



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH KOMBINASI SUPLEMENTASI VITAMIN E DAN C
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA PLASMA PADA
USIA LANJUT DENGAN HIPERKOLESTEROLEMIA**

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister

**Rikawati
0806419895**

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
PROGRAM STUDI ILMU GIZI
KEKHUSUSAN ILMU GIZI KLINIK
JAKARTA 2010**

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : RIKAWATI

NPM : 0806419895

Tanda tangan : 

Tanggal : 8 Oktober 2010

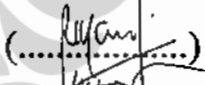


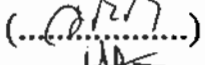

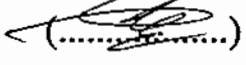
LEMBAR PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Rikawati
NPM : 0806419895
Program : Ilmu Gizi, Kekhususan Ilmu Gizi Klinik
Judul Tesis : pengaruh kombinasi suplementasi vitamin E dan C terhadap kadar malondialdehida plasma pada usia lanjut dengan hiperkolesterolemia

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. Inge Permadhi, MS, SpGK	(..... )
Pembimbing II	: dr. Suharko Soebardi, SpPD	(..... )
Penguji	: dr. Sri Sukmaniah MSc, SpGK	(..... )
Penguji	: DR. dr. Sri Widia A.Jusman, MS	(..... )
Penguji	: dr. Herqutanto, MPH, MARS	(..... )
Penguji	: DR. dr. Budiman, SpPD	(..... )

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 8 Oktober 2010

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas berkat dan rahmat-Nya saya dapat menyelesaikan tesis ini. Tesis dengan judul **“Pengaruh kombinasi suplementasi vitamin E dan vitamin C terhadap kadar malondialdehida plasma pada usia lanjut dengan hiperkolesterolemia”** disusun dalam rangka memenuhi sebagian persyaratan untuk meraih gelar Magister Ilmu Gizi, Kekhususan Ilmu Gizi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan tesis ini, disadari tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu dengan penuh kerendahan hati dan hormat saya mengucapkan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada dr.Inge Permadhi, MS, SpGK selaku pembimbing pertama yang dengan penuh pengertian, kesabaran dan kerelaan menyediakan waktu di tengah jadwal kegiatannya yang padat untuk membimbing saya dalam penulisan tesis ini. Disamping itu saya juga menyampaikan terima kasih kepada :

1. dr. Suharko Soebardi, SpPD sebagai pembimbing kedua atas waktu yang telah diluangkan untuk memberikan masukan guna penyempurnaan tesis ini.
2. dr. Victor Tambunan, MS, SpGK selaku ketua Departemen Ilmu Gizi; dr.Diana Sunardi, M.Gizi, yang menjabat sebagai ketua kekhususan Ilmu Gizi Klinik; beserta seluruh staf pengajar Ilmu Gizi serta seluruh karyawan di Departemen Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia atas segala arahan, bantuan dan saran dalam penyelesaian tesis ini.
3. dr.Hj.Savitri Sayogo, SpGK dan dr.Lanny Lestiani, MSc, SpGK atas saran dan kritiknya baik untuk penelitian maupun untuk tesis ini.
4. Para dosen penguji, DR.dr.Sri Widia A.Jusman, MS; dr.Herqutanto, MPH, MARS; dr.Sri Sukmaniah MSc, SpGK; DR.dr.Budiman, SpPD yang telah memberikan saran dan kritik untuk penyempurnaan tesis ini.
5. Teman-teman seangkatan di Departemen Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia terutama dr.Emma Sitepu yang telah memberikan motivasi, nasihat-nasihat spiritual dan bantuannya yang tulus pada saat

kuliah maupun penelitian. Selain itu juga kepada dr.Tutik Ernawati, M.Gizi; dr.Dian Kusumadewi M.Gizi dan dr. Nurul Ratna Mutumanikam atas bantuannya dalam pelaksanaan penelitian.

6. Sahabat-sahabat saya sejak SMU, Dian Rahmawati S.Sos; Karina Dita Megasari SE dan Nana Mediana SE atas motivasi dan bantuannya dalam pelaksanaan penelitian dan penyelesaian tesis ini.
7. Kedua orang tua saya atas doa, bantuan material dan moral, motivasi dan pengertiannya selama persiapan dan pelaksanaan penelitian serta penyelesaian tesis ini.
8. Kakak saya Risawati yang telah banyak menghibur dan memberikan motivasi kepada saya di saat air mata jatuh selama penyelesaian tesis, serta kepada kakak ipar saya mas Benny yang membantu penelusuran pustaka. Keponakan saya Raditya yang bisa membuat saya tertawa ditengah kesedihan saya dalam menyelesaikan tesis.
9. Suami tercinta Mas Tommy yang sangat banyak memberikan doa, kasih sayang, semangat, motivasi, hiburan serta menyediakan waktu untuk pulang pergi Jakarta-Semarang pada saat persiapan dan pelaksanaan penelitian serta penyelesaian tesis di tengah kehamilan saya yang kadang penuh dengan air mata.
10. Seluruh pengurus Yayasan Kebagusan, Yayasan Yasni dan Yayasan Yakin, Pasar Minggu Jakarta Selatan serta para peserta penelitian yang telah bersedia bekerjasama, sehingga penelitian dapat berjalan dengan lancar.

Kepada semua pihak yang telah berjasa dan tidak dapat disebutkan satu demi satu, dengan kerendahan hati saya menyampaikan banyak terimakasih. Dengan doa dan harapan Tuhan Yang Maha Pengasih akan membalas segala budi baik.

Jakarta, 8 Oktober 2010

Penulis

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

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

Nama : Rikawati
NPM : 0806419895
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 :

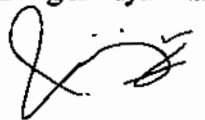
**PENGARUH KOMBINASI SUPLEMENTASI VITAMIN E DAN C
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA PLASMA PADA
USIA LANJUT DENGAN HIPERKOLESTEROLEMIA**

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

Dibuat di Jakarta

Pada tanggal 8 Oktober 2010

Yang menyatakan



(Rikawati)

ABSTRAK

- Nama** : Rikawati
Perguruan Tinggi: Program Pendidikan Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta
Program Studi : Ilmu Gizi, Kekhususan Ilmu Gizi Klinik
Judul : Pengaruh Kombinasi Suplementasi Vitamin E dan Vitamin C Terhadap Kadar Malondialdehida Plasma Pada Usia Lanjut Dengan Hiperkolesterolemia
Tujuan : Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi suplementasi vitamin E dan C terhadap peroksidasi lipid pada usila dengan hiperkolesterolemia.
Metodologi : Penelitian uji klinis paralel, tertutup tunggal, alokasi acak, untuk membandingkan kadar malondialdehida usila ≥ 60 tahun dengan hiperkolesterolemia yang mendapatkan kombinasi suplementasi vitamin E 400 IU dan vitamin C 500 mg, masing-masing sehari selama 45 hari dengan kelompok yang mendapat vitamin E 400 IU dan plasebo. Terdapat 42 subyek penelitian yang berasal dari Yayasan Kebagusan, Yayasan Yasni, dan Yayasan Yakin, Pasar Minggu Jakarta Selatan yang dibagi menjadi dua kelompok masing-masing berjumlah 21 orang. Data yang diambil adalah : data demografi, antropometri, data asupan makanan pada minggu pertama, ketiga dan ketujuh, kadar kolesterol LDL dan MDA plasma sebelum dan sesudah perlakuan. Uji statistik yang digunakan adalah uji t-tidak berpasangan bila distribusi normal dan uji *Mann-whitney* bila distribusi tidak normal dengan tingkat kemaknaan $p < 0.05$.
Hasil : Sebanyak 20 subyek penelitian dari masing-masing kelompok yang dapat mengikuti penelitian sampai selesai. Sebelum perlakuan, nilai median kadar kolesterol LDL kelompok vitamin E+plasebo dan vitamin E+C masing-masing adalah 146.50(130-190) mg/dL dan 146.50(131-196) mg/dL. Setelah 45 hari perlakuan, rerata kadar kolesterol LDL kelompok vitamin E+plasebo (151.9 \pm 22.1 mg/dL) meningkat sedangkan kelompok vitamin E+C (146.8 \pm 28.21 mg/dL) menurun. Sebelum perlakuan, nilai median kadar MDA plasma kelompok vitamin E+plasebo dan rerata kadar MDA plasma kelompok vitamin E+C masing-masing adalah 2.63(1.92-4.42) nmol/mL dan 3.03 \pm 0.62 nmol/mL. Setelah 45 hari perlakuan rerata kadar MDA plasma kedua kelompok menurun menjadi 2.30 \pm 0.67 nmol/mL ($p < 0.01$) pada kelompok vitamin E+plasebo dan 2.88 \pm 0.88 nmol/mL ($p = 0.36$) untuk kelompok vitamin E+C. Penurunan kadar MDA plasma kelompok vitamin E+plasebo lebih besar (-0.5 \pm 0.55 nmol/mL) daripada kelompok vitamin E+C (-0.28(1.31-1.63) nmol/mL), tetapi dengan uji statistik terhadap kedua nilai tersebut, tidak berbeda bermakna ($p = 0.09$)
Kesimpulan : Pemberian kombinasi vitamin E dan vitamin C pada usila dengan hiperkolesterolemia tidak dapat menurunkan kadar MDA plasma lebih besar dibandingkan dengan hanya pemberian vitamin E.
Kata kunci : Usia lanjut, hiperkolesterolemia, vitamin E, vitamin C, malondialdehida

ABSTRACT

- Name** : Rikawati
- Study program** : Nutrition, Clinical Nutrition
- Title** : The effect of combined supplementation of vitamin E and C on plasma Malondyaldehyde level elderly with hypercholesterolemic.
- Objective** : To know the effect of combined supplementation of vitamin E and C in lipid peroxidation in hypercholesterolemic elderly.
- Methods** : This parallel, single blind, randomization clinical trial purpose was to compare plasma malondyaldehyde level in hypercholesterolemic elderly aged more than 60 years old. Forty two people from Yayasan Kebagusan, Yayasan Yasni and Yayasan Yakin, Pasar Minggu, South Jakarta which participated the study, were divided into two groups. Twenty one elderly were supplemented with 400 IU vitamin E and 500 mg vitamin C for 45 consecutive days, while the other group was supplemented with 400 IU vitamin E and placebo. The data of demographic, anthropometrics, food intake in the first, third and seventh weeks, plasma LDL and MDA levels before and after period were taken. Statistical analyzes was performed by SPSS 11.5.
- Result** : Twenty people for each group had followed the study until the end of period. Before study, LDL cholesterol median for vitamin E + placebo group and vitamin E+C group were 146.50(130–190) mg/dL and 146.50(130–190) mg/dL respectively. After 45 of days treatment, there was an increase in mean LDL cholesterol in vitamin E + placebo group 151.9±22.1 mg/dL while in vitamin E+C group was decreased to 146.8±28.21 mg/dL. Before study, plasma MDA level in vitamin E + placebo group and vitamin E+C group were 2.63(1.92–4.42) and 3.03±0.62 nmol/mL, respectively. After 45 days, mean MDA plasma in vitamin E + placebo group was 2.30±0.67 nmol/mL ($p<0.01$) and was 2.88±0.88 nmol/mL ($p=0.36$) in vitamin E+C group. The decreased on plasma MDA levels in vitamin E+placebo group was higher (-0.5±0.55 nmol/mL) than vitamin E+C (-0.28(1.31–1.63) nmol/mL), but statistical test showed not significant different between both group ($p=0.09$).
- Conclusion** : Combined supplementation vitamin E and vitamin C in hypercholesterolemic elderly couldnot decrease plasma MDA higher than supplementation of vitamin E alone.
- Key words** : Elderly, hypercholesterolemia, vitamin E, vitamin C, malondyaldehyde

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Permasalahan.....	3
1.3. Hipotesis.....	3
1.4. Tujuan.....	3
1.5. Manfaat.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Usila.....	5
2.2. Hiperkolesterolemia.....	7
2.3. Vitamin	
2.3.1. Vitamin E.....	12
2.3.2. Vitamin C.....	17
2.4. Pengaruh vitamin E dan C terhadap kadar MDA plasma pada usila dengan hiperkolesterolemia.....	21
2.5. Kerangka Teori	26
2.6. Kerangka Konsep.....	27
BAB 3. METODE PENELITIAN	
3.1. Rancangan Penelitian.....	28
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	28
3.3. Bahan Penelitian.....	28
3.4. Instrumen Pengumpulan Data.....	30
3.5. Cara Kerja.....	31
3.6. Identifikasi Variabel.....	35
3.7. Pengolahan, Analisis, Penyajian dan Pelaporan Data.....	36
3.8. Batasan Operasional.....	37
3.9. Organisasi Penelitian.....	40
3.10. Alur Penelitian.....	41

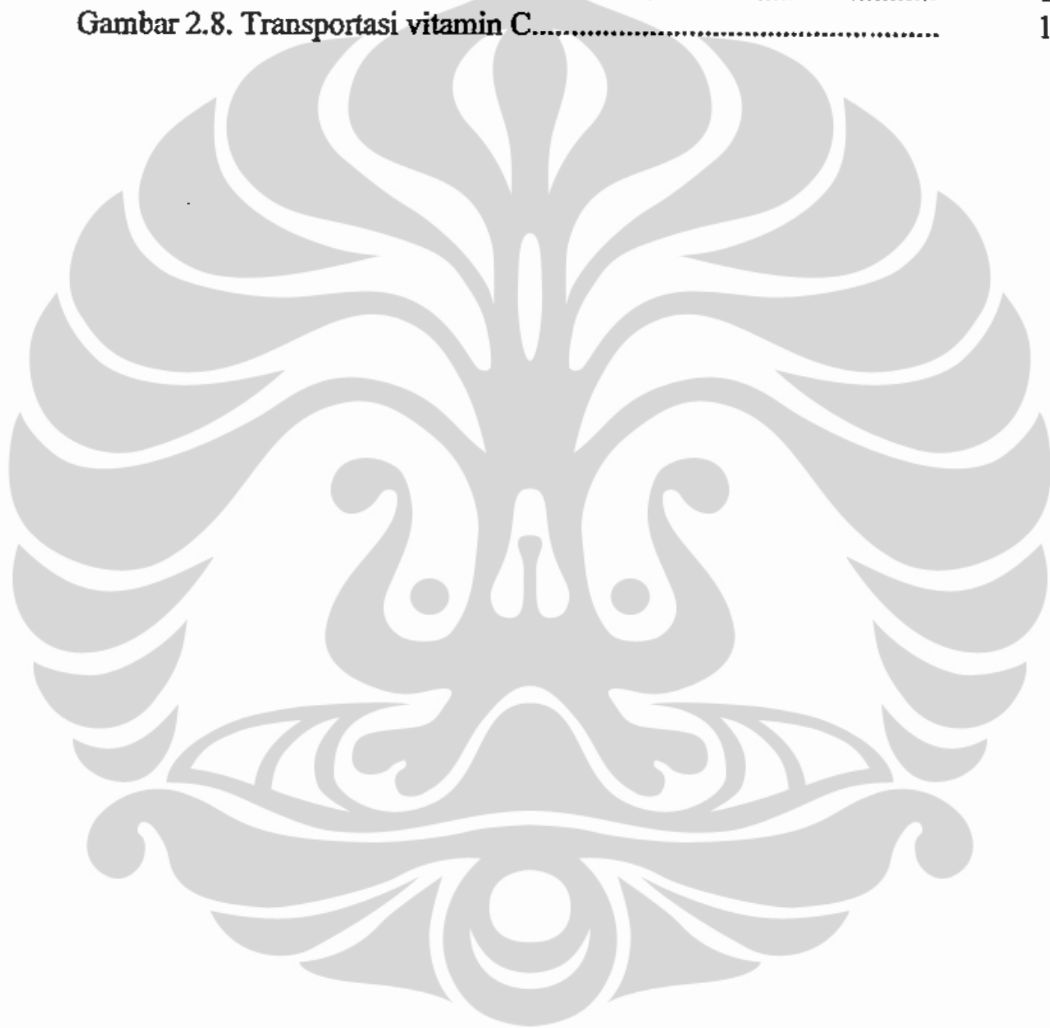
BAB 4. HASIL PENELITIAN	
4.1. Seleksi Subyek Penelitian.....	42
4.2. Karakteristik Demografi Subyek Penelitian.....	43
4.3. Status Gizi.....	43
4.4. Asupan Zat Gizi.....	44
4.5. Asupan Antioksidan.....	46
4.6. Kadar Kolesterol LDL.....	48
4.7. Kadar dan Perbedaan MDA Plasma.....	49
BAB 5. PEMBAHASAN	
5.1. Keterbatasan Penelitian.....	50
5.2. Karakteristik Demografi Subyek Penelitian.....	52
5.3. Asupan Zat Gizi dan Antioksidan.....	53
5.4. Kadar Kolesterol LDL.....	56
5.5. Kadar dan Perubahan MDA Plasma.....	56
BAB 6. RINGKASAN, KESIMPULAN, DAN SARAN	
6.1. Ringkasan.....	60
6.2. Kesimpulan.....	62
6.3. Saran.....	62
SUMMARY, CONCLUSION, AND RECOMMENDATION.....	64
DAFTAR PUSTAKA.....	67
MANUSCRIPT.....	73
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	85
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	99

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Beberapa perubahan yang terjadi pada berbagai sistem tubuh pada proses menua.....	6
Tabel 2.2. Klasifikasi kadar kolesterol LDL plasma (mg/dL).....	7
Tabel 2.3. Hasil penelitian Purwartyastuti.....	23
Tabel 2.4. Hasil penelitian Nagyova dkk pada subyek laki-laki.....	24
Tabel 2.5. Hasil penelitian Nagyova dkk pada subyek wanita pasca menopause.....	24
Tabel 2.6. Hasil penelitian Chavan dkk.....	25
Tabel 2.7. Hasil penelitian Sarataho dkk.....	25
Tabel 3.1. Matriks identifikasi variabel.....	36
Tabel 3.2. Klasifikasi status gizi.....	38
Tabel 3.3. Klasifikasi kadar kolesterol LDL (mg/dL).....	40
Tabel 4.1. Sebaran subyek penelitian berdasarkan karakteristik usia dan jenis kelamin	43
Tabel 4.2. Sebaran subyek penelitian berdasarkan IMT.....	44
Tabel 4.3. Sebaran subyek berdasarkan kategori IMT.....	44
Tabel 4.4. Asupan kalori, karbohidrat, lemak dan kolesterol	45
Tabel 4.5. Sebaran subyek berdasarkan kategori asupan kalori, karbohidrat, dan lemak terhadap KKT serta asupan kolesterol.....	46
Tabel 4.6. Asupan vitamin E dan vitamin C.....	47
Tabel 4.7. Sebaran subyek berdasarkan kategori asupan vitamin E dan vitamin C	48
Tabel 4.8. kolesterol LDL subyek penelitian.....	48
Tabel 4.9. Kadar MDA plasma subyek penelitian	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur LDL.....	8
Gambar 2.2. Proses hidrolisis LDL.....	9
Gambar 2.3. Peroksidasi ALTJG.....	10
Gambar 2.4. Struktur kimia tokoferol dan tokotrienol.....	13
Gambar 2.5. Jalur transportasi vitamin E.....	14
Gambar 2.6. Regenerasi tokoferol.....	15
Gambar 2.7. Struktur kimia vitamin.....	18
Gambar 2.8. Transportasi vitamin C.....	19



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Keterangan Lolos Kaji Etik.....	85
Lampiran 2.		
Formulir A.	Formulir seleksi subyek penelitian.....	86
Formulir B1.	Lembar informasi untuk subyek penelitian.....	87
Formulir B2.	Lembar persetujuan untuk subyek penelitian.....	89
Formulir C.	Formulir identitas subyek.....	90
Lampiran 3.		
Formulir D.	Formulir catatan asupan makanan.....	91
Lampiran 4		
Formulir E.	Formulir pemeriksaan antropometri.....	92
Lampiran 5.		
Formulir F.	Formulir data laboratorium	93
Lampiran 6.		
Formulir G.	Formulir data kepatuhan.....	94
Lampiran 7.	Prosedur pemeriksaan laboratorium	95
Lampiran 8.	Prosedur randomisasi blok.....	98

DAFTAR SINGKATAN

ACAT	: <i>Acyl CoA:Cholesteryl acyl Transferase</i>
AF	: Aktivitas Fisik
ALJ	: Asam Lemak Jenuh
ALTJJ	: Asam Lemak Tidak Jenuh Jamak
CEHC	: <i>Carboxyethyl Hydroxychroman</i>
CYPs	: Sitokrom P450
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HNE	: 4-hidroksinonenal
HTGL	: Hepatik Trigliserida Lipase
IDL	: <i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
IFN- γ	: Interferon- γ
IMT	: Indeks Massa Tubuh
IU	: <i>International Unit</i>
KEB	: Kebutuhan Energi Basal
KET	: Kebutuhan Energi Total
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LPL	: <i>Lipoprotein Lipase</i>
MCP-1	: <i>Monocyte Chemotactic Protein-1</i>
MCSF	: <i>Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
MDA	: Malondialdehida
PERKENI	: Perkumpulan Endokrinologi Indonesia
RDA	: <i>Recommended Dietary Allowances</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SKRT	: Survei Kesehatan Rumah Tangga
SR-A	: <i>Scavenger Receptor A</i>
TB	: Tinggi Badan
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-α</i>
U	: Usia
UL	: <i>Upper Intake Level</i>
Usila	: Usia Lanjut
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hiperkolesterolemia merupakan kelainan metabolisme lipid yang ditandai oleh peningkatan kadar kolesterol total >240 mg/dL, sedangkan menurut sumber lainnya keadaan tersebut ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol *low density lipoprotein* (LDL) ≥ 130 mg/dL.^{1,2} Hiperkolesterolemia dapat disebabkan oleh berbagai faktor, di antaranya faktor genetik, faktor penuaan, asupan tinggi kolesterol, asupan tinggi asam lemak jenuh (ALJ), dan asupan tinggi asam lemak tidak jenuh *trans*, serta kurangnya aktivitas fisik.²

Menurut SKRT 2001, prevalensi hiperkolesterolemia pada usia ≥ 65 tahun besarnya 6,2% dan meningkat menjadi 16,1% pada tahun 2004.^{3,4} Peningkatan tersebut sejalan dengan semakin tingginya angka harapan hidup di Indonesia (1980: 52,2 tahun; 1990: 65,5 tahun; 2000: 69,8 tahun).⁵ Proses penuaan dapat memperlambat proses pembersihan LDL dari sirkulasi, karena mekanisme yang mengatur fungsi reseptor LDL menjadi kurang efisien. Hal tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan kolesterol LDL serum pada usia lanjut (usila).² Keadaan tersebut dapat memicu peningkatan peroksidasi lipid yang akan menghasilkan berbagai macam produk, salah satunya adalah malondialdehida (MDA).⁶ Produk tersebut dapat berperan dalam mengubah struktur dan fungsi LDL sehingga dapat memicu terbentuknya aterosklerosis.^{7,8,9}

Pada usila, sistem gastrointestinal merupakan salah satu sistem yang mengalami perubahan struktur serta penurunan fungsi fisiologisnya. Keadaan ini menyebabkan berkurangnya asupan dan absorpsi zat gizi seperti vitamin E dan C yang tergolong antioksidan. Rendahnya antioksidan pada usila disertai dengan peningkatan kolesterol LDL dapat meningkatkan kadar radikal bebas, mengakibatkan terjadi peningkatan stres oksidatif.

Vitamin E merupakan antioksidan lipofilik di dalam LDL dengan jumlah terbanyak yang dapat berperan sebagai pemutus rantai peroksidasi lipid dan penangkap radikal bebas, sehingga berguna untuk mengurangi peroksidasi lipid LDL.^{10,11} Dosis minimum vitamin E yang dianjurkan untuk menurunkan

peroksidasi lipid pada LDL adalah 400 IU (268 mg).¹² Berdasarkan dosis minimum tersebut Purwastyastuti¹³ melakukan penelitian di Indonesia yang memberikan vitamin E 895 IU (600 mg) per hari selama 12 minggu pada subyek usila dengan hiperkolesterolemia. Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan peroksidasi lipid pada subyek yang mendapat suplementasi.

Vitamin E membutuhkan senyawa pereduksi seperti vitamin C untuk meregenerasinya.¹⁴ Hal tersebut telah dibuktikan dalam suatu penelitian pada 20 orang sehat bukan perokok. Hasilnya menunjukkan terjadi peningkatan kadar vitamin E eritrosit dan penurunan kadar MDA plasma setelah diberikan suplementasi vitamin C 1000 mg selama empat minggu.¹⁵

Pemberian suplementasi vitamin E atau vitamin C saja telah banyak dibuktikan dapat bermanfaat mengurangi peroksidasi lipid, tetapi penelitian pemberian vitamin E dikombinasikan dengan vitamin C untuk mengurangi peroksidasi lipid masih terbatas dan kontroversial. Penelitian Chavan dkk¹⁶ yang meneliti efek pemberian suplementasi vitamin E 600 IU (400 mg), vitamin C 500 mg serta kombinasi keduanya terhadap stres oksidatif pada usila osteoporosis selama 45 hari menunjukkan bahwa kombinasi kedua vitamin tersebut menurunkan kadar MDA plasma lebih besar dibandingkan dengan pemberian vitamin E saja. Penelitian Huang dkk¹⁷ yang memberikan kombinasi vitamin E 400 IU (268 mg) dan vitamin C 500 mg selama dua bulan ternyata menunjukkan bahwa penurunan kadar MDA urin lebih sedikit dibandingkan bila diberikan satu jenis vitamin saja.

Penelitian mengenai pengaruh suplementasi vitamin E dikombinasikan dengan vitamin C untuk mengurangi peroksidasi lipid pada usila dengan hiperkolesterolemia belum pernah dilakukan di Indonesia. Berdasarkan hal tersebut dan hasil kontroversial beberapa penelitian di atas dilakukan penelitian pengaruh kombinasi suplementasi vitamin E dan C dibandingkan suplementasi vitamin E terhadap kadar MDA plasma pada usila dengan hiperkolesterolemia. Penelitian dilakukan dengan memberikan kombinasi suplementasi vitamin E 400 IU dan vitamin C 500 mg selama 45 hari pada usila berusia ≥ 60 tahun di daerah Pasar minggu, Jakarta Selatan.

1.2. Permasalahan

1.2.1. Identifikasi masalah

- Peningkatan prevalensi hiperkolesterolemia pada usila di Indonesia
- Hiperkolesterolemia meningkatkan peroksidasi lipid LDL dan MDA yang dapat memicu terjadinya aterosklerosis.
- Rendahnya kadar antioksidan usila.
- Efek pemberian kombinasi suplementasi vitamin E dan C masih kontroversial.

1.2.2. Perumusan masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas, dapat ditetapkan perumusan masalah sebagai berikut:

Apakah pemberian suplementasi vitamin E 400 IU dikombinasikan dengan vitamin C 500 mg selama 45 hari berturut-turut dapat menurunkan kadar MDA plasma lebih besar dibandingkan dengan mendapat vitamin E 400 IU saja ?

1.3. Hipotesis

Suplementasi vitamin E 400 IU yang dikombinasikan dengan vitamin C 500 mg selama 45 hari berturut-turut pada usila akan menurunkan kadar MDA plasma lebih besar dibandingkan dengan mendapat vitamin E 400 IU saja.

1.4. Tujuan

1.4.1. Tujuan umum

Diketuainya pengaruh pemberian kombinasi suplementasi vitamin E dan C terhadap peroksidasi lipid pada usila dengan hiperkolesterolemia.

1.4.2. Tujuan khusus

1. Diketuainya karakteristik subyek penelitian berdasarkan usia dan jenis kelamin.
2. Diketuainya status gizi subyek penelitian berdasarkan indeks massa tubuh (IMT) pada satu hari sebelum perlakuan (H-1), hari ke 22 (H+22) dan setelah perlakuan (H+46).
3. Diketuainya asupan kalori, karbohidrat, lemak, kolesterol, vitamin E dan C subyek penelitian dengan metode *food record* 2 x 24 jam pada minggu ke 1, 3 dan 7 masa perlakuan.
4. Diketuainya kadar kolesterol LDL plasma pada sembilan hari sebelum perlakuan (H-9) dan H+46 masa perlakuan.
5. Diketuainya kadar MDA plasma pada H-1 dan H+46 masa perlakuan.
6. Diketuainya perbedaan kadar MDA plasma pada H-1 dan H+46 masa perlakuan antara kedua kelompok.

1.5. Manfaat

1.5.1. Untuk subyek penelitian

Dengan suplementasi kombinasi vitamin E dan C, diharapkan dapat menurunkan peroksidasi lipid sehingga risiko aterosklerosis pada subyek penelitian dapat dikurangi.

1.5.2. Untuk institusi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai landasan atau bahan rujukan bagi penelitian selanjutnya.

1.5.3. Untuk peneliti

Diharapkan peneliti dapat menerapkan pengetahuan yang didapat selama kuliah dan melatih cara berpikir serta membuat penelitian dengan metodologi penelitian yang baik dan benar.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. USILA

2.1.1 Teori Menua

Penjelasan mengenai teori menua telah berkembang sejak manusia memiliki keinginan untuk mengetahui proses biologik yang terjadi pada manusia dan usaha manusia agar berumur panjang. Pada dasarnya proses biologik yang terjadi pada penuaan ditentukan oleh genetik dan faktor lingkungan yang mempengaruhi ekspresi kode genetiknya, seperti pada seseorang yang memiliki riwayat keluarga dengan kadar kolestrol LDL tinggi dan kematian pada usia muda akibat penyakit kardiovaskuler, dapat terhindar dari penyakit tersebut dengan mengubah program genetiknya melalui penurunan berat badan, diet rendah asupan lemak jenuh, olah raga yang adekuat serta tidak merokok.¹⁸

Berbagai teori mengenai proses penuaan telah diajukan, namun hingga 20 tahun yang lalu teori-teori tersebut kelihatannya masih sama dengan teori-teori penuaan yang pernah diajukan 200 tahun bahkan 2000 tahun yang lalu, sehingga ada beberapa teori yang telah ditinggalkan dan ditolak. Berbagai penelitian eksperimental di bidang gerontologi dasar selama 20 tahun terakhir ini berhasil memunculkan teori-teori baru mengenai proses menua. Beberapa teori tersebut antara lain teori radikal bebas, teori glikosilasi, teori-teori *programmed aging*, dan teori wear and tear.¹⁹

Teori radikal bebas

Teori radikal bebas diperkenalkan pertama kali oleh Denham Harman pada tahun 1956, yang menyatakan bahwa proses menua normal merupakan akibat kerusakan jaringan oleh radikal bebas. Molekul radikal bebas dapat bereaksi dengan berbagai komponen penting seluler seperti protein, DNA, dan lipid yang dapat mengakibatkan komponen-komponen tersebut tidak berfungsi, namun karena komponen yang sudah tidak berfungsi tersebut dapat bertahan lama di dalam tubuh, maka hal ini dapat mengganggu fungsi sel lainnya.¹⁹

2.1.2 Perubahan fisiologis pada usila

Penuaan merupakan proses biologik yang menyebabkan penurunan fungsi fisiologis serta perubahan pada organ-organ. Kecepatan perubahan berbeda-beda pada setiap individu dan sistem organ.¹⁸

Periode pertumbuhan manusia selesai pada usia 30 tahun, sehingga pada saat inilah dimulai proses penuaan yang disertai dengan timbulnya berbagai efek perubahan (tabel 2.1).¹⁸

Tabel 2.1. Beberapa perubahan yang terjadi pada berbagai sistem tubuh pada proses menua¹⁸

Sistem kardiovaskuler

- Penurunan elastisitas pembuluh darah
- Penurunan *stroke volume output*
- Peningkatan tekanan darah

Sistem endokrin

- Penurunan kadar estrogen dan testotesterone
- Penurunan sekresi hormon pertumbuhan
- Penurunan kemampuan konversi provitamin D menjadi vitamin D di kulit

Sistem gastrointestinal

- Penurunan sekresi saliva dan mucus
- Kehilangan beberapa gigi
- Disfagia
- Penurunan sekresi HCl dan enzim-enzim pencernaan
- Gerakan peristaltik melambat
- Penurunan absorpsi vitamin B12

Sistem musculoskeletal

- Penurunan massa bebas lemak (massa tulang, otot, air)
- Peningkatan massa lemak
- Penurunan kecepatan metabolisme basal
- Penurunan kekuatan otot (*muscle strength*)

Sistem saraf

- Penurunan regulasi nafsu makan
- Penurunan regulasi rasa haus
- Penurunan kecepatan konduksi saraf yang mempengaruhi sensasi dari aroma, rasa, raba dan kognisi
- Perubahan pola tidur dengan siklus bangunnya menjadi lebih pendek

Sistem ginjal

- Penurunan jumlah nefron
- Pengurangan aliran darah
- Perlambatan kecepatan filtrasi glomerulus

Sistem pernafasan

- Penurunan kapasitas bernafas
 - Penurunan ketahanan kerja (*endurance*)
-

2.2. HIPERKOLESTEROLEMIA

2.2.1. Kolesterol

Kolesterol dalam tubuh dapat berasal dari makanan, seperti kuning telur, hati dan daging, khususnya daging merah, demikian juga dengan makanan yang banyak mengandung asam lemak jenuh dan asam lemak *trans*. Selain berasal dari makanan, kolesterol juga dapat disintesis oleh tubuh sendiri melalui jalur yang terdapat pada hampir semua sel tubuh, tetapi terutama pada sel hati dan usus. Prekursor untuk sintesis kolesterol dalam tubuh adalah asetil KoA, yang berasal dari glukosa, asam lemak, maupun asam amino. Melalui reaksi yang dikatalisis HMG-KoA reduktase maka terbentuk kolesterol.⁶

Kolesterol yang mengalir dalam darah terikat lipoprotein. Pada manusia terdapat enam jenis lipoprotein, yaitu *high density lipoprotein* (HDL), *low density lipoprotein* (LDL), *intermediate density lipoprotein* (IDL), *very low density lipoprotein* (VLDL), kilomikron, dan lipoprotein a kecil. Setiap lipoprotein terdiri atas kolesterol (ester atau bebas), trigliserida, fosfolipid, dan apoprotein. Apoprotein merupakan suatu protein yang berperan sebagai zat pelarut lipid. Setiap lipoprotein memiliki apoprotein tersendiri. Sebagai contoh untuk VLDL, IDL, dan LDL mengandung Apo B100.²⁰

2.2.2. Definisi dan klasifikasi hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia adalah kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total dan kolesterol LDL tanpa disertai peningkatan kadar trigliserida dan penurunan kadar kolesterol HDL.¹ Diagnosis hiperkolesterolemia ditegakkan bila kadar kolesterol total > 240 mg/dl dan kadar kolesterol LDL \geq 130 mg/dl.^{1,2} Hiperkolesterolemia diklasifikasikan menjadi ringan, sedang dan berat seperti pada tabel 2.2.

Tabel 2.2. Klasifikasi kadar kolesterol LDL plasma (mg/dL)²

Kategori	Kolesterol LDL (mg/dL)	Hiperkolesterolemia
Optimal	< 100	
Mendekati optimal	100-129	
Batas tinggi	130-159	Ringan
Tinggi	160-189	Sedang
Sangat tinggi	\geq 190	Berat

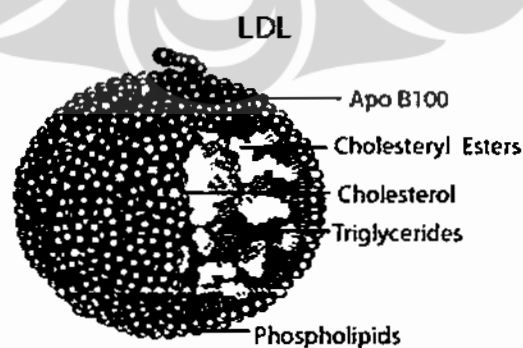
2.2.3. Penyebab hiperkolesterolemia

Beberapa faktor penyebab terjadinya hiperkolesterolemia ringan adalah asupan tinggi kolesterol, peningkatan berat badan yang sejalan dengan peningkatan faktor usia, faktor penuaan, faktor genetik dan kehilangan hormon estrogen pada wanita pasca menopause. Faktor penyebab hiperkolesterolemia sedang hampir sama dengan penyebab hiperkolesterolemia ringan, hanya pada hiperkolesterolemia sedang, faktor genetik lebih dominan dibandingkan faktor lainnya. Pada hiperkolesterolemia berat terutama disebabkan oleh kelainan genetik, akibat penurunan aktivitas reseptor LDL.²

Proses penuaan dapat memperlambat proses pembersihan LDL dari sirkulasi, karena kompleks mekanisme yang mengatur fungsi reseptor LDL menjadi kurang efisien. Hal ini juga terjadi pada wanita menopause. Estrogen merupakan faktor yang dapat menstimulasi sintesis reseptor LDL, sedangkan menopause menyebabkan penurunan kadar estrogen dan juga penurunan sintesis reseptor LDL. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya peningkatan serum kolesterol LDL pada usia.²

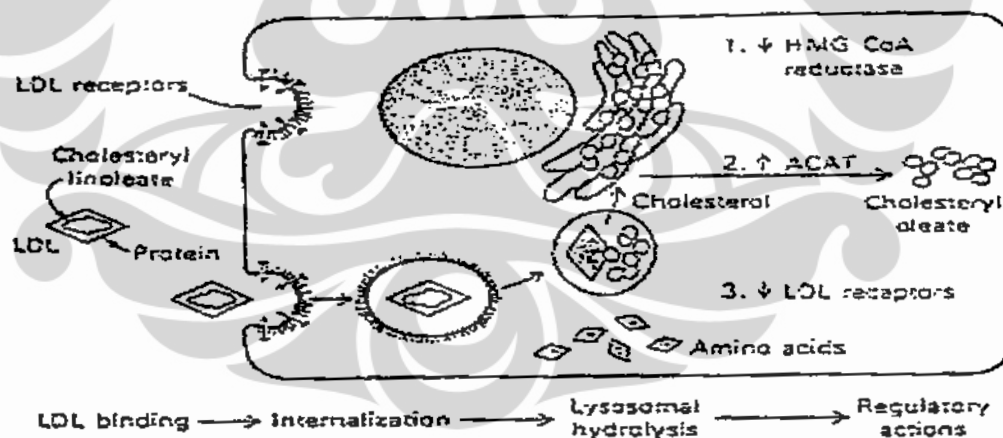
2.2.4. Metabolisme LDL

LDL merupakan lipoprotein utama pengangkut kolesterol yang mampu mengikat sekitar 60% total kolesterol serum. LDL berfungsi mengangkut kolesterol ke jaringan yang dapat digunakan untuk membangun struktur membran sel atau dikonversi menjadi penghasil metabolit lainnya seperti hormon steroid dan vitamin D.¹⁴



Gambar 2.1. Struktur LDL²¹

LDL berasal dari hasil katabolisme VLDL yang diproduksi di hati. VLDL dihidrolisis oleh lipoprotein lipase (LPL) di pembuluh darah menjadi VLDL remnan yang sebagian akan ditangkap oleh hati melalui reseptor LDL atau sebagian akan diubah menjadi LDL. Di dalam hati, trigliserida yang masih tersisa di dalam VLDL remnan akan dihidrolisis oleh enzim hepatic trigliserida lipase (HTGL). LDL di sirkulasi yang mengandung Apo B100 dapat dikenali oleh reseptor LDL, sehingga LDL akan berikatan dengan reseptor LDL dan akan masuk ke dalam sel melalui endositosis menuju ke lisosom. Komponen protein dan kolesterol ester dalam LDL akan dihidrolisis oleh enzim-enzim di lisosom menjadi asam amino, asam lemak bebas, dan kolesterol bebas. Adanya kolesterol bebas di dalam sel menyebabkan penurunan aktivitas enzim HMG KoA reduktase sehingga sintesis kolesterol berkurang, sedangkan sebaliknya terjadi peningkatan aktivitas *acyl CoA:cholesteryl acyl transferase* (ACAT) yang akan meningkatkan pembentukan kolesterol ester. Kolesterol bebas dalam sel akan menurunkan sintesis reseptor LDL untuk mencegah masuknya LDL lebih banyak ke dalam sel (gambar 2.2).¹⁴

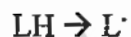


Gambar 2.2. Proses hidrolisis LDL¹⁴

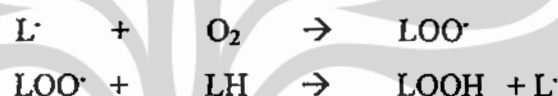
2.2.5. Peroksidasi lipid pada LDL

Peroksidasi lipid merupakan suatu proses oksidasi lipid terutama Asam Lemak Tidak Jenuh Jamak (ALTJJ) oleh radikal bebas.²² Pada LDL terikat sekitar 2700 molekul asam lemak yang separuhnya merupakan ALTJJ, sehingga LDL mudah terjadi peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid LDL dapat terjadi di dalam

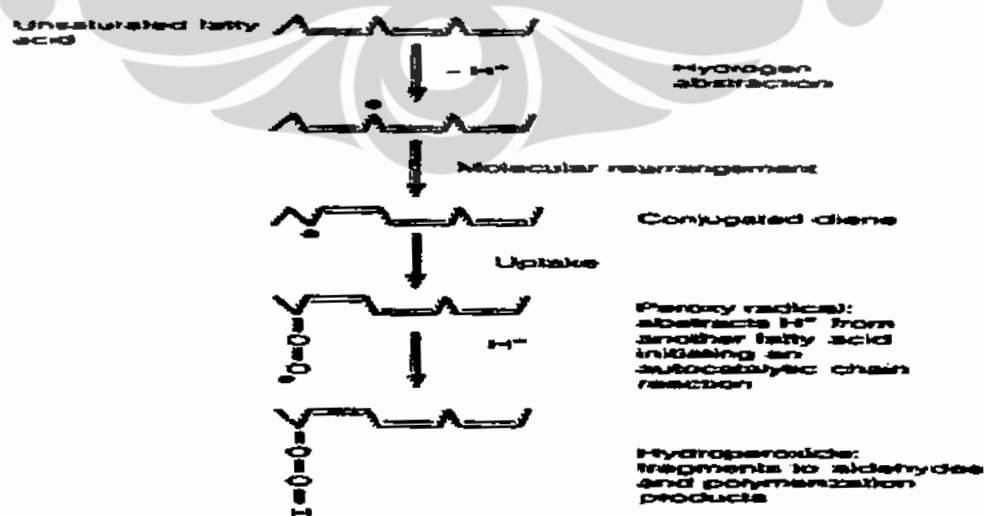
plasma dan di dalam dinding pembuluh darah.²³ Peroksidasi lipid terjadi melalui empat tahapan yaitu inisiasi, propagasi, degradasi dan terminasi. Inisiasi peroksidasi lipid dicetuskan oleh sebuah senyawa radikal bebas misalnya radikal hidroksil, yang mengekstraksi sebuah hidrogen dari gugus metil ALTJJ (LH), sehingga terbentuk suatu radikal lipid (L').^{6,22}



Bila dua radikal lipid berikatan maka akan terjadi penyusunan ulang molekul, sehingga radikal lemak dapat distabilkan dengan pembentukan *conjugated dienes*. Tahap propagasi terjadi bila radikal lipid bereaksi dengan O₂ membentuk peroksid lemak (LOO') yang dapat mengekstraksi kembali hidrogen dari ALTJJ lainnya sehingga terbentuk radikal lipid (L').^{6,22,23}



Pada tahap propagasi diikuti dengan tahap degradasi LDL, di mana terjadi perubahan kolesterol bebas dan kolesterol ester menjadi *7-ketocholesterol* serta perubahan asam lemak tidak jenuh menjadi aldehida seperti malondialdehid (MDA), 4-hidroksinonenal (HNE) dan hexanal (gambar 2.3). Aldehida yang terbentuk akan berikatan silang dengan asam amino apo B-100 terutama asam amino lisin. Pengikatan tersebut menyebabkan perubahan struktur apo B-100 sehingga LDL teroksidasi tidak dapat dikenali oleh reseptor LDL, tetapi dapat dikenali oleh reseptor scavenger yang terdapat di dalam makrofag.^{6,23}



Gambar 2.3. Peroksidasi ALTJJ²³

Antioksidan di dalam LDL dapat menghentikan peroksidasi LDL yang terjadi pada tahap terminasi, misalnya vitamin E, yang memberikan elektron tunggal dalam dua reaksi berurutan untuk membentuk senyawa teroksidasi yang stabil.



Atau



Peroksidasi lipid LDL dapat mengubah atau merusak struktur dan fungsi LDL. Selain sifat peroksidasi lemak membran yang secara alami menghancurkan dirinya sendiri, aldehida yang terbentuk dapat menimbulkan ikatan silang pada protein. Apabila lemak yang rusak adalah komponen suatu membran biologis, maka susunan lapis ganda lemak yang kohesif dan organisasi struktural sel akan terganggu.^{6,23}

2.2.6. Malondialdehida sebagai biomarker peroksidasi lipid

Malondialdehida merupakan salah satu produk hasil oksidasi lipid dengan rumus molekul $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$,²⁴ yang dapat ditemukan di dalam urin dan darah yang dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan sel.⁶ Malondialdehida dapat bereaksi dengan grup amino protein, fosfolipid dan asam nukleat, sehingga menyebabkan terjadinya modifikasi struktural yang dapat menyebabkan tidak berfungsinya sistem imun. Malondialdehida dalam jumlah tinggi dapat dideteksi pada waktu terjadi degradasi sel atau bila sel-sel tubuh mengalami trauma. Sebagai contoh, peningkatan jumlah produksi hasil oksidasi lipid ditemukan pada penderita diabetes, aterosklerosis, dan peradangan.²⁵

2.2.7. Hiperkolesterolemia dan aterosklerosis

Hiperkolesterolemia akan meningkatkan permeabilitas endotel dan retensi lipoprotein sehingga hal ini menyebabkan peningkatan LDL di dalam tunika intima pembuluh darah. Di dalam tunika intima, LDL akan berinteraksi dengan spesies oksigen reaktif (SOR) yang mengalami oksidasi yang dapat dihambat oleh HDL.²⁶

LDL yang teroksidasi akan merangsang sel endotel untuk memproduksi molekul-molekul adhesi seperti *monocyte chemotactic protein-1* (MCP-1) dan *macrophage colony-stimulating factor* (MCSF). Molekul-molekul adhesi tersebut dapat menarik monosit dan limfosit T. Monosit yang masuk ke dalam intima akan berubah menjadi makrofag.²⁶

LDL teroksidasi akan ditangkap oleh reseptor khusus makrofag seperti *scavenger receptor A* (SR-A). Ekspresi reseptor tersebut dimediasi oleh sitokin-sitokin seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) dan interferon- γ (IFN- γ). Makrofag yang berisi lemak ini disebut *foam cell* (sel busa). Kumpulan sel busa dalam tunika intima dapat terlihat sebagai bintik-bintik yang dinamakan *fatty streak* dan merupakan lesi awal aterosklerosis.²⁶

Pada awalnya, keberadaan makrofag ini menguntungkan dalam hal menetralkan efek buruk LDL teroksidasi pada dinding pembuluh darah. Makrofag juga akan mensintesis *growth factor* yang akan merangsang migrasi sel otot polos media bermigrasi ke intima. Sel otot polos ini pada gilirannya akan membentuk matriks ekstraseluler dan membentuk kapsul plak yang bersifat protektif. Namun, makrofag yang teraktivasi memiliki kemungkinan besar untuk apoptosis. Pada saat mati, makrofag ini akan melepaskan isi lipidnya yang kemudian akan menjadi bagian dari inti plak, sehingga plak akan membesar. Makrofag yang mati juga melepaskan *tissue factor* dalam jumlah banyak yang akan merangsang trombosis jika terpapar pada platelet dalam darah.^{27,28}

2.3. VITAMIN

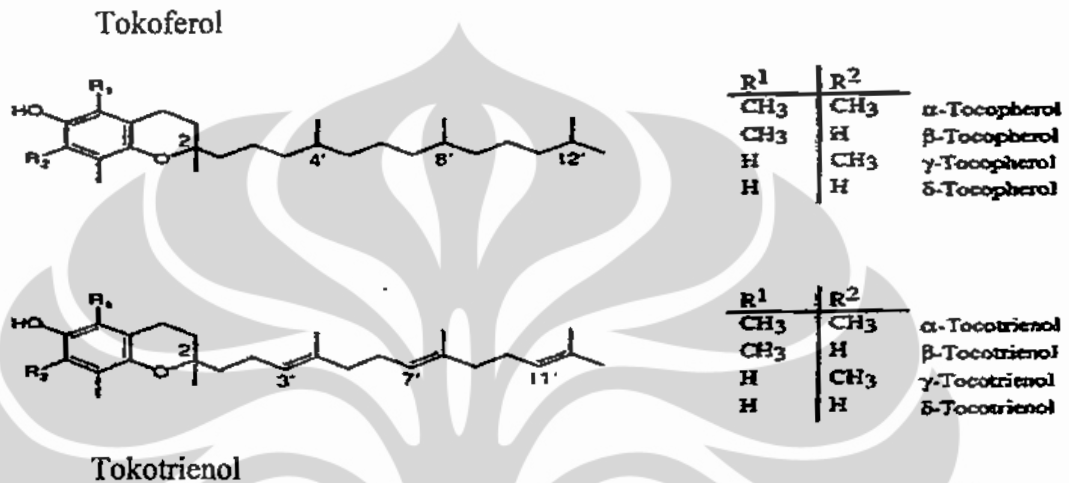
2.3.1. VITAMIN E

2.3.1.1. Struktur dan sifat kimia

Vitamin E meliputi delapan senyawa yang disebut dengan vitamer. Masing-masing vitamer tersebut mengandung kelompok fenol fungsional pada cincin kromanolnya dan rantai samping *phytyl* yang mengandung 16 karbon. Delapan senyawa tersebut terbagi menjadi dua kelas, yaitu tokoferol yang memiliki rantai samping jenuh dan tokotrienol yang memiliki rantai samping tidak jenuh. Masing-masing kelas tersusun atas empat vitamer yang berbeda dalam nomor dan letak grup metil pada cincin kromanol. Vitamer tersebut adalah α , β , γ , dan δ (gambar

2.4). Dari vitamer-vitamer tersebut hanya α tokoferol yang memiliki aktivitas biologik dan merupakan bentuk aktif vitamin E.^{29,30}

Vitamin E tidak berbau dan tidak berwarna, larut dalam lemak dan pelarut organik. Vitamin E mudah rusak teroksidasi, dan proses oksidasi ditingkatkan oleh cahaya, panas, alkali dan elemen mikro (Fe^{3+} dan Cu^{2+}).³¹



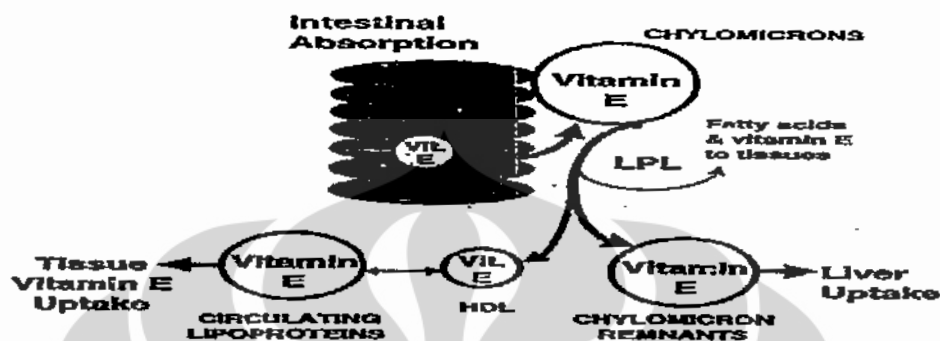
Gambar 2.4. Struktur kimia tokoferol dan tokotrienol¹⁴

2.3.1.2. Absorpsi, transportasi, penyimpanan, dan ekskresi

Sebanyak 20-80% tokoferol diabsorpsi di bagian proksimal usus halus. Bioavailabilitas vitamin E tergantung dari kandungan lemak dalam makanan. Absorpsi tokoferol dalam bentuk misel yang pembentukannya bergantung pada garam empedu dan lipase pankreas. Lipase pankreas dibutuhkan untuk menghidrolisis ester tokoferol seperti asetat dan suksinat sehingga dapat diserap menjadi bentuk α -tokoferol bebas.²⁹

Mekanisme transportasi vitamin E melewati sel epitel absorptif usus halus belum diketahui pasti. Vitamin larut lemak termasuk vitamin E, karotenoid, dan komponen makanan larut lemak lainnya bergabung ke dalam kilomikron. Berikutnya kilomikron disekresikan ke dalam pembuluh limfe. Dalam lapisan endotelial kapiler, lipoprotein lipase (LPL) memecahkan kilomikron secara cepat. Tokoferol yang berada di dalam kilomikron, sebagian di transfer ke *High-Density Lipoprotein* (HDL) untuk ditransfer ke lipoprotein lainnya dan sisanya dengan kilomikron remnan akan dibawa ke hati. Di hati, kilomikron remnan diuraikan, tokoferol di kilomikron remnan akan disekresikan ke dalam *very low density lipoprotein* (VLDL) dan beredar dalam plasma. Selanjutnya, VLDL dihidrolisis

oleh LPL menjadi *low density lipoprotein* (LDL). LDL membawa sebagian besar plasma tokoferol yang akan dipindahkan ke HDL. Kemudian LDL akan berikatan dengan reseptor LDL di jaringan perifer (gambar 2.5).²⁹



Gambar 2.5. Jalur transportasi vitamin E²⁹

Waktu paruh dari α -tokoferol pada orang normal kurang lebih 48 jam, α -tokoferol secara lambat hilang dari plasma, karena turnover dari α -tokoferol lambat. Alfa tokoferol pada jaringan seperti eritrosit, hati, dan limpa turnovernya lebih cepat dibandingkan jantung, otot, dan medula spinalis, sedangkan yang paling lambat pada otak.¹⁴

Tokoferol dipecah menjadi beberapa metabolit. Sebagai antioksidan, α -tokoferol pertama-tama diubah menjadi *α -tocopheroxyl* (*tocopheryl chromanoxyl*), kemudian dioksidasi menjadi *α -tocopheryl quinone* yang tidak dapat direduksi kembali menjadi α -tokoferol.²⁹ *α -tocopheryl quinone* akan direduksi menjadi *hydroquinone* dan selanjutnya akan diubah menjadi asam *α -tocopheronic*, asam ini akan berkonjugasi dengan asam glukuronat atau komponen lain dan dikeluarkan melalui urin. Konjugasi *α -tocopheryl hydroquinone* juga akan dikeluarkan ke empedu dan dibuang ke feses.²⁹

Metabolit lain dari tokoferol adalah 2,5,7,8-tetramethyl-2-[2'-carboxyethyl]-6-hydroxychroman (α -CEHC) dari α -tokoferol. Bentuk vitamin E dimetabolisme sama seperti xenobiotik, dengan oksidasi ω melalui sitokrom P450s (CYPs), kemudian berkonjugasi dan diekskresikan ke dalam urine atau empedu. *Hepatic CYP4F2* dan *CYP3A* berperan dalam oksidasi ω dari α -tokoferol dan tokotrienol. Pembawa xenobiotik dapat juga untuk mediasi ekskresi *hepatic* CEHC, karena CEHC dapat ditemukan pada plasma, urine, dan empedu. Asupan α -tokoferol

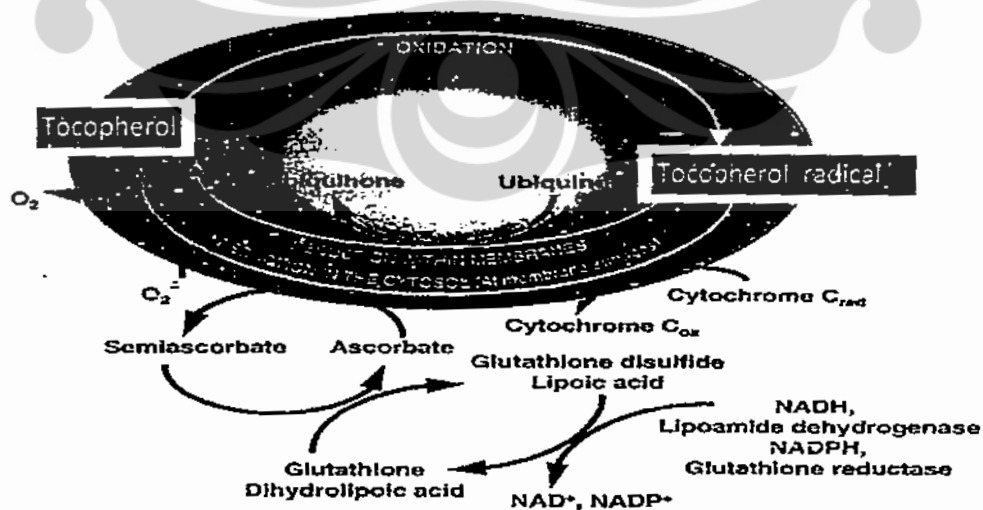
yang tinggi seperti dari suplemen vitamin E, akan menyebabkan peningkatan α -tokoferol plasma dan meningkatkan ekskresi α -CEHC.²⁹

2.3.1.3. Fungsi

Tokoferol merupakan antioksidan larut lemak, yang terletak pada membran sel. Sehingga tokoferol dapat melindungi membran sel dari kerusakan akibat peroksidasi asam lemak tidak jenuh yang terdapat pada fosfolipid membran. Mekanisme tokoferol sebagai antioksidan adalah dengan melakukan terminasi pada proses pembentukan radikal bebas dan menginaktivasi *singlet Oxygen*. Tokoferol dalam menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas adalah dengan memutuskan rantai reaksi propagasi proses peroksidasi lipid dengan cara mendonorkan ion hidrogen dari cincin fenol ke radikal bebas pada tahap terminasi. Tokoferol (TocH) terdapat pada membran sel dan dapat bereaksi dengan radikal peroksil (LOO^\cdot) sebelum radikal tersebut berinteraksi dengan asam lemak pada membran sel atau komponen sel lainnya, menghasilkan hidroperoksida yang tidak radikal (LOOH) serta tokoferol teroksidasi (Toc $^\cdot$).



Tokoferol teroksidasi harus diregenerasi agar dapat digunakan kembali. Regenerasi tokoferol membutuhkan senyawa reduksi yang diantaranya adalah vitamin C (asam askorbat), pereduksi glutathion (GSH), NADPH dan ubiquinol (gambar 2.6).¹⁴



Gambar 2.6. Regenerasi tokoferol³²

Tokoferol memiliki kemampuan menginaktivasi *singlet oxygen*, karena struktur fisik tokoferol yang memiliki gugus hidroksil bebas pada posisi ke 6 cincin kromanol. Inaktivasi tersebut secara fisik dengan mengubah *singlet oxygen* ($^1\text{O}_2$) menjadi *triplet oxygen* ($^3\text{O}_2$) dengan cara transfer energi. Kemampuan tokoferol dalam inaktivasi *singlet oxygen* lebih rendah dibandingkan beta karoten.¹⁴

2.3.1.4. Kebutuhan

Berdasarkan rekomendasi *Institute of Medicine* tahun 2000, bentuk vitamin E yang dapat dijadikan pedoman penentuan *Recommended Dietary Allowances* (RDA) adalah α -tokoferol, karena ketidakmampuan dari tubuh untuk mengubah bentuk lain dari vitamin E. Angka kecukupan vitamin E yang dianjurkan untuk usia ≥ 65 tahun di Indonesia sebesar 15 mg/hari.³³

2.3.1.5. Defisiensi dan toksisitas

Penyakit kekurangan vitamin E pada manusia jarang terjadi, karena vitamin E terdapat banyak di dalam bahan makanan. Kekurangan biasanya terjadi karena adanya gangguan absorpsi lemak seperti pada *cystic fibrosis*, kelainan pada sistem hepatobilier dan gangguan transpor lipida seperti pada beta-lipoproteinemia. Beberapa gejala kekurangan vitamin E adalah kelemahan dan nyeri muskuloskeletal, anemia hemolitik, dan masalah neurologik degeneratif seperti ataksia spino cerebellar, kehilangan sensasi getaran, dan kehilangan koordinasi ekstremitas.¹⁴

Penggunaan suplemen vitamin α tokoferol lebih dari 1000 mg dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya perdarahan, akibat peningkatan waktu koagulasi darah. Selain itu, asupan vitamin E yang tinggi dapat menimbulkan gejala di saluran cerna seperti mual, diare dan kembung; kadang-kadang dilaporkan adanya kelemahan otot, lesu dan penglihatan ganda.¹⁴

2.3.1.6. Bahan makanan sumber

Sumber utama vitamin E adalah minyak tumbuh-tumbuhan, terutama minyak kecambah gandum dan biji-bijian. Minyak kelapa dan zaitun hanya

sedikit mengandung vitamin E. Daging, unggas, ikan dan kacang-kacangan merupakan sumber vitamin E yang baik. Sedangkan Sayuran dan buah-buahan hanya mengandung vitamin E dalam jumlah terbatas.³⁴

Suplemen vitamin E kebanyakan berisi alfa-tokoferol ester seperti alfa-tokoferol asetat, suksinat, atau nikotinat. Bentuk ester mencegah oksidasi dari vitamin E dan memperpanjang masa kerjanya.³² Vitamin E sintetik yang dijual biasanya berwarna kuning muda hingga kecokelatan. Satuan suplementasi yang biasa digunakan adalah *International Unit* (IU). Suplemen vitamin E yang natural memiliki stereoisomer *RRR- α -tokoferol* yang dikenal dengan *d- α -tokoferol*, selain itu terdapat suplemen vitamin E dengan delapan stereoisomer (*all-rac- α -tokoferol*) yang dikenal dengan *d,l- α -tokoferol*. Setiap IU setara dengan 0,91 mg *all-rac- α -tokoferol* atau 0,67 mg *RRR- α -tokoferol*. Satu mg *RRR- α -tokoferol* ekuivalen dengan 2 mg *all-rac- α -tokoferol*. Jadi dalam sebuah suplemen vitamin E 400 IU mengandung 268 mg *d- α -tokoferol* atau mengandung 180 mg *d,l- α -tokoferol*.²⁹

2.3.1.7. Penilaian status vitamin E

Pengukuran vitamin E plasma merupakan metoda yang paling sering dan mudah dilakukan untuk memeriksa status vitamin E. Kadar normal vitamin E berkisar antara 12-30 $\mu\text{mol/L}$ (5-13 mg/L) dan lebih dari 90% terdiri dari α -tokoferol.³⁵

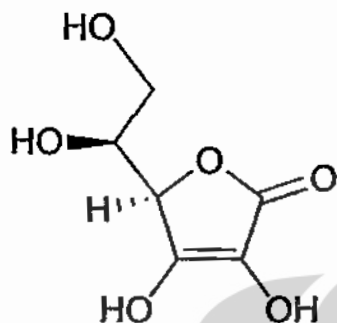
2.3.2. VITAMIN C

2.3.2.1. Struktur dan sifat kimia

Vitamin C mempunyai enam rantai karbon dengan rumus molekul $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ (gambar 2.7). Nama kimia dari vitamin C adalah *2,3-didehydro-L-threo-hexano-1,4lactone*. Pada bahan makanan sumber, vitamin C terutama dalam bentuk L - askorbat dan dehidroaskorbat. Sedangkan pada preparat suplemen biasanya dalam bentuk askorbil palmitat.³⁶

Pada bahan makanan vitamin C paling stabil pada pH antara empat dan enam, tetapi kestabilan tersebut tergantung dari derajat pemanasan dan luasnya

bagian yang terpapar air atau udara, sehingga pada proses pemasakan makanan dapat menyebabkan hilang atau rusaknya vitamin C.³⁶



Gambar 2.7. Struktur kimia vitamin³⁷

2.3.2.2. Absorpsi, transportasi, penyimpanan, dan ekskresi

Sekitar 80-90% dari vitamin C yang berasal dari bahan makanan berada dalam bentuk tereduksi, yaitu sebagai asam askorbat, sedangkan sisanya dalam bentuk teroksidasi, yaitu asam dehidroaskorbat. Asam askorbat diabsorpsi di usus halus melalui transpor aktif dan difusi sederhana. Pada konsentrasi asam askorbat yang rendah di saluran cerna yang lebih aktif bekerja adalah transpor aktif. Sebaliknya pada konsentrasi yang tinggi proses difusi lebih dominan. Vitamin C yang diserap dari makanan lebih kurang 80-90%. Pada asupan vitamin C dosis tinggi satu gram atau lebih, penyerapan vitamin C akan berkurang sampai 20%. Turunnya efisiensi absorpsi ini terjadi karena penyerapan vitamin C dengan dosis tinggi dilakukan melalui mekanisme difusi sederhana dengan kecepatan difusi sangat lambat. Di samping itu, bila vitamin C yang dicerna dalam jumlah besar, maka vitamin C tersebut di lumen usus akan dipecah menjadi senyawa yang selanjutnya didegradasi menjadi karbondioksida dan akhirnya dikeluarkan melalui pernafasan.^{35,38} Absorpsi vitamin C pada lansia lebih rendah bila dibandingkan dengan orang muda.³⁹ Hal ini disebabkan adanya perubahan fisiologis saluran cerna pada lansia.²⁸

Setelah diabsorpsi, asam askorbat ditranspor sebagai asam bebas di dalam plasma dan dibawa masuk ke dalam sel, termasuk leukosit dan sel darah merah. Di dalam plasma asam askorbat terdapat dalam bentuk anion yang tidak berikatan dengan protein plasma.⁴⁰ Vitamin C ekstraseluler sebagian besar terdapat dalam

bentuk asam askorbat (99,5%) dan hanya sedikit sekali (0,5%) dalam bentuk dehidroaskorbat.^{35,41}

Dalam tubuh, vitamin C tidak disimpan untuk waktu yang lama. Bila makanan yang dikonsumsi tidak mengandung vitamin C, maka kira-kira 3% dari persediaan vitamin C dalam tubuh akan dikeluarkan setiap hari. Bila asupan vitamin C harian berada dalam batas normal, maka hampir setengah dari metabolit vitamin C dalam urin muncul sebagai asam oksalat, sedangkan sisanya dalam bentuk asam askorbat, asam dehidroaskorbat, 2,3-diketoglutarat, dan askorbat 2-sulfat. Pada saat asupan harian vitamin C sangat berlebihan, ekskresi asam oksalat dalam urin hanya sedikit, sedangkan sebagian besar dari vitamin diekskresikan sebagai vitamin C utuh (tidak dimetabolisme).³⁵



Gambar 2.8. Transportasi vitamin C⁴²

2.3.2.3. Peran fisiologik

Vitamin C bekerja sebagai antioksidan larut air utama dalam cairan tubuh dengan cara mendonorkan elektron atau ion hidrogen kepada radikal bebas, sehingga askorbat dapat menghambat aktivitas radikal bebas sebelum radikal tersebut mencapai membran seluler.^{35,38} vitamin C dapat meredam *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS), seperti radikal hidroksil (OH), radikal hidroperoksil (HO₂), anion superoksida (O₂⁻) dan nitrogen dioksida

(NO²), juga spesies non radikal seperti asam hipoklorous (HOCl), singlet oksigen (¹O₂), dinitrogen trioksida (N₂O₃), dinitrogen tetraoksida (N₂O₄), nitroksida (NO), dan peroksinirit (ONOO).⁴³

Selain meredam ROS dan RNS, vitamin C juga dapat meregenerasi antioksidan molekul kecil lainnya, seperti radikal dari alfa tokoferol, glutathion (GSH), asam urat dan beta karoten. Regenerasi tersebut terjadi dengan cara vitamin C mendonorkan elektron atau ion hidrogennya kepada radikal tersebut. Peran vitamin C sebagai koantioksidan ini sangat penting, karena penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa bila tidak terdapat ko-antioksidan seperti vitamin C maka alfa tokoferol akan tetap dalam bentuk prooksidan.⁴³

Walaupun sejumlah besar bukti ilmiah yang ada menganggap vitamin C sebagai antioksidan dan memberikan efek yang menyehatkan pada manusia, namun pada penelitian lebih lanjut mengenai peran vitamin C secara *in vitro* menunjukkan bahwa dengan adanya ion metal transisi redoks-aktif, maka vitamin C selain bekerja sebagai antioksidan, dapat pula bekerja sebagai prooksidan karena vitamin C merupakan senyawa redoks aktif.

2.3.2.4. Bahan makanan sumber

Vitamin C terutama banyak terdapat di dalam pangan nabati, yaitu sayur dan buah terutama yang asam seperti jeruk, nenas, rambutan, pepaya, dan tomat. Vitamin C juga banyak terdapat di dalam sayuran daun-daunan dan jenis kol.⁴⁴

2.3.2.5. Angka kecukupan yang dianjurkan

Asupan gizi yang direkomendasikan oleh tiap negara sangat bervariasi. Angka kecukupan vitamin C yang dianjurkan di Indonesia untuk usia laki-laki adalah 90 mg/hari dan untuk usia wanita adalah 75 mg/hari.⁴⁵

2.3.2.6. Defisiensi dan toksisitas

Asupan vitamin C yang kurang menyebabkan keadaan defisiensi vitamin C yang biasanya dikenal dengan nama *scurvy*. *Scurvy* terjadi akibat kegagalan sintesis hidroksiprolin dan hidroksilislin yang dibutuhkan pada pembentukan kolagen. Gejala klinis *scurvy* meliputi rasa lemah, lelah, gusi berdarah, infeksi,

gangguan penyembuhan luka, perdarahan kulit dan depresi. Gejala-gejala tersebut dapat muncul ketika kadar vitamin C plasma < 0.2 mg/dl atau bila total persediaan vitamin C dalam tubuh < 300 mg. Untuk menyembuhkan manifestasi klinis penyakit *scurvy* paling sedikit diperlukan vitamin C 60 mg/hari. Pada usila sering didapatkan kadar vitamin C yang rendah, mungkin disebabkan karena pengurangan asupan akibat perubahan fisiologis saluran cerna atau peningkatan kebutuhan vitamin C.^{14,35,38}

Suplementasi vitamin C sampai dengan 2 g/hari tidak memberikan efek yang merugikan. Biasanya efek samping yang merugikan timbul bila asupan vitamin C > 2 g/hari. Efek samping yang timbul antara lain nyeri perut dan diare osmotik, karena vitamin C yang tidak diabsorpsi akan dimetabolisme oleh bakteri di kolon. Selain itu efek samping lainnya adalah peningkatan risiko pembentukan batu ginjal dan toksisitas besi. Berdasarkan efek samping yang timbul, maka direkomendasikan batas teratas asupan vitamin C (*upper intake level/UL*) sebesar 2 g/hari.¹⁴

2.3.2.7. Penilaian status vitamin C

Penilaian status vitamin C dapat dilakukan dengan mengukur kadar vitamin C dalam serum/ leukosit, sel mononuklear (limfosit dan monosit), eritrosit, urin atau sel mukosa bukal dan saliva. Pemeriksaan yang paling sering dilakukan pada berbagai penelitian adalah kadar vitamin C plasma atau serum.⁴⁶

Kadar normal vitamin C plasma berkisar 0.3 - 2.0 mg/dl. Kadar vitamin C plasma dapat dibagi menjadi tiga kategori, yaitu: defisiensi (< 0.2 mg/dl), berisiko defisiensi (0.2- 0.29 mg/dl) dan normal (> 0.3 mg/dl).¹⁴

2.4. PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN E DAN C TERHADAP KADAR MDA PLASMA PADA USILA DENGAN HIPERKOLESTEROLEMIA

Pertambahan usia, secara fisiologis akan terjadi penurunan kemampuan jaringan untuk memperbaiki diri serta mempertahankan struktur dan fungsi normalnya, sehingga proses penuaan dapat memperlambat proses pembersihan LDL dari sirkulasi, karena kompleks mekanisme yang mengatur fungsi reseptor LDL

menjadi kurang efisien. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya peningkatan serum kolesterol LDL pada usila. Keadaan ini akan mengakibatkan terjadinya penumpukkan radikal bebas yang akan merusak komponen sel seperti protein, DNA, lipid, dan komponen sel lainnya. Kerusakan tersebut akan menghasilkan berbagai macam produk seperti protein karbonil sebagai produk dari oksidasi protein, 8-hidroksiguanin hasil dari oksidasi DNA, serta malondialdehida (MDA) dan F2-isoproston hasil dari oksidasi lipid, yang mana produk-produk tersebut dapat mengubah struktur dan fungsi sel.²² Dalam suatu penelitian potong lintang yang membandingkan kadar MDA pada orang muda dengan usila, diperlihatkan bahwa kadar MDA pada usila ($396,39 \pm 43,58$) lebih besar bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan orang muda ($352,26 \pm 67,59$).⁴⁷

Pada usila, sistem gastrointestinal merupakan salah satu sistem yang mengalami perubahan struktur serta penurunan fungsi fisiologisnya. Keadaan ini menyebabkan terjadinya penurunan asupan dan absorpsi zat gizi termasuk asupan antioksidan seperti vitamin C dan vitamin E. Peningkatan radikal bebas dan kadar antioksidan yang rendah pada usila menyebabkan kemudahan terjadi stres oksidatif.¹⁸

Vitamin E merupakan antioksidan lipofilik utama yang jumlahnya paling banyak terdapat di dalam partikel LDL. Di dalam LDL, vitamin E bekerja sebagai pemutus rantai reaksi propagasi proses peroksidasi lipid, sehingga vitamin E dapat menghambat terjadinya peroksidasi lipid pada LDL. Adanya penurunan LDL teroksidasi dapat mengurangi terjadinya modifikasi protein LDL, sehingga akan mengurangi pembentukan sel busa di dalam dinding pembuluh darah yang merupakan lesi awal aterosklerosis.⁴⁸ Hal ini telah dibuktikan oleh Purwastyastuti¹³ yang melakukan uji klinik tersamar ganda dengan memberikan suplementasi vitamin E 895 IU/hari atau plasebo selama 12 minggu pada 152 usila dengan rata-rata kadar kolesterol LDL > 130 mg/dl untuk mengetahui efek pemberian suplementasi vitamin E dosis tinggi terhadap kadar lipid peroksida plasma dan profil lipid plasma. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan trigliserida pada kelompok yang diberikan suplementasi vitamin E, sedangkan sebaliknya pada kelompok plasebo terjadi penurunan profil lipid. Walaupun

terjadi peningkatan profil lipid pada kelompok yang diberikan suplementasi, tetapi pada kelompok tersebut terjadi penurunan kadar lipid peroksida plasma yang lebih besar dibandingkan kelompok yang mendapatkan plasebo (tabel 2.3). Sehingga diduga suplementasi vitamin E pada penderita hiperkolesterolemia berpotensi menurunkan peroksidasi lipid.

Tabel 2.3. Hasil penelitian Purwastyastuti¹³

	Vitamin E (n=82)			Plasebo (n=70)			P
	Awal	Akhir	Δ	Awal	Akhir	Δ	
Lipid peroksida (nmol/ml)	0.310±0.023	0.263±0.017	-0.047±0.026	0.309±0.020	0.286±0.023	-0.022±0.033	0.046
Kol-total (mg/dl)	215.00±4.9	225.84±4.6	11.12±5.0	222.96±5.8	217.68±5.2	-5.28±4.7	0.046
Kol-LDL (mg/dl)	140.92±3.6	147.58±3.7	7.19±3.9	140.88±3.6	140.54±3.9	-0.33±3.5	Ts
Kol-HDL (mg/dl)	49.32±1.7	51.74±1.6	2.23±1.9	55.36±2.8	50.00±1.6	-5.71±2.4	0.047
Trigliserida (mg/dl)	127.16±5.3	131.73±4.9	4.62±4.6	138.33±6.4	137.13±6.1	-1.20±6.9	0.026

Δ : perubahan; p: Δ vitamin E dibandingkan Δ plasebo; ts : tidak signifikan

Penelitian yang mempelajari efek suplementasi vitamin E terhadap peroksidasi lipid dan profil lipid, juga dilakukan oleh Nagyova dkk⁴⁹ melalui penelitian eksperimental pada 32 orang subyek pasien penyakit jantung iskemik dengan hiperkolesterolemia (16 orang subyek laki-laki dan 16 orang wanita pasca menopause) yang berumur di atas 50 tahun. Subyek penelitian dibagi menjadi empat kelompok yaitu kelompok suplementasi (laki-laki) mendapat vitamin E 400 mg, kelompok kontrol (laki-laki) mendapat plasebo, kelompok suplementasi (wanita pasca menopause) vitamin E 400 mg, dan kelompok kontrol (wanita pasca menopause) mendapat plasebo; masing-masing diberikan vitamin E atau plasebo sebanyak satu kali sehari selama enam minggu. Pada kelompok laki-laki dan wanita pasca menopause yang mendapat suplementasi terjadi peningkatan kadar kolesterol total dan kolesterol LDL, dengan peningkatan bermakna pada kelompok laki-laki. Demikian pula pada semua kelompok terjadi penurunan kadar MDA plasma, tetapi hanya pada kelompok laki-laki yang diberikan suplementasi vitamin E terjadi penurunan kadar MDA plasma secara bermakna (tabel 2.4 dan 2.5).

Tabel 2.4. Hasil penelitian Nagyova dkk pada subyek laki-laki⁴⁹

	Kontrol			Perlakuan		
	Awal	Akhir	p	Awal	Akhir	P
Kolesterol total (mmol/l)	6.51±0.68	6.56±1.01	TS	6.46±0.77	6.97±0.77	0.024*
Kolesterol HDL (mmol/l)	1.30±0.28	1.45±0.27	TS	1.45±0.54	1.36±0.49	TS
Kolesterol LDL (mmol/l)	4.15±0.48	4.16±0.74	TS	4.02±0.71	4.95±1.31	0.047*
Trigliserida (mmol/l)	2.35±1.07	2.13±0.92	TS	2.20±1.06	2.30±1.57	TS
α-tokoferol (μmol/l)	37±11	38±6	TS	32±7	60±21	0.009*
Malondialdehyde (μmol/l)	1.72±0.51	1.50±0.28	TS	1.89±0.48	1.51±0.36	0.008*

TS : tidak signifikan, * p < 0.05

Tabel 2.5. Hasil penelitian Nagyova dkk pada subyek wanita pasca menopause⁴⁹

	Kontrol			Perlakuan		
	Awal	Akhir	P	Awal	Akhir	P
Kolesterol total (mmol/l)	6.84±0.93	6.74±0.59	TS	6.44±1.41	6.58±1.32	TS
Kolesterol HDL (mmol/l)	1.44±0.31	1.46±0.43	TS	1.48±0.42	1.40±0.60	TS
Kolesterol LDL (mmol/l)	4.59±0.86	4.91±1.06	TS	4.23±1.42	4.40±1.30	TS
Trigliserida (mmol/l)	1.79±0.70	1.68±0.53	TS	1.62±0.76	1.75±0.51	TS
α-tokoferol (μmol/l)	31±9	40±10	0.014*	35±10	48±15	0.031*
Malondialdehyde (μmol/l)	1.90±0.54	1.56±0.28	TS	1.69±0.63	1.48±0.32	TS

TS : tidak signifikan, * p<0.05

Vitamin E membutuhkan senyawa pereduksi seperti vitamin C untuk meregenerasinya. Kemampuan vitamin C dalam meregenerasi radikal antioksidan telah dibuktikan dengan suatu penelitian eksperimental pada 75 pasien osteoporosis berusia antara 45-70 tahun yang diberikan suplementasi vitamin C 500 mg, vitamin E 600 IU, dan kombinasi keduanya, selama 90 hari. Penelitian tersebut bertujuan untuk melihat pengaruh suplementasi vitamin C dan vitamin E terhadap stres oksidatif yang dinilai dengan kadar MDA serum dan penilaian status antioksidan dengan kadar glutathion tereduksi (GSH) dalam eritrosit. Pemeriksaan dilakukan sebanyak tiga kali yaitu saat sebelum, hari ke 45 dan ke 90 masa suplementasi. Hasil penelitian tersebut menunjukkan terjadinya penurunan bermakna kadar MDA pada hari ke 45 dan ke 90 pada semua kelompok serta terjadinya peningkatan secara bermakna kadar GSH dalam eritrosit pada

kelompok vitamin C (hari ke 90) dan kelompok kombinasi (hari ke 45 dan 90) (tabel 2.6).¹⁶

Tabel 2.6. Hasil penelitian Chavan dkk¹⁶

Parameter	Vitamin C			Vitamin E			Vitamin E+C		
	H0	H45	H90	H0	H45	H90	H0	H45	H90
MDA (nmol/ml)	8.6±4.6	6.4±3.2*	5.6±2.8*	7.0±2.9	5.7±2.4**	4.6±2.1**	7.4±3.4	5.3±2.3**	4.6±2.5**
GSH (µmol/gm Hb)	8.4±2.4	9.1±2.6	10.3±2.5*	9.2±2.5	9.2±2.3	9.7±2.2	8.4±3.5	9.8±3.5*	11.3±2.9**

* p<0.001; ** p<0.001

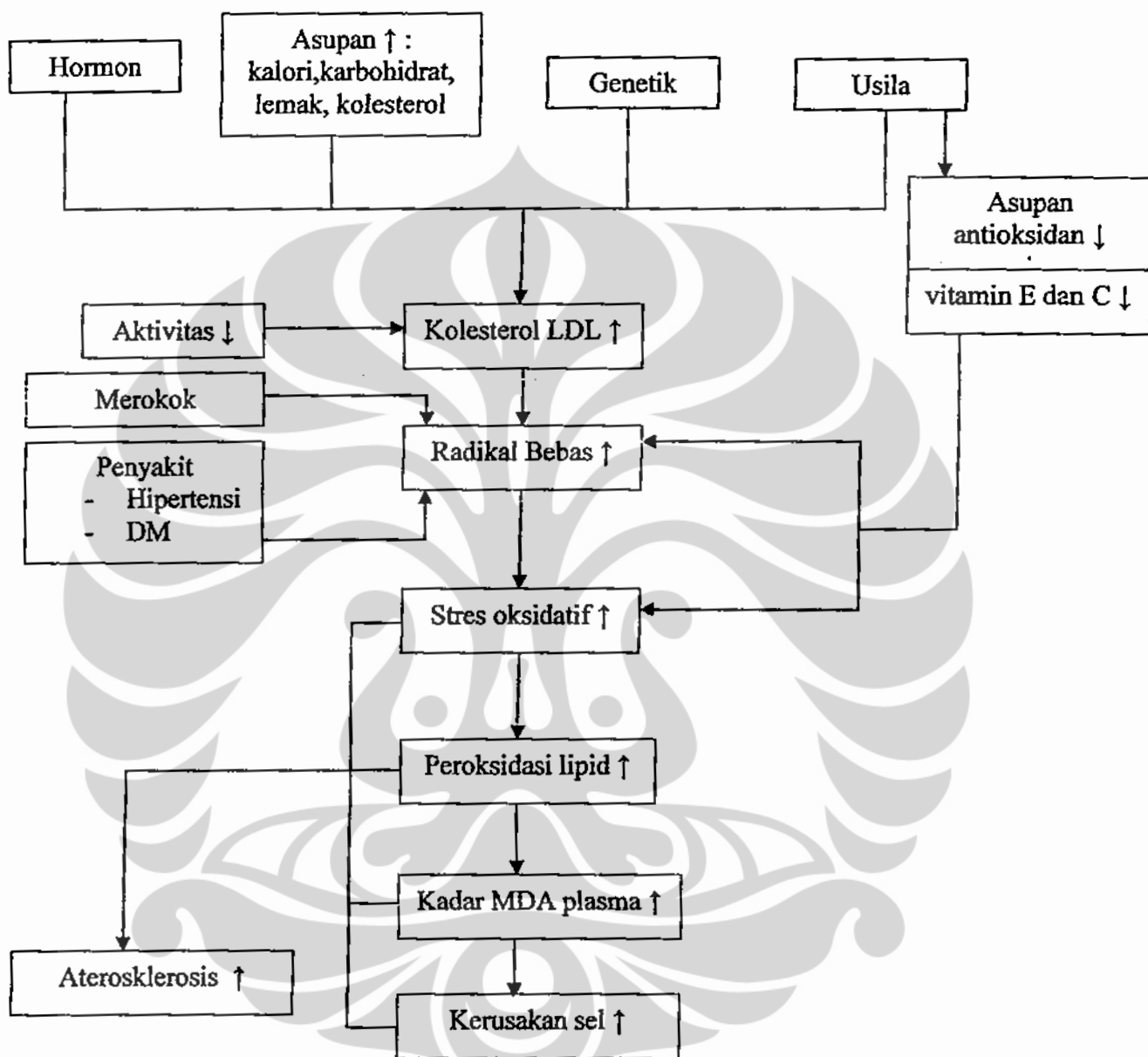
Efek suplementasi vitamin E dan C yang berpengaruh terhadap stres oksidatif dan juga status antioksidan telah dibuktikan pada suatu penelitian eksperimental jangka panjang yang dilakukan oleh Sarataho dkk.⁵⁰ Pada penelitian ini diberikan suplementasi vitamin C 500 mg, vitamin E 270 IU RRR- α -tokoferol asetat, dan kombinasi kedua vitamin tersebut selama 3 tahun pada 48 subyek berusia 45-69 tahun untuk mengetahui efek suplementasi vitamin E dan C terhadap stres oksidatif dan status antioksidan. Subyek penelitian dibagi menjadi empat kelompok yaitu kelompok kontrol yang mendapatkan plasebo, kelompok vitamin C, kelompok vitamin E, serta kelompok kombinasi kedua vitamin. Parameter yang digunakan untuk menilai stres oksidatif adalah resistensi oksidasi VLDL dan LDL, sedangkan untuk menilai status antioksidan digunakan kadar alfa tokoferol plasma. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali yaitu saat sebelum, bulan ke 12, dan bulan ke 36 masa suplementasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelompok vitamin C terjadi penurunan kadar alfa tokoferol plasma dan resistensi oksidasi VLDL dan LDL, sedangkan pada kelompok vitamin E dan kombinasi menunjukkan adanya peningkatan secara bermakna resistensi oksidasi VLDL dan LDL serta kadar alfa tokoferol plasma.

Tabel 2.7. Hasil penelitian Sarataho dkk⁵⁰

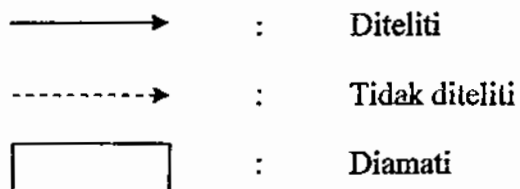
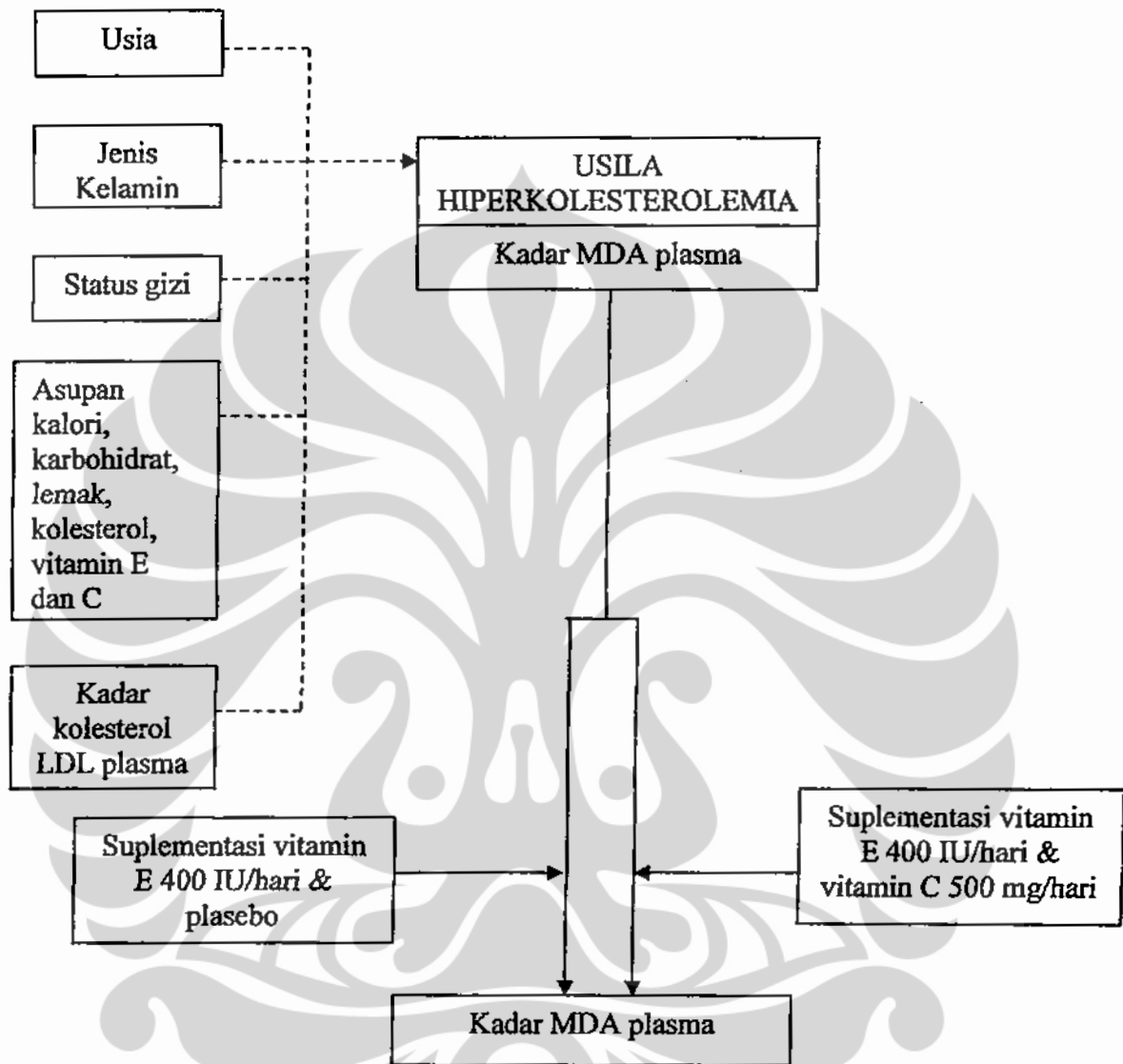
Parameter	Vitamin E (n=10)	Vitamin C (n=12)	Vitamin E+C (n=15)	Plasebo (n=11)
Alfa tokoferol plasma				
H-1	0.97±0.11	1.07±0.14	0.97±0.14	0.93±0.08
Selisih bulan ke-12	0.36±0.28*	-0.32±0.17	0.33±0.18*	-0.29±0.05
Selisih bulan ke-36	0.37±0.22*	-0.29±0.15	0.17±0.23*	-0.24±0.11
Oksidasi VLDL+LDL lag time, min				
H-1	77.5±7.9	85.0±6.0	88.0±33.5	77.7±5.6
Selisih bulan ke-12	21.5±16.0*	-6.7±11.3	13.7±33.8*	-7.3±7.2
Selisih bulan ke-36	21.1±25.2*	-11.3±3.7	18.8±10.3*	-9.1±4.4

* p < 0.001

2.5. Kerangka Teori



2.6. Kerangka Konsep



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan uji klinis paralel, tersamar tunggal, alokasi acak, untuk membandingkan kadar malondialdehida usila ≥ 60 tahun dengan hiperkolesterolemia yang mendapatkan kombinasi suplementasi vitamin E 400 IU dan vitamin C 500 mg, masing-masing sebutir sehari selama 45 hari dengan kelompok yang mendapat vitamin E 400 IU dan plasebo.

3.2. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Yayasan Kebagusan, Yayasan Yasni dan Yayasan Yakin, Pasar Minggu, Jakarta Selatan. Pengumpulan data dimulai pada bulan Februari 2010 sampai April 2010.

3.3. Bahan penelitian

3.3.1. Populasi dan sampel

3.3.1.1. Populasi target

Populasi target adalah usila yang berusia ≥ 60 tahun dengan kadar kolesterol LDL ≥ 130 mg/dL.

3.3.1.2. Populasi terjangkau

Populasi terjangkau adalah usila yang berusia ≥ 60 tahun dengan kadar kolesterol LDL ≥ 130 mg/dL di Yayasan Kebagusan, Yayasan Yasni dan Yayasan Yakin, Pasar Minggu, Jakarta Selatan.

3.3.1.3. Subyek penelitian

Subyek penelitian adalah bagian dari populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian dipilih secara konsekutif dan secara tertulis menyatakan bersedia ikut serta dalam penelitian. Alokasi subyek dilakukan dengan randomisasi blok.

3.3.2. Kriteria penelitian

3.3.2.1. Kriteria Penerimaan

- Berusia ≥ 60 tahun
- Kadar kolesterol LDL ≥ 130 mg/dL¹
- Secara tertulis bersedia mengikuti penelitian dan menandatangani formulir persetujuan

3.3.2.2. Kriteria Penolakan

- Subyek penelitian mengonsumsi obat-obatan yang mempengaruhi metabolisme lipid
- Subyek penelitian mengonsumsi obat-obatan trombolitik
- Menderita penyakit kanker, diabetes melitus, penyakit hati, dan penyakit ginjal yang diketahui dari anamnesis
- Kadar Gula Darah Puasa ≥ 126 mg/dL

3.3.2.3. Kriteria Pengeluaran

- Tidak mengikuti prosedur penelitian dan tidak menjalani pemeriksaan secara lengkap
- Konsumsi suplemen kurang dari 80% dari yang diharuskan
- Subyek penelitian mengonsumsi suplemen antioksidan selain yang diberikan
- Selama penelitian menderita sakit yang menyebabkan subyek tidak dapat mengonsumsi suplemen, meninggal dunia atau menolak mengikuti penelitian.

3.3.3. Besar sampel

Besar sampel yang diperlukan dihitung berdasarkan rumus dibawah ini⁵¹

$$n_1 = n_2 = 2 \left[\frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta}) s}{d} \right]^2$$

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

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

- Z_{β} : deviasi relatif yang menggambarkan tingkat kekuatan uji statistik dalam menetapkan batas kemaknaan, ditetapkan 0,842 untuk $\beta = 0,20$
- s : simpang baku gabungan kadar MDA plasma pada usila yaitu 2,3 nmol/mL¹⁶
- d : perbedaan nilai rerata kadar MDA kedua kelompok yang diharapkan yaitu 2,09 nmol/mL¹⁶

Maka besar sampel :

$$n_1 = n_2 = 19$$

Jika ditambah dengan perkiraan drop-out 10% maka besar sampel yang diperlukan adalah 21 orang untuk masing-masing kelompok.

3.4. Instrumen pengumpulan data

3.4.1. Formulir

- Formulir A : Formulir seleksi subyek penelitian
- Formulir B1 : Lembar informasi untuk subyek penelitian
- Formulir B2 : Lembar persetujuan untuk subyek penelitian
- Formulir C : Formulir identitas subyek
- Formulir D : Formulir penilaian asupan dengan *food record* 2x24 jam
- Formulir E : Formulir data antropometri, yaitu BB, TB, dan IMT
- Formulir F : Formulir data laboratorium kadar kolesterol LDL dan MDA plasma
- Formulir G : Formulir data kepatuhan

3.4.2. Peralatan

- Alat timbangan berat badan digital *Seca* 804 dengan ketelitian 0,1 kg
- Alat ukur tinggi badan *Microtoise Stature Meter* 200 cm dengan ketelitian 0,1 cm
- *Tuorniquet, disposable spuit 5cc.*, tabung vacutainer serta kapas alkohol
- Kotak pendingin untuk menyimpan spesimen
- Sentrifugator
- *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*

3.4.3 Spesimen

- Darah vena kubiti sebanyak 5 ml, diambil pada saat seleksi (H-9) untuk menilai kadar Gula Darah Puasa dan Kolesterol LDL.
- Darah vena kubiti sebanyak 3 ml, diambil sebelum perlakuan (H-1) untuk menilai kadar MDA plasma.
- Darah vena kubiti sebanyak 5 ml, diambil pada H+46 untuk menilai kadar MDA plasma dan kolesterol LDL

3.4.4. Bahan suplementasi

Vitamin E yang digunakan merupakan suplemen vitamin E yang memiliki stereoisomer *RRR- α -tokoferol* yang dikenal dengan *d- α -tokoferol* dengan dosis 400 IU yang setara dengan 268 mg. Vitamin E dimasukkan ke dalam kapsul dan ditempatkan pada plastik obat.

Vitamin C yang digunakan untuk suplementasi pada penelitian ini merupakan *calcium ascorbat* dengan dosis 500 mg. Kaplet Vitamin C dimasukkan ke dalam kapsul dan ditempatkan pada plastik obat yang berbeda warna dengan vitamin E.

Plasebo pada penelitian ini menggunakan pemanis buatan aspartam sebanyak 8 mg dengan jumlah kalori 1 kkal. Plasebo dimasukkan ke dalam kapsul dan plastik obat yang berwarna sama dengan vitamin C.

3.5. Cara Kerja

3.5.1. Cara memperoleh subyek penelitian

Sampel penelitian didapatkan dari Yayasan Kebagusan, Yayasan Yasni dan Yayasan Yakin, Pasar Minggu, Jakarta Selatan. Pengambilan subyek dilakukan setelah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, subyek penelitian dikumpulkan di aula Yayasan Kebagusan untuk dijelaskan tujuan penelitian, pemeriksaan yang akan dilakukan, serta manfaat penelitian. 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. Selanjutnya pada hari yang sama dilakukan seleksi subyek dengan

melakukan anamnesis. Kemudian pada H-9 dilakukan pemeriksaan laboratorium. Subyek yang memenuhi kriteria penelitian selanjutnya dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok vitamin E+plasebo dan kelompok vitamin E+C dengan cara randomisasi blok.

3.5.2. Pelaksanaan penelitian

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

Periode sebelum perlakuan (H-14 sampai H-1)

Pada H-14, subyek dikumpulkan di aula Yayasan Kebagusan dan diberikan penjelasan tentang maksud dan manfaat penelitian serta tahapan-tahapan yang akan dilakukan, termasuk periode *run in* selama tujuh hari yang harus dilakukan. Setelah itu dilakukan wawancara untuk memperoleh data karakteristik subyek dan riwayat penyakit yang pernah dan sedang diderita oleh subyek.

Pada H-9, subyek yang memenuhi kriteria penelitian berdasarkan wawancara, dilakukan pemeriksaan laboratorium (Gula Darah Puasa dan kolesterol LDL) untuk seleksi subyek. Subyek telah diingatkan untuk berpuasa 12 jam sebelumnya.

Pada H-8 telah diketahui subyek yang memenuhi kriteria penelitian, kemudian subyek tersebut dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok vitamin E+plasebo dan kelompok vitamin E+C dengan cara randomisasi blok.

H-7 sampai H-1 adalah masa periode *run in* untuk menghilangkan suplementasi vitamin dari dalam tubuh. Pada kedua kelompok selama periode ini subyek tidak diperbolehkan mengonsumsi suplemen vitamin apapun.

H-1 pada subyek penelitian dilakukan pemeriksaan antropometri dan laboratorium (MDA plasma) dengan subyek harus berpuasa 12 jam sebelumnya.

Periode perlakuan (H+1 sampai H+45)

Pada hari pertama (H+1) masa perlakuan, kelompok vitamin E+C diberikan kapsul vitamin E dan vitamin C, sedangkan kelompok vitamin E+plasebo diberikan vitamin E dan plasebo. Masing-masing suplemen dimasukkan ke dalam kapsul dengan warna yang berbeda dan ditempatkan di dalam plastik yang berbeda warna untuk jangka waktu seminggu. Kemudian dijelaskan bahwa setiap hari dari masing-masing plastik harus diminum sebutir kapsul setengah jam setelah makan pagi. Setiap hari Kamis subyek penelitian diminta datang ke Yayasan masing-masing untuk mengambil plastik yang baru dan menyerahkan plastik suplemen yang lama. Selain itu subyek dievaluasi tentang keluhan selama mengonsumsi suplemen yang diberikan. Kepada subyek penelitian yang tidak dapat hadir ke Yayasan, maka akan diberikan plastik yang baru, dievaluasi serta diingatkan untuk teratur minum kapsul oleh pengurus yayasan dan peneliti dengan mendatangi rumah subyek.

Pada minggu pertama, ketiga dan ketujuh subyek penelitian dengan dibantu keluarganya diminta untuk mencatat jenis dan jumlah makanan serta minuman yang dikonsumsi termasuk suplemen yang diberikan selama dua hari (satu hari kerja dan satu hari libur) secara berturut-turut.

Pada H+22, subyek diminta datang ke Yayasan masing-masing untuk dilakukan pemeriksaan antropometri.

Periode setelah perlakuan (H+46)

Pada hari ke 46 (H+46) masa perlakuan, dilakukan pemeriksaan antropometri dan pemeriksaan laboratorium (kadar kolesterol LDL dan MDA plasma).

3.5.3. Prosedur Pengumpulan Data

Wawancara data karakteristik subyek penelitian yang meliputi usia dan jenis kelamin dengan menggunakan formulir yang telah disiapkan (formulir C).

Pemeriksaan asupan makanan

- Data asupan makanan

Data asupan makanan diperoleh melalui metode *food record* yang bertujuan untuk menilai asupan kalori, karbohidrat, lemak, kolesterol, vitamin E dan

vitamin C. Dalam metode ini, subyek diminta mencatat jenis dan jumlah makanan dan minuman yang dikonsumsi selama 2x24 jam. Jumlah makanan diukur menggunakan ukuran rumah tangga seperti sendok, gelas, dan lain-lain. Metode ini dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada minggu pertama, ketiga, dan ketujuh. Hasilnya dicatat dalam formulir catatan asupan makanan (formulir D).

- **Evaluasi konsumsi kapsul vitamin E dan C**
Setiap minggu dilakukan evaluasi untuk mengetahui berapa jumlah kapsul vitamin E dan C yang telah dikonsumsi dan berapa yang tersisa. Hasilnya dicatat pada formulir G.

Pengukuran antropometri

Pengukuran antropometri subyek penelitian dilakukan pada H-1, H+22 dan H+46 suplementasi. Pengukuran antropometri meliputi berat badan (BB) dan tinggi badan (TB). Setiap pengukuran dilakukan sebanyak dua kali dan diambil rerata dari hasil pengukuran tersebut. Hasil yang didapatkan digunakan untuk menentukan Indeks Massa Tubuh (IMT).

- **Pengukuran BB**
Menggunakan timbangan *Seca* 804 dengan ketelitian 0,1 kg yang diletakkan pada permukaan lantai yang rata dan keras. Alat timbangan terlebih dahulu dikalibrasi. Sebelum penimbangan dilakukan, subyek diminta melepas alas kaki, perhiasan, ataupun benda yang dapat menambah berat. Pada saat akan ditimbang, pastikan skala harus dalam keadaan seimbang dan menunjukkan nilai nol, dan subyek diminta berdiri tegak di tengah-tengah timbangan tanpa bantuan. Penimbangan dilakukan dua kali lalu hasil reratanya dicatat di formulir E.⁴⁶

Prosedur pengukuran TB

Menggunakan *microtoise stature* yang digantungkan pada dinding setinggi dua meter dari lantai. Pada waktu pengukuran, subyek berdiri tegak di tengah-tengah *microtoise* tanpa menggunakan alas kaki atau kaus kaki pada permukaan datar, kedua kaki lurus, lutut dan tumit rapat. Pandangan lurus ke depan dengan bagian belakang kepala, bokong dan tumit menempel pada dinding. Bahu relaks, kedua lengan

tergantung bebas di sisi tubuh. Kemudian pita *microtoise* ditarik perlahan ke bawah sampai menyentuh puncak kepala dan rambut tertekan. Skala dibaca saat subyek inspirasi maksimum. Pengukuran dilakukan dua kali lalu hasil reratanya dicatat di formulir E.⁴⁶

Pemeriksaan laboratorium

Pada H-9 di pagi hari setelah subyek penelitian berpuasa 10-12 jam semalam, dilakukan pengambilan sampel darah vena kubiti sebanyak 5 mL untuk pemeriksaan kadar Gula darah puasa dan kolesterol LDL serum. Pada H-1 dengan berpuasa sebelumnya, subyek yang telah memenuhi kriteria penelitian dilakukan pengambilan sampel darah kembali sebanyak 3 ml untuk menilai kadar MDA plasma. Sampel darah ditampung dalam vacutainer, selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan plasma, yang kemudian disimpan dalam kotak pendingin. Pada H+46, dengan berpuasa 10-12 jam sebelumnya, subyek yang telah mengikuti penelitian sampai dengan selesai, kembali diambil darah sebanyak 5 ml untuk pemeriksaan kadar kolesterol LDL dan MDA plasma. Pemeriksaan kadar kolesterol LDL serum dan MDA plasma dilakukan dengan metode spektrofotometri (lampiran7). Hasil pemeriksaan dicatat dalam formulir F.

3.6. Identifikasi variabel

Variabel bebas

- Suplementasi vitamin E
- Suplementasi vitamin C

Variabel tergantung

- Kadar MDA plasma

Tabel 3.1. Matriks identifikasi variabel

No	Variabel	Metoda	Skala	Kepustakaan
1.	Karakteristik demografi a. umur b. Jenis kelamin	Wawancara dan kuesioner	Rasio	BPS, 2009
2	Indeks Massa Tubuh (IMT)	Pengukuran antropometri	Rasio, ordinal	Gibson, 2005
3	Asupan zat gizi a. Kalori b. Karbohidrat c. Lemak d. Kolesterol e. Vitamin E f. Vitamin C	<i>Food record</i> <i>Food record</i> <i>Food record</i> <i>Food record</i> <i>Food record</i> <i>Food record</i>	Rasio, ordinal Rasio, ordinal Rasio, ordinal Rasio, ordinal Rasio, ordinal Rasio, ordinal	PERKENI, 2004 PERKENI, 2004 PERKENI, 2004 PERKENI, 2004 WNPG, 2004 WNPG, 2004
4	Kadar kolesterol LDL	Spektrofotometri	Rasio/ordinal	NCEP-ATP III
5	Kadar MDA plasma	Spektrofotometri	Rasio	Prasetyastuti, 2007

3.7. Pengolahan, Analisis, Interpretasi, dan Penyajian Data

3.7.1. Pengolahan data

Data yang diperoleh dari seluruh pemeriksaan (wawancara, antropometri, serta pemeriksaan kadar kolesterol LDL dan MDA plasma) dikumpulkan, kemudian dilakukan pengolahan data meliputi *editing*, *coding*, *entry* dan *cleaning* data menggunakan mesin hitung dan komputer.

3.7.2. Analisis dan interpretasi data

Data akan dianalisis dengan menggunakan program *Statistical Package for Social Science* (SPSS versi 11.5). Analisis data asupan kalori, karbohidrat, lemak, kolesterol, vitamin E dan vitamin C menggunakan program *nutrisurvey* 2007.

Uji statistik yang akan digunakan adalah

- Untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak normal, secara analitik digunakan uji Saphiro-Wilk. Bila didapat nilai $p > 0,05$ maka data berdistribusi normal dan sebaliknya.
- Bila distribusi normal digunakan rerata dan simpang baku; atau bila distribusi tidak normal digunakan nilai median dan rentangan (minimum-maksimum)

- Untuk menganalisis data perbedaan hasil perlakuan kedua kelompok maka bila kedua data berdistribusi normal digunakan uji t-tes tidak berpasangan; atau bila salah satu atau kedua data berdistribusi tidak normal digunakan uji Mann-Whitney.
- Batas kemaknaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebesar 5% dengan ketentuan :

Bermakna : bila $p < 0,05$

Tidak bermakna : bila $p \geq 0,05$

3.7.3. Penyajian data

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

3.8. Batasan operasional

1. Subyek penelitian

Subyek penelitian adalah individu yang berusia ≥ 60 tahun yang mempunyai kadar kolesterol LDL ≥ 130 mg/dL di Yayasan Kebagusan, Yayasan Yasni dan Yayasan Yakin, Pasar Minggu, Jakarta Selatan. dan memenuhi kriteria penelitian.

2. Usia

Usia yang digunakan berdasarkan tanggal lahir yang tertera di Kartu Tanda Penduduk (KTP) dan ditentukan berdasarkan hari ulang tahun terakhir usia subyek.

3. Status gizi

Status gizi ditentukan dengan perhitungan indeks massa tubuh (IMT), yang didapat dengan cara membagi BB dalam kilogram dengan TB dalam meter kuadrat. Klasifikasi status gizi berdasarkan IMT tertera pada tabel 3.2.

Tabel 3.2. Klasifikasi status gizi⁵²

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

4. Asupan zat gizi

Asupan zat gizi yang dinilai pada penelitian ini adalah asupan kalori, karbohidrat, lemak, kolesterol, vitamin E dan vitamin C yang diperoleh dengan metoda *food record* 2x24 jam pada minggu pertama, ketiga, dan ketujuh masa perlakuan. Data asupan zat gizi dianalisis dengan menggunakan program *nutrisurvey* 2007.

Asupan kalori

Asupan kalori adalah besarnya jumlah kalori yang dikonsumsi per orang per hari dibandingkan dengan kebutuhan energi total (KET) per individu. KET adalah jumlah kebutuhan energi basal (KEB) dan aktivitas fisik (AF).

$$\text{KET} = \text{KEB} + \text{AF}$$

KEB dihitung dengan menggunakan rumus Harris-Benedict.⁵³

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

$$\text{KEB perempuan (kkal/hari)} = 655 + (9,6 \times \text{BB}) + (1,8 \times \text{TB}) - (4,7 \times \text{U})$$

Keterangan :

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

Aktivitas fisik sehari-hari usila umumnya homogen (berdasarkan indeks aktivitas fisik (IAF), yaitu termasuk tingkat rendah), kemudian ditentukan penambahan kalori dengan menambahkan 10% dari KEB.

Kriteria penilaian asupan kalori⁵⁴

- Kurang : <80% dari kebutuhan kalori total
- Cukup : 80-120% dari kebutuhan kalori total
- Lebih : >120% dari kebutuhan kalori total

Asupan karbohidrat

Kriteria penilaian asupan karbohidrat⁵⁴

- Kurang : <45% dari kebutuhan kalori total
 Cukup : 45-65% dari kebutuhan kalori total
 Lebih : >65% dari kebutuhan kalori total

Asupan lemak

Kriteria penilaian asupan lemak¹

- Kurang : <20% dari kebutuhan kalori total
 Cukup : 20-25% dari kebutuhan kalori total
 Lebih : >25% dari kebutuhan kalori total

Asupan kolesterol

Kriteria penilaian asupan kolesterol¹

- Cukup : <200 mg/hari
 Lebih : ≥200 mg/hari

Asupan vitamin E

Kriteria penilaian asupan vitamin E³³

- Kurang : <15 mg/hari
 Cukup : ≥15 mg/hari

Asupan vitamin C

Kriteria penilaian asupan vitamin C⁴⁵

- Kurang : <75 mg/hari
 Cukup : ≥75 mg/hari

5. Kadar kolesterol LDL

Kadar kolesterol total subyek penelitian diperoleh dari pemeriksaan darah subyek yang diambil pada H-9 dan H+46. Sebelum waktu pengambilan sampel darah, subyek penelitian diwajibkan melakukan puasa selama 12 jam.

Tabel 3.3. Klasifikasi kadar kolesterol LDL (mg/dL) ¹

Kadar Kolesterol LDL	Kategori
< 100	Optimal
100-129	Mendekati optimal
130-159	Batas tinggi
160-189	Tinggi
≥ 190	Sangat tinggi

6. Kadar MDA plasma

Kadar MDA plasma subyek penelitian diperoleh dari pemeriksaan plasma subyek penelitian yang diambil pada H-1 dan H+46 suplementasi.

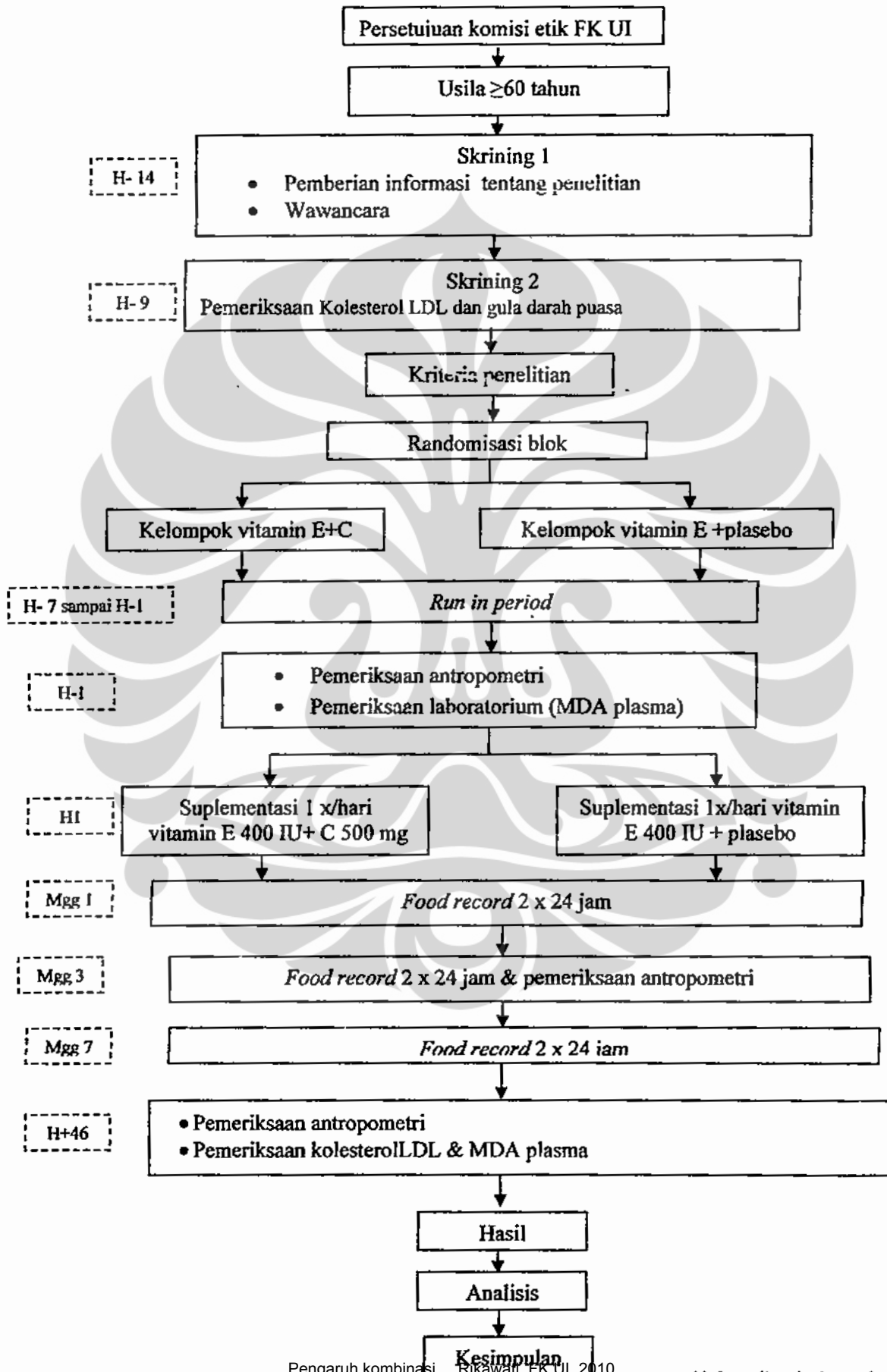
7. Bahan suplementasi

Bahan suplementasi yang diberikan pada subyek penelitian untuk kelompok vitamin E+C adalah vitamin E 400 IU dan vitamin C 500 mg dan untuk kelompok vitamin E+plasebo adalah vitamin E 400 IU dan plasebo yang bentuknya mirip dengan vitamin C. bahan suplementasi masing-masing diminum sekali sehari selama 45 hari. Kedua suplemen ini dikonsumsi setengah jam setelah sarapan pagi dan diminum dengan menggunakan air putih.

3.9. Organisasi Penelitian

Peneliti utama : dr. Rikawati
 Pembimbing I : dr. Inge Permadhi, MS, SpGK
 Pembimbing II : dr. Suharko Soebardi, SpPD

3.12. Alur penelitian



BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1. Seleksi subyek penelitian

Subyek penelitian adalah usila yang berada di Yayasan Kebagusan, Yayasan Yasni, dan Yayasan Yakin di Jakarta Selatan. Jumlah usila dari ketiga yayasan tersebut adalah 189 orang terdiri dari 95 orang dari Yayasan Kebagusan, 54 orang dari Yayasan Yasni, dan 40 orang dari Yayasan Yakin. Setelah diberikan informasi mengenai penelitian dan dilakukan wawancara, usila yang bersedia mengikuti penelitian sebanyak 116 orang terdiri dari 60 orang dari Yayasan Kebagusan, 37 orang dari Yayasan Yasni, dan 19 orang dari Yayasan Yakin.

Setelah dilakukan pemeriksaan darah untuk mengetahui kadar kolesterol LDL dan gula darah puasa (GDP), terdapat 67 orang yang memiliki kadar kolesterol LDL <130 mg/dL dan kadar GDP <126 mg/dL, 3 orang memiliki kadar kolesterol LDL <130 mg/dL dan kadar GDP ≥126 mg/dL, 4 orang memiliki kadar kolesterol LDL ≥130 mg/dL dan kadar GDP ≥126 mg/dL, serta 42 orang yang memiliki kadar kolesterol LDL ≥130 mg/dL dan kadar GDP <126 mg/dL. Jumlah subyek yang memenuhi kriteria penelitian sebanyak 42 orang, terdiri dari 19 orang dari Yayasan Kebagusan, 13 orang dari Yayasan Yasni, dan 10 orang dari Yayasan Yakin.

Setelah didapatkan subyek penelitian kemudian dibagi menjadi dua kelompok dengan menggunakan randomisasi blok. Masing-masing kelompok terdiri dari 21 orang, yaitu untuk kelompok yang mendapatkan vitamin E dan plasebo serta kelompok yang mendapatkan kombinasi vitamin E dan C. Pada masa perlakuan terdapat satu orang *drop-out* dari kelompok vitamin E+plasebo, karena mengonsumsi suplemen <80%. Sedangkan dari kelompok vitamin E+C terdapat satu orang *drop-out* karena subyek merasa mual dan keluar keringat dingin setelah minum suplemen sehingga subyek tidak bersedia untuk melanjutkan mengikuti penelitian. Jumlah subyek yang memenuhi kriteria penelitian sampai dengan akhir penelitian baik dari kelompok vitamin E+plasebo maupun dari kelompok vitamin E+C masing-masing berjumlah 20 orang.

4.2. Karakteristik demografi subyek penelitian

Tabel 4.1 memperlihatkan karakteristik demografi subyek penelitian yang meliputi usia dan jenis kelamin. Usia subyek pada penelitian ini adalah 60-84 tahun dengan sebagian besar di antaranya berjenis kelamin perempuan, yaitu 90% pada kelompok vitamin E+plasebo dan 100% pada kelompok vitamin E+C. Berdasarkan hasil uji statistik, sebaran subyek penelitian kedua kelompok berdasarkan usia dan jenis kelamin tidak berbeda bermakna.

Tabel 4.1. Sebaran subyek penelitian berdasarkan karakteristik usia dan jenis kelamin

Variabel	Vitamin E+Plasebo (n=20)	Vitamin E+C (n=20)	p
Usia (tahun)	70,30 ± 5,46	68,10 ± 5,27	0,203 ^a
Jenis kelamin (n)			
Perempuan	18	20	0,487 ^f
Laki-laki	2	0	

^a uji t tidak berpasangan; f: uji fisher

4.3. Status Gizi

Pada penelitian ini status gizi ditentukan dengan menghitung IMT subyek pada H-1, H+22 dan H+46. Pada tabel 4.2 terlihat IMT sebelum perlakuan pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) yang masing-masing tergolong kelompok berisiko. Pasca perlakuan hari ke 46, IMT subyek penelitian pada kedua kelompok menurun, namun berdasarkan analisis statistik didapatkan penurunan IMT yang bermakna ($p < 0,01$) hanya pada kelompok vitamin E+plasebo. Penurunan bermakna tersebut terlihat pada tabel 4.3, sebelum perlakuan 70% subyek dari kelompok vitamin E+plasebo memiliki IMT di atas normal dan menurun menjadi 60% pasca perlakuan hari ke 46.

Tabel 4.2. Data IMT subyek penelitian

Variabel	Vit.E+plasebo (n=20)	Vit.E+C (n=20)	p [^]
IMT (kg/m ²)			
H-1	23,84±3,79	24,30±3,36	0,69 ^t
H+22	23,62±3,77	24,15±3,24	
H+46	23,43±3,72	23,68±3,03	
p [*]	0,00 ^f	0,09 ^s	

p[^] : uji statistik mgg 1 antara klpk Vit.E+plasebo dengan Klpk Vit.E+C

p^{*} : uji statistik antara H-1 dengan H+46 pada klpk Vit.E+plasebo atau klpk Vit.E+C

t : uji t tidak berpasangan

Tabel 4.3. Sebaran subyek berdasarkan kategori IMT

Kategori	Vit. E+plasebo			Vit.E+C		
	H-1 (n=20)	H+22 (n=20)	H+46 (n=20)	H-1 (n=20)	H+22 (n=20)	H+46 (n=20)
Status Gizi ; n(%)						
Kurang	2(10)	2(10)	3(15)	0	0	0
Normal	4(20)	5(25)	5(25)	8(40)	8(40)	9(45)
Berisiko	6(30)	6(30)	6(30)	5(25)	6(30)	6(30)
Obes 1	7(35)	6(30)	5(25)	5(25)	5(25)	4(25)
Obes 2	1(5)	1(5)	1(5)	2(10)	1(5)	1(5)

4.4. Asupan zat gizi

Asupan zat gizi pada penelitian ini meliputi asupan kalori, karbohidrat, lemak, dan kolesterol subyek penelitian yang diperoleh dengan menggunakan metode *food record* 2x24 jam. Pada tabel 4.4 memperlihatkan rerata seluruh asupan zat gizi subyek penelitian pada minggu pertama tidak berbeda bermakna antara kedua kelompok. Rerata persentase asupan kalori dan karbohidrat terhadap KKT kedua kelompok serta asupan kolesterol pada minggu pertama masing-masing tergolong cukup. Sedangkan rerata persentase asupan lemak terhadap KKT masing-masing tergolong lebih.

Tabel 4.4. Asupan kalori, karbohidrat, lemak dan kolesterol

Variabel	Vitamin E+Plasebo	Vitamin E+C	p [^]
KALORI :			
KKT (kkal)			
Mgg 1	1160,38±104,03	1219,66±95,08	
Mgg 3	1155,05±103,58	1216,36±94,59	
Mgg 7	1150,37±103,38	1205,93±95,79	
Asupan (kkal)			
Mgg 1	1079,35(689,9-2004,6)	1156,18±240,64	0,22 ^m
Mgg 3	1087,16±216,27	1223,82±284,75	
Mgg 7	1169,17±250,45	1185,87±289,54	
p*	0,05 ^w	0,41 ^s	
% asupan thd KKT			
Mgg 1	95,28±23,28	94,62±17,41	0,92 ^t
Mgg 3	94,60±18,93	100,77±22,53	
Mgg 7	102,56±23,63	100,77±22,53	
p*	0,04 ^s	0,25 ^s	
KARBOHIDRAT :			
Asupan (g)			
Mgg 1	157,63±51,37	163,78±42,89	0,68 ^t
Mgg 3	152,45±39,71	171,08±47,92	
Mgg 7	159,91±43,51	167,38±52,06	
p*	0,77 ^s	0,66 ^s	
% asupan thd KKT			
Mgg 1	54,77±17,83	53,7±13,83	0,83 ^t
Mgg 3	53,21±14,92	56,36±15,86	
Mgg 7	56,15±16,09	55,47±17,15	
p*	0,6 ^s	0,52 ^s	
LEMAK :			
Asupan (g)			
Mgg 1	37,37±14,97	39,05±11,88	0,7 ^t
Mgg 3	38,75±12,75	42,92±15,79	
Mgg 7	42,57±12,24	37,55(22,5-92,3)	
p*	0,06 ^s	0,63 ^w	
% asupan thd KKT			
Mgg 1	28,89±10,95	28,7±8,22	0,95 ^t
Mgg 3	30,17±9,32	31,81±11,41	
Mgg 7	33,58±9,94	28,3(16,8-66,4)	
p*	0,03 ^s	0,34 ^w	
KOLESTEROL :			
Asupan (mg)			
Mgg 1	68,72±55,57	75,65(19,6-237,6)	0,16 ^m
Mgg 3	51 (0-184,10)	86,6(13,8-378,3)	
Mgg 7	53,10 (0-227)	105,45±71,91	
p*	0,41 ^w	0,33 ^w	

p[^] : uji statistik mgg ke 1 antara klpk Vit.E+plasebo dengan Klpk Vit.E+C

p* : uji statistik antara mgg ke 1 dengan mgg ke 7 pada klpk Vit.E+plasebo atau klpk Vit.E+C

m : *Mann Whitney* ; w : *Wilcoxon*; s : uji t berpasangan; t : uji t tidak berpasangan; thd : terhadap

Pada tabel 4.4 terlihat bahwa pada minggu ketujuh tidak terdapat perubahan yang bermakna pada seluruh asupan zat gizi pada kelompok vitamin E+C, sedangkan kelompok vitamin E+plasebo terdapat peningkatan asupan kalori dan

lemak yang bermakna. Hal ini terlihat pada tabel 4.5, pada minggu pertama perlakuan terdapat 5% subyek dari kelompok vitamin E+plasebo yang memiliki asupan kalori tergolong lebih, kemudian meningkat menjadi 20% subyek pada minggu ketujuh. Begitu pula dengan asupan lemak, pada kelompok vitamin E+plasebo terdapat 55% subyek yang memiliki asupan lemak tergolong lebih pada minggu pertama, kemudian meningkat menjadi 75% subyek pada minggu ketujuh.

Tabel 4.5. Sebaran subyek berdasarkan kategori asupan kalori, karbohidrat, dan lemak terhadap KKT serta asupan kolesterol

Kategori asupan	Vit. E + plasebo			Vit.E+C		
	Mgg 1 (n,%)	Mgg 3 (n,%)	Mgg 7 (n,%)	Mgg 1 (n,%)	Mgg 3 (n,%)	Mgg7 (n,%)
KALORI						
Kurang	4(20)	3(15)	5(25)	3(15)	4(20)	3(15)
Cukup	15(75)	16(80)	11(55)	16(80)	14(70)	14(70)
Lebih	1(5)	1(5)	4(20)	1(5)	2(10)	3(15)
KARBOHIDRAT						
Kurang	7(35)	5(25)	5(25)	7(35)	4(20)	6(30)
Cukup	8(40)	11(55)	9(45)	9(45)	11(55)	9(45)
Lebih	5(25)	4(20)	6(30)	4(20)	5(25)	5(25)
LEMAK						
Kurang	5(25)	2(10)	2(10)	5(25)	1(5)	1(5)
Cukup	4(20)	5(25)	3(15)	2(10)	5(25)	6(30)
Lebih	11(55)	13(65)	15(75)	13(65)	14(70)	13(65)
KOLESTEROL						
Cukup	19(95)	20(100)	19(95)	19(95)	17(85)	19(95)
Lebih	1(5)	0	1(5)	1(5)	3(15)	1(5)

4.5. Asupan antioksidan

Penilaian asupan antioksidan meliputi asupan vitamin E dan vitamin C yang dinilai pada minggu pertama, ketiga dan ketujuh masa perlakuan dengan metode *food record* 2x24 jam. Penilaian asupan tersebut berasal dari asupan bahan suplementasi dan bahan makanan sehari-hari. Tabel 4.6 memperlihatkan karakteristik asupan vitamin E dan vitamin C pada minggu pertama, ketiga dan ketujuh kedua kelompok.

Tabel 4.6. Asupan vitamin E dan vitamin C

Variabel	Vitamin E+Plasebo	Vitamin E+C	p [^]
VITAMIN E :			
Asupan (mg)			
Mgg 1	271,39±1,62	271,66±1,74	0,61 ^t
Mgg 3	271,65(269,6-277,8)	271,84±1,45	
Mgg 7	271,95±1,84	272,17±1,88	
p*	0,21 ^s	0,2 ^s	
VITAMIN C :			
Asupan (mg)			
Mgg 1	30,45(3-153,4)	546,89±26,81	0,00 ^m
Mgg 3	25,35(1,5-116,8)	544,99±34,23	
Mgg 7	34,4(4,3-129,1)	544,54±30,24	
p*	0,91 ^w	0,75 ^s	

p[^] : uji statistik mgg ke 1 antara klpk Vit.E+plasebo dengan Klpk Vit.E+C

p* : uji statistik antara mgg ke 1 dengan mgg ke 7 pada klpk Vit.E+plasebo atau klpk Vit.E+C

m : uji *mc.u. whitney*; s : uji t berpasangan; t : uji t tidak berpasangan; w : uji *wilcoxon*

Pada minggu pertama, rerata asupan vitamin E kedua kelompok tidak berbeda bermakna dan tergolong cukup, sedangkan rerata asupan vitamin C kedua kelompok berbeda bermakna, di mana pada kelompok vitamin E+plasebo tergolong kurang, sedangkan kelompok vitamin E+C tergolong cukup. Perbedaan rerata asupan vitamin C tersebut terlihat sangat jelas pada tabel 4.7 di mana pada kelompok vitamin E+C, seratus persen subyek penelitian memiliki asupan vitamin C yang tergolong cukup, sedangkan pada kelompok vitamin E+plasebo hanya 15% subyek yang tergolong cukup. Pada minggu ketujuh, baik asupan vitamin E maupun asupan vitamin C pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna bila dibandingkan dengan minggu pertama.

Bila penilaian asupan vitamin E hanya berasal dari asupan bahan makanan sehari-hari, maka rerata asupan vitamin E pada minggu pertama adalah sebesar 3,39±1,62 mg pada kelompok vitamin E+plasebo dan 3,66±1,74 mg pada kelompok vitamin E+C di mana nilai tersebut tidak berbeda bermakna. Nilai tersebut sangat jauh berbeda bila dibandingkan dengan rerata asupan vitamin E total yang berasal dari suplementasi dan bahan makanan sehari-hari.

Tabel 4.7. Sebaran subyek berdasarkan kategori asupan vitamin E dan vitamin C

Kategori asupan	Vit. E + plasebo			Vit.E+C		
	Mgg 1 (n,%)	Mgg 3 (n,%)	Mgg 7 (n,%)	Mgg 1 (n,%)	Mgg 3 (n,%)	Mgg7 (n,%)
VITAMIN E						
Kurang	0	0	0	0	0	0
Cukup	20(100)	20(100)	20(100)	20(100)	20(100)	20(100)
VITAMIN C						
Kurang	17(85)	18(90)	19(95)	0	0	0
Cukup	3(15)	2(10)	1(5)	20(100)	20(100)	20(100)

4.6. Kadar kolesterol LDL

Tabel 4.8 memperlihatkan kadar kolesterol LDL subyek penelitian sebelum dan setelah hari ke 46 perlakuan. Sebelum perlakuan, nilai median kadar kolesterol LDL masing-masing kelompok tergolong batas tinggi. Pasca perlakuan hari ke 46, kadar kolesterol LDL subyek penelitian pada kelompok vitamin E+plasebo meningkat dan sebaliknya kelompok vitamin E+C justru menurun bila dibandingkan dengan sebelum perlakuan. Bila dilihat dari jumlah subyek yang mengalami penurunan kadar kolesterol LDL pada H+46, 13 subyek pada kelompok vitamin E+C mengalami penurunan kadar kolesterol LDL, sedangkan kelompok vitamin E+plasebo hanya 7 subyek.

Tabel 4.8. Kadar kolesterol LDL subyek penelitian dan sebaran subyek berdasarkan kategori kadar kolesterol LDL

Variabel	Vitamin E + Plasebo		Vitamin E + C		p [^]
	H-9 (n=20)	H+46 (n=20)	H-9 (n=20)	H+46 (n=20)	
Kolesterol LDL (mg/dL)	146,50 (130-190)	151,90±22,10	146,50 (131-196)	146,80±28,21	0,38 ^m
	p*	0,38 ^w		0,06 ^w	
Kadar kolesterol LDL; n(%)					
Optimal	0	0	0	1(5)	
Mendekati optimal	0	4(20)	0	3(15)	
Batas tinggi	14 (70)	7(35)	11(55)	10(50)	
Tinggi	5 (25)	8(40)	8(40)	5(25)	
Sangat tinggi	1 (5)	1(5)	1(5)	1(5)	

p*: uji statistik antara H-1&H+46 pada kelompok Vitamin E + Plasebo atau Vitamin E + C

p[^]: uji statistik H-1 antara kelompok Vitamin E + Plasebo dan Vitamin E + C

m : Mann Whitney ; w : Wilcoxon

4.7. Kadar dan perbedaan MDA plasma

Berdasarkan hasil uji statistik *Mann Whitney* terlihat bahwa kadar MDA plasma kedua kelompok pada H-1 tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$). Pada H+46 kadar MDA plasma masing-masing kelompok mengalami penurunan bila dibandingkan pada H-1, tetapi penurunan bermakna hanya terjadi pada kelompok vitamin E+plasebo. Persentase subyek yang mengalami penurunan kadar MDA plasma pada kelompok vitamin E+plasebo dan kelompok vitamin E+C, masing-masing adalah 85% dan 65%.

Perubahan kadar dan persentase perubahan kadar MDA plasma pada H+46 ternyata lebih besar pada kelompok vitamin E+plasebo dibandingkan dengan kelompok vitamin E+C. Namun demikian, berdasarkan uji statistik, perubahan kadar dan persentase perubahan kadar MDA plasma antara kedua kelompok tidak berbeda bermakna. Tabel 4.9 memperlihatkan kadar dan perubahan MDA plasma pada H-1 dan H+46.

Pada kelompok vitamin E+C semua subyeknya berjenis kelamin perempuan, sedangkan pada kelompok vitamin E+plasebo terdapat dua subyek berjenis kelamin laki-laki. Bila subyek laki-laki pada kelompok vitamin E+plasebo dihilangkan, maka perbedaan kadar MDA plasma pada kelompok vitamin E+plasebo menjadi $-0,52 \pm 0,56$ nmol/mL ($p = 0,08$).

Tabel 4.9. Kadar MDA plasma subyek penelitian

Variabel	Vitamin E + Plasebo (n=20)	Vitamin E + C (n=20)	p [^]
MDA plasma (nmol/mL)			
H-1	2,63(1,92-4,42)	3,03 ± 0,62	0,18 ^m
H+46	2,30 ± 0,67	2,88 ± 0,88	
Nilai p*	0,00 ^w	0,36 ^s	
Perbedaan	-0,50 ± 0,55	-0,28 (-1,31-1,63)	0,09 ^m
Perubahan; n(%)			
Menurun	17 (85)	13 (65)	
Meningkat	3 (15)	7 (35)	
% perubahan	-17,68 ± 18,83	-10,59 (-31,19-67,63)	0,06 ^m

p*: uji statistik antara H-1 & H+46 pada kelompok Vitamin E + Plasebo atau Vitamin E + C

p[^]: uji statistik antara kelompok Vitamin E + Plasebo dan Vitamin E + C

m : *Mann Whitney* ; w : *Wilcoxon* ; s : uji t berpasangan

BAB 5

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan uji klinis paralel, tertutup tunggal, alokasi acak, untuk membandingkan perbedaan kadar MDA plasma kelompok yang mendapatkan suplementasi vitamin E 400 IU dikombinasi dengan vitamin C 500 mg masing-masing dikonsumsi sekali sehari pada usia ≥ 60 tahun dengan hiperkolesterolemia selama 45 hari dengan kelompok yang mendapat vitamin E 400 IU dengan plasebo.

Penelitian mengenai pengaruh suplementasi vitamin E yang dikombinasikan dengan vitamin C untuk mengurangi peroksidasi lipid pada usia dengan hiperkolesterolemia belum pernah dilakukan di Indonesia. Dalam hal dosis suplementasi vitamin E sebesar 400 IU sesuai dengan kesimpulan dari penelitian Jialal dkk¹² tentang dosis optimal vitamin E untuk menurunkan peroksidasi lipid, sedangkan untuk dosis vitamin C 500 mg serta jangka waktu penelitian selama 45 hari sesuai dengan penelitian Chavan dkk¹⁶ (2007) yang dilakukan pada usia dengan osteoporosis.

5.1. Keterbatasan penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Salah satu keterbatasan adalah pada penelitian ini tidak terdapat kelompok kontrol yang tidak memperoleh suplementasi apapun, sehingga faktor-faktor lain yang mungkin mempengaruhi hasil penelitian tidak diketahui secara pasti. Kemungkinan ini telah diusahakan untuk diperkecil dengan menetapkan kriteria penelitian yang cukup ketat.

Keterbatasan lainnya berasal dari pengumpulan data asupan. Seharusnya pada penelitian ini dilakukan penilaian asupan sebelum masa perlakuan dan penilaian asupan antioksidan dengan menggunakan metode FFQ semikuantitatif untuk mengetahui pola makan subyek penelitian sebelum penelitian, tetapi karena subyek penelitian merupakan usia sehingga mungkin sering lupa dengan apa yang dikonsumsi, maka penilaian tersebut tidak dilakukan. Tetapi kekurangan ini telah diperkecil dengan pengambilan data asupan minggu pertama pada H+1 dan H+2 yang mungkin masih dapat menggambarkan asupan sebelum penelitian.

Pengumpulan data asupan pada penelitian ini menggunakan metode *food record* yang merupakan metode yang relatif lebih baik digunakan untuk pengumpulan data asupan gizi pada usia. Walaupun demikian, metode ini memiliki keterbatasan di mana mungkin dapat terjadi kesalahan pencatatan asupan, karena kebanyakan subyek penelitian tidak dapat membaca dan menulis, sehingga untuk pencatatan mereka dibantu oleh keluarga di mana subyek berdomisili. Selain itu mungkin subyek sulit memperkirakan jumlah makanan dan minumannya dengan tepat. Oleh karena itu kepada setiap subyek penelitian dibawakan catatan keterangan berbagai ukuran rumah tangga (URT) agar subyek atau keluarga subyek dapat mencatat dengan tepat asupan yang dikonsumsi. Keterbatasan lain dalam metode ini adalah subyek dapat melaporkan makanan yang dikonsumsinya baik lebih atau kurang (*flat slope syndrome*).⁵⁵ Untuk mengantisipasi hal tersebut sebelum pengambilan data asupan, telah diberikan penjelasan tentang pentingnya kebenaran laporan asupan untuk menilai kondisi kesehatan subyek.

Dalam usaha untuk mengurangi kemungkinan suplemen lupa di konsumsi maka kepada setiap subyek diberikan gambar yang dapat ditempel di tempat yang sering terlihat oleh subyek untuk mengingatkan agar subyek setiap hari mengonsumsi suplemen.

Keterbatasan lainnya adalah dalam hal pemeriksaan laboratorium, yaitu tidak diperiksanya kadar vitamin E dan vitamin C darah subyek penelitian pada saat sebelum dan setelah selesai masa perlakuan, karena keterbatasan biaya penelitian. Sehingga tidak dapat dibuktikan apakah ada peningkatan kadar vitamin E dan C di dalam darah setelah suplementasi. Namun demikian, pada penelitian ini dilakukan penilaian asupan vitamin E dan Vitamin C sehingga mungkin dapat memperkirakan jumlah vitamin E dan C yang di konsumsi.

5.2. Karakteristik demografi subyek penelitian

Berdasarkan hasil uji statistik, karakteristik demografi subyek penelitian sebelum perlakuan yang meliputi usia, jenis kelamin dan status gizi tidak berbeda bermakna antara kedua kelompok, hal tersebut menunjukkan sebaran subyek pada penelitian ini adalah homogen. Rerata usia subyek penelitian pada kelompok vitamin E+plasebo serta vitamin E+C masing-masing adalah $70,30 \pm 5,46$ dan $68,10 \pm 5,27$ tahun. Rerata usia subyek pada penelitian ini sesuai dengan SKRT 2004 di mana prevalensi hiperkolesterolemia tertinggi terdapat pada usia ≥ 65 tahun.³ Hal ini mengindikasikan bahwa seiring dengan meningkatnya usia, maka kompleks mekanisme yang mengatur fungsi reseptor LDL menjadi kurang efisien, sehingga memperlambat proses pembersihan LDL dari sirkulasi.² Akila ökk⁴⁷ melaporkan adanya hubungan usia dengan peroksidasi lipid. Pada pengukuran kadar MDA kelompok usia 20-32 tahun dan 60-75 tahun, hasilnya menunjukkan bahwa kadar MDA kelompok usia 60-75 tahun lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya. Penyebab peningkatan peroksidasi lipid pada golongan usia yang semakin meningkat belum diketahui secara pasti, tetapi mungkin disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu meningkatnya radikal bebas pada individu yang berumur lebih tua sebagai akibat penumpukan sel-sel mati, penurunan aktivitas antioksidan enzimatik seperti SOD dan GPx, atau karena penurunan asupan antioksidan eksogen dari bahan makanan sumber.

Pada penelitian ini subyek penelitian sebagian besar berjenis kelamin perempuan (95%). Demikian pula Purwastyastuti¹³ melaporkan bahwa sebagian besar (79,3%) subyek penelitiannya adalah perempuan. Nagyova dkk⁴⁹ melaporkan bahwa kadar kolesterol LDL pada wanita pasca menopause lebih tinggi dibandingkan dengan laki-laki berusia lebih dari 50 tahun. Berdasarkan penelitian tersebut, maka tampaknya bahwa penurunan kadar estrogen pada wanita menopause menyebabkan penurunan sintesis reseptor LDL, sehingga terjadi peningkatan kadar kolesterol LDL dalam darah.²

Rerata IMT subyek penelitian pada kedua kelompok sebelum perlakuan tergolong berisiko. Begitu pula dalam penelitian Purwastyastuti, dilaporkan bahwa rerata IMT subyek penelitian tergolong berisiko yaitu $24,05 \pm 3,9$ kg/m².¹³ Hal tersebut memperlihatkan adanya pengaruh poses menu terhadap peningkatan

massa lemak tubuh.¹⁸ Pada H+46, terjadi penurunan IMT pada kedua kelompok, namun penurunan yang bermakna hanya terjadi pada kelompok vitamin E+plasebo. Hal ini dapat diterangkan bahwa pada kelompok vitamin E+C terdapat seorang subyek yang mengalami penurunan berat badan cukup besar. Bila subyek tersebut tidak diikutsertakan dalam perhitungan, maka penurunan IMT pada kelompok vitamin E+C juga menjadi bermakna ($p=0,01$). Sampai sekarang belum ada penelitian yang membuktikan adanya pengaruh vitamin E dan vitamin C terhadap IMT. Dengan demikian, kemungkinan penurunan IMT disebabkan karena subyek penelitian mengetahui memiliki kadar kolesterol LDL tinggi dan menyadari efek buruknya bagi kesehatan, sehingga tanpa diberi konseling gizi, subyek mulai mengurangi asupannya. Walaupun demikian status gizi subyek penelitian kedua kelompok sesudah masa perlakuan tetap masih tergolong berisiko.

Dari hasil pengamatan karakteristik demografi subyek penelitian sebelum masa perlakuan yang meliputi usia, jenis kelamin dan status gizi, maka kemungkinan subyek penelitian merupakan kelompok yang rentan terhadap terjadinya peroksidasi lipid.

5.3. Asupan zat gizi dan antioksidan

Data asupan kalori, karbohidrat, lemak, kolesterol, dan antioksidan subyek penelitian diperoleh dari *food record* 2 x 24 jam. Penilaian asupan dilakukan selama dua hari berturut-turut dengan satu hari kerja dan satu hari libur pada minggu pertama, ketiga dan ketujuh.

5.3.1. Asupan zat gizi

Rerata asupan kalori pada kelompok vitamin E+plasebo dan kelompok vitamin E+C masing-masing adalah $1160,38 \pm 104,03$ kkal dan $1219,66 \pm 95,08$ kkal. Rerata tersebut tidak jauh berbeda dengan rerata asupan kalori pada usila dalam penelitian Purwastyastuti (2000)¹³ yaitu 1051 ± 366 kkal. Begitu pula dengan rerata asupan kalori usila pada penelitian Manampiring (2000)⁵⁶ di Yogyakarta dan Manado masing-masing adalah $1446,8 \pm 391,42$ kkal dan $1400,5 \pm 161,14$ kkal.

Persentase rerata asupan kalori subyek penelitian terhadap KKT kedua kelompok pada minggu pertama, ketiga dan ketujuh tergolong cukup, tetapi penilaian asupan tersebut tidak cocok dengan IMT subyek kedua kelompok yang tergolong berisiko. Hal ini mungkin disebabkan oleh karena pencatatan yang tidak akurat atau karena *flat slope syndrome*.⁵⁵

Persentase rerata asupan karbohidrat kedua kelompok terhadap KKT pada minggu pertama, ketiga dan ketujuh tidak berbeda bermakna dan tergolong cukup. Hal tersebut menunjukkan bahwa asupan makanan subyek tidak terlalu banyak berubah dari minggu ke minggu, mungkin karena adanya keterbatasan dana sehingga tidak memungkinkan untuk adanya variasi asupan makanan.

Rerata asupan lemak pada kelompok vitamin E+plasebo dan kelompok vitamin E+C masing-masing adalah $37,37 \pm 14,97$ g dan $39,05 \pm 11,88$ g. Sedangkan rerata asupan lemak usila pada penelitian Manampiring di Yogyakarta dan Manado masing-masing adalah $16,8 \pm 0,57$ g dan $20,94 \pm 0,1$ g.⁵⁶ Nilai tersebut sangat jauh berbeda pada penelitian ini, hal tersebut dapat dimengerti, karena berdasarkan analisis asupan sebagian besar asupan subyek pada penelitian ini berasal dari gorengan yang banyak mengandung asam lemak *trans*.

Asupan kolesterol subyek penelitian kedua kelompok pada minggu pertama, ketiga dan ketujuh berdasarkan anjuran PERKENI (2004) tergolong cukup. Demikian pula dengan penelitian Purwastyastuti¹³ yang melakukan penelitian potong lintang tentang kebiasaan makan pada usila di Jakarta, di mana rerata asupan kolesterol pada penelitian tersebut adalah 145 ± 21 mg.

Pada kedua kelompok, terjadi peningkatan persentase rerata asupan kalori, karbohidrat, dan lemak terhadap KKT pada minggu ketujuh dibandingkan minggu pertama. Peningkatan tersebut pada penelitian ini mungkin terjadi, karena selama penelitian, subyek tidak diberi konseling gizi tentang pembatasan asupan makanan terutama yang banyak mengandung lemak. Konseling gizi secara tidak langsung dapat menjadi faktor perancu (*confounding factor*) dalam penelitian ini, karena bila dilakukan konseling gizi, maka penurunan peroksidasi lipid menjadi tidak jelas apakah disebabkan karena pemberian suplementasi atau konseling gizi.

5.3.2. Asupan antioksidan

Asupan antioksidan pada penelitian ini meliputi asupan vitamin E dan vitamin C yang terutama berasal dari suplementasi. Dengan adanya suplementasi maka rerata asupan vitamin E seluruh subyek penelitian tergolong cukup. Sedangkan bila penilaian asupan vitamin E hanya berasal dari asupan bahan makanan sehari-hari saja, maka rerata asupan vitamin E seluruh subyek penelitian tergolong kurang. Kurangnya asupan vitamin E pada subyek penelitian dimungkinkan karena keterbatasan dana, di mana bahan makanan sumber vitamin E yang baik seperti minyak kecambah gandum, biji bunga matahari, dan kanola harganya tergolong mahal dan hanya didapatkan di supermarket besar. Sedangkan kacang-kacangan, biji-bijian, sayuran dan buah-buahan sebagai bahan makanan sumber vitamin E yang baik, dari analisis asupan hanya dikonsumsi dalam jumlah sedikit. Kurangnya asupan vitamin E yang berasal dari asupan bahan makanan sehari-hari juga didapatkan pada penelitian Purwastyastuti¹³, di mana rerata asupan vitamin E pada penelitian tersebut adalah $3,0 \pm 3,0$ mg yang nilainya hampir sama dengan penelitian ini.

Rerata asupan vitamin C pada kedua kelompok berbeda bermakna. Pada kelompok vitamin E+plasebo asupan vitamin C tergolong kurang sedangkan pada kelompok vitamin E+C tergolong cukup. Hal tersebut menunjukkan bahwa asupan vitamin C terutama didapatkan dari suplementasi. Sedangkan asupan yang berasal dari bahan makanan sumber seperti sayuran dan buah-buahan tergolong rendah. Shahar dkk⁵⁷ (2003) melaporkan adanya penurunan asupan sayuran dan buah-buahan pada usia. Hal ini mungkin disebabkan oleh adanya perubahan fisiologis saluran pencernaan pada usia seperti sudah hilangnya beberapa gigi yang menyebabkan para usia kesulitan dalam mengunyah sayuran dan buah-buahan yang umumnya memiliki konsistensi keras.

Secara umum hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa asupan antioksidan vitamin E dan vitamin C yang berasal dari bahan makanan sumber pada subyek penelitian masih tergolong kurang, sehingga untuk mencukupi kebutuhannya diperlukan suplementasi.

5.4. Kadar kolesterol LDL

Kadar kolesterol LDL yang meningkat pada kelompok vitamin E+plasebo dan menurun pada kelompok vitamin E+C setelah perlakuan, tidak dapat ditentukan apakah ada pengaruh dari pemberian suplementasi pada penelitian ini, karena sampai saat ini belum ada penelitian yang membuktikan adanya pengaruh vitamin E dan vitamin C terhadap kadar kolesterol LDL. Sehingga adanya peningkatan kadar kolesterol LDL pada kelompok vitamin E+plasebo ini mungkin dipengaruhi oleh asupan subyek penelitian yang banyak mengkonsumsi makanan gorengan yang banyak mengandung asam lemak *trans*. Seperti diketahui bahwa asupan tinggi asam lemak jenuh dan asam lemak *trans* dapat meningkatkan kadar kolesterol LDL.

Peningkatan kadar kolesterol LDL pada kelompok vitamin E dan plasebo juga ditemui pada penelitian Purwastyastuti¹³, yang hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pada kelompok yang diberi suplementasi vitamin E terjadi peningkatan kadar kolesterol LDL sedangkan pada kelompok yang mendapat plasebo terjadi penurunan. Baik pada penelitian ini maupun penelitian Purwastyastuti peningkatan kadar kolesterol LDL tidak bermakna secara statistik.

5.5. Kadar dan perubahan MDA plasma

Pada H-1, nilai median kadar MDA plasma kelompok vitamin E+plasebo adalah 2,63(1,92-4,42) nmol/mL dan rerata kadar MDA plasma kelompok vitamin E+C adalah 3,03±0,62 nmol/mL. Nilai ini sangat jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Prasetyastuti dkk⁵⁸ (2007) pada usila sehat di Sleman, Jawa Tengah, di mana rerata kadar MDA plasma adalah 0,23±0,13 nmol/mL. Kadar MDA plasma yang tinggi pada penelitian ini menunjukkan bahwa subyek pada penelitian ini rentan terhadap terjadinya peroksidasi lipid. Dalam hal ini salah satu faktor yang mendukung terjadinya peningkatan kadar peroksidasi lipid adalah kadar kolesterol LDL tinggi.

Untuk menurunkan peroksidasi lipid LDL dibutuhkan suplementasi vitamin E yang merupakan antioksidan lipofilik terbanyak di dalam LDL. Hal tersebut terbukti pada penelitian ini, dengan pemberian suplementasi vitamin E dapat menurunkan kadar MDA plasma pada kedua kelompok di mana penurunan secara

bermakna ($p < 0,05$) terjadi pada kelompok yang hanya mendapatkan suplementasi vitamin E saja. Purwastyastuti¹³ juga mendapatkan penurunan kadar MDA plasma setelah pemberian suplementasi vitamin E 600 mg/hari selama 12 minggu pada usila hiperkolesterolemia. Hasil yang sama juga didapatkan dari penelitian Saxena dkk⁵⁹ pada usila sehat yang diberikan suplementasi vitamin E 200 mg/hari selama 12 minggu.

Mengingat efek sinergis dari vitamin C dan vitamin E di dalam menurunkan peroksidasi lipid, maka dalam penelitian ini diharapkan pemberian kombinasi vitamin E dan C juga dapat menurunkan kadar MDA plasma pada usila dengan hiperkolesterolemia. Hal ini juga berdasarkan suatu penelitian yang dilakukan oleh Chavan dkk¹⁶ (2007) yang menunjukkan adanya kesinergisan antara vitamin E dan C dalam menurunkan peroksidasi lipid. Pada penelitian Chavan dkk¹⁶ diberikan suplementasi vitamin E 600 IU, vitamin C 500 mg dan kombinasi keduanya pada tiga kelompok usila osteoporosis non hiperkolesterolemia selama 45 hari. Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya penurunan kadar MDA plasma pada kelompok vitamin C > kelompok vitamin E+C > kelompok vitamin E.

Sayangnya ternyata hasil penelitian ini kurang memperlihatkan efek sinergis antara vitamin E dan vitamin C. Perubahan kadar dan persentase perubahan kadar MDA plasma pada akhir penelitian ternyata lebih besar pada kelompok vitamin E+plasebo. Perubahan kadar MDA plasma yang didapatkan setelah suplementasi pada kelompok vitamin E+C sedikit lebih kecil (-0,28 (-1,31-1,63) nmol/mL) dibandingkan kelompok vitamin E+plasebo (-0,50±0,55 nmol/mL), walaupun demikian perbedaan tersebut tidak bermakna ($p > 0,05$) di antara kedua kelompok. Dalam hal ini dipikirkan apakah ada pengaruh subyek laki-laki terhadap hasil penelitian tersebut, namun setelah subyek laki-laki tersebut dihilangkan, maka perbedaan kadar MDA plasma pada kelompok vitamin E+plasebo (-0,52 ± 0,56 nmol/mL) yang didapatkan juga masih lebih besar dan tidak bermakna ($p = 0,08$) dibandingkan dengan kelompok vitamin E+C. Hasil tersebut memperlihatkan suplementasi vitamin E dan C tidak efektif untuk menurunkan peroksidasi lipid pada usila dengan hiperkolesterolemia bila dibandingkan dengan hanya pemberian vitamin E. Hal yang sama tampak pada hasil penelitian yang dilakukan oleh

Huang dkk¹⁷ yang memberikan suplementasi vitamin E 400 IU, vitamin C 500 mg dan kombinasi keduanya pada 184 orang bukan perokok selama dua bulan. Pada kelompok yang mendapatkan kombinasi vitamin E+C serta kelompok vitamin C justru mengalami peningkatan kadar MDA urin pasca suplementasi, sedangkan pada kelompok vitamin E mengalami penurunan kadar MDA urin. Huang berpendapat ketidaksinergisan antara vitamin E dan C ini mungkin disebabkan oleh adanya antioksidan eksogen lain yang lebih efektif mengurangi radikal tokoferol dibandingkan vitamin C.

Houglum dkk⁶⁰ (1991) melakukan penelitian secara *in vitro* dengan menggunakan kultur sel fibroblast manusia untuk membuktikan bahwa asam askorbat dapat memproduksi kolagen dengan mekanisme selain hidrosilasi. Hasil penelitian tersebut memperlihatkan bahwa pada kultur sel fibroblast manusia bila ditambahkan asam askorbat dengan atau tanpa mikromineral metal ternyata dapat menginduksi peroksidasi lipid. Sedangkan MDA sebagai salah satu produk dari peroksidasi lipid diketahui akan menstimulasi produksi kolagen dan meningkatkan mRNA prokolagen. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka pemberian suplemen vitamin C pada penelitian ini kemungkinan dapat meningkatkan kadar MDA plasma pada kelompok vitamin E+C, sehingga penurunan kadar MDA plasma pada kelompok vitamin E+C tidak sebesar pada kelompok vitamin E+plasebo, karena pada subyek tidak diketahui kadar mikromineral metal yang terdapat di dalam tubuh. Oleh karena itu, untuk menurunkan peroksidasi lipid mungkin sebaiknya digunakan antioksidan lain yang dapat meregenerasi vitamin E tetapi tidak mempengaruhi peroksidasi lipid.

Selain itu faktor lainnya adalah *biomarker* MDA. Malondialdehida adalah molekul aldehida yang sangat reaktif, terbentuk pada saat peroksidasi lipid berlangsung dan cenderung tidak stabil.⁶ Kadar MDA diukur dengan menggunakan *thiobarbituric acid assay* (TBAR).⁶¹ Malondialdehida merupakan parameter peroksidasi lipid yang kurang sensitif karena selain MDA, karbohidrat, asam amino, aldehida dan peroksida juga dapat terukur oleh uji TBAR, sehingga dapat mempengaruhi pengukuran kadar MDA.^{62,63,64}

Beberapa faktor lain yang dapat mempengaruhi kadar MDA plasma adalah usia, IMT, merokok, DM, hiperkolesterolemia, aktivitas fisik, serta status

antioksidan eksogen dan endogen.⁶⁵ Namun demikian, tidak ada perbedaan bermakna antara kedua kelompok dari beberapa faktor yaitu usia, kadar kolesterol LDL dan aktivitas fisik subyek penelitian. Demikian pula dalam hal ini tidak ada subyek penelitian yang menderita DM dan merokok. Ohmori dkk (2005) yang melakukan penelitian pada usila sehat di Asia melaporkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara IMT dan peroksidasi lipid. Selain itu Block dkk juga melaporkan bahwa peningkatan IMT akan disertai dengan peningkatan kadar MDA. Dengan demikian, maka kemungkinan penurunan IMT yang bermakna dalam penelitian ini mungkin merupakan salah satu faktor yang menyebabkan penurunan kadar MDA plasma. Status antioksidan eksogen dan endogen juga dapat mempengaruhi kadar MDA plasma, namun sayangnya pada penelitian ini tidak diperiksa.

Faktor lain yang kemungkinan mempengaruhi kadar MDA plasma pada penelitian ini adalah aspartam yang digunakan sebagai plasebo. Namun sampai sekarang belum ada literatur yang menyatakan bahwa aspartam dapat mempengaruhi kadar MDA plasma. Sehingga patut dipertanyakan apakah ada peran aspartam dapat berpengaruh juga terhadap kadar MDA plasma.

BAB 6

RINGKASAN, KESIMPULAN, DAN SARAN

6.1. Ringkasan

Hiperkolesterolemia merupakan salah satu penyakit yang banyak diderita oleh usila, karena proses penuaan mengakibatkan mekanisme yang mengatur fungsi reseptor LDL menjadi kurang efisien, sehingga memperlambat proses pembersihan LDL dari sirkulasi. Peningkatan kolesterol LDL dapat memicu peningkatan peroksidasi lipid yang akan menghasilkan berbagai macam produk, salah satunya adalah malondialdehida (MDA). Produk tersebut dapat berperan dalam mengubah struktur dan fungsi LDL yang dapat memicu terbentuknya aterosklerosis.

Vitamin E merupakan antioksidan lipofilik di dalam LDL dengan jumlah terbanyak yang dapat berperan sebagai pemutus rantai peroksidasi lipid dan penangkap radikal bebas, sehingga berguna untuk mengurangi peroksidasi lipid LDL. Vitamin E membutuhkan senyawa pereduksi seperti vitamin C untuk meregenerasinya. Dari suatu penelitian dibuktikan bahwa dengan pemberian kombinasi suplementasi vitamin E dan vitamin C pada usila dengan osteoporosis, ternyata dapat menurunkan kadar MDA plasma lebih besar daripada hanya dengan pemberian vitamin E saja.

Penelitian ini merupakan uji klinis paralel, tertutup tunggal dan alokasi acak. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi suplementasi vitamin E dan vitamin C terhadap peroksidasi lipid yang dinilai dengan mengukur kadar MDA plasma sebagai *biomarker* peroksidasi lipid. Pengamatan dilakukan sebelum perlakuan dan setelah perlakuan pada dua kelompok yaitu kelompok yang mendapatkan vitamin E 400 IU dan plasebo serta kelompok yang mendapatkan kombinasi vitamin E 400 IU dan vitamin C 500 mg selama 45 hari. Penelitian ini dilakukan mulai bulan Februari 2010 sampai dengan April 2010. Subyek penelitian adalah usila dengan hiperkolesterolemia yang berasal dari Yayasan Kebagusan, Yayasan Yasni dan Yayasan Yakin di Pasar Minggu, Jakarta Selatan. Setelah melewati seleksi, diperoleh 42 subyek yang memenuhi kriteria penelitian. Selanjutnya, dibagi menjadi dua kelompok yang

masing-masing berjumlah 21 subyek. Selama penelitian didapatkan satu orang *drop out* dari masing-masing kelompok, sehingga sampai akhir penelitian didapatkan 20 subyek dari masing-masing kelompok yang mengikuti penelitian secara lengkap.

Data penelitian diperoleh melalui wawancara, pemeriksaan antropometri serta pemeriksaan laboratorium yang meliputi kadar kolesterol LDL dan MDA plasma. Pengumpulan data asupan makanan menggunakan metode *food record* 2x24 jam. **Penelitian ini memperoleh hasil sebagai berikut :**

1. Hasil data demografi penelitian ini adalah rerata umur subyek kelompok vitamin E+plasebo $70,30 \pm 5,46$ tahun dan kelompok vitamin E+C $68,10 \pm 5,27$ tahun dengan sebagian besar subyek penelitian dari kedua kelompok berjenis kelamin perempuan. Indeks massa tubuh kedua kelompok pada H-1, H+22 dan H+46 tergolong berisiko.
2. Selama perlakuan, persentase asupan kalori dan karbohidrat terhadap KKT serta asupan kolesterol kedua kelompok masing-masing tergolong cukup. Sedangkan rerata persentase asupan lemak terhadap KKT kedua kelompok masing-masing tergolong lebih.
3. Asupan vitamin E total kedua kelompok selama perlakuan tergolong cukup, tetapi bila analisis asupan vitamin E hanya berasal dari asupan makanan sehari-hari, maka asupan vitamin E kedua kelompok tergolong kurang. Begitu pula dengan asupan vitamin C, pada kelompok vitamin E+plasebo dimana asupannya tanpa suplementasi vitamin C, maka asupannya tergolong kurang. Sedangkan pada kelompok vitamin E+C yang asupannya berasal dari suplementasi vitamin C dan makanan sehari-hari, maka asupannya tergolong cukup.
4. Sebelum perlakuan, nilai median kadar kolesterol LDL kelompok vitamin E+plasebo dan kelompok vitamin E+C masing-masing adalah 146,50(130-190) mg/dL dan 146,50 (131-196) mg/dL. Pasca perlakuan hari ke 46, rerata kadar kolesterol LDL pada kelompok vitamin E+plasebo meningkat menjadi $151,90 \pm 22,10$ mg/dL, sedangkan rerata kadar kolestreol LDL pada kelompok vitamin E+C menurun menjadi $146,80 \pm 28,21$ mg/dL.

5. Kadar MDA plasma kelompok vitamin E+plasebo dan kelompok vitamin E+C sebelum perlakuan masing-masing adalah $2,63(1,92-4,42)$ nmol/mL dan $3,03 \pm 0,62$ nmol/mL. Pasca perlakuan hari ke 46, rerata kadar MDA plasma kedua kelompok menurun menjadi $2,30 \pm 0,67$ nmol/mL ($p=0,00$) pada kelompok vitamin E+plasebo dan pada kelompok vitamin E+C menjadi $2,88 \pm 0,88$ nmol/mL ($p=0,36$). Selisih kadar MDA plasma setelah perlakuan hari ke 46 ternyata lebih besar pada kelompok vitamin E+plasebo daripada kelompok vitamin E+C. Hal tersebut mungkin disebabkan karena faktor *biomarker* MDA, askorbat, serta status antioksidan subyek penelitian.

6.2. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh kombinasi suplementasi vitamin E dan C dibandingkan dengan suplementasi vitamin E terhadap kadar malondialdehida plasma usia lanjut dengan hiperkolesterolemia ini, dapat disimpulkan bahwa setelah 45 hari pemberian kombinasi suplementasi vitamin E 400 IU dan vitamin C 500 mg pada usila dengan hiperkolesterolemia, ternyata tidak terbukti menurunkan kadar MDA plasma lebih besar dibandingkan dengan hanya pemberian vitamin E 400 IU.

6.3. Saran

1. Untuk mengetahui dengan pasti bahwa efek suplementasi vitamin E dan vitamin C dalam menurunkan peroksidasi lipid bukan suatu kebetulan, maka perlu dilakukan penelitian serupa dengan menggunakan kelompok kontrol tanpa suplementasi sebagai pembandingan.
2. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan pemeriksaan kadar vitamin E dan vitamin C plasma supaya efektivitas suplementasi vitamin E dan vitamin C dapat diketahui.
3. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan menggunakan suplemen antioksidan lain yang dapat meregenerasi vitamin E tanpa mempengaruhi peroksidasi lipid.

4. Terhadap subyek penelitian perlu diberikan konseling gizi tentang makanan dengan gizi seimbang dan perlunya meningkatkan konsumsi minyak tumbuh-tumbuhan, daging, unggas, ikan dan kacang-kacangan serta sayuran dan buah-buahan untuk mendapatkan manfaat vitamin E dan vitamin C dari bahan makanan sumber.



SUMMARY, CONCLUSIONS AND SUGGESTIONS

Summary

Hypercholesterolemia is one of the illnesses that suffered by most of elderly people, due to the aging process resulted mechanisms that regulate the function of LDL receptors become less efficient, thus slowing down the cleaning process of LDL from the circulation. Increased LDL cholesterol can lead to increased lipid peroxidation, which will produce a wide range of products, one of which is malondialdehyde (MDA). These products can play a role in changing the structure and function of LDL, that can trigger the formation of atherosclerosis.

Vitamin E is a lipophilic antioxidant in LDL with the greatest number that can act as lipid peroxidation chain breaker and free radicals catcher, which serve to reduce lipid peroxidation of LDL. Vitamin E requires reducer compounds such as vitamin C to regenerate itself. Some research had demonstrated that supplementation with a combination of vitamin E and vitamin C in elderly patients with osteoporosis, in fact may decrease plasma MDA levels greater than simply the provision of vitamin E alone.

This study was a parallel clinical, closed, single and random allocation trial. This study was purposed to determine the effect of the combination of vitamin E supplementation and vitamin C on lipid peroxidation that is assessed by measuring plasma levels of MDA as a lipid peroxidation *biomarker*. Observations were made before and after treatment in two groups, the first group received 400 IU of vitamin E and placebo while the second one received a combination of 400 IU of vitamin E and vitamin C 500 mg for 45 days. This research was conducted from February 2010 until April 2010. Subjects were elderly patients with hypercholesterolemia from Kebagusan Foundation, Yasni Foundation and Yakin Foundation at Pasar Minggu, South Jakarta. After passing the selection process, it obtained 42 subjects who fulfilled the research criteria. Furthermore, they divided into two groups, each of which amounted to 21 subjects. During the study found one person *dropped out* from each group, so until last study indicated 20 subjects from each group who followed the research completely.

The research data was obtained through interviews, examination of anthropometric and laboratory examinations, including LDL cholesterol and MDA plasma. Food intake data collection was done using 2x24-hour *food record* method. Results of this study are:

1. Research demographic data results of this study is the average age of the subjects of vitamin E + placebo group was 70.30 ± 5.46 years old and group of vitamin E + C was 68.10 ± 5.27 years, with most of the research subjects of the two groups were female. Body mass index of both groups on H-1, H+22 and H+46 were categorized as risky.
2. During treatment, the calories and carbohydrates intake percentage toward the TCN and cholesterol intake of both groups is quite. While the percentage average of fat intake on the both TCN from each group was classified more.
3. Total vitamin E intake during the treatment of both groups is quite, but when the analysis of vitamin E intake is only derived from daily food intake, the vitamin E intake of both groups pertained less. Similarly, intake of vitamin C, in the group of vitamin E + placebo where its intake without supplementation of vitamin C, then intake pertained less. Whereas in the group of vitamins E + C which its intake derived from vitamin C supplementation and everyday food, it intake is quite.
4. Before treatment, the median value of LDL cholesterol levels of vitamin E + placebo group and vitamin E + C groups, respectively, were 146.50 (130-190) mg/ dL and 146.50 (131-196) mg/ dL. Post-treatment at day 46, the mean LDL cholesterol levels in the group of vitamin E + placebo increased to 151.90 ± 22.10 mg/ dL, whereas the mean LDL cholesterol in the group of vitamin E +C decreased to 146.80 ± 28.21 mg/ dL.
5. The MDA plasma levels before treatment on both group of vitamin E + group of placebo and vitamin E + C, respectively, were 2.63 (1.92 to 4.42) nmol/ mL and 3.03 ± 0.62 nmol/ mL. Post-treatment at day 46, the mean plasma MDA level both groups decreased to 2.30 ± 0.67 nmol/ mL ($p = 0.00$) in vitamin E + placebo group and the group of vitamins E + C to $2.88 \pm 0,88$ nmol/ mL ($p = 0.36$). Difference in plasma MDA levels after

treatment at day 46 was greater in vitamin E + placebo group than the group of vitamins E + C. This might be due to MDA *biomarkers* factors, ascorbic acid, and antioxidant status of study subjects.

Conclusion

Based on this research result about the effect of the combination of vitamins E and C supplementation compared with supplementation of vitamin E on plasma malondialdehyde levels of elderly patients with hypercholesterolemia, it can be concluded that after 45 days of combined supplementation of vitamin E 400 IU and vitamin C 500 mg in elderly patients with hypercholesterolemia, it was not can more decrease levels of plasma MDA than just giving vitamin E 400 IU. It means that the hypothesis in this study was rejected.

Recommendation

1. To know with certainty that the effects of vitamin E and vitamin C supplementation for reducing lipid peroxidation are not a coincidence, it needs to perform similar research using a control group without supplementation as a comparison.
2. The same research like this with checking the levels of vitamin E and vitamin C plasma to know the effectiveness of supplementation of vitamin E and C.
3. For similar studies should use other antioxidant supplements that can regenerate vitamin E without affecting lipid peroxidation.
4. Provide nutritional counselling upon elderly patients about balanced nutrition foods and need to increase consumption of vegetables and fruits to get the benefits of vitamin E and C.

DAFTAR PUSTAKA

- 1 PERKENI. Petunjuk penatalaksanaan dislipidemia. Jakarta. PB. PERKENI, 2004. hal. 1-2
- 2 Grundy SM. Nutrition in management of disorder of serum lipids and lipoprotein. Dalam : Shills ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, editor. *Modern nutrition in health and disease*. 2006. Edisi ke 10. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins. hal. 1076-94.
- 3 Soemantri S, Pradono J. Gambaran kecenderungan PTM di Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan, 2005. <http://surkesnas.litbang.depkes.go.id/download/ptm.pdf> (diakses 29 September 2009)
- 4 Soemantri S, Pradono J, Hapsari D. SURKESNAS 2001: NCD risk factors in Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan, 2001. http://www.who.int/chp/steps/STEPS_Report_Indonesia_National_2001.pdf (diakses 10 Oktober 2009)
- 5 Badan Pusat Statistik. Profil Kependudukan Indonesia. Badan Pusat Statistik, Jakarta, 1996. <http://library.usu.ac.id/download/fkm/fkm-sri%20rahayu.pdf> (diakses 16 November 2009)
6. Marks AD, Smith CM, Lieberman M. *Basic medical biochemistry: A clinical approach*. 2005. Edisi ke 2. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins. hal 439-53.
7. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew T, Kjo J, Witztum J. Beyond cholesterol: modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320: 915-24.
8. Prasad K and Kalra J. Oxygen free radical and hypercholesterolemic atherosclerosis : Effect of Vitamin E. *Am Heart J* 1993; 125: 958-73
9. Das S, Vasisht S, Snehlata, Das N, Srivastava LM. Correlation between total antioxidant status and lipid peroxidation in hypercholesterolemia. *Curr Sci* 2000; 78(4): 486-7.
10. Esterbauer H, Rotheneder MD, Striegl G, dan Waeg G. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low density lipoprotein. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 314S-21S

11. Kaul N, Devaraj S, Jialal I. α -Tocopherol and Atherosclerosis. *E.B.M* 2001; 226: 5-12
12. Jialal I, Fuller CJ, Huet BA. The effect of alfa-tocopherol supplementation on LDL oxidation. A dose response study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 190-8
13. Purwastyastuti. Relation of lipid peroxides to food habit, selected coronary heart disease risk factors and vitamin E supplementation in the elderly. [Dissertation]. Jakarta: Post Graduate Program University of Indonesia; 2000
14. Gropper SS, Smith JL, Groff JL. *Advanced nutrition and human metabolism*. Edisi ke 4. United States of America: Thomson wadsworth, 2005. hal 128-67, 260-75, 352-61.
15. Wen Y, Cooke T, Feely J. The effect of pharmacological supplementation with vitamin C on low-density lipoprotein oxidation. *Br J Clin Pharmacol* 1997; 44: 94-97.
16. Chavan SN, More U, Mulgund S, Saxena V, Sontakke AN. Effect of supplementation of vitamin C and E on oxidative stress in osteoporosis. *Indian J Clin Biochem*. 2007; 22(2): 101-5.
17. Huang HY, Appel LJ, Croft KD, Miller ER, Mori TA, Puddey IB. Effects of vitamin C and vitamin E on in vivo lipid peroxidation: result of a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 549-55
18. Krinke UB. Nutrition and older adults. Dalam : Brown JE. *Nutrition through life cycle*. Edisi ke 4. United states of America: Thomson wadsworth, 2008. Hal. 455-83.
19. Setiati S, Harimurti K, Roosheroe AG. Proses menua dan implikasi kliniknya. Dalam : Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, K simadibrata M, Setiati S, editor. *Buku ajar ilmu penyakit dalam*. Edisi ke 4. Jakarta: Pusat penerbitan Departemen Ilmu penyakit dalam FKUI, 2006. Hal. 1335-40.
20. Adam JMF. Dislipidemia. Dalam : Buku ajar ilmu penyakit dalam. Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, K Simadibrata M, Setiati, editor. Edisi ke 4. Jakarta: Pusat penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI; 2006. Hal. 1926-32
21. Marcovina, S.M. and Morrisett, J.D., "Structure and metabolism of lipoprotein(a)". *Curr. Opin. Lipidol* 1995; 6: 136-45.
http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/life-science/biochemicals/migrationbiochemicals1/LDL_and_LDL_receptor.Par.0001.Image.586.gif (diakses 7 Oktober 2009)

22. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Edisi ke-4. New York: Oxford University Press, 2007. Hal. 81-90, 236-60
23. Jialal I and Devaraj S. Low density lipoprotein oxidation, antioxidants, and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective.. Clin Chem 1996; 42(4): 498-506.
24. Winarsi H. antioksidan alami dan radikal bebas. Yogyakarta: penerbit Kanisius; 2007. Hal. 55-7
25. Muchtadi D. Gizi anti penuaan dini. Bandung: Penerbit Alfabeta; 2009. Hal. 108
26. Lusis AJ. Atherosclerosis. Nature, 2000; 407:233-41
27. Kosasih A. Patofisiologi aterosklerosis. Dalam : Rahasto P, Priatna H. seputar sindroma koroner akut. Banten: PERKI, 2009, hal. 11-5
28. Ross r. atherosclerosis-an inflammatory disease. N Engl J Med 1999; 340: 115-26
29. Traber GM. Vitamin E. Dalam :Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, editor. *Modern nutrition in health and disease*. Edisi ke 10. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. Hal. 296-409.
30. Gallagher ML. The fat soluble vitamins. Dalam : Mahan LK, Stump SE. *Krause's food & nutrition therapy*. Edisi ke 12. Canada: Elsevier Inc, 2008. Hal. 78-80
31. Berdanier CD. Vitamin E. Dalam : *Advanced nutrition Micronutrients*. United States of America: CRC Press, 1998. Hal. 52-9
32. Best B. Vitamin E (Tocopherol and tocotrienol). 2009. <http://www.benbest.com/nutrcout/VitEcyc.jpg> (diakses 11 September 2009)
33. Muhilal, Sulaeman A. Angka Kecukupan vitamin larut lemak. Dalam: *Angka Kecukupan Gizi dan Pelabelan Gizi*. Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi 2004. Jakarta: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, 2004.hal. 331-51.
34. Almatsier S. Prinsip dasar ilmu gizi. Jakarta: Gramedia pustaka utama, 2006. Hal. 173-9
35. Skeaff M. Vitamin C dan E. Dalam : Mann J, Truswell AS, editor. *Essentials of human nutrition*. Edisi ke 2. New York: Oxford University Press Inc, 2005. Hal 231-47.

- 36 Naidu KA. Vitamin C In health and disease is still a mystery ? an overview. *Nutr J* 2003; 2: 1-10
- 37 Wikipedia. Vitamin C. 2009.
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/81/Ascorbic_acid_structure.png. (diakses 31 Oktober 2009)
- 38 Lodge JK. Cellular redox activity and molecular functions of ascorbic acid. Dalam : Rimbch G, Fuchs J, Packer L, editor. *Nutrigenomics*. London : Taylor&Francis group, 2005. Hal. 257-81.
- 39 EH Davies, EJ Davies, ER Hughes, E Jones. Studies on the absorption of Lxyloascorbic acid (vitamin C) in young and elderly subjects. *Hum Nutr Clin Nutr*. 1984 ;38(6):469-71
- 40 Cabrera IZ. Vitamin C. Dalam -: Tee ES, Florentino RF, editor. *Recommended Dietary Allowance: Harmonization in Southeast Asia*. Southeast Asia Region, 2005. Hal. 168-81
- 41 Levine M, Katz A, Padayatty J. Vitamin C. Dalam : Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, editors. *Modern Nutrition In Health and Disease*. 10th edition. Philadelphia: Lippicott Williams & Wilkins. 2006. hal.507-24.
- 42 Applied biosystem. Vitamin C transport. 2009.
<http://www.ambion.com/tools/pathway/loadImage.php?pos=bl&im=images/Vitamin-C%20Transport.jpg> (diakses 1 November 2009)
- 43 Carr AC, Frei B. does vitamin C act as prooxidant under physiological condition ?. *FASEB J* 1999; 13: 1007-24.
- 44 Nio OK. Daftar analisis bahan makanan. Edisi ke 5. Jakarta: Balai penerbit FKUI 2008. Hal 10-36
- 45 Setiawan B, Rahayuningsih S. Angka Kecukupan Vitamin larut air. Dalam: *Angka Kecukupan Gizi dan Pelabelan Gizi*. Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi 2004. Jakarta: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, 2004. hal. 355-72.
- 46 Gibson RS. *Principles of Nutritional Assessment*. 2nd edition. New York: Oxford University Press. 2005. hal. 44-5, 273-93, 529-40.
- 47 V Akila, H Prashant, Harishchandra, D'souza V, D'souza B. Age related changes in lipid peroxidation and antioxidants in elderly people. *Indian J Clin Bioch*, 2007; 22 (1): 131-4

48. Carr, AC, McCall MR, & Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species. Reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20: 1716–23.
49. Nagyova A, dkk. Serum ex vivo lipoprotein oxidizability in patients with ischemic heart disease supplemented with vitamin E. *physiol Res* 2002; 51: 457-64.
50. Sarataho EP, Salonen JT, Nyssonen K, Kaikkonen J, Salonen R, Ristonmaa U, dkk. Long-term effects of vitamin E, vitamin C, and combined supplementation on urinary 7-Hydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine, serum cholesterol oxidation products, and oxidation resistance of lipids in nondepleted men. *Arterioscler thromb vasc biol.* 2000; 20: 2087-93.
51. Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto HS. Perkiraan besar sampel. Dalam: Sastroasmoro S, dan Ismael S, editor. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Edisi ke-2. Jakarta: Sagung Seto. 2002. hal. 311
52. WHO-WRPO. The Asia-Pacific Perspective: Redefining Obesity and Its Treatment. *Health Communication Australia*, 2000: hal.22. Dalam <http://www.diabetes.com> (diakses tanggal 1 Oktober 2009)
53. Butte NF, Caballero B. Energy Needs: Assessment and Requirements. Dalam: Shils ME, shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, editors. *Modern Nutrition In Health and Disease*. Edisi ke 10. Philadelphia: Lippicott Williams & Wilkins. 2006. hal. 136–48
54. Hardinsyah, Tambunan V. Kecukupan energy, protein, lemak dan serat makanan. Dalam: *Angka Kecukupan Gizi dan Pelabelan Gizi*. Widyakarya Nasioanal Pangan dan Gizi 2004. Jakarta: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, 2004.hal. 317–28.
55. Buzzard M. 24-hour Dietary Recall And Food Reord Methods. Dalam Willet W, editor. *Nutritional Epidemiology*. New York: Oxford University Press. 1998. hal. 50-73.
56. Manampiring AE. Kadar Malondialdehida dan Vitamin E Plasma Darah Pada Kelompok Lansia yang Mempunyai Kebiasaan Mengonsumsi tempe dan Kelompok Lansia yang Mempunyai Kebiasaan Mengonsumsi Ikan. [tesis]. Yogyakarta: Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar dan Biomedis Jurusan Ilmu-Ilmu Kesehatan Program Pasca Sarjana Universitas Gajah Mada; 2000.
57. Shahar D, Shai I, Vardi H, Fraser D. Dietary Intake and Eating Patterns of Elderly People in Israel : who is at nuritional risk ?. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57: hal18-25.

MANUSCRIPT

THE EFFECT OF COMBINE SUPPLEMENTATION OF VITAMIN E AND C ON PLASMA MALONDIALDEHYDE LEVEL IN HYPERCHOLESTEROLEMIC ELDERLY

Rikawati, Inge Permadhi, Suharko Soebardi

ABSTRACT

This parallel, single blind, randomized clinical trial purpose was to know the effect of supplementation vitamin E and vitamin C compare with vitamin E on malondialdehyde plasma level on hypercholesterolemia elderly. Forty two people from Yayasan Kebagusan, Yayasan Yasni and Yayasan Yakin, Pasar Minggu, South Jakarta were participating the project, had been divided into two groups.

Twenty one elderly were supplemented with 400 IU vitamin E (RRR- α -tocopherol) and 500 mg vitamin C (calcium ascorbate) for 45 consecutive days, while other group supplemented with 400 IU vitamin E and placebo (aspartame). In this research data demographic, anthropometrics, food intake in first, third and seventh weeks, LDL level and MDA plasma were taken before and after period. Statistical analyzes was performed by SPSS 11,5.

Twenty people for each group had followed the project until the end of period. Before period, LDL cholesterol median for vitamin E + placebo group and vitamin E+C group were 146,50(130–190) mg/dL and 146,50(130–190) mg/dL (respectively). After 45 treatment days, there was increasing in mean LDL cholesterol in vitamin E + placebo group 151,9 \pm 22,1 mg/dL and vitamin E+C was decrease, became 146,8 \pm 28,21 mg/dL. Before period, MDA plasma in vitamin E + placebo group and vitamin E+C group were 2,63(1,92–4,42) and 3,03 \pm 0,62 nmol/mL, respectively. After 45 days, mean MDA plasma on both group had decrease become 2,30 \pm 0,67 nmol/mL ($p=0,00$) for vitamin E + placebo and 2,88 \pm 0,88 nmol/mL ($p=0,36$) for vitamin E+C group. The increasing on MDA paslma in vitamin E+placebo group was bigger (-0,5 \pm 0,55 nmol/mL) than vitamin E+C (-0,28(1,31–1,63) nmol/mL), but with Mann-Whitney test on both value, had showed insignificance ($p=0,09$). Conclusion to this research was combine supplementation vitamin E and vitamin C in hypercholesterolemia elderly cannot decrease MDA plasma higher than supplementation vitamin E only.

Key words: Elderly, hypercholesterolemia, vitamin E, vitamin C, malondyaldehyde

INTRODUCTION

The increasing in life expectancy rate had effect the prevalence of hypercholesterolemia in elderly in Indonesia.^{1,2} Hypercholesterolemia could trigger lipid per oxidation that will produce malondyaldehyde (MDA), that play a

role in changing LDL structure and function so atherosclerosis could be triggered.^{3,4,5} As people getting old, structure changing and decrease in physiologic functions could affect intake decrease and nutrition absorption including anti oxidant. In order to lower LDL lipid per oxidation, supplementation of vitamin E is necessary, since vitamin E is the most lipophylic anti oxidant in LDL.^{6,7} In order to regenerate, vitamin E needs reduction compounds like vitamin C.⁸

A research proofed that combine supplementation vitamin E and vitamin C in osteoporotic elderly could decrease MDA plasma level higher than vitamin E only.⁹ An early research before, had showed increasing of urine MDA after combine supplementation vitamin E and vitamin C on non smoking subject.¹⁰ Based on some controversial research above, this research's aim was to know the effect of supplementation vitamin E and vitamin C compare with vitamin E on malondialdehyde plasma level on hypercholesterolemia elderly

METHOD OF STUDY

Subjects

Research subjects were people over 60 years old with LDL cholesterol ≥ 130 mg/dL in Yayasan Kebagusan, Yayasan Yasni dan Yayasan Yakin, Pasar Minggu, South Jakarta. Research criteria were fasting blood glucose lower than 126 mg/dL; not consuming medication that could affect lipid metabolism, thrombolytic drugs, vitamin E and vitamin C supplement, not suffer from cancer, diabetes mellitus, liver and kidney disease.

There were 42 subjects that fulfil research criteria, divided into two groups. Each group consist of 21 subjects were given vitamin E + placebo and other group vitamin E+C. In period time, one subject from vitamin E + placebo was dropped out since subject drank supplement less than 80%. While in vitamin E+C group, one subject was dropped out since subject refuse to continue follow the research because of filling nausea and cold sweat after consume the supplement.

Study design

This is a parallel, single closed, randomized clinical trial. Data collected from February 2010 until April 2010.

Study measurement

Demographic data were taken from interview and anthropometrics data was measured before period, day 22 and day 46. Daily intake data was using food record 2x24 hour method on first, third and seventh week.

Laboratory measurement

Laboratory data including LDL cholesterol level and MDA plasma were taken before period and day 46. Blood from vena was taken after 10–12 hour fasting. Blood sample was taken by Prodia laboratory employee. Cholesterol LDL level and MDA plasma were analyzed by spectrophotometer in Prodia laboratory.

Supplementation

Supplementation that given to subjects for 45 consecutive days were 400 IU vitamin E (RRR- α -tocopherol), 500 mg vitamin C (calcium ascorbate) and placebo from artificial sweetener. Each supplement was put in a capsule. Vitamin C and placebo were placed in the same colour capsule. While vitamin E was put in different colour capsule with vitamin C and placebo.

Statistical analysis

All statistical analysis was performed with SPSS for windows 11.5 statistics program. Saphiro-Wilk's test was used to analyze normality of the data distribution. Normal distribution data were presented as mean \pm standard deviation. On the contrary, abnormal distribution data were presented as median value, including the minimum and maximum values. Between-group comparisons were performed using parametric (independent *t*- test) and non-parametric (Mann-Whitney) analysis. A *p*-value $<0,05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Subject's age in this research was 60 – 84 years old with most of them were women and mean BMI were risky. Percent calorie and carbohydrate intake mean to total calorie needs between two groups and cholesterol intake in first week was adequate. While percentage fat intake mean to total calorie needs for both groups were above. Intake vitamin E mean on both groups were statistically insignificant and adequate, while vitamin C mean on both groups were statistically significant, where vitamin E + placebo group was less, while vitamin E+C was adequate (table 1). After period of supplementation, BMI on both groups were decrease statistically significant on vitamin E + placebo (table 2). Nutrition and anti oxidant intake on both groups were statistically insignificant on week 7th except calorie and fat intake on vitamin E + placebo were statistically significant (table 3 and 4).

Table 1. Subject characteristics

Variable	Vitamin E+ placebo	Vitamin E+C	p
Age (years)	70,30 ± 5,46	68,10 ± 5,27	0,2 ^t
Gender (n)			
Female	18	20	0,49 ^f
Male	2	0	
BMI (kg/m ²)	23,84±3,79	24,30±3,36	0,69 ^t
Calorie intake (cal)	1079,35(689,9-2004,6)	1156,18±240,64	0,22 ^m
(% TCN)	(95,28±23,28)	(94,62±17,41)	(0,92 ^t)
Carbohydrate intake (g)	157,63±51,97	163,78±42,89	0,68 ^t
(%TCN)	(54,77±17,83)	(53,7±13,83)	(0,83 ^t)
Fat intake (g)	37,37±14,97	39,05±11,88	0,7 ^t
(% TCN)	(28,89±10,95)	(28,7±8,22)	(0,95 ^t)
Cholesterol intake (mg)	68,72±55,57	75,65(19,6-237,6)	0,16 ^m
Vitamin E intake (mg)	271,39±1,62	271,66±1,74	0,61 ^t
Vitamin C intake (mg)	30,45(3-153,4)	546,89±26,81	0,00 ^m

f : fisher test; m : Mann Whitney ; t : independent t test; TCN: Total Calorie Needs

Table 2. Subjects spread according to nutrition status on D-1, D+22 and D+46

Variable	Vit.E+placebo (n=20)	Vit.E+C (n=20)	p [^]
BMI (kg/m ²)			
D-1	23,84±3,79	24,30±3,36	0,69 ^t
D+22	23,62±3,77	24,15±3,24	
D+46	23,43±3,72	23,68±3,03	
p [*]	0,00 ^s	0,09 ^s	

p[^] : statistic test on 1st week between Vit.E+placebo group with Vit.E+C group

p^{*} : statistic test between D-1 and D+46 on Vit.E+placebo group or Vit.E+C group; t : independent t test

Table 3. Subjects characteristics on nutrition intake

Variable	Vitamin E+Placebo	Vitamin E+C	p [^]
CALORIE :			
% TCN			
1 st week	95,28±23,28	94,62±17,41	0,92 ^t
3 rd week	94,60±18,93	100,77±22,53	
7 th week	102,56±23,63	100,77±22,53	
p [*]	0,04 ^s	0,25 ^s	
CARBOHYDRATE:			
% TCN			
1 st week	54,77±17,83	53,7±13,83	0,83 ^t
3 rd week	53,21±14,92	56,36±15,86	
7 th week	56,15±16,09	55,47±17,15	
p [*]	0,6 ^s	0,52 ^s	
FAT:			
% TCN			
1 st week	28,89±10,95	28,7±8,22	0,95 ^t
3 rd week	30,17±9,32	31,81±11,41	
7 th week	33,58±9,94	28,3(16,8-66,4)	
p [*]	0,03 ^s	0,34 ^w	
CHOLESTEROLE:			
Intake (mg)			
1 st week	68,72±55,57	75,65(19,6-237,6)	0,16 ^m
3 rd week	51 (0-184,10)	86,6(13,8-378,3)	
7 th week	53,10 (0-227)	105,45±71,91	
p [*]	0,41 ^w	0,33 ^w	

p[^] : statistic test on 1st week between Vit.E+placebo group and Vit.E+C group

p^{*} : statistic test on 1st week and 7th week on Vit.E+placebo or Vit.E+C group

m : Mann Whitney ; w : Wilcoxon; s : paired t test; t : independent t test; TTCN: Total Calorie Needs

Table 4. Subject characteristic based on vitamin E and vitamin C intake on 1st, 3rd and 7th week

Variable	Vitamin E+Placebo	Vitamin E+C	p [^]
VITAMIN E :			
Intake (mg)			
1 st week	271,39±1,62	271,66±1,74	0,61 ^t
3 rd week	271,65(269,6-277,8)	271,84±1,45	
7 th week	271,95±1,84	272,17±1,88	
p*	0,21 ^s	0,2 ^s	
VITAMIN C :			
Intake (mg)			
1 st week	30,45(3-153,4)	546,89±26,81	0,00 ^m
3 rd week	25,35(1,5-116,8)	544,99±34,23	
7 th week	34,4(4,3-129,1)	544,54±30,24	
p*	0,91 ^w	0,75 ^s	

p[^] : statistic test on 1st week between Vit.E+placbo group and Vit.E+C group

p* : statistic test between 1st and 7th week on Vit.E+placebo group or Vit.E+C group

m : Mann Whitney test; s : paired t test; t : independent t test; w : Wilcoxon test

Table 5 showed subjects LDL cholesterol level before and after 46 days. Before treatment, median LDL cholesterol on both groups was high. After treatment, LDL cholesterol on vitamin E + placebo subjects was increasing and contrary subjects on vitamin E+C group.

Table 5. LDL cholesterol level subject on D-1 and D+46

Variable	Vitamin E + Placebo		Vitamin E + C		p [^]
	D-1 (n=20)	D+46 (n=20)	D-1 (n=20)	D+46 (n=20)	
LDL cholesterol (mg/dL)	146,50 (130-190)	151,90±22,10	146,50 (131-196)	146,80±28,21	0,38 ^m
p*		0,38 ^w		0,06 ^w	
Difference		0,5 (-47-34)		-8,8±18,14	0,07 ^m

p* : statistic test between D-1&D+46 on Vitamin E + Placebo group or Vitamin E + C group

p[^] : statistic test on D-1 between Vitamin E + Placebo group and Vitamin E + C group

m : Mann Whitney ; w : Wilcoxon

Level MDA plasma on D+46 compares to D-1 on both groups was decrease, but statistically significant only happened to vitamin E + placebo. Value MDA plasma difference and percent value MDA plasma on D+46 on both group were statistically indifferent (table 6).

Table 6. Subject's MDA plasma level on D-1 and D+46

Variable	Vitamin E + Placebo (n=20)	Vitamin E + C (n=20)	p [^]
MDA plasma (nmol/mL)			
D-1	2,63(1,92-4,42)	3,03 ± 0,62	0,18 ^m
D+46	2,30 ± 0,67	2,88 ± 0,88	
P value*	0,00 ^w	0,36 ^s	
Difference	-0,50 ± 0,55	-0,28 (-1,31-1,63)	0,09 ^m
Alteration; n(%)			
Decrease	17 (85)	13 (65)	
Increase	3 (15)	7 (35)	
% alteration	-17,68 ± 18,83	-10,59 (-31,19-67,63)	0,06 ^m

p*: statistic test on D-1&D+46 on Vitamin E + Placebo group or Vitamin E + C group

p[^]: statistic test on Vitamin E + Placebo group and Vitamin E + C group

m : Mann Whitney ; w : Wilcoxon; s : pair t test

DISCUSSION AND CONCLUSION

Based on demographic characteristics, subjects were susceptible to lipid peroxidation, since subjects were elderly, most of them were female and had risk BMI.^{11,12,13}

Calorie intake in this research almost similar to Purwastyastuti's research (2000) and Manampiring's research (2000).^{14,15} Fat intake in this research was different to Manampiring's research.¹⁵ Cholesterol intake was adequate, similar to Purwastyastuti's cross sectional research on Jakarta's elderly eating habit.¹⁴ Adequate calorie intake was not suitable with BMI on both groups, could be caused by inaccuracy on food recording or flat slope syndrome. Compare to first and seventh week, there were increase in mean percent calorie, carbohydrate and fat intake to TCN on both groups. This could be happened since subject did not get counselling about limitation food intake especially fat or misreporting food record.

Vitamin E daily intake on this research was minus, similar to Purwastyastuti's research.¹⁴ Vitamin C intake on vitamin E + C group was higher than vitamin E + placebo group, but obviously decreases of MDA plasma level on vitamin E + placebo group was higher than vitamin E + C group. It was not appropriate to Sulastri's report (2003) that said there was negative correlation

between vitamin E and vitamin C with MDA plasma level. This inappropriate could be happened to misreporting food intake by subject.¹⁶

After treatment, level LDL cholesterol was increase in vitamin E + placebo group and decrease on vitamin E + C group, could not be defined if it was influenced by supplementation, since until now, there was no research that proof there was effect of vitamin E and vitamin C on LDL cholesterol level. Since there was increase in LDL cholesterol level on vitamin E + placebo group could be affected by subject's eating habit that content a lot of *trans* fatty acid. As we know, high intake of saturated fatty acid and *trans* fatty acid could increase LDL cholesterol level. Purwastyastuti's research also found increase LDL cholesterol level that statistically insignificant on vitamin E and placebo group.¹⁵

Malondyaldehyde plasma level before and after period in this research was extremely different to Prasetyastuti et all's (2007)¹⁷ research on healthy elderly at Sleman, Central Java, where median MDA plasma level was $0,23 \pm 0,13$ nmol/mL. High MDA plasma level in this research had shown that subjects were susceptible to lipid per oxidation since all subjects had high LDL cholesterol level.

In order to lower the LDL lipid per oxidation, supplementation of vitamin E is necessary since vitamin E function as most lipophilic anti oxidant in LDL. This research proofed that by vitamin E supplementation could lower MDA plasma level on both group, especially on vitamin E only group showed statistically significant ($p < 0,05$). This result appropriate to Purwastyastuti and Saxena et all's research.¹⁴

The synergy effect between vitamin E and vitamin C in this research was not clearly showed. This result also happens to research by Huang et al.¹⁰ But a research on 2007 showed a synergy between vitamin E and vitamin C on lipid per oxidation.⁹

After supplementation, difference on MDA plasma level in vitamin E + C group was smaller than vitamin E + placebo group and statistically insignificant. This could be happened by some factors, one of it was MDA biomarker. Malondyaldehyde is an aldehyde molecule that reactively formed when lipid per oxidation happen and dispose to unstable.³ Malondyaldehyde plasma level is measured by thiobarbiuric acid assay (TBAR).¹⁸ MDA is a less sensitive

parameter for lipid per oxidation, since other than MDA, carbohydrate, amino acid, aldehyde and peroxide were also measured by TBAR test.^{19,20,21} This could affect MDA plasma level. Other than that, the presence of Ascorbate in plasma could influence MDA level measurement; since there was report of an in vitro research that ascorbate oxidation could lead to lipid per oxidation. Malondyaldehyde as one of lipid per oxidation product had similar effect to ascorbate by stimulate collagen product and increase procollagen mRNA.²² Based on this report, there was possibility that vitamin C supplementation in this research increase MDA plasma level exactly on vitamin E+C group. With this result, decrease of MDA plasma level on vitamin E+C was not as big as vitamin E + placebo group. In order to decrease lipid per oxidation, it is better to use another anti oxidant that could regenerate vitamin E but did not influence lipid per oxidation.

There were other factors that influence MDA plasma level such as age, smoking habits, diabetes, hypercholesterolemia, physical activity, exogen and endogen anti oxidant status.²³ However, some factors like age, LDL cholesterol level and physical activity had been minimized, so both group had homogeneity. There were no subject suffered from diabetes and smoking habit. But exogen and endogen anti oxidant status in this research were not tested since financial limitation. This could be the factor that influences MDA level measurement in this research.

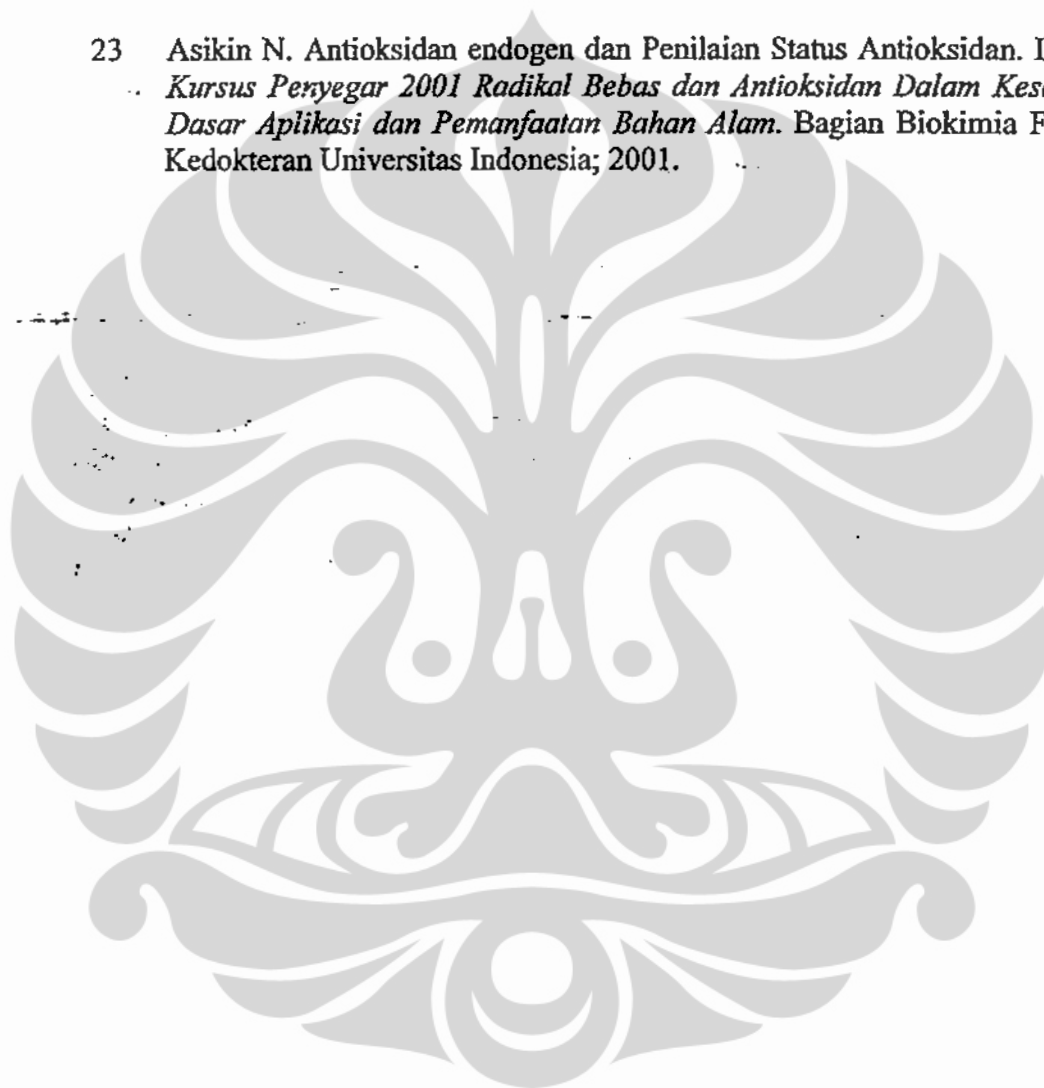
Conclusion to this research was after 45 consecutive days of supplementation 400 IU vitamin E and 500 mg vitamin C in hypercholesterolemia elderly could not decrease MDA plasma level higher than supplementation 400 IU vitamin E only.

REFERENCES

- 1 Soemantri S, Pradono J. Gambaran kecendrungan PTM di Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan, 2005. <http://surkesnas.litbang.depkes.go.id/download/ptm.pdf> (diakses 29 September 2009)
- 2 Soemantri S, Pradono J, Hapsari D. SURKESNAS 2001: NCD risk factors in Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan, 2001. http://www.who.int/chp/steps/STEPS_Report_Indonesia_National_2001.pdf (diakses 10 Oktober 2009)
- 3 Marks AD, Smith CM, Lieberman M. *Basic medical biochemistry: A clinical approach*. 2005. Edisi ke 2. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins. hal 439-53
- 4 Steinberg D, Parthasarathy S, Carew T, Kjo J, Witztum J. Beyond cholesterol: modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320: 915-24
- 5 Prasad K and Kalra J. Oxygen free radical and hypercholesterolemic atherosclerosis : Effect of Vitamin E. *Am Heart J* 1993; 125: 958-73
- 6 Esterbauer H, Rotheneder MD, Striegl G, dan Waeg G. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low density lipoprotein. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 314S-21S
- 7 Kaul N, Devaraj S, Jialal I. α -Tocopherol and Atherosclerosis. *E.B.M* 2001; 226: 5-12
- 8 Gropper SS, Smith JL, Groff JL. *Advanced nutrition and human metabolism*. Edisi ke 4. United States of America: Thomson wadsworth, 2005. hal 128-67, 260-75, 352-61
- 9 Chavan SN, More U, Mulgund S, Saxena V, Sontakke AN. Effect of supplementation of vitamin C and E on oxidative stress in osteoporosis. *Indian J Clin Biochem*. 2007; 22(2): 101-5
- 10 Huang HY, Appel LJ, Croft KD, Miller ER, Mori TA, Puddey IB. Effects of vitamin C and vitamin E on in vivo lipid peroxidation: result of a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 549-55

- 11 Nagyova A, dkk. Serum ex vivo lipoprotein oxidizability in patients with ischemic heart disease supplemented with vitamin E. *physiol Res* 2002; 51: 457-64
- 12 V Akila, H Prashant, Harishchandra, D'souza V, D'souza B. Age related changes in lipid peroxidation and antioxidants in elderly people. *Indian J Clin Bioch*, 2007; 22 (1): 131-4
- 13 Ohmori K et al. The relationship between body mass index and a plasma lipid peroxidation biomarker in an older, healthy Asian community. *Ann Epidemiol* 2005; 15(1):80-4
- 14 Purwastyastuti. Relation of lipid peroxides to food habit, selected coronary heart disease risk factors and vitamin E supplementation in the elderly. [Dissertation]. Jakarta: Post Graduate Program University of Indonesia; 2000
- 15 Manampiring AE. Kadar Malondialdehida dan Vitamin E Plasma Darah Pada Kelompok Lansia yang Mempunyai Kebiasaan Mengonsumsi tempe dan Kelompok Lansia yang Mempunyai Kebiasaan Mengonsumsi Ikan. [tesis]. Yogyakarta: Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar dan Biomedis Jurusan Ilmu-Ilmu Kesehatan Program Pasca Sarjana Universitas Gajah Mada; 2000.
- 16 Sulastri D. Kadar Malondialdehida Plasma dan Faktor-Faktor yang Berhubungan Pada Laki-Laki Etnik Minangkabau (Pengunjung Rumah Sakit Umum Padang). [Tesis]. Jakarta: Program Studi Ilmu Gizi Kekhususan Ilmu Gizi Klinik Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia; 2003
- 17 Prasetyastuti, Sunarti, Retnaningtyas DA, Lestari IP. Hubungan antara kadar vitamin C dan vitamin E terhadap kadar malondialdehida pada usia lanjut. *Berkala Ilmu Kedokteran* 2007;39(3):129-32
- 18 Nair V, Turner GA. The thiobarbituric acid test for lipid peroxidation: structure of the adduct with malondialdehyde. *Lipids* 1984; 19: 804-5
- 19 Wade CR, Jackson PG, van Ru AM. Quantitation of malondialdehyde (MDA) in plasma by ion-pairing reverse phase HPLC. *Biochem Med* 1985; 33: 291-6
- 20 Wade CR, van Rij AM. Plasma thiobarbituric acid reactivity: reaction conditions and the role of iron, antioxidants and lipid peroxyradicals on the quantitation of plasma lipid peroxides. *LifeSci* 1988; 43: 1085-93

- 21 Wong SHY, Knight JA, Hopfer SM, Zaharia O, Leach CN, Sunderman Jr FJ. liquid-chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct. *Clin Chem* 1987; 33: 214-20
- 22 Houglum KP, Brenner DA, Chojkier M. Ascorbic Acid Stimulation of Collagen Biosynthesis Independent of Hydroxylation. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 141S-3S
- 23 Asikin N. Antioksidan endogen dan Penilaian Status Antioksidan. Dalam : *Kursus Penyegar 2001 Radikal Bebas dan Antioksidan Dalam Kesehatan: Dasar Aplikasi dan Pemanfaatan Bahan Alam*. Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2001.



Lampiran 1



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, 3157258, e-mail : office@fk.ui.ac.id

NOMOR : 14 /PT02.FK/ETIK/2010

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:

"Pengaruh Suplementasi Vitamin E dan C Terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Pada Usia Lanjut Dengan Hiperkolesterolemia".

Peneliti Utama : dr. Rikawati
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Ilmu Gizi FKUI/RSCM

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

Jakarta, 18 Januari 2010



Chairman
Ketua

Prof. Dr. dr. Agus Firmansyah, SpA(K)

-Peneliti wajib menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian.

Lampiran 2

Formulir A

kode subyek :

Formulir Seleksi

Nama : No.telepon :
 Tgl.lahir : Alamat :

Kriteria penerimaan	Ya	Tidak
1. Usia ≥ 60 tahun		
2. Kadar kolesterol LDL ≥ 130 mg/dl (.....mg/dL)		
3. Bersedia mengikuti penelitian dan menandatangani formulir persetujuan		
Kriteria penolakan		
1. Mengonsumsi obat yang mempengaruhi metabolisme lipid		
2. Mengonsumsi obat-obat trombolitik		
3. Riwayat kanker		
4. Riwayat Diabetes melitus		
5. Riwayat penyakit hati		
6. Riwayat penyakit ginjal		
7. Kadar gula darah ≥ 126 mg/dl (.....mg/dL)		

Kesimpulan : terpilih / tidak terpilih sebagai subyek penelitian

Formulir B1

Lembar Informasi Penelitian

Yth. Bapak/Ibu

Dengan ini kami jelaskan bahwa akan diadakan penelitian pada Bapak/Ibu untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi suplementasi vitamin E dan C terhadap radikal bebas pada usia lanjut dengan kadar kolesterol tinggi. Apabila Bapak/Ibu/Saudara/I bersedia mengikuti penelitian ini. Maka akan dilakukan :

1. Wawancara mengenai usia, jenis kelamin, dan riwayat penyakit yang pernah dan sedang diderita oleh subyek penelitian.
2. Pencatatan jenis dan jumlah makanan serta minuman yang terakhir dikonsumsi selama dua hari berturut-turut (satu hari kerja dan satu hari libur) pada minggu pertama, ketiga, dan ketujuh (sesuai jadwal yang diberikan).
3. Pengukuran tinggi badan dan berat badan pada awal, pertengahan dan akhir penelitian.
4. Diberikan kapsul vitamin E dan C masing-masing diminum sebutir sehari selama empat puluh lima hari
5. Pengambilan darah sebanyak ± 5 ml atau satu sendok teh untuk mengetahui kadar, gula darah puasa, kolesterol jahat dan malondialdehid (MDA) yang merupakan salah satu petunjuk jumlah radikal bebas pada sembilan hari sebelum penelitian, satu hari sebelum penelitian dan akhir penelitian (setelah hari ke-45).

Akibat pengambilan darah, mungkin Bapak/Ibu akan merasakan sedikit ketidaknyamanan atau sakit, namun hal ini akan diminimalkan dengan pengambilan darah oleh tenaga terlatih dan menggunakan jarum suntik yang kecil.

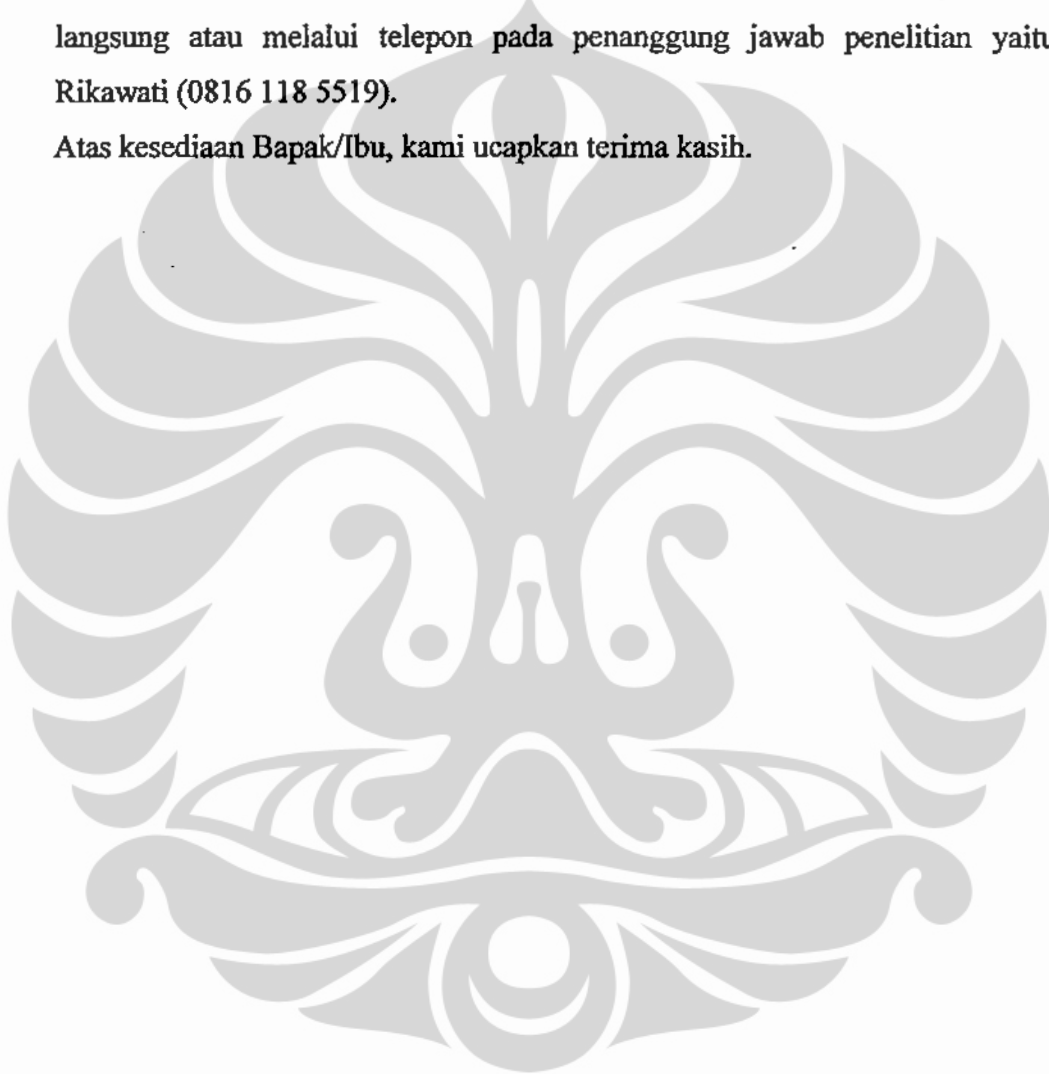
Keuntungan bagi Bapak/Ibu apabila mengikuti penelitian ini adalah dapat mengetahui status gizi, kadar kolesterol jahat, jumlah radikal bebas dalam tubuh dan pengaruh pemberian vitamin E dan C terhadap radikal bebas.

Keikutsertaan Bapak/Ibu dalam penelitian ini bersifat sukarela dan Bapak/Ibu dapat menolak atau mengundurkan diri selama proses penelitian berlangsung. Semua data dalam penelitian ini bersifat rahasia

Apabila Bapak/Ibu bersedia ikut dalam penelitian ini, maka kami akan memohon kesediaannya untuk dapat menandatangani surat persetujuan menjadi peserta penelitian : **PENGARUH KOMBINASI SUPLEMENTASI VITAMIN E DAN C TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA PLASMA PADA USILA DENGAN HIPERKOLESTEROLEMIA.**

Hal-hal yang belum jelas dalam penelitian ini dapat ditanyakan secara langsung atau melalui telepon pada penanggung jawab penelitian yaitu dr. Rikawati (0816 118 5519).

Atas kesediaan Bapak/Ibu, kami ucapkan terima kasih.



Formulir B2

LEMBAR PERSETUJUAN*(Informed Consent)*

PROGRAM STUDI ILMU GIZI KLINIK
PROGRAM PENDIDIKAN PASCASARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA

SURAT PERSETUJUAN MENJADI PESERTA PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama lengkap : _____

Usia : _____

Alamat lengkap : _____

Setelah mendengar dan membaca penjelasan mengenai tujuan dan manfaat penelitian tersebut dengan judul

**PENGARUH KOMBINASI SUPLEMENTASI VITAMIN E DAN C
 TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA PLASMA PADA USILA
 DENGAN HIPERKOLESTEROLEMIA**

Menyatakan dengan sukarela menyetujui diikutsertakan dalam penelitian tersebut dengan catatan bila sewaktu-waktu dirugikan dalam bentuk apapun berhak membatalkan persetujuan ini.

Jakarta,2010

Mengetahui
 Penanggung jawab

Menyetujui
 Peserta penelitian

(dr. Rikawati)

(.....)

Saksi

(.....)

Formulir C

IDENTITAS SUBYEK

Tanggal pemeriksaan :

No. Kode Subyek :

BIODATA

Nama lengkap :

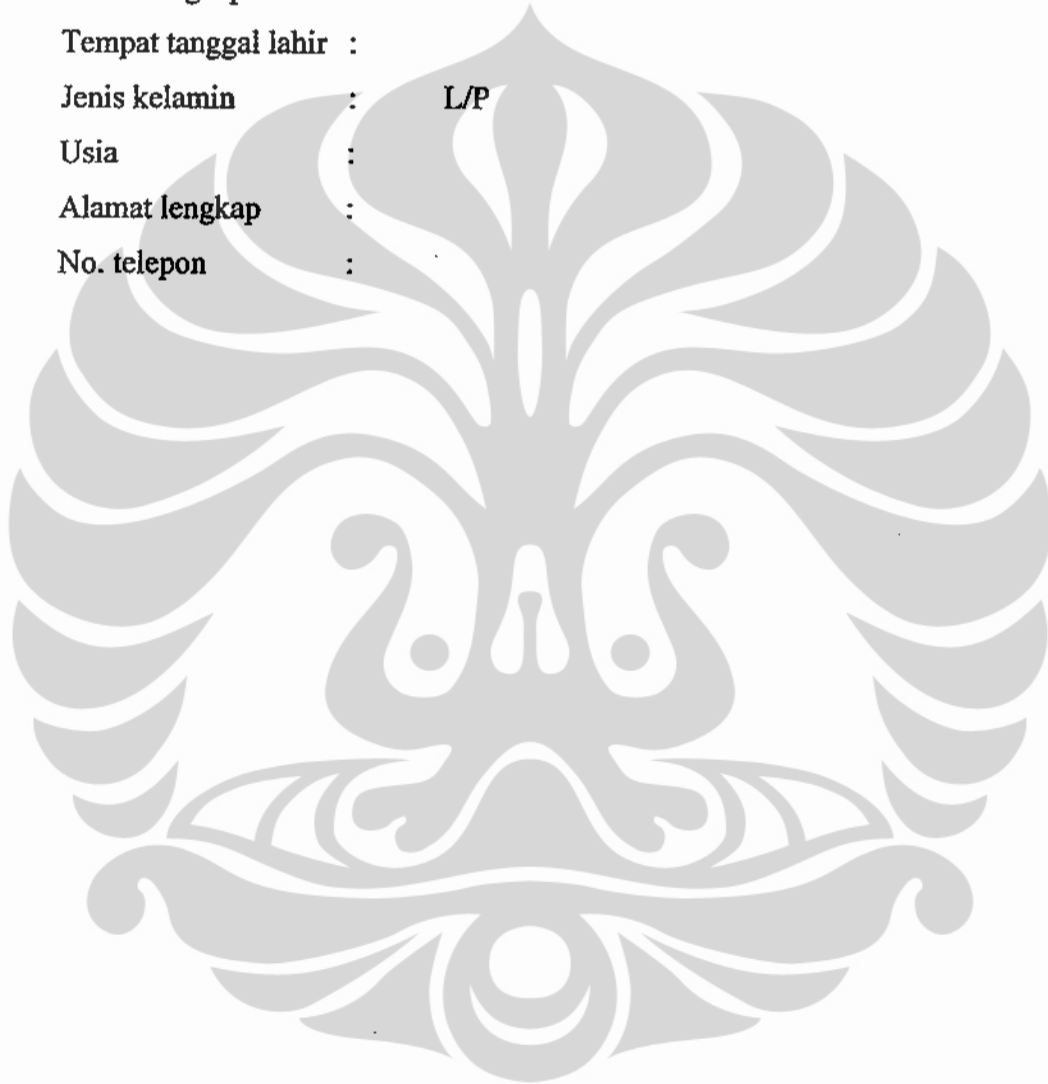
Tempat tanggal lahir :

Jenis kelamin : L/P

Usia :

Alamat lengkap :

No. telepon :



Lampiran 4

Formulir E

PEMERIKSAAN ANTROPOMETRI

Nama :

Usia :

Kode subyek :

Pengukuran	H-1			H+22			H+46		
	1	2	X	1	2	X	1	2	X
BB (cm)									
TB (kg)									
IMT(kg/m ²)									

Pemeriksa :

Tanggal periksa :

Lampiran 5**Formulir F****HASIL PEMERIKSAAN LABORATORIUM**

Nama :

Usia :

Kode subyek :

Kadar kolesterol LDL

Jenis pemeriksaan	H-9	H+46
Kolesterol LDL (mg/dl)		

Kadar MDA plasma

Jenis pemeriksaan	H-1	H+46
MDA (nmol/mL)		

Lampiran 6**Formulir G****DATA KEPATUHAN**

Nama :

Usia :

Kode subyek :

Minggu	Vitamin E			Vitamin C		
	Diberikan	Sisa	Dikonsumsi	Diberikan	Sisa	Dikonsumsi
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						

Lampiran 7

Metoda pemeriksaan kolesterol LDL

Pemeriksaan kolesterol LDL direk (DAICHI) Metoda Homogeneous

Prinsip :

Tahap 1

Reagen 1 (enzim solution) dicampur dengan spesimen serum. Deterjen 1 dalam reagen 1 melarutkan struktur kilomikron, VLDL dan HDL sehingga melepaskan kolesterol. Kolesterol bebas yang terbentuk oleh kolesterol esterase, bereaksi dengan kolesterol oksidase menghasilkan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida bereaksi dengan 4-aminoantipirin menghasilkan produk tak berwarna.

Tahap 2

Tambahkan reagen 2 yang mengandung deterjen 2 yang melepaskan kolesterol dari LDL yang tersisa sehingga dapat dilanjutkan dengan reaksi enzimatik. Reagen 2 mengandung bahan pewarna garam NN-is-(4-sulfobutil)toluidin disodium. Hidrogen yang terbentuk dengan reaksi enzimatik menghasilkan produk berwarna biru ungu. Intensitas warna sebanding dengan konsentrasi kolesterol LDL.

Sampel : serum, plasma EDTA/heparin

Jumlah : 300 μ L.

Cara kerja :

1. Cara kalibrasi

- Pipet 250 μ L kalibrator ke dalam sample cup
- Letakkan pada rak kalibrator alat Hitachi series/cobas mira
- Kerjakan seperti program control alat Hitachi series/cobas mira

2. Melakukan kontrol

- Kontrol dilakukan setelah hasil kalibrasi memenuhi syarat
- Cara melakukan kontrol :
Pipet 250 μ L kontrol ke dalam sample cup. Letakkan pada rak kalibrator alat Hitachi series/cobas mira. Kerjakan seperti program kontrol alat Hitachi series/cobas mira.

3. Pemeriksaan sample

- Dilakukan setelah hasil kalibrasi dan kontrol memenuhi syarat.
- Cara melakukan pemeriksaan sampel
Pipet 250 μ L kontrol ke dalam sample cup. Letakkan pada rak kalibrator alat Hitachi series/cobas mira. Kerjakan seperti program kontrol alat Hitachi series/cobas mira.

Malondialdehida**BIOXYTECH® MDA-586™****Metode : Spektrofotometri MDA-586****Prinsip:**

Metode MDA-586 didasarkan pada reaksi reagen chromogenic, N-metil-2-phenylindole (R1, NMPI), dengan MDA pada temperature 45°C. Satu molekul MDA bereaksi dengan 2 molekul NMPI untuk menghasilkan pewarna carbocyanine stabil.

Reagen:

- Pereaksi R1 [N-metil-2-phenylindole, dalam asetonitril]
- Pereaksi R2 [Konsentrat] asam klorida
- MDA Standar [1.1.3.3-tetramethoxypropane (TMOP) dalam Tris-HCl]
- BHT [(hydroxytoluene butylated) dalam asetonitril]
- Probucol dalam metanoi
- Methanol
- Spektrofotometer
- Spektrofotometri cuvettes dengan panjang lintasan 1 cm optik (kaca, kuarsa, atau polistiren)
- Penangas air atau set panas blok untuk mengontrol suhu di $45 \pm 1^\circ\text{C}$
- Tabung sekali pakai dan sumbat (kaca atau polypropylene)
- Microcentrifuge

Prosedur:**Persiapan reagen**

Pengenceran larutan R1 untuk digunakan dalam uji tersebut. Tambahkan satu volume (6 mL) metanol 100% untuk tiga volume (18 mL) reagen R1.

TMOP (MDA) Standar

Suatu MDA Standar disediakan sebagai tetramethoxypropane (TMOP) karena MDA tidak stabil. TMOP adalah hidrolisat selama langkah asam inkubasi pada 45°C, yang akan menghasilkan MDA.

Cara Kerja

1. Tambahkan 10 mL probucol untuk setiap tabung uji.
2. Tambahkan 200 µL sampel atau standar untuk masing-masing tabung uji.
3. Tambahkan 640 µL dari reagen R1 terdilusi menjadi masing-masing tabung.
4. Campur dengan singkat vortexing setiap tabung.
5. Tambahkan 150 µL R2.
6. Sumbat masing-masing tabung dan campur dengan baik dengan vortexing.
7. Inkubasi pada temperature 45°C selama 60 menit.
8. Centrifuge sampel keruh (misalnya, 10.000 g X selama 10 menit) untuk mendapatkan supernatan yang jelas.
9. Pindah supernatan yang jelas ke dalam mangkuk [cuvette].
10. Ukur absorbansi pada 586 nm.

Perhitungan:

1. Menggunakan data standar, melakukan regresi linier A_{586} pada [MDA]:

$$A_{586} = a[\text{MDA}] + b$$

2. Hitung konsentrasi analit dalam sampel:

$$[\text{MDA}] = \frac{A}{a} \cdot df$$

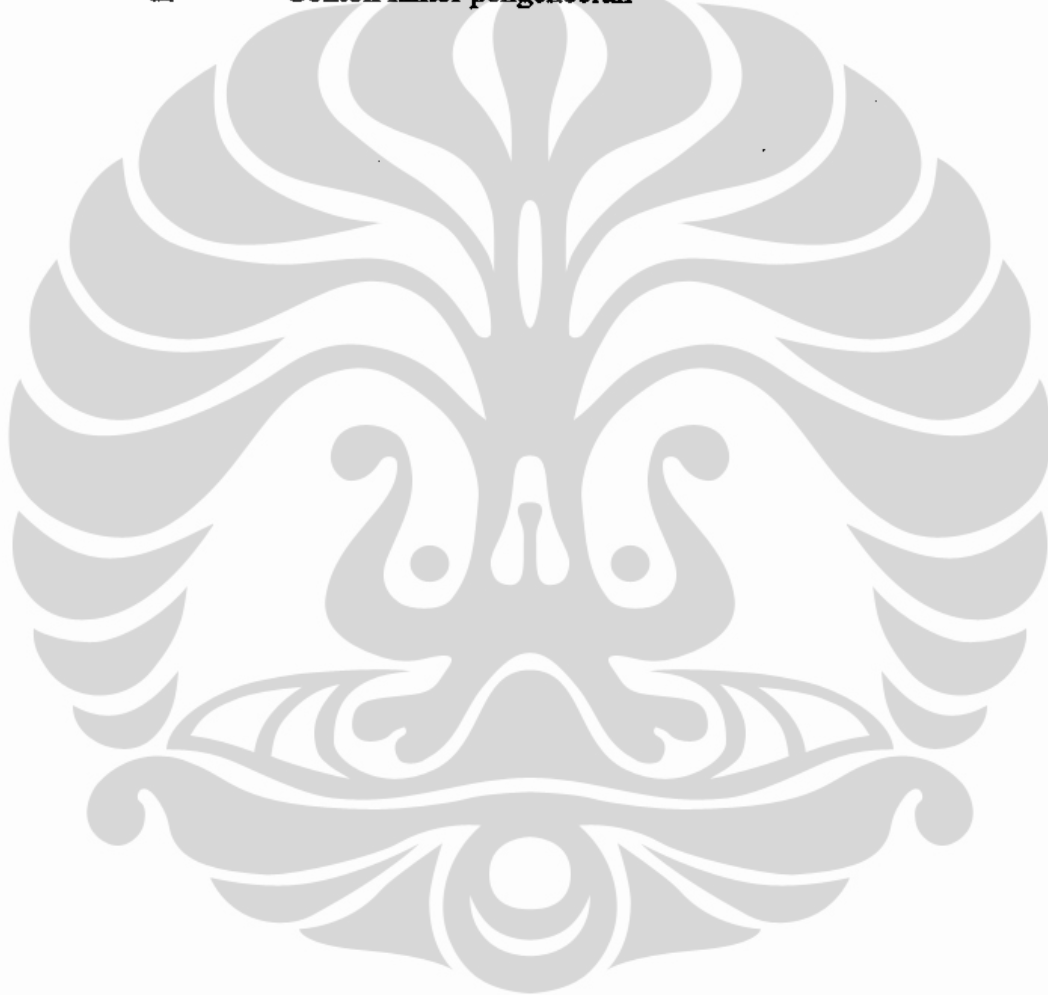
[MDA] = Konsentrasi MDA dalam sampel

A_{586} = Absorbansi pada 586 nm sampel

a = koefisien regresi (kemiringan)

b = Intercept [penangkap/ penahan]

df = Contoh faktor pengenceran



Lampiran 8

PROSEDUR RANDOMISASI BLOK

Kelompok Vitamin E+plasebo : A
 Kelompok Vitamin E+C : B
 Jumlah subyek dalam blok : 6

1. Jumlah kemungkinan kombinasi daftar blok

$$\frac{6!}{(6/2!)(6/2!)} = 20$$

AAABBB	00-04	ABABAB	25-29	BAAABB	50-54	BABBAA	75-79
AABABB	05-09	ABABBA	30-34	BAABAB	55-59	BBAAAB	80-84
AABBAB	10-14	ABBAAB	35-39	BAABB	60-64	BBAABA	85-89
AABBBA	15-19	ABBABA	40-44	BABAAB	65-69	BBABAA	90-94
ABAABB	20-24	ABBBAA	45-49	BABABA	70-74	BBBAAA	95-99

2. Dengan mata tertutup secara acak ditunjuk satu titik pada tabel angka random.
3. Didapatkan angka 52 sebagai nomor pertama, kemudian dicatat nomor bilangan mulai dari tempat yang ditunjuk diteruskan ke bilangan berikut di bagian bawahnya.
4. Diperlukan 7 blok untuk keperluan 42 orang.
5. Kemudian ganti nomor bilangan tersebut sesuai letak nomor tersebut di dalam kombinasi daftar blok seperti di bawah ini.

(52)	(85)	(68)	(21)
BAAABB	BBAABA	BABAAB	ABAABB
(90)	(51)	(97)	
BBABAA	BAAABB	BBBAAA	

6. Nama subyek penelitian dimasukkan ke dalam amplop yang telah diberi nomor, kemudian disusun sekuens tersebut sesuai dengan nomor amplop. Selanjutnya ditentukan kelompok masing-masing dengan membuka amplop.

No. Subyek	No. Subyek	No. Subyek
1. B	15. B	29. A
2. A	16. A	30. A
3. A	17. A	31. B
4. A	18. B	32. A
5. A	19. A	33. A
6. B	20. B	34. A
7. B	21. A	35. B
8. B	22. A	36. B
9. A	23. B	37. B
10. A	24. B	38. B
11. B	25. B	39. B
12. A	26. B	40. A
13. B	27. A	41. A
14. A	28. B	42. A

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

- Nama : Rikawati
- Jenis kelamin : Perempuan
- Tempat/tanggal lahir : Jakarta, 25 Oktober 1982
- Agama : Islam
- Status perkawinan : Menikah
- Riwayat pendidikan : Lulus Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, tahun 2007
- Riwayat pekerjaan :
- Dokter umum Klinik Bukit Jaya Medika Gunung Putri, Jawa Barat, tahun 2007-2008
 - Dokter umum Klinik Anggrek Depok, Jawa Barat, tahun 2007-2009
- Organisasi :
- Anggota Ikatan Dokter Indonesia
 - Anggota muda Perhimpunan Dokter Gizi Medik Indonesia