



**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN BUBUK KOPI ROBUSTA TERHADAP
KADAR FIBRINOGEN DARAH PADA TIKUS WISTAR (*Rattus
norvegicus*) YANG DIBERI PAKAN TINGGI LEMAK**

SKRIPSI

Oleh

Rudy Ramadhana Putra

NIM 141610101088

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2018



**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN BUBUK KOPI ROBUSTA TERHADAP
KADAR FIBRINOGEN DARAH PADA TIKUS WISTAR (*Rattus
norvegicus*) YANG DIBERI PAKAN TINGGI LEMAK**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1)
dan mencapai gelar sarjana kedokteran gigi

Oleh

Rudy Ramadhana Putra

NIM 141610101088

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

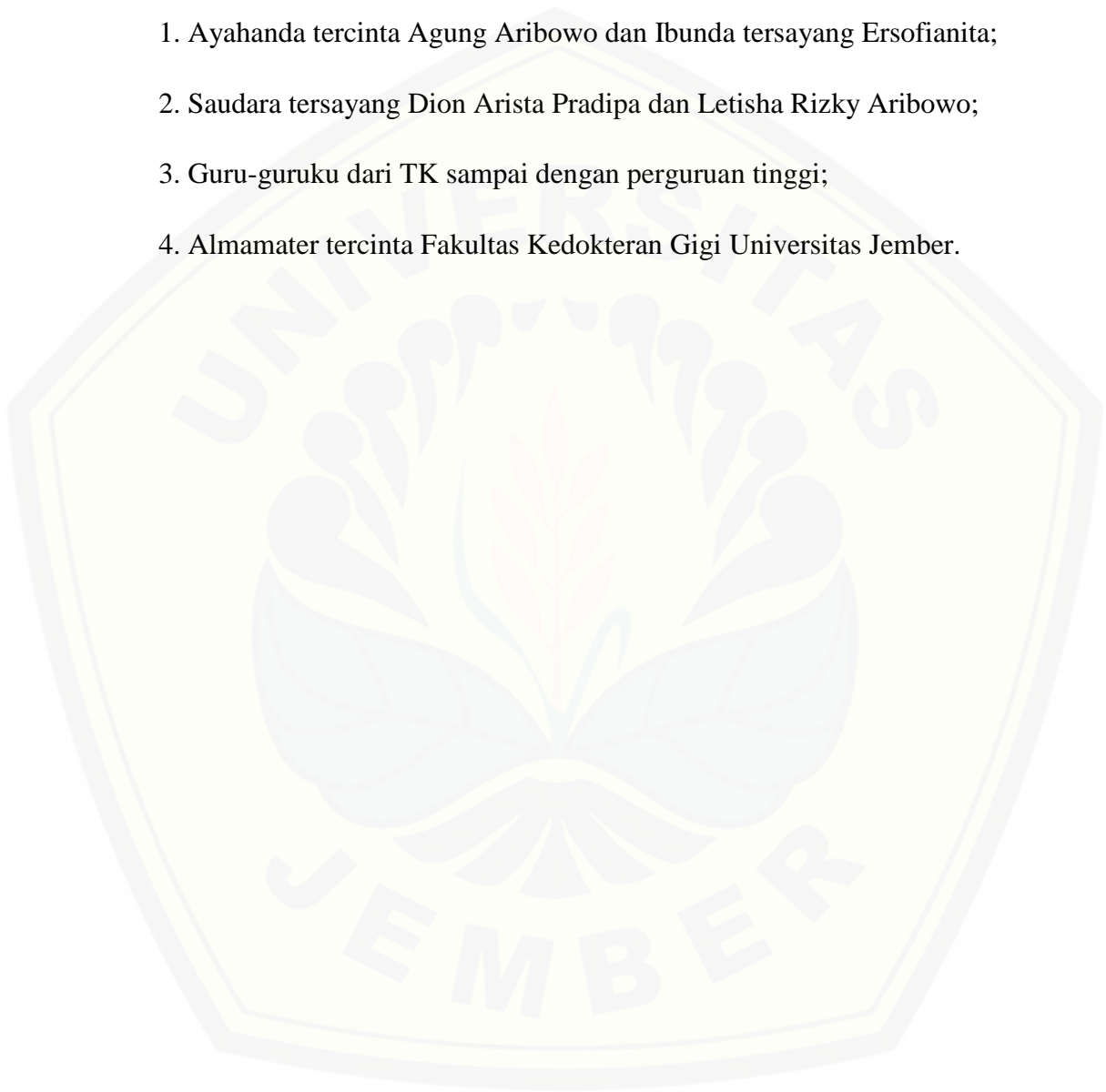
UNIVERSITAS JEMBER

2018

PERSEMBAHAN

Dengan nama Allah Yang Maha Pengasih dan Penyayang, skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ayahanda tercinta Agung Aribowo dan Ibunda tersayang Ersofianita;
2. Saudara tersayang Dion Arista Pradipa dan Letisha Rizky Aribowo;
3. Guru-guruku dari TK sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



MOTTO

*Today the rain is going on strong, but tomorrow, baby the sun is going to come out again. *)*

*If you think about life the way that you always deserve what comes for you. You always deserve it. In any way or another. That's how I think of life and it's easier to process **)*

*) Bruce Lee

**) Liquid 'KuroKy'



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rudy Ramadhana Putra

NIM : 141610101088

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efek Pemberian Seduhan Bubuk Kopi Robusta Terhadap Kadar Fibrinogen Darah Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Pakan Tinggi Lemak” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang dijunjung tinggi

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

Jember,.....2018

Yang Menyatakan

Rudy Ramadhana Putra

NIM 141610101088

SKRIPSI

**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN BUBUK KOPI ROBUSTA TERHADAP
KADAR FIBRINOGEN DARAH PADA TIKUS WISTAR (*Rattus
norvegicus*) YANG DIBERI PAKAN TINGGI LEMAK**

Oleh

Rudy Ramadhana Putra

NIM 141610101088

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Rendra Chriestedy Prasetya., MD.Sc

Dosen Pembimbing Pendamping : Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna D., M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Pemberian Seduhan Bubuk Kopi Robusta Terhadap Kadar Fibrinogen Darah Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Pakan Tinggi Lemak” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

Dr.drg. IDA Susilawati., M.Kes
NIP.196109031986022001

drg. Amandia Dewi P. S., M.Biomed
NIP.198006032006042002

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

drg. Rendra Chriestedy P, MD.Sc
NIP. 198305312008011003

Prof. Dr. Drg IDA Ratna Dewanti, M.Si
NIP. 196705021997022001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Pros

NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Efek Pemberian Seduhan Bubuk Kopi Robusta Terhadap Kadar Fibrinogen Darah Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Pakan Tinggi Lemak; Rudy Ramadhana Putra, 141610101088; 2018; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Hiperlipidemia adalah salah satu penyebab terjadinya inflamasi sistemik. Hiperlipidemia merupakan peningkatan kolesterol di atas normal dalam darah, terutama mencerminkan peningkatan kolesterol Low Density Lipoprotein (LDL). Kenaikan jumlah LDL yang di atas normal dapat memicu terjadinya proses inflamasi pada arteri dan terjadi disfungsi endotel. LDL yang berlebihan akan teroksidasi oleh Reactive Oxygen Species (ROS) yang merupakan pencetus reaksi inflamasi. LDL yang teroksidasi (LDL-ox) akan difagositosis oleh makrofag melalui *LDL scavenger receptor* sehingga menyebabkan makrofag penuh dengan lemak. Hal tersebut disebut dengan sel busa atau foam cell. Foam cell ini dapat meningkatkan produksi sitokin proinflamasi salah satunya TNF- α yang menstimulasi perubahan protein plasma dalam hati untuk memproduksi kadar fibrinogen. Upaya pencegahan dan pengobatan dapat menggunakan antiinflamasi dan antioksidan. Salah satu obat yang mengandung antiinflamasi dan antioksidan dan memiliki efek samping yang minimal adalah berasal dari tanaman herbal. Pemberian kopi yang merupakan tanaman herbal mempunyai kandungan antiinflamasi dan antioksidan diduga efektif menurunkan kadar fibrinogen.

Penelitian eksperimental laboratoris pada tikus wistar ini menggunakan rancangan the post test only control group design. Sampel berjumlah 12 ekor, berat 180-200 gram dan keadaan sehat. Tikus dibagi menjadi 3 kelompok, kelompok 1 merupakan kelompok kontrol yang diinduksi diet standar, kelompok 2 merupakan kelompok hiperlipid yang diinduksi diet tinggi lemak menggunakan kuning telur yang dicampur dengan minyak babi sebanyak 5 ml/hari, kelompok 3 merupakan kelompok kopi yang diinduksi diet tinggi lemak+kopi, kopi yang diberikan sebanyak 3,6 ml/hari. Perlakuan dilakukan selama 56 hari untuk mendapatkan tikus dalam keadaan hiperlipid. perlakuan dilanjutkan sampai tikus

dieutanasia untuk diambil darah intrakardial dengan metode over inhalasi eter. Pemeriksaan dan perhitungan kadar fibrinogen dilakukan dengan metode *Heat Precipitation*. Darah intrakardial yang diambil ditampung dalam 2 *vacuum tube*. Darah dalam *vacuum tube* pertama dilakukan *sentrifuge* selama 200 detik dengan kecepatan 5000 rpm suhu ruang dan dibaca konsentrasi plasma menggunakan refraktometer. Darah dalam *vacuum tube* kedua dicampur dengan heparin atau EDTA dan diinkubasi dalam *waterbath* selama 3 menit di *sentrifuge* selama 200 detik dengan kecepatan 5000 rpm dan dibaca konsentrasi proteinplasma menggunakan refraktometer. Konsentrasi atau kadar fibrinogen akan dihitung berdasarkan perbedaan konsentrasi pada *vacuum tube* pertama dan *vacuum tube* kedua dalam g/dl. Hasil dikalikan dengan 1000 untuk mendapatkan konsentrasi fibrinogen dalam mg/dl. Data yang didapatkan peneliti selanjutnya dianalisis secara statistik. Data dianalisa secara statistik dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui data yang terdistribusi secara normal, lalu uji homogenitas menggunakan *Levene Test.* , kemudian data diuji parametrik dengan *One Way ANOVA* selanjutnya dapat dilanjutkan uji beda LSD

Hasil uji normalitas dan homogenitas diperoleh hasil uji data terdistribusi normal dan homogen dan pada uji ANOVA didapatkan hasil $p < 0,05$, selanjutnya uji beda LSD didapatkan perbedaan yang bermakna pada tiap kelompok perlakuan dengan nilai $p > 0,05$, hal ini mungkin disebabkan oleh senyawa bioaktif kopi. Penjelasan ini dapat dikemukakan antara lain, kopi mengandung senyawa aktif polifenol dan alkaloid yang merupakan antioksidan dan antiinflamasi. Kandungan bioaktif kopi ini dapat menghambat ekspresi dari mediator inflamasi khususnya IL-6 yang berperan dalam sintesis fibrinogen di hepar, maka kadar fibrinogen darah juga menurun. Senyawa polifenol dapat menurunkan pembentukan LDL-ox dengan cara mengikat elemen yang tersisa dari produksi radikal bebas. Dengan berkurangnya kadar LDL-ox dan meningkatnya senyawa antiinflamasi maka dapat mengurangi respon inflamasi yang terjadi.

Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian kopi robusta dapat menurunkan kadar fibrinogen. Namun, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai konsumsi dengan berbagai dosis dan durasi pemberian seduhan kopi.

PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Efek Pemberian Seduhan Bubuk Kopi Robusta Terhadap Kadar Fibrinogen Darah Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Pakan Tinggi Lemak”. Skripsi ini disusun dalam rangka menyelesaikan pendidikan Strata 1 (S1) Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penulis menyadari dalam pembuatan skripsi ini tidak luput dari kekurangan. Dibutuhkan peran dari berbagai pihak sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Tidak lupa pula penulis mengucapkan terimakasih sedalam-dalamnya kepada:

1. Rendra Chriestedy Prasetya., drg. MD. Sc selaku Dosen Pembimbing Utama dan Prof. I Dewa Ayu Ratna Dewanti.,drg. M.si. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran dan motivasi serta penuh kesabaran membimbing saya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Dr. I Dewa Ayu Susilawati., drg. M.Kes. selaku Dosen Penguji Ketua dan Amandia Dewi Permana Shita., drg. M.Biomed selaku Dosen Penguji Anggota yang telah banyak memeberi masukan demi kesempurnaan skripsi ini.
3. Nadie Fatimatuzzahro., drg. M.Kes yang selalu mendampingi selama penelitian berlangsung dan memberikan saran serta motivasi demi kesempurnaan skripsi ini.
4. Amandia Dewi Permana Shita., drg. M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan nasihat, saran dan motivasi.
5. R Rahardyan Parnaadji., drg. M.Kes. Sp.Pros. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

6. Ayahanda tercinta Agung Aribowo dan Ibunda tercinta Ersofianita yang telah memberikan kasih sayang, doa dan motivasi bagi saya.
7. Bu Ayu selaku Laboran Laboratorium Klinik Piramida Jember yang telah banyak membantu dalam proses uji fibrinogen.
8. Mas Agus, Bu Wahyu, Mas Erwan serta seluruh staf dan civitas akademika FKG Universitas Jember yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini.
9. Teman-teman proyek penelitian “*Lipid*” Kanwangwang, Yunita, dan Fadinda, yang selalu memberi suntikan semangat dan telah bekerjasama dengan baik selama proses penelitian.
10. Teman-teman kos Kanwangwang, Aldiansyah, Nur Qum, Darmawan, Majid, Putu, Idris, Ravi dan Reza yang mengevaluasi dan menemani mengerjakan skripsi.
11. Teman-teman FKG 2014, terimakasih atas kebersamaanya, semoga kita menjadi dokter gigi yang amanah
12. Saya ucapkan terimakasih kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Karya ini masih jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritikan dari berbagai pihak sehingga skripsi ini dapat menjadi lebih baik. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan kontribusi lebih untuk kemajuan ilmu pengetahuan di masa yang akan datang.

Jember,2018

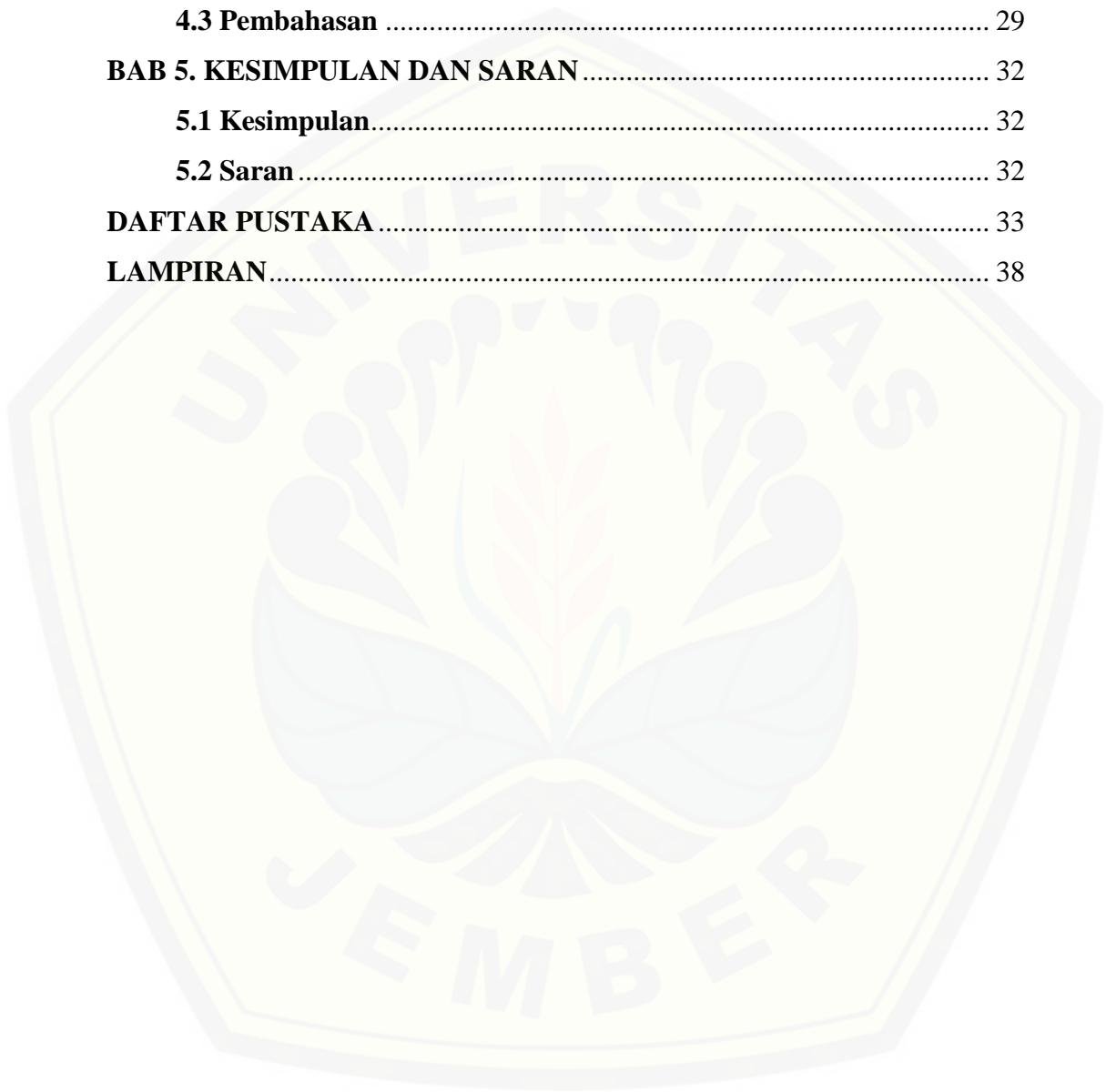
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.3.1 Tujuan Umum.	3
1.3.2 Tujuan Khusus.	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Lipid	4
2.1.1 Pengertian Lipid	4
2.1.2 Diet Lipid	5
2.1.3 Metabolisme Lipid	6
2.2 Hyper LDL	7
2.3 Reactive Oxygen Species dalam Hiperlipidemia	8
2.4 Fibrinogen	9

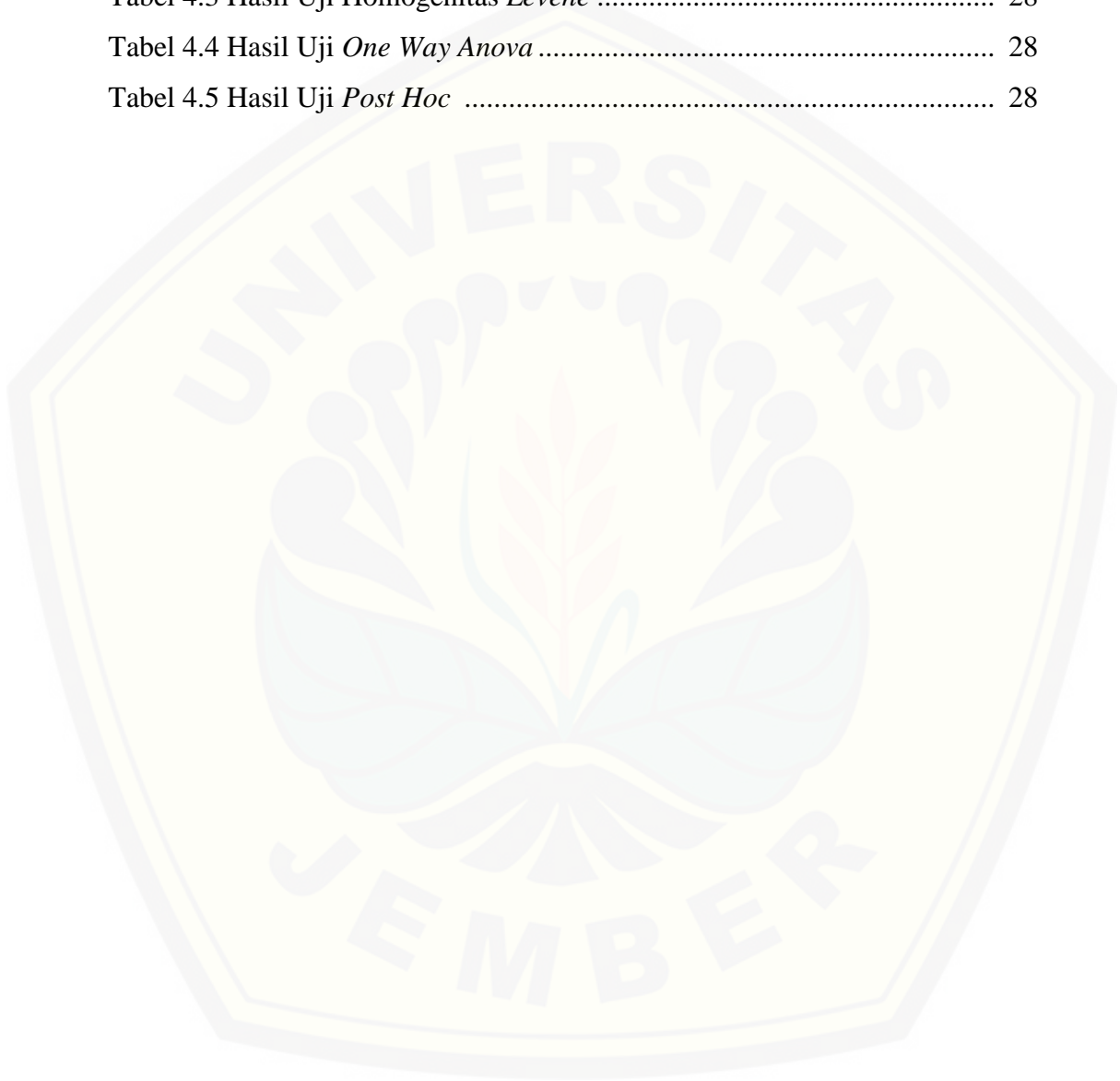
2.5 Kopi	10
2.5.1 <i>Caffein</i>	11
2.5.2 <i>Chlorogenic acid</i>	11
2.5.3 <i>Ferulic acid</i>	12
2.5.4 <i>Caffeic acid</i>	12
2.6 Kerangka Konseptual	13
2.7 Hipotesis	14
BAB 3. METODE PENELITIAN	15
3.1 Jenis Penelitian	15
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2.1 Tempat Penelitian	15
3.2.2 Waktu Penelitian.....	15
3.3 Variabel Penelitian	15
3.3.1 Variabel Bebas	15
3.3.2 Variabel Terikat	16
3.3.3 Variabel Terkendali.....	16
3.4 Sampel Penelitian	17
3.4.1 Kriteria Sampel Penelitian	17
3.4.2 Kriteria Inklusi dan <i>Drop Out</i>	17
3.4.3 Besar Sampel.....	17
3.4.4 Pembagian Kelompok dan Pemeliharaan Hewan Coba	18
3.5 Alat dan Bahan	19
3.5.1 Alat Penelitian.....	19
3.5.2 Bahan Penelitian.....	19
3.5.3 Pembuatan Pakan Kolesterol	19
3.5.4 Pembuatan Seduhan Kopi	20
3.6 Prosedur Penelitian	20
3.6.1 Adaptasi Hewan Coba.....	20
3.6.2 Cara Pemberian dan Pembuatan Tikus <i>Hyper</i> -LDL	20
3.6.3 Pemeriksaan dan Perhitungan Kadar Fibrinogen.....	23
3.7 Analisis Data	24

3.8 Alur Penelitian.....	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1 Hasil Penelitian	26
4.2 Analisis Data	27
4.3 Pembahasan	29
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	32
5.1 Kesimpulan.....	32
5.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN.....	38



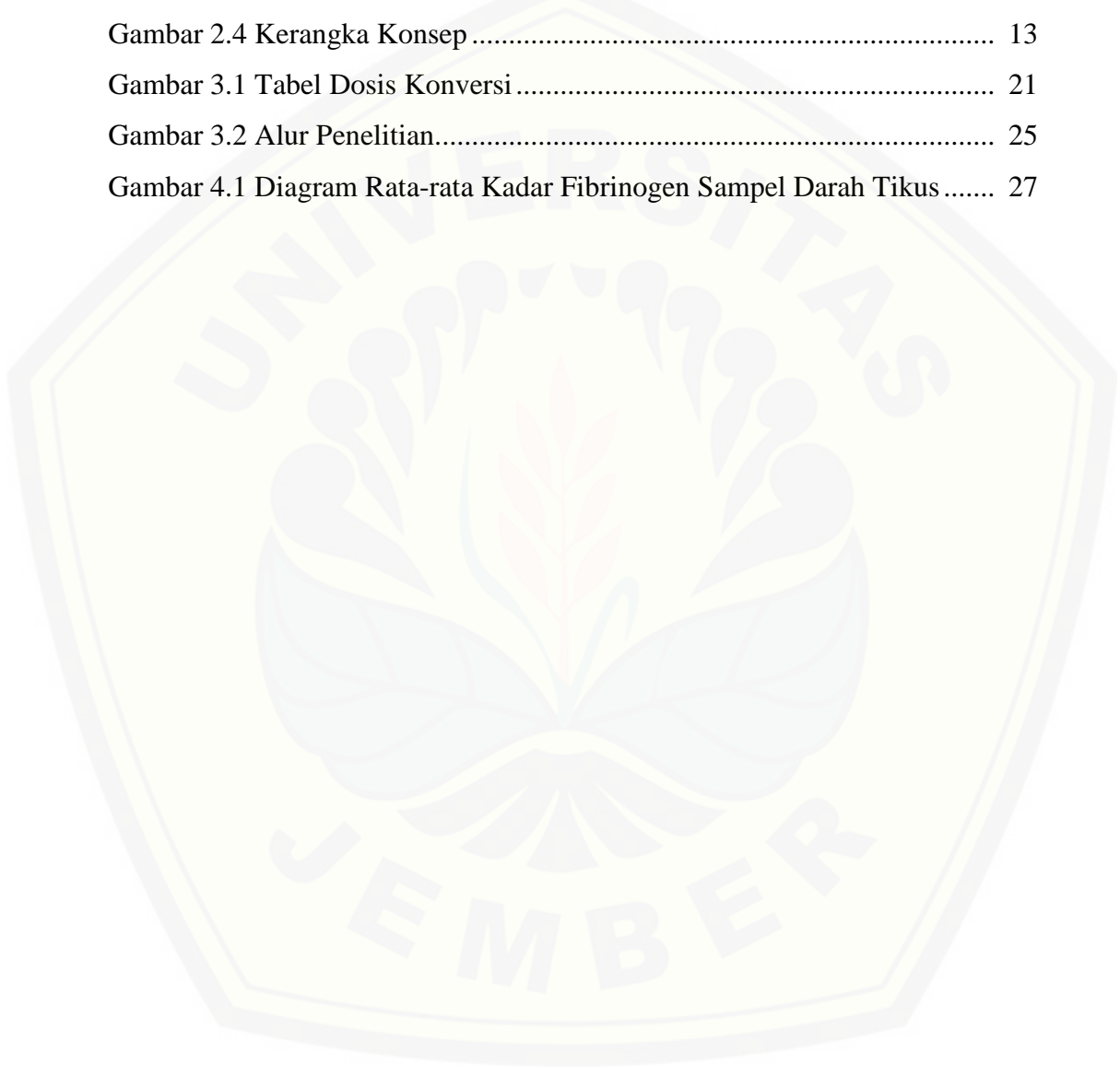
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Kadar Fibrinogen Sampel Darah Tikus	26
Tabel 4.2 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	27
Tabel 4.3 Hasil Uji Homogenitas <i>Levene</i>	28
Tabel 4.4 Hasil Uji <i>One Way Anova</i>	28
Tabel 4.5 Hasil Uji <i>Post Hoc</i>	28



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pencernaan dan Absorpsi Trigliserida.....	5
Gambar 2.2 Metabolisme Lipid	6
Gambar 2.3 Patogenesis Aterosklerosis	9
Gambar 2.4 Kerangka Konsep	13
Gambar 3.1 Tabel Dosis Konversi	21
Gambar 3.2 Alur Penelitian.....	25
Gambar 4.1 Diagram Rata-rata Kadar Fibrinogen Sampel Darah Tikus	27



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Alat dan Bahan Penelitian	38
A.1 Alat Penelitian	38
A.2 Bahan Penelitian	40
Lampiran B. Prosedur Penelitian	40
B.1 Adaptasi Hewan Coba	41
B.2 Pembuatan Pakan Tinggi Lemak dan Seduhan Kopi	41
B.3 Proses Pembedahan Hewan Coba	41
B.4 Proses Persiapan Plasma Darah	42
B.5 Proses Perhitungan Kadar Fibrinogen	42
Lampiran C. Data Hasil Penelitian.....	43
C.1 Hasil Pengukuran Kadar Fibrinogen	43
Lampiran D. Hasil Uji Statistik.....	44
D.1 Hasil Uji Statistik Kadar Fibrinogen	45
Lampiran E. Sertifikat <i>Ethical Clearance</i> Penelitian.....	46
Lampiran F. Surat Ijin Penelitian	47
Lampiran G. Surat Keterangan Spesies Hewan Coba.....	49

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pola makan modern yang banyak mengandung kolesterol dapat menimbulkan keadaan hiperlipidemia (Adam, 2009). Hiperlipidemia adalah suatu keadaan patologis yang diakibatkan oleh kelainan metabolisme lipid darah yang ditandai dengan meningkatnya kadar kolesterol total, trigliserida, *Low Density Lipoprotein* (LDL) serta penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) (Erinda, 2009).

Kondisi *hyper*-LDL dapat memicu terjadinya stress oksidatif akibat ketidakseimbangan prooksidan dan antioksidan dalam tubuh. Keadaan ini dapat memicu sebuah respon inflamasi jaringan yang berupa sel-sel lemak atau adiposa mengalami lipogenesis yang berlebihan yang akan memicu terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS) (Susatiningsih, 2015). Hiperlipidemia kronis dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah karena disfungsi endotel menyebabkan LDL lebih mudah masuk ke dinding pembuluh darah. Hal ini dikaitkan dengan kondisi inflamasi kronis tingkat rendah dengan infiltrasi progresif sel-sel imun pada jaringan adiposa obesitas yang berlebih (Rahmawati, 2014). Hasil penelitian Prasetya (2016) mengungkapkan bahwa keadaan *hyper*-LDL mampu meningkatkan pembentukan ROS (*in vitro*).

Dengan dilepaskannya radikal bebas maka LDL akan teroksidasi dan dicerna oleh makrofag untuk membentuk sel-sel busa yang menjadi prekursor terhadap proses inflamasi yang terjadi menstimulasi produksi beberapa sitokin yang dapat mempengaruhi regulasi peningkatan dan penurunan protein fase akut. Protein fase akut ini salah satunya adalah fibrinogen yang diproduksi oleh sel hepatosit. Fibrinogen berfungsi meningkatkan viskositas darah, agregasi trombosit, laju endap darah (LED), dan adhesi leukosit (Handayani, 2013). Kadar fibrinogen merupakan salah satu biomarker terhadap terjadinya suatu inflamasi kronis. Meningkatnya kadar fibrinogen dalam darah merupakan tanda bahwa tubuh mengalami suatu inflamasi kronis (Setiawan, 2011). Sato *et al* (2006)

menyebutkan bahwa peningkatan kadar fibrinogen menyebabkan peningkatan resiko terjadinya stroke iskemik, stroke hemoragik maupun aterosklerosis dikarenakan fungsi dari fibrinogen menyebabkan peningkatan viskositas darah dan viskositas dalam darah yang tinggi meningkatkan resiko adanya penyumbatan di lumen pembuluh darah tersebut. Penyumbatan yang terjadi dalam lumen pembuluh darah mengakibatkan 2 hal yaitu menghalangi suplai oksigen ke jaringan dan dalam kondisi tekanan darah yang tinggi dapat menyebabkan pecahnya pembuluh darah, kedua hal ini menyebabkan jaringan tidak mendapatkan oksigen dan nutrisi dari darah dan mengakibatkan kematian dari jaringan tersebut (Green *et al*, 2008).

Banyak upaya masyarakat untuk menggunakan obat-obat herbal sebagai upaya alternatif untuk mengatasi dan mengendalikan dislipidemia sebagai contoh misalnya kopi (*Coffea Sp*) (Anwar, 2003). Minuman kopi menjadi sumber antioksidan terbesar. Dalam penelitian *in vitro* yang dilaporkan oleh Hodgson (2008) mengatakan bahwa antioksidan kopi dapat mengurangi konsentrasi kolesterol dalam darah. Ada tiga spesies kopi yang cukup sering dibudidayakan yaitu kopi arabika (*Coffea arabika*), kopi robusta (*Coffea canephora*), dan kopi liberika (*Coffea liberica*) (Najiyati, 2009). Kopi merupakan bahan alam yang memiliki sifat antiinflamasi dan antioksidan. Hal tersebut dapat dihubungkan dengan kandungan kafein, *chlorogenic acid*, *ferulic acid* dan *caffeic acid* dalam kopi (Yashin *et al.*, 2013). Beberapa penelitian *in vitro* uji kandungan senyawa kopi, kandungan kafein, *ferulic acid* dan *caffeic acid* dapat berperan sebagai antiinflamasi karena dapat mengurangi sekresi sitokin proinflamasi TNF- α , IL-1 β , IL-6 sehingga proses inflamasi terhambat, sementara *chlorogenic acid* berperan sebagai antioksidan karena menghambat produksi *reactive oxygen species* (ROS) melalui proses reaksi oksidasi (Hiroshi, 2006; Dupas *et al.*, 2006). Kandungan kafein pada biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dua kali lebih banyak daripada biji kopi arabika, dan kandungan asam klorogenat pada biji kopi robusta (*Coffea canephora*) lebih banyak dari pada tanaman obat lainnya (Ciptaningsih, 2012). Biji kopi robusta (*Coffea canephora*) mengandung senyawa aktif, yakni polifenol dan alkaloid. Senyawa polifenol (asam klorogenat) dalam biji kopi

robusta (*Coffea canephora*) memiliki efek sebagai antiinflamasi dan antioksidan, senyawa alkaloid (kafein) memiliki efek sebagai antioksidan sehingga mampu melindungi tubuh dari efek radikal bebas (Ciptaningsih, 2012).

Berdasarkan uraian di atas peneliti ingin melakukan penelitian eksperimental guna mengetahui efek antiinflamasi dan antioksidan yang dimiliki oleh kopi robusta pada tikus yang diinduksi hyper-LDL (*in vivo*).

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek dari pemberian seduhan kopi robusta terhadap kadar fibrinogen dalam darah pada tikus wistar dengan kondisi *hyper*-LDL ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek pemberian seduhan kopi robusta terhadap inflamasi sistemik terkait *hyper*-LDL.

1.3.2 Tujuan Khusus

Menganalisa efek pemberian seduhan kopi robusta terhadap kadar fibrinogen pada darah tikus wistar dengan kondisi *hyper*-LDL.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan tentang hubungan pemberian seduhan kopi robusta terhadap inflamasi kronis yang berkaitan dengan keadaan *hyper*-LDL.

1.4.2 Memberi informasi pada masyarakat tentang manfaat kopi robusta untuk mengatasi/mencegah inflamasi sistemik terutama yang berkaitan kondisi hiperlipid.

1.4.3 Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk pengembangan penelitian-penelitian selanjutnya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lipid

2.1.1 Pengertian Lipid

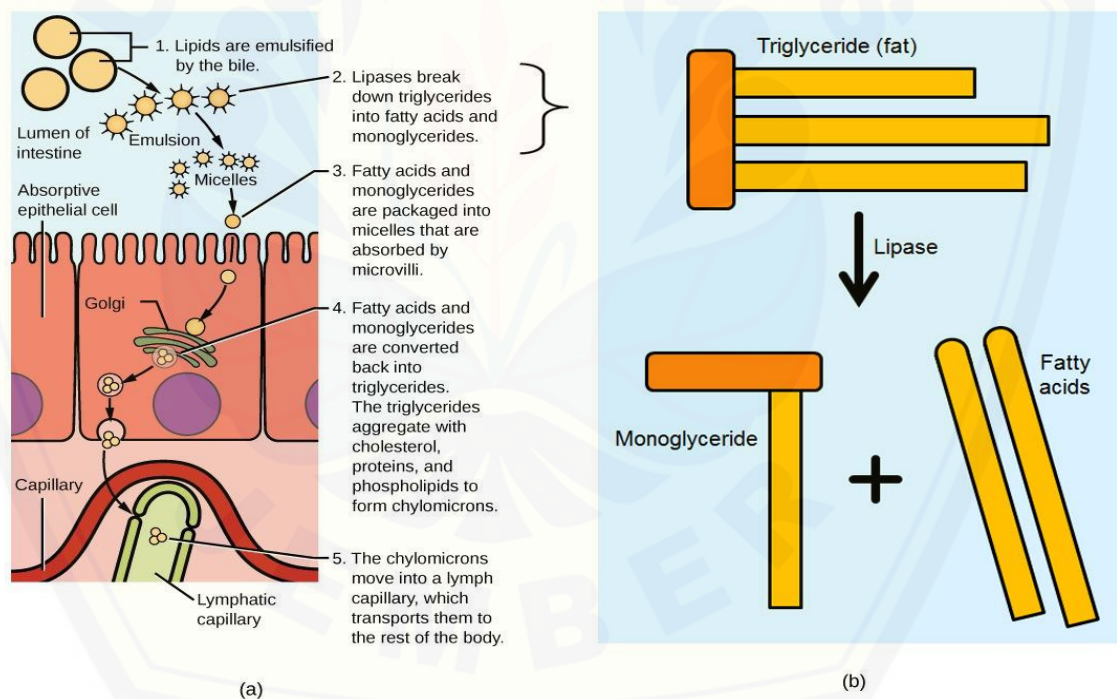
Lipid plasma berasal dari makanan (eksogen) atau disintesis dalam badan (endogen). Lipid sukar larut dalam air, pengangkutannya dalam tubuh berbentuk kompleks dengan protein yang disebut lipoprotein. Lipoprotein tersusun atas inti yang sukar larut (non polar) yang terdiri atas ester kolesterol dan trigliserida serta bagian yang mudah larut (polar) yang terdiri dari protein, fosfolipid dan kolesterol bebas. Klasifikasi lipoprotein didasarkan pada densitas yang menggambarkan ukuran partikel. Semakin besar rasio lipid/protein maka semakin besar ukurannya dan makin rendah densitasnya (Williams, 2000).

Terdapat lima kelas utama lipoprotein yaitu kilomikron, *very low density lipoprotein* (VLDL), *intermediate density lipoprotein* (IDL), LDL dan HDL.

1. Kilomikron, VLDL dan IDL merupakan partikel yang kaya akan trigliserida. Kilomikron berfungsi membawa lipid eksogen dari usus ke semua sel, sedangkan VLDL membawa lipid endogen dari hati ke sel. Selain kaya trigliserida, VLDL juga mengandung apolipoprotein B (apoB), apolipoprotein C (apo C) dan apolipoprotein E (apo E).
2. LDL akan bertahan lebih lama dalam plasma. Lipoprotein ini akan melekat pada reseptor spesifik pada permukaan sel (reseptor LDL atau reseptor apo B/E). Reseptor ini terdapat di semua sel tetapi yang paling banyak adalah di hati. Setelah masuk ke dalam sel, partikel LDL akan dipecah oleh lisosom dan kolesterol yang dilepaskan digunakan untuk pembentukan membran sel atau untuk sintesis steroid (Williams, 2000).
3. High Density Lipoprotein (HDL) memiliki ukuran yang sangat kecil yang mengandung 50 % protein, 20 % kolesterol dan 30% fosfolipid. Dibentuk oleh sel hati dan usus, fungsinya mentransfer kolesterol dari perifer ke hati dimana zat tersebut di metabolisme dan dieksresi.

2.1.2 Diet Lipid

Lipida yang didapatkan dalam makanan kita akan diserap di dalam usus halus setelah mengalami pemecahan oleh enzim-enzim tertentu, tergantung bentuk awalnya. Pada gambar (2.1) dijelaskan mengenai pencernaan dan absorpsi lemak dalam tubuh. Enzim lipase yang berasal dari pancreas dalam usus kecil dalam suasana pH tertentu akan memecah trigliserida (TG). Pertama, asam lemak akan dilepas dari C yang pertama dan ketiga, karena lipase memecah ikatan ester primer. Senyawa dua monoasilgliserol yang terjadi akan diserap (72%), sebagian mengalami isomerisasi menjadi satu monoasil gliserol. Sebagian senyawa ini diserap (6% dari total) dan sebagian (22% dari total) dihidrolisis menjadi asam lemak dan gliserol (langkah 1 dan 2). Gliserol yang terlepas diserap langsung masuk pembuluh vena mesenterikum.



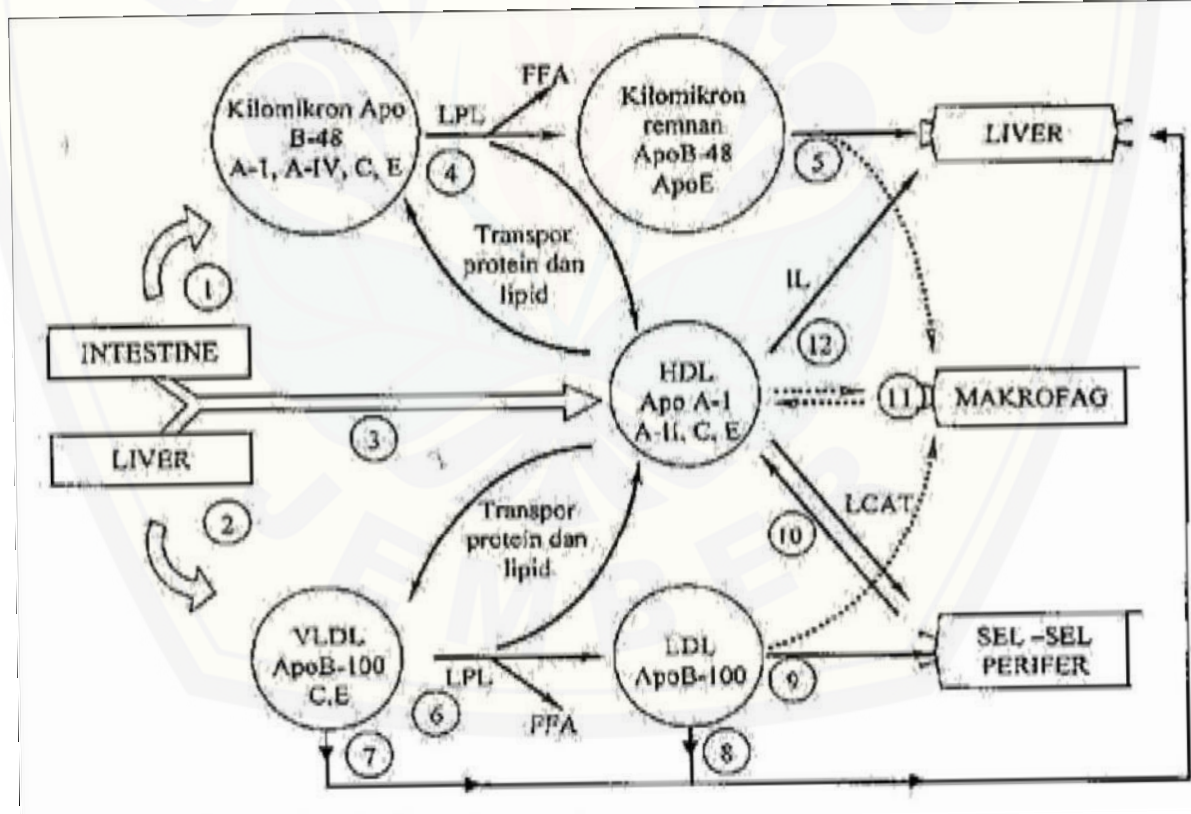
Gambar 2.1 Pencernaan dan Absorpsi Trigliserida (Robert, 2009)

Di dalam sel usus halus asam lemak dan monogliserida akan diserap melalui mikrovili (langkah 3) 2 mono asilgliserol akan disintesis menjadi triasilgliserol. Satu monoasilgliserol yang diserap akan disintesis menjadi

triasilgliserol. Triasilgliseol yang terbentuk dalam sel usus diserap masuk kedalam pembuluh limfe dalam bentuk lipoprotein kilomikron (langkah 4 dan 5).

2.1.3 Metabolisme Lipid

Lemak yang telah mengalami proses pencernaan akan di absorpsi dan di angkut ke dalam darah untuk proses metabolisme (Gambar 2.2). Lemak yang masuk bersama makanan akan dikemas dan diangkut oleh kilomikron (langkah 1) yang kaya akan trigliserida. Dalam plasma, kilomikron akan mengalami lipolisis oleh lipoprotein lipase dengan bantuan kofaktor Apo C-II (langkah 4) menjadi remnan kilomikron dan mengambil Apo E dan kolesterol dari HDL. Remnan ini akan ditangkap dengan cepat oleh hepar melalui reseptor Apo E (langkah 5) (Widiastuti, 2003).



Gambar 2.2 Metabolisme Lipoprotein (Widiastuti, 2003)

Hepar mensintesa VLDL (langkah 2) yang merupakan suatu lipoprotein yang paling banyak mengangkut trigliserida pada saat puasa (trigliserida

endogen). Dalam plasma, VLDL akan mengalami lipolisis menjadi LDL (langkah 6) atau dikatabolisir dalam plasma (langkah 7). Selanjutnya LDL yang banyak mengangkut kolesterol akan mengalami katabolisme dalam hati dan jaringan perifer melalui reseptor LDL ((langkah 8 dan 9). Apo B-100 merupakan protein utama yang didapatkan dalam LDL dan VLDL. Dalam jumlah yang banyak, LDL akan disimpan dalam dinding arteri kemudian mengalami modifikasi dan ditangkap oleh makrofag sehingga dapat menyebabkan aterosklerosis (langkah 11) (Widiastuti, 2003). High Density Lipoprotein (HDL) disintesis oleh hepar dan usus halus (langkah 3), lalu HDL mengambil lipid (fosfolipid dan trigliserida) dan protein (Apo A-1, Apo E, dan Apo C) dari lipoprotein yang kaya trigliserida (kilomikron dan VLDL) pada saat mengalami lipolisis (langkah 4 dan 6). High Density Lipoprotein (HDL) mengambil kolesterol dari jaringan (langkah 10) dan diangkut ke hepar (langkah 12) atau memindahkannya ke lipoprotein lain seperti remnan kilomikron atau VLDL yang kemudian ditangkap oleh hepar. Di dalam hepar, kolesterol ini disekresi ke dalam empedu lalu diubah menjadi asam empedu atau digunakan dalam pembentukan lipoprotein. Oleh sebab itu, penurunan HDL dapat meningkatkan risiko terjadinya aterosklerosis (Widiastuti, 2003).

2.2 Hyper-LDL

LDL merupakan jenis lipoprotein yang paling banyak mengangkut kolesterol di dalam tubuh.(Aji, 2015). *Hyper-LDL* adalah suatu keadaan dimana terjadi peningkatan kadar kolesterol LDL dalam darah yang melebihi nilai normal sehingga menyebabkan HDL tidak dapat mengangkut timbunan lemak di dalam tubuh ke hati (Maria,2012). Kadar kolesterol LDL yang berlebihan dalam darah akan meningkatkan resiko penumpukan kolesterol pada dinding pembuluh darah arteri yang diikuti dengan terjadinya aterosklerosis (Aji, 2015).

Diet hiperlipid dapat meningkatkan kolesterol dalam darah sehingga dapat menyebabkan *hyper-LDL*. Energi tinggi yang dikonsumsi melalui kolesterol yang banyak dapat menyebabkan kelebihan kalori dan lemak sehingga akan disimpan sebagai cadangan energi pada sel lemak dan jaringan lemak (adiposit dan jaringan

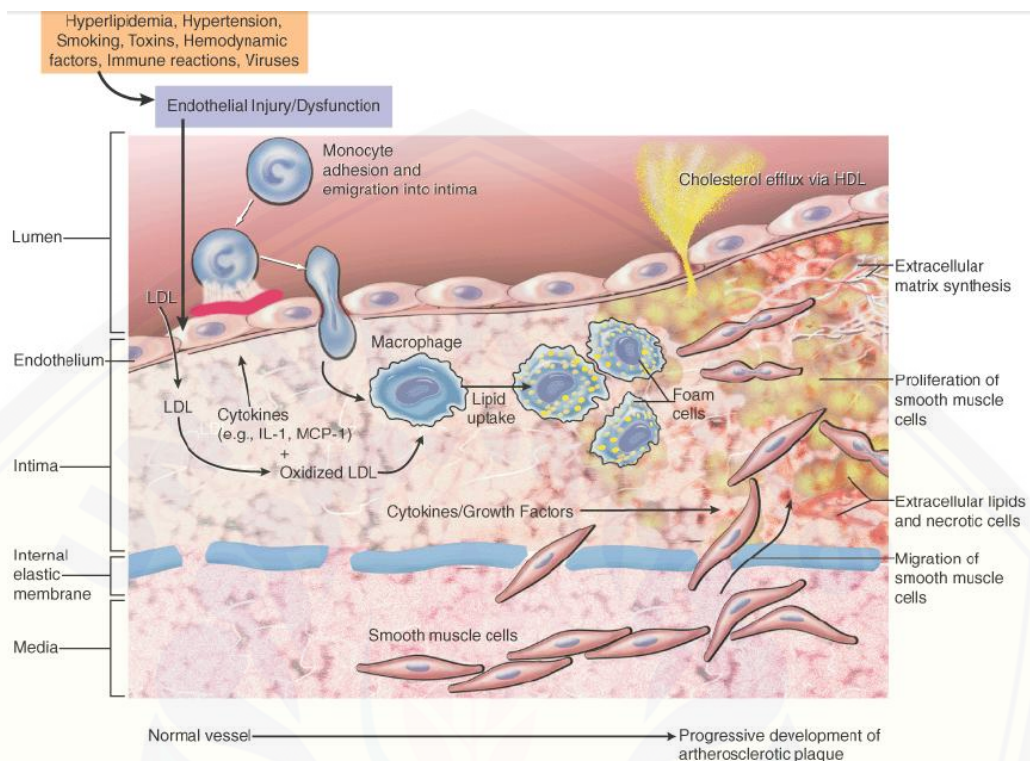
adiposa) (Bays, 2013). Salah satu asupan makanan yang mengandung kolesterol yang tinggi adalah lemak babi dan kuning telur bebek. Kuning telur bebek mengandung 17 gr protein, 35 gr lemak dan kolesterol 884 mg/100 gr yang mampu meningkatkan kadar kolesterol LDL (Badan ketahanan pangan dan penyuluhan provinsi DIY, 2011). Lemak babi mengandung 130 mg/10gr kolesterol dan termasuk dalam kategori hati-hati apabila dikonsumsi (Diyan, 2011). Hiperlipidemia terjadi bila terdapat kadar total kolesterol ≥ 240 mg/dl, kadar LDL ≥ 160 mg/dl, trigeliserida ≥ 200 mg/dl, atau HDL < 40 mg/dl. Angka patokan profil lipid tersebut sebagai pedoman klinis yang penting dikaitkan dengan risiko terjadinya penyakit kardiovaskular (Bahri, 2004).

2.3 Reactive OxygenSpecies (ROS) dalam Hiperlipidemia

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai suatu molekul, atom, atau beberapa atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit luarnya sehingga bersifat sangat reaktif. Suatu molekul bersifat stabil bila elektronnya berpasangan, tetapi bila tidak berpasangan (*single*) molekul tersebut menjadi tidak stabil dan memiliki potensi untuk merusak. Atom atau molekul dengan elektron bebas tersebut dapat berupa stress oksidatif, dimana stress oksidatif merupakan hasil dari ketidakseimbangan dari dua kekuatan yang berlawanan dan antagonis, yaitu ROS dan antioksidan. ROS merupakan hasil dari penambahan satu elektron pada molekul yang mengalami proses reduksi, kemudian berikatan dengan oksigen membentuk dioksigen anion superoksida radikal (Valko Marian *et al.*, 2006).

Stress oksidatif akibat peningkatan ROS yang terjadi pada kondisi hiperlipidemia berpengaruh terhadap peningkatan produk peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi oksidasi spesies oksigen reaktif (ROS) terutama anion peroksia dengan asam lemak tak jenuh ganda (Muchtadi, 2013). Peroksidasi lipid menyebabkan LDL yang teroksidasi tidak lagi dapat dikenal oleh reseptor LDL, sehingga LDL akan diambil oleh reseptor makrofag. Lipid yang teroksidasi (Gambar 2.3) akan di respon oleh makrofag yang menghasilkan sel busa, adanya sel busa dalam tunika intima akan direspon tubuh sebagai reaksi

inflamasi yang ditandai dengan bertambahnya *growth factor* (GH) pada otot polos di tunika media yang menyebabkan proliferasi otot polos.



Lipid yang berlebih menumpuk di permukaan endothel, penumpukan lipid teroksidasi dan membentuk LDL-oks yang kemudian difagosit oleh makrofag dengan bantuan sitokin seperti interleukin 1 (IL-1) dan membentuk *foam cells* yang nekrosis dan membentuk plak. Sel otot polos proliferasi dan migrasi dari tunika media ke intima untuk menutup plak tersebut dengan membentuk *fibrous cap*.

Gambar 2.3 Patogenesis aterosklerosis (Kumar, 2007)

Proliferasi otot polos pada tunika media yang berlebihan akan berakibat ke penebalan tunika intima pembuluh darah yang menyebabkan pembuluh darah menjadi tidak rata akibat tonjolan-tonjolan otot. Seiring dengan makin matangnya lesi, terjadi pembatasan aliran darah, dan remodeling vaskular. Ateroma yang ruptur melepaskan bahan-bahan trombogenik ke dalam sirkulasi, menyebabkan pembentukan trombus di atas ulkus intima (Kumar, 2007)

2.4 Fibrinogen

Darah disusun oleh 2 komponen, yaitu plasma darah dan sel-sel darah. Plasma darah termasuk dalam kesatuan cairan ekstraseluler dengan volume $\pm 5\%$

dari berat badan. Apabila sejumlah volume darah ditambah dengan zat pencegah anti pembekuan darah secukupnya kemudian diputar selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm maka cairan yang terdapat pada bagian atas disebut plasma. Plasma darah mengandung fibrinogen. Oleh karena itu dalam memperoleh plasma, darah dicampur dengan antikoagulan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah (Bakta, 2006).

Plasma darah merupakan bagian cair dari darah yang sebagian besar terdiri atas air, elektrolit dan protein darah. Protein darah tersebut adalah albumin, globulin dan fibrinogen serta unsur anorganik berupa natrium, kalsium, kalium, fosfor, besi, dan yodium. Fibrinogen merupakan suatu glikoprotein dengan berat molekul 330.000 dalton, tersusun atas 3 pasang rantai polipeptida. Protein ini dibentuk oleh hati, mempunyai waktu paruh 3,5-4 hari. Kadar fibrinogen meningkat pada keadaan yang memerlukan hemostasis dan keadaan nonspesifik. Kadar normal fibrinogen plasma adalah 150-400mg/dl sedangkan kadar normal fibrinogen pada plasma darah tikus adalah sebesar 120mg/dl (Kiswari, 2014 ;Widmann, 1995). Fibrinogen yang merupakan protein fase akut dimana kadarnya akan meningkat sebagai respon terhadap terjadinya infeksi, peradangan, stress, tindakan bedah, trauma dan nekrosis jaringan, akibat peningkatan kadar fibrinogen ini akan menyebabkan peningkatan viskositas plasma dan peningkatan agregasi trombosit serta agregasi eritrosit (Ritarwan, 2017).

2.5 Kopi

Kopi merupakan sejenis minuman yang berasal dari proses pengolahan dan ekstraksi biji tanaman kopi. Kopi memiliki nama latin *Coffea sp.* Buah kopi terdiri atas 4 bagian yaitu lapisan kulit luar (exocarp), daging buah (mesocarp), kulit tanduk (parchment), dan biji (endosperm) (Muchtadi, 2013). Ditinjau dari kesehatan, senyawa dalam kopi memiliki khasiat sebagai antibakteri, antiinflamasi dan antioksidan (Hiroshi, 2006; Dupas *et al.*, 2006). Ada tiga spesies kopi yang cukup sering dibudidayakan yaitu kopi arabika (*Coffea arabika*), kopi robusta (*Coffea canephora*), dan kopi liberika (*Coffea liberica*) (Najiyati, 2009).

Kopi mengandung banyak senyawa aktif dari bahan alami termasuk polifenol dan alkaloid. Alkaloid dalam kopi meliputi kafein, kafein merupakan senyawa paling banyak yang ditemukan dalam kopi. Kandungan kafein dalam kopi terbukti memiliki efek antiinflamasi dan immunosupresan (Daly, 2007). Senyawa lainnya merupakan senyawa golongan polifenol, polifenol dalam kopi terdiri dari *Chlorogenic acid*, *Ferulic acid* dan *Caffeic acid* (Pathak *et al.*, 2013). Polifenol telah terbukti memiliki efek biologis yang menguntungkan bagi jantung dan gangguan metabolik, inflamasi dan kanker, stres oksidatif, iskemia serebral, obesitas dan fungsi otak. Sehubungan dengan kerja otak, polifenol telah terbukti untuk mencegah peradangan saraf. Diantara beberapa jenis tanaman kopi yang disebutkan diatas kopi robusta (*Coffea canephora*) mengandung asam klorogenat (CGA) lebih banyak dibandingkan dengan kopi arabika (*Coffea arabica*) dan kopi liberika (*Coffea liberica*) yaitu sekitar 7-14%. (Najiyati, 2009).

2.5.1 Kafein

Efek kafein di dalam tubuh ialah menghambat reseptor adenosine sehingga kurang baik untuk tubuh. Akan tetapi selain bekerja pada reseptor adenosin kafein juga bekerja pada reseptor lain secara tidak spesifik, hal ini tentu saja dapat menyebabkan efek yang bisa menguntungkan untuk tubuh. Kafein telah terbukti meningkatkan kewaspadaan dan kecemasan dan memiliki potensi antiinflamasi dan immunosupresan (Daly, 2007). Kadar kafein pada saliva merupakan index nyata dari kadar kafein plasma, 65-85 % kafein plasma. Kadar puncaknya kurang lebih 0,25-2 mg/l bila dosis secangkir kopinya 0,4-2,5 mg/kg. Untuk dosis kurang dari 10 mg/kg akan didapatkan $T_{1/2}$ 0,7-1,2 jam pada tikus dan mencit, 3-5 jam pada monyet dan 2,5-4,5 jam pada manusia (Lanchare, 2006).

2.5.2 *Chlorogenic acid*

Chlorogenic acid yang merupakan senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan kuat. Antioksidan yang terdapat di dalam kopi ini merupakan kandungan antioksidan terbanyak yaitu kurang lebih 200-550 mg/cangkir dengan aktivitas 26% dibandingkan dengan beta karoten (0,1%), alfa tokoferol (0,3%), vitamin C (8,5%) serta antioksidan lainnya (Lanchare, 2006; DeBruyne *et al.*,

2008). Antioksidan sangat penting dalam usaha untuk menghambat reaksi oksidasi yang menghasilkan radikal bebas dan turunannya (Ciptaningsih, 2012). Kandungan saponin dalam kopi terbukti dapat menghambat pembentukan radikal bebas dengan melepaskan oksigen tunggal sehingga dapat mencegah kerusakan pada sel akibat proses oksidasi (Hall dkk., 2015)

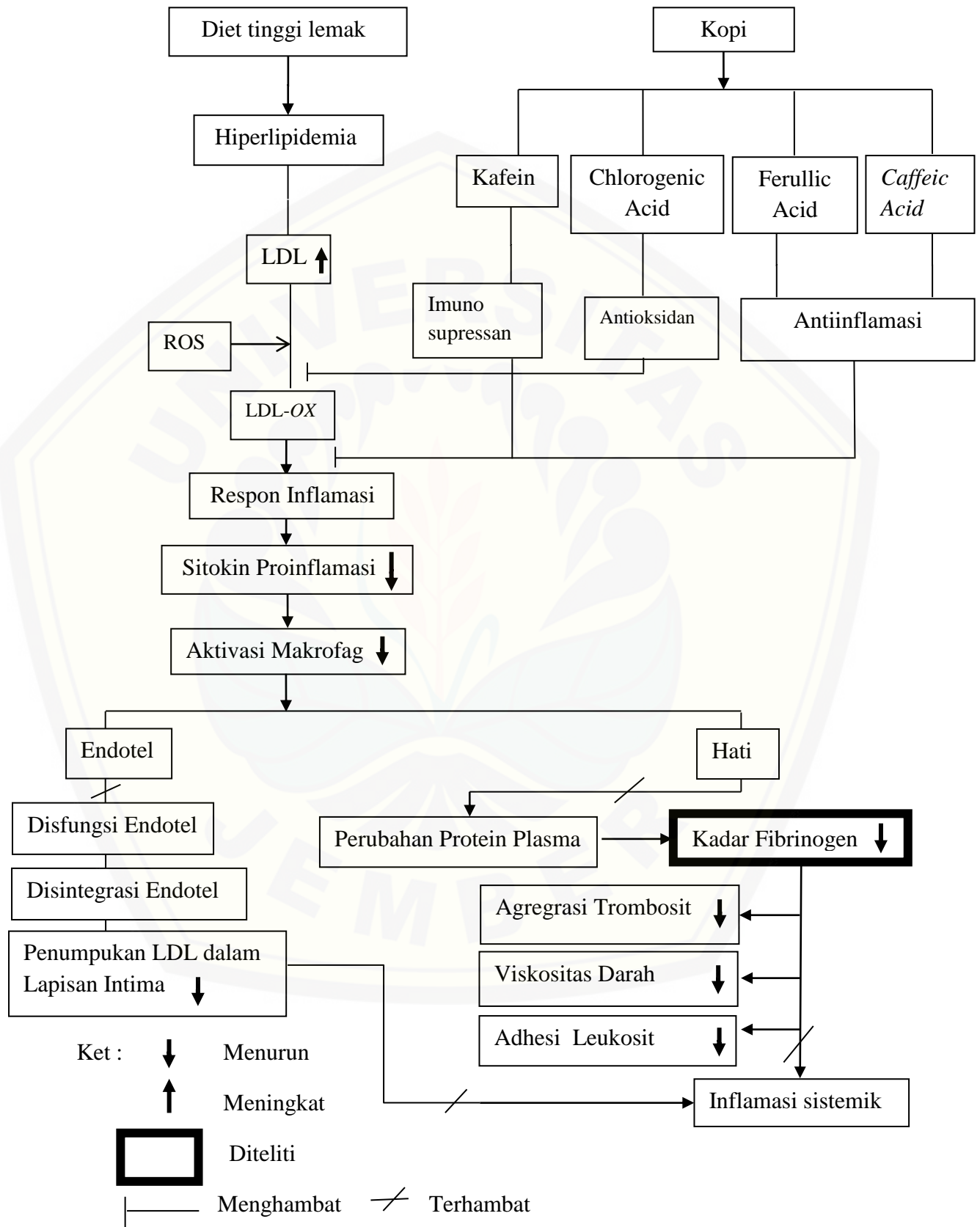
2.5.3 *Ferulic acid*

Ferulic Acid telah terbukti memiliki banyak efek pada peradangan. Ferulic acid memicu penurunan produksi IL-1 β dan TNF- α . Selain itu ferulic acid juga dapat mempengaruhi katabolisme triptofan dalam otak sehingga berperan dapat digunakan sebagai biomarker depresi (Xu *et al.*, 2013).

2.5.4 *Caffeic acid*

Caffeic acid memiliki antioksidan yang kuat dan antiinflamasi (Butt & Sultan, 2011; Kumar *et al.*, 2007; Kang *et al.*, 2009). Kandungan asam kafein dalam kopi juga terbukti memiliki efek anti-inflamasi. Dari penelitian yang telah dilakukan, asam kafein dan salah satu metabolit utama, paraxanthine, berperan untuk menghambat produksi tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) (Hall dkk., 2015). Secara khusus Caffeic acid dapat menekan aktivasi NF-kB, yang penting dalam proses inflamasi (Hall *et al.*, 2015).

2.6 Kerangka Konseptual



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

Penjelasan Kerangka Konsep

Diet tinggi lemak dapat menyebabkan meningkatnya kadar LDL di dalam tubuh (Hyper-LDL). *Hyper-Low Density Lipoprotein* (Hyper-LDL) diyakini sebagai salah satu penyebab inflamasi akibat meningkatnya stress oksidatif yang disebabkan oleh oksidasi LDL menjadi LDL-ox oleh *Reactive Oxidative Species* (ROS). LDL-ox tersebut dikenali sebagai zat asing dalam tubuh yang direspon dengan peningkatan sitokin proinflamasi untuk mengaktifkan makrofag guna mengeliminasi LDL-ox, kondisi tersebut berpengaruh pada endotel dan hati. Salah satu sitokin yang berperan yaitu IL-6 yang bertugas sebagai mediator inflamasi yang menyebabkan terjadinya peningkatan produksi protein plasma seperti fibrinogen di hepar dan pada endotel terjadi disfungsi dan disintegrasi endotel yang menyebabkan terjadinya penumpukan LDL dalam lapisan yang lebih dalam yang disebut lapisan intima inflamasi yang kemudian berakibat pada suatu inflamasi sistemik. Proses tersebut akan dihambat oleh bahan aktif yang terkandung dalam kopi. Kafein yang bersifat immunosupresan dan ferullic acid yang dapat menurunkan stimulasi IL-1 β dan TNF- α akan menurunkan respon inflamasi yang berlebihan dari tubuh. Asam klorogenat yang termasuk golongan fenol akan menghambat oksidasi LDL dengan cara berikatan dengan molekul radikal bebas yang menyebabkan pembentukan dari LDL-oks akan menurun. Efek antiinflamasi dan antioksidan yang dimiliki oleh kopi akan menurunkan reaksi pembentukan ROS sehingga pembentukan LDL-oks yang menyebabkan inflamasi kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar protein plasma menurun.

2.7 Hipotesis

Berdasarkan kajian pustaka maka hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian seduhan biji kopi dapat menurunkan kadar fibrinogen pada tikus dengan kondisi *hyper-LDL*.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *experimental laboratoris*. Desain yang digunakan adalah *post test only control group design*, yaitu melakukan pengamatan dan pengukuran setelah penelitian dengan membandingkan kelompok perlakuan dengan kontrol (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

- a. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan kepada tikus dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- b. Pengukuran kadar fibrinogen serum percobaan dilaksanakan di Laboratorium Klinik Piramida Jember.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2017 – Januari 2018.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan, sehingga variabel bebas dalam penelitian ini adalah diet tinggi lemak dan seduhan kopi robusta

a. Definisi Operasional

Diet tinggi lemak pada penelitian ini adalah pemberian pakan yang mengandung kadar lemak tinggi.

Seduhan kopi pada penelitian ini adalah pemberian seduhan kopi bubuk murni Robusta Gunung Ijen (PTP XII Persero, Jawa Timur, Indonesia).

b. Parameter

Pemberian pakan yang terdiri dari lemak babi dan kuning telur yang dicampur sesuai dosis pada tikus selama 56 hari.

Pemberian seduhan kopi robusta murni sebanyak 3 gram dalam 200 ml air mendidih (100°C) sesuai dengan ketentuan kadar dan dosis pada tikus selama 56 hari.

c. Metode

Pembuatan pakan yang mengandung kolesterol yaitu lemak babi 3 gr/hari dan kuning telur bebek 2 ml/hari yang sebelumnya dikocok terlebih dahulu.

Pembuatan seduhan kopi dibuat dengan cara penyeduhan kopi pada umumnya yaitu melarutkan kopi Robusta murni dengan air mendidih (100°C). Pemberian seduhan kopi dilakukan dengan cara sondase lambung dengan dosis 3,6 ml/hari yang diberikan setiap pagi dan sore hari.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar fibrinogen

a. Definisi Operasional

Fibrinogen dalam penelitian ini adalah salah satu protein plasma darah dalam darah hewan coba.

b. Parameter

Ditandai dengan adanya peningkatan kadar fibrinogen dalam darah hewan coba kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

c. Metode

Pengukuran kadar fibrinogen dilakukan dengan metode *Heat Precipitation Method*.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Kriteria sampel yang meliputi galur tikus, jenis kelamin, berat badan, umur, dan kondisi fisik.
- b. Prosedur penelitian.

3.4 Sampel Penelitian

3.4.1 Kriteria Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria sampel sesuai kriteria inklusi.

3.4.2 Kriteria Inklusi, dan *Drop Out*

a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah jenis tikus yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus (*Rattus norvegicus*), jenis kelamin jantan, berat badan tikus 180-200 gram, umur 3-4 bulan, pakan yang seragam, yaitu pakan normokolesterol standar berupa pakan pelet dan minum aquades dengan kondisi sehat yang ditandai dengan nafsu makan baik dan perilaku normal.

b. *Drop Out*

Hewan coba dinyatakan *drop out* apabila tidak memenuhi kriteria inklusi dan diganti dengan tikus lain sesuai kriteria inklusi sehingga didapat jumlah tikus sesuai perhitungan besar sampel.

3.4.3 Besar Sampel

Besar sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 4 ekor tikus tiap kelompok perlakuan. Adapun besar sampel didapat dari perhitungan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005).

$$\frac{n \geq Z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

n : besar sampel tiap kelompok

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

σ : standar deviasi sampel

d : kesalahan yang masih dapat di toleransi

Dengan asumsi bahwa kesalahan yang masih dapat diterima (σ) sama besar

dengan (d) maka :

$$\frac{n \geq Z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$
$$n \geq (1,96^2)$$
$$n \geq 3,86$$
$$n \geq 4$$

Berdasarkan rumus di atas jumlah sampel minimum yang harus digunakan adalah sebesar 4 sampel untuk masing - masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 12 ekor tikus sebagai sampel yang terbagi secara acak dalam 3 kelompok yang masing - masing terdiri dari 4 ekor.

3.4.4 Pembagian Kelompok dan Pemeliharaan Hewan Coba

Hewan coba dibagi menjadi 3 kelompok secara acak, yaitu :

a. Kelompok 1 : Kelompok control (K)

Selama 8 minggu tikus diberikan pakan yang seragam, yaitu diet normokolesterol standar berupa pakan pelet dan minum secara *ad libitum*.

b. Kelompok 2 : Kelompok Hyper LDL (-) Tanpa Kopi (H)

Selama 8 minggu tikus diberikan perlakuan dengan tambahan pemberian pakan yang mengandung kolesterol yaitu lemak babi 3 gr/hari dan kuning telur bebek 2 ml/hari yang sebelumnya dikocok terlebih dahulu (Harsa, 2014). Serta setiap hari tikus juga diberi pakan standar berupa pakan pelet dan minum secara *ad libitum*.

c. Kelompok 3 : Kelompok Hyper LDL (+) Kopi (C)

Selama 8 minggu tikus diberikan perlakuan dengan tambahan pemberian pakan yang mengandung kolesterol yaitu lemak babi 3 gr/hari dan kuning telur bebek 2 ml/hari yang sebelumnya dikocok terlebih dahulu (Fatimah, 2011). Dilakukan pula pemberian seduhan kopi 3,6 ml/hari. Serta setiap hari tikus juga diberi pakan standar berupa pakan pelet dan minum secara *ad libitum*.

3.5 Alat Penelitian dan Bahan

3.5.1 Alat Penelitian

- a. Alat yang digunakan untuk pemeliharaan dan induksi hewan coba, terdiri dari kandang tikus, tempat makan dan minum tikus, timbangan, sonde lambung, spuit 3 ml, spuit 5 ml, masker, *handscoon*, spidol marker dan skraper untuk membersihkan kandang.
- b. Alat-alat untuk bedah tikus terdiri dari papan *wax*, jarum, pinset anatomis, pinset *chirurgis*, gunting, scalpel, masker, sarung tangan dan wadah untuk membersihkan organ.
- c. Alat untuk pembuatan sediaan darah terdiri dari *vacuum tube*, *sentrifuge*, dan *refrigerator*.
- d. Alat untuk pemeriksaan fibrinogen, terdiri dari *vacuum tube*, *sentrifuge*, *waterbath*, dan *stopwatch*.

3.5.2 Bahan Penelitian

- a. Pelet merk TURBO dan air minum merk Aqua untuk tikus.
- b. Serbuk gergaji.
- c. Kuning telur bebek yang dipisahkan dari putih telurnya dan dibuat emulsi dengan cara mengocok perlahan.
- d. Lemak babi yang diencerkan.
- e. Kopi Robusta merk Gunung Ijen, produksi PTPN XII Jember
- f. Kloroform
- g. EDTA

3.5.3 Pembuatan Pakan Tinggi Lemak

Pembuatan pakan tinggi lemak dilakukan dengan cara memisahkan kuning telur bebek dari putih telurnya dan dibuat emulsi dengan cara mengocok perlahan sebanyak 2 ml/hari dicampur lemak babi 3 gr/hari. Lemak babi diencerkan dengan cara dipanaskan terlebih dahulu. Pada penelitian ini setiap ekor tikus diinduksi lemak babi dan kuning telur bebek melalui sonde lambung yang diberikan dua kali per hari (Harsa, 2014).

3.5.4 Pembuatan Seduhan Kopi

Kopi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kopi bubuk murni yaitu kopi robusta merek Gunung Ijen, produksi PTPN XII Jember. Dosis yang digunakan setara dengan konsumsi secangkir/hari yang diberikan melalui sondasi lambung. Seduhan kopi dibuat dengan cara melarutkan 3 gram bubuk kopi pada 200 ml aquades mendidih selama 3 menit sambil diaduk-aduk. Dosis untuk tikus digunakan perbandingan dosis konversi manusia 70kg dengan tikus 200 gram dengan nilai 0,018 (Laurence, 1964). Sehingga perhitungannya adalah $0,018 \times 200 \text{ ml} = 3,6 \text{ ml}$. Jadi tikus diberi 3,6 ml seduhan kopi /perhari.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Adaptasi Hewan Coba

Hewan coba yaitu tikus Wistar jantan dipelihara dalam 3 buah kandang dimana setiap kandang berisi 5 ekor tikus sesuai dengan pembagian kelompok yaitu kelompok kontrol (K), hyper-LDL (H), dan hyper-LDL dengan kopi (C) dan diadaptasikan selama 7 hari. Selama proses adaptasi tikus diberi pakan sebanyak 10 gram per hari dan air minum diberikan secara *ad libitum*.

3.6.2 Cara Pemberian dan Pembuatan Tikus Hyper-LDL

a. Penentuan dosis dan induksi pakan tinggi lemak

Induksi untuk membuat model tikus hyper-LDL dengan cara memberikan pakan tinggi lemak. Pakan yang diberikan akan dihitung dosisnya berdasarkan tabel dosis konversi manusia dengan tikus putih sesuai berat badan.

	MENCIT 20 g	TIKUS 200 g	MARMUT 400 g	KELINCI 1,5 kg	KUCING 1,5 kg	KERA 4 kg	ANJING 12 kg	MANUSI A 70 kg
MENCIT 20 g	1,0	7,0	12,23	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
TIKUS 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
MARMUT 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
KELINCI 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
KUCING 1,5 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
KERA 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,43	0,1	1,9	6,1
ANJING 12 kg	0,008	0,06	0,1	0,22	1,24	0,52	1,0	3,1
MANUSIA 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Gambar 3.1 Tabel Dosis Konversi (Laurance, 1964)

Dosis untuk tikus digunakan perbandingan dosis konversi manusia 70 kg dengan tikus 200 gram dengan nilai 0,018 (Gambar 3.1) sehingga perhitungannya adalah $0,018 \times 150 \text{ gr/hari} = 2,7 \text{ gram/hari}$ yang dibulatkan menjadi 3 gram/hari untuk lemak babi yang telah diencerkan terlebih dahulu dan 2 ml/hari kuning telur bebek. Pembuatan pakan kolesterol dilakukan dengan cara mencampur lemak babi 3 gr/hari ditambah dengan 2 ml/hari kuning telur bebek yang telah dikocok sebelumnya dan diberikan dua kali per hari untuk setiap tikus selama 8 minggu secara sondase (Harsa, 2014).

b. Penentuan dosis dan induksi seduhan kopi

Tikus diinduksi dengan seduhan kopi. Seduhan kopi dibuat dengan cara melarutkan 3 gram bubuk kopi pada 200 ml aquades mendidih selama 3 menit sambil diaduk-aduk. Dosis untuk tikus digunakan perbandingan dosis konversi manusia 70kg dengan tikus 200 gram dengan nilai 0,018 sehingga perhitungannya adalah $0,018 \times 200 \text{ ml} = 3,6 \text{ ml}$. Jadi tikus diberi 3,6 ml seduhan kopi /perhari dan diberikan dua kali per hari untuk setiap tikus selama 8 minggu secara sondase (Harsa, 2014).

c. Teknik pengambilan darah

Pada hari pertama setelah adaptasi selama 7 hari, dilakukan pengambilan darah dari vena pleksus intraorbitalis untuk mengetahui kadar LDL serum sebelum tikus diinduksi pakan yang mengandung kolesterol. Setiap minggunya pada hari yang sama sampai minggu ke 7 dilakukan *pre test*, yaitu mengukur kadar LDL serum tiap kelompok melalui pleksus vena intraorbitalis. Lalu pada hari pertama minggu ke 8 dilakukan *post test*, yaitu pengukuran kolesterol LDL pada tiap kelompok melalui intrakardial (Cahyani, 2015).

1) Infraorbita

Cara terbaik untuk memperoleh sampel darah adalah melalui sinus orbitalis mata, karena relatif mudah, hanya sedikit membutuhkan peralatan, volume yang diperoleh lebih banyak serta dapat dilakukan pemeriksaan serial tanpa membunuh hewan coba terlebih dahulu. Mata maupun kesehatan hewan tampaknya tidak berpengaruh bila teknik dilakukan dengan benar. Sebelum pengambilan darah dilakukan anestesi dengan injeksi ketalar 10% sebanyak 0,12 ml secara intramuskular. Tikus dipegang dan dijepit di bagian tengkuk dengan jari tangan dan operator memberi tekanan pada vena jugularis di bagian kaudal mandibula. Cara ini dapat membendung aliran kembali darah vena dari sinus orbitalis, kemudian jari telunjuk operator menarik bagian dorsal kelopak mata ke belakang sehingga akan menimbulkan sedikit *exophthalmus*. Tikus dikondisikan senyaman mungkin, kemudian dilakukan penetrasi konjungtiva orbitalis menggunakan tabung mikrohematokrit dengan menggoreskan pada medial cantus mata di bawah bola mata ke arah foramen opticus, agar terjadi ruptur sinus orbitalis yaitu dengan memutar tabung mikrohematokrit, jika diputar 5x maka harus dikembalikan 5x. Darah akan mengalir melalui tabung dan ditampung dalam tabung *ependorf* tanpa EDTA untuk tujuan pengambilan serumnya. Aliran darah akan terhenti bila tabung

dilepaskan dan tekanan pada vena jugularis dihilangkan (Laboratorium Biosains UB, 2012).

2) Intrakardial

Pengambilan darah secara intrakardial dilakukan setelah tahap perlakuan berakhir, yaitu pada hari pertama minggu ke-8. Sebelum dilakukan pengambilan sampel darah, semua peralatan dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70%. Tikus diambil dari kandang dan dieutanasia dengan metode inhalasi menggunakan kapas yang telah dibasahi dengan chloroform dilanjutkan dislokasi servikal. Tikus difiksasi pada papan bedah paraffin dan dilakukan pembedahan sampai organ jantung terlihat. Darah diambil secara intrakardial menggunakan *disposable syringe* sebanyak ± 3 ml. Darah yang telah diambil dimasukkan dalam tabung *ependorf* tanpa EDTA yang bersih dan kering (Alwiyah, 2012).

3.6.3 Pemeriksaan dan Perhitungan Kadar Fibrinogen

Pemeriksaan dan perhitungan kadar fibrinogen serum tikus dilakukan dengan cara :

- a. Pengambilan darah dilakukan dan ditampung dalam 2 *vacuum tube* masing-masing 1,5 ml, yang pertama berisi darah dan *vacuum tube* kedua berisi darah ditambahkan dengan heparin atau EDTA dan dilarutkan
- b. Darah yang telah ditampung dalam *vacuum tube* pertama dilakukan sentrifuse selama 200 detik dengan kecepatan 5000 rpm suhu ruang untuk dipisahkan dan dibaca konsentrasi protein plasma menggunakan refraktometer (g%)
- c. Darah yang telah dicampur dengan heparin atau EDTA pada *vacuum tube* kedua dilakukan inkubasi selama 3 menit dalam *waterbath* dengan suhu 58⁰C. Fibrinogen akan terlihat seperti lingkaran putih diatas sel darah merah
- d. Setelah inkubasi sempurna selama 3 menit darah kembali di *sentrifuge*

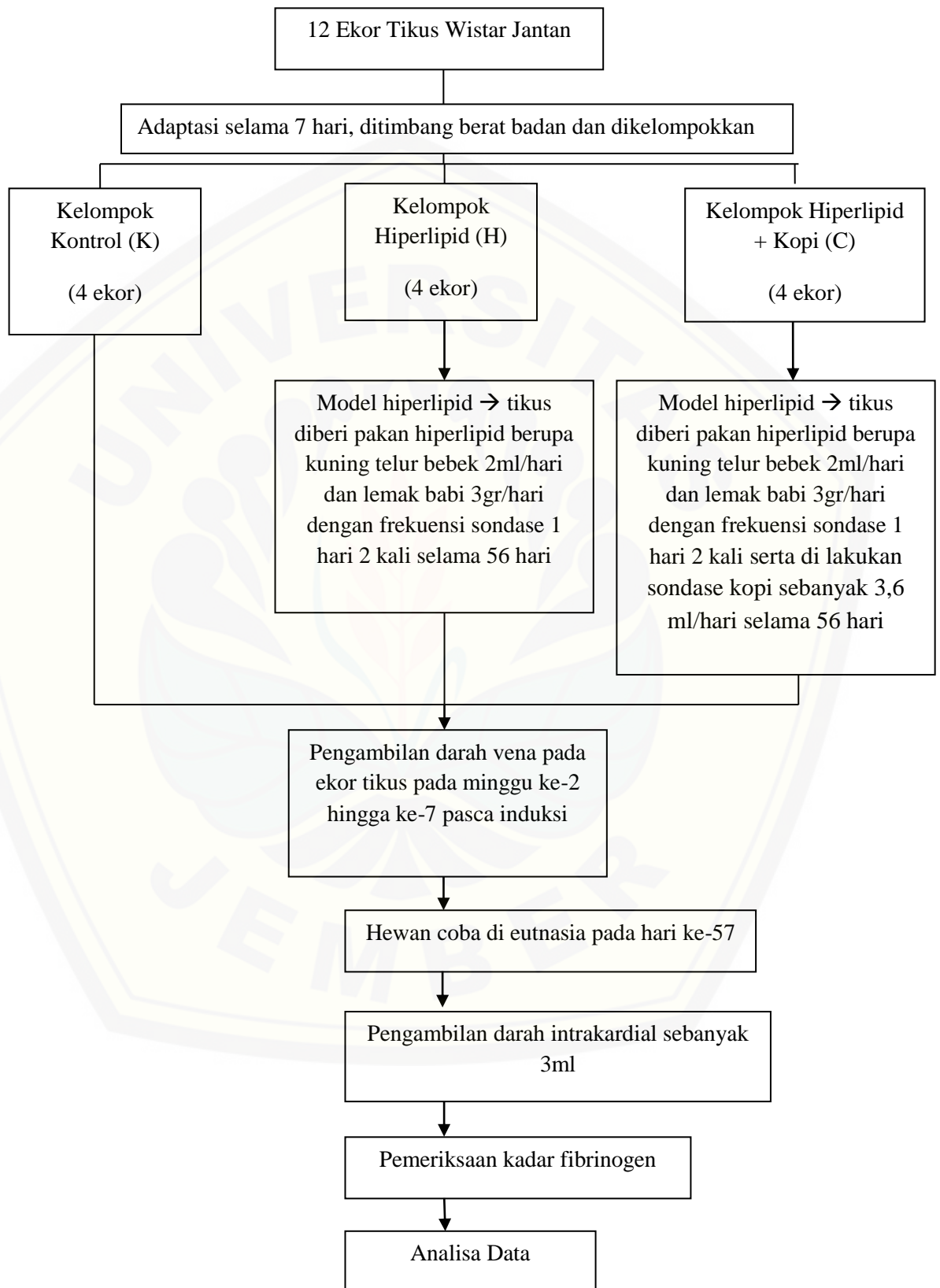
selama 200 detik dengan kecepatan 5000 rpm suhu ruang untuk dilihat konsentrasi protein dalam plasma yang tersisa.

- e. Konsentrasi atau kadar fibrinogen akan dihitung dengan menggunakan refraktometer berdasar perbedaan konsentrasi protein pada *vacuum tube* pertama dan *vacuum tube* kedua. Hasil konsentrasi akan didapat dari mengurangi total protein pada *vacuum tube* kedua dengan *vacuum tube* pertama dalam g/dl. Hasil dikalikan 1000 untuk mendapatkan konsentrasi fibrinogen dalam mg/dl (Schalm,1980).

3.7 Analisis Data

Penelitian ini menghasilkan data kuantitatif. Data kuantitatif berupa hasil penghitungan kadar fibrinogen. Data dianalisa dengan analisis data secara komputerisasi menggunakan software SPSS (Statistical Package for the Social Science). Hasil penghitungan kadar fibrinogen diuji menggunakan uji normalitas dengan Kolmogorov-Smirnov dan uji reabilitas. Apabila data hasil sebaran data normal dan reabel, maka dianalisis dengan uji *one way annova* dan dilanjutkan uji *Least Significance Diffirence* (LSD) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa konsumsi seduhan kopi dapat menurunkan kadar fibrinogen pada inflamasi sistemik oleh karena kondisi *hyper*-LDL.

5.2.Saran

Pada penelitian ini terdapat keterbatasan penelitian, sehingga saran untuk penelitian selanjutnya adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh konsumsi kopi berbagai dosis perbandingan untuk menghambat inflamasi sistemik.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai durasi pemberian seduhan kopi terhadap perubahan kadar fibrinogen pada inflamasi sistemik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, B. 2003. *Manfaat Diet Pada Penanggulangan Hiperkolesterolemi*. USU
- Aini, N, Trianike. 2016. *Identifikasi Lesi Aterosklerosis Koroner Pada Tikus Hyper low density lipoproteinemia*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Alwiyah, S. 2012. *Perbedaan Kadar Low Density Lipoprotein (LDL) Darah Tikus Wistar (Rattus norvegicus) Jantan Setelah Dipapar Stresor Rasa Sakit Renjatan Sakit*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Badan ketahanan pangan dan penyuluhan provinsi DIY. 2011. *Kandungan Gizi Bahan Pangan Dan Hasil Olahannya (Golongan IV: Telur)*. Yogyakarta: p.10.
- Bakta, I Made. 2006. *Hematologi Klinik Ringkas*. Jakarta : EGC
- Bays. M. D. 2013. *Obesity, Adiposity, And Dyslipidemia : A consensus statement from National Lipid Association*.
- Butt, M S, and Sultan M T. 2011. *Ginger and its Health Claims: Molecular Aspects*. Critical Reviews In Food Science and Nutrition 51. Taylor and Francis Group : 383-391.
- Calabro, P., Willerson, J.T., Yeh, E.T.H. 2003. *Inflammatory Cytokines Stimulated C-Reactive Protein Production by Human Coronary Artery Smooth Muscle Cell*. *Circulation*, 108 : 1930-32
- Cahyani, H. 2015. *Efek Terapi Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos caudatus) dan Rosuvastatin terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Tikus Dislipidemia*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Constantinides, P. 2004. *General Pathobiology*. New Yersey: Appleton and Lange.
- Daly, J W. 2007. *Caffeine analogs : Biomedical Impact*. *Cell. Mol. Life Sci.*, 64(16) : 2153-2169.
- Daniel, W. 2005. *Biostatic a Foundation for Analysis in The Health Science*, 6th Edition. Canada : John Wiley and Sons, Inc.

- DeBruyne, L K., Pinna, K. & Whitney, E. 2008. *Nutrition and diet therapy*. Belmont : Thomson Wadsworth.
- Dorlan, W. A. 2006. *Kamus Kedokteran Dorland*. Edisi 29. Jakarta : EGC.
- Diyani, Y. 2011. *Pengaruh pemberian nata de coco terhadap kadar kolesterol LDL dan HDL pada tikus hiperkolesterolemia*. Artikel Ilmiah. Semarang: Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Dupas, C J., Marsset-Baglier, A C., Ordonaud, C S., Ducept, F., Mailard, M N. 2006. *Coffee Antioxidant Properties : Effect of Milk Addition and Processing Conditions*. Issue and Journal of Food Science : Vol 71 253-258.
- Grassi, Giovambattista D., and Claudio F. 2010. *Flavonoids: Antioksidants againts Atherosclerosis*. MDPI nutrients. P1- 14.
- Hall, S., Desbrow, B., Anoopkumar-Dukie, S. 2015. *A Review of the Bioactivity of Coffee, Caffeine, and Key Coffe Constituent on Inflammatory Responses Linked to Depression*. Food and research International 76 : 626-636.
- Handayani, Tut Wuri. 2013. *Penilaian Kadar Fibrinogen Pada Subjek Sindroma Metabolik dan Obesitas*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Harsa, S, Made I. 2014. Efek pemberian diet tinggi lemak terhadap profil lemak darah tikus putih (*rattus novergicus*). Jurnal ilmiah kedokteran: Vol. 3, No.1.
- Hiroshi, A. 2006. *Metabolism of Alkaloids in Coffee Plants*. Braz J Plant Physiol. Vol. 18 No. 1.
- Imron R, et al. 2017. *Analisis kadar fibrinogen sebagai biomarker diabetik pada tikus wistar yang diinduksi streptozotocin*. Yogyakarta: Universitas Gajahmada.
- Kang, T H., Park, H M., Kim, Y B., Kim, N., and Do, J H. 2009. *Effects of Red Gingseng Extract on UVB Irradiation Induced Skin Agingin Hairless Mice*. J Ethnopharmacol. Vol 123 No. 3 : 446-451.
- Kumar, Vinay. 2007. *Robbins Basic Pathology: The Blood Vessels, 8th Edition*. [ebook]. Philadelphia : Elsevier 343 - 353.
- Lanchare, M P. 2006. *The Pharmacology and Toxicology of Caffeine*. J Food Savety : 71-112

- Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya. 2012. *Manual Prosedur Pengambilan Darah, Perlakuan, dan Injeksi pada Hewan Coba*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Laurence, D R., Bacharach, A L. 1964. *Evaluation of Drug Activities: Pharmacometrics*. London and New York : Academic Press.
- Loberto, J., Martin, C., Santos S., Cortelli, J., Jorge, A. 2004. *Staphylococcus sp in the Oral Cavity and Periodontal Pockets of Cronise Periodontitis Patiens*. Braz Microbial Journal.
- Mayo. 2005. Arteriosclerosis / Artherosclerosis. Available from <http://www.mayoclinic.com> (Diakses pada 17 September 2017).
- Maria, F. 2012. Dietary Cholesterol Affects Plasma Lipid Levels, the Intravascular Processing of Lipoproteins and Reverse Cholesterol Transport without Increasing the Risk for Heart. *Nutrients Journal*. ISSN 2072-6643. Vol. 4, 1015-1025.
- Muchtadi, D. 2013. *Antioksidan dan Kiat Sehat di Usia Produktif*. Bandung : Penerbit Alfabeta.
- Nadie F. dan Rendra C.P. 2018. Efek Seduhan Kopi Robusta terhadap Profil Lipid Darah dan Berat Badan Tikus yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak. *Jurnal Kedokteran Brawijaya* 30(1):7-11
- Najiati, S., Danartri. 2009. *Kopi : Budidaya dan Penanganan Pasca Panen*. Jakarta Penebar Swadaya :189-190.
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Pustaka.
- Pathak, L., Agrawal, Y., Dhir, A. 2013. *Natural Poluphenols in the Management of Major Depresion*. Expert Opin Investig Drugs.
- Pande, S. 2012. Antihypercholesterolaemic influence of dietary tender cluster beans (*Cyamopsis tetragonoloba*) in cholesterol fed rats. *Indian J Med Res* 135. pp 401-406.
- Permana, R. et al., *Analisis Histomorfometrik Pembentukan Lesi Aterosklerosis Koroner pada Model Tikus (Rattus norvegicus) Periodontitis*. Journal of Dentistry Indonesia: Vol. 20, No. 3, 73-77.
- Pierce, G. N. et.al. 2007. *Dietary Flaxseed Inhibits Atherosclerosis in The LDL Receptor-deficient Mouse in Part Through Antiproliferative and Antiinflammatory Actions*. Canada: *Am J Physiol Heart*. Vol. 293: 394-402.

- Putu Filla J.F. 2015. *Hs-Crp As Biomarker Of Coronary Heart Disease*. Lampung :Universitas Lampung.
- Rahayu, M. 2011. *Pemeriksaan Fraksi Lipid Pada Penderita Diabetes*.
- Retta Kristina Sihombing, Zulfikar Lubis, Isfanuddin Nyak Kaoy. 2014. *Kadar fibrinogen pada penderita penyakit jantung koroner yang dilakukan angiografi*. Medan: Universitas Sumatra Utara.
- Riesanti, D. G., Padaga, M. C., Herawati. 2013. *Kadar HDL, Kadar LDL dan Gambaran Histopatologi Aorta Pada Hewan Model Tikus (Rattus Norvegicus) dan Hiperkolesolemia dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (Dendrophithoe Pentandra)*. Malang : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
- Ritarwan K, Yenita. 2017. *Nilai Prognostik Parameter Fibrinogen dan Uji Reliabilitas terhadap Outcome Stroke Iskemik Akut*. Buletin Farmatera 57 Fakultas Kedokteran (FK) Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara (UMSU): Vol 2, No.2 E-ISSN: 2528-410X.
- Rizki Nur Fitria, Suryono, Rini Riyanti. 2017. *Analisis Nilai Laju Endap Darah pada Pasien Sindrom Koroner*. Jember: Universitas Jember.
- Schila S, Markus E, Wolfgang M, Jasmin A, Peter Q, Helmut R, Gerald M, Erich M, Oswald W, Martin S. 2005. *Prognostic Impact of Fibrinogen in Carotid Atherosclerosis*. Departments of Angiology (S.S., W.M., J.A.E.M., M.S.), Medical and Chemical Laboratory Diagnostics (M.E., P.Q., H.R., O.W.), and Cardiology (G.M.), Medical University of Vienna, Austria.
- Scott, et al. 2006. *Efficient algorithms for detecting signaling pathways in protein interaction networks*. J Comput Biol 13(2):133-44.
- Setiawan Ivan, Wardhani Viera, Sargowo Djanggan. *Akurasi Fibroinogen dan Hs-CRP sebagai Biomarker pada Sindroma Koroner Akut*. Jurnal Kedokteran Brawijaya; 2011 Vol.26 No.4.
- Suryohudoyo, P. 2002. *Kapita Selektta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Jakarta : CV Sagung Seto.
- Thendry, A. 2015. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kunyit Terhadap Gambaran Histopatologi Aorta Tikus Wistar (Rattus novergicus) Hiperlipidemia*. **Jurnal e-Biomedik (eBm)** : Vol 3, No 1.

Umeno A., Masanori H., Kazutoshi M., Yoshihiro N and Yasuzaku Y. 2016. *Antioksidative and Antidiabetics Effects of Natural Polyphenols and Isoflavones*. MDPI Molecules. P7-15.

World Health Organization (WHO). 2012. *Prevention of Cardiovascular Disease*. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.

Xu H, Barnes GT, Yang Q, *et al* (2003). Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 112, 1821-1830

Yashin, Y I., Chernousova, N.I., Fedina, P.A., Levin, D.A., Mironov, S.A. 2013. *Determination of antioxidants in coffee by an amperometric method*. *Beer Beverages*, 2, 45–47

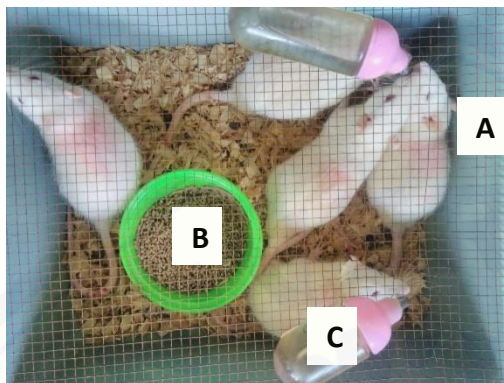
Yunita Arliny. 2012. *Pengukuran Kadar Fibrinogen Sebagai Petanda Inflamasi Sistemik Pada Pasien Penyakit Paru Obstruktif Kronik*. Banda Aceh: Universitas Syiah Kuala.

Zimmerman JL. *Fundamental critical care support*. 3rd ed. Illinois: Society of Critical Care Medicine; 2002.

LAMPIRAN A. Alat dan Bahan Penelitian

A.1 Alat Penelitian

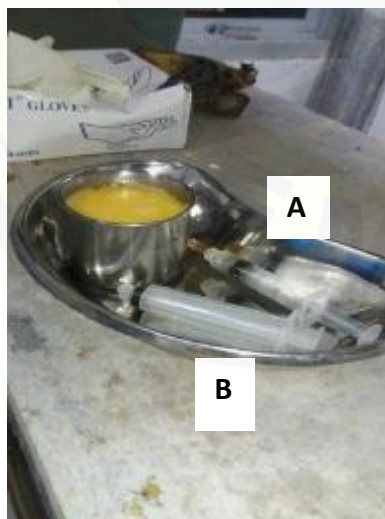
1. Alat Pemeliharaan Hewan Coba



Keterangan :

- A. Kandang
- B. Tempat Makan
- C. Tempat Minum
- D. Timbangan Digital

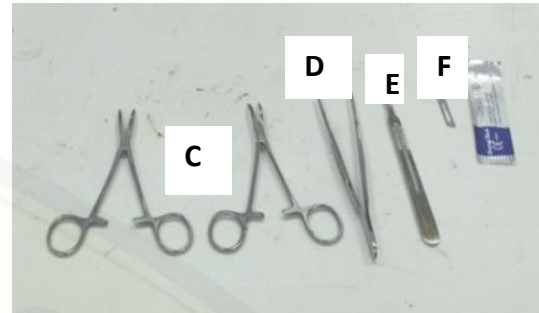
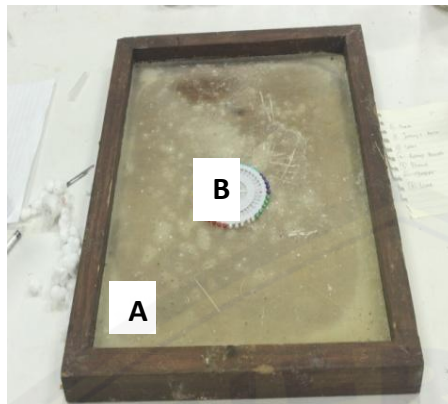
2. Alat Pemberian Pakan Hiperlipid



Keterangan :

- A. Sonde Lambung
- B. Syringe 10 ml

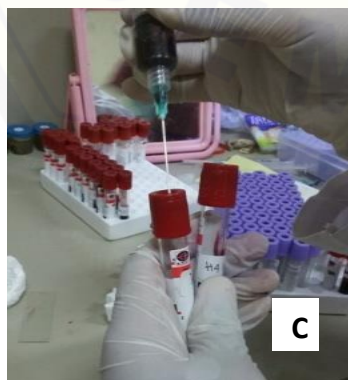
3. Alat Pembedahan Hewan Coba



Keterangan :

- A. Papan Fiksasi
- B. Jarum Pentul
- C. Gunting Bedah
- D. Pinset Anatomi
- E. Scalpel
- F. Blade Scalpel

4. Alat Pemeriksaan dan Perhitungan Kadar Fibrinogen



Keterangan :

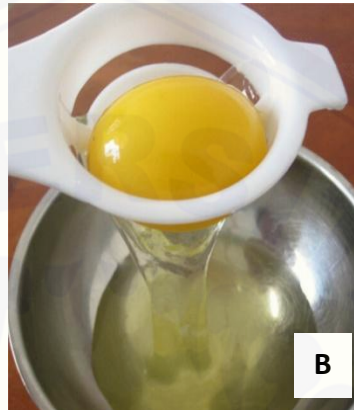
- A. Sentrifuge

B. *Freezer*

C. *Vacuum tube*

D. *Waterbath*

A.2 Bahan Penelitian



Keterangan :

A. Lemak Babi

B. Kuning Telur Bebek

C. Kopi Robusta "Gunung Ijen" PTP

XII Persero

D. Kloroform

LAMPIRAN B. Prosedur Penelitian

B.1 Adaptasi Hewan Coba



B.2 Proses Pembuatan Pakan Tinggi Lemak dan Seduhan Kopi



Keterangan:

A. Pemuatan Pakan Tinggi Kolesterol

B. Pembuatan Seduhan Kopi

B.3 Proses Pembedahan Hewan Coba



A. Anastesi inhalasi *cloroform*



B. Pembedahan hewan coba untuk pengambilan darah intrakardial

B.4 Proses Persiapan Plasma Darah



A. Pemisahan darah kedalam 2 *vacuum tube*



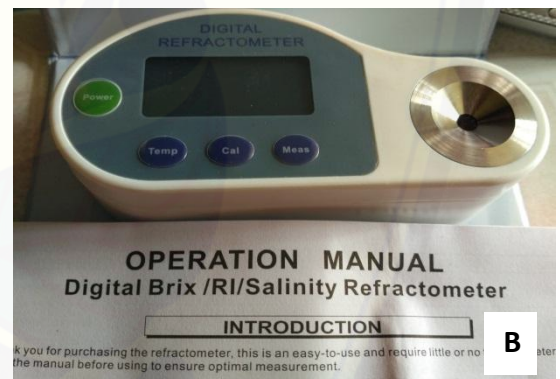
B. Proses sentrifugasi darah menggunakan *sentrifuge*



B.5 Proses Perhitungan Kadar Fibrinogen




A. Inkubasi darah menggunakan *waterbath* selama 3 menit



B. Pembacaan kadar fibrinogen menggunakan refraktometer

LAMPIRAN C. Data Hasil Penelitian

C.1 Hasil Pengukuran Kadar fibrinogen

 *Your Health is Our Passion*
"Mutu Diagnosa dan Pelayanan yang kami Utamakan"

Jl. Moth. Seruji No. 84
Telp. (0331) 424567 Fax. (0331) 484314
Email : lab.klinik.piramida@gmail.com
Ijin DINKES nomer : 440/2272/414/2013

PEMERIKSAAN KADAR FIBRINOGEN FKG UNEJ
18 MEI 2017

NO	KODE SAMPEL	KADAR FIBRINOGEN
1	C- 1	120
2	C-2	116
3	C-3	121
4	C-4	118
5	H-1	133
6	H-2	141
7	H-3	130
8	H-4	137
9	K-1	121
10	K-2	120
11	K-3	130
12	K-4	118

Nilai Normal : (TIKUS PUTIH)
KADAR FIBRINOGEN : 120 mg/dl

JEMBER, 18 MEI 2017
PEMERIKSA
LABORATORIUM KLINIK
PIRAMIDA
Jl. Moth. Seruji 84 Jember
Telp. (0331) 424567
AYU BEKTI. C. Amd. AK

LAMPIRAN D. Hasil Uji Statistik

D.1 Hasil Uji Statistik (Kadar Fibrinogen)

a. Uji Normalitas (Shapiro-Wilk Test)

Test of Normality

perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
1	.171	2	.	.996	2	.108
2	.174	4	.	.980	4	.909
3	.243	4	.	.967	4	.821

a. Test distribution is Normal

b. Calculated from data

b. Uji Homogenitas (Levene's Test)

Test of Homogeneity of Variances

KADAR FIBRINOGEN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.589	2	6	.584

c. Uji *One Way ANOVA***ANOVA**

KADAR FIBRINOGEN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	779.250	2	389.625	36.104	.000
Within Groups	64.750	6	10.792		
Total	844.000	8			

d. *Post-hoc Test*

Multiple Comparisons

KADAR FIBRINOGEN

LSD

(I)	(J)			
KELOM	KELOM			
POK	POK			
PERLA	PERLA			
KUAN	KUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
C	H	-18.25000*	2.50901	.000
	K	3.75000	2.84495	.236
H	C	18.25000*	2.50901	.000
	K	22.00000*	2.99884	.000
K	C	-3.75000	2.84495	.236
	H	-22.00000*	2.99884	.000

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.


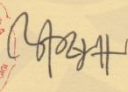
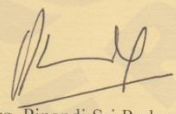
Multiple Comparisons

KADAR FIBRINOGEN



LSD

(I)	(J)	95% Confidence Interval	
KELOM	KELOM		
POK	POK		
PERLA	PERLA		
KUAN	KUAN	Lower Bound	Upper Bound
C	H	-24.3893	-12.1107
	K	-3.2113	10.7113
H	C	12.1107	24.3893
	K	14.6621	29.3379
K	C	-10.7113	3.2113
	H	-29.3379	-14.6621

LAMPIRAN E. Sertifikat *Ethical Clearance* Penelitian

 <p>KOMISI ETIKA PENELITIAN FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS GADJAH MADA Sekretariat: Fakultas Kedokteran Gigi UGM Jl. Denta Sekip Utara Yogyakarta Telp. 081239447900</p>	
<p>KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN ("ETHICAL CLEARANCE") No.001062/KKEP/FGK-UGM/EC/2017</p>	
<p>Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:</p>	
Judul	: KAJIAN EFEK KOPI PADA INHIBISI ATEROSKLEROSIS KAROTIS
Peneliti Utama	: drg. Rendra Chriestedy Prasetya, M.DSc
Anggota Penelitian	: drg. Nadie Fatimatuzzahro, M.DSc
Penanggung Jawab Medis	: drg. Rendra Chriestedy Prasetya, M.DSc
Unit/Lembaga	: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Lokasi Penelitian	: 1. Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember 2. Laboratorium Biomolekuler Universitas Jember
Waktu Penelitian	: Mei 2017 – Selesai
<p>Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.</p>	
<p>Wakil Dekan Bidang Penelitian, Pengabdian Kepada Masyarakat dan Kerjasama</p>  <p>drg. Triana Wahyu Utami, M.DSc., Ph.D.</p>	<p style="text-align: right;">Yogyakarta, 4 Mei 2017</p> <p>Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM</p>  <p>Prof. Dr.drg. Pinandi Sri Pudyani, SU., Sp.Ort(K)</p>

LAMPIRAN F. Surat Ijin Penelitian

	KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS JEMBER FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎ (0331) 333536, Fak. 331991
<hr/>	
Nomor	: 0723 /UN25.8/TL/2018
Perihal	: Ijin Penelitian
Kepada Yth Kepala Bagian Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember Di Jember	
Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan Ijin Penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :	
1	Nama : Rudy Ramadhana P
2	NIM : 141610101088
3	Semester/Tahun : 2017/2018
4	Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5	Alamat : Jl. Mastrib 2 No10
6	Judul Penelitian : Efek Pemberian Seduhan Kopi Robusta Terhadap Kadar Fibrinogen Pada Model Tikus Wistar Yang Diberi Pakan Tinggi Lemak
7	Lokasi Penelitian : Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
8	Data/alat yang dipinjam : -
9	Waktu : November 2017 S/d Selesai
10	Tujuan Penelitian : Untuk Menganalisis Efek Pemberian Seduhan Kopi Robusta Terhadap Kadar Fibrinogen Pada Model Tikus Wistar Yang Diberi Pakan Tinggi Lemak
11	Dosen Pembimbing : 1. drg. Rendra Chriestedy P, MDSc 2. Prof. Dr. drg IDA Ratna Dewanti, M.Si
Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih	
	
Dekan Dekan I, drg. IDA Susilawati, M.Kes NIP.196109031986022001	



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 6723 /UN25.8/TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth
Direktur RSGM Universitas Jember
Di
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan Ijin Penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Rudy Ramadhana P |
| 2 | NIM | : 141610101088 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrib 2 No10 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Efek Pemberian Seduhan Kopi Robusta Terhadap Kadar Fibrinogen Pada Model Tikus Wistar Yang Diberi Pakan Tinggi Lemak |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : - |
| 9 | Waktu | : November 2017 S/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Efek Pemberian Seduhan Kopi Robusta Terhadap Kadar Fibrinogen Pada Model Tikus Wistar Yang Diberi Pakan Tinggi Lemak |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Rendra Christedy P, MDSc
2. Prof. Dr. drg IDA Ratna Dewanti, M.Si |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Dr. IDA Susilawati, M.Kes
NIP.196109031986022001

LAMPIRAN G. Surat Keterangan Spesies Hewan Coba

WISTAR FARM

MENYEDIAKAN : TIKUS PUTIH JENIS MENCIT , JENIS RATTUS NOVERGICUS / GALUR
 WISTAR. UNTUK PRAKTEK LABORATORIUM DAN MAKANAN REPTIL SEGALA UKURAN
 HUBUNGI Bpk.PURNOMO Tlp . 085791333775
 ALAMAT : SUMBER SEKAR RT 02. RW 03 KECAMATAN DAU, KABUPATEN MALANG
 JAWA TIMUR

KETERANGAN

YANG BERTANDA TANGAN DI BAWAH INI :

NAMA PETERNAK : PURNOMO

ALAMAT : SUMBER SEKAR RT.02. RW 03 KECAMATAN DAU, KAB. MALANG

MENERANGKAN DENGAN SEBENAR BENARNYA BAHWA ,TELAH MENJUAL TIKUS PUTIH.

JENIS / SPESIES : WISTAR / Rattus Novergicus

UMUR : 3 - 4 BULAN

BERAT : 170 - 250 gr

JENIS KELAMIN : JANTAN

STATUS KESEHATAN : SEHAT

DEMIKIANLAH KETERANGAN DARI SAYA SELAKU PETERNAK DAN SEBAGAI PENJUAL.

MALANG,.....

HORMAT SAYA



(PURNOMO)