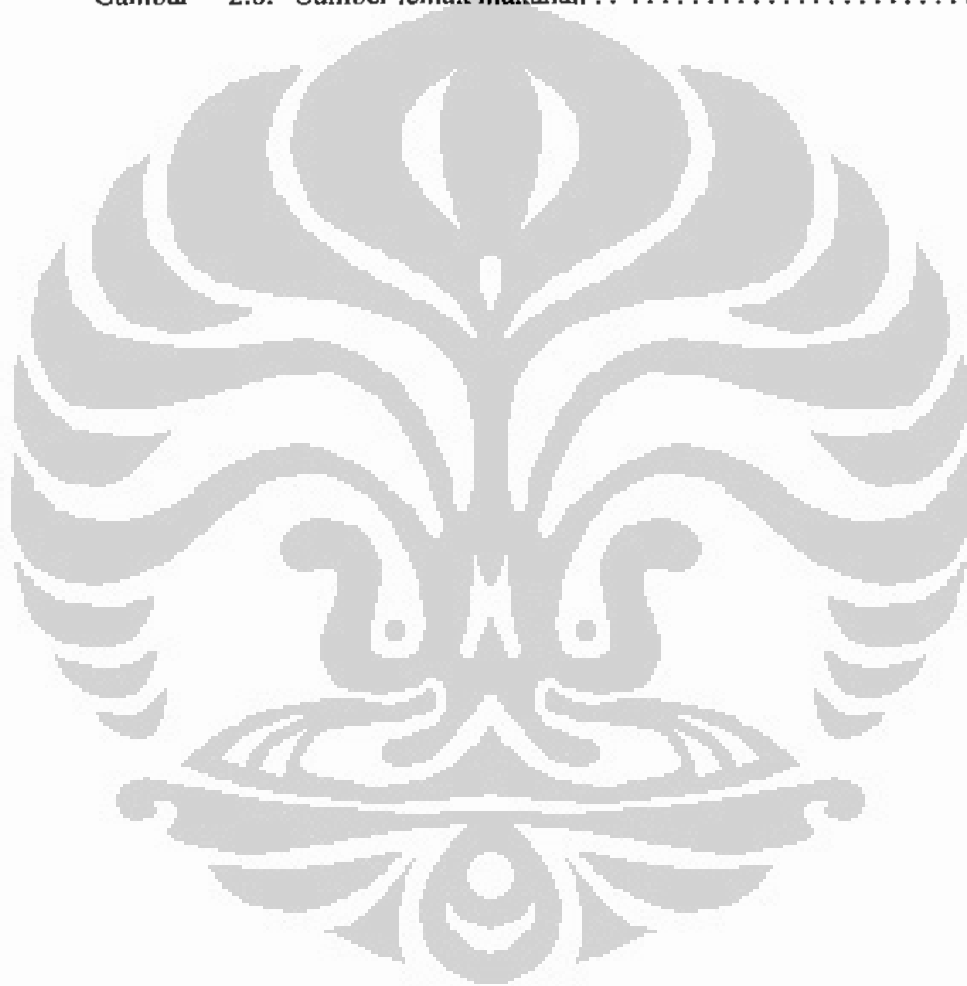
4.4. Indeks Massa Tubuh .....	48
4.5. Kadar Kolesterol LDL .....	48
4.6. Penyuluhan .....	50
5. PEMBAHASAN .....	51
5.1. Keterbatasan Penelitian .....	51
5.2. Seleksi Subyek Penelitian .....	53
5.3. Karakteristik Demografi dan Asupan Sebelum Perlakuan .....	54
5.4. Asupan Energi dan Zat Gizi .....	56
5.5. Indeks Massa Tubuh .....	60
5.6. Penyuluhan .....	60
5.7. Kadar Kolesterol LDL .....	61
5.8. Keunggulan Penelitian .....	62
6. RINGKASAN, SIMPULAN, SARAN .....	63
6.1. Ringkasan .....	63
6.2. Simpulan .....	64
6.3. Saran .....	65
<i>SUMMARY, CONCLUSIONS, AND RECOMMENDATIONS</i> .....	66
DAFTAR REFERENSI .....	68
<i>MANUSCRIPT</i> .....	72
LAMPIRAN-LAMPIRAN .....	78

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Kandungan nutrisi 100 gram anggur segar .....	6
Tabel 2.2. Kandungan polifenol dalam buah segar .....	9
Tabel 2.3. Kandungan Polifenol dalam sayur segar .....	10
Tabel 2.4. Lipoprotein darah .....	15
Tabel 2.5. Klasifikasi berdasarkan kadar kolesterol .....	18
Tabel 2.6. Komposisi nutrisi diet TLC .....	21
Tabel 2.7. Kandungan polifenol sebelum dan sesudah suplementasi .....	22
Tabel 2.8. Profil LDL kolesterol sebelum dan sesudah suplementasi .....	22
Tabel 2.9. LDL <i>lag time</i> sebelum dan sesudah suplementasi .....	23
Tabel 2.10. LDL teroksidasi sebelum dan sesudah suplementasi .....	23
Tabel 3.1. Klasifikasi status gizi dewasa Asia Pasifik .....	38
Tabel 3.2. Klasifikasi asupan energi .....	39
Tabel 3.3. Interpretasi Indeks Aktivitas Fisik .....	42
Tabel 4.1. Karakteristik Demografi .....	45
Tabel 4.2. Asupan Energi, Lemak, Serat, Kolesterol, dan Polifenol sebelum perlakuan .....	46
Tabel 4.3. Asupan Energi, Lemak, Serat, Kolesterol, dan Polifenol berdasarkan <i>Food Record</i> dan <i>Food Recall</i> 2 x 24 jam sebelum perlakuan .....	46
Tabel 4.4. Asupan Energi dan Persentase, Lemak, Serat, Kolesterol, dan Polifenol	47
Tabel 4.5. Indeks Massa Tubuh .....	48
Tabel 4.6. IMT dan Nilai Kemaknaan .....	48
Tabel 4.7. Sebaran Subyek Berdasarkan Kadar Kolesterol LDL H-0 .....	49
Tabel 4.8. Sebaran Subyek Berdasarkan Kadar Kolesterol LDL H-15 .....	49
Tabel 4.9. Kadar Kolesterol LDL .....	49
Tabel 4.10. Sebaran Variabel Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol .....	50

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	2.1. Beberapa polifenol flavonoid .....	7
Gambar	2.2. Beberapa polifenol non flavonoid .....	7
Gambar	2.3. Jalur Polifenol dalam tubuh .....	11
Gambar	2.4. Metabolisme Polifenol .....	12
Gambar	2.5. Proses endositosis kolesterol LDL .....	16
Gambar	2.6. Struktur reseptor LDL .....	17
Gambar	2.7. Patogenesis aterosklerosis .....	19
Gambar	2.8. Sumber lemak makanan ..	20



## DAFTAR SINGKATAN

BB	: Berat Badan
CBG	: <i>Cytocolik <math>\beta</math> Glukosidase</i>
COMT	: <i>Catechol-O-methyltransferase</i>
FFQ	: <i>Food Frequency Questionnaire</i>
IAF	: Indeks Aktivitas Fisik
IMT	: Indeks Massa Tubuh
HPLC	: <i>High Performonce Liquid Chromatography</i>
KET	: Kebutuhan Energi Total
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LPH	: <i>Lactase Phlorizin Hydrolase</i>
Mabes	: Markas Besar
MUFA	: <i>Mono Unsaturated Fatty Acid</i>
NCEP ATP	: <i>National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel</i>
PERKENI	: Perkumpulan Endokrinologi Indonesia
PNS	: Pegawai Negeri Sipil
Polri	: Kepolisian Republik Indonesia
PUFA	: <i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
Pusdokkes	: Pusat Kedokteran Kesehatan
RCT	: <i>Randomized Controlled Trial</i>
RDA	: <i>Recommended Dietary Allowance</i>
SAFA	: <i>Saturated Fatty Acid</i>
SKRT	: Survey Kesehatan Rumah Tangga
SPSS	: <i>Statistical Program for Social Science</i>
SULT	: <i>Sulfotransferase</i>
TB	: Tinggi Badan
TEE	: <i>Total Energy Expenditure</i>
TLC	: <i>Therapeutic Lifestyle Changes</i>
UDPGT	: <i>UDP glucoronosyl transferase</i>
URT	: Ukuran Rumah Tangga

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Hiperkolesterolemia merupakan salah satu faktor risiko penyakit kardiovaskuler.<sup>1</sup> Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2004 menunjukkan prevalensi hiperkolesterolemia pada kelompok usia 25-34 tahun dan 35-44 tahun, masing-masing 9,3% dan 10,8% dan meningkat sesuai dengan pertambahan usia. Prevalensi tertinggi terdapat pada kelompok usia 55-64 tahun, yaitu 15,5%. Ditemukan lebih banyak pada perempuan yaitu 14,5% dibandingkan dengan laki-laki 8,6%.<sup>2</sup>

Hiperkolesterolemia adalah keadaan yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol LDL ( $\geq 130$  mg/dL), yang bila berlanjut dapat mengakibatkan penumpukan kolesterol LDL pada dinding arteri, menimbulkan *fatty streak* dan dapat mengalami oksidasi sehingga memicu terjadinya aterosklerosis. Kolesterol LDL adalah bagian terbesar dari kolesterol total, dan penurunan 10% kolesterol total dapat menurunkan risiko penyakit kardiovaskuler 30%. Kolesterol total batas tinggi (200-239 mg/dL) adalah perlu diwaspadai. Kolesterol LDL yang merupakan 60%-70% dari kolesterol total, adalah kolesterol yang paling berperan pada terjadinya penyakit kardiovaskuler<sup>3</sup> sehingga kadar kolesterol LDL batas tinggi (130-159 mg/dL) merupakan keadaan yang harus diwaspadai.<sup>4</sup> Hal ini dapat dicegah dengan perbaikan gaya hidup, salah satunya adalah pengaturan pola makan.<sup>5</sup> Makanan berpengaruh terhadap patogenesis penyakit jantung koroner dalam berbagai cara. Terjadinya *fatty streak* dipengaruhi oleh kadar lipid serum yang teroksidasi oleh radikal bebas dalam jumlah besar dan hal ini dimodifikasi oleh makanan.<sup>6</sup>

Beberapa makanan memiliki kandungan antioksidan yang dapat meneegah oksidasi kolesterol LDL oleh radikal bebas. Salah satu senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah polifenol,<sup>7</sup> yang digunakan sebagai pencegahan terhadap penyakit degeneratif<sup>8</sup> karena kemampuannya melindungi kolesterol LDL dari kemungkinan mengalami oksidasi.<sup>9</sup> Polifenol banyak terdapat pada tanaman salah satunya buah anggur.<sup>10</sup> Buah ini kaya berbagai senyawa polifenol<sup>11</sup> yang bekerjasama saling mempengaruhi di antara subklas-subklas dibawahnya, yaitu flavonoid dan non flavonoid.<sup>12</sup>

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui peran polifenol pada pengobatan hiperkolesterolemia. Castilla dkk<sup>9</sup> melakukan penelitian pada 38 subyek yang terdiri dari pasien hemodialisis dengan hiperkolesterolemia dan subyek sehat, dengan memberikan suplementasi jus anggur 100 mL pada kedua kelompok. Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan kadar kolesterol total dan LDL yang bermakna setelah mengonsumsi selama 14 hari. Penelitian Byrne dkk<sup>13</sup> pada 36 subyek sehat menunjukkan pemberian jus anggur 10 mL/kg BB/hari selama dua minggu dapat menurunkan LDL teroksidasi secara signifikan tetapi tidak terjadi penurunan signifikan pada LDL kolesterol. Preuss dkk,<sup>14</sup> melakukan penelitian pada 40 pasien hiperkolesterolemia dengan memberikan kromium dan ekstrak biji anggur selama delapan minggu dan mendapatkan penurunan kolesterol total dan LDL yang bermakna.

Untuk mengetahui manfaat anggur yang mengandung polifenol pada hiperkolesterolemia dilakukan penelitian uji klinik pada anggota Polri dan PNS beserta pasangannya yang tinggal di asrama Polri Cipinang dengan kadar kolesterol total batas tinggi. Penelitian membandingkan dua kelompok yaitu kelompok perlakuan yang mendapat jus anggur dari 300 gram buah anggur segar disertai penyuluhan *therapeutic lifestyle changes* (TLC) dengan kelompok kontrol yang hanya mendapat penyuluhan TLC, selama dua minggu. Parameter yang dinilai adalah kadar kolesterol LDL.

## **1.2. Permasalahan**

### **1.2.1. Identifikasi Masalah**

- Prevalensi hiperkolesterolemia yang cukup tinggi di masyarakat dan meningkat sesuai dengan pertambahan usia.
- Hiperkolesterolemia merupakan faktor risiko penyakit kardiovaskuler.
- Buah anggur yang mengandung polifenol dapat menurunkan kadar kolesterol LDL.

**1.2.2. Rumusan Masalah**

Apakah pemberian jus anggur dari 300 gram buah anggur segar satu kali per hari selama dua minggu disertai penyuluhan TLC pada anggota Polri dan PNS beserta pasangannya di asrama Polri Cipinang dengan kadar kolesterol total batas tinggi, dapat menurunkan kadar kolesterol LDL secara bermakna dibandingkan dengan yang hanya mendapat penyuluhan gizi dan tidak mendapat jus anggur?

**1.3. Hipotesis Penelitian**

Pemberian jus anggur dari 300 gram buah anggur segar per hari dengan penyuluhan TLC selama dua minggu pada anggota Polri dan PNS beserta pasangannya di asrama Polri Cipinang dengan kadar kolesterol total batas tinggi, dapat menurunkan kadar kolesterol LDL plasma secara bermakna dibandingkan dengan yang hanya mendapat penyuluhan saja.

**1.4. Tujuan Penelitian**

**Tujuan umum**

Menurunkan risiko penyakit kardiovaskuler dengan mencegah timbulnya hiperkolesterolemia.

**Tujuan khusus**

1. Diketuainya sebaran karakteristik subyek penelitian berdasarkan usia, jenis kelamin, tingkat pendidikan, indeks massa tubuh (IMT), aktivitas fisik, dan riwayat hiperkolesterolemia dalam keluarga sebelum perlakuan.
2. Diketuainya sebaran asupan kalori, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol sebelum perlakuan dengan metode *food recall* 2 x 24 jam.
3. Diketuainya sebaran asupan kalori, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol sebelum perlakuan dan selama perlakuan dengan metode *food record* (dua kali setiap minggu).
4. Diketuainya indeks massa tubuh (IMT) subyek sebelum dan sesudah perlakuan kedua kelompok.
5. Diketuainya perbedaan kadar kolesterol LDL sebelum dan sesudah perlakuan pada kedua kelompok



## **1.5. Manfaat Penelitian**

### **1.5.1. Manfaat bagi subyek penelitian**

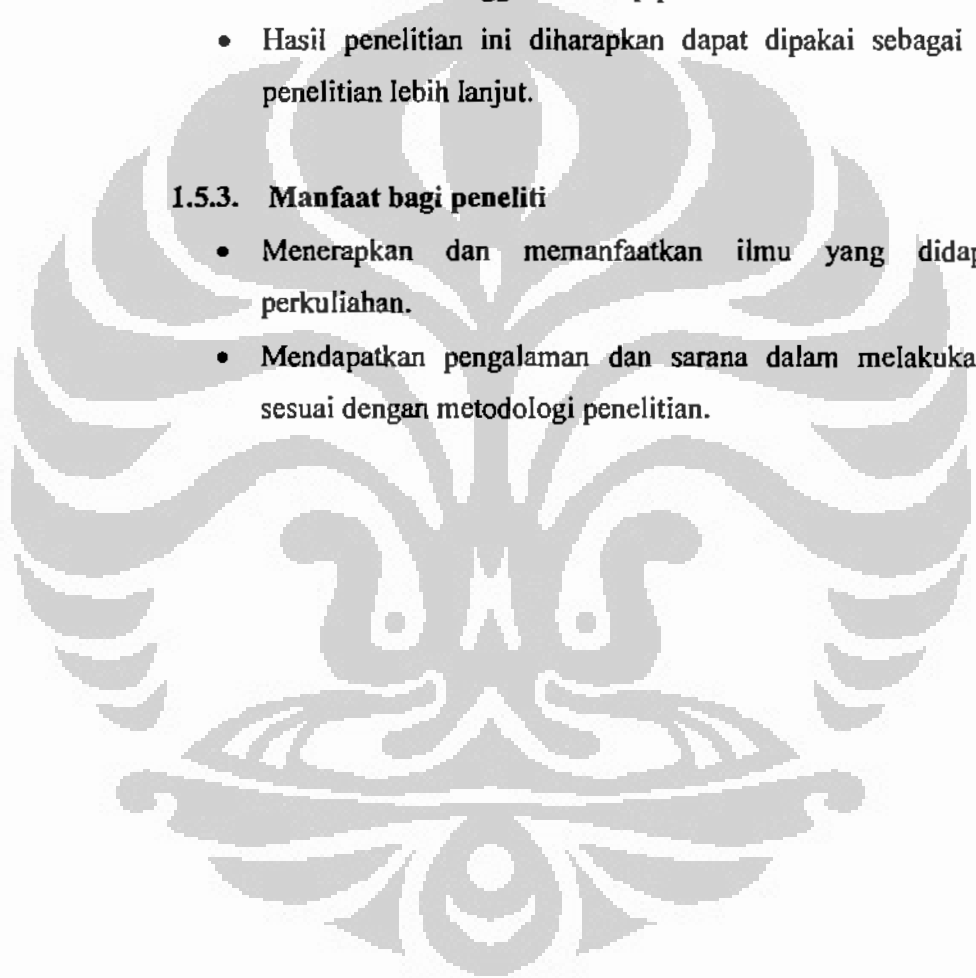
Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi dan pengetahuan yang benar tentang pengaruh bahan makanan yang mengandung polifenol dalam memperbaiki kadar kolesterol LDL sehingga dapat mencegah terjadinya penyakit jantung koroner.

### **1.5.2. Manfaat bagi institusi**

- Penelitian ini diharapkan dapat memberikan penjelasan mengenai efek konsumsi buah anggur terhadap penurunan kadar kolesterol LDL.
- Hasil penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut.

### **1.5.3. Manfaat bagi peneliti**

- Menerapkan dan memanfaatkan ilmu yang didapat semasa perkuliahan.
- Mendapatkan pengalaman dan sarana dalam melakukan penelitian sesuai dengan metodologi penelitian.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Anggur

Anggur adalah buah yang termasuk dalam famili *vitacea* dan genus *vitis* dengan daging buahnya yang asam manis dan kandungan airnya yang banyak. Buah ini memiliki khasiat dan manfaat yang baik bagi kesehatan karena banyak mengandung zat antioksidan. Buah ini terasa agak asam karena kandungan asam maleat dan asam sitrat, serta manis karena kandungan glukosa dan fruktosanya. Anggur dapat disajikan sebagai buah segar, atau dalam bentuk produk olahan seperti *wine*, jus, sari buah, dan kismis.<sup>15</sup>

##### 2.1.1. Kandungan nutrien dan non nutrien

Buah anggur memiliki kandungan gizi yang tinggi dan terdiri dari berbagai macam nutrien seperti vitamin, mineral, serat,<sup>15</sup> dan polifenol (kandungan polifenol dominan dibanding antioksidan lain sebesar 195,5 mg/100 g) (tabel 2.1).<sup>10</sup> Polifenol pada anggur meliputi flavonoid dan non flavonoid. Jenis anggur merah memiliki kandungan polifenol tertinggi dibanding jenis anggur lainnya dengan batas terendah 36,1 mg/100 gram sampai tertinggi 275,5 mg/100 gram anggur segar. Kandungan polifenol jenis anggur merah dapat dua kali lebih besar daripada jenis anggur hijau.<sup>10</sup> Kulit anggur memiliki kandungan non flavonoid lebih tinggi daripada flavonoid sedangkan biji anggur memiliki kandungan flavonoid lebih tinggi dari pada non flavonoid.<sup>7,8</sup> Penelitian kandungan polifenol pada kulit anggur dilakukan pada tujuh macam anggur segar, yaitu jenis anggur merah *Red Globe*, *Flame seedless*, *Crimson*, *Napoleon*, dan jenis anggur hijau *Superior seedless*, *Dominga* dan *Moscatel Italia*, dan diketahui kandungan polifenol bervariasi antara 52 mg/kg (*Dominga*) sampai 361 mg/kg (*Flame seedless*). Jenis anggur merah memiliki kandungan polifenol 69 mg/kg (*Crimson*) sampai 361 mg/kg (*Flame seedless*), sedang anggur hijau memiliki kandungan 52 mg/kg sampai 81 mg/kg. Konsumsi anggur segar 300 gram tanpa dikupas mengandung 108 mg polifenol (*Flame seedless*) tanpa menghitung kandungan polifenol pada biji anggur.<sup>11</sup>

Tabel 2.1. Kandungan Nutrien 100 Gram Anggur Segar

Nutrien	Kandungan dalam 100 gram
Energi	70 kkal
Protein	0,72 g
Karbohidrat	18,10 g
Lemak	0,16 g
Serat	0,90 g
Gula	15,48 g
Kalsium	10 mg
Besi	0,36 mg
Magnesium	7 mg
Fosfor	20 mg
Kalium	191 mg
Natrium	2 mg
Seng	0,07 mg
Tembaga	0,13 mg
Mangan	0,07 mg
Selenium	0,20 mg
Vitamin C	10,8 mg
Thiamin	0,07 mg
Riboflavin	0,07 mg
Niacin	0,19 mg
Vitamin B6	0,09 mg
Asam Folat	2 µg
Vitamin A	66 IU
Vitamin E	0,19 mg
Vitamin K	14,6 µg
Beta karoten	39 µg
Polifenol	195,5 mg

Sumber: telah diolah kembali dari Brat dkk<sup>10</sup> dan Wijaya<sup>15</sup>

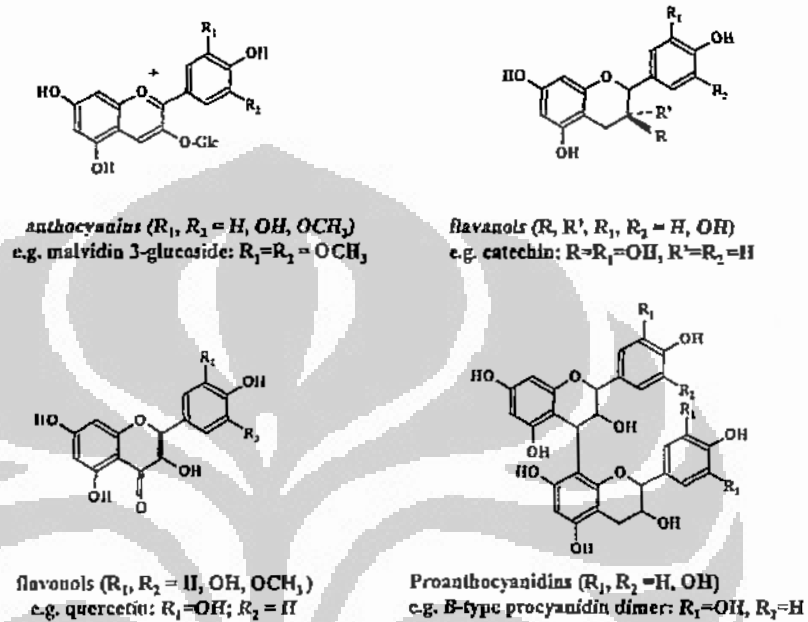
## 2.2. Polifenol

### 2.2.1. Definisi dan klasifikasi

Polifenol termasuk golongan makanan fitokimia. Senyawa ini banyak terdapat pada bahan makanan sumber tumbuhan, dan memberikan manfaat kesehatan yang tinggi bila dikonsumsi dalam diet sehari-hari. Polifenol memberikan pengaruh terhadap warna dan rasa bahan makanan sumber. Banyak penelitian dilakukan terhadap polifenol, baik keberadaannya pada makanan dari tumbuhan dan efeknya terhadap kualitas makanan, tetapi tinjauan tentang polifenol secara lengkap dalam tumbuhan masih sangat sedikit karena penelitian lebih menitikberatkan pada klasifikasi derivatnya yang dapat

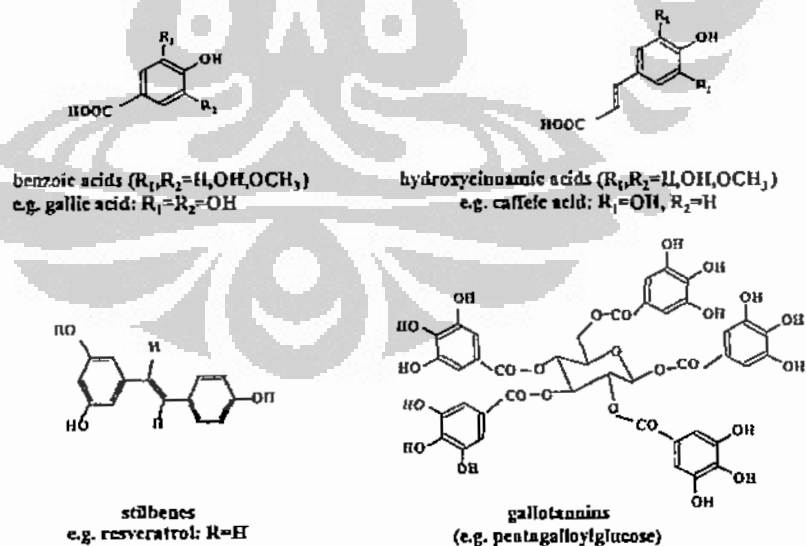
dipisahkan dan diuji dengan HPLC dan mengabaikan polimernya yang tidak mudah dideterminasi.<sup>7</sup>

Polifenol terdiri atas dua subklas besar yaitu flavonoid dan non flavonoid yang bekerja saling melengkapi (gambar 2.1 dan 2.2).<sup>7</sup> Flavonoid antara lain terdiri atas flavonols, flavanols, katekin, antosianin, isoflavon. Non flavonoid antara lain terdiri atas tanin, stilben, lignan.<sup>16</sup>



Gambar 2.1. Beberapa polifenol flavonoid.

Sumber: Cheynier<sup>7</sup>



Gambar 2.2. Beberapa polifenol non flavonoid.

Sumber: Cheynier<sup>7</sup>

### 2.2.2. Sifat fisik dan kimia

Polifenol adalah senyawa yang sangat reaktif dan merupakan substrat yang baik untuk enzim-enzim seperti, peroksidase, glikosidase dan esterase. Interaksi polifenol dalam bahan makanan sumber dengan sejumlah enzim tersebut dapat mengakibatkan terjadinya reaksi kimia.<sup>7</sup> Hal ini dapat dipengaruhi oleh banyak faktor seperti kondisi pertumbuhan, pengolahan (termasuk fermentasi dan pemasakan), kematangan, dan penyimpanan. Senyawa ini memiliki ketidakstabilan yang tinggi dan mudah berubah menjadi varian yang lain ketika sel tanaman bahan makanan sumber rusak.<sup>16</sup> Sehingga dikatakan komposisi polifenol pada makanan tergantung jenis sumber asal yang digunakan, proses pengolahan, penyimpanan, reaksi kimia dan biokimia polifenol tersebut.<sup>7</sup>

Polifenol makanan terdapat dalam variasi struktur yang besar dengan struktur dasar sama yaitu adanya gugus fenol,<sup>17</sup> dari struktur monomer, oligomer sampai polimer. Struktur polifenol bervariasi karena perbedaan struktur rangka karbon, status oksidasi heterosiklik serta variasi hidroksilasi cincin fenol yaitu  $\beta$  glikosilasi flavonoid, asilasi asam fenolik, dan eksistensi stereoisomer yang lain.<sup>12</sup>

### 2.2.3. Bahan makanan sumber

Polifenol terdapat banyak di alam, dapat ditemukan pada buah, sayuran, coklat, kopi, teh, *wine* dan jus anggur.<sup>10,18</sup> Kandungan polifenol yang tinggi terutama terdapat dalam sayuran dan buah, dan tetap terjaga bila dikonsumsi dalam keadaan segar. Stroberi, leci, anggur, aprikot dan apel adalah buah dengan kandungan tinggi polifenol. *Artichoke heart*, peterseli, *brussels sprout* dan bawang merah adalah sayur dengan kandungan tinggi polifenol (tabel 2.2 dan tabel 2.3).<sup>10</sup>

Tabel 2.2. Kandungan Polifenol Dalam Buah Segar

Ranking	Nama buah	Kandungan Polifenol mg/100g
1	Stroberi	263,8
2	Leci	222,3
3	Anggur	195,5
4	Aprikot	179,8
5	Apel	179,1
6	Korma	99,3
7	Ceri	92,5
8	Buah ara	69,2
9	Pir	72,7
10	<i>Nectarine</i> putih	71,8
11	Markisa	68,1
12	Mangga	59,3
13	<i>Peach</i> kuning	51,5
14	Pisang	47,2
15	Nanas	45,0
16	Jeruk kuning	44,2
17	Persik	44,2
18	Jeruk besar	43,5
19	Jeruk orange	31,0
20	Jeruk nipis	30,6
21	Jeruk limau	30,6
22	Kiwi	28,1
23	Semangka	11,6
24	Melon	7,8

Sumber: Brat dkk<sup>10</sup>

Kandungan polifenol dalam beraneka ragam sayuran segar seperti tertera pada tabel berikut.

Tabel 2.3. Kandungan Polifenol Dalam Sayuran Segar

Ranking	Nama Sayur	Kandungan Polifenol mg/100g
1	<i>Artichoke heart</i>	321,3
2	Peterseli	280,2
3	<i>Brussels sprout</i>	257,1
4	Bawang merah	104,1
5	Brokoli	98,9
6	Seledri	84,7
7	Bawang bombay	76,1
8	Asparagus	14,5
9	Terong	65,6
10	Bawang putih	59,4
11	Lobak	54,7
12	<i>Celeriac</i>	39,8
13	Bawang putih tunggal	38,4
14	Kacang polong	36,7
15	Bawang prei	32,7
16	Kubis merah	26,8
17	Tomat ceri	26,4
18	Kentang	23,1
19	<i>Zucchini</i>	18,8
20	Sayuran hijau	18,2
21	Selada	14,7
22	Tomat	13,7
23	Biji adas	13,0
24	Kubis	12,5
25	Wortel	10,1
26	Kacang-kacangan	10,0
27	Alpukat	3,6

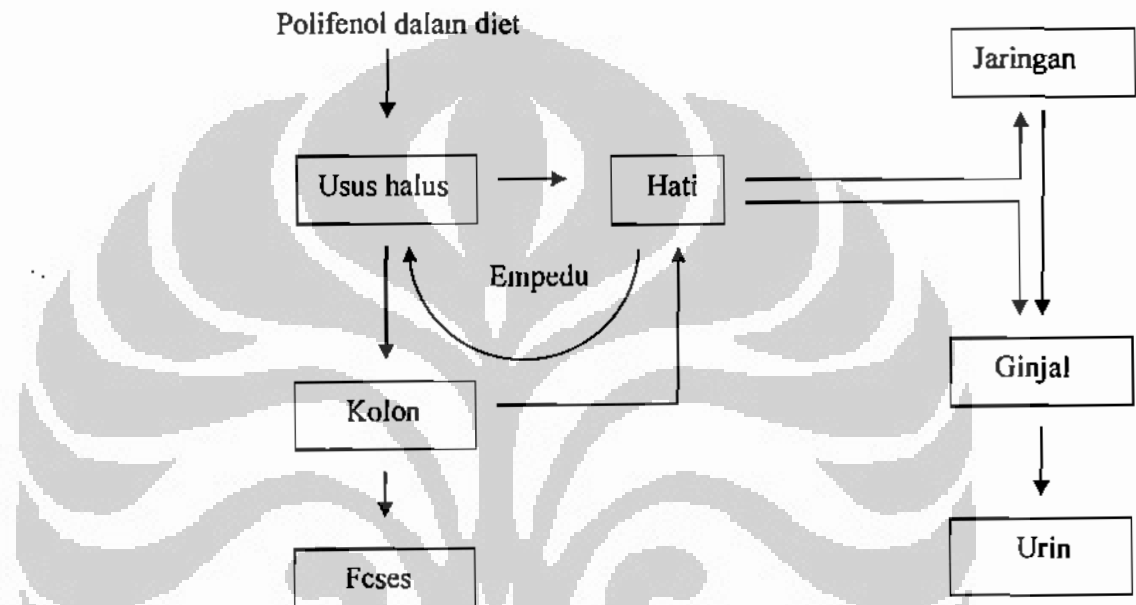
Sumber: Brat dkk<sup>10</sup>

#### 2.2.4. Bioavailabilitas dan metabolisme polifenol

Polifenol terdapat dalam bentuk kimia yang bervariasi yang akan menentukan absorpsinya dalam pencernaan. Polifenol dalam diet terdapat dalam bentuk terkonjugasi yang setelah dikonsumsi ikatan gula pada polifenol akan terkonjugasi, misalnya konjugasi dengan glikosida, dan akan mengalami hidrolisis dengan sel usus dan mikroflora di kolon. Proses hidrolisis dikatalisis oleh enzim *cytocolic  $\beta$  glukosidase* (CBG) atau *laktase phlorizin hydrolase* (LPH). Polifenol bentuk bebas, aglikon, diabsorpsi oleh sel usus halus secara difusi pasif, sedangkan polifenol yang tidak dapat diabsorpsi, masih dalam

bentuk terkonjugasi, akan menuju kolon dan oleh mikroflora kolon dihidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti asam fenolik.<sup>12</sup>

Polifenol yang telah mengalami konjugasi di hati akan masuk sirkulasi dan disebarkan di jaringan, namun sebagian akan diekskresi bersama empedu ke kolon, kemudian bersama dengan polifenol hasil hidrolisis mikroflora usus akan masuk ke dalam siklus enterohepatik. Sisa metabolisme polifenol kemudian akan diekskresi melalui urin dan feses dalam bentuk terkonjugasi (Gambar 2.3).<sup>12</sup>

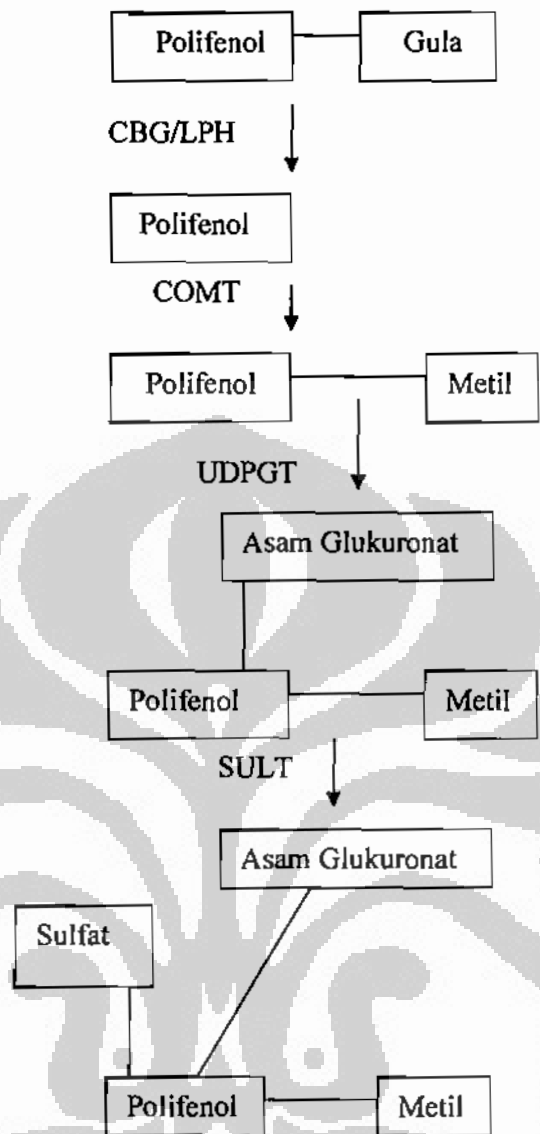


Gambar 2.3. Jalur polifenol dalam tubuh

Sumber: Scalbert dkk<sup>12</sup>

Polifenol dalam usus akan mengalami konjugasi dengan metil, gugus sulfat dan glukuronid, kemudian masuk vena porta menuju hati. Proses konjugasi tersebut dikatalisis oleh berbagai macam enzim tergantung senyawa konjugasinya, proses konjugasi dengan metil dikatalisis oleh enzim *catechol-O-methyltransferase* (COMT), dengan asam glukuronat dikatalisis oleh enzim *UDP glucuronosyl transferase* (UDPGT, UGT), dan dengan sulfat dikatalisis oleh enzim *sulfotransferase* (SULT) (Gambar 2.4).<sup>8,12</sup>





Gambar 2.4. Metabolisme Polifenol

Sumber: Scalbert dkk<sup>12</sup>

Konsumsi bahan makanan yang mengandung polifenol dalam jumlah sesuai diet sehari-hari, sekitar 10 -100 mg sekali konsumsi, kadar polifenol yang terdeteksi di plasma kurang dari 1 µmol, dan konsentrasi maksimal di plasma akan terjadi setelah satu sampai dua jam pasca konsumsi,<sup>8</sup> sumber lain menyebutkan kadar polifenol mulai dapat dideteksi di plasma 1 jam setelah konsumsi dan jumlah yang meningkat tinggi biasanya didapat setelah tiga atau empat jam konsumsi.<sup>12</sup> Ekskresi polifenol di urin ditemukan dalam bentuk terkonjugasi, terjadi dalam 24 jam pasca konsumsi, sebesar 0,3 sampai 43%

dari jumlah yang dikonsumsi, dan berefek meningkatkan kapasitas antioksidan di urin.<sup>12</sup> Intake polifenol dosis besar (2 g) dalam 30 menit dapat dideteksi di plasma, dua jam dideteksi dalam bentuk metil katekin, delapan jam 40% katekin di urine telah mengalami metilasi, sulfonasi dan glukuronidasi.<sup>12</sup>

Metabolisme polifenol dosis besar terutama di hati, sementara polifenol dosis kecil metabolisme dapat di mukosa usus dengan hati berperan pada perubahan konjugasi polifenol. Metabolisme polifenol ini meningkatkan kemampuan antioksidannya, kapasitas antioksidan polifenol 500 mg dapat setara dengan vitamin C sebesar 1 gram.<sup>12</sup> Bioavailabilitas polifenol yang berbeda dengan variasi yang besar tergantung dari tipe polifenol di dalam makanan yang dikonsumsi dan bagian yang dilakukan pemeriksaan dalam tubuh.<sup>8</sup> Bentuk asam aromatik yang ditemukan di kolon dapat mengurangi kapasitas antioksidan polifenol.

Kadar polifenol di plasma setelah konsumsi polifenol 500 mg adalah 50 µg. Beberapa jenis polifenol yang diabsorpsi di usus kadarnya di dalam plasma dapat menurun dengan cepat dalam 1-2 jam ataupun lambat sampai 24 jam karena tingginya afinitas dengan plasma albumin. Polifenol yang dapat diserap dengan cepat dan baik adalah jenis isoflavon, asam galat, katekin, flavanon, dan kuersetin, tetapi penyerapan lambat terjadi pada jenis proantosianidin, katekin pada teh, dan antosianidin.<sup>8</sup>

#### 2.2.5. Toksisitas polifenol

Risiko toksisitas akibat mengonsumsi polifenol dosis tinggi dilaporkan rendah, tergantung dari derajat paparan, bentuk dan jenis polifenol. Beberapa bentuk polifenol yaitu yang terdapat di dalam kopi, coklat dan *wine* sebelum dapat diberikan dalam dosis tinggi harus diketahui dahulu kandungan zat lain dalam bahan makanan tersebut. Toksisitas konsumsi polifenol tidak terjadi pada polifenol alamiah atau suplemen bila pemberian polifenol tepat sesuai peruntukannya. Bentuk suplemen sebaiknya tidak diberikan dalam dosis tinggi atau diberikan pada kelompok perempuan hamil dan anak-anak.<sup>19</sup>

### 2.2.6. Mekanisme kerja polifenol dalam menurunkan oksidasi kolesterol LDL

Konsumsi jus anggur secara teratur diyakini dapat menurunkan kejadian penyakit jantung.<sup>20</sup> Hal ini disebabkan polifenol yang diabsorpsi dan berada dalam bentuk senyawa antioksidan utuh, dapat bekerja sebagai antioksidan mengurangi stres oksidatif.<sup>13</sup> Kandungan polifenol yang kompleks di dalam anggur menyebabkan polifenol ini dapat bekerja pada keadaan stres, termasuk keadaan dengan stres oksidatif tinggi dan terpapar oleh toksin.<sup>21</sup> Polifenol mengurangi agregasi platelet dengan cara menghambat pada saat pembentukannya<sup>20</sup> dan menghambat terjadinya oksidasi LDL di dinding pembuluh darah.<sup>9</sup> Struktur kimia dan metabolit polifenol menyebabkan senyawa ini dapat bersifat hidrofilik atau relatif lipofilik dan dapat berinteraksi dengan protein plasma serupa dengan permukaan polar fosfolipid *bilayers* pada lipoprotein dan membran sel, sehingga polifenol memiliki kemampuan melindungi sel dari radikal bebas dalam lingkungan air dan lemak.<sup>13</sup> Hal ini yang menyebabkan polifenol dapat bekerja di dalam darah dengan mempengaruhi profil lipid.<sup>20</sup>

### 2.2.7. Efek samping mengonsumsi jus anggur

Efek samping konsumsi jus anggur berbeda pada setiap individu. Konsumsi jus yang segar dapat menimbulkan gejala gangguan saluran cerna seperti diare, konstipasi, dan gastritis. Jus anggur terfermentasi, bila dikonsumsi dalam dosis tinggi dapat menimbulkan gejala sedasi.<sup>19,22</sup>

## 2.3. Hiperkolesterolemia

### 2.3.1. Kolesterol

Kolesterol dapat dibentuk oleh sebagian besar sel di dalam tubuh, juga dapat diperoleh terutama dari makanan hewani. Tempat utama pembentukan kolesterol adalah di hati dan usus. Berperan menstabilkan bilayer fosfolipid pada membran, dan berfungsi juga sebagai prekursor garam empedu, prekursor hormon steroid yang memiliki banyak fungsi seperti mengatur metabolisme, pertumbuhan dan reproduksi. Kolesterol tidak larut dalam air, sehingga zat ini diangkut dalam darah sebagai komponen lipoprotein darah.<sup>3</sup>

Lipoprotein darah terdiri atas kilomikron, *very low density lipoprotein* (VLDL), *intermediate density lipoprotein* (IDL), *low density lipoprotein* (LDL), *high density lipoprotein* (HDL).<sup>3</sup>

Tabel 2.4. Lipoprotein darah

Jenis lipoprotein	Keterangan
Kilomikron	Dihasilkan dalam sel epitel usus dari lemak makanan Mengangkut triasilgliserol dalam darah
VLDL	Dihasilkan di hati terutama dari karbohidrat makanan Mengangkut triasilgliserol dalam darah dan kolesterol
IDL	Dihasilkan dalam darah (sisa VLDL setelah pencernaan triasilgliserol)
LDL	Mengalami endositosis oleh hati atau diubah menjadi HDL Dihasilkan di dalam darah Mengandung kolesterol dan ester kolesterol dalam konsentrasi tinggi
HDL	Mengalami endositosis oleh hati dan jaringan perifer Dihasilkan di hati dan usus Mempertukarkan protein dan lemak dengan lipoprotein lain Befungsi mengembalikan kolesterol dari jaringan perifer ke hati

Sumber: Lieberman dan Marks<sup>3</sup>

### 2.3.2. Kolesterol LDL

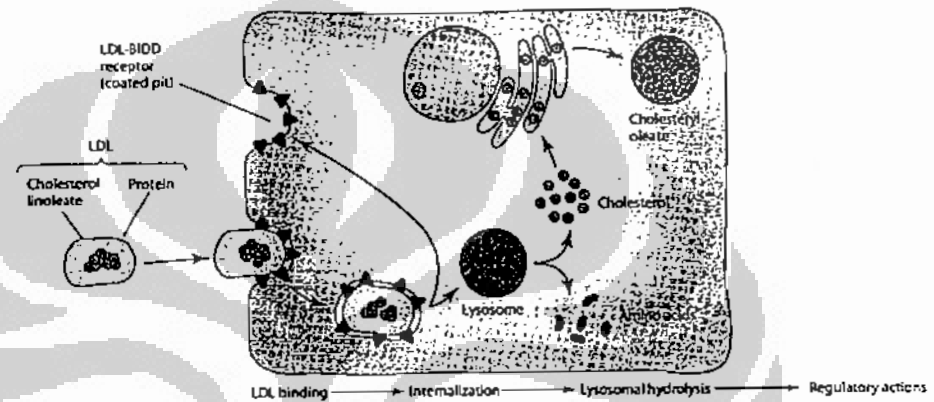
*Low density lipoprotein* (LDL) *cholesterol* adalah lipoprotein terbesar dari kolesterol sekitar 60% dari kolesterol total.<sup>23</sup> Komposisi LDL terdiri dari kolesterol (10%), ester kolesterol (40%), fosfolipid (20%), triasilgliserol (10%), dan protein (20%).<sup>3</sup> Kolesterol LDL lebih atherogenik dari lipoprotein lainnya, merupakan faktor risiko utama terjadinya penyakit kardiovaskuler karena perannya pada proses inisiasi dan progresi dari plak atherosklerotik.<sup>24</sup> Kolesterol LDL diidentifikasi oleh NCEP ATP III sebagai target yang harus diturunkan pada terapi hiperkolesterol baik melalui pengaturan diet ataupun melalui terapi obat.<sup>5</sup>

#### 2.3.2.1. Fungsi kolesterol LDL

Kolesterol LDL mengangkut kolesterol dan protein, berfungsi membawa kolesterol ke jaringan yang akan digunakan untuk membentuk membran atau diubah menjadi metabolit lain seperti hormon steroid. LDL berinteraksi dengan reseptor B-100 pada sel dan mencapai puncaknya saat perpindahan lipoprotein dari sirkulasi.<sup>23</sup>

### 2.3.2.2. Sintesis dan Metabolisme kolesterol LDL

Kolesterol LDL adalah sisa IDL setelah pencernaan triasilgliserol oleh triasilgliserol lipase di hati dan lipoprotein lipase di berbagai jaringan, merupakan produk akhir VLDL. LDL diserap oleh hati melalui proses endositosis yang dibantu oleh reseptor. Pencernaan di lisosom mengembalikan kolesterol LDL ke tempat penyimpanan kolesterol di hati. Endositosis dan pencernaan LDL di lisosom juga berlangsung di jaringan luar hati yang memiliki reseptor LDL (gambar 2.5).<sup>3</sup>



Gambar 2.5. Proses endositosis kolesterol LDL

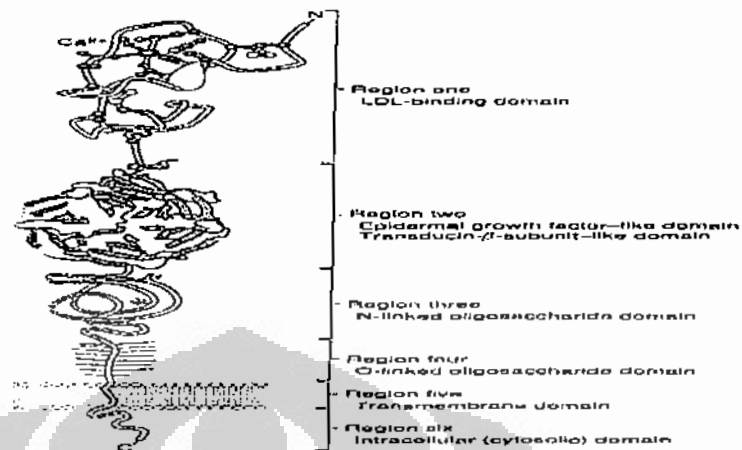
Sumber: Grooper dkk<sup>23</sup>

### 2.3.2.3. Reseptor LDL

Reseptor LDL yang berada pada membran sel, mengikat LDL dan membawanya ke dalam sel melalui proses endositosis. Reseptor ini disintesis di retikulum endoplasma disempurnakan di kompleks Golgi, kemudian berpindah ke permukaan sel untuk berkelompok di lubang yang dilapisi oleh protein klatrin.<sup>3</sup> Setelah reseptor berikatan dengan LDL maka terjadi invaginasi dengan selubung klatrin. Lubang-lubang itu selanjutnya dengan selubung klatrinnya terdisosiasi sehingga menghasilkan endosom. PH bagian dalam endosom menurun akibat kerja pompa proton yang dijalankan dengan ATP di membran endosom.

Penurunan pH menyebabkan lipoprotein terlepas dari reseptornya di endosom. Setelah reseptor melepaskan LDL, reseptor kembali ke permukaan sel dan selanjutnya mengalami keluar masuk sel setiap 10 menit selama 20 jam masa hidupnya. LDL disosiasi akan berpindah ke dalam lisosom,

dimana komponen protein dan kolesterol ester dihidrolisis oleh enzim lisosom menjadi asam amino, asam lemak, dan kolesterol bebas (gambar 2.6).<sup>23</sup>



Gambar 2.6. Struktur reseptor LDL

Sumber: Lieberman dan Marks<sup>3</sup>

### 2.3.3. Definisi dan klasifikasi hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia adalah keadaan dimana terjadi peningkatan kadar LDL kolesterol puasa  $\geq 130$  mg/dL. Hiperkolesterolemia dapat diklasifikasikan sebagai hiperkolesterolemia tingkat ringan, sedang dan berat.<sup>24</sup>

Kadar kolesterol LDL normal dapat dibagi menjadi optimal (100 mg/dL) dan mendekati optimal (100-129 mg/dL). Kadar optimal menggambarkan tingkat risiko yang minimal terjadinya penyakit kardiovaskuler, sedangkan kadar mendekati optimal menggambarkan risiko relatif terhadap terjadinya penyakit kardiovaskuler yang juga tergantung keberadaan faktor risiko lain, seperti asupan zat gizi dan berat badan lebih.<sup>24</sup>

Hiperkolesterolemia ringan (130-159 mg/dL) dapat disebabkan oleh faktor genetik, usia, obesitas yang disertai peningkatan usia, asupan lemak, dan pascamenopause. Hiperkolesterolemia sedang (160-189 mg/dL) umumnya disebabkan hal yang sama seperti hiperkolesterolemia ringan, tetapi sebagian besar dipengaruhi oleh faktor genetik. Hiperkolesterolemia berat (>190 mg/dL) biasanya terjadi akibat adanya mutasi genetik terhadap reseptor LDL, *familial hypercholesterolemia*, dan mutasi lain yaitu defek pada apo B, *familial defective Apo B-100* (Tabel 2.5).<sup>24</sup>

Tabel 2.5. Klasifikasi berdasarkan kadar kolesterol LDL

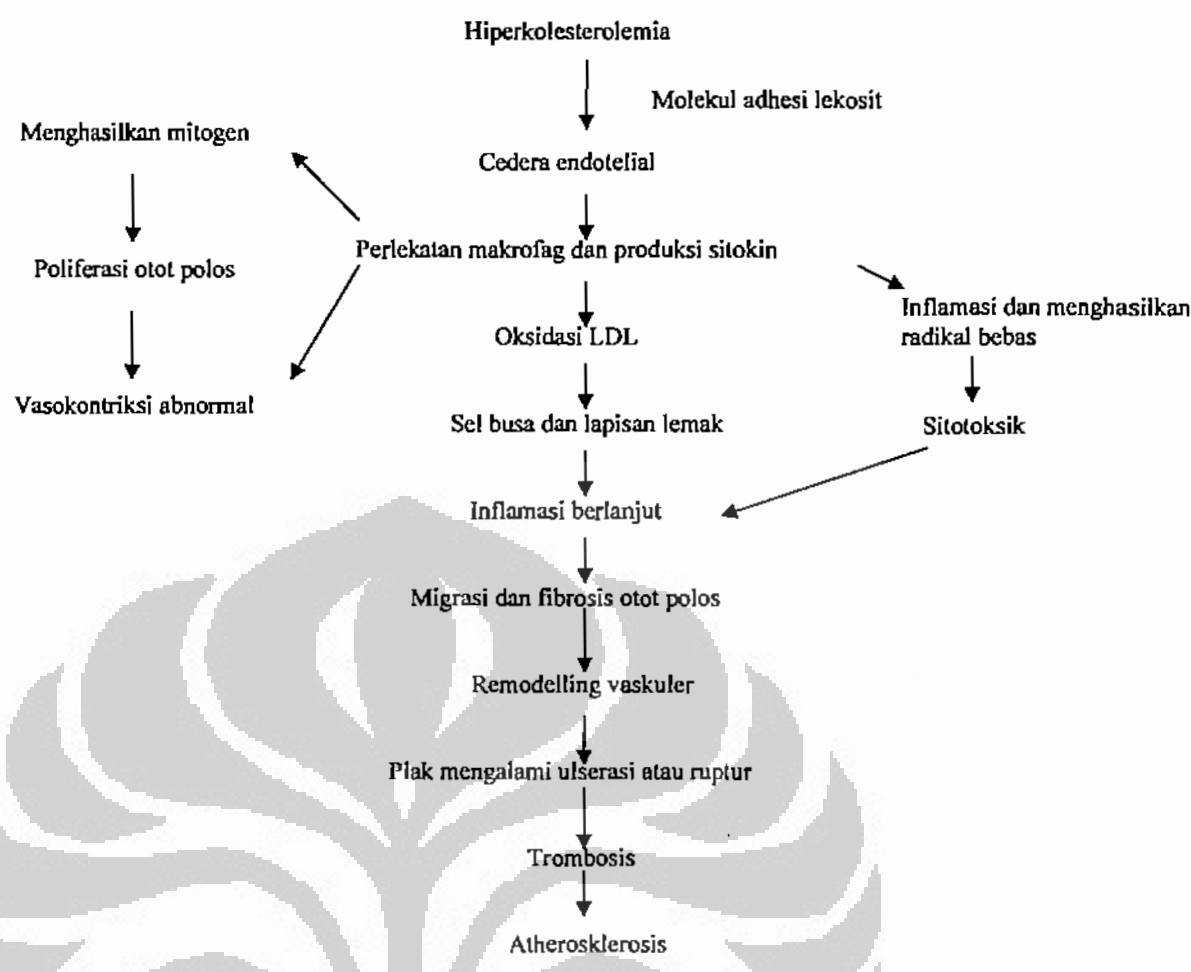
Klasifikasi	LDL kolesterol (mg/dL)	Hiperkolesterolemia
Optimal	< 100	-
Mendekati optimal	100 -129	-
Batas tinggi	130 ~ 159	Ringan
Tinggi	160 ~ 189	Sedang
Sangat tinggi	≥ 190	Berat

Sumber: Grundy<sup>24</sup>

#### 2.3.4. Patogenesis hiperkolesterolemia dan aterosklerosis

Atherosklerosis adalah keadaan kronis yang ditandai dengan penebalan dan pengerasan dinding arteri, yang mengandung deposit lipid dan mengalami kalsifikasi, mengakibatkan obstruksi pembuluh darah, agregasi trombosit, dan vasokonstriksi abnormal, yang semuanya ini dapat menyebabkan penyakit kardiovaskuler. Faktor risiko atherosklerosis ada yang tidak dapat diubah seperti usia, jenis kelamin, etnik, dan genetik, serta yang dapat diubah seperti hiperkolesterolemia, hipertensi, diabetes melitus, aktivitas fisik kurang, obesitas, dan merokok.<sup>5,6</sup>

Hiperkolesterolemia menyebabkan eedera endotelial pembuluh darah yang berlanjut menjadi atherosklerosis. Molekul adhesi leukosit membantu terjadinya penempelan makrofag dan produksi sitokin yang akan menyebabkan oksidasi LDL. Hal ini akan menghasilkan radikal bebas dan menyebabkan terjadinya inflamasi. LDL teroksidasi difagositosis oleh makrofag (sel busa) kemudian dibawa ke dinding pembuluh darah kemudian mengalami akumulasi membentuk *fatty streak* yang menginduksi perubahan imunologis dan inflamasi lebih lanjut sehingga mengakibatkan kerusakan pembuluh darah progresif. Lekosit dan makrofag melepaskan sitokin inflamasi yang menghambat sintesis endotel. Sel otot polos bermigrasi ke daerah yang penuh sel busa sehingga membentuk *fibrous plaque* terjadi remodelling pembuluh darah dengan adanya kalsifikasi dan fibrosis, apoptosis dan nekrosis lesi, penebalan dinding dan penonjolan ke dalam lumen pembuluh darah. Plak yang berkembang akan mengalami ulserasi atau ruptur dan trombosit akan beragregasi dan melekat pada permukaan plak yang ruptur tersebut sehingga terbentuk trombus yang mengobstruksi lumen pembuluh darah tersebut. Pelepasan tromboksan yang menyebabkan vasokonstriksi juga mempersempit pembuluh darah sehingga arteri menyempit dan berisiko tinggi terhadap vasokonstriksi abnormal dan trombosis (gambar 2.7).<sup>25</sup>

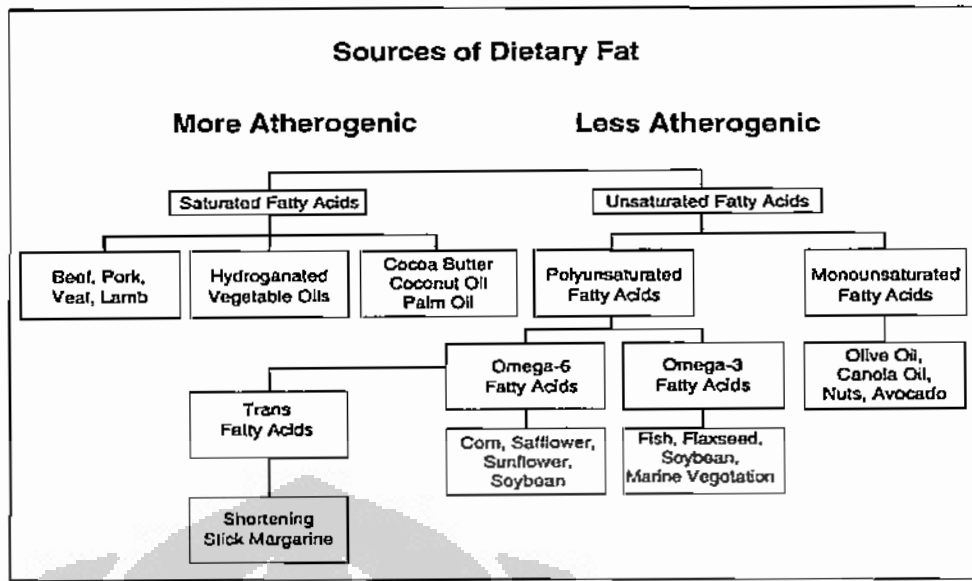


Gambar 2.7. Patogenesis atherosklerosis  
 Sumber: Brashers<sup>25</sup>

**2.3.5. Penatalaksanaan nutrisi pada hiperkolesterolemia**

Pemilihan diet terhadap hiperkolesterolemia dilakukan untuk menurunkan kadar kolesterol LDL, dengan cara mengurangi konsumsi asam lemak jenuh, makanan dengan kolesterol tinggi, dan asam lemak trans, termasuk juga produk yang merupakan bentuk esterifikasi margarin dapat meningkatkan absorpsi kolesterol.<sup>24</sup> Beberapa sumber lemak dari makanan dapat bersifat lebih aterogenik yaitu asam lemak jenuh (daging sapi, babi, kambing, minyak sayur hidrogenasi, minyak palem, minyak kelapa, mentega, dan lain-lain), dan beberapa bersifat kurang aterogenik yaitu asam lemak tidak jenuh seperti PUFA (n-6, n-3), MUFA (minyak kanola, minyak zaitun, kacang-kacangan, alpukat) (Gambar 2.8).<sup>5</sup>





Gambar 2.8. Sumber lemak makanan

Sumber: Deen<sup>5</sup>

2.3.6. Penyuluhan gizi

Diet dan aktivitas fisik adalah hal utama yang menjadi pertimbangan pada penatalaksanaan hiperkolesterolemia.<sup>24</sup> *Adult Treatment Panel (ATP) III* memberikan cara konsumsi makanan dengan menggunakan *therapeutic lifestyle changes (TLC)* (tabel 2.5) yang menekankan pendekatan dari berbagai aspek untuk mencapai kadar kolesterol LDL yang diinginkan dan penurunan risiko penyakit kardiovaskuler.<sup>5</sup>

Peningkatan aktivitas fisik merupakan hal yang harus dilakukan pada penatalaksanaan hiperkolesterolemia, yaitu harus terdapat keseimbangan antara kebutuhan kalori dan asupan makanan dengan aktivitas olahraga yang dilakukan. Olahraga yang dilakukan meliputi antara lain jalan cepat, renang, bersepeda dan aktivitas lain yang bersifat olahraga kompetitif.<sup>24</sup>

Tabel 2.6. Komposisi nutrisi diet TLC

Nutrien	Anjuran
Lemak SAFA	< 7% kalori total
Lemak PUFA	< 10% kalori total
Lemak MUFA	Sampai 20% kalori total
Lemak total	25%-35% kalori total
Karbohidrat	50%-60% kalori total
Serat	20-30 gram/hari
Protein	15% kalori total
Kolesterol	< 200 mg/hari
Kalori total	Keseimbangan asupan dengan keluaran energi

Sumber: NCEP ATP III<sup>4</sup>

#### 2.4. Efek pemberian jus anggur terhadap perubahan kadar kolesterol LDL

Polifenol dalam makanan memiliki peran besar bagi kesehatan, karena kapasitas antioksidannya yang besar bahkan lebih besar dibandingkan dengan vitamin.<sup>26</sup> Pada beberapa penelitian tentang polifenol dan penyakit kardiovaskuler diketahui bahwa konsumsi diet yang diperkaya polifenol menunjukkan keuntungan pada *flow mediated dilatation* dan profil lipid yang membaik dan berperan pada berkurangnya risiko penyakit kardiovaskuler.<sup>21,27</sup>

Polifenol bersifat melindungi kolesterol LDL dari proses oksidatif berlebihan.<sup>27</sup>

Preuss dkk,<sup>14</sup> melakukan penelitian randomisasi, *double blind, placebo-controlled study*, pada 40 subyek hiperkolesterolemia dengan kolesterol LDL dan kolesterol total sebagai parameter. Penelitian dilakukan dengan memberikan biji anggur dan kromium selama delapan minggu. Subyek dibagi menjadi empat kelompok: kelompok plasebo, kelompok yang mengonsumsi biji anggur, kelompok yang mengonsumsi kromium, dan kelompok yang mengonsumsi kombinasi biji anggur dan kromium. Setelah perlakuan, dilakukan pemeriksaan laboratorium dan didapatkan hasil, penurunan kadar kolesterol total dan kolesterol LDL yang lebih besar pada kelompok yang mengonsumsi biji anggur dan yang mengonsumsi kromium dibandingkan dengan kelompok plasebo, tetapi penurunan yang signifikan terjadi pada kelompok kombinasi biji anggur dan kromium.

Byrne dkk,<sup>13</sup> melakukan penelitian dengan menggunakan jus anggur untuk mengetahui kemampuan antioksidan jus anggur yang kaya polifenol. Penelitian dilakukan selama dua minggu pada 36 subyek sehat yang dibagi

menjadi dua kelompok, perlakuan 1 dan perlakuan 2. Kelompok perlakuan 1 berjumlah 18 orang mendapat suplemen tokoferol dan subyek yang menyelesaikan penelitian ada 17 orang. Sementara kelompok perlakuan 2 mendapat jus anggur *concord* 10 mL/kg BB/hari. Dari 18 subyek, 15 subyek dapat menyelesaikan penelitian. Kemudian dilakukan pemeriksaan polifenol plasma dan LDL teroksidasi, dan didapatkan perbedaan yang signifikan pada kedua kelompok antara kadar sebelum perlakuan dengan sesudah perlakuan. Pada kelompok perlakuan jus anggur terdapat peningkatan kadar polifenol plasma sebesar 22% tetapi pada kelompok perlakuan tokoferol tidak terdapat peningkatan kadar polifenol, dengan uji Anova signifikan bermakna  $p < 0,001$  (tabel 2.7).

Tabel 2.7. Kandungan polifenol sebelum dan sesudah suplementasi

Suplementasi (mg/hari)	Tokoferol (n=17)	Jus Anggur (n=15)
Sebelum suplementasi	312 ± 147	302 ± 123
Sesudah suplementasi	281 ± 134	703 ± 123*

Sumber: telah diolah kembali dari Byrne<sup>13</sup>

Sesudah suplementasi terdapat penurunan kadar kolesterol LDL secara signifikan pada kelompok dengan suplementasi jus anggur dibandingkan kelompok suplementasi tokoferol, dengan tingkat signifikansi  $p < 0,05$  menggunakan uji Anova (tabel 2.8).

Tabel 2.8. Profil kadar kolesterol LDL sebelum dan sesudah suplementasi

Kadar LDL kolesterol	Tokoferol (n=17)	Jus Anggur (n=15)
Baseline	2,66 ± 0,49 mmol/L	2,96 ± 0,46 mmol/L
Sesudah suplementasi	2,48 ± 0,37 mmol/L	2,79 ± 0,61 mmol/L

Sumber: telah diolah kembali dari Byrne<sup>13</sup>

Peningkatan LDL lag time yang signifikan  $p < 0,001$  terjadi pada kedua kelompok baik kelompok tokoferol maupun kelompok jus anggur tetapi tidak terdapat perbedaan signifikan antara keduanya  $p < 0,001$  (tabel 2.9).

Tabel 2.9. LDL lag time sebelum dan sesudah suplementasi

LDL lag	Tokoferol (n=17)	Jus anggur (n=15)
Sebelum suplementasi	50,1 ± 10,2 menit	54,7 ± 8,5 menit
Sesudah suplementasi	60,7 ± 16,2 menit*	60,3 ± 10,3 menit

Sumber: telah diolah kembali dari Byrne<sup>13</sup>

Pemberian jus anggur juga menghasilkan terjadinya penurunan LDL teroksidasi secara signifikan  $p < 0,01$  dengan uji Anova. Penurunan yang lebih besar pada kelompok dengan jus anggur dibandingkan kelompok tokoferol (tabel 2.10).

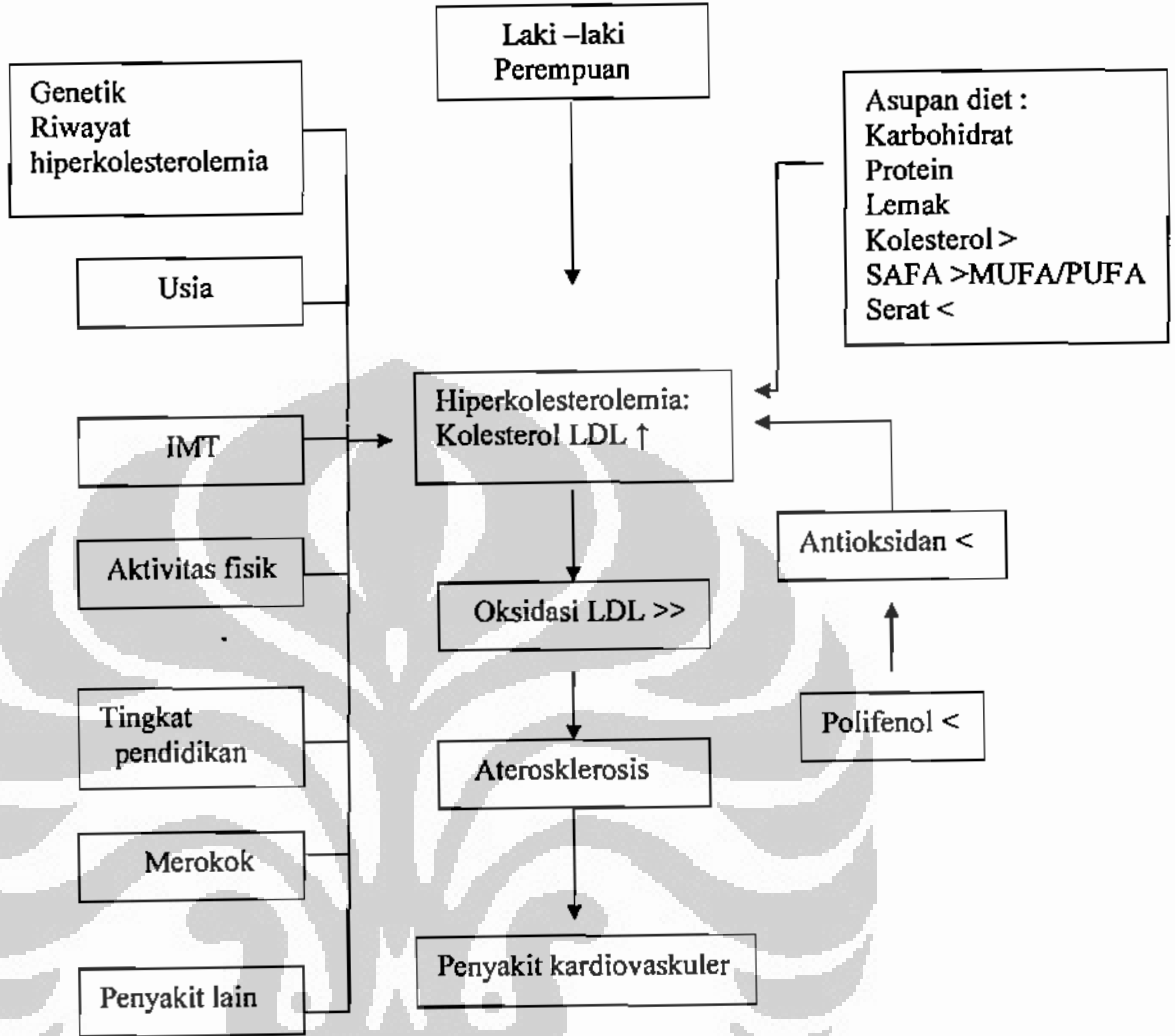
Tabel 2.10. LDL teroksidasi sebelum dan sesudah suplementasi

LDL teroksidasi	Tokoferol (n=17)	Jus anggur (n=17)
Sebelum suplementasi	10,6 ± 2,4 nmol/mg	11,0 ± 1,7 nmol/mg
Sesudah suplementasi	9,8 ± 2,8* nmol/mg	10,0 ± 1,7* nmol/mg

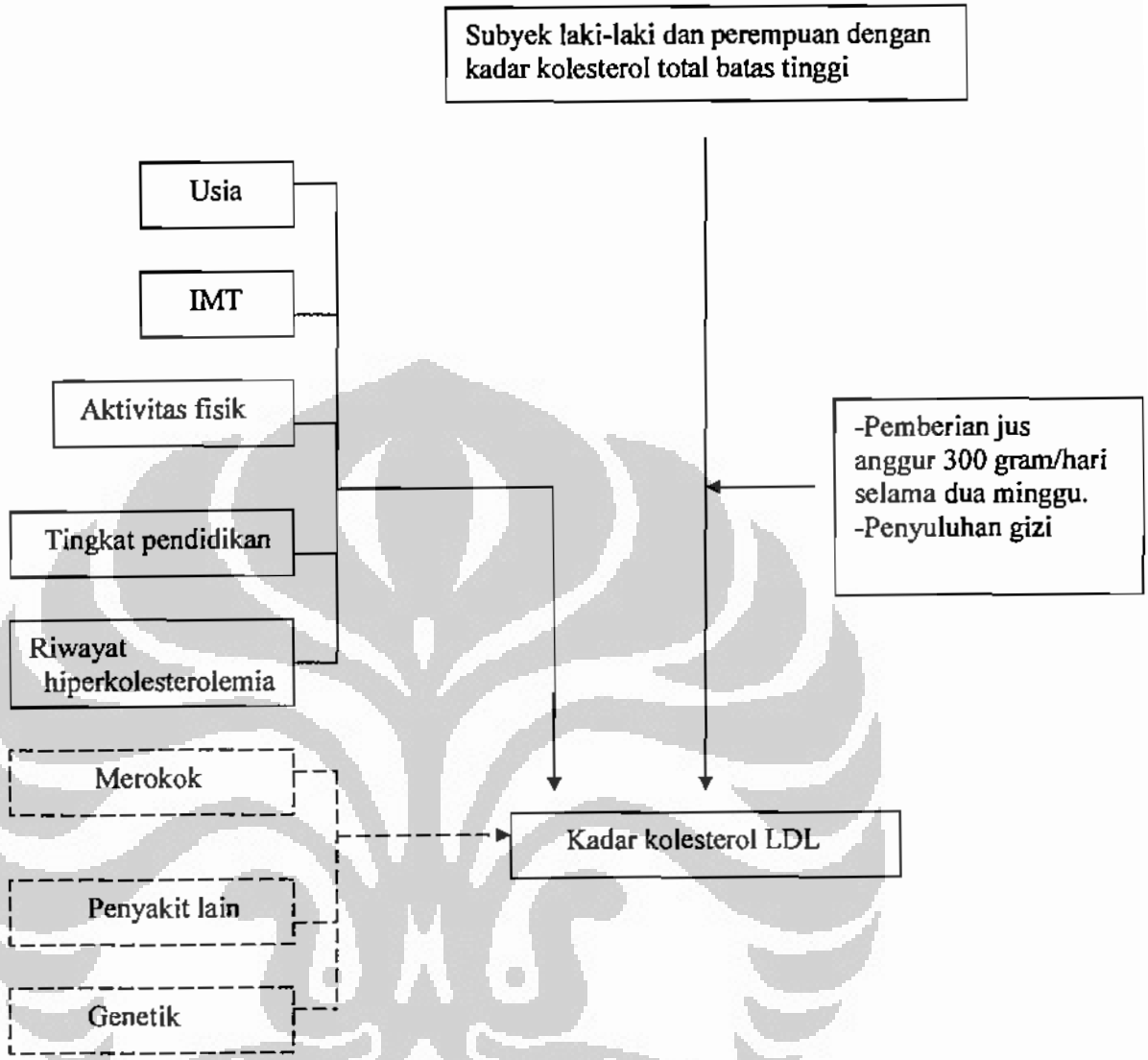
Sumber: telah diolah kembali dari Byrne<sup>13</sup>

Castilla dkk,<sup>9</sup> memberikan suplementasi jus anggur merah 100 mL selama 14 hari pada subyek yang terdiri atas pasien hemodialisis dengan hiperkolesterolemia dan pasien sehat sebanyak 38 subyek yang dibagi menjadi dua kelompok. Kedua kelompok dirandom dan masing-masing kelompok terdapat kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, sehingga penelitian terdiri atas empat kelompok. Setelah 14 hari dilakukan pemeriksaan laboratorium pada kedua kelompok perlakuan dan kontrol pada subyek hemodialisis dengan hiperkolesterolemia dan subyek sehat. Didapatkan hasil: suplementasi jus anggur merah menyebabkan penurunan kadar kolesterol LDL (uji Anova  $p < 0,05$ ) pada kedua kelompok perlakuan. Pada kedua kelompok kontrol dari kelompok hiperkolesterolemia dan kelompok sehat tanpa suplementasi jus anggur tidak terjadi penurunan kadar kolesterol LDL yang signifikan. Castilla berkesimpulan, konsumsi jus anggur memperbaiki profil lipoprotein, menurunkan konsentrasi plasma biomarker inflamasi, kolesterol LDL, dan LDL teroksidasi sehingga menurunkan risiko terjadinya penyakit kardiovaskuler.<sup>9</sup>

### 2.5.Kerangka teori



### 2.6.Kerangka konsep



Keterangan :

\_\_\_\_\_ : diteliti

----- : tidak diteliti

▭ : diamati

▭ : tidak diamati

## **BAB 3**

### **METODA PENELITIAN**

#### **3.1. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan uji klinis paralel, membandingkan kelompok perlakuan yang mendapat jus anggur disertai penyuluhan gizi (P) dan kelompok kontrol yang hanya mendapat penyuluhan gizi (K).

#### **3.2. Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian dilakukan pada warga asrama Polri Cipinang, Jakarta. Pengumpulan data dilakukan mulai bulan Mei sampai dengan Juni 2009. Penelitian berlangsung bulan April sampai Juli 2009.

#### **3.3. Bahan penelitian**

##### **3.3.1. Populasi target**

Populasi target adalah semua anggota Polri dan PNS baik laki-laki dan perempuan beserta pasangannya dengan kadar kolesterol total batas tinggi.

##### **3.3.2. Populasi terjangkau**

Populasi terjangkau adalah semua anggota Polri dan PNS baik laki-laki dan perempuan beserta pasangannya yang tinggal di asrama Polri Cipinang dengan kadar kolesterol total batas tinggi pada bulan Mei 2009.

##### **3.3.3. Subyek penelitian**

Subyek penelitian adalah bagian dari populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian, dipilih secara randomisasi sederhana, dan secara tertulis menyatakan bersedia ikut serta dalam penelitian dengan menanda tangani formulir persetujuan.

### **Kriteria penerimaan**

- Laki-laki atau perempuan usia 25-44 tahun.
- IMT :18,5-29,9 kg/m<sup>2</sup>
- Kolesterol total 200-239 mg/dL.
- Secara tertulis bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani formulir persetujuan.

### **Kriteria penolakan**

- Mengonsumsi obat atau jenis obat-obatan (jamu, suplemen) yang dapat mempengaruhi metabolisme lipid.
- Mengonsumsi suplemen vitamin atau suplemen antioksidan dua hari berturut-turut.
- Menderita penyakit diabetes melitus, hipertensi derajat 2, stroke, ginjal, hati dan kardiovaskuler, yang diketahui dari hasil pemeriksaan darah yang dilakukan.
- Merokok
- Perempuan hamil

### **Kriteria pengeluaran**

- Subyek penelitian tidak teratur mengonsumsi jus anggur selama dua hari berturut-turut.
- Subyek penelitian tidak mengonsumsi jus anggur sesuai dengan jumlah yang telah ditetapkan selama dua hari berturut-turut.
- Subyek penelitian menolak melanjutkan penelitian.
- Selama periode penelitian subyek sakit berat.

#### **3.3.4. Besar sampel**

Besar sampel yang diperlukan untuk masing-masing kelompok dihitung berdasarkan rumus:<sup>23</sup>

$$n_1 = n_2 = 2 \left[ \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta}) SD}{(x_1 - x_2)} \right]^2$$

Pemilihan rumus dilakukan untuk mengetahui rerata penurunan kolesterol LDL setelah intervensi.



$n_1 = n_2$  : perkiraan besar sampel minimal untuk masing-masing kelompok

$Z_\alpha$  : deviasi relatif yang menggambarkan derajat kepercayaan dalam pengambilan kesimpulan statistik sebesar 1,96 untuk  $\alpha = 0,05$

$Z_\beta$  : deviasi relatif yang menggambarkan tingkat kekuatan uji statistik dalam menetapkan batas kemaknaan, ditetapkan 0,842 untuk  $\beta = 0,20$

SD : simpang baku kedua kelompok

$x_1 - x_2$  : perbedaan klinis yang diinginkan (ditetapkan oleh peneliti)

**Besar sampel berdasarkan kadar LDL kolesterol:**

$$n_1 = n_2 = 2 \left[ \frac{(Z_\alpha + Z_\beta) SD}{(x_1 - x_2)} \right]^2$$

SD : simpang baku kadar LDL kolesterol 8 mg/dL.<sup>9</sup>

$x_1 - x_2$  : perbedaan klinis yang diinginkan adalah sebesar 8 mg/dL.<sup>13</sup>

Jumlah sampel yang diperlukan untuk pengukuran LDL kolesterol adalah 16 orang. Perkiraan *drop out* 10% (1,6 orang  $\approx$  2 orang), maka besar sampel adalah 18 orang per kelompok.

### 3.4. Asupan makanan yang diberikan

#### Kelompok P dan K

Pada kedua kelompok diberikan penyuluhan tentang TLC. Diet berdasarkan NCEP ATP III tahun 2001, yaitu diet dengan komposisi zat gizi disesuaikan dengan penatalaksanaan hiperkolesterolemia.<sup>3</sup> Penyuluhan gizi dilakukan sekali seminggu pada periode *run-in* dan selama periode perlakuan yaitu pada H-7, H1, dan H8.

#### Kelompok P

Kelompok P, selain mendapat penyuluhan gizi juga mendapat asupan jus anggur *Red Globe* 300 gram satu kali per hari selama dua minggu berturut-turut (H1-H14). Banyaknya jus anggur yang diberikan selama perlakuan didasarkan pada penelitian Castilla dkk<sup>9</sup> yang memberikan jus anggur merah 100 mL dengan kandungan polifenol 0,6 gram/100 mL selama 14 hari dan didapatkan penurunan kadar LDL kolesterol.

### 3.5. Instrumen pengumpulan data

#### 3.5.1. Lampiran dan formulir

Lampiran 1 : lembar persetujuan komisi etik

Lampiran 2

Formulir A1 : lembar informasi penelitian

Formulir A2 : lembar persetujuan subyek

Formulir A3 : lembar data karakteristik subyek

Formulir A4 : lembar seleksi berdasarkan kriteria penerimaan dan penolakan

Lampiran 3

Formulir B1 : lembar asupan makanan (*food recall* 2x24 jam)

Formulir B2 : lembar catatan asupan makanan (*food record*)

Formulir B3 : lembar keluhan dan kepatuhan subyek

Lampiran 4

Formulir C1 : lembar hasil pemeriksaan fisik

Formulir C2 : lembar data antropometri berat badan, tinggi badan, indeks massa tubuh

Formulir C3 : lembar data laboratorium.

Lampiran 5 : prosedur randomisasi sederhana

Lampiran 6 : lembar TLC

Lampiran 7 : lembar pembatasan konsumsi makanan

Lampiran 8 : lembar menu diet seimbang sehari

Lampiran 9 : lembar indeks aktivitas fisik

Lampiran 10 : lembar prosedur pemeriksaan kolesterol LDL

Lampiran 11 : lembar prosedur pembuatan jus anggur

#### 3.5.2. Spesimen

- Darah vena kubiti sebanyak 5 ml untuk pemeriksaan kadar kolesterol total, ureum/kreatinin, SGOT/SGPT, gula darah pada seleksi subyek.
- Darah vena kubiti sebanyak 5 mL untuk pemeriksaan kadar kolesterol LDL pada sebelum dan sesudah perlakuan.

#### 3.5.3. Peralatan

- *Dysposable syringe needle* 5 mL
- *Vacutainer* berisi EDTA
- Torniket

- Kapas alkohol 70%
- Sentrifugator
- Tabung sentrifugator
- Kotak pendingin
- Stetoskop merk Littman
- Sfigmomanometer air raksa dengan manset merk Riester
- HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)
- Timbangan berat badan merk *mikroprocessor Seca alpha* dengan ketelitian 0,1 kg
- Alat ukur tinggi badan *microtoise stature* 2 m dengan ketelitian 0,1 cm
- Timbangan makanan 3 kg
- Blender Miyako
- *Food models*

### 3.6. Cara kerja

#### 3.6.1. Cara memperoleh subyek penelitian

Pengumpulan data dilakukan setelah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan ijin penelitian dari Markas Besar Kepolisian Republik Indonesia dan Kepala asrama Polri Cipinang. Pada saat yang telah ditentukan subyek dikumpulkan pada tempat yang telah disepakati untuk mendapatkan informasi penelitian, dijelaskan tujuan penelitian, pemeriksaan yang akan dilakukan, serta manfaat penelitian. Selanjutnya dilakukan seleksi subyek dengan melakukan anamnesis, pemeriksaan fisik dan laboratorium untuk seleksi. Subyek yang memenuhi kriteria penelitian selanjutnya dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok perlakuan (P) dan kelompok kontrol (K) dengan cara randomisasi sederhana. Randomisasi sederhana dilakukan dengan cara menentukan angka 0-4 untuk kelompok P dan angka 5-9 untuk kelompok K. Dengan mata tertutup ditunjuk satu titik yang terletak pada tabel angka random, misal tertunjuk baris pertama kolom pertama, kemudian dibaca ke kanan 927415956121168117 dan seterusnya, dengan demikian maka urutan kelompok adalah KPKPPKKKKPPPKKPPK dan seterusnya.

Bagi yang bersedia ikut penelitian diminta untuk mengisi dan menandatangani lembar persetujuan yang telah disediakan dan mengembalikan lembar penelitian kepada peneliti sebagai bukti turut serta dalam penelitian.

### 3.6.2. Pelaksanaan penelitian

Pelaksanaan penelitian dibagi dalam tiga periode yaitu periode sebelum perlakuan, periode selama perlakuan, dan periode setelah perlakuan.

#### Periode sebelum perlakuan (H-20 sampai H0)

Pada H-20 dilakukan pemberian informasi pertama kali, dengan cara subyek dikumpulkan pada tempat tertentu dan diberikan penjelasan tentang maksud dan manfaat penelitian serta tahapan-tahapan yang akan dilakukan, termasuk periode *run-in* selama tujuh hari yang harus dilakukan.

Pada H-15 sampai dengan H-9 dilakukan pemeriksaan laboratorium untuk seleksi subyek. Dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total, gula darah, ureum/kreatinin, dan SGOT/SGPT. Subyek telah diingatkan untuk berpuasa 10-12 jam sebelumnya.

Pada H-8 telah diketahui subyek yang memenuhi kriteria penelitian, kemudian subyek tersebut dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dengan cara randomisasi sederhana. Pada H-8 ini mulai dilakukan wawancara dan pemeriksaan fisik pada subyek yang sesuai dengan kriteria penelitian untuk memperoleh data keadaan umum dan demografi subyek. Pertama dilakukan pemeriksaan antropometri meliputi berat badan dan tinggi badan, serta dilakukan pengukuran tekanan darah subyek.

H-7 sampai H-1 adalah masa *run-in* untuk melakukan standarisasi makanan dan gaya hidup pada kedua kelompok. Kedua kelompok diberikan penyuluhan tentang gaya hidup dan daftar makanan yang mengandung polifenol serta lembar *food record* untuk mencatat makanan yang dikonsumsi selama masa *run-in*.

Pada H0 subyek menjalani pemeriksaan darah untuk pemeriksaan kolesterol LDL sebagai data awal. Subyek telah diingatkan untuk berpuasa 10-12 jam sebelum pengambilan darah.

Selanjutnya kedua kelompok subyek diberikan penyuluhan gizi tentang diet TLC, dan pada kelompok perlakuan diberikan penjelasan tambahan tentang jus anggur.

### **Periode perlakuan**

#### **Kelompok P dan K**

Seluruh subyek penelitian menerima lembar catatan asupan makanan untuk mencatat asupan makanan yang dikonsumsinya sebagai *food record* (dua kali dalam seminggu) yang meliputi data asupan energi, lemak, serat dan sumber polifenol, dan dibawa pada H8 dan H15 untuk diserahkan kepada peneliti untuk dilakukan evaluasi dan analisis dengan menggunakan daftar analisis bahan makanan<sup>30</sup> dan *Nutrisurvey* 2007.

Satu kali dalam seminggu peneliti melakukan pemeriksaan antropometri berat badan (BB) subyek, setiap kali pemeriksaan dilakukan pengukuran dua kali dan data yang diambil adalah rata-rata dari hasil pengukuran tersebut, kemudian hasil dicatat pada lembar pemeriksaan fisik subyek (H1, H8).

Penyuluhan tentang TLC dilakukan dua kali selama periode perlakuan yaitu pada H1 dan H8. Penjelasan kepada subyek dilakukan dengan bahasa sederhana dan memungkinkan subyek untuk bertanya tentang hal-hal yang ingin diketahuinya.

#### **Kelompok P**

Setiap hari selama periode perlakuan subyek penelitian mengkonsumsi jus anggur dari buah anggur segar 300 gram satu kali per hari yang telah disediakan peneliti dan meminumnya di hadapan peneliti. Pada subyek ditanyakan keluhan atau gangguan yang dirasakan selama mengonsumsi jus anggur, kemudian keluhan dicatat dalam lembar keluhan dan kepatuhan subyek, selanjutnya subyek diberikan saran agar tidak terjadi gangguan kembali.

#### **Periode pasca perlakuan (H15)**

Pada H15, subyek yang telah puasa 10-12 jam sebelumnya, dilakukan pengambilan darah untuk memeriksa kadar LDL kolesterol, untuk mengetahui kadar LDL kolesterol setelah perlakuan.

Pada H15 ini subyek menyerahkan kembali tentang catatan asupan makanan dan minuman yang meliputi sumber energi, lemak, serat dan bahan makanan dengan kandungan polifenol dengan metode *food record* 2 x 24 jam yang telah dibuat oleh masing-masing subyek. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan antropometri berat badan (BB), kemudian hasil pemeriksaan dicatat pada lembar pemeriksaan fisik.

### 3.6.3. Prosedur pengumpulan data

#### Wawancara

Wawancara sebelum perlakuan dilakukan dengan menggunakan kuesioner untuk mendapatkan karakteristik subyek yang meliputi usia, jenis kelamin, tingkat pendidikan, aktivitas fisik, riwayat hiperkolesterolemia dan asupan makanan. Wawancara asupan makanan subyek dilakukan sebanyak satu kali yaitu H0 untuk mengetahui asupan makanan subyek dengan metode *food recall* 2 x 24 jam untuk mendapatkan data asupan makanan yang meliputi energi, lemak, serat, kolesterol, dan bahan makanan minuman mengandung polifenol.

#### Pemeriksaan Fisik

Pemeriksaan fisik dilakukan satu kali pada periode sebelum perlakuan, untuk seleksi subyek penelitian berdasarkan anamnesis, inspeksi, palpasi, auskultasi dan mengukur tekanan darah subyek untuk melihat keadaan umum subyek.

#### Pengukuran antropometri

Pengukuran antropometri dilakukan sebanyak dua kali, sebelum periode perlakuan (H0) dan pada pasca perlakuan (H15). Pengukuran antropometri yang dilakukan meliputi berat badan (BB) dan tinggi badan (TB). Pengukuran tinggi badan (TB) pada H0, dan berat badan (BB) pada H0, dan H15. Pada setiap pengukuran dilakukan dua kali dan data yang diambil adalah rata-rata dari hasil pengukuran tersebut. Hasil yang didapat digunakan untuk menentukan IMT.

### 1. Prosedur pengukuran TB

- Mikrotoise digantungkan pada dinding setinggi 2 m dari lantai yang datar dengan dinding yang tegak lurus dan rata dengan satuan sentimeter tepat pada posisi nol.
- Subyek yang akan diukur berdiri tegak pada permukaan datar dengan tumit rapat, di tengah-tengah mikrotoise, tanpa menggunakan alas kaki atau kaus kaki, dan dengan menggunakan pakaian minimal.
- Muka subyek menghadap lurus ke depan, kepala tegak menempel pada dinding, pandangan tegak lurus suhu tubuh. Bahu relaks, kedua lengan tergantung bebas di sisi tubuh, bagian belakang bahu, bokong, dan tumit menempel pada dinding. Kedua kaki lurus dan kedua lutut rapat.
- Papan mikrotoise diturunkan dengan hati-hati hingga menyentuh bagian atas kepala dan rambut tertekan.
- Pengukuran tinggi badan dilakukan dua kali, hasil pengukuran dibaca dan diambil rata-rata dan dicatat di lembar data antropometri.<sup>24</sup>

### 2. Prosedur pengukuran BB

- Timbangan diletakkan di permukaan lantai yang rata dan keras tanpa alas dan sebelum penimbangan dilakukan skala menunjukkan angka 0 kg.
- Subyek berdiri di tengah-tengah pijakan kaki alat timbangan dengan berdiri tegak tanpa menggunakan alas kaki atau kaus kai dan menggunakan pakaian minimal.
- Penimbangan dilakukan dua kali, hasil dibaca, diambil rata-rata dan dicatat di lembar data antropometri.<sup>24</sup>

### Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan laboratorium pertama kali dilakukan pada subyek untuk seleksi sesuai kriteria penerimaan dan kriteria penolakan, pemeriksaan meliputi kadar gula darah, ureum kreatinin, SGOT SGPT, kadar kolesterol total (H-15 s.d.H-9). Pada pemeriksaan laboratorium selanjutnya dilakukan sebelum periode perlakuan (H<sub>0</sub>), subyek puasa 10-12 jam sebelumnya, kemudian dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan kolesterol LDL sebagai data awal. Pada periode pasca perlakuan dilakukan kembali pemeriksaan kolesterol LDL.

### **Penilaian asupan makanan**

Data asupan makanan diperoleh dengan metode *food recall* 2 x 24 jam dan *food record*, melalui wawancara dan pencatatan.

#### **1. Food Recall 2 x 24 jam**

Pada metode ini subyek diminta untuk mengingat makanan yang telah dikonsumsi selama 2 x 24 jam sebelumnya (satu hari kerja dan satu hari libur), dilakukan pada awal periode perlakuan (H0), dengan menanyakan jenis dan perkiraan jumlah makanan yang dikonsumsi kemudian mencatat dengan teliti semua makanan dan minuman yang dikonsumsi dengan menggunakan ukuran rumah tangga dan dengan bantuan *food models* untuk membantu ingatan subyek. Selanjutnya data yang didapatkan dalam ukuran rumah tangga dikonversikan dalam ukuran gram menggunakan bahan makanan penukar dan dianalisis dengan program *Nutrisurvey* 2007.

#### **2. Food Record**

Subyek diminta untuk mencatat semua makanan, minuman yang telah dikonsumsi, baik jenis dan jumlahnya selama 24 jam, dalam formulir catatan asupan makanan. Pencatatan dilakukan tiga kali, satu kali dalam masa run-in dan dua kali pada periode perlakuan. Jumlah makanan, minuman yang diukur tersebut menggunakan ukuran-ukuran standar seperti gelas, sendok, piring, dan lain-lain. Data ini akan membantu subyek mengingat jenis dan jumlah makanan, minuman yang dikonsumsi selama penelitian.

### **3.7. Identifikasi variabel**

1. Variabel bebas : Jus anggur 300 gram
2. Variabel terikat : Kadar kolesterol LDL

### **3.8. Manajemen dan Analisis Data**

#### **Pengolahan data**

Data yang diperoleh dari seluruh pemeriksaan (wawancara, pemeriksaan fisik, pemeriksaan antropometri dan laboratorium) dikumpulkan, kemudian dilakukan pengolahan data yang meliputi *editing*, *coding*, *entry* dan *cleaning* data dengan menggunakan kalkulator dan komputer.



### Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan program Statistical Program for Social Science (SPSS) for Windows versi 11.5. Analisis data asupan makanan menggunakan program *Nutrisurvey* 2007, analisis asupan polifenol menggunakan daftar bahan makanan sumber polifenol.<sup>10</sup>

Uji statistik yang digunakan :

- Untuk mengetahui data mempunyai sebaran normal atau tidak secara analitik maka digunakan uji Kolmogorov-Smirnov. Nilai  $p < 0,05$ , maka sebaran distribusi data tidak normal.
- Jika  $p > 0,05$ , berarti distribusi data normal digunakan rerata dan simpang baku
- Jika  $p < 0,05$ , berarti distribusi data tidak normal digunakan nilai median dan minimum-maksimum

Untuk menganalisis perbedaan hasil kedua kelompok maka :

- bila kedua data berdistribusi normal digunakan uji t-test tidak berpasangan
- bila salah satu atau kedua kelompok berdistribusi tidak normal digunakan uji Mann-Whitney.

Batas kemaknaan yang digunakan adalah sebesar 5%.

- Bermakna bila  $p < 0,05$ .
- Tidak bermakna bila  $p > 0,05$ .

### Penyajian Data

Data akan disajikan dalam bentuk tekstular, tabular, dan grafik, serta disajikan dalam bentuk tesis dan diuji di hadapan para penguji.

### 3.9. Batasan operasional

#### 1. Subyek penelitian

Subyek penelitian adalah anggota Polri dan PNS baik laki-laki maupun perempuan beserta pasangannya yang tinggal di asrama Polri Cipinang, dengan kadar kolesterol total 200-239 mg/dL dan memenuhi kriteria penelitian.

2. Usia subyek penelitian

Usia adalah umur berdasarkan tanggal lahir yang tertera di Kartu Tanda Penduduk (KTP) dan ditentukan berdasarkan hari ulang tahun terakhir. Usia subyek penelitian dikelompokkan menjadi 25-34 tahun dan 35-44 tahun.<sup>2</sup>

3. Pendidikan

Pendidikan adalah tingkat pendidikan formal terakhir yang pernah diikuti subyek penelitian.

Rendah : tamat SLTP tapi tidak tamat SLTA

Sedang : tamat SLTA tapi tidak tamat perguruan tinggi atau akademi

Tinggi : tamat perguruan tinggi atau akademi.

4. Penggunaan obat yang mengganggu metabolisme lipid

Penggunaan obat diketahui dari anamnesis adanya penggunaan obat-obatan jenis fibrat, statin, steroid dan antihipertensi, juga penggunaan bahan seperti obat misal jamu-jamuan, suplemen.

5. Status gizi

Status gizi ditentukan dengan perhitungan indeks massa tubuh (IMT). IMT adalah hasil pembagian berat badan (BB) dalam kilogram dengan tinggi badan (TB) kuadrat dalam meter (kg/m<sup>2</sup>) Berikut ini adalah tabel klasifikasi status gizi dewasa Asia Pasifik.

Tabel 3.1. Klasifikasi status gizi dewasa Asia Pasifik

Klasifikasi	IMT (kg/m <sup>2</sup> )
Berat badan kurang	< 18,5
Berat badan normal	18,5 – 22,9
Berat badan lebih	≥ 23
Berisiko	23 – 24,9
Obes I	25 – 29,9
Obes II	≥ 30

Sumber: WHO-WPRO<sup>22</sup>

## 6. Asupan energi dan zat gizi

Data asupan energi dan zat gizi diperoleh dengan menggunakan metode *food recall* 2 x 24 jam untuk asupan sebelum perlakuan, dan *food record* 2 hari dalam seminggu periode sebelum dan selama perlakuan (H0, H8 dan H15).

### 6.1. Asupan energi

Asupan energi per hari adalah besarnya jumlah kalori yang dikonsumsi subyek per hari dibandingkan dengan kebutuhan energi total (KET) per individu.

Kebutuhan energi total (KET) tersebut tergantung dari kebutuhan energi basal (KEB) dan aktivitas fisik (AF) masing-masing individu.

Untuk menentukan kebutuhan energi total (KET) maka :

$$KET = KEB + AF$$

Kebutuhan energi basal dihitung dengan menggunakan rumus Harris-Benedict :

$$KEB \text{ laki-laki} = 66 + (13,7 \times BB) + (5 \times TB) - (6,8 \times U)$$

$$KEB \text{ perempuan} = 655 + (9,63 \times BB) + (1,8 \times TB) - (4,73 \times U)$$

Keterangan:

BB = berat badan (kg), TB = tinggi badan (cm), U = usia (tahun)

Aktivitas fisik dihitung berdasarkan Indeks Aktivitas Fisik (IAF) dan dibagi menjadi rendah, cukup, rata-rata, baik, dan sangat baik.

Kemudian ditentukan penambahan kalorinya yaitu:

Rendah dan cukup : ditambah 10% dari kebutuhan basal

Rata-rata : ditambah 20% dari kebutuhan basal

Baik dan sangat baik : ditambah 30% dari kebutuhan basal

Tabel 3.2. Klasifikasi asupan energi

Asupan energi	Interpretasi
< 80% KET	Kurang
80 – 120% KET	Cukup
>120% KET	Lebih

### 6.2. Asupan Lemak

Asupan lemak adalah asupan lemak yang didapat dari bahan makanan sumber lemak sehari-hari yang dibandingkan dengan anjuran asupan lemak.<sup>4</sup>

Klasifikasi asupan lemak:

<25% kalori total : Kurang

25-35% kalori total : Cukup

>35% kalori total : Lebih

### 6.3. Asupan serat

Asupan serat adalah banyaknya asupan serat yang dikonsumsi per hari, kemudian dibandingkan dengan anjuran asupan serat per hari.<sup>4</sup>

Klasifikasi asupan serat:

< 20 gram/hari : Kurang

20-30 gram/hari : Cukup

### 6.4. Asupan kolesterol

Asupan kolesterol adalah banyaknya kolesterol yang dikonsumsi perhari, kemudian dibandingkan dengan anjuran asupan kolesterol per hari.<sup>4</sup>

Klasifikasi asupan kolesterol:

≤ 200 gram/hari : Cukup

> 200 gram/hari : Lebih

## 7. Penyuluhan gizi

Penyuluhan gizi adalah kegiatan penjelasan tentang TLC yang meliputi diet dan aktivitas fisik. Penyuluhan dilakukan dalam suatu ruangan yang telah ditentukan, bertujuan untuk mengubah perilaku subyek penelitian agar asupan diet dapat mengikuti anjuran asupan yang telah ditentukan menurut PERKENI dan NCEP-ATP III.<sup>4,26</sup>

#### 8. Jus anggur

Jus anggur pada penelitian ini adalah jus dari buah anggur segar jenis *Red Globe* berwarna merah (tidak nampak layu, keriput, berubah warna). Keseluruhan buah anggur, setelah dicuci dengan larutan pencuci khusus untuk buah dan sayur dan dengan air yang mengalir, kemudian diblender termasuk kulit dan bijinya dan dibuat menjadi jus tanpa dilakukan penambahan gula, air, es, ataupun bahan tambahan lain. Diberikan kepada setiap subyek sejumlah 300 gram per subyek per hari (100 gram buah anggur segar mengandung  $\pm$  195,5 mg polifenol).<sup>10</sup>

#### 9. Gangguan fungsi hati

Gangguan fungsi hati ditentukan dengan hasil pemeriksaan laboratorium darah yaitu terdapat gangguan fungsi hati bila kadar SGOT > 31  $\mu$ /L dan atau SGPT > 31  $\mu$ /L.<sup>3</sup>

#### 10. Gangguan fungsi ginjal

Gangguan fungsi ginjal ditentukan dengan hasil pemeriksaan laboratorium darah yaitu terdapat gangguan fungsi ginjal bila kadar ureum > 50 mg/dL dan kreatinin > 1,3 mg/dL.<sup>3</sup>

#### 11. Gangguan kardiovaskuler

Gangguan kardiovaskuler ditentukan berdasarkan anamnesis penderita yaitu terdapat gangguan kardiovaskuler bila memiliki riwayat penyakit jantung atau menggunakan obat-obat jantung.

#### 12. Diabetes mellitus

Diabetes mellitus ditentukan dari hasil anamnesis adanya keluhan diabetes mellitus atau adanya riwayat keluarga dan dari hasil pemeriksaan laboratorium darah yaitu ditemukan kadar gula darah puasa > 100 mg/dL.<sup>31</sup>

#### 13. Hipertensi

Hipertensi ditentukan berdasarkan pemeriksaan tekanan darah yaitu bila ditemukan tekanan sistolik > 140 mmHg dan atau tekanan diastolik > 80 mmHg.

#### 14. Stroke

Stroke ditentukan berdasarkan anamnesis yaitu bila subyek memiliki riwayat stroke atau menggunakan obat-obat pencegah stroke.

#### 15. Kadar kolesterol total dan kolesterol LDL.

Penilaian kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan kolesterol HDL mengikuti kriteria NCEP-ATP III.<sup>4</sup>

##### Penilaian kadar kolesterol total

< 200 mg/dL	: Diharapkan
200-239 mg/dL	: Batas tinggi
> 240 mg/dL	: Tinggi

##### Penilaian kadar kolesterol LDL

< 100 mg/dL	: Optimal
100-129 mg/dL	: Mendekati optimal
130-159 mg/dL	: Batas tinggi
160-189 mg/dL	: Tinggi
≥ 190 mg/dL	: Sangat tinggi

#### 16. Keluhan dan kepatuhan subyek

Keluhan subyek adalah keluhan yang dialami subyek selama penelitian yang meliputi keluhan fisik umum dan keluhan saluran cerna. Data tersebut dicatat setiap kali pertemuan. Diberikan saran supaya tidak terjadi keluhan kembali. Kepatuhan subyek dinilai dari kehadiran subyek penelitian pada setiap pertemuan (kelompok P dan K) dan jumlah minimum yang dihabiskan (kelompok P).

#### 17. Aktivitas Fisik

Aktivitas fisik adalah segala bentuk kegiatan subyek yang biasa dilakukan sehari-hari. Penilaian indeks aktivitas fisik dilakukan dengan wawancara menggunakan kuesioner indeks aktivitas fisik, dikelompokkan berdasarkan nilai intensitas (I), durasi (D), dan frekuensi (F).<sup>33</sup>

Indeks aktivitas fisik dihitung berdasarkan persamaan:

$$\text{Indeks Aktivitas Fisik (IAF)} = I \times D \times F^{33}$$

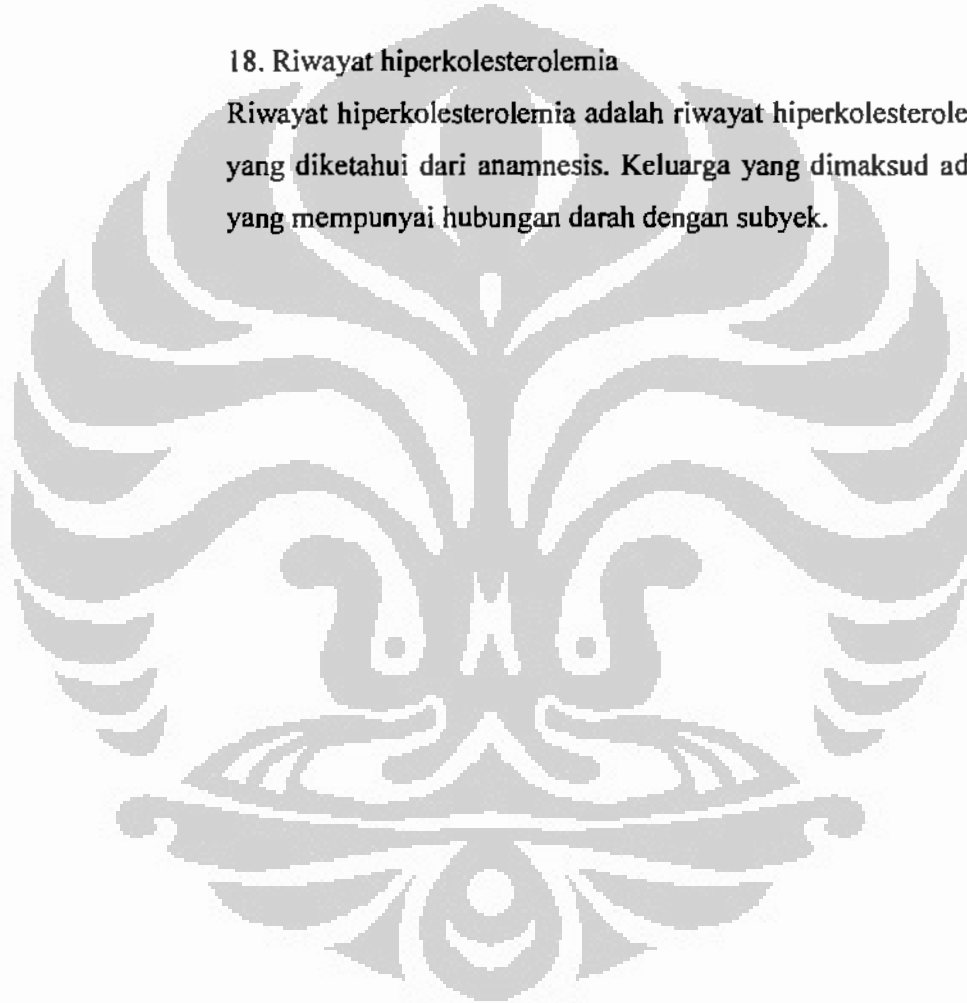
Tabel 3.3. Interpretasi Indeks Aktivitas Fisik

Nilai Total	Indeks Aktivitas Fisik
1 – 20	E = Rendah
21 – 40	D = Cukup
41 – 60	C = Rata-rata
61 – 80	B = Baik
81 – 100	A = Sangat Baik

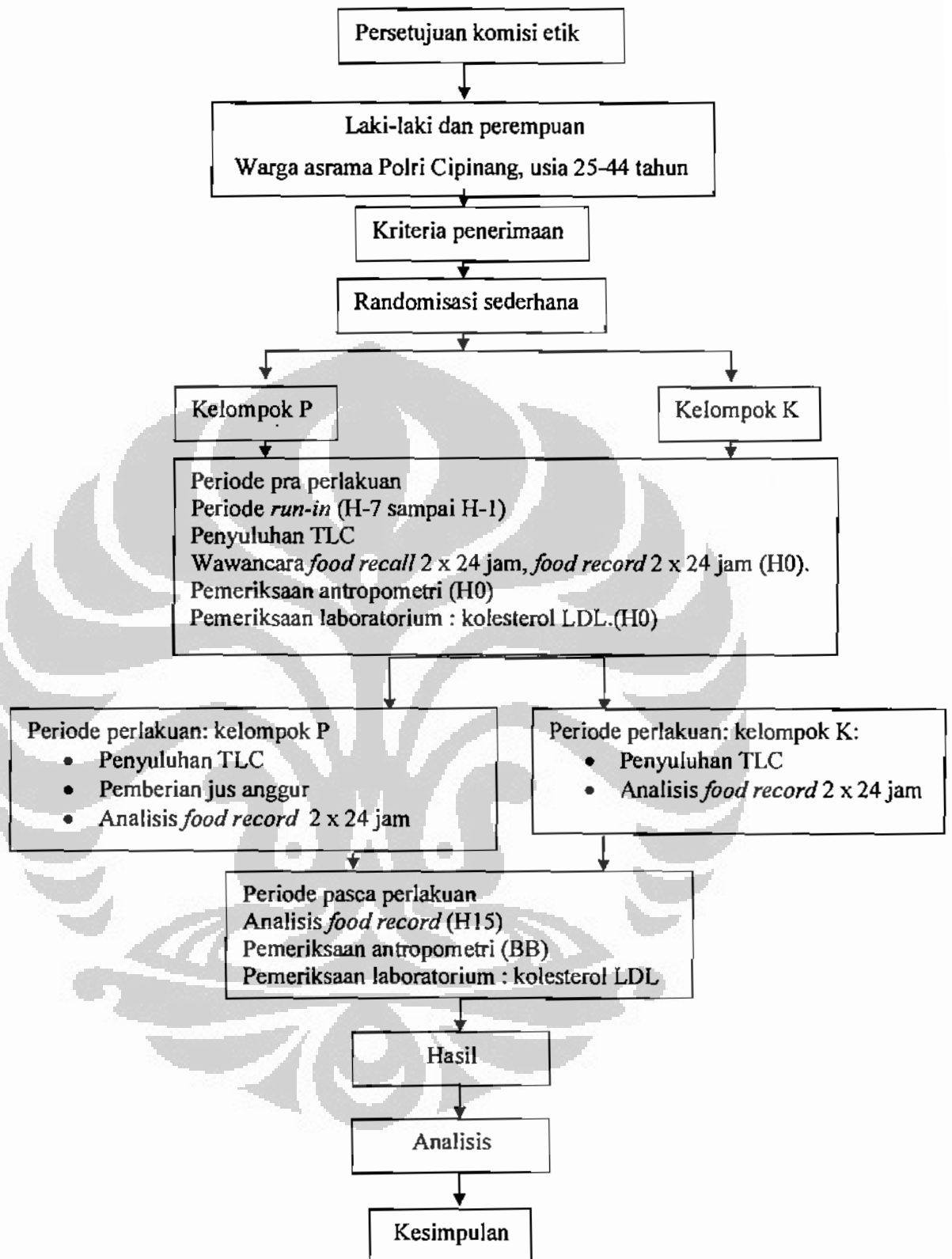
Sumber: Montoye<sup>33</sup>

#### 18. Riwayat hiperkolesterolemia

Riwayat hiperkolesterolemia adalah riwayat hiperkolesterolemia keluarga, yang diketahui dari anamnesis. Keluarga yang dimaksud adalah keluarga yang mempunyai hubungan darah dengan subyek.



### 3.10. Kerangka operasional





## BAB 4 HASIL PENELITIAN

### 4.1. Seleksi Subyek Penelitian

Seleksi subyek penelitian dilakukan mulai minggu pertama bulan Mei 2009, diawali dengan memberikan informasi penelitian pada seluruh anggota Polri dan PNS beserta pasangannya yang tinggal di asrama Polri Cipinang. Informasi penelitian dilakukan tiga kali, pertama diikuti 122 orang, informasi kedua diikuti 96 orang, dan informasi ketiga diikuti 60 orang. Dari jumlah tersebut subyek yang memenuhi kriteria usia, IMT, tidak merokok, dan bersedia ikut serta dalam penelitian dengan menanda tangani lembar persetujuan banyaknya 158 orang.

Berdasarkan kriteria penelitian dan setelah dilakukan seleksi melalui pemeriksaan fisik dan laboratorium didapatkan 37 subyek yang memenuhi kriteria penelitian. Satu subyek mengundurkan diri karena mendapat penugasan keluar daerah, sehingga subyek berjumlah 36 orang, sesuai dengan besar sampel yang diperlukan. Besar sampel minimal 32 orang, dengan pertimbangan adanya *drop out* 10% maka besar sampel 36 orang.

Penentuan alokasi subyek penelitian dilakukan dengan cara randomisasi sederhana dengan menggunakan tabel random. Didapatkan 18 orang subyek sebagai kelompok perlakuan dan 18 orang subyek kelompok kontrol. Pada periode masa *run-in* satu orang subyek kelompok kontrol mengundurkan diri karena mendapat penugasan. Sehingga jumlah subyek menjadi 35 orang, 18 dalam kelompok perlakuan dan 17 dalam kelompok kontrol. Selanjutnya, pada semua subyek dilakukan penilaian asupan energi, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol serta dilakukan pemeriksaan kolesterol LDL sebelum perlakuan.

Periode perlakuan dimulai pada awal Juni 2009 selama dua minggu berturut-turut. Tingkat kehadiran berdasarkan daftar hadir kelompok perlakuan 100% dan kelompok kontrol 82%.

Penyuluhan disertai pemberian brosur mengenai *therapeutic lifestyle changes* dilakukan tiga kali, pada awal masa *run-in*, awal minggu pertama dan awal minggu kedua. Pada akhir periode perlakuan, tiga orang dari kelompok kontrol tidak dapat melanjutkan penelitian, masing-masing karena alasan sakit, keluar kota dan menunggu anaknya yang dirawat di rumah sakit.

Pemeriksaan berat badan, IMT dan kadar kolesterol LDL subyek setelah perlakuan dilakukan pada 18 orang kelompok perlakuan dan 14 orang kelompok kontrol.

#### 4.2. Karakteristik Demografi

Tabel 4.1. memperlihatkan karakteristik demografi subyek penelitian berdasarkan usia, jenis kelamin, tingkat pendidikan, IMT, aktivitas fisik, dan riwayat hiperkolesterolemia keluarga.

Tabel 4.1. Karakteristik Demografi

Variabel	Perlakuan	Kontrol
Usia (tahun)		
• 25-34	8 (44,4%)	7 (41,2%)
• 35-44	10 (55,6%)	10 (58,8%)
Jenis kelamin		
• Laki-laki	4 (22,2%)	4 (23,5%)
• Perempuan	14 (77,8%)	13 (76,5%)
Tingkat Pendidikan		
• Rendah	1 (5,6%)	2 (11,8%)
• Sedang	14 (77,8%)	11 (64,7%)
• Tinggi	3 (16,7%)	4 (23,5%)
IMT		
• 18,5-22,9	5 (27,8%)	9 (52,9%)
• 23-24,9	5 (27,8%)	2 (11,8%)
• 25-29,9	8 (44,4%)	6 (35,3%)
Aktivitas Fisik		
• Rendah	3 (16,7%)	8 (47,1%)
• Cukup	8 (44,4%)	5 (29,4%)
• Rata-rata	5 (27,8%)	2 (11,8%)
• Baik	1 (5,6%)	1 (5,9%)
• Sangat baik	1 (5,6%)	1 (5,9%)
Riwayat hiperkolesterolemia		
• Ada	8 (44,4%)	7 (41,2%)
• Tidak ada	10 (55,6%)	10 (58,8%)

#### 4.2.1. Asupan Energi, Lemak, Serat, Kolesterol, dan Polifenol Sebelum Perlakuan dengan *Food Record*

Tabel 4.2. memperlihatkan asupan energi, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol pada kedua kelompok sebelum perlakuan yang diketahui dengan *food record*.

Tabel 4.2. Asupan Energi, Lemak, Serat, Kolesterol, dan Polifenol Sebelum Perlakuan dengan *Food Record*

Variabel	Perlakuan	Kontrol	Nilai p
Energi (kkal)	1155,8±502,1	1028,9±288,4	0,566*
Lemak (g)	51,2±22,5	42,4±17,3	0,343*
Serat (g)	5,5 (0,8-16,4)	7,1 (2,9-47,3)	0,210 <sup>†</sup>
Kolesterol (mg)	189,4±153,5	133,2±99,2	0,210*
Polifenol (mg)	71,1 (2,2-220,4)	45,9 (12,8-111,2)	0,869 <sup>†</sup>

\* uji t tidak berpasangan; <sup>†</sup> Mann Whitney

Tidak didapatkan perbedaan bermakna pada asupan zat gizi pada kedua kelompok sebelum perlakuan. Hal ini menggambarkan kedua kelompok pada awal penelitian dalam keadaan homogen dan sebanding.

#### 4.3. Asupan Energi, Lemak, Serat, Kolesterol, dan Polifenol

##### 4.3.1. Penilaian Asupan berdasarkan *Food Record* dan *Food Recall* 2 x 24 jam Sebelum Perlakuan.

Tabel 4.3. memperlihatkan asupan energi, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol berdasarkan *food record* dan *food recall* 2x24 jam pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Tabel 4.3. Asupan Energi, Lemak, Serat, Kolesterol, dan Polifenol berdasarkan *Food Record* dan *Food Recall* 2x24 jam Sebelum Perlakuan.

Variabel	<i>Food Record</i>		<i>Food Recall</i> 2 x 24 jam	
	Perlakuan	Kontrol	Perlakuan	Kontrol
Energi (kkal)	1155,8±502,1*	1028,9±288,4*	1153,0±433,4*	1207,9±526,9*
Lemak (g)	51,2±22,5*	42,4±17,3*	46,7(17,0-95,7) <sup>†</sup>	48,3 (13,0-141,5) <sup>†</sup>
Serat (g)	5,5(0,8-16,4) <sup>†</sup>	7,1(2,9-47,3) <sup>†</sup>	5,4 (0,9-16,1) <sup>†</sup>	6,0 (1,7-10,8) <sup>†</sup>
Kolesterol (mg)	189,4±153,5*	133,2±99,2*	59,3(10,7-293,2) <sup>†</sup>	66,3(6,0-317,0) <sup>†</sup>
Polifenol (mg)	71,1(2,2-220,4) <sup>†</sup>	45,9(12,7-111,2) <sup>†</sup>	67,7(0,7-267,6) <sup>†</sup>	73,7(8,5-143,1) <sup>†</sup>

\* uji t tidak berpasangan; <sup>†</sup> Mann Whitney

Penilaian asupan zat gizi pada kedua metode tersebut memperlihatkan asupan energi, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol berdasarkan metode *food*

record lebih tinggi daripada menggunakan *food recall*, sehingga untuk selanjutnya digunakan metode *food record*.

#### 4.3.2. Asupan Energi, Lemak, Serat, Kolesterol, dan Polifenol

Tabel 4.4. memperlihatkan nilai asupan energi, persentase asupan energi dibandingkan kebutuhan energi total, asupan lemak, asupan serat, asupan kolesterol, dan asupan polifenol pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Tabel 4.4. Asupan Energi, Persentase Terhadap Kebutuhan Energi Total, Asupan Lemak, Serat, Kolesterol, dan Polifenol

Variabel	Perlakuan	Kontrol	Nilai p
<b>Energi (kcal)</b>			
H 0	1155,8±502,1	1028,9±288,4	0,566*
H 8	1459,9±462,6	1289,7±289,9	0,249*
H 15	1456±378,4	1237,4±524,8	0,179*
<b>Persentase KET (%)</b>	89,1±21,6	78,8±17,2	0,155*
<b>Lemak (g)</b>			
H 0	51,2±22,5	42,4±17,3	0,343*
H 8	55,8±23,5	54,2±15,6	0,806*
H 15	60,1±21,0	54,2±26,4	0,419*
<b>Serat (g)</b>			
H 0	5,5 (0,8-16,4)	7,1 (2,9-47,3)	0,210 <sup>†</sup>
H 8	9,2 (4,5-24,1)	7,3 (3,0-14,0)	0,088 <sup>†</sup>
H 15	7,5 (3,7-14,1)	6,28 (2,0-9,9)	0,055 <sup>†</sup>
<b>Kolesterol (mg)</b>			
H 0	189,4±153,5	133,2±99,2	0,210*
H 8	143,1±87,5	206,5±168,6	0,190*
H 15	152,0±90,2	124,7±88,6	0,399*
<b>Polifenol (mg)</b>			
H 0	71,1 (2,2-220,4)	45,9 (12,8-111,2)	0,869 <sup>†</sup>
H 8	625,6 (590,1-893,2)	37,2 (1,0-147,2)	0,000* <sup>†</sup>
H 15	631,9 (594,4-753,4)	63,1 (4,5-140,4)	0,000* <sup>†</sup>

\* uji t tidak berpasangan, <sup>†</sup> Mann Whitney, \* bermakna p < 0,05

Asupan energi, lemak, serat, dan kolesterol pada kedua kelompok memperlihatkan tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada kedua kelompok selama perlakuan. Asupan polifenol pada kedua kelompok memperlihatkan tidak didapatkan perbedaan asupan yang bermakna sebelum perlakuan dan didapatkan perbedaan asupan yang bermakna pada saat perlakuan.

#### 4.4. Indeks Massa Tubuh

Tabel 4.5 memperlihatkan indeks massa tubuh kelompok perlakuan dan kelompok kontrol sebelum perlakuan (H0) dan sesudah perlakuan (H15).

Tabel. 4.5. Indeks Massa Tubuh

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	H0	H15	H0	H15
IMT (kg/m <sup>2</sup> )				
18,5-22,9	5 (27,8%)	4 (22,2%)	9 (52,9%)	8 (57,1%)
23-24,9	5 (27,8%)	7 (38,8%)	2 (11,8%)	0
25-29,9	8 (44,4%)	7 (38,8%)	6 (35,2%)	6 (42,9%)

Pada kelompok perlakuan dengan IMT 18,5-22,9 kg/m<sup>2</sup> dari 5 orang menjadi 4 orang, IMT 23-24,9 kg/m<sup>2</sup> sebanyak 5 orang menjadi 7 orang, dan IMT 25-29,9 kg/m<sup>2</sup> sebanyak 8 orang menjadi 7 orang. Pada kelompok kontrol sebelum perlakuan IMT 18-22,9 kg/m<sup>2</sup> dari 9 orang menjadi 8 orang, 23,24,9 kg/m<sup>2</sup> sebanyak 2 orang menjadi tidak ada, 25,9-29,9 kg/m<sup>2</sup> sebanyak 6 orang tetap 6 orang. Pada sebelum perlakuan kelompok perlakuan 18 orang dan berjumlah tetap hingga akhir perlakuan, pada kelompok kontrol 17 orang menjadi 14 orang sesudah perlakuan.

Tabel 4.6. IMT Dan Nilai Kemaknaan

Variabel	Perlakuan	Kontrol	Nilai p
IMT			
H 0	24,7±2,6	23,6±4,4	0,338*
H 15	24,5±2,3	23,4±4,4	0,435*

\* uji t tidak berpasangan

Indeks massa tubuh kedua kelompok sebelum dan sesudah perlakuan tidak didapatkan perbedaan bermakna.

#### 4.5. Kadar Kolesterol LDL

Pemeriksaan kadar kolesterol LDL dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan pada kedua kelompok. Tabel 4.7 memperlihatkan nilai kolesterol LDL sebelum perlakuan sesuai klasifikasikasi NCEP ATP III.

Tabel 4.7. Sebaran Subyek Berdasarkan Kadar Kolesterol LDL H-0

Kolesterol LDL (mg/dL)	Laki-laki (n=8)		Perempuan (n=27)	
	Perlakuan (n=4)	Kontrol (n=4)	Perlakuan (n=14)	Kontrol (n=13)
Optimal	-	-	-	-
Mendekati optimal	-	-	4 (11,4%)	3 (8,6%)
Batas tinggi	4 (11,4%)	4 (11,4%)	8 (22,9%)	8 (22,9%)
Tinggi	-	-	2 (5,7%)	2 (5,7%)
Sangat tinggi	-	-	-	-

Tabel 4.8. memperlihatkan nilai kolesterol LDL sesudah perlakuan sesuai klasifikasikasi NCEP ATP III.

Tabel 4.8. Sebaran Subyek Berdasarkan Kadar Kolesterol LDL H-15

Kolesterol LDL (mg/dL)	Laki-laki		Perempuan	
	Perlakuan	Kontrol	Perlakuan	Kontrol
Optimal	-	-	-	-
Mendekati optimal	1 (3,1%)	2 (6,2%)	8 (25%)	4 (12,5%)
Batas tinggi	2 (6,2%)	2 (6,2%)	6 (18,7%)	6 (18,7%)
Tinggi	1 (3,1%)	-	-	-
Sangat tinggi	-	-	-	-

Tabel 4.9. memperlihatkan kadar kolesterol LDL kelompok perlakuan dan kelompok kontrol sebelum dan sesudah perlakuan dengan nilai p.

Tabel 4.9. Kadar Kolesterol LDL (mg/dL)

Variabel	Perlakuan	Kontrol	Nilai p
Kolesterol LDL			
H0	143,5 (104,0-162,0)	140,0 (127,0-160,0)	0,364 <sup>†</sup>
H15	130,7±12,3	131,5±11,9	0,849*

Setelah perlakuan pada kedua kelompok terdapat penurunan kadar kolesterol LDL lebih besar pada kelompok perlakuan daripada kelompok kontrol tetapi tidak didapatkan perbedaan bermakna. Analisis perbedaan penurunan LDL pada H0 dan H15 kelompok perlakuan serta H0 dan H15 kelompok kontrol tidak terdapat perbedaan bermakna.

Perbedaan kolesterol LDL sebelum perlakuan ( $H_0$ ) dan sesudah perlakuan ( $H_1$ ) kedua kelompok, tanpa membandingkan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dengan uji t berpasangan, terdapat penurunan bermakna dengan nilai  $p < 0,05$ , sehingga menunjukkan kadar kolesterol LDL berbeda bermakna antara sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan.

#### 4.6. Penyuluhan TLC

Penyuluhan tentang TLC dilakukan sebanyak tiga kali kepada kedua kelompok, perlakuan dan kontrol, disertai pemberian brosur kepada masing-masing subyek.

Tabel 4.10. Sebaran Variabel Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol

Variabel	Kelompok Perlakuan	Kelompok Kontrol
Jus Anggur	300 gram/hari	-
Penyuluhan TLC	Sekali/minggu	Sekali/minggu
Brosur	Sekali/minggu	Sekali/minggu

## BAB 5 PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui efek pemberian jus anggur terhadap perubahan kadar kolesterol LDL plasma. Penelitian dengan desain uji klinis paralel ini dilakukan pada warga asrama Polri Cipinang, usia 25-44 tahun, dengan membandingkan kelompok perlakuan yang mendapat jus anggur dari buah anggur segar 300 gram dengan kandungan polifenol  $\pm$  600 mg per hari disertai penyuluhan TLC, dengan kelompok kontrol yang hanya mendapat penyuluhan TLC saja selama dua minggu. Dari 35 subyek yang mengikuti penelitian, hanya 32 subyek yang mengikuti hingga selesai.

Penelitian tentang pengaruh pemberian jus anggur terhadap kolesterol LDL telah banyak dilakukan terutama di luar negeri, tetapi penelitian dengan menggunakan jus anggur yang dibuat dari buah anggur segar secara utuh, termasuk mengikutkan kulit dan biji anggur, tanpa proses pengolahan lebih lanjut dan penambahan bahan kimia, belum pernah dilakukan. Dalam hal jumlah pemberian jus anggur, penelitian ini mengikuti penelitian Castilla yang memberikan jus anggur merah 100 mL/hari (kandungan polifenol 0,6 g/100mL) dan penelitian Byrne dengan pemberian jus anggur 10 ml /kg BB/hari. Lama penelitian pada penelitian ini juga berdasarkan pada penelitian Castilla dkk<sup>9</sup> dan Byrne dkk<sup>13</sup> dengan memberikan jus anggur selama 14 hari berturut-turut.

### 5.1. Keterbatasan Penelitian

#### Metode Penelitian

Penelitian ini memberikan jus anggur pada kelompok perlakuan sementara kelompok kontrol tidak mendapat pemberian plasebo. Hal ini disebabkan kesulitan dalam membuat produk plasebo. Dari kepustakaan diketahui penggunaan plasebo merupakan salah satu teknik ketersamaran dalam uji klinis.<sup>36</sup>

Buah anggur yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari sumber penjual yang melalui proses penyimpanan guna mempertahankan kesegaran, dan tidak berasal dari buah langsung petik pohon dari kebun anggur. Jumlah polifenol dalam jus anggur ditentukan berdasarkan sumber polifenol yang diketahui dalam daftar tabel



bahan makanan,<sup>10</sup> dan tidak dilakukan pengukuran polifenol secara langsung karena kesulitan dalam melakukannya.

### **Penilaian Asupan Zat Gizi**

Penilaian asupan zat gizi dilakukan dengan menggunakan metode *food recall* 2 x 24 jam sebanyak satu kali di awal periode perlakuan dan metode *food record* sebanyak tiga kali yaitu pada awal, pertengahan dan akhir periode perlakuan.

Penilaian dengan metode *food recall* 2 x 24 jam walaupun mudah dan murah serta tidak terlalu membebani subyek penelitian, tetapi metode ini memiliki keterbatasan yaitu dapat terjadi bias, baik pada subyek (*recall bias*) maupun pewawancara (*interviewer bias*). *Recall bias* dapat disebabkan subyek lupa atau sengaja tidak melaporkan hal yang sebenarnya, sehingga pada saat wawancara terlihat subyek tidak yakin melaporkan jenis atau jumlah yang dimakan. Kemungkinan bias ini dapat diperkecil dengan pencatatan asupan zat gizi subyek dalam lembar catatan asupan makanan. *Interviewer bias* dapat terjadi pada pewawancara, karena terjadi perbedaan persepsi antara subyek dengan pewawancara, namun kemungkinan bias ini dapat diperkecil dengan menyamakan persepsi antara subyek dengan pewawancara, menggunakan contoh porsi makanan dengan *food models*.<sup>24</sup>

Pada penilaian asupan zat gizi dengan metode *food record* terdapat keterbatasan dalam pelaksanaannya karena subyek penelitian cenderung tidak mencatat secara langsung makanan yang dikonsumsi. Pada minggu pertama empat orang subyek mencatat di lembar catatan asupan makanan pada saat akan dikumpulkan, sehingga hasilnya cenderung tidak lengkap dan tidak akurat. Hal ini menyebabkan hasil analisis asupan makanan tidak akurat.

Analisis asupan energi, lemak, serat, dan kolesterol dilakukan dengan menggunakan program *nutrisurvey* 2007 sedangkan analisis asupan polifenol dilakukan secara manual menggunakan daftar bahan makanan sumber polifenol.

### **Pemeriksaan Laboratorium**

Pemeriksaan laboratorium yang digunakan sebagai parameter hanya kadar kolesterol LDL plasma, tanpa diikuti pemeriksaan LDL teroksidasi, dan juga tidak dilakukan pemeriksaan kadar polifenol subyek sebelum dan sesudah perlakuan. Hal ini disebabkan tidak ditemukan laboratorium di Jakarta yang dapat melakukan pemeriksaan ini.

## 5.2. Seleksi Subyek Penelitian

Seleksi subyek penelitian didahului informasi mengenai penelitian yang akan dilakukan. Informasi penelitian diberikan kepada 278 orang calon subyek yang merupakan anggota Polri atau PNS beserta pasangannya, warga asrama Polri Cipinang. Seleksi awal dilakukan dengan kriteria tidak merokok, usia antara 25-44 tahun, dan IMT 18,5-29,9 kg/m<sup>2</sup>. Didapatkan sebanyak 158 subyek yang memenuhi kriteria dan menyatakan bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani lembar persetujuan.

Subyek merokok tidak dimasukkan dalam penelitian karena kandungan radikal bebas yang tinggi pada rokok dapat bersifat toksik dan reaktif sehingga dapat meningkatkan LDL teroksidasi.<sup>37</sup> Subyek dipilih dengan rentang usia 25-44 tahun tanpa membedakan jenis kelamin karena usia rawan terjadinya aterosklerosis adalah usia lebih dari 50 tahun disebabkan karena bertambahnya kerentanan terhadap cedera endotel.<sup>31</sup> Pemilihan subyek dengan IMT 18,5-29,9 kg/m<sup>2</sup>, yang termasuk kategori normal sampai obes tingkat I, karena peneliti kesulitan mendapat subyek IMT normal dengan batas usia yang diinginkan. Pada rentang usia 25-45 tahun seseorang cenderung memiliki berat badan yang meningkat. Tidak dipilih IMT 30 atau lebih karena tingkat obesitas tersebut merupakan faktor risiko tinggi terjadinya PJK.<sup>38</sup>

Dari 158 subyek tersebut kemudian dilakukan seleksi kedua dengan melakukan pemeriksaan tekanan darah dan laboratorium untuk penilaian kadar kolesterol total, gula darah puasa, SGOT, SGPT, ureum dan kreatinin. Sesuai kriteria penelitian maka dipilih subyek dengan kadar kolesterol total batas tinggi dan tidak menderita penyakit diabetes melitus, hipertensi derajat 2, stroke, ginjal, hati dan kardiovaskuler. Pada seleksi tahap kedua ini didapatkan 37 subyek yang memenuhi kriteria penelitian. Satu subyek mengundurkan diri, sehingga seluruhnya berjumlah 36 orang, sesuai dengan besar sampel yang diperlukan.

Pemilihan subyek dengan kadar kolesterol total batas tinggi karena pada kadar ini perlu diwaspadai terjadinya dislipidemia namun belum memerlukan terapi obat. Dari pemeriksaan laboratorium sesudah seleksi subyek diketahui bahwa semua subyek terpilih memiliki kadar kolesterol LDL dalam rentang mendekati optimal sampai tinggi.

Pemilihan subyek yang tidak menderita hipertensi derajat 2 dan stroke karena peningkatan tekanan darah dapat memudahkan cedera endotel akibat proses *remodelling* pembuluh darah yang dapat memudahkan terjadinya LDL teroksidasi

pada sel endotel.<sup>31</sup> Subyek yang tidak menderita penyakit diabetes melitus, ginjal, hati dan kardiovaskuler dipilih karena gangguan proses metabolisme yang disebabkan penyakit-penyakit ini dapat membuat bias hasil penelitian. Pada penyakit-penyakit tersebut, proses cedera endotel pembuluh darah yang merupakan penyebab aterosklerosis telah terjadi.<sup>31</sup>

Pada penelitian ini variabel yang mempengaruhi kadar kolesterol LDL yaitu usia, IMT, merokok, aktivitas fisik dan asupan energi, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol adalah variabel yang dikontrol sehingga penelitian tidak menjadi bias, sedangkan adanya perbedaan hasil merupakan akibat perlakuan yang diberikan.

### 5.3. Karakteristik Demografi dan Asupan Sebelum Perlakuan

Pada karakteristik demografi dan asupan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok sebelum perlakuan sehingga menunjukkan kedua kelompok dalam keadaan homogen/setara. Karakteristik kedua kelompok yang homogen merupakan salah satu syarat dalam uji klinik untuk mendapatkan hasil yang sah.<sup>29</sup> Salah satu cara yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan randomisasi sederhana dengan menggunakan tabel random, sehingga perbedaan yang terjadi pada akhir penelitian adalah akibat perlakuan.

#### 5.3.1. Usia

Penelitian ini memilih subyek dengan rentang usia 25-44 tahun. Pada kelompok perlakuan dengan jumlah subyek 18 orang, subyek dengan usia 25-34 tahun sebanyak 8 orang (44,4%) dan usia 35-44 tahun sebanyak 10 orang (55,6%). Pada kelompok kontrol jumlah subyek 17 orang, subyek yang berusia 25-34 tahun dan 35-44 tahun, masing-masing sebanyak 7 orang (41,2%) dan 10 orang (58,8%). Hal ini sesuai dengan data SKRT 2004 yang mendapatkan prevalensi hiperkolesterolemia meningkat sesuai usia.<sup>2</sup> Pemilihan usia dilakukan dengan pertimbangan bahwa prevalensi hiperkolesterolemia meningkat sesuai dengan peningkatan usia karena bertambahnya usia menyebabkan kerentanan terhadap cedera endotel juga meningkat. Hal ini disebabkan peningkatan *compliance* pembuluh darah terhadap peningkatan tekanan aliran darah,<sup>31</sup> dan menurunnya hormon estrogen pada perempuan.<sup>38</sup>

### 5.3.2. Jenis Kelamin

Subyek penelitian berjumlah 35 orang, terdiri dari delapan subyek laki-laki (22,8%) dan 27 subyek perempuan (77,1%). SKRT 2004 menunjukkan prevalensi hiperkolesterolemia di Indonesia lebih banyak pada perempuan yaitu 14,5% dibandingkan dengan laki-laki 8,6%. Pada penelitian Castilla dkk<sup>9</sup> tidak ditemukan perbedaan pengaruh pemberian jus anggur merah terhadap kadar kolesterol LDL plasma laki-laki dan perempuan. Oleh karena itu pada penelitian ini tidak dibedakan jenis kelamin tetapi digunakan randomisasi sederhana sehingga distribusi jenis kelamin tiap kelompok merata.

### 5.3.3. Tingkat Pendidikan

Tingkat pendidikan subyek pada penelitian ini juga homogen mulai dari tingkat rendah sampai tinggi. Pada kelompok perlakuan, subyek dengan tingkat pendidikan rendah banyaknya satu orang (5,6%), sedang 14 orang (77,8%), dan tinggi tiga orang (16,7%). Pada kelompok kontrol subyek dengan tingkat pendidikan rendah jumlahnya dua orang (11,8%), sedang 11 orang (64,7%), dan tinggi empat orang (23,5%). Tingkat pendidikan ini berpengaruh terhadap derajat kepatuhan subyek pada kelompok kontrol. Dua orang subyek dengan tingkat pendidikan rendah, dan satu orang subyek dengan tingkat pendidikan sedang pada kelompok kontrol tidak menyelesaikan penelitian dengan bermacam alasan.

### 5.3.4. Aktivitas Fisik

Pada penelitian ini aktivitas fisik merupakan variabel perancu yang dikontrol. Dalam hal ini subyek dianjurkan untuk tetap melakukan aktivitas fisik seperti biasa. Dari 35 subyek, sebanyak 11 subyek memiliki indeks aktivitas rendah, 13 subyek cukup, tujuh subyek rata-rata, dua subyek baik, dan dua subyek sangat baik. Sebagian besar subyek penelitian yaitu 24 orang (68,6%) tidak melakukan olahraga secara teratur, sehingga saat dikalikan dengan faktor durasi dan intensitas, didapatkan indeks aktivitas fisik tergolong cukup, di bawah nilai rata-rata (nilai rentang 41-60).<sup>33</sup>

Aktivitas fisik dinilai berdasarkan indeks aktivitas yang meliputi jenis olahraga, frekuensi, intensitas dan durasi. Rendahnya indeks aktivitas subyek penelitian berkaitan erat dengan aktivitas sebagian besar subyek perempuan yang merupakan ibu rumah tangga, yang cenderung tidak melakukan olahraga secara

teratur. Indeks aktivitas fisik yang rendah akan mempengaruhi perhitungan kebutuhan energi total, karena penambahan faktor aktivitas fisik hanya 10%.<sup>33</sup>

Aktivitas fisik yang rendah berperan dalam meningkatkan kadar kolesterol LDL darah dan terjadinya aterosklerosis. Pada Framingham Study, diketahui bahwa risiko PJK meningkat pada orang dengan berbagai faktor risiko seperti merokok atau obesitas, tetapi bila faktor risiko yang ada disertai dengan aktivitas fisik yang teratur maka risiko terjadinya PJK akan menurun.<sup>35</sup>

### 5.3.5. Riwayat Hiperkolesterolemia

Dari 35 subyek penelitian, diketahui sebanyak 15 orang (42,9%) mempunyai riwayat hiperkolesterolemia dalam keluarga. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa hiperkolesterolemia derajat ringan sampai berat dapat disebabkan oleh faktor genetik, terutama hiperkolesterolemia derajat sedang (batas tinggi) sampai berat (sangat tinggi).<sup>24</sup>

### 5.3.6. Asupan Energi dan Zat Gizi Sebelum Perlakuan

Dengan uji t-test tidak berpasangan dan uji Mann Whitney, tidak didapatkan perbedaan asupan energi, lemak serat, kolesterol dan polifenol yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kontrol sebelum perlakuan. Asupan energi kelompok perlakuan  $1155,8 \pm 502,1$  kkal, kelompok kontrol  $1028,9 \pm 288,4$  kkal dengan nilai  $p = 0,566$ . Asupan lemak kelompok perlakuan  $51,2 \pm 22,5$  g, kelompok kontrol  $42,4 \pm 17,3$  g dengan nilai  $p = 0,343$ . Asupan serat kelompok perlakuan  $5,5$  (0,8-16,4) g, kelompok kontrol  $7,1$  (2,9-47,3) g dengan nilai  $p = 0,210$ . Asupan kolesterol kelompok perlakuan  $189,4 \pm 153,5$  mg, kelompok kontrol  $133,2 \pm 99,2$  mg. Asupan polifenol kelompok perlakuan  $71,1$  (2,2-220,4) mg, kelompok kontrol  $45,9$  (12,7-111,2) mg dengan nilai  $p = 0,866$ .

## 5.4. Asupan Energi dan Zat Gizi

### 5.4.1. Penilaian Berdasarkan *Food Record* dan *Food Recall* 2 x 24 jam sebelum perlakuan

Penilaian asupan dengan menggunakan kedua metode tersebut memperlihatkan adanya perbedaan, yaitu nilai rerata asupan energi, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol berdasarkan *food record* lebih tinggi dibandingkan dengan rerata asupan berdasarkan *food recall* 2 x 24 jam. Keterbatasan metoda *food recall* meliputi *recall*

*bias* dan *interviewer bias* menyebabkan hasil penilaian asupan menjadi lebih rendah. Oleh karena itu analisis asupan energi, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol dilakukan dengan menggunakan metode *food record* untuk meminimalkan bias.

#### 5.4.2. Asupan Energi

Penilaian asupan energi dilakukan dengan membandingkan asupan energi subyek dengan kebutuhan energi total per individu. Rerata asupan energi kedua kelompok masih di bawah AKG Indonesia 2004 (2500 kkal)<sup>34</sup> namun bila dilihat dari persentase asupan energi dibandingkan dengan kebutuhan energi total masing-masing subyek, maka asupan tersebut tergolong dalam kategori cukup (80-120% kebutuhan energi total) untuk kelompok perlakuan, dan kurang untuk kelompok kontrol. Asupan energi selama perlakuan pada kelompok perlakuan lebih besar dibandingkan kelompok kontrol disebabkan karena pemberian jus anggur yang memiliki kandungan energi 70 kkal per 100 gram. Asupan energi yang cukup akan memenuhi kebutuhan energi total sehari-hari bila diikuti oleh aktivitas fisik yang sesuai.<sup>40</sup> Sebelum perlakuan 68% subyek memiliki indeks aktivitas fisik di bawah rata-rata dengan asupan energi yang cukup, maka ini mungkin merupakan penyebab sebagian besar (77,1 %) subyek memiliki IMT di atas normal ( $\geq 23 \text{ kg/m}^2$ ) dan meningkatnya risiko terjadinya hiperkolesterolemia.

#### 5.4.3. Asupan Lemak

Rerata asupan lemak subyek pada H0 dan H8 baik kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol, tergolong dalam kategori cukup. Pada H15 terjadi peningkatan asupan lemak subyek kelompok perlakuan, tetapi masih tergolong dalam kategori cukup. Asupan lemak kedua kelompok tidak terdapat perbedaan bermakna. Asupan lemak yang didapat dari konsumsi jus anggur sangat kecil, kurang dari 0,5 g/hari, sehingga adanya peningkatan asupan lemak pada kelompok perlakuan dan kontrol adalah disebabkan karena konsumsi lemak dalam asupan subyek yang memang tidak dikontrol. Asupan lemak berperan dalam meningkatkan kadar kolesterol LDL, sehingga subyek dengan hiperkolesterolemia harus mengonsumsi lemak sesuai dengan anjuran penatalaksanaan hiperkolesterolemia,<sup>4</sup> yaitu 25-35% kalori total. Dari analisis asupan makanan diketahui kedua kelompok mengonsumsi lemak dalam jumlah yang setara. Asupan lemak subyek yang meningkat disebabkan asupan diet

yang tidak dikontrol selama perlakuan. Keseluruhan subyek penelitian mengolah makanan menggunakan minyak kelapa atau kelapa sawit.

#### 5.4.4. Asupan Serat

Asupan serat subyek termasuk kurang bila dibandingkan dengan anjuran penatalaksanaan hiperkolesterolemia.<sup>31</sup> Hal ini disebabkan pada subyek dilakukan pembatasan asupan sejak masa *run-in*. Asupan serat juga dapat menggambarkan asupan buah dan sayur sebagai sumber serat, namun selama penelitian pemberian jus anggur dengan kandungan serat 2,7 g (0,9 g/100g) ternyata tidak terjadi peningkatan asupan serat bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini kemungkinan disebabkan kedua kelompok subyek sebagian besar tidak mengonsumsi sayuran dan buah dalam porsi sesuai anjuran sehingga penambahan asupan serat tidak berpengaruh besar terhadap asupan harian dan proses pengolahan makanan sehingga saat menganalisis asupan makanan tidak terlihat perbedaan asupan serat antara kedua kelompok.

Sebaran subyek berdasarkan asupan serat yang kurang ini juga dapat disebabkan oleh anjuran kecukupan serat dalam jumlah cukup yaitu sekitar 20 gram/1000 kkal per hari,<sup>4</sup> serta angka kecukupan serat usia >1 tahun menurut *Institute of Medicine (IOM)* yaitu 10-14 g/1000 kalori.<sup>42</sup> Angka-angka asupan ini masih cukup tinggi bagi subyek yang tidak terbiasa mengonsumsi sayuran dan buah segar sehingga subyek sulit untuk dicapai.

Asupan serat yang optimal berperan dalam pencegahan PJK secara langsung. Hal ini disebabkan serat mempunyai efek hipokolesterolemia.<sup>43,44</sup> Diet kaya serat, terutama serat larut, atau serat yang ditambahkan dalam makanan (guar, psilium, havermut, dll) dapat menurunkan kadar kolesterol LDL.<sup>44</sup>

#### 5.4.5. Asupan Kolesterol

Asupan kolesterol subyek kedua kelompok sebelum perlakuan telah sesuai dengan yang dianjurkan oleh NCEP ATP III 2001<sup>4</sup> dan PERKENI 2005.<sup>31</sup> Pada tiga kali pengambilan data, terlihat peningkatan asupan kolesterol kelompok kontrol pada H8 di atas anjuran, tetapi pada H15 asupan kolesterol menurun kembali sesuai anjuran asupan.

Beberapa penelitian menunjukkan kontribusi kolesterol bagi peningkatan profil lipid tidak sebesar lemak terutama asam lemak jenuh, karena kolesterol terdapat

dalam jumlah kecil, mg, sementara lipid dalam jumlah gram.<sup>6</sup> Penelitian lain menyatakan diet dengan kandungan kolesterol tinggi berhubungan erat dengan peningkatan kolesterol LDL pada orang dengan risiko tinggi seperti hiperlipidemia dan diabetes, tetapi tidak pada orang sehat, kecuali bila asupan kolesterol >850 -1000 mg per hari.<sup>44</sup>

#### 5.4.6. Asupan Polifenol

Selama dua minggu berturut-turut subyek pada kelompok perlakuan mendapat jus anggur 300 gram per hari. Pada dua hari pertama tiga subyek memerlukan waktu lebih dari 15 menit untuk menghabiskan jus anggur, sementara 15 subyek yang lain menghabiskan jus anggur tersebut dalam waktu kurang dari lima menit. Pada dua hari pertama tiga subyek mengeluh dengan keluhan yang berbeda, sedangkan 15 subyek yang lain tidak mengalami keluhan. Pada hari ketiga dan seterusnya seluruh subyek pada kelompok perlakuan menghabiskan jus anggur dalam waktu kurang dari lima menit dan tidak mengalami keluhan. Seluruh subyek kelompok perlakuan melanjutkan penelitian sampai selesai.

Penilaian asupan polifenol dilakukan secara manual dengan cara menghitung bahan makanan yang mengandung polifenol kemudian disesuaikan dengan nilai dalam tabel daftar bahan makanan sumber polifenol.<sup>10</sup> Metode penilaian ini memiliki keterbatasan karena terdapat kesulitan untuk menentukan jumlah polifenol dalam makanan olahan (sup, gado-gado) dan beberapa bahan makanan tidak diketahui kandungan polifenolnya (pare, leunca). Hal tersebut dapat menimbulkan penilaian yang tidak tepat sehingga terjadi *underestimate* atau *overestimate*.

Hasil penelitian memperlihatkan asupan polifenol sebelum perlakuan berbeda bermakna antara kedua kelompok, tetapi terdapat perbedaan yang bermakna selama perlakuan. Setelah perlakuan, asupan polifenol kelompok perlakuan jauh lebih besar daripada kelompok kontrol, dan terdapat perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) antara kedua kelompok.

Asupan bahan makanan sumber polifenol yang dikonsumsi subyek dikontrol selama masa *run-in* dan perlakuan. Pada seluruh subyek diberikan anjuran untuk tidak mengonsumsi atau perlu membatasi konsumsi bahan-bahan makanan sumber polifenol, termasuk juga suplemen. Hal ini dilakukan agar penelitian tidak bias.



Rerata asupan polifenol subyek penelitian masih di bawah rerata asupan polifenol di Amerika, yaitu sebesar 1 g/hari.<sup>12</sup> Polifenol terdapat pada hampir semua buah dan sayur dalam jumlah yang bervariasi.

Pada penelitian ini jenis anggur yang digunakan adalah anggur *Red Globe* yang kandungan polifenolnya diketahui dari tabel daftar bahan makanan sumber polifenol. Jenis buah anggur merah memiliki kandungan polifenol bervariasi dengan batas terendah 36,12 mg/100 gram sampai tertinggi 275,5 mg/100 gram. Polifenol memiliki tingkat ketidakstabilan yang tinggi, yang menyebabkan kandungannya dalam buah anggur dapat berkurang akibat proses distribusi, transportasi, dan penyimpanan.<sup>7</sup> Hal-hal tersebut menyebabkan kandungan polifenol dalam anggur *Red Globe* yang dikonsumsi tidak diketahui dengan pasti, karena tidak dilakukan pemeriksaan kadar polifenol dalam buah anggur tersebut secara laboratorik.

### 5.5 Indeks Massa Tubuh

Indeks massa tubuh (IMT) subyek berkisar pada nilai rentang 18,5-29,9 kg/m<sup>2</sup>. Distribusi subyek berdasarkan IMT merata pada kelompok perlakuan dan kontrol. Pada akhir penelitian IMT kelompok perlakuan dan kelompok kontrol tidak berbeda bermakna antara sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan dan antara kedua kelompok.

Kategori obesitas untuk penduduk di daerah Asia-Pasifik adalah bila IMT  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>. Obesitas biasanya berkaitan dengan peningkatan kadar kolesterol darah sehingga merupakan salah satu faktor risiko terjadinya penyakit kardiovaskuler. Hal ini disebabkan obesitas meningkatkan kerja enzim lipoproteinlipase untuk meningkatkan penyimpanan lemak dalam sel adiposit. Lemak yang berlebihan mengakibatkan peningkatan kolesterol LDL. Bila keadaan telah jenuh karena kolesterol LDL berlebihan maka akan terjadi *down regulation* pada reseptor LDL dan kolesterol LDL yang tinggi di dalam darah akan mengalami oksidasi oleh senyawa-senyawa oksidan dan menjadi LDL teroksidasi.<sup>37,38</sup>

### 5.6. Penyuluhan

Pada penelitian dilakukan penyuluhan TLC pada kedua kelompok, baik perlakuan maupun kontrol, sekali dalam setiap minggu. Penyuluhan dilakukan dengan disertai pemberian brosur kepada masing-masing subyek tentang pengaturan menu sesuai kebutuhan tubuh dan aktivitas fisik yang dilakukan. Penyuluhan dilakukan tanpa

pengaturan diet pada masing-masing subyek, baik pada kelompok perlakuan maupun kontrol, hanya dilakukan pembatasan diet yang mengandung polifenol, tanpa membatasi jumlah kalori dan jenis asupan. Hal ini menyebabkan subyek pada kelompok perlakuan tidak mengatur pola makannya sesuai anjuran karena merasa sudah mengonsumsi jus anggur sementara subyek kelompok kontrol lebih mengatur pola makannya sesuai penyuluhan yang telah diberikan.

Hasil penelitian memperlihatkan pada kelompok perlakuan dan kontrol yang mendapat penyuluhan TLC, terdapat penurunan kolesterol LDL yang bermakna pada masing-masing kelompok ( $p < 0,05$ ), tetapi perbedaan antara kedua kelompok tidak bermakna.

### 5.7. Kadar Kolesterol LDL

Kolesterol LDL yang meningkat  $>100$  mg/dL akan meningkatkan risiko terjadinya aterosklerosis. Pada kategori mendekati optimal (100-129 mg/dL) aterogenesis sudah dapat terjadi, sedangkan pada batas tinggi (130-159 mg/dL) sampai selanjutnya aterogenesis telah terjadi secara bermakna.<sup>30</sup>

Setelah perlakuan dua minggu berturut-turut hasil penelitian menunjukkan bahwa pada subyek laki-laki dengan kadar kolesterol LDL batas tinggi saat H0 menjadi mendekati optimal dan batas tinggi saat pemeriksaan H15, dan pada subyek perempuan dengan kolesterol LDL mendekati optimal sampai tinggi saat H0 menjadi mendekati optimal dan batas tinggi tanpa ada yang tinggi lagi saat pemeriksaan kolesterol LDL H15. Penurunan kolesterol LDL pada kelompok perlakuan lebih besar daripada kelompok kontrol tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok. Pada analisis perbedaan penurunan kadar kolesterol LDL antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol sebelum dan sesudah perlakuan juga tidak terdapat perbedaan bermakna. Dalam hal penurunan kadar kolesterol LDL sebelum dan sesudah perlakuan tanpa membandingkan kedua kelompok, didapatkan penurunan kadar kolesterol LDL yang bermakna ( $p < 0,05$ ).

Pada penelitian ini didapatkan hasil yang berbeda dengan hasil penelitian Castilla dkk<sup>9</sup> pada subyek sehat dan hiperkolesterolemia yang diberikan polifenol 0,6 g dalam jus anggur 100 mL/hari dalam 14 hari. Penelitian Castilla dkk<sup>9</sup> menunjukkan adanya penurunan kadar kolesterol LDL yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Hasil penelitian ini juga berbeda dengan hasil penelitian Byrne

dkk yang memberikan jus anggur 10 mL/kg BB/hari pada 36 subyek sehat selama 14 hari berturut-turut yang mendapatkan penurunan bermakna kadar kolesterol LDL.

Perbedaan hasil penelitian ini dengan kedua penelitian tersebut dapat disebabkan perbedaan jumlah subyek antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol yang cukup besar, yaitu sebanyak empat orang (11,4%) sehingga kesahihan penelitian berkurang. Penyebab lain adalah karena kandungan polifenol dalam buah anggur sebelum dikonsumsi tidak diketahui secara pasti. Hal ini dapat disebabkan bervariasinya kandungan polifenol buah anggur merah dari 36,1 mg/dL–275,5 mg/dL dan waktu sejak penyimpanan di daerah asal sampai dikonsumsi cukup lama maka kadar polifenolnya dapat berkurang. Perbedaan hasil juga dapat disebabkan riwayat hiperkolesterolemia subyek yang berbeda. Sebanyak 15 subyek memiliki riwayat hiperkolesterolemia dalam keluarga, yang terdistribusi dari hiperkolesterolemia ringan hingga sedang. Faktor genetik memegang peran bagi tidak menurunnya kolesterol LDL secara signifikan pada beberapa subyek.<sup>24</sup>

#### **5.8. Keunggulan Penelitian**

Penelitian ini juga mempunyai keunggulan selain keterbatasan-keterbatasannya, yaitu menggunakan kelompok kontrol, tidak hanya pra dan pasca perlakuan. Buah anggur yang digunakan adalah anggur segar secara utuh termasuk kulit dan bijinya, sehingga kandungan zat gizinya tidak ada yang terbuang, tidak dilakukan penambahan bahan apapun, dan mudah dilakukan. Buah anggur adalah buah yang mudah didapat, biasa dikonsumsi setiap hari, memiliki rasa yang enak, manis, sedikit asam, dan segar.

## BAB 6

### RINGKASAN, SIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Ringkasan

Telah dilakukan suatu penelitian yang merupakan uji klinik paralel, bertujuan untuk mengetahui efek pemberian jus anggur dari 300 gram buah anggur segar terhadap kadar kolesterol LDL pada subyek dengan kadar kolesterol total batas tinggi dengan membandingkan kelompok yang mendapat bentuk jus anggur satu kali sehari selama 14 hari disertai penyuluhan TLC dengan kelompok yang hanya mendapat penyuluhan TLC.

Subyek yang dapat mengikuti penelitian berjumlah 35 orang. Penentuan alokasi subyek penelitian dilakukan dengan randomisasi sederhana, dan didapatkan 18 orang subyek sebagai kelompok perlakuan dan 17 orang subyek sebagai kelompok kontrol. Pada pelaksanaannya, hanya 32 orang yang dapat menyelesaikan penelitian ini. Data karakteristik meliputi usia, jenis kelamin, tingkat pendidikan, aktivitas fisik, dan riwayat hiperkolesterolemia. Asupan energi, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol didapat melalui *food recall* 2 x 24 jam dan *food record*. Selain itu juga dilakukan pengukuran IMT dan pemeriksaan kadar kolesterol LDL. Penilaian asupan energi dan zat gizi dilakukan sebelum perlakuan, setiap minggu selama perlakuan dan sesudah perlakuan. Pengukuran IMT dan kadar kolesterol LDL dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan.

Sebagian besar subyek (57,1%) berusia 35-44 tahun, perempuan lebih banyak daripada laki-laki, tingkat pendidikan subyek mulai dari rendah sampai tinggi, indeks aktivitas fisik subyek sebagian besar rata-rata rendah, berat badan subyek dalam rentang normal sampai obes I. Riwayat hiperkolesterolemia dalam keluarga didapatkan pada 15 subyek. Pada awal penelitian karakteristik data demografi kedua kelompok tidak berbeda bermakna. Hal ini menggambarkan kedua kelompok dalam keadaan setara.

Persentase asupan energi terhadap kebutuhan energi total termasuk kategori cukup pada kelompok perlakuan, dan kurang pada kelompok kontrol. Pada dua hari pertama, terdapat keluhan perut terasa penuh, mual, dan pusing, masing-masing pada satu orang subyek dari kelompok perlakuan, sedangkan 15 subyek lainnya tidak mengalami keluhan. Keluhan tidak terjadi lagi setelah mengkonsumsi jus anggur tujuh hari berturut-turut. Seluruh subyek kelompok perlakuan dapat melanjutkan

penelitian sampai selesai. Didapatkan perbedaan bermakna asupan polifenol selama masa perlakuan, antara kelompok perlakuan dengan kontrol. Kedua kelompok mendapatkan penyuluhan tentang TLC sekali seminggu disertai pemberian brosur kepada masing-masing subyek. Setelah perlakuan selama 14 hari, terjadi penurunan kadar kolesterol LDL pada kedua kelompok, dengan penurunan lebih besar pada kelompok perlakuan daripada kelompok kontrol, tetapi tidak bermakna secara statistik ( $p > 0,05$ ) antara kedua kelompok tersebut.

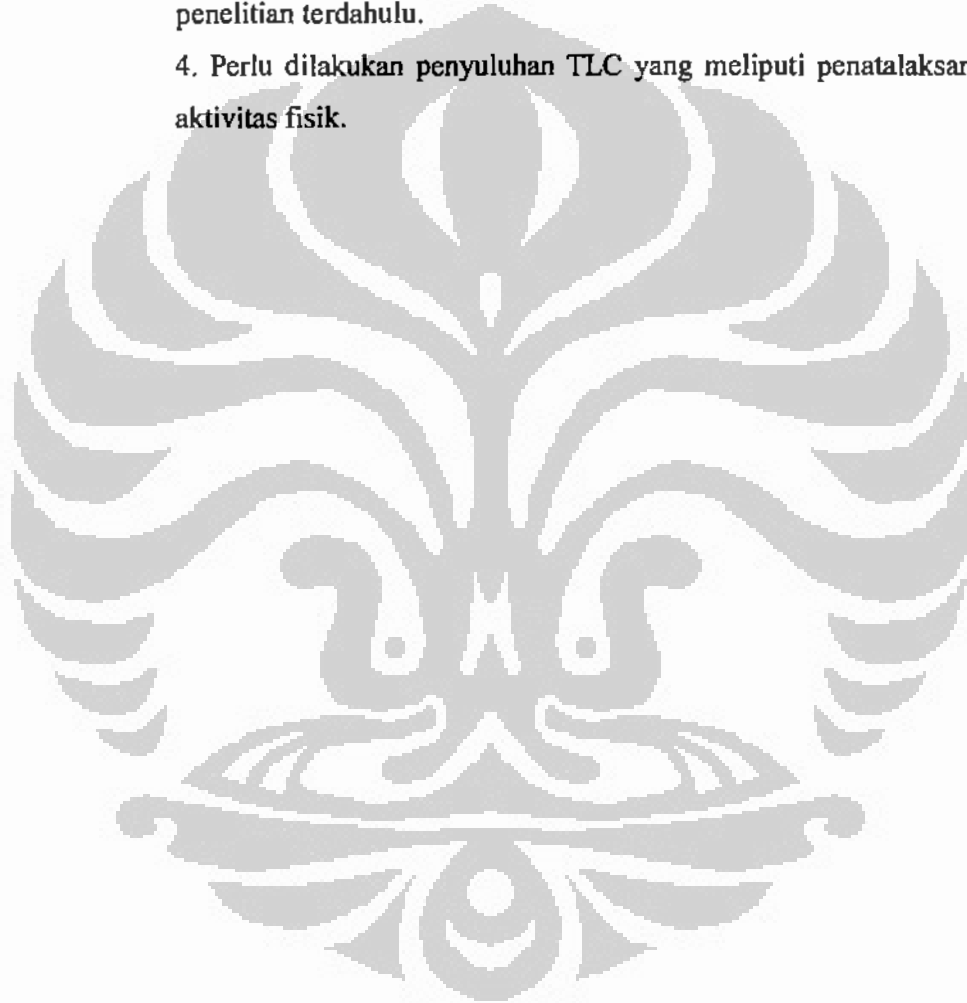
## 6.2. Simpulan

Pada penelitian efek pemberian jus anggur terhadap kadar kolesterol LDL subyek dengan kadar kolesterol total batas tinggi ini, dapat ditarik simpulan sebagai berikut:

1. Usia subyek penelitian adalah 25-44 tahun, jenis kelamin laki-laki dan perempuan, tingkat pendidikan dari rendah sampai tinggi, indeks aktivitas fisik sebagian besar subyek tergolong kategori rendah.
2. Asupan energi, lemak, serat, kolesterol, dan polifenol pada kedua kelompok berdasarkan *food record* lebih tinggi dibandingkan asupan berdasarkan *food recall* 2 x 24 jam.
3. Persentase asupan energi terhadap kebutuhan energi total tergolong cukup pada kelompok perlakuan dan kurang pada kelompok kontrol.
4. Asupan lemak pada kedua kelompok sebelum dan selama perlakuan tergolong cukup, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok.
5. Asupan serat dan kolesterol pada kedua kelompok selama perlakuan tidak berbeda bermakna.
6. Asupan polifenol selama perlakuan lebih tinggi bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol.
7. IMT pada kedua kelompok sebelum dan sesudah perlakuan tidak berbeda bermakna.
8. Terdapat penurunan kadar kolesterol LDL pada kedua kelompok tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna antara keduanya.

### 6.3. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian dengan desain *randomized controlled trial* (RCT) dengan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, teracak ganda, dan pemberian plasebo.
2. Perlu dilakukan pengukuran kadar polifenol secara langsung dengan metode yang telah terukur untuk mengetahui kandungan polifenol dalam bahan makanan sumber.
3. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan jumlah subyek yang lebih banyak dan jus anggur yang kandungan polifenolnya serupa dengan penelitian-penelitian terdahulu.
4. Perlu dilakukan penyuluhan TLC yang meliputi penatalaksanaan diet dan aktivitas fisik.



## SUMMARY, CONCLUSIONS, AND RECOMMENDATIONS

### Summary

A parallel randomized clinical trial was conducted, aiming to investigate the effect of grape juice on LDL-cholesterol level. The study compared subjects in treatment group receiving 300 gram per day of grape juice for fourteen days and nutrition counseling and subjects in control group receiving only nutrition counseling on subjects with borderline total cholesterol levels.

The thirty five subjects were divided into two groups using simple randomization, eighteen subjects in the treatment group and seventeen subjects in control group. Only thirty two subjects were completed the study.

Characteristic data collected including age, sex, education level, physical activity, body mass index, and history of hypercholesterolemia before intervention. Intake of energy, fat, fiber, cholesterol, and polyphenol data were obtained by 2 x 24 hours food recall and food record. Laboratory findings of LDL-cholesterol levels, and body mass index were done before and after intervention.

Most of the subjects (57,14%) age were 35-44 years old, the number of female subjects was larger than males. The subjects have low until high education levels, sufficient physical activity index, and have normal mass body index to obese I. Fifteen subjects have family history of hypercholesterolemia. The characteristics of two groups were closely matched at base line.

The percentage of consumed energy to the recommended of total energy intake were appropriate in the treatment group, and lower in the control group. In the first two day one subject complained of stomach discomfort, one subject was nausea, and one subject had headache, but the other fifteen subjects did not. All subjects did not any complain after consuming of grape juice for seven days. All subjects in the treatment group completed the study. The average intake of polyphenol in the treatment group was significantly higher than the control group. Both of groups received nutrition counseling once per a week and leaflet for every subjects.

After fourteen days of intervention, there was decreased in the LDL-cholesterol levels in both groups, in which it was lower in treatment group than control group but not statistically significant ( $p > 0,05$ ).

## Conclusions

The effect of grape juice on LDL-cholesterol levels in male and female with borderline total cholesterol levels study were concluded that:

1. Age of subjects were 25-44 years old, male and female, low to high education levels and most of subjects had physical activity index below average.
2. The average intake of energy, fat, fiber, cholesterol, dan polyphenol in both of group was higher using food record than food recall 2 x 24 hours.
3. The percentage of energy consumed to total energy was sufficient in the treatment group whereas it was lower in the control group.
4. There was no statistical significant difference intake in fat during the intervention in both groups.
5. There was no statistical significant difference intake in fiber and cholesterol during the intervention in both groups.
6. Intake of polyphenol during intervention in the treatment group were higher than control group and statistical significantly.
7. No different significantly body mass index in both groups before and after intervention.
8. The decrease of LDL-cholesterol was not significantly different between the groups.

## Recommendations.

1. Further study using the gold standar design randomized controlled trial (RCT) by using treatment and control group, double blind, and placebo.
2. Further direct examination of polyphenol concentration with reliable method is required to measure polyphenol content in the food sources.
3. Further study with larger number of subjects is required using polyphenol in grape juice similar with previous studies.
4. Further therapeutic lifestyle changes (TLC) counseling, include nutrition and physical activity.



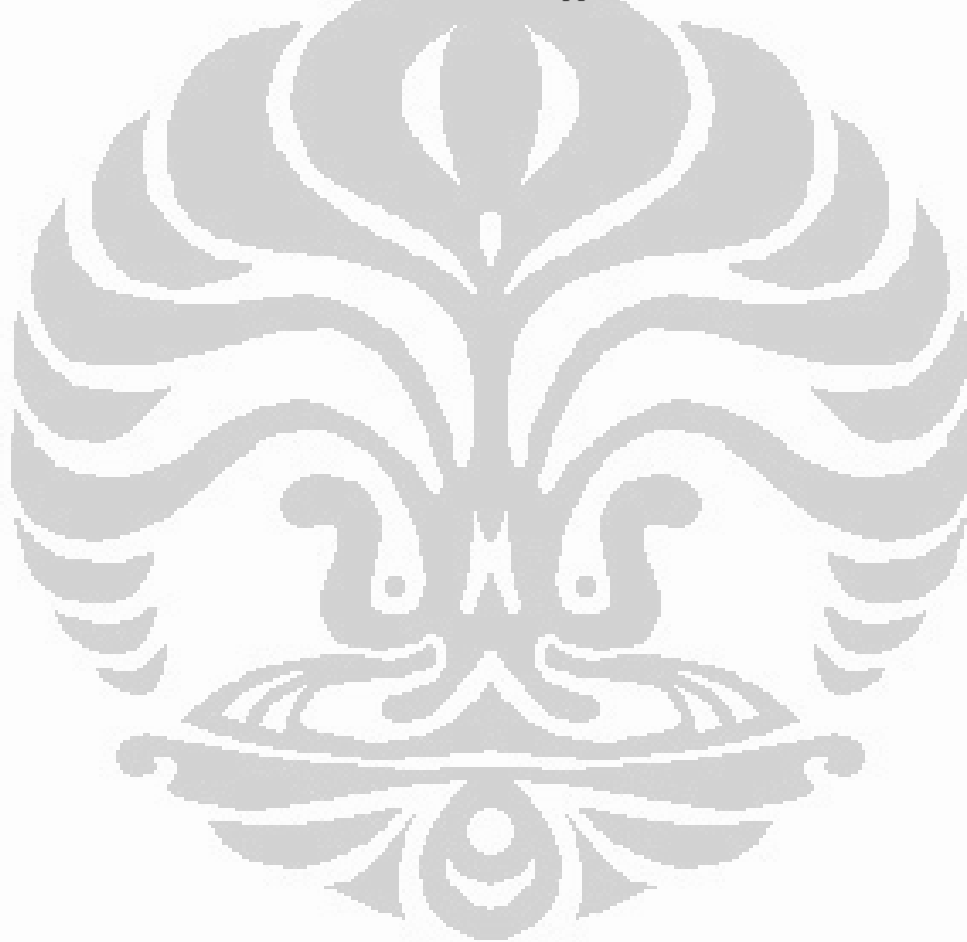
## DAFTAR REFERENSI

1. Krumel DA. Medical Nutrition Therapy for Cardiovascular Disease In: Mahan LK, Escott-Stump S, eds. *Krause's food and nutrition therapy*. 12<sup>th</sup> edition. Missouri: Saunder Elsevier, 2008.pp.833-61.
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 2004*. Volume 2. Jakarta: Litbangkes
3. Lieberman M, Marks AD, Cholesterol absorption, synthesis, metabolism, and fate. In: *Basic medical biochemistry. A Clinical Approach*. Edisi ke-3. Pennsylvania: Lippincott Williams & Wilkin, 2009. pp.634-43.
4. National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel III (ATP III). 2001. Expert panel on detection, evaluation, and intervention of high blood cholesterol in adult.<http://www.NCEP.com> (diakses tanggal 14 Maret 2009)
5. Deen D, Hark L, *The complete guide to nutrition in primary care*. Massachusetts: Blaekwell Publishing, 2007. pp135-55.
6. Katz DL, *Nutrition in clinical practice*. Edisi ke-2. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkin, 2007.pp123-39.
7. Cheynier V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am J Clin Nutr* 2005;81:223S-9S.
8. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C, Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in human.I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 2005;81: 230S-42S.
9. Castilla P, Echarrri R, Davalos A, Cerrato F, Ortega H, Teruel JL, et al. Concentrated red grape juice exerts antioxidant, hypolipidemic, and antiinflammatory effects in both hemodialysis patients and healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2006;84:252-62.
10. Brat P, George S, Bellamy A, Chaffaut LD, Scalbert A, Mennen L, et al. Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *J Nutr* 2006; 136: 2368-73.
11. Cantos E, Espin JC, Tomas-Barberan FA. Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS. *J Agric Food Chem* 2002; 50:5691-6.
12. Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 2000;130:2073S-85S.

13. Byrne DJ, Devaraj S, Grundy SM, Jialal I, Comparison of the antioxidant effects of concord grape juice flavonoids and  $\alpha$ -tocopherol on markers of oxidative stress in healthy adults. *Am J Clin Nutr*; 2002:1367-74.
14. Preuss HG, Wallerstedt D, Talpur N, Tutuncuoglu SO, Eehard B, Myers A, et al. Effects of niacin-bound chromium and grape seed proanthocyanidin extract on the lipid profile oh hypereholesterolemia subjects: a pilot study. *J Med* 2000; 31:227-46.
15. Wijaya KA, *Hortikultura buah-buahan*, Edisi ke-1. Jakarta. Prestasi Pustaka, 2009.h.71-4
16. Cassidy A, Dalais FS, Phytochemicals. In: Gibney MJ, Macdonald IA, Roche HM editors. *Nutrition and metabolism*. Edisi ke-1. Oxford: Blackwell Publishing, 2003.pp 307-17
17. Biesalski HK, Grimm P, *Atlas of nutrition*. Edisi ke-3. Stuttgart. Thieme, 2005.pp 268-71.
18. Higdon J, *An Evidence-Based Approach to dietary phytochemicals*, Edisi ke-1, New York. Thieme Medical Publisher, 2007.pp 186-92.
19. Menen LI, Walker R, Bennetau-Pellisero C, Scalbert A, Risk and safety of polyphenol consumption. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 326S-9S
20. Rajaram S, The effect of vegetarian diet, plant foods, and phytochemicals on hemostasis and thrombosis. *Am J Clin Nutr* 2003; 78(supp):552S-8S
21. Williamson G, Holst B, Dietary reference intake (DRI) value for dietary polyphenols are we heading in the right direction?. *B J of Nutr* 2008; 99:855-58.
22. Joseph JA, Shukitt-Hale B, Casadesus G, Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behaviour: beneficial properties of fruits polyphenolic compounds. *Am J Clin Nutr* 2005;81:313S-6S
23. Grooper SS, Smith JL, Groff JL. *Advanced nutrition and human metabolism*. Edisi ke-5. Belmont:Wadsworth Cengage Learning, 2009:pp.131-77
24. Grundy SM. Nutrition in the management of disorders of serum lipids and lipoproteins In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, editors. *Modern nutrition in health and disease*. 10 th edition. Baltimore, Lippincott Williams and Wilkins, 2006.pp.1076-107
25. Brashers VL. *Clinical applications of pathophysiology: assesment, diagnostic, reasoning, and management*. Edisi ke-2. Missouri:Elsevier Science.2001.
26. Geleijnsense JM, Hollman P, Flavonoids and cardiovasculair health: which compounds, what mechanisms? *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 12-3

27. Rijke YB, Demaeker PNM, Assen NA, Sloots LM, Katan MB, Stalenhoef AF, Red wine consumption does not affect oxidizability of low-density lipoproteins in volunteers. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 329-34
28. Madiyono B, Moesliehan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto HS. Perkiraan Besar Sampel. Dalam: Sastroasmoro S, Ismael S, editor. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*, Edisi ke-2. Jakarta: Sagung Seto, 2002:h.269.
29. Gibson RS. *Principles of Nutritional Assessment*. Edisi ke-2. New York: Oxford University Press, 2005:h.245-69.
30. Nio OK. *Daftar Analisis Bahan Makanan*. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1992:h.1-50.
31. PERKENI. Penatalaksanaan Dislipidemia. *Buku Petunjuk Praktis Penatalaksanaan Dislipidemia*. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2005; Jakarta:h.5-14.
32. WHO-WPRO. The Asia-Pacific Perspective: Redefining Obesity and Its Treatment. *Health Communications Australia*. Pte Limited;2000:p.22 <http://www.diabetes.com> (diakses tanggal 14 Maret 2009).
33. Montoye HJ, Kemper HCG, Saris WHM, Washburn RA. Measuring Physical Activity and Energy Expenditure. *Human Kinetics*, 1996.
34. Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi 2004. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Angka Kecukupan Gizi Indonesia 2004*.
35. Powers SK, Howley ET. *Exercise Physiology*. Edisi ke-3. Missouri WCB/McGraw-Hill, 1996.pp.255-63
36. Grobbee DE, Hoes AW, *Clinical Epidemiology: Principles, Methods and Applications for Clinical Research*. Sudbury: Jones and Bartlett Publishers, 2009.pp.270-87
37. Suryohudoyo P, *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*, Jakarta: Sagung Seto, 2000.h.66-79
38. DeBruyne KL, Pinna K, Whitney E. *Nutrition and Diet Therapy*. Edisi ke-7. Belmont: Wadsworth Thomson Learning, 2008:pp.171-200
39. Whitney E, Rolfes SR. *Understanding Nutrition*. Edisi ke-11. Belmont: Thomson Higher Education, 2008:pp.3-25
40. Frankenfield D. Energy Dynamics. In: Matarese LE, Gottschlich MM, eds. *Contemporary Nutrition Support Practice*. Edisi ke-2. Missouri: Saunders, 2003:pp.77-93

41. Kelley MJ. Lipids. In: Matarese LE, Gottschlich MM, eds. *Contemporary Nutrition Support Practice*. Edisi ke-2. Missouri: Saunders, 2003:pp.112-21
42. Hardinsyah, Tambunan V. Angka Keeukupan Energi, Protein, Lemak, dan Serat Makanan. Dalam: *Ketahanan Pangan dan Gizi di Era Otonomi Daerah dan Globalisasi*. Prosiding Widya Karya Nasional Pangan dan Gizi VIII 2004. h. 317-30.
43. Slavin JL. Dietary Fiber. In: Matarese LE, Gottschlich MM, eds. *Contemporary Nutrition Support Practice*. Edisi ke-2. Missouri: Saunders, 2003:pp. 173-80.
44. Riccardi G, Rivellese A, Williams C. The Cardiovascular System. In: Gibney MJ, Macdonald IA, Roche HM, eds. *Nutrition and Metabolism*. Oxford:Blackwell Science, 2003:pp.224-46



## EFFECT OF GRAPE JUICE ON LDL-CHOLESTEROL LEVELS IN BORDERLINE TOTAL CHOLESTEROL SUBJECTS

Manohara N, Tambunan V, Priyanti AR

### ABSTRACT

**Objective.** To investigate the effect of 300 gram per day grape juice for two weeks on LDL-cholesterol levels in borderline total cholesterol of male and female subjects.

**Methods.** The study was a parallelly randomized clinical trial, consisted of eighteen subjects in the treatment group received grape juices and nutrition counseling (P) with seventeen subjects in the control group received nutrition counseling only (K). Thirty five subjects, member of Cipinang Polri Complex were selected using certain criteria. The subjects were divided into two group using simple randomization. Data collected including age, sex, level of education, physical activity, body mass index, hypercholesterolemic history, and intake of energy, fat, fiber, cholesterol, and polyphenol using 2 x 24 hours food recall and food record. Body mass index and laboratory findings (LDL-cholesterol levels) were done before and after intervention. For statistical analysis, unpaired t-test and Mann Whitney were used. The level of significance was 5%.

**Results.** Eighteen subjects in the treatment group and fourteen subjects in the control group were completed the study. The physical activity index in both groups were sufficient. The characteristic of the two groups were closely matched at base line ( $p > 0,05$ ). After fourteen days of treatment, all subjects in the treatment group had energy intake meet the requirement of  $89,1 \pm 21,6$  % whereas the control group average did not  $78,8 \pm 17,2$  %. Intake of fat in both groups was sufficient, except in second week of treatment, the control group had above recommended intake. Intake of fiber and cholesterol in both group was not significantly different. The average intake of polyphenol in the treatment group increased significantly higher than in the control group  $631,9$  ( $594,4-753,4$ ) and  $63,1$  ( $4,5-140,4$ ) mg/day respectively. There was a greater decrease in LDL-cholesterol levels in the treatment group compared to the control group, although not statistically significant ( $p > 0,05$ ).

**Conclusions.** There was increases polyphenol intake which higher in the treatment group than control group and the effects of 300 gram per day grape juice for two weeks decrease LDL-cholesterol in the treatment group higher compared to the control but was not significantly ( $p > 0,05$ ).

**Keywords.** total cholesterol, grape juice, polyphenol, LDL-cholesterol level.

### INTRODUCTION

Hypercholesterolemia is the main risk for cardiovascular disease.<sup>1</sup> Prevalence of hypercholesterolemia in Indonesia at 25-34 years old was 9,3% and at 35-44 years old was 10,8%, and have positive correlation between age. The prevalence of hypercholesterolemia in women higher than man (14,5% than 8,6%).<sup>2</sup>

Hypercholesterolemia is usually defined as a increase LDL-cholesterol level  $\geq 130$  mg/dL that may get fatty streak and oxidation to trigger atherosclerosis. LDL-cholesterol is the biggest cholesterol in total cholesterol and the 10% decrease of total cholesterol may decrease cardiovascular risk 30%, so

the borderline total cholesterol must more attention.<sup>3</sup> Because of LDL-cholesterol is the biggest cholesterol in total cholesterol so borderline LDL-cholesterol must more attention too.<sup>4</sup> Cardiovascular can be prevent by modification lifestyle changes with physical activity and dietary lifestyle.<sup>5</sup> Diet influence the pathogenesis of cardiovascular disease, fatty streak was influenced oxidation LDL of free radical and all of can be modified by diet.<sup>6</sup>

Many diets content of antioxidant can prevent oxidation LDL-cholesterol by free radical.<sup>7</sup> Polyphenol is one of antioxidant to prevent the degenerative disease<sup>8</sup> because they can protect oxidation of LDL-cholesterol.<sup>9</sup>

Polyphenol is abundant in the plant, include grape.<sup>10</sup> Grape rich of polyphenol,<sup>11</sup> and divide of two subclass, flavonoid and non flavonoid.<sup>12</sup>

Many study had done to investigate polyphenol for hypercholesterolemia therapy. Castilla et al<sup>9</sup> studied the effects 100 mg of juice grape on hypercholesterolemia and healthy subjects, showed significant decreases of LDL-cholesterol and total cholesterol after two weeks. Byrne et al<sup>13</sup> studied the effect of grape juice 10 ml/kg/BW on healthy subjects for two weeks, showed significant decrease of oxidized LDL but not significant in LDL-cholesterol level. Preuss et al<sup>10</sup> studied the effects of grape seed extract on hypercholesterolemia patients for eight weeks, showed significant decreased LDL-cholesterol and total cholesterol.

The study was a parallelly randomized clinical trial, compared subjects in treatment group received 300 gram per day grape juices for two weeks and nutrition counseling (P), with subjects in control group received nutrition counseling only (K) on male and female member of Cipinang Polri Complex.

## **METHODS**

### **Subjects**

The study was a parallelly randomized clinical trial, compared the treatment group received 300 gram per day grape juices for two weeks and nutrition counseling with the control group received nutrition counseling only. One hundred and fifty eight subjects were participated and all subjects proposed written informed consent. Exclusion criteria were consumed drug and supplement influence lipid metabolism, consumed antioxidant for two days, any hypertension, diabetes mellitus, liver, cardiovascular history, smoking, and pregnancy. The final study group consisted of thirty final subjects were selected using certain criteria, and the subjects were divided into two group using simple randomization. Eighteen subjects in the treatment group and seventeen subjects in the control group. After two weeks intervention, eighteen subjects in the treatment group and fourteen subjects in the control group were completed the study.

### **Study Measurements**

Selected subjects were completed a questionnaire of demographic information. Physical activity was ascertained with the use of three questions. These questions aimed to quantify the frequency, duration, and intensity. Body weight and height were measured to determine the body mass index (BMI). The subjects completed a self-administered questionnaire on dietary habits using food record and 2 x 24 hours food recall to determine the energy, fat, fiber, cholesterol, and polyphenol intake.

Laboratory findings were begun after 10-12 hours overnight fast. Venous blood samples (5 mL fasting blood) was drawn for LDL-cholesterol level. Laboratory findings were done before and after intervention.

Body mass index was measured before and after intervention. Intake of energy, fat, fiber, cholesterol, and polyphenol was measured every week by food record.

#### Statistical Analysis

All statistical calculation were performed with Statistical Package for Social Science (SPSS version 11.5) software. The normality test were assessed by Kolmogorov-Smirnov test. Differences in mean values were assessed by unpaired t-test for the normal distributed data or Mann Whitney for the abnormal one. Values of  $p < 0,05$  were considered to indicate statistical significance.

## RESULTS

Most of the subjects age were 35-44 years old, the number of female subjects was larger than males. The subjects have low until high education levels and the physical activity index in both groups is categorized as sufficient.

Table 1. Characteristic of base line

Variabel	Treatment	Control
Age (years old)		
• 25-34	8 (44,4%)	7 (41,2%)
• 35-44	10 (55,6%)	10 (58,8%)
Sex		
• Male	4 (22,2%)	4 (23,5%)
• Female	14 (77,8%)	13 (76,5%)
Education level		
• Low	1 (5,6%)	2 (11,8%)
• Middle	14 (77,8%)	11 (64,7%)
• High	3 (16,7%)	4 (23,5%)
BMI		
• 18,5-22,9	5 (27,8%)	9 (52,9%)
• 23-24,9	5 (27,8%)	2 (11,8%)
• 25-29,9	8 (44,4%)	6 (35,3%)
Physical Activity		
• Low	3 (16,7%)	8 (47,1%)
• Sufficient	8 (44,4%)	5 (29,4%)
• Average	5 (27,8%)	2 (11,8%)
• Good	1 (5,6%)	1 (5,9%)
• Very good	1 (5,6%)	1 (5,9%)
Hypercholesterolemia History		
• Yes	8 (44,4%)	7 (41,2%)
• No	10 (55,6%)	10 (58,8%)

The characteristic of two groups were closely matched at base line.

Table 2. Average of energy, fat, fiber, eholesterol, and polyphenol intake using food record and 2 x 24 hours food recall before intervension

Variabel	Food Record		Food Recall 2 x 24 jam	
	Treatment	Control	Treatment	Control
Energy (kkal)	1155,8±502,1	1028,9±288,4	1153,0±433,4	1207,9±526,9
Fat (g)	51,2±22,5	42,4±17,3	46,7(17,0-95,7)	48,3(13,0-141,5)
Fiber (g)	5,5(0,8-16,4)	7,1(2,9-47,3)	5,4(0,9-16,1)	6,1(1,7-10,8)
Chlesterol (mg)	189,4±153,5	133,2±99,2	59,3(10,7-293,2)	66,3(6,0-317,0)
Polyphenol (mg)	71,1(2,2-220,4)	45,9(12,7-111,2)	67,7(0,7-267,6)	73,7(8,5-143,1)

The analysis of nutrien intake using food reoord was higher than 2 x 24 hours food recall. To determine the average of nutrien intake food reoord was used to minimize bias.

Tabel 3. Energy intake, percentage of total energy expenditure, Fat, Fiber, Cholesterol, and Polyphenol intake

Variabel	Treatment	Control	p value
Energy (kkal)			
H 0	1155,8±502,1	1028,9±288,4	0,566
H 8	1459,9±462,6	1289,7±289,8	0,249
H 15	1456±378,4	1237,4±524,8	0,179
Percentage of TEE (%)	89,1±21,6	78,8±17,2	0,155
Fat (g)			
H 0	51,2±22,5	42,4±17,3	0,343
H 8	55,8±23,5	54,2±15,6	0,806
H 15	60,1±21,1	54,3±26,4	0,419
Fiber (g)			
H 0	5,5 (0,8-16,4)	7,1 (2,9-47,3)	0,210
H 8	9,2 (4,5-24,1)	7,3 (3,1-14,0)	0,088
H 15	7,4 (3,7-14,1)	6,3 (2,0-9,9)	0,055
Cholesterol (mg)			
H 0	189,4±153,5	133,2±99,2	0,210
H 8	143,1±87,5	206,5±168,6	0,190
H 15	152,1±90,2	124,7±88,6	0,399
Polyphenol (mg)			
H 0	71,1 (2,2-220,4)	45,9 (12,7-111,2)	0,869
H 8	625,6 (590,1-893,2)	37,2 (1,0-147,2)	0,000*
H 15	631,9 (594,4-753,4)	63,1 (4,5-140,4)	0,000*

The average of energy, fat, fiber, and eholesterol intake in both groups were not significant. Polyphenol intake were not significant in both of groups before intervention and after intervention in treatment group increases significantly compared to control.



Tabel 4. Body Mass Index and p Value

Variabel	Treatment	Control	p Value
IMT			
H 0	24,7±2,6	23,6±4,4	0,338
H 15	24,5±2,3	23,4±4,4	0,435

Body mass index in both of groups were not significant before and after intervention.

Tabel 6. LDL-cholesterol level (mg/dL)

Variabel	Treatment	Control	p value
Cholesterol LDL			
H 0	143,5 (104,0-162,0)	140,0 (127,0-160,0)	0,364
H 15	130,7±12,3	131,5±11,9	0,849

There were decrease of LDL-cholesterol level which higher in the treatment group compared to control group, although has not statistically been proven yet.

Tabel 7. Variabel in Treatment and Control Group

Variabel	Treatment	Control
Grape Juice	300 gram per day	-
Nutrition Counseling	Once per week	Once per week
Leaflet	Once per week	Once per week

## DISCUSSION

The study limitations was not used placebo in the control group because it difficult to made placebo product. The dosage polyphenol just determine using polyphenol table contents because it couldn't examined directly. The analysis of nutrien intake using 2 x 24 hours food recall have limitations included (1) recall bias, subjects forgot or was not reported all of food which they eat, it could be minimize using food reoord, (2) interviewer bias, different perception between interviewer and subject, it could be minimize using food models.<sup>29</sup> The limitations of nutrisurvey 2007 programe which used to determine the nutrien intake was difficult to found the local foodstuff in this programe, thereafter analysis was done by self-estimate of foodstuff portion.

Confounding variables in this study included age, BMI, cholesterol total level, smoking, pregnancy, and past history illness. Polyphenol intake were controlled by restriction using exclusion eriteria so the results were not bias.<sup>22</sup> The chracterietic data of the two groups at base line were not significant so it were closely mathced at base line.

Age of the subjects were 25-44 years old. Prevalence of hypercholesterolemia have positive correlation between age, because of increase vasculair compliance and decrease of estrogen product. BMI subjects was normal

to obese grade 1 (18,5-29,9 kg/m<sup>2</sup>). Female subjects higher than male. Level of education subjects low to high. Physical activity index was sufficient because most of the subject have irregular exercise. Total energy expenditure (TEE) was determine using 10% of physical activity factor. Fifteen subjects have family history of hypercholesterolemia.

The average of energy intake was lower than Indonesian RDA 2004, because the physical activity index subject was sufficient (below the average). The percentage of TEE was normal (80-120%) in the treatment group whereas the control group was below but no significant between both of groups. Before intervention 68% subjects have physical activity index below the average with intake energy was sufficient, and most of the subjects have body mass index >23 kg/m<sup>2</sup>. Energy intake and body weight have positive correlation.

Intake of fat subjects increase after intervention, although fat of grape only 0,5 g/day because intake of fat was not controlled. Intake of fat increase LDL-cholesterol level. Both of group consumed fat balance and homogen.

Intake of fiber both of groups were low than hypercholesterolemia diet,<sup>31</sup> and were not significant for both of groups, although treatment group consumed grape juice, but fiber in grape juice only 0,9 g/100 g. Fiber had hypercholesterolemia effect to prevent cardiovascular disease. Intake of cholesterol both of group <200 mg/day.

Intake of polyphenol treatment group higher than control group after intervention, they were different significant. Analysis polyphenol using polyphenol foodstuff table and the limitation were difficult to determining the portion in foodstuff, and it could overestimate or underestimate. Polyphenol had a high unstable because of distribution, transportation and storage. The side effects of grape juice were nausea and stomach gastritis, but no subjects did it.

Nutrition counseling was given once per week for both of groups with leaflet for every subjects. Nutrition without control the diet, only limiting for diet containing polyphenol.

After two weeks intervention, there were decrease LDL-cholesterol level which higher in the treatment group, although has not statistically been proven yet. This results is different to Castilla et al<sup>9</sup> study and Webb et al<sup>13</sup> study who had found decrease of LDL-cholesterol level significant after grape juice containing polyphenol supplementation.

In conclusions, the effects of 300 gram per day grape juice for two weeks decrease LDL-cholesterol level in both of groups, higher in the treatment group, but they were not significant..



# UNIVERSITAS INDONESIA

## FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Salemba Raya No. 6 Jakarta Pusat

Pos Box 1358 Jakarta 10430

Kampus Salemba Telp. 31930371, 31930373, 3922977, 3927360, 3912477, 3153236, Fax : 31930372, 3157288, e-mail : office@fk.ui.ac.id

NOMOR : 170 IPT02.FK/ETIK/2009

### KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

#### ETHICAL — CLEARANCE

Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

*The Committee of The Medical research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled:*

*"Efek pemberian jus anggur terhadap perubahan kadar kolesterol LDL subyek dengan kadar kolesterol total batas tinggi".*

Peneliti Utama : dr.Niken Manohara  
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Ilmu Gizi FKUI/RSCM

dan telah menyetujui protocol tersebut di atas.  
and approved the above mentioned proposal.

Jakarta, .... 4 Mei 2009.....



Chairman  
Ketua

Prof. Dr. Agus Firmansyah, SpA(K)

**-Peneliti wajib menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian.**

Universitas Indonesia

**Lampiran 2.**

**Formulir A1. Lembar informasi penelitian**

**INFORMASI PENELITIAN**

Yth. Bapak dan ibu sekalian,

Bersama ini kami sampaikan bahwa hiperkolesterolemia adalah keadaan dimana terjadi peningkatan kolesterol LDL, yang mana hal ini dapat terjadi pada berbagai tingkatan usia dan prevalensinya meningkat sejalan dengan pertambahan usia. Hiperkolesterolemia bila berlanjut dapat berisiko terjadinya penyakit jantung koroner.

Sehubungan dengan hal tersebut kami akan melakukan penelitian pada laki-laki dan perempuan berusia 25-44 tahun selama dua minggu tentang upaya pencegahan terjadinya hiperkolesterolemia dengan penelitian berjudul :

**EFEK PEMBERIAN JUS ANGGUR TERHADAP PERUBAHAN KADAR KOLESTEROL LDL SUBYEK DENGAN KOLESTEROL TOTAL BATAS TINGGI**

Apabila Bapak Ibu bersedia mengikuti penelitian ini maka akan dilakukan:

1. Wawancara sebanyak tiga kali untuk mengetahui data-data dan asupan makanan.
2. Pemeriksaan fisik
3. Pengambilan darah sebanyak tiga kali
4. Pemeriksaan berat badan (dua kali) dan tinggi badan (satu kali).
5. Pemberian jus anggur dari buah anggur segar 300 gram per hari yang harus dikonsumsi terus menerus selama 14 hari.

Akibat pengambilan darah mungkin Bapak Ibu akan merasakan sedikit ketidaknyaman atau sakit, namun hal itu dapat diminimalkan dengan pengambilan darah oleh tenaga yang terlatih dan menggunakan jarum suntik yang steril dan kecil.

Keikutsertaan Bapak Ibu dalam penelitian ini adalah bersifat sukarela dan Bapak Ibu dapat menolak atau mengundurkan diri selama proses penelitian berlangsung.

Keuntungan bagi Bapak Ibu apabila mengikuti penelitian ini adalah dapat mengetahui keadaan kesehatan dan mencegah peningkatan kolesterol darah.

Semua data pada penelitian ini adalah bersifat rahasia

Apabila Bapak Ibu bersedia mengikuti penelitian ini maka kami mohon kesediaannya untuk menanda tangani surat persetujuan menjadi peserta penelitian.

Hal hal yang belum jelas dapat ditanyakan langsung atau melalui telepon kepada penanggung jawab penelitian ini dr. Niken Manohara melalui Dept. Ilmu Gizi FKUI telp. 021-31930208, atau HP 08127072005.

Atas kesediaan Bapak Ibu kami ucapkan terima kasih.

**Lampiran 2.**

**Formulir A2. Lembar Persetujuan**

**LEMBAR PERSETUJUAN**

**EFEK PEMBERIAN JUS ANGGUR TERHADAP PERUBAHAN KADAR  
KOLESTEROL LDL SUBYEK DENGAN KOLESTEROL TOTAL BATAS  
TINGGI**

Departemen Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia  
Jl. Salemba Raya 6, Jakarta. Tel. 021-31930208

---

**SURAT PERSETUJUAN MENJADI PESERTA PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama :

Usia :

Alamat :

Setelah mendengar dan membaca penjelasan mengenai tujuan dan manfaat penelitian di atas, maka dengan sukarela menyetujui diikutsertakan dalam penelitian tersebut, dengan catatan apabila sewaktu-waktu dirugikan berhak membatalkan persetujuan ini.

Mengetahui  
Penanggung jawab

(dr. Niken Manohara)

Saksi

(.....)

Jakarta,.....2009

Menyetujui  
Peserta penelitian

(.....)

**Lampiran 2.**

**Formulir A3. Lembar Data Karakteristik Subyek**

**DATA KARAKTERISTIK SUBYEK**

**Tanggal Pemeriksaan** :

**No. Kode Subyek** :

**IDENTITAS**

**Nama** : \_\_\_\_\_

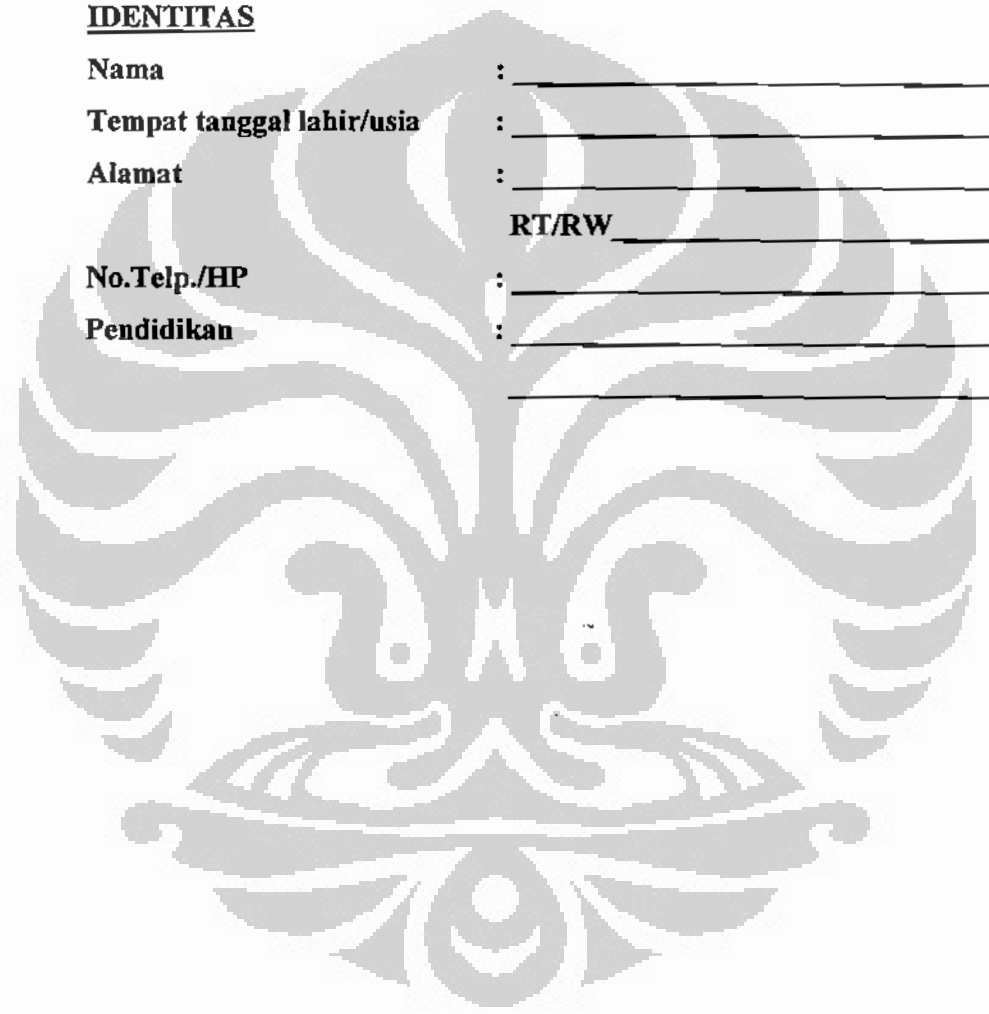
**Tempat tanggal lahir/usia** : \_\_\_\_\_

**Alamat** : \_\_\_\_\_

**RT/RW** \_\_\_\_\_

**No.Telp./HP** : \_\_\_\_\_

**Pendidikan** : \_\_\_\_\_



**Lampiran 2.****Formulir A4. Lembar Seleksi berdasarkan kriteria penerimaan dan penolakan****LEMBAR SELEKSI SUBYEK**

Tanggal pemeriksaan :

Nama subyek :

Alamat :

No. Kode subyek :

**Kriteria penerimaan**

- |                                                                |          |
|----------------------------------------------------------------|----------|
| 1. Subyek berusia antara 25-44 tahun                           | Ya/Tidak |
| 2. Apakah subyek memiliki IMT antara 18-29,9 kg/m <sup>2</sup> | Ya/Tidak |
| 3. Apakah kolestrol total subyek 200-239 mg/dL                 | Ya/Tidak |
| 4. Menyetujui lembar persetujuan                               | Ya/Tidak |

**Kriteria penolakan**

- |                                                                 |          |
|-----------------------------------------------------------------|----------|
| 1. Sedang mengonsumsi obat yang mempengaruhi metabolisme lemak? | Ya/Tidak |
| 2. TD1=..... TD2=..... TD rata-rata=                            |          |
| 3. Pernah menderita penyakit kencing manis                      | Ya/Tidak |
| 4. Pernah menderita penyakit darah tinggi                       | Ya/Tidak |
| 5. Pernah menderita penyakit stroke                             | Ya/Tidak |
| 6. Pernah menderita penyakit ginjal                             | Ya/Tidak |
| 7. Pernah menderita penyakit hati                               | Ya/Tidak |
| 8. Pernah menderita penyakit jantung                            | Ya/Tidak |
| 9. Gula Darah Puasa Normal                                      | Ya/Tidak |
| 10. Ureum/ Kreatinin Normal                                     | Ya/Tidak |
| 11. SGOT/SGPT Normal                                            | Ya/Tidak |
| 12. Merokok                                                     | Ya/Tidak |
| 13. Perempuan sedang hamil                                      | Ya/Tidak |

Memenuhi kriteria sebagai partisipan program jus anggur Ya/Tidak

Pemeriksa:

## Lampiran 3.

Formulir B2. Lembar Asupan Makanan (*food recall 2x24 jam*)LEMBAR ASUPAN MAKANAN

Nama subyek :

Umur :

No.kode subyek :

Waktu	Jenis makanan	Tanggal Jumlah Porsi / URT	Tanggal Jumlah Porsi /URT
Pagi Jam	<b>Makanan pokok</b> 1.Nasi 2. <b>Lauk pauk</b> 1. 2. <b>Sayuran</b> 1. 2. <b>Buah-buahan</b> 1. 2. <b>Minuman</b> 1. 2		
Selingan Jam			
Siang Jam	<b>Makanan pokok</b> 1. 2. <b>Lauk pauk</b>		



<p><b>Selingan Jam</b></p>	<p>1. 2. 3. <b>Sayuran</b> 1. 2. <b>Buah-buahan</b> 1. 2. <b>Minuman</b> 1. 2.</p>		
<p><b>Malam Jam</b></p>	<p><b>Makanan pokok</b> 1.Nasi 2. <b>Lauk pauk</b> 1. 2. <b>Sayuran</b> 1. 2. <b>Buah-buahan</b> 1. 2. <b>Minuman</b> 1. 2.</p>		

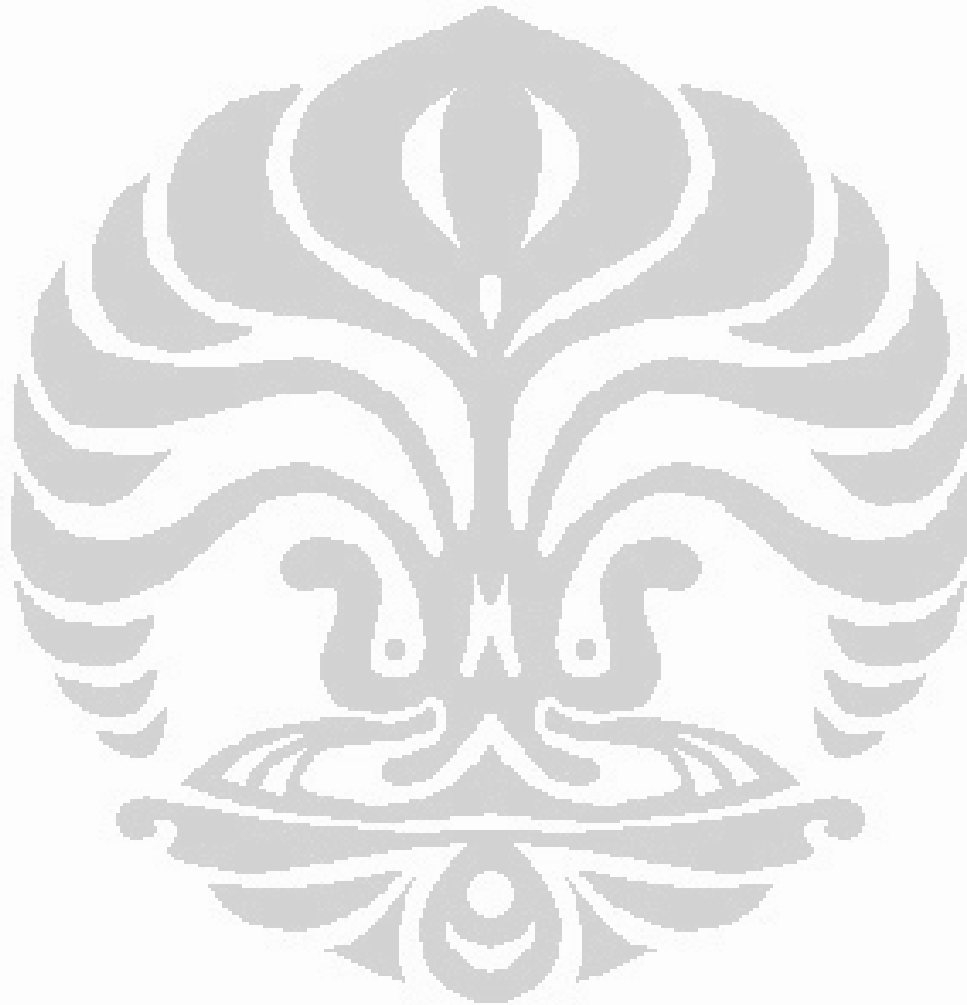
**Keterangan :**

**URT : ukuran rumah tangga**

**1 piring, 1 gelas, 1 sendok makan, dll.**

**Pemeriksa :**

**Tanggal pemeriksaan :**



**Universitas Indonesia**

**Lampiran 3.**

**Formulir B3. Lembar catatan asupan makanan (food record)**

**LEMBAR CATATAN ASUPAN MAKANAN**

**Nama subyek :**

**Umur :**

**No.kode subyek :**

<b>Tanggal</b>	<b>Jam</b>	<b>Nama makanan</b>	<b>Bahan makanan</b>	<b>URT</b>

**Pemeriksa :**

**Tanggal pemeriksaan :**

**Lampiran 3.**

**Formulir B4. Lembar keluhan dan kepatuhan subyek**

**KELUHAN DAN KEPATUHAN SUBYEK**

**Nama :**  
**Umur :**  
**No. Kode subyek :**  
**Pemeriksaan : 1 / 2**

No.	Jus Anggur		Keluhan
	Ya	Tidak	
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			
11.			
12.			
13.			
14.			

**Pemeriksa :**  
**Tanggal Pemeriksaan :**

**Lampiran 4.****Formulir C1. Lembar basil pemeriksaan fisik****PEMERIKSAAN FISIK****Nama :****Umur :****No. Kode subyek :**

<b>Pemeriksaan Fisik</b>	<b>Kondisi (normal/tidak)</b>	<b>Keterangan</b>
<b>Mata</b>		
<b>Telinga, Hidung</b>		
<b>Tenggorokan</b>		
<b>Thorax</b>		
<b>Abdomen</b>		
<b>Kulit</b>		
<b>Ekstremitas</b>		
<b>Lain-lain, sebutkan</b>		

**Pemeriksa :****Tanggal periksa :**

**Lampiran 4.****Formulir C2. Lembar data antropometri BB, TB, IMT****PEMERIKSAAN ANTROPOMETRI**

Nama :

Umur :

No. Kode subyek :

Pemeriksaan	H0	H15
Berat Badan I (kg)		
Berat Badan II (kg)		
Berat badan rata-rata (kg)		
Tinggi Badan (cm)		
Indeks Massa Tubuh ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )		

Pemeriksa :

Tanggal Pemeriksaan :

**Lampiran 4.**

**Formulir C3. Lembar data laboratorium.**

**PEMERIKSAAN LABORATORIUM**

**Nama :**  
**Umur :**  
**No. Kode subyek :**

**Pra Penelitian**  
**Kolesterol total :**  
**Gula Darah Puasa :**  
**SGOT :**  
**SGPT :**  
**Ureum :**  
**Kreatinin :**

Pemeriksaan	Pra perlakuan (H0)	Pasca perlakuan (H15)
Kolesterol LDL (mg/dL)		

**Pemeriksa :**  
**Tanggal Pemeriksaan :**

## Lampiran 5.

**PROSEDUR RANDOMISASI SEDERHANA**

1. Pemilihan subyek dilakukan sesuai kriteria penelitian.
2. Subyek yang terpilih kemudian dilakukan randomisasi sederhana untuk 2 kelompok.
3. Kelompok P: untuk angka 0-4, kelompok K: untuk angka 5-9
4. Dengan mata tertutup ditunjuk satu titik yang terletak pada tabel angka random, misal tertunjuk baris pertama kolom pertama, kemudian dibaca ke kanan 927415956121168117 dan seterusnya, dengan demikian maka urutan kelompok adalah: KPKPPKKKKPPPPKKPPK dan seterusnya.

TABEL ANGKA RANDOM

927415	058121	168117	189280	326569	266541
926937	515107	014658	159944	821115	317592
867189	388342	832261	993050	639410	098989
887169	542747	032683	131188	926198	371071
512500	643384	085301	398488	774767	383387
082454	423050	870884	840940	845839	979662
806702	881309	772977	367506	729830	457758
837615	163631	622143	938278	231305	219737
926839	453853	767825	284718	910182	467113
854613	731620	978100	589512	147694	389180
851595	452454	262448	686990	481777	647847
449353	556695	608050	123754	722070	935916
169118	586865	756231	469281	258737	989450
139470	358095	528858	660128	342072	681203
433775	761881	107191	515960	759056	150336
221922	232624	398839	495004	881970	792001
740207	078048	854928	875559	246288	000144
525873	755998	866034	444933	785944	018016
734185	499711	254256	616625	243045	251938
773112	463657	781983	078184	380752	492215
638951	982155	747821	773030	594005	526828
868888	769341	477811	628714	250645	853454
611034	167642	701316	589251	330456	681722
379280	955292	564549	565401	320855	215201
411257	411484	068629	050150	106933	900095
407107	435509	578642	268724	366564	511815
895893	438644	330273	590506	820439	976891
986683	830515	284065	813310	554920	111395
335421	814351	508062	663801	365001	924418
027560	793888	507773	975109	825175	552278
957559	263000	471608	868683	146821	034587
694904	499959	950969	085327	352611	335924
863018	494928	871064	655892	076333	990558
876958	865769	882866	236535	541645	819783
619813	221175	370697	566925	705564	472934
476626	046911	337167	865652	195448	116729
578292	863854	145858	206557	430843	591126
286553	961699	232269	819656	867825	890737
819064	712344	033613	457019	478176	342104
383035	043025	201591	127424	771948	762990



## Lampiran 6.

Diet Therapeutic Lifestyle Changes (TLC)

<b>Makanan dikonsumsi lebih sering</b>	<b>Makanan yang harus dikurangi</b>
<b>Roti dan Cereals</b> Pasta, nasi, kentang, roti rendah lemak	Donat, biskuit, <i>pie</i> , <i>cookies</i> , <i>croissant</i>
<b>Sayur dan buah</b> Sayur 5 kali sehari tanpa penambahan gula, garam, saus. Buah 4 kali sehari	Sayur disajikan dengan mentega, keju ataupun saus Buah kering disajikan dengan krim
<b>Makanan harian</b> Bebas lemak, susu rendah lemak, keju rendah lemak 1%, yoghurt rendah lemak	Susu full krim, es krim, krim, keju tinggi lemak
<b>Telur</b> Kuning telur < 2 butir/minggu	> 3 kuning telur/minggu, telur utuh.
<b>Daging dan ikan</b> < 6 ons/hari Daging pilih terutama potong tipis Ayam tanpa kulit Ikan diperbanyak Kerang tanpa penambahan saus	Daging steak : hamburger, hot dog, organ dalam, otak, dan semua penyajian digoreng. Ikan digoreng Ayam dengan kulitnya
<b>Lemak dan Minyak</b> Sesuaikan dengan kebutuhan kalori Minyak non SAFA Salad <i>dressing</i> Minyak biji-bijian, kacang, minyak sayur	<i>Butter</i> , <i>shortening</i> , margarin, minyak trans.

## Lampiran 7.

**Konsumsi Makanan masa *Run-in* dan Perlakuan**

Jenis makanan	Tidak dikonsumsi/dibatasi	Ukuran
Anggur	Tidak dikonsumsi	-
Strawberi	Tidak dikonsumsi	-
Leci	Tidak dikonsumsi	-
Apel	Tidak dikonsumsi	-
<i>Wine</i>	Tidak dikonsumsi	-
Teh hijau	Tidak dikonsumsi	-
Teh hitam	Tidak dikonsumsi	-
Mangga	Dibatasi	1 potong sedang
Nanas	Dibatasi	1 potong sedang
Delima	Dibatasi	1 buah
Pisang	Dibatasi	1 buah
Jeruk	Dibatasi	1 buah
Kiwi	Dibatasi	1 buah
Markisa	Dibatasi	1 buah
Semangka	Dibatasi	2 potong
Melon	Dibatasi	2 potong
Tomat	Dibatasi	2 buah
Wortel	Dibatasi	1 buah
Alpukat	Dibatasi	2 buah
Brokoli	Dibatasi	1 potong
Kembang kol	Dibatasi	1 potong
Bawang merah	Dibatasi	10 siung
Bawang putih	Dibatasi	5 siung
Teh	Dibatasi	2 gelas
Kopi	Dibatasi	1 gelas
Coklat (tanpa susu)	Dibatasi	1 gelas
Susu kedelai	Dibatasi	1 gelas

**Keterangan:**

Konsumsi suplementasi vitamin, mineral dan antioksidan lain mohon tidak dilakukan selama periode *run-in* dan perlakuan berlangsung.

Konsumsi yang dibatasi adalah dalam keadaan segar, tanpa proses pengolahan.

Bagi yang tidak tersebut dalam daftar diatas, maka dapat dikonsumsi seperti biasa.

## Lampiran 8.

### Menu Diet Seimbang Sehari

Dalam satuan penukar

Waktu	Menu	Penukar	Urt	Energi 1700 kkal	Energi 1900 kkal	Energi 2100 kkal	
07.00	Roti panggang	P1	2 ptg	1	1 ½	1 ½	
	Telur dadar	P2	1 btr	1	1	1	
	Sup kacang	P3	2 sdm	½	½	1	
	Selada	P4		S	S	S	
	Minyak	P7	1 sdt	1	2	2	
10.00	Jus buah	P5	1 gls	1	1	1	
13.00	Nasi	P1	1 ½ gls	2	2	2	
	Pepes ikan	P2	1 ptg	1	1	1	
	Tempe goreng	P3	1 ptg	1	1	1	
	Sayur bayam	P4		S	S	S	
	Melon	P5	1 ptg	1	1	1	
	Minyak	P7	2 sdt	2	2	2	
	16.00	Roti	P1	1 ptg	-	-	1
		Jeruk	P5	1 bh	1	1	1
	19.00	Nasi	P1	1 ½ gls	2	2	2
		Ayam bakar	P2	1 ptg	1	1	1
Tahu bacem		P3	1 ptg	1	1	1	
Sayur nangka		P4		S	S	S	
Minyak		P7	2 sdt	2	2	2	

#### **Keterangan:**

Komposisi diet seimbang: Karbohidrat 60%, Lemak 25%, Protein 15%.

P1= Sumber Karbohidrat

P2= Sumber Protein hewani

P3= Sumber Protein nabati

P4= Sayuran

P5= Buah

P6= Susu

P7= Minyak

S = Sekehendak

Jumlah penukar setiap waktu makan dapat disesuaikan dengan selera dan kebiasaan individu, tanpa mengubah jumlah total penukar sehari.

Lampiran 9.

Lembar Indeks Aktivitas Fisik (IAF)

Tanggal pemeriksaan :  
 Nama subyek :  
 No. Kode subyek :  
 Olah raga saat ini :  
 (Lingkari pada nilai yang tertera)

1. **Frekuensi (F)**

Frekuensi	Nilai
Kurang sekali dalam sebulan	1
Beberapa kali per bulan	2
1 - 2 kali/minggu	3
3 - 5 kali/minggu	4
Setiap hari atau hampir setiap hari/minggu	5

2. **Durasi (D)**

Durasi	Nilai
Kurang dari 10 menit	1
10 - 20 menit	2
20 - 30 menit	3
> 30 menit	4

3. **Intensitas (I)**

Intensitas	Nilai
Ringan mis: jalan santai, 2.5 mph	1
Sedang mis: basket, bukan kompetisi	2
Cukup berat (berkeringat) mis: tenis tunggal	3
Berat (berkeringat) mis: bersepeda, aktivitas berat	4
Sangat berat (berkeringat) mis: lari cepat > 7.5 mph	5

**NILAI:**  $I \times D \times F = \dots\dots\dots$

**Interpretasi:**

Nilai Total	Indeks Aktivitas Fisik
1 - 20	E = Rendah
21 - 40	D = Cukup
41 - 60	C = Rata-rata
61 - 80	B = Baik
81 - 100	A = Sangat baik

**Catatan:** Bila saudara melakukan 2 atau > jenis olahraga, Indeks Aktivitas Fisik saudara (nilai total) adalah jumlah dari dua atau > IAF

### Contoh Aktivitas Fisik

Aktivitas	MET
Sepeda, ditempat, 50 W, sangat ringan, untuk latihan	3.0
Sepeda, < 10 mph, umum, senggang, ke tempat kerja atau untuk santai	4.0
Sepeda, di tempat, 100W, ringan, untuk latihan	5.5
Sepeda, di tempat, 150W, sedang	7.0
Sepeda, di tempat, 200W, berat	10.5
Kalistenik, ringan atau sedang, umum	4.5
Kalistenik, berat	8.0
Angkat beban, ringan atau sedang	3.0
Olahraga kesehatan bersama, umum	5.5
Treadmill, bertingkat, umum	6.0
Dayung, di tempat, 50W, ringan	3.5
Dayung, di tempat, 100W, ringan	7.0
Dayung, di tempat, 150W, berat	8.5
Peregangan	4.0
Pelatih klas aerobik	6.0
Latihan aerobik di air, kalistenik di air	4.0
Aerobik, umum	6.0
Aerobie, low impact (ringan)	5.0
Aerobic, high impact (tinggi, berat)	7.0
Menari (daneing), umum	4.5
Menari,perlahan	3.0
Menari (cepat)	5.5
Jogging, umum	7.0
Lari, 5 mph (12 min/mile)	8.0
Lari, 6 mph (10 min/mile)	10.0
Lari, 7 mph (8.5 min/mile)	11.5
Lari, 7.5 mph (8 min/mile)	12.5
Lari, di tempat	8.0
Badminton, bukan pertandingan, tunggal dan ganda, umum	4.5
Basket, bukan pertandingan, umum	6.0
Basket, pertandingan	8.0
Basket, memasukkan bola (shooting)	4.5
Bilyard	2.5
Bowling	3.0
Golf, umum	4.5
Judo, karate, tae kwan do	10.0
Panjat tebing, umum	8.0
Panjat tebing, cepat	12.0
Lompat tali, sedang, umum	10.0
Lompat tali, lambat	8.0
Sepakbola, santai, umum	7.0
Sepakbola, pertandingan	10.0
Tennis, umum	7.0
Tennis, tunggal	8.0

Aktivitas	MET
Tennis, ganda	6.0
Volley, bukan pertandingan	3.0
Volley, pertandingan	4.0
Jalan, kurang dari 2 mph, lambat, permukaan datar	2.5
Jalan, 2.5 mph, permukaan normal	3.0
Jalan, 3.5 mph, bertingkat, langkah pendek, permukaan normal	4.0
Jalan, 3.5 mph, naik bukit	6.0
Jalan, 4mph, level, permukaan datar, langkah pendek	4.0
Jalan, 4.5 mph, level, permukaan normal, langkah sangat, sangat pendek	4.5
Jalan, untuk santai, jalan bersama anjing	3.5
Jalan ke tempat kerja atau kelas	4.0
Menyelam (snorkeling)	5.0
Softball atau baseball, cepat atau lambat, umum	5.0
Surfing	3.0
Renang laps, gaya bebas, cepat, upaya berat	10.0
Renang laps, gaya bebas, lambat, sedang atau ringan	8.0
Renang, gaya punggung, umum	8.0
Renang, gaya dada, umum	10.0
Skating, ice, umum	7.0

#### Kategori Aktivitas Fisik

1. Aktivitas Fisik Ringan  
< 5 MET atau < 6 kkal/menit
2. Aktivitas Fisik Sedang  
5-7 MET atau 6-8 kkal/menit
3. Aktivitas Fisik Berat  
> 7 MET atau > 8 kkal/menit

## Lampiran 10.

### Pemeriksaan Kolesterol LDL

1. Metoda Assay:  
Metoda homogen berdasarkan teknologi detergen inovatif
2. Prinsip :
  1. Ketika reagen 1 dicampur dengan spesimen serum, detergen 1 melarutkan struktur kilomikron, VLDL, dan HDL dan menyebabkan pelepasan kolesterol. Kolesterol bebas yang dilepaskan oleh kolesterol esterase bereaksi dengan kolesterol oksidase menghasilkan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida bereaksi dengan adanya 4-aminoantipirin menghasilkan produk tidak berwarna.
  2. Penambahan reagen 2 yang mengandung detergen 2 melepaskan kolesterol dari LDL yang tersisa, dengan demikian memungkinkan dilanjutkan dengan reaksi enzimatik. Karena reagen 2 juga mengandung bahan pewarna, garam NN-bis-(4-sulfobutil) m-toluidin disodium (DSBmT), hidrogen yang dibentuk dengan reaksi enzimatik menghasilkan produk berwarna biru-ungu. Intensitas warna sebanding dengan konsentrasi kolesterol LDL.

Kit terdiri atas :

1. Larutan enzim :
  - a. Detergen 1
  - b. 4-aminoantipirin (0,5 mmol/L)
  - c. Kolesterol oksidase
  - d. Kolesterol esterase
  - e. Peroksidase
  - f. Larutan dappar (pH 6,3)
2. Larutan kromogenik :
  - a. Detergen 2
  - b. N,N-bis(4-sulfobutil)-m-toluidin (1.0 mmol/L)
  - c. Larutan dappar (pH 6,3)

Alat : Kalibrator

Prosedur

Sampel : 3.0  $\mu$ L + Reagen 1 : 300  $\mu$ L

→ 37°C (5 menit) + Reagen 2 : 100  $\mu$ L

→ 37°C (5 menit) + Pemeriksaan (perbedaan penyerapan antara 660 nm dan 546 nm)

→ Kalkulasi konsentrasi kolesterol LDL

# Cholestest LDL

For measurement of LDL cholesterol in serum

## Introduction

Increased low-density lipoprotein (LDL) cholesterol concentrations are correlated highly with atherosclerotic lesions, and therapy to reduce LDL cholesterol can improve the symptoms of coronary heart disease and lead to regression of the lesions. Because of the strong, positive association between LDL cholesterol and coronary heart disease, the National Cholesterol Education Program (NCEP) of the US National Heart, Lung, and Blood Institute designated LDL cholesterol as the primary basis for classification and treatment of hyperlipidemia.<sup>1</sup>

Cholestest LDL is a ready-to-use stable liquid reagent that directly measures the concentration of LDL cholesterol by a new homogeneous method based on an innovative detergent technology. This kit is readily adapted for use with most clinical chemistry analyzers without requiring any of the sample pretreatment, centrifugation, or reagent reconstitution steps. Furthermore, the LDL cholesterol measurements with this kit show an excellent correlation with those of an ultra-centrifugation method.<sup>2-4</sup>

## Kit contents

### Enzyme solution

- Detergent 1
- 4-aminopyridine (0.5 mmol/L)
- Cholesterol oxidase (1.1 U/ml)
- Cholesterol esterase
- Peroxidase
- Good's buffer solution (pH 6.5)

### Chromogenic coupler solution

- Detergent 2
- N,N'-bis(4-sulfobutyl)-m-toluidine (0.6 mmol/L)
- Good's buffer solution (pH 6.5)

## Use

For quantitative determination of LDL cholesterol levels in human serum or plasma

## Method

### I. Assay method

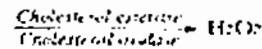
A homogeneous method based on an innovative detergent technology

### II. Principle

When Reagent 1 is mixed with a serum specimen as the first step of the assay, Detergent 1 disrupts the structure of chylomicrons, VLDL, and LDL, and causes release of cholesterol. The free cholesterol, which is formed by cholesterol esterase, reacts with hydrogen peroxide-producing cholesterol oxidase. Hydrogen peroxide is consumed by a peroxidase in the presence of 4-aminopyridine to generate a colorless product. The second step of the assay starts with the addition of Reagent 2. Detergent 2, which is contained in reagent 2 releases cholesterol from the remaining LDL, thereby allowing an enzymatic reaction to take place. Since Reagent 2 also contains a color indicator, N,N'-bis(4-sulfobutyl)-m-toluidine disodium salt (DSBmT), hydrogen peroxide formed by the enzymatic reaction produces a blue-purple product. The intensity of coloration is proportional to the concentration of LDL cholesterol.

### Reaction 1

HDL, VLDL, CM <sup>Detergent 1</sup> = micellar cholesterol

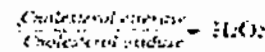


H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 4-aminopyridine <sup>Peroxidase</sup> = colorless product

LDL <sup>Detergent 1</sup> = LDL

### Reaction 2

LDL <sup>Detergent 2</sup> = micellar cholesterol



H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 4-aminopyridine + DSBmT <sup>Peroxidase</sup> → colored product

## Characteristics

- Direct quantitative assay that does not require pretreatment of sample
- Excellent correlation of results with those of the ultra-centrifugation method
- No preparation of reagent required. Reagents are ready-to-use liquids
- Compatible with most automated analyzers used in clinical laboratories
- No significant interference up to 1500 mg/dL (16.7 mmol/L) triglyceride
- No patient fasting required

## Preparation

Reagent 1: ready-to-use

Reagent 2: ready-to-use

## Procedure

Cholestest LDL is intended for the measurement of serum LDL cholesterol concentrations. Reagents can be used on fully automated analyzers. The following example is for a Hitachi 747/7250 automated analyzer. Please follow the instructions for specific instrument when carrying out the actual test.

Sample: 2.0 µL + Reagent 1: 300 µL

$\frac{270}{5 \text{ min}}$  = + Reagent 2: 100 µL

$\frac{270}{5 \text{ min}}$  = Measurement\*

\* = Calculation of LDL cholesterol concentration

Standard: Cholestest N calibrator

Reagent blank: Saline

\*Difference in absorbances between 660 nm and 546 nm



# Cholestest LDL

For measurement of LDL cholesterol in serum

## Precautions

- When using any automated analyzer, the user instructions should be read carefully. Parameters for different models of automated analyzer are available.
- If it is not possible to perform the assay on the day that the serum is separated, the sample should be stored at 2-10°C for periods less than 1 week or -20°C for periods longer than 1 week. Repeated freezing and thawing should be avoided.
- When using plasma, please use heparinized or EDTA-treated plasma.
- Cholestest N calibrator should be used as the standard.
- Please perform the assay away from direct sunlight.
- When the sample concentration exceeds the measurement range, dilute the sample with saline and repeat the measurement.
- Interfering substances  
There is minimal interference of measurements with up to 50 mg/dL ascorbic acid, 20 mg/dL bilirubin, 500 mg/dL hemoglobin or 1500 mg/dL triglyceride.

## Risk Status Based on LDL-C Levels<sup>1</sup>

	Total serum cholesterol	LDL cholesterol
Desirable	< 200 mg/dL	< 30 mg/dL (without CHD) < 100 mg/dL (with CHD)
Borderline high risk	200-239 mg/dL	30-159 mg/dL (without CHD)
High risk	≥ 240 mg/dL	≥ 160 mg/dL (without CHD) > 100 mg/dL (with CHD)

## Performance<sup>2</sup>

- Sensitivity  
Reagent blank: Less than 0.05 Abs.  
Sensitivity: 0.15-0.25 Abs per 100 mg/dL LDL cholesterol.
- Specificity  
96-110% of expected assay values.
- Reproducibility  
Coefficient of variation is less than 5% within run.
- Measurement Range  
1-350 mg/dL.
- Correlation  
Correlation of ultra centrifugation method with Cholestest LDL:  
n = 60  
r = 0.992  
y = 0.98x + 3.66  
y: by Cholestest LDL, x: by ultra centrifugation method.

## Handling precautions

- The sample should be handled with proper care to avoid infection.
- Store the reagents at 2-10°C. Avoid freezing the reagents because freezing will damage them.
- Do not use the reagent containers for any other purpose.

## Storage and shelf life

Storage: 2-10°C

Shelf Life: 1 year from date of manufacture (expiration date is printed on the package).

## Package contents

Product name	Size*	Code No.
Cholestest LDL Enzyme solution	4 x 60ml	258053
Coloring solution	2 x 2ml	258060

\*Other sizes are available.

## References

- Bachank PS and Ross JW. National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of Low Density Lipoprotein Cholesterol. Executive Summary. Clin Chem 1992; 41(10): 1414-20.
- Nakamura M, Tomiyama Y, Yamamoto M, Hino K, and Mitsuie M. Homogeneous assay of serum LDL-cholesterol on an automatic analyzer. Clin Chem 1997; 43(6): 826-831.
- Ritai N, Iannotti E, DeAngelis K, and Law T. Analytical and clinical performance of a homogeneous enzymatic LDL cholesterol assay compared with the ultracentrifugation-β-estradiol sulfate-Mg<sup>2+</sup> method. Clin Chem 1998; 44(6): 1242-50.
- In-house test data of Daiichi Pure Chemical Co., Ltd.

# SEKISUI

SEKISUI MEDICAL CO., LTD

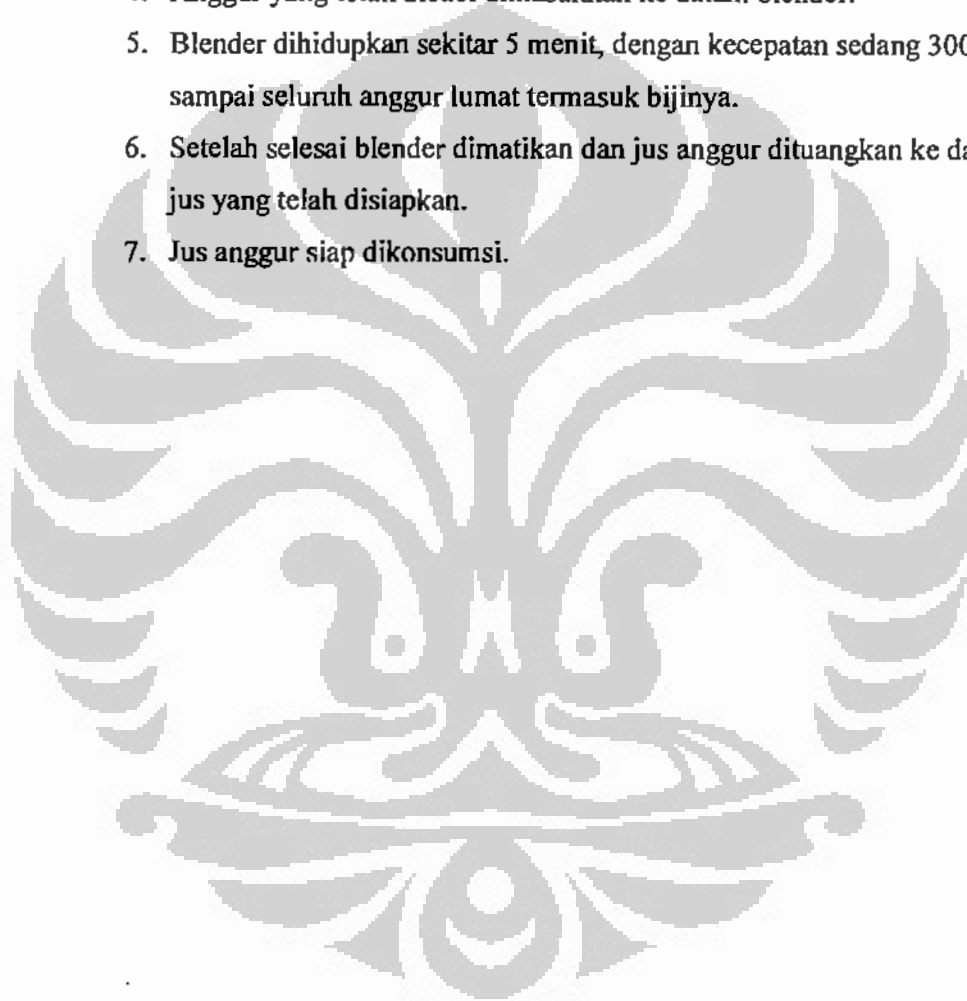
13-5, Nishinobu 2-chome, Chuo-ku,  
Tokyo 103-0027 Japan

Universitas Indonesia

**Lampiran 11.****Prosedur Pembuatan Jus Anggur**

Prosedur pembuatan jus anggur sebagai berikut:

1. Anggur dicuci bersih dengan menggunakan larutan pembersih khusus untuk buah dan sayur dan dengan air yang mengalir untuk membersihkan kotoran yang melekat.
2. Anggur ditimbang masing-masing sebanyak 300 gram.
3. Blender disiapkan.
4. Anggur yang telah dicuci dimasukkan ke dalam blender.
5. Blender dihidupkan sekitar 5 menit, dengan kecepatan sedang 3000 rpm, sampai seluruh anggur lumat termasuk bijinya.
6. Setelah selesai blender dimatikan dan jus anggur dituangkan ke dalam gelas jus yang telah disiapkan.
7. Jus anggur siap dikonsumsi.



Lampiran 12.

**FOTO- FOTO KEGIATAN PENELITIAN**



FOTO-FOTO KEGIATAN PENELITIAN



**Lampiran 13.****DAFTAR RIWAYAT HIDUP**

Nama : Niken Manohara  
 Pangkat/Golongan : Penata/IIIC  
 Tempat tanggal lahir : Madiun, 21 September 1970  
 Agama : Islam  
 Status perkawinan : Menikah  
 Nama suami : Kombes. Pol. Drs. Arief Sulistyanto, Msi  
 Nama anak : 1. Bhredipta Cresti Socarana (Kelas 2 SMA)  
                   2. Bhawika Tanggwa Prabhuttama (Kelas 6 SD)

**Riwayat Pendidikan :**

1. TK Bhayangkari Selong, Lombok Timur, NTB, 1977
2. SDN 9 Ampenan, Lombok Barat, NTB, Lulus 1983
3. SMPN 1 Denpasar, Bali, Lulus 1986
4. SMAN 1 Surakarta, Jawa Tengah, Lulus 1989
5. Fakultas Kedokteran Gigi – UGM, Yogyakarta, 1989 - 1991
6. Fakultas Kedokteran - UNS, Solo, Lulus 1998

**Riwayat Pekerjaan :**

1. Dokter UGD, RSPAD Gatot Subroto, Jakarta, 1999-2000
2. Dokter PTT Puskesmas Tegalwaru, Purwakarta, 2000-2001
3. Dokter PTT Puskesmas Pekayon & Bintara, Bekasi, 2001-2003
4. Kaur Dokkes/ Ka Poliklinik Polres Indragiri Hilir, Riau, 2003-2005
5. Kaur Dokkes/Ka Poliklinik Polresta Tanjung Pinang, Kepri, 2005-2006
6. SMF Pusedokkes Mabes Polri, 2006 – Sekarang

**Riwayat Organisasi :**

1. Anggota Ikatan Dokter Indonesia
2. Anggota Muda Perhimpunan Dokter Gizi Medik Indonesia