



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP
KADAR KOLESTEROL DARAH TIKUS WISTAR JANTAN
SETELAH DIPAPAR *SIDESTREAM CIGARETTE SMOKE***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh :

**Chusna Sekar Wardani
NIM 11161010145**

**BAGIAN PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Teriring puji syukur kehadiran Allah SWT dan Sholawat kepada Rasulullah Muhammad SAW kupersembahkan karya tulis ini kepada :

1. Ibunda Karyati, Ayahanda Eko Santoso, Adikku Intan Madya Ratri dan Adikku Dading Surya Al Ma'jid;
2. Guru-guruku sejak Taman kanak-kanan hingga Perguruan Tinggi;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTO

Allah tidak akan merubah nasib suatu kaum kecuali kaum itu merubah diri mereka sendiri.

(terjemahan Q.S. Al Ra'du : 11)*)

Dan Tuhanmu mengilhamkan kepada lebah, “Buatlah sarang di gunung-gunung, di pohon-pohon kayu, dan di tempat-tempat yang dibuat manusia, kemudian makanlah dari segala (macam) buah-buahan lalu tempuhlah jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu).” Dari perut lebah itu keluar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sungguh, pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir.

(terjemahan Q.S. An-Nahl : 68-69)*)

Wahai saudaraku, ilmu tidak akan diraih kecuali dengan enam syarat dan akan aku ceritakan perinciannya: cerdas, perhatian tinggi, sungguh-sungguh, bekal, dengan bimbingan guru dan panjangnya masa.

Bersabarlah terhadap pahitnya sikap dari sang guru karena kekalnya suatu ilmu jika ada kesulitan padanya. Barang siapa yang belum merasakan pahitnya belajar walau hanya sesaat maka ia akan terperosok ke dalam jurang kebodohan sepanjang hidupnya. Dan barang siapa yang tidak belajar sewaktu mudanya maka bertakbirlah untuknya sebanyak empat kali karena kewafatannya. **)

*) Kementrian Agama Republik Indonesia. 2009. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Klaten : Riels Grafika dan Indiva Media Kreasi.

**) Al-Maghrbi. Tanpa Tahun. *Kitab Kaifa Turabbi Waladan Shalihan (Begini Seharusnya Mendidik Anak)*.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Chusna Sekar Wardani

NIM : 111610101045

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Wistar Jantan Setelah Dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 27 Januari 2015
Yang menyatakan

Chusna Sekar Wardani
NIM 111610101045

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP
KADAR KOLESTEROL DARAH TIKUS WISTAR JANTAN
SETELAH DIPAPAR *SIDESTREAM CIGARETTE SMOKE***

Oleh :

Chusna Sekar Wardani
NIM 111610101045

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp. KGA
Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Budi Yuwono, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Wistar Jantan Setelah Dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*”

telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 27 Januari 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

drg. Agustin Wulan Suci D, MDSc
NIP 197908142008122003

Pembimbing Utama,

drg. Roedy Budiraharjo, M.Kes, Sp. KGA
NIP 196407132000121001

Penguji Anggota,

drg. Erna Sulistyani, M.Kes
NIP 19671108199602001

Pembimbing Pendamping,

drg. Budi Yuwono, M.Kes
NIP 196709141999031002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi,
Universitas Jember

drg. Hj. Herniyati, M.Kes
NIP 195909061985032001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Wistar Jantan Setelah Dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*; Chusna Sekar Wardani; 111610101045; 2015 : 45 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Asap rokok merupakan salah satu sumber utama radikal bebas yang berasal dari lingkungan, selain polusi udara, paparan bahan kimia, dan radikal ion. *Global Adult Tobacco Survey (GATS) 2011* menyatakan bahwa prevalensi perokok di Indonesia menempati urutan ke-2 terbesar di dunia. Asap rokok yang dihasilkan oleh perokok ini mengandung sejumlah oksidan dan prooksidan yang dapat memproduksi radikal bebas dan memicu terjadinya peroksidasi lipid dan stres oksidatif. Apabila kerusakan tersebut berlanjut dan tubuh tidak menerima asupan antioksidan dari luar untuk menyeimbangkan peningkatan berlebih dari radikal bebas tersebut maka akan terjadi peningkatan kadar kolesterol total.

Propolis merupakan obat alami yang telah dipergunakan secara luas sejak zaman dahulu. Propolis atau lem lebah adalah suatu zat yang dikumpulkan oleh lebah madu dari sumber tumbuhan dan mengandung resin dan lilin lebah. Propolis diduga dapat menurunkan kadar kolesterol total karena mengandung suatu bahan aktif yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu antioksidan yang kuat sehingga peningkatan kadar kolesterol total akibat stres oksidatif dari paparan SCS dapat dicegah.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *post-test only control group design*. Populasi penelitian ini adalah tikus jantan strain *Rattus norvegicus* galur murni dengan besar sampel sebesar 12 ekor. Sampel pada penelitian ini dikelompokkan menjadi 3 kelompok, yaitu, kelompok kontrol, kelompok P1 (dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*) dan kelompok P2 (dipapar SCS dan diberi ekstrak propolis). Pemaparan asap rokok dilakukan selama 20 menit/hari dengan setiap 5 menit paparan diberi waktu jeda (tanpa paparan) selama 3 menit. Perlakuan tersebut dilakukan selama 8 hari (karena paparan asap rokok dilakukan secara akut). Jenis rokok yang digunakan adalah rokok kretek berfilter. Pada penelitian ini menggunakan ekstrak propolis dalam bentuk jadi yang ada dipasaran. Ekstrak propolis diberikan dua kali sehari secara oral dengan dosis 4,5 μ L ekstrak propolis dicampur dengan 3,6 ml air selama 8 hari. Prosedur pemeriksaan kadar kolesterol total dilakukan dengan metode CHOD-PAP (*Cholesterol Oxidase-p-aminophenazone*) dengan prinsip pengujian secara kolorimetri enzimatis.

Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata kadar kolesterol total darah tikus wistar jantan ($p < 0,05$). Hasil analisis menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata kadar kolesterol total antar kelompok perlakuan, kecuali antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 2. Kesimpulan menunjukkan bahwa terdapat penurunan kadar kolesterol total tikus wistar jantan yang diberi paparan *Sidestream Cigarette Smoke* dan diberi ekstrak propolis. Pengaruh flavonoid dalam menurunkan kadar kolesterol total disebabkan karena perannya sebagai senyawa antioksidan yang dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid dan meredam efek buruk radikal bebas dengan adanya salah satu ikatan fenol dalam propolis yaitu *Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)*.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “*Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Wistar Jantan Setelah Dipapar Sidestream Cigarette Smoke*”. Karya tulis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusun Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan atas bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember atas ijin yang diberikan.
2. drg. Roedy Budiraharjo, M.Kes, Sp. KGA selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Budi Yuwono, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Pendamping atas bimbingan dan kesabarannya selama ini.
3. drg. Agustin Wulan Suci Dharmayanti, MDSc selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Erna Sulistyani, M.Kes selaku Dosen Penguji Anggota atas bimbingan dan sarannya.
4. drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG selaku dosen wali yang telah membimbing selama menjadi mahasiswa FKG Universitas Jember.
5. Ibunda Karyati dan Ayahanda Eko Santoso yang sepenuh hati dengan ikhlas selalu memberikan kasih sayang, semangat, dana dan do'a dalam setiap waktunya.
6. Adik-adikku tercinta, Intan Madya Ratri dan Dading Surya Al'Majid yang kubanggakan dan begitu luar biasa.

7. Keluarga besarku di Nganjuk, Jawa Timur dan Pati, Jawa Tengah atas dukungan dan do'anya sehingga aku menjadi seperti sekarang.
8. Sahabat-sahabatku tercinta seperjuangan di kota perantauan ini : Rifqi, Lia, Nia, Sixtine atas bantuan dan kebersamaannya yang indah.
9. Teman seperjuangan penelitian : Inda, Kiki atas segala kebersamaan dan bantuan serta informasi yang telah kalian berikan dalam perjuangan skripsi ini.
10. Sahabatku, Trisan yang selalu memberi semangat, sabar mendengar keluh kesahku, dan mengingatkanku serta sama-sama berjuang meraih gelar sarjana walaupun kita jauh.
11. Keluarga besar kost anggrek, Berty, Mbak Izza, Dewi, U'ul, Devi dll yang telah menjadi keluarga baruku di sini.
12. FKG angkatan 2011 atas bantuan, kebersamaannya dan dukungannya selama ini.
13. Teman-teman *Islamic Dentistry* serta teman Insisivus atas semangat perjuangan memajukan FKG UJ tercinta.
14. Analis Laboratorium Fisiologi, Mas Agus Murdojohadi, A.Md, Analis Laboratorium Biomedik Farmasi, mba Indri, Analis Laboratorium Biokimia FK Universitas Jember.
15. Seluruh civitas akademika dan karyawan FKG UNEJ yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.
16. Teman-teman KKN Gel. II tahun 2014, desa Pondok Joyo Kec. Semboro atas pengertian dan kebersamaannya selama 45 hari KKN yang menyenangkan.
17. Semua pihak yang telah membantu dalam bentuk apapun selama penelitian Karya Tulis Ilmiah ini yang tidak bisa disebut satu persatu.

Harapan penulis semoga Karya Tulis Ilmiah ini memberikan manfaat, informasi serta pengetahuan baru bagi pembaca khasanah kedokteran gigi, aamiin.

Jember, 27 Januari 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Propolis	4
2.1.1 Definisi.....	4
2.1.2 Karakteristik Propolis	4
2.4.3 Komponen Propolis	5

2.2 Asap Rokok	6
2.2.1 Definisi Asap Rokok.....	6
2.2.2 <i>Sidestream Cigarette Smoke (SCS)</i>	6
2.3 Kolesterol	7
2.3.1 Definisi.....	7
2.3.2 Fungsi Kolesterol.....	8
2.3.3 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kadar Kolesterol.....	8
2.3.4 Efek SCS terhadap Kesehatan.....	9
2.3.5 Efek Propolis terhadap Kadar Kolesterol Total	10
2.4 Hipotesis Penelitian	12
2.5 Kerangka Konseptual Penelitian	13
2.6 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian	14
BAB 3. METODE PENELITIAN	16
3.1 Jenis Penelitian	16
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.3 Identifikasi Variabel Penelitian	16
3.3.1 Variabel Bebas.....	16
3.3.2 Variabel Terikat.....	16
3.3.3 Variabel Terkendali	16
3.4 Definisi Operasional Penelitian	16
3.4.1 <i>Sidestream Cigarette Smoke</i>	16
3.4.2 Kadar Kolesterol Total.....	17
3.4.3 Ekstrak Propolis	17
3.5 Populasi dan Sampel Penelitian	17
3.5.1 Populasi.....	17
3.5.2 Kriteria Hewan Coba	17
3.5.3 Besar Sampel.....	18
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	19

3.6.1 Alat-Alat Penelitian	19
3.6.2 Bahan Penelitian	20
3.7 Prosedur Penelitian	20
3.7.1 <i>Ethical Clearence</i>	20
3.7.2 Tahap Persiapan Hewan Coba.....	20
3.7.3 Penentuan Dosis Propolis.....	20
3.7.4 Tahap Pemberian Ekstrak Propolis.....	21
3.7.5 Tahap Pengambilan Sampel Darah.....	21
3.7.6 Tahap Penghitungan Kadar Kolesterol Total	21
3.8 Analisis Data	22
3.9 Skema Penelitian	23
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Hasil Penelitian	24
4.2 Analisis Data	25
4.3 Pembahasan	26
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	30
5.1 Kesimpulan	30
5.2 Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	34

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi Kimia Propolis.....	5
4.1 Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total darah tikus wistar jantan (mg/dL).....	24
4.2 Hasil uji <i>Tukey HSD</i>	26

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Propolis <i>Trigona sp</i>	4
2.2 Struktur Kimia Kolesterol.....	7
2.3 Skema kerangka konseptual	13
3.1 Skema alur penelitian.....	23
4.1 Diagram batang rata-rata lama waktu perdarahan pada tikus wistar jantan pada kelompok kontrol, perlakuan 1 dan perlakuan 2.....	25

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Penghitungan Besar Sampel	34
B. Kadar Kolesterol Total Darah	35
C. Surat Keterangan Pemeriksaan Kesehatan Tikus.....	36
D. <i>Ethical Clearance</i>	38
E. Hasil Uji Analisis Data	39
F. Foto Penelitian.....	41

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Polusi udara merupakan sumber utama radikal bebas, salah satu polusi udara adalah asap rokok yang berasal dari perokok. *Global Adult Tobacco Survey (GATS)* 2011 menyatakan bahwa prevalensi perokok di Indonesia menempati urutan ke-2 terbesar di dunia. Perokok menghasilkan dua jenis asap rokok yaitu *Mainstream Cigarette Smoke (MCS)* dan *Sidestream Cigarette Smoke (SCS)*. MCS adalah asap rokok yang dihisap ke dalam paru-paru oleh perokok, sedangkan SCS adalah asap yang berasal dari ujung rokok yang menyala. SCS mengandung bahan kimia yang lebih tinggi dibanding MCS karena SCS berasal dari pembakaran yang tidak sempurna. Hasil pembakaran ini menyebabkan radikal bebas terakumulasi dalam tubuh dan tidak dapat dikompensasi oleh antioksidan tubuh, sehingga menyebabkan kerusakan pada sel tubuh (Talumewo *et al*, 2012).

Radikal bebas yang berlebihan pada SCS diduga dapat menyebabkan stres oksidatif yang mengakibatkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid akan menyebabkan gangguan pada profil lipoprotein, yaitu peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein (LDL)* dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein (HDL)*. Peningkatan LDL terjadi karena LDL yang teroksidasi memicu makrofag untuk memfagosit LDL tersebut dan menyebabkan peningkatan akumulasi LDL di dinding pembuluh darah dalam bentuk sel busa. LDL umumnya dikenal sebagai kolesterol jahat karena LDL mengeluarkan hampir semua trigliseridanya dan menyebabkan konsentrasi kolesterol menjadi sangat tinggi. HDL dikenal sebagai kolesterol baik karena memiliki kemampuan untuk mengabsorpsi kristal kolesterol yang mulai terakumulasi dalam darah. Oleh karena itu, peningkatan LDL dan penurunan HDL dapat menyebabkan peningkatan kadar kolesterol total (Meenakshisundaram, 2010; Guyton, 2007).

Kolesterol yang berlebihan dalam tubuh akan tertimbun dan melekat di dinding pembuluh darah sehingga menimbulkan penyempitan atau pengerasan pembuluh darah yang disebut aterosklerosis. Kondisi tersebut merupakan awal penyebab terjadinya penyakit jantung dan stroke (Anwar, 2004).

Peningkatan kadar kolesterol total dalam darah dapat diterapi menggunakan obat golongan statin yang mempunyai efek sebagai inhibitor koenzim A (HMG-CoA) reduktase. Obat statin merupakan obat sintetis yang berperan sentral dalam pencegahan risiko kelainan kardiovaskular. Akan tetapi, penggunaannya dalam jangka panjang dapat menyebabkan metabolisme glukosa terganggu sehingga meningkatkan risiko terjadinya diabetes (Luman, 2014).

Saat ini telah dikembangkan obat dari bahan alam yang diharapkan kurang mempunyai efek samping, salah satunya adalah propolis. Propolis sudah dimanfaatkan sebagai terapi berbagai penyakit, salah satunya adalah penyakit diabetes mellitus. Propolis mempunyai efek antihiperlipidemik karena mengandung zat-zat seperti flavonoid, asam klorengat, asam siamat, asam feruik, dan ester asam kafeik fenetil yang merupakan antioksidan kuat (Taebe, 2012). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa propolis diduga dapat menurunkan kadar kolesterol total yang disebabkan oleh diet tinggi lemak (Rumanti, 2011). Akan tetapi, penelitian mengenai pengaruh propolis terhadap kadar kolesterol yang dipicu oleh paparan SCS belum dilakukan.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti ingin melakukan penelitian mengenai pengaruh propolis terhadap perubahan kadar kolesterol yang disebabkan oleh paparan SCS. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratoris dan menggunakan hewan coba yaitu tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan. Bahan yang digunakan sebagai sumber radikal bebasnya adalah SCS.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu apakah pemberian ekstrak propolis dapat menurunkan kadar kolesterol tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan setelah dipapar *Sidestream Cigarette Smoke* (SCS)?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak propolis dalam menurunkan kadar kolesterol tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan setelah dipapar SCS.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Dapat memberi informasi kepada masyarakat mengenai pengaruh paparan SCS terhadap kadar kolesterol total darah.
2. Dapat memberi informasi kepada masyarakat mengenai khasiat propolis terhadap perubahan kadar kolesterol total yang disebabkan oleh paparan SCS.
3. Sebagai pertimbangan dalam penggunaan obat dari bahan alam.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Propolis

2.1.1 Definisi

Propolis atau lem lebah adalah suatu zat yang dikumpulkan oleh lebah madu dari sumber tumbuhan dan mengandung resin dan lilin lebah. Propolis berasal dari berbagai komponen bunga, pucuk dan kulit kayu yang dicampur dengan air liur lebah dan diolah dengan lilin khusus yang dihasilkan oleh lebah. Bahan propolis digunakan lebah untuk pertahanan sarang, mengkilatkan bagian dalam sarang dan menjaga suhu lingkungan (Radiati *et al*, 2008).



Gambar 2.1 Propolis *Trigona sp* (Sumber : Hardianty, 2011)

2.1.2 Karakteristik Propolis

Propolis merupakan substansi resin alami yang mempunyai aroma wangi, sangat lengket pada suhu sarang saat baru dibentuk, mengeras pada suhu 15⁰ C, dan menjadi mudah pecah di bawah suhu 5⁰ C. Pada suhu 25⁰ -45⁰ C, propolis bersifat lembut, elastis dan sangat lengket. Pada suhu di atas suhu 45⁰ C, propolis semakin lengket seperti karet. Sementara pada suhu 60⁰ dan 70⁰-100⁰C propolis akan mencair (Krell, 1996).

2.1.3 Komponen Propolis

Krell (1996) menyatakan bahwa komponen terbesar propolis adalah resin biasanya tersusun dari 50% atau lebih senyawa seperti *flavonoid*, *fenol* dan *esternya*. Selain itu propolis juga mengandung senyawa kompleks vitamin, mineral, enzim, senyawa fenolik dan flavonoid untuk menghambat pelepasan histamin dengan cara stabilisasi selaput sel lipid. Rata-rata kandungan flavonoid dalam propolis adalah sekitar 5-26%, jauh lebih besar dibandingkan dengan kandungan flavonoid pada sumber alami lainnya (Kosalec *et al*, 2004).

Tabel. 2.1 Komposisi Kimia Propolis

Komponen	Jumlah (%)	Grup Komponen
Resin	45-55	Flavonoid, asam fenolat dan esternya
Lilin dan asam lemak	25-53	Sebagian besar dari lilin lebah dan beberapa dari tanaman
Minyak essensial	10	Senyawa volatil
Protein	5	Protein kemungkinan berasal dari pollen dan amino bebas
Senyawa organik lain dan mineral	5	14 macam mineral yang paling terkenal adalah Fe dan Zn, sisanya seperti Au, Ag, Cs, Hg, La dan Sb. Senyawa organik lain seperti keton, laktan, kuinon, asam benzoat dan esternya, gula, vitamin (B3) serta gula.

Sumber: Krell, 1996.

“Kandungan bahan kimia serta komposisinya yang kompleks dan beragam membuat propolis mempunyai khasiat yang bermacam-macam, salah satu diantaranya adalah sebagai antioksidan. Kemampuan propolis sebagai antioksidan dapat menangkap radikal hidroksi dan superoksida kemudian menetralkan radikal bebas, sehingga melindungi sel dan mempertahankan keutuhan struktur sel dan jaringan serta melindungi membran lipid terhadap reaksi yang merusak” (Bendich dan Robinson dalam Radiati *et al*, 2008).

2.2 Asap Rokok

2.2.1 Definisi Asap Rokok

Asap rokok adalah aerosol heterogen yang dihasilkan dari pembakaran daun tembakau yang terdiri dari komponen gas, volatil, dan partikel. Polusi udara merupakan sumber utama radikal bebas, salah satu polusi udara adalah asap rokok yang berasal dari perokok. Asap rokok dapat menghasilkan radikal bebas dalam jumlah yang sangat tinggi. Dalam satu kali hisap diperkirakan sebanyak 10^{14} molekul radikal bebas masuk ke dalam tubuh (Anggraini, 2006).

Ada dua jenis asap rokok yang dihasilkan oleh perokok yaitu asap rokok utama (*Mainstream Cigarette Smoke, MCS*) dan asap rokok samping (*Sidestream Cigarette Smoke, SCS*). MCS adalah asap rokok yang dihisap ke dalam paru oleh perokoknya, sedangkan SCS adalah asap yang berasal dari ujung rokok yang terbakar (Talumewo *et al*, 2012).

2.2.2 *Sidestream Cigarette Smoke (SCS)*

SCS adalah asap yang berasal dari ujung rokok yang terbakar. SCS memiliki konsentrasi yang lebih tinggi karena tidak melalui proses penyaringan yang cukup sehingga pengisap SCS memiliki resiko yang lebih tinggi untuk menyebabkan gangguan kesehatan akibat rokok. Kandungan bahan kimia pada SCS lebih tinggi dibanding MCS juga disebabkan oleh rokok yang terbakar pada temperatur lebih rendah ketika rokok sedang tidak dihisap, sehingga membuat pembakaran menjadi kurang sempurna dan mengeluarkan lebih banyak bahan kimia (Talumewo *et al*, 2012).

SCS ini terbukti mengandung lebih banyak hasil pembakaran tembakau dibandingkan pada asap utama. SCS mengandung Karbon Monoksida 5 kali lebih besar, Tar dan Nikotin 3 kali lipat, Amonia 46 kali lipat, Nikel 3 kali lipat, dan *Nitrosamina* (zat penimbul kanker) yang kadarnya mencapai 50 kali lebih besar pada asap sampingan dibanding dengan kadar pada asap utama. Demikian juga zat-zat

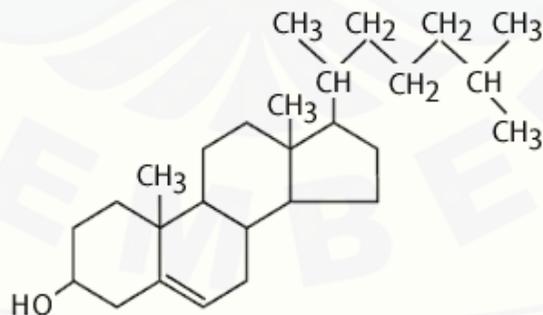
racun lainnya dengan kadar yang lebih tinggi terdapat pada SCS (Talumewo *et al*, 2012).

2.3 Kolesterol

2.3.1 Definisi

Kolesterol merupakan suatu substansi seperti lilin yang berwarna putih, secara alami ditemukan di dalam tubuh kita. Di dalam plasma, kolesterol tidak dapat bersirkulasi dalam keadaan bebas karena kolesterol tidak dapat larut, tetapi digabung dengan pembawa (*carrier*) apoprotein untuk membentuk satu seri lipoprotein yang dapat larut (Baron, 1995). Terdapat empat tipe utama lipoprotein pada kolesterol yang diklasifikasikan berdasarkan densitasnya yakni *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL), *Low Density Lipoprotein* (LDL), dan *High Density Lipoprotein* (HDL) (Guyton dan Hall, 2007).

Low density lipoprotein (LDL) berasal dari lipoprotein berdensitas sedang dengan mengeluarkan hampir semua trigliseridanya, dan menyebabkan konsentrasi kolesterol menjadi sangat tinggi dan konsentrasi fosfolipid menjadi cukup tinggi. *High Density Lipoprotein* (HDL) mengandung protein berkonsentrasi tinggi (sekitar 50%), dengan konsentrasi kolesterol dan fosfolipid yang jauh lebih kecil. Struktur dasar kolesterol adalah inti sterol. Inti sterol seluruhnya dibentuk dari molekul asetil-KoA (Guyton dan Hall, 2007).



Gambar 2.2 (C₂₇H₄₆O)

(Sumber : Murray *et al*, 2006)

2.3.2 Fungsi Kolesterol

Pada dasarnya kolesterol beredar dalam bentuk lipoprotein plasma yang dibentuk oleh hati, tetapi semua sel tubuh selain hati juga membentuk kolesterol meskipun dalam jumlah yang sedikit. Manfaat kolesterol non membran yang paling banyak dalam tubuh adalah untuk membentuk asam kolat di dalam hati. Sekitar 80% kolesterol digunakan untuk membentuk asam kolat ini. Selain itu kolesterol berkonjugasi dengan zat lain untuk membentuk garam empedu, yang membantu pencernaan dan absorpsi lemak. Sisanya sekitar 20% kolesterol digunakan untuk berbagai keperluan antara lain membentuk hormon adrenokortikal, membentuk progesteron, estrogen, dan membentuk testosteron. Sebagian besar kolesterol diendapkan dalam lapisan korneum. Sekitar 1 gram kolesterol dieliminasi dari tubuh setiap hari. Separuh dari kolesterol ini diekskresikan ke dalam feses setelah dikonversi menjadi asam empedu, dan sisanya diekskresikan sebagai kolesterol (Guyton dan Hall, 2007).

2.3.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar kolesterol

Faktor penyebab meningkatnya kolesterol di dalam darah, yaitu :

a. Faktor genetik

Tubuh terlalu banyak memproduksi kolesterol. Seperti kita ketahui 80 % dari kolesterol di dalam darah diproduksi oleh tubuh sendiri. Ada sebagian orang yang memproduksi kolesterol lebih banyak dibandingkan yang lain. Ini disebabkan karena faktor keturunan. Pada orang ini meskipun hanya sedikit saja mengkonsumsi makanan yang mengandung kolesterol atau lemak jenuh, tetapi tubuh tetap saja memproduksi kolesterol lebih banyak.

b. Faktor makanan

Diet lemak yang sangat jenuh meningkatkan konsentrasi kolesterol darah 15 sampai 25 persen. Keadaan ini akibat peningkatan penimbunan lemak dalam hati,

yang kemudian menyebabkan peningkatan jumlah asetil-KoA di dalam sel hati untuk menghasilkan kolesterol.

c. Stres

Stres mengaktifkan sistem saraf simpatis yang menyebabkan pelepasan epinefrin dan norepinefrin yang akan meningkatkan konsentrasi asam lemak bebas dalam darah serta meningkatkan tekanan darah (Guyton dan Hall, 2007).

d. Faktor lingkungan dan gaya hidup

Faktor-faktor lingkungan dan gaya hidup yang dapat mempengaruhi kadar kolesterol adalah merokok, tekanan darah tinggi, obesitas, kurang olahraga, dan kebiasaan minum air yang kurang mengandung mineral, stress emosional dan minum kopi (Murray *et al*, 2006).

2.3.4 Efek SCS terhadap Kadar Kolesterol Total

Paparan singkat dari SCS dapat menyebabkan peningkatan akumulasi lipid pada dinding arteri. SCS mengandung sejumlah oksidan dan prooksidan yang dapat memproduksi radikal bebas. Radikal bebas yang terdapat pada SCS akan menghasilkan suatu *Reactive Oxygen Species (ROS)*. ROS tersebut menyebabkan suatu stress oksidatif dan kerusakan pada biomolekul lipid yang disebut dengan peroksidasi lipid (Danusantoso, 2003).

Peroksidasi lipid akan menyebabkan terjadinya oksidasi pada *Low Density Lipoprotein (LDL)* dan gangguan pada profil lipoprotein, yaitu peningkatan kadar LDL dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein (HDL)*. Peningkatan LDL terjadi karena LDL yang teroksidasi memicu makrofag untuk memfagosit LDL tersebut dan menyebabkan peningkatan akumulasi LDL di dinding pembuluh darah dalam bentuk sel busa. LDL umumnya dikenal sebagai kolesterol jahat karena LDL mengeluarkan hampir semua trigliseridanya, dan menyebabkan konsentrasi kolesterol menjadi sangat tinggi. HDL dikenal sebagai kolesterol baik karena

memiliki kemampuan untuk mengabsorpsi kristal kolesterol yang mulai terakumulasi dalam darah. Oleh karena itu, penurunan kadar HDL akan menghambat proses pembersihan kolesterol yang terakumulasi dalam darah sehingga menyebabkan peningkatan kadar kolesterol total (Meenakshisundaram, 2010; Guyton, 2007).

Peningkatan kadar kolesterol dalam tubuh dapat meningkatkan risiko berbagai penyakit. Kolesterol yang berlebihan dalam tubuh akan tertimbun di dalam dinding pembuluh darah dan menimbulkan kondisi yang disebut aterosklerosis yaitu penyempitan atau pengerasan pembuluh darah. Kondisi ini merupakan awal terjadinya penyakit jantung dan stroke (Anwar, 2004).

2.3.5 Efek Propolis terhadap Kadar Kolesterol Total

Pengaruh propolis dalam menurunkan kadar kolesterol total disebabkan karena perannya sebagai senyawa antioksidan yang dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid dan meredam efek buruk radikal bebas (Viuda *et al*, 2008). Komponen propolis yang dapat berperan sebagai antioksidan yaitu flavonoid, vitamin A (beta caroten), vitamin B kompleks, serta mineral. Krell (1996) menyatakan bahwa komponen terbesar propolis adalah resin biasanya tersusun dari 50% atau lebih senyawa seperti flavonoid, fenol dan esternya. Rata-rata kandungan flavonoid dalam propolis adalah sekitar 5-26%, jauh lebih besar dibandingkan dengan kandungan flavonoid pada sumber alami lainnya (Kosalec *et al*, 2004).

Pengaruh flavonoid dalam menurunkan kadar kolesterol total berkaitan dengan kemampuannya dalam meredam efek buruk radikal bebas. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Mekanisme flavonoid dalam menurunkan kolesterol adalah dengan adanya salah satu ikatan fenol yaitu *Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)* (Viuda *et al*, 2008). CAPE merupakan sisi aktif flavonoid yang bekerja untuk memaksimalkan aktivitas *scavenger* (peredam) terhadap radikal bebas, dengan cara menurunkan aktivitas radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$) sehingga tidak terlalu reaktif lagi, melalui tiga tahap:

- a. Mencegah proses inisiasi, melalui proses scavenger terhadap $\bullet\text{OH}$ melalui reaksi yang melibatkan transfer elektron dan mungkin pula eliminasi logam berat.
- b. Memutuskan reaksi berantai peroksidatif dengan menstabilkan radikal peroksil, membentuknya menjadi *peroxide* dengan mendonorkan atom hidrogen (H).
- c. Regenerasi α -tocopherol dengan mengurangi radikal α -tocopheroxyl (Viuda *et al*, 2008).

Penurunan jumlah radikal bebas akibat senyawa antioksidan dalam propolis dapat mencegah terjadinya stres oksidatif sehingga peningkatan kadar kolesterol dapat dihambat. Penelitian di Jepang menunjukkan bahwa kandungan *Caffeic Acid* yang ada di dalam propolis mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi, yang dapat meningkatkan ekspresi *glucose-6-phosphate dehydrogenase* (G6PD) yang didapat dari ekspresi gen antioksidan, lebih kuat dibandingkan vitamin E. *Caffeic acid* mempunyai aktivitas antioksidan 4-6 kali lebih kuat terhadap radikal bebas dibandingkan vitamin C dan *N-acetyl-cystein* (NAC) (Nakajima *et al.*, 2009).

Penurunan kadar kolesterol total yang terjadi juga disebabkan karena kandungan beta karoten dan vitamin B kompleks dalam propolis yang berfungsi sebagai antioksidan. Beta karoten bersifat sangat larut dalam lemak. Perannya dalam menurunkan kadar kolesterol total berhubungan dengan fungsinya sebagai antioksidan. Beta karoten berfungsi sebagai penangkap oksigen tunggal (*Singlet Oxygen Quencher*) pada keadaan tekanan oksigen rendah untuk mengurangi kerusakan pada inti sel. Beta karoten juga dapat menghambat peroksidasi lipid yang disebabkan oleh perannya sebagai sumber enzimatis radikal oksidasi seperti pada sistem xantin oksidase (Chao *et al*, 2012).

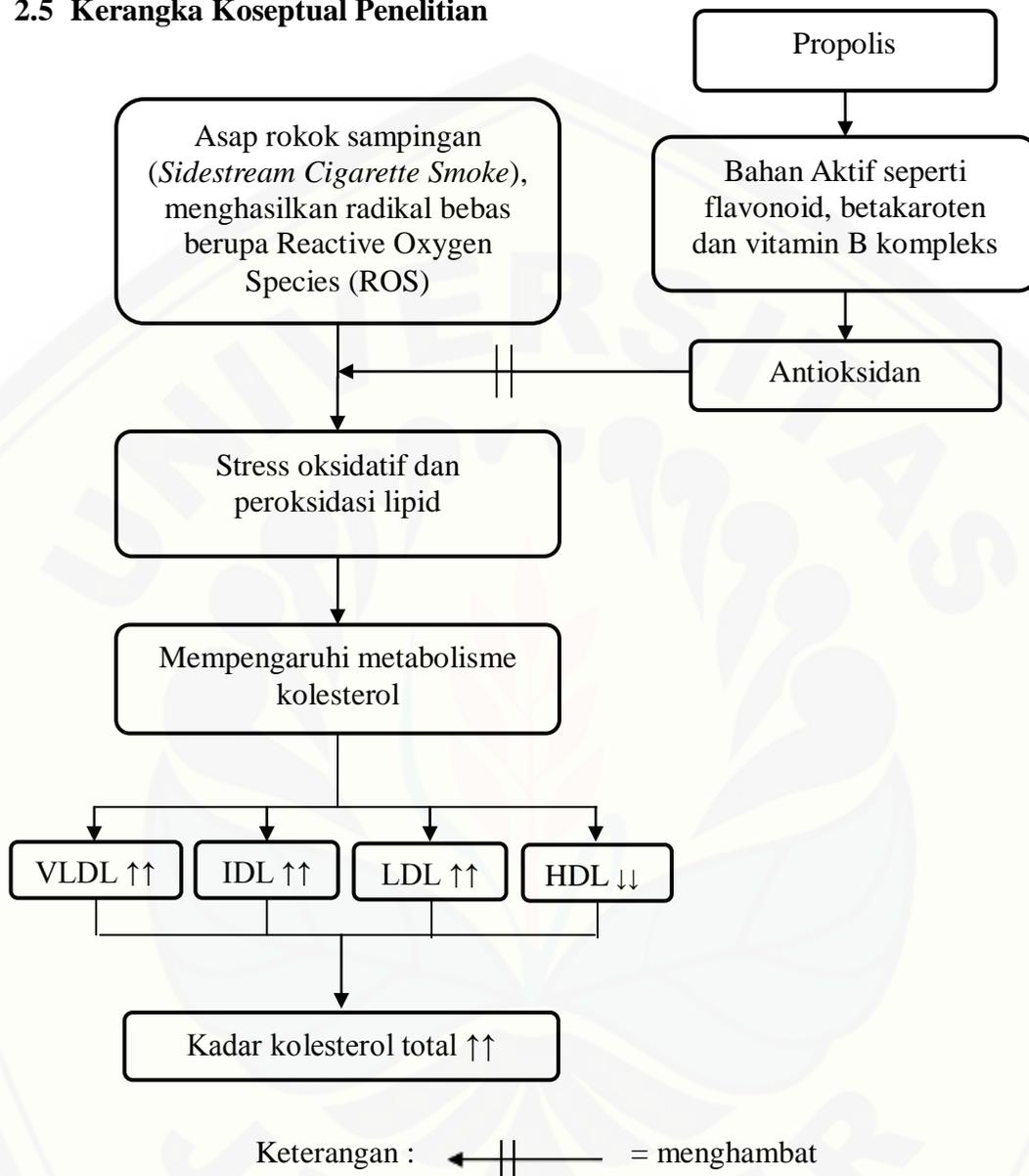
Peran vitamin B kompleks sebagai antioksidan dalam menurunkan kadar kolesterol total disebabkan oleh beberapa komponennya yaitu niacin (Vitamin B3) dan pantothenic acid (Vitamin B5). Niacin telah lama digunakan sebagai terapi alternatif untuk menurunkan kadar trigliserid (TG). Peran niacin dalam menurunkan kadar kolesterol total adalah dengan menurunkan kadar LDL dalam darah dan

meningkatkan kadar HDL. Niacin dapat menurunkan kadar LDL diduga disebabkan oleh kemampuannya dalam menghambat aktivitas diasilgliserol acyltransferase-2 yang diperlukan untuk sintesis TG. Selain itu, niacin juga dapat menghambat pembentukan VLDL dan mengakibatkan degradasi apoB-100 dan apoB-48 sehingga menurunkan kadar LDL (Jafri *et al*, 2009). Efek hipolipidemik pada pantothenic acid diduga disebabkan oleh kemampuannya dalam mengaktivasi proses lipolitik dalam hati dan jaringan adiposa serta penurunan esterifikasi pada asam lemak (Naruta *et al*, 2001).

2.4 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan uraian di atas dapat ditarik hipotesis, pemberian ekstrak propolis dapat menurunkan kadar kolesterol tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan setelah dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*.

2.5 Kerangka Koseptual Penelitian



Gambar 2.3 Skema kerangka koseptual

2.6 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian

Asap rokok merupakan salah satu sumber utama radikal bebas yang berasal dari lingkungan, selain polusi udara, paparan bahan kimia, dan radikal ion. Diketahui bahwa asap rokok mengandung radikal bebas dalam jumlah yang sangat tinggi. Dalam satu kali hisap diperkirakan sebanyak 10^{14} molekul radikal bebas masuk ke dalam tubuh. Terdapat dua jenis asap rokok yaitu, asap rokok yang dihisap ke dalam paru oleh perokoknya disebut asap rokok utama (*Mainstream Cigarette Smoke*) dan asap yang berasal dari ujung rokok yang terbakar disebut asap rokok samping (*Sidestream Cigarette Smoke*).

Radikal bebas yang terdapat pada *Sidestream Cigarette Smoke* (SCS) akan menghasilkan suatu *Reactive Oxygen Species* (ROS). Pembentukan ROS sebenarnya merupakan proses tubuh tetapi apabila terjadi peningkatan yang berlebihan maka akan dapat berpengaruh negatif terhadap tubuh yaitu menurunnya sistem penetralan dan pembuangan radikal bebas. Dan apabila proses tersebut terus berlanjut sedangkan tubuh tidak menerima tambahan antioksidan dari luar, maka ROS yang terbentuk tersebut juga dapat menyebabkan kerusakan pada biomolekul lipid yang disebut dengan peroksidasi lipid.

Peroksidasi lipid akan menyebabkan terjadinya oksidasi pada *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan gangguan pada profil lipoprotein, yaitu peningkatan kadar LDL dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL). Peningkatan LDL terjadi karena LDL yang teroksidasi memicu makrofag untuk memfagosit LDL tersebut dan menyebabkan peningkatan akumulasi LDL di dinding pembuluh darah dalam bentuk sel busa. LDL umumnya dikenal sebagai kolesterol jahat karena LDL mengeluarkan hampir semua trigliseridanya, dan menyebabkan konsentrasi kolesterol menjadi sangat tinggi. HDL dikenal sebagai kolesterol baik karena memiliki kemampuan untuk mengabsorpsi kristal kolesterol yang mulai terakumulasi dalam darah. Oleh karena itu, penurunan kadar HDL akan menghambat proses

pembersihan kolesterol yang terakumulasi dalam darah sehingga menyebabkan peningkatan kadar kolesterol total.

Apabila tubuh menerima asupan antioksidan dari luar untuk menyeimbangkan peningkatan yang berlebihan ROS tersebut, maka peningkatan kadar kolesterol total dalam darah dapat dicegah atau diatasi. Dalam penelitian ini, antioksidan yang digunakan adalah pemberian propolis.

Kemampuan propolis sebagai antioksidan dapat menangkap radikal hidroksi dan superoksida kemudian menetralkan radikal bebas, sehingga melindungi sel dan mempertahankan keutuhan struktur sel dan jaringan serta melindungi membran lipid terhadap reaksi yang merusak. Komponen terbesar propolis adalah resin biasanya tersusun dari 50% atau lebih senyawa seperti flavonoid, fenol dan esternya. Pengaruh flavonoid dalam menurunkan kadar kolesterol total disebabkan karena perannya sebagai senyawa antioksidan yang dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid dan meredam efek buruk radikal bebas dengan adanya salah satu ikatan fenol dalam propolis yaitu *Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)*.

Penurunan kadar kolesterol total yang terjadi juga disebabkan karena kandungan vitamin A (beta caroten), vitamin B kompleks, serta mineral dalam propolis yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan eksogen dikenal juga sebagai antioksidan sekunder karena menangkap radikal dan mencegah reaksi berantai. Penurunan jumlah radikal bebas akibat senyawa antioksidan dalam propolis dapat mencegah terjadinya stres oksidatif sehingga peningkatan kadar kolesterol dapat dihambat.

BAB. 3 METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *post-test only control group design*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, dan Lab. Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2014 – Januari 2015.

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Dosis pemberian propolis.

3.3.2 Variabel Terikat

Kadar kolesterol total dalam darah tikus wistar jantan.

3.3.3 Variabel Terkendali

- a. Minuman dan makanan hewan coba;
- b. Cara pemeliharaan hewan coba;
- c. Durasi paparan sidestream smoke;
- d. Teknik pemeriksaan kadar kolesterol total.

3.4 Definisi Operasional Penelitian

3.4.1 *Sidestream Cigarette Smoke (SCS)*

SCS adalah asap yang keluar dari ujung rokok kretek berfilter (Gudang Garam Kretek Filter, Kediri, Indonesia) yang dibakar. Pada penelitian ini, SCS

dihasilkan dengan cara meletakkan rokok menyala dalam tabung yang berada di bawah *acrylic chamber* tertutup berukuran 30x30x30 cm³. Rokok diletakkan pada ujung *chipblower* yang digunakan sebagai alat bantu penghasil SCS (per satu menit dilakukan pemompaan). Pemaparan dilakukan selama 20 menit/hari dengan setiap 5 menit paparan diberi waktu jeda (tanpa paparan) selama 3 menit.

3.4.2 Kadar Kolesterol Total

Kadar kolesterol total merupakan keseluruhan jumlah kolesterol total yang terdapat dalam darah hewan coba setelah subjek dipuasakan selama \pm 10 jam dan diukur dengan menggunakan metode CHOD-PAP (*Cholesterol Oxidase-p-aminophenazone*). Hasil akhir yang diperoleh dalam satuan mg/dL.

3.4.3 Ekstrak Propolis

Pada penelitian ini menggunakan ekstrak propolis dalam bentuk cair dengan konsentrasi sebesar 90%, diproduksi oleh *Herbal Science* Malaysia yang didistribusikan oleh PT. Melia Sehat Sejahtera dengan merk dagang Melia Propolis. Propolis diberikan dengan dosis 4,5 μ L propolis dicampur dengan 3,6 ml air.

3.5 Populasi dan Sampel Penelitian

3.5.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) dengan jenis kelamin jantan.

3.5.2 Kriteria Hewan Coba

Hewan coba diambil secara acak dari populasi tikus wistar dengan kriteria :

- a. Jenis kelamin jantan,
- b. Berat 200 – 250 gr,
- c. Berusia 3 bulan,
- d. Tikus dalam keadaan sehat.

3.5.3 Besar Sampel

Menurut Daniel (1995), rumus yang digunakan untuk menentukan besar sampel jika populasi tidak terbatas sebagai berikut :

$$n = \frac{z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$

keterangan :

n = besar sampel tiap kelompok

σ = standart deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat ditolelir, diasumsikan $\sigma = d$

z = nilai pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $z = 1,96$

Berdasarkan rumus tersebut didapat besar sampel 4 ekor hewan coba pada tiap kelompok (Lampiran A).

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini dikelompokkan menjadi 3 kelompok, yaitu :

a. Kelompok Kontrol

Tikus hanya berada di dalam kandang pemeliharaan dan tidak diberi paparan SCS dan diberi akuades steril dua kali sehari secara oral sebesar 3,6 ml selama 8 hari.

b. Kelompok Perlakuan 1

Dipapar SCS rokok selama 20 menit/hari, dan diberi akuades steril diberi akuades steril dua kali sehari secara oral sebesar 3,6 ml selama 8 hari.

c. Kelompok Perlakuan 2

Dipapar SCS rokok selama 20 menit/hari dan diberi ekstrak propolis dua kali sehari, secara oral dengan dosis 4,5 μ L ekstrak propolis dalam 3,6 ml air selama 8 hari.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat-Alat Penelitian

- a. Masker (*Diapro*),
- b. Sarung tangan (*Latex*),
- c. Kandang pemeliharaan,
- d. Timbangan untuk menimbang tikus (Neraca Ohaus, *Germany*),
- e. Gunting,
- f. Isolasi bening,
- g. Autoklaf,
- h. *Chipblower*,
- i. *Acrylic chamber* ukuran 30x30 cm²,
- j. Stopwatch (*Diamond*, Cina),
- k. Alat sondasi,
- l. Tabung vial 12 ml,
- m. Mikropipet 100µl dan 1000 µl (*eppendorf*),
- n. *Disposable syringe* (*Terumo*, Japan),
- o. Papan tabung reaksi,
- p. Botol anestesi,
- q. Papan fiksasi,
- r. *Centrifuge* (*Mega 17R*),
- s. Microtube (*eppendorf*),
- t. Tabung mikrohematokrit,
- u. Tabung reaksi dan rak tabung reaksi,
- v. *Vortex*,
- w. Spektrofotometer (*Genesys 20*, *Germany*).

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan,

- b. Minuman dan makanan tikus wistar yang beredar di pasaran,
- c. Rokok gudang Gudang Garam Kretek Filter, Kediri, Indonesia,
- d. Ekstrak propolis cair dengan merk Melia Propolis,
- e. *Chloroform*,
- f. Akuades Steril,
- g. Alkohol 70 %.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 *Ethical Clearence*

Penelitian ini dilakukan berdasarkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.

3.7.2 Tahap Persiapan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan terhadap lingkungan kandang di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember selama satu minggu, diberi makan standar dan air minum setiap hari secara *ad libitum* (sesukanya) dan ditimbang kemudian dikelompokkan secara acak. Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang sesuai dengan kriteria hewan coba dan telah dipilih secara acak ditempatkan pada sebuah kandang dengan ketentuan satu kandang diisi satu ekor tikus.

3.7.3 Penentuan Dosis Propolis

Dosis yang akan digunakan adalah dosis berdasarkan saran penyajian pada kemasan propolis yaitu 5 tetes.

Dosis untuk manusia yaitu 5 tetes dicampur dengan 200 cc air (1 tetes = 0,05 ml).

Dosis untuk hewan coba yaitu dosis untuk manusia x 0,018

$$\begin{aligned}\text{Propolis} &= 0,025\text{ml} \times 0,018 \\ &= 0,0045 \text{ ml} = 4,5 \mu\text{L}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Air} &= 200 \text{ cc} \times 0,018 \\ &= 3,6 \text{ cc}\end{aligned}$$

Jadi dosis pemberian pada hewan coba adalah propolis 4,5 μ L dicampur dengan 3,6 cc air. Diberikan dua kali sehari secara oral.

3.7 4 Tahap Pemberian Ekstrak Propolis

Ekstrak propolis diberikan peroral dengan sonde. Ekstrak diberikan dua kali sehari peroral secara bertahap, 2 ml pertama kemudian ditunggu \pm 1 menit lalu diberikan 1,6 ml untuk menghindari sensasi muntah oleh hewan coba. Pemberian propolis dilakukan selama 8 hari.

3.7 5 Tahap Pengambilan Sampel Darah

Hewan coba dianestesi secara inhalasi dengan *chloroform* (*chloroform* diteteskan pada kapas) sampai terlihat hewan coba teranestesi.. Setelah itu hewan difiksasi dan dilakukan pembedahan sampai organ jantung terlihat, kemudian darah diambil secara intrakardial menggunakan *disposable syringe* sebanyak \pm 3 ml. Darah yang telah diambil ditampung di dalam mikrotube (*eppendorf*) yang bersih dan kering.

3.7 6 Tahap Penghitungan Kadar Kolesterol Total

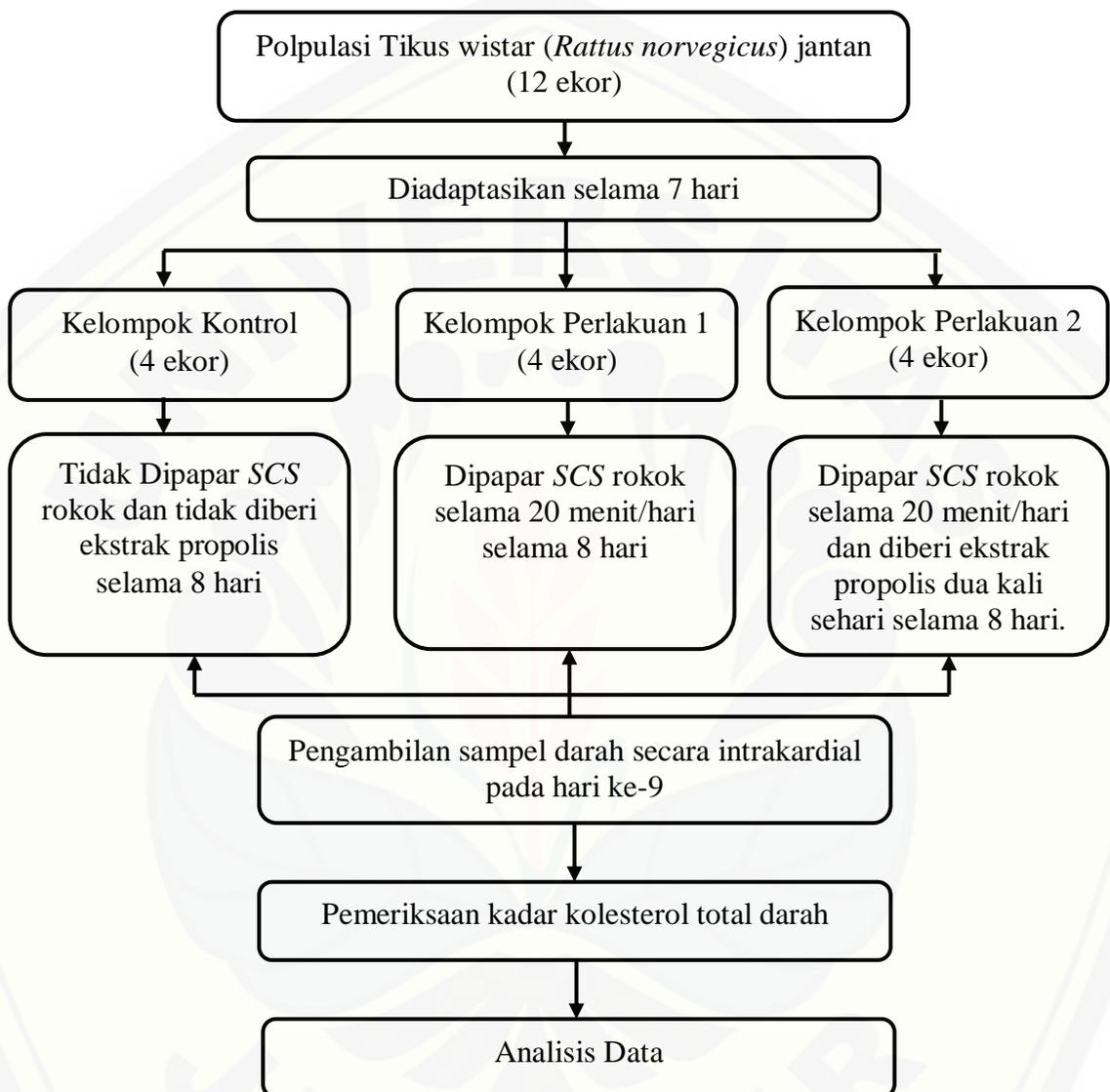
Sampel darah dilakukan pengukuran kadar kolesterol total dengan metode CHOD-PAP (*Cholesterol Oxidase-p-aminophenazone*) prinsip pengujian secara kolorimetri enzimatis. Sampel darah kemudian dimasukkan ke dalam *centrifuge* (5000 rpm) selama 15-20 menit dalam suhu 37⁰. Setelah terbentuk lapisan darah merah dan serum, serum diambil dengan menggunakan mikropipet dan ditempatkan di dalam tabung reaksi yang telah diberi tanda. Serum kemudian dicampur dengan reagent kolesterol dengan bantuan alat *vortex* supaya homogen dan didiamkan selama \pm 10 menit pada suhu 37⁰C. Reagent yang digunakan adalah reagent *Cholesterol FS* (*DiaSys, Holzheim germany*). Sampel kemudian dimasukkan ke dalam mesin

spektrofotometer (penghitung kolesterol total) dan diproses selama ± 30 detik, kemudian hasil dapat terbaca pada layar mesin.

3.8 Analisis Data

Data diuji normalitas dengan uji *Kolmogorov smirnov* dan homogenitas dengan uji *Levene*. Bila hasil distribusi data normal dilanjutkan dengan menggunakan uji statistik parametrik *One-Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan kadar kolesterol total pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Bila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan menggunakan uji *Tukey HSD*. Uji data dilakukan dengan tingkat kemaknaan $p < 0,05$ ($\alpha = 95\%$).

3.9 Skema Penelitian



Gambar 3.1 Skema alur penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Wistar Jantan Setelah Dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*” telah dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan Oktober 2014 - Januari 2015. Data rata-rata pengukuran kadar kolesterol total hasil penelitian disajikan pada tabel 4.1.

Tabel. 4.1 Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total darah tikus wistar jantan (mg/dL)

Kelompok	Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2
X ±SD	60,67± 6,99	74,10±5,01	52,42±4,60

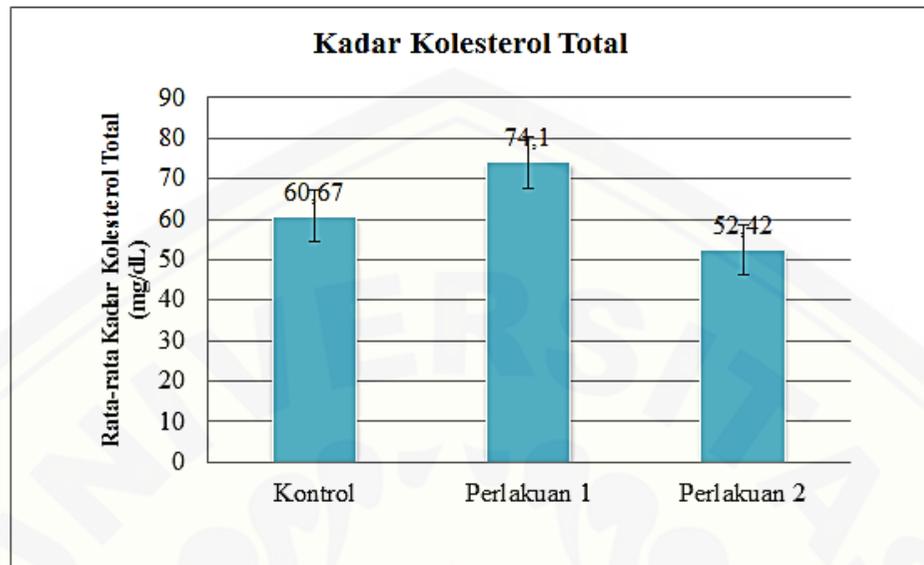
Keterangan : X = Rata-rata kadar kolesterol total

SD = Standart Deviasi

Kontrol = Pemberian akuades steril 3,6 ml

Perlakuan 1 = Pemberian akuades steril 3,6 ml dan pemaparan SCS

Perlakuan 2 = Pemberian propolis 90% dan pemaparan SCS



Gambar 4.1 Diagram batang rata-rata lama waktu perdarahan pada tikus wistar jantan pada kelompok kontrol, perlakuan 1 dan perlakuan 2

4.2 Analisis Data

Data rata-rata hasil pengukuran kadar kolesterol total darah tikus wistar jantan diuji normalitas dan homogenitas dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji *Levene*. Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen (Lampiran E.1 dan E.2).

Hasil penelitian kemudian dilanjutkan dengan uji statistik parametrik. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata kadar kolesterol total darah tikus wistar jantan ($p < 0,05$) (Lampiran E.3). Hasil analisis menggunakan uji *Tukey HSD* menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata kadar kolesterol total antar kelompok perlakuan, kecuali antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 2.

Tabel 4.2 Hasil uji *Tukey HSD*

Perbandingan	Perbedaan	Signifikansi
Kontrol – Perlakuan 1	-13,43	0,020*
Kontrol – Perlakuan 2	8,25	0,151
Perlakuan 1 – Kontrol	13,43	0,020*
Perlakuan 1 – Perlakuan 2	21,67	0,001*
Perlakuan 2 – Kontrol	-8,25	0,151
Perlakuan 2 – Perlakuan 1	-21,67	0,001*

Keterangan : Kontrol = Pemberian akuades steril 3,6 ml

Perlakuan 1 = Pemberian akuades steril 3,6 ml dan pemaparan SCS

Perlakuan 2 = Pemberian propolis 90% dan pemaparan SCS

* = Ada perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

4.3 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kadar kolesterol total terendah terdapat pada kelompok perlakuan 2, yaitu kelompok yang diberi ekstrak propolis. Hal ini disebabkan karena propolis diduga mengandung beberapa bahan aktif yang berperan sebagai antioksidan sehingga dapat mencegah terjadinya stres oksidatif dan menghambat peningkatan kadar kolesterol total. Berdasarkan analisis data antara kelompok perlakuan 2 dan kelompok kontrol diperoleh hasil, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa propolis diduga mampu mempertahankan kadar kolesterol total mendekati kadar kolesterol total normal seperti pada kelompok kontrol. Hal ini disebabkan dosis ekstrak propolis yang digunakan pada penelitian diduga sudah mendekati dosis yang diperlukan agar kadar kolesterol total mendekati normal (kelompok kontrol).

Hasil analisis data menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2. Hal ini membuktikan bahwa propolis efektif dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol total.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar kolesterol total tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan 1. Peningkatan kadar kolesterol disebabkan karena pada kelompok perlakuan 1 (P1) sampel penelitian yaitu tikus wistar jantan diberi paparan *Sidestream Cigarette Smoke (SCS)*. Paparan SCS dapat meningkatkan stres oksidatif dan kerusakan pada biomolekul lipid yang disebut dengan peroksidasi lipid (Valenti *et al*, 2012). Peroksidasi lipid akan menyebabkan terjadinya oksidasi pada *Low Density Lipoprotein (LDL)* dan gangguan pada profil lipoprotein, yaitu peningkatan kadar LDL dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein (HDL)*. Peningkatan LDL terjadi karena LDL yang teroksidasi memicu makrofag untuk memfagosit LDL tersebut dan menyebabkan peningkatan akumulasi LDL di dinding pembuluh darah dalam bentuk sel busa. LDL umumnya dikenal sebagai kolesterol jahat karena LDL mengeluarkan hampir semua trigliseridanya, dan menyebabkan konsentrasi kolesterol menjadi sangat tinggi. HDL dikenal sebagai kolesterol baik karena memiliki kemampuan untuk mengabsorpsi kristal kolesterol yang mulai terakumulasi dalam darah. Oleh karena itu, penurunan kadar HDL akan menghambat proses pembersihan kolesterol yang terakumulasi dalam darah sehingga menyebabkan peningkatan kadar kolesterol total (Meenakshisundaram, 2010; Guyton, 2007).

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa SCS merupakan salah satu faktor yang dapat meningkatkan kadar kolesterol total dalam darah (Kartikasari *et al*, 2013). Selain itu, kadar kolesterol total yang tinggi juga disebabkan karena pada kelompok tersebut tidak diberi propolis sehingga tidak ada bahan yang menghambat peningkatan kadar kolesterol total. Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa propolis dapat mencegah

terjadinya stres oksidatif sehingga dapat menghambat peningkatan kadar kolesterol total (Nakajima, 2009; Rumanti, 2011).

Peran propolis dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol total diduga disebabkan oleh pengaruh dari senyawa antioksidan yang dikandung propolis, yaitu flavonoid, beta karoten dan vitamin B kompleks. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Rata-rata kandungan flavonoid dalam propolis adalah sekitar 5-26%, jauh lebih besar dibandingkan dengan kandungan flavonoid pada sumber alami lainnya (Kosalec *et al*, 2003).

Peran flavonoid dalam meredam efek buruk radikal bebas diduga karena adanya salah satu ikatan fenol dalam propolis yaitu *Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)*. CAPE merupakan sisi aktif flavonoid yang bekerja untuk memaksimalkan aktivitas *scavenger* (peredam) terhadap radikal bebas, dengan cara menurunkan aktivitas radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$) sehingga tidak terlalu reaktif lagi, melalui beberapa tahap (Viuda *et al*, 2008). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kandungan CAPE yang ada di dalam propolis mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan vitamin E dan dapat meningkatkan ekspresi *glucose-6-phosphate dehydrogenase* (G6PD) yang dikenal sebagai gen antioksidan. CAPE juga mempunyai aktivitas antioksidan 4-6 kali lebih kuat terhadap radikal H_2O_2 dan O_2 -dibandingkan vitamin C dan *N-acetyl-cystein (NAC)* (Nakajima *et al*, 2009). Penurunan jumlah radikal bebas dapat mencegah terjadinya stres oksidatif sehingga peningkatan kadar kolesterol dapat dihambat.

Penurunan kadar kolesterol total yang terjadi juga disebabkan karena kandungan beta karoten dan vitamin B kompleks dalam propolis yang berfungsi sebagai antioksidan. Beta karoten bersifat sangat larut dalam lemak. Perannya dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol total berhubungan dengan fungsinya sebagai antioksidan. Beta karoten berfungsi sebagai penangkap oksigen tunggal (*Singlet Oxygen Quencher*) pada keadaan tekanan oksigen rendah untuk mengurangi kerusakan pada inti sel. Beta karoten juga dapat menghambat peroksidasi lipid yang

disebabkan oleh perannya sebagai sumber enzimatis radikal oksidasi seperti pada sistem xantin oksidase (Chao *et al*, 2012).

Peran vitamin B kompleks sebagai antioksidan dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol total disebabkan oleh beberapa komponennya yaitu niacin (Vitamin B3) dan pantothenic acid (Vitamin B5). Niacin telah lama digunakan sebagai terapi alternatif untuk menurunkan kadar trigliserid (TG). Peran niacin dalam menghambat peningkatan kadar kolesterol total adalah dengan menurunkan kadar LDL dalam darah dan meningkatkan kadar HDL. Niacin dapat menurunkan kadar LDL diduga disebabkan oleh kemampuannya dalam menghambat aktivitas diasilgliserol acyltransferase-2 yang diperlukan untuk sintesis TG. Selain itu, niacin juga dapat menghambat pembentukan VLDL dan mengakibatkan degradasi apoB-100 dan apoB-48 sehingga menurunkan kadar LDL (Jafri *et al*, 2009). Efek hipolipidemik pada pantothenic acid diduga disebabkan oleh kemampuannya dalam mengaktivasi proses lipolitik dalam hati dan jaringan adiposa serta penurunan esterifikasi pada asam lemak (Naruta *et al*, 2001).

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak propolis dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus wistar jantan yang diberi paparan *Sidestream Cigarette Smoke*.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan penulis dapat memberikan saran sebagai berikut:

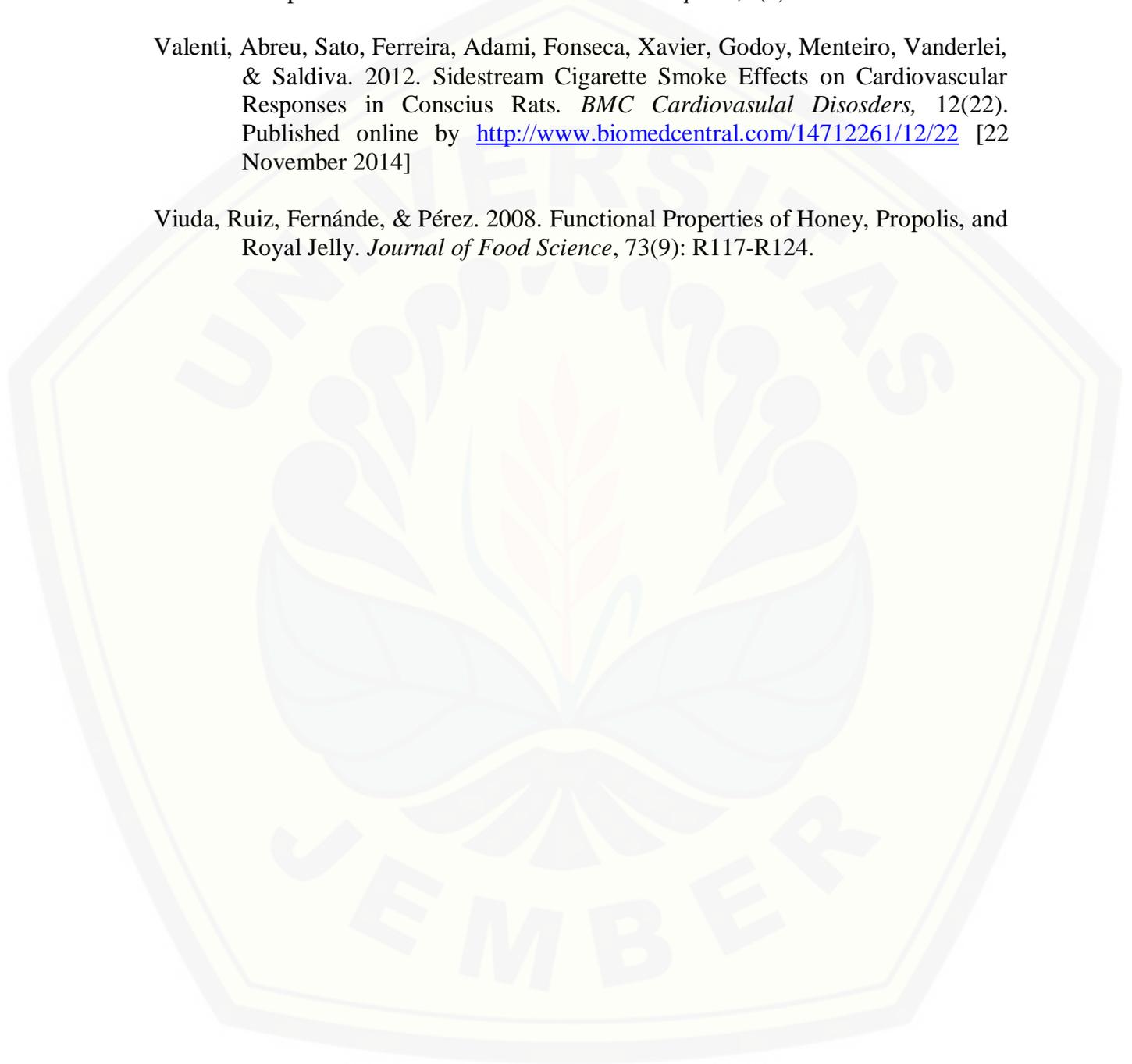
1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan desain serupa terhadap potensi ekstrak propolis dalam mempengaruhi kadar kolesterol total dengan dosis dan frekuensi yang lebih bervariasi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak propolis terhadap komponen kolesterol yang lebih spesifik dengan modifikasi rancangan penelitian menggunakan *pre-test post-test control group design*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, D. 2006. Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit Jantan Strain BALB/C Yang Diberi Paparan Asap Rokok. *Artikel Ilmiah*. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Anwar, Bahri.T. 2004. Dislipidemia Sebagai Faktor Resiko penyakit Jantung Koroner. *Artikel Ilmiah*. Medan : Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara.
- Chao, Huang, Wu, Yang, Chang, Shieh & Lo. 2012. Effects of β carotene, Vitamin C and E on Antioxidant Status in Hyperlipidemic Smokers. *J Nutr Biochem*. 13(7) : 427-434.
- Daniel, W. W. 1995. *Biostatistic a Foundation for Analysis in the Health Science 5th edition*. Canada : John Wiley and Sons, Inc.
- Danusantoso, H. 2003. Peran Radikal Bebas terhadap Beberapa Penyakit Paru. *Jurnal Kedokteran Trisakti*, 22 (1): 31-36.
- Guyton, A, C & Hall, J, E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran : Metabolisme Lipid*. Alih bahasa oleh Irawati, Ramadhani D, Indriyani F, Dany F, Nuryanto I, Rianti S S P, Resmisari T, Suyono Y J. Editor oleh Rachman L Y, Hartanto H, Novrianti A, Wulandari N.. Edisi 11. Hlm 882 – 901. Jakarta: EGC.
- Hardianty, D., Bagiada, N A., & Pangkahila, J A. 2011. “Pemberian Ekstrak Propolis Peroral Menurunkan Kadar F2-Isoprostan Dalam Urin Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Jantan Yang Mengalami Aktivitas Fisik Maksimal.” Tesis. Tidak Dipublikasikan.
- Jafri, Haseeb., Karas, H. Richard., & Kuvn, T. Jeffrey. 2009. Effects of Niacin on LDL Particle Number. *Clin Lipidology*. 4(5) : 565-571.
- Kartikasari, R.D. 2013. “Peningkatan Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Jantan Setelah terpapar Sidestream Cigarette Smoke.” Skripsi. Tidak Dipublikasikan.

- Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., & Vladimir-Knežević, S. 2004. Quantitative Analysis of The Flavonoids in Raw Propolis from Northern Croatia*. *Acta Pharm*, 54: 65-72.
- Krell, R. 1996. Propolis: Value Added Products From Beekeeping. *FAO Agricultural Services Bulletin No. 124*. ISBN 92-5-103819-8. Published online by www.fao.org/docrep.htm. [13 April 2014]
- Luman, Andy. 2014. Statin-Induced Diabetes. *Cermin Dunia Kedokteran* 215, 41(4): 250-253.
- Meenakshisundaram, Rajendiran, & Thirumalaikolundusubramanian. 2010. Lipid and Lipoprotein Profiles Among Middle Aged Male Smokers: a Study from Southern India. *Tobacco Induced Diseases* 8(11): 1-5.
- Murray, R.K., Granner, D.K. & Rodwell, V. 2006. *Biokimia Harper*. Ed 27. Jakarta : EGC.
- Nakajima, Y., Tsuruma, K., Shimazawa, M., Mishima.S., Hara, H. 2009. Comparison of Bee Products Based on Assays of Antioxidant Capacities. *Research Article : BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9(4). Published online by Journal BioMed Central Medicine. <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/9/4>. [22 November 2014]
- Naruta, Elena & Buko, Vyacheslav. 2001. Hypolipidemic Effect of Pantothenic Acid Derivatives in Mice with Hypothalamic Obesity Induced by Aurothioglucose. *Exp Toxic Pathol*. 53 : 393-398.
- Notoatmojo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Ed. Rev. Cetakan ke-2. Jakarta : Rineka Cipta.
- Radiati, Eka, Lilik., K.U.Al-Awwaly & Kalsum, U. 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis Terhadap Sistem Kekebalan Seluler Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Strain Wistar. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 9(1): 1-9.
- Rumanti, Rizna, T. 2011. Efek Propolis terhadap Kadar Kolesterol Total pada Tikus Model Tinggi Lemak. *JKM*, 11(1): 17-22.
- Taebe, Randalingsi, Manggau, & Usmar. 2012. Uji Efek Hipoglikemik Kombinasi Ekstrak Etanol Propolis dan Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia pendens Merr & Perry*) pada Mencit (*Mus musculus*). *Farmasi dan Farmakologi*, 16(3): 151- 158.

- Talumewo, Sompie, Mamahit, & Narasiang. 2012. Rancang Bangun Alat Pengkondisi Udara pada Ruangan Menggunakan Sensot CO dan Temperatur. *Jurnal Teknik Elektro dan Komputer*,1(2): 1-6.
- Valenti, Abreu, Sato, Ferreira, Adami, Fonseca, Xavier, Godoy, Menteiro, Vanderlei, & Saldiva. 2012. Sidestream Cigarette Smoke Effects on Cardiovascular Responses in Conscius Rats. *BMC Cardiovasulal Disosders*, 12(22). Published online by <http://www.biomedcentral.com/14712261/12/22> [22 November 2014]
- Viuda, Ruiz, Fernández, & Pérez. 2008. Functional Properties of Honey, Propolis, and Royal Jelly. *Journal of Food Science*, 73(9): R117-R124.



Lampiran A. Penghitungan Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan penghitungan rumus menurut Daniel (1995) :

$$n = \frac{z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

n = besar sampel tiap kelompok

σ = standart deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat ditolelir, diasumsikan $\sigma = d$

z = nilai pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $z = 1,96$

Maka hasil perhitungan besar sampel adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned} n &= \frac{z^2 \sigma^2}{d^2} = \frac{(1,96)^2 \sigma^2}{d^2} \\ &= (1,96)^2 \\ &= 3,84, \text{dibulatkan menjadi } 4 \end{aligned}$$

Lampiran B. Kadar Kolesterol Total Darah**HASIL PEMERIKSAAN DARAH TIKUS DI LAB. BIOKIMIA FAKULTAS
KEDOKTERAN UNIVERSITAS JEMBER**

Tabel. 4.1.1 Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total darah tikus sesudah perlakuan kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2

No Sampel	Kadar Kolesterol Total Kontrol (mg/dl)	Kadar Kolesterol Total Perlakuan 1 (mg/dl)	Kadar Kolesterol Total Perlakuan2 (mg/dl)
1	54,20	68,40	47,11
2	57,00	72,00	50,60
3	61,30	76,00	54,22
4	70,20	80,00	57,78
Mean	60,67	74,10	52,42

Lampiran C. Surat Keterangan Pemeriksaan Kesehatan Tikus



LAMPIRAN KETERANGAN PEMERIKSAAN
KESEHATAN HEWAN

Berdasarkan Surat Keterangan Kesehatan Hewan Pemerintah Kota Malang Dinas
Pertanian Nomor : 524.3/ 068/ 35.73.309/ 2014

Dengan ini menerangkan bahwa hewan dengan spesifikasi dibawah ini :

Species	Strain	Kelamin	Umur	Warna Bulu	Jumlah
<i>Rattus</i>	<i>Wistar</i>	Jantan	10 minggu	Putih	18 ekor

Pemilik hewan,

Nama : Dani Sugeng Prasetyo
Alamat : Jl. Kertorejo 26 Malang

Penerima hewan,

Nama : Chusna Sekar Wardani
Alamat : FKG Unej

Tujuan pengiriman : kebutuhan penelitian laboratoris

Terhadap hewan tersebut telah dilakukan pemeriksaan dan dalam keadaan sehat (tidak terindetifikasi adanya penyakit-penyakit menular). Surat Keterangan ini dikeluarkan untuk satu kali dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 10 November 2014

Dan Sugeng P., S.KG



Tembusan : -Bag. Kandang dan Pemeliharaan
-Arsip



PEMERINTAH KOTA MALANG
DINAS PERTANIAN

Jl. Jendral Ahmad Yani Utara No. 202 Telp. (0341)491914/Facs. (0341)408273 MALANG
MALANG Kode Pos 65126

SURAT KETERANGAN PEMERIKSAAN KESEHATAN HEWAN
Nomor : 524.3 /068/ 35.73.309 / 2014

Dengan ini menerangkan bahwa hewan dengan signalemen :

Hewan signalemen	I
Spesies	Rattus
Ras	Wistar
Jumlah	100 ekor
Umur	± 8 Minggu
Kelamin	Jantan
Warna Bulu	Putih

Pemilik Hewan
 Nama : Dani Sugeng Prasetyo
 Alamat : Jl. Kertorejo 26 RT 05 RW 03
 Kel. Ketawanggede Kec. Lowokwaru Malang
 Tujuan : Untuk Percobaan Hewan

Terhadap hewan tersebut diatas pada tanggal 21 Juli 2014 telah kami periksa dalam keadaan sehat (tidak menunjukkan adanya gejala penyakit hewan menular).

Malang, 21 Juli 2014
 Kepala Dinas Pertanian Kota Malang
 Kepala Bidang Peternakan dan Kesehatan Hewan

 Dedy Budi Broto, M.H
 NIP. 19590915 198903 1 018

Lampiran D. *Ethical Clearance*

UNIT ETIKA DAN ADVOKASI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS GADJAH MADA
Sekretariat: Fakultas Kedokteran Gigi UGM Jl. Denta Sekip Utara Yogyakarta
Telp. (0274) 947967

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 0045 /KKEP/FGK-UGM/EC/2014

Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:

Judul : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP
KADAR KOLESTROL DARAH TIKUS WISTAR JANTAN
SETELAH DIPAPAR SIDESTREAM CIGARETTE SMOKE
Peneliti Utama : Chusna Sekar Wardani
Penanggung Jawab Medis : drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp.KGA
Unit/Lembaga : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Lokasi Penelitian : Laboratorium Biomedik FKG Universitas Jember
Waktu Penelitian : Oktober 2014 s/d Selesai

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Yogyakarta, 4 November 2014

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan

Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM



drg. Diatri Nani Ratih, M.Kes., Sp. KG, Ph.D.

drg. Suryono, S.H, Ph.D.

Lampiran E. Hasil Uji Analisis Data

E.1 Uji Normalitas *Kolmogorov-Smirnov*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Post_test
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	62,4008
	Std. Deviation	10,62848
Most Extreme Differences	Absolute	,168
	Positive	,168
	Negative	-,130
Kolmogorov-Smirnov Z		,582
Asymp. Sig. (2-tailed)		,887

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

E.2 Uji Homogenitas *Levene*

Test of Homogeneity of Variances

Post_test

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,319	2	9	,735

E.3 Uji Beda *One-Way ANOVA*

ANOVA

Post_test

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	957,266	2	478,633	15,096	,001
Within Groups	285,345	9	31,705		
Total	1242,611	11			

E.4 Uji Tukey HSD

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Post_test

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Perlakuan 1	-13,42500*	3,98152	,020	-24,5414	-2,3086
	Perlakuan 2	8,24750	3,98152	,151	-2,8689	19,3639
Perlakuan 1	Kontrol	13,42500*	3,98152	,020	2,3086	24,5414
	Perlakuan 2	21,67250*	3,98152	,001	10,5561	32,7889
Perlakuan 2	Kontrol	-8,24750	3,98152	,151	-19,3639	2,8689
	Perlakuan 1	-21,67250*	3,98152	,001	-32,7889	-10,5561

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Post_test

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Perlakuan 2	4	52,4275	
Kontrol	4	60,6750	
Perlakuan 1	4		74,1000
Sig.		,151	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Lampiran F. Foto Penelitian

F.1 Alat Penelitian



Keterangan :

1. Sarung tangan (Latex)
2. Alkohol 70%
3. Spidol Hitam (Snowman)
4. *Disposable syringe* (Terumo, Japan)
5. Gunting
6. Masker (Diapro)
7. Tissue
8. Isolasi bening
9. Timbangan



Keterangan :

10. Mikropipet;
11. *Centrifuge (Mega 17R)*;
12. Vortex;
13. Tabung Vial;
14. *Acrilic chamber* ukuran 30x30x30 cm;
15. Rak dan Tabung reaksi;
16. Papan fiksasi.

F.2 Bahan Penelitian



Keterangan :

1. Tikus Wistar Jantan;
2. *Aquades Steril*;
3. Propolis
4. *Chloroform*;
5. Rokok Kretek Filter;



Keterangan :

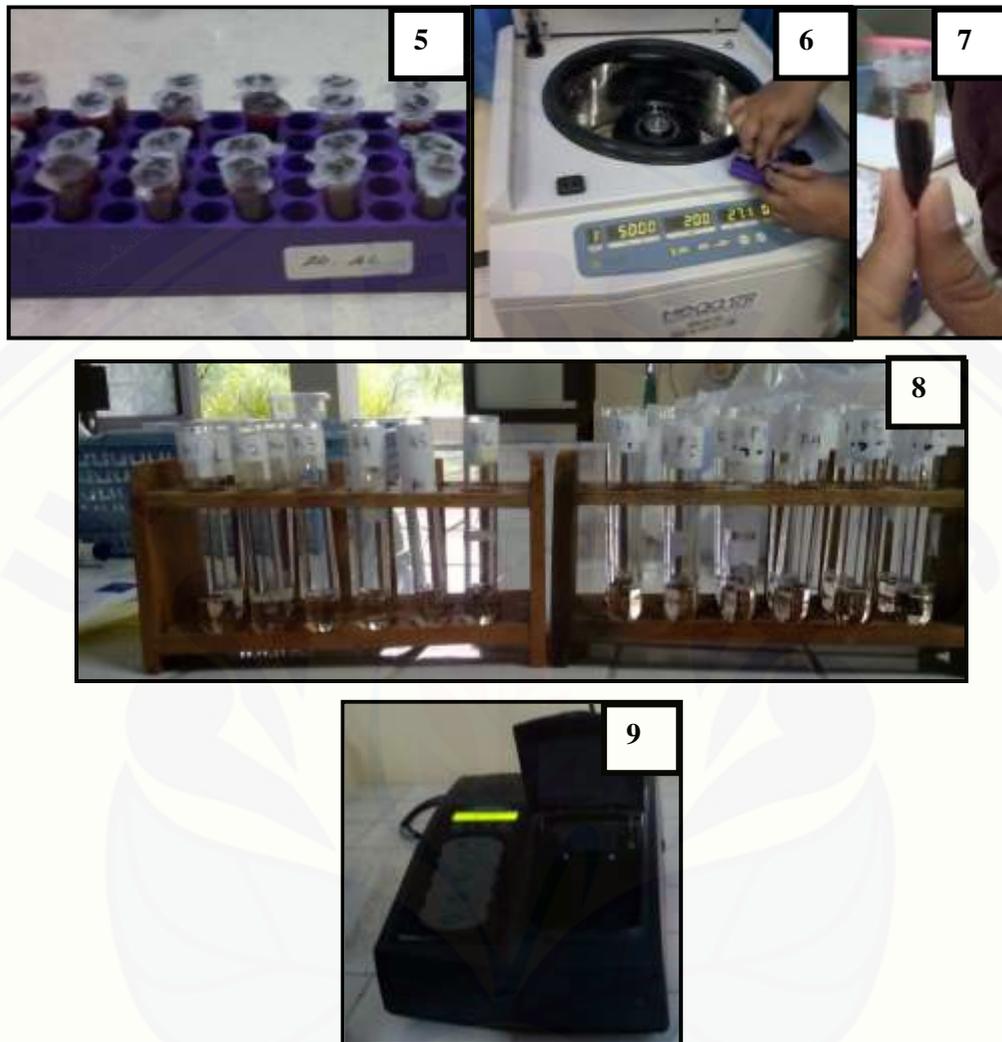
6. Makanan Hewan Coba;
7. Minuman Hewan Coba;
8. *Reagent Cholesterol fs;*
9. *Reagent Cholesterol fs;*
10. *Standart Cholesterol.*

F.3 Prosedur Penelitian



Keterangan :

1. Sondasi Ekstrak Propolis;
2. Pemaparan *Sidetream Cigarette Smoke*;
3. Anestesi dengan *Chloroform*;
4. Pengambilan Darah Secara Intrakardial.



Keterangan :

5. Penampungan sampel darah di mikrotube;
6. Sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm;
7. Terbentuk lapisan serum darah;
8. Serum darah yang telah terbentuk dicampur dengan reagent kolesterol dan didiamkan \pm 10 menit;
9. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam mesin spektrofotometer dan diproses selama \pm 30 detik, kemudian hasil dapat terbaca pada layar mesin.