



**EFEKTIVITAS PEMBERIAN SEDIAAN ANTIOKSIDAN HIDROLISAT
PROTEIN IKAN BERMUTU INFERIOR TERHADAP PENURUNAN
KADAR MDA DAN PERUBAHAN PROFIL LIPID DARAH TIKUS
WISTAR JANTAN**

SKRIPSI

Oleh :

Dinda Aulia Rizky

151710101036

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2020





**EFEKTIVITAS PEMBERIAN SEDIAAN ANTIOKSIDAN HIDROLISAT
PROTEIN IKAN BERMUTU INFERIOR TERHADAP PENURUNAN
KADAR MDA DAN PERUBAHAN PROFIL LIPID DARAH TIKUS
WISTAR JANTAN**

SKRIPSI

Oleh :

Dinda Aulia Rizky

151710101036

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2020



**EFEKTIVITAS PEMBERIAN SEDIAAN ANTIOKSIDAN HIDROLISAT
PROTEIN IKAN BERMUTU INFERIOR TERHADAP PENURUNAN
KADAR MDA DAN PERUBAHAN PROFIL LIPID DARAH TIKUS
WISTAR JANTAN**

SKRIPSI

Diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh :

Dinda Aulia Rizky

151710101036

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2020

PERSEMBAHAN

Segala puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT Tuhan semesta alam atas seluruh nikmat yang telah diberikan serta Shalawat kepada baginda Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi tauladan hingga akhir zaman, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah memberikan hidayah, nikmat, kelapangan hati yang tiada hentinya dalam melaksanakan penelitian ini;
2. Orang tuaku yang selalu mendoakan dan tak henti – hentinya memberikan dorongan semangat, spiritual yang tak terhingga;
3. Kakakku Mifta Febriansyah dan Uswatun Hasanah yang tak pernah henti memberikan dukungan untuk menyelesaikan skripsi serta selalu memberikan nasihat untuk tetap berdiri tegak disaat rapuh;
4. Semua guru saya mulai TK sampai dosen di perguruan tinggi yang terhormat, telah memberikan ilmu yang bermanfaat serta membimbing dengan penuh kasih sayang dan kesabaran;
5. Jajaran Dekanat Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
6. Teman – teman THP C 2015 yang telah menemani selama 4 tahun terakhir menuntut ilmu di FTP Universitas Jember;
7. Almamater tercinta, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
8. Diri sendiri, yang telah berjuang melakukan yang terbaik dan kuat berdiri hingga pada tahap ini.

MOTTO

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan; Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan; Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan) tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain); dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.”

(QS. Al – Insyirah 94:6-8)

“Be comfortable with yourself, keep your head up even your heart broke, lets go with the flow and don't forget to put your smile on your face, spread postive vibes only”

“Sesungguhnya.. aku sesuai dengan prasangka hamba kepada Ku, Aku bersamanya ketika dia berdoa kepada Ku”

(Muttafaqun ‘alaih)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Dinda Aulia Rizky

NIM : 151710101036

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efektivitas Pemberian Sediaan Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Bermutu Inferior Terhadap Perunan Kadar MDA dan Perubahan Profil Lipid Darah Tikus Wistar” adalah benar – benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya tiruan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekana dan paksaan dari pihak manapun serta berdsedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Januari 2020

Yang menyatakan,

Dinda Aulia Rizky

NIM 151710101036

SKRIPSI

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN SEDIAAN ANTIOKSIDAN HIDROLISAT
PROTEIN IKAN BERMUTU INFERIOR TERHADAP PENURUNAN
KADAR MDA DAN PERUBAHAN PROFIL LIPID DARAH TIKUS
WISTAR JANTAN**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : **Prof. Dr. Yuli Witono., S.TP.,M.P**

Dosen Pembimbing Anggota : **Ir. Mukhammad Fauzi., M.Si**

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Efektivitas Pemberian Sediaan Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Bermutu Inferior Terhadap Penurunan Kadar MDA dan Perubahan Profil Lipid Darah Tikus Wistar" karya Dinda Aulia Rizky (151710101036), telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Kamis, 12 Desember 2019

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P

NIP 196912121998021001

Ir, Mukhammad Fauzi, M.Si

NIP 196307011989031004

Tim Penguji

Penguji Utama

Penguji Anggota

Dr. Ir. Sih Yuwanti, M.P.

NIP 196507081994032002

Dr. Maria Belgis, S.TP., M.P

NIDN 0027127806

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng

NIP 196809031994031009

RINGKASAN

Efektivitas Pemberian Sediaan Hidrolisat Protein Ikan Bermutu Inferior Terhadap Penurunan Kadar MDA dan Perubahan Profil Lipid Darah Tikus Wistar; Dinda Aulia Rizky, 151710101036; 2019; 72 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian; Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Pola hidup manusia yang cenderung mengonsumsi makanan berlemak dapat meningkatkan resiko penyakit hiperlipidemia. Hiperlipidemia merupakan penyakit yang mengganggu metabolisme lemak ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total dalam darah, kadar trigliserida, kadar LDL dan penurunan kadar HDL, selain itu kondisi hiperlipidemia dapat berperan dalam produksi radikal bebas di dalam tubuh. Hal tersebut menyebabkan terbentuknya produk oksidan seperti Malondialdehida (MDA). Dibutuhkan senyawa antioksidan untuk menghambat terbentuknya radikal bebas yang dihasilkan dari proses peroksidasi lipid. Senyawa antioksidan dapat diperoleh dari produk hidrolisat protein ikan. Salah satu contoh produk hidrolisat protein ikan yakni hidrolisat protein ikan baji – baji, dimana pada produk hidrolisat protein ini memiliki aktivitas antioksidan berbasis peptida bioaktif dan diduga mempunyai efek antihiperlipidemik. Pada penelitian ini menggunakan pengujian *in vivo* untuk mengetahui efektivitas pemberian hidrolisat protein ikan baji - baji pada hewan uji, namun belum diketahui konsentrasi yang tepat untuk dapat digunakan sebagai antioksidan dan antihiperlipidemia.

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui efektivitas pemberian hidrolisat protein ikan baji – baji dengan berbagai konsentrasi terhadap kadar MDA (*Malondyaldehyde*) dan profil lipid darah hewan uji yang meliputi kolesterol total, trigliserida, LDL (*Low density lipoprotein*) serta HDL (*High density lipoprotein*). Penelitian dilakukan secara eksperimental yang terdiri dari satu faktor dengan 6 perlakuan *in vivo* menggunakan rancangan *pre and post test only control group design*. Pengujian yang dilakukan adalah kadar MDA (*Malondyaldehyde*) dan profil lipid darah hewan uji yang meliputi kolesterol total, trigliserida, LDL (*Low density lipoprotein*) serta HDL (*High density lipoprotein*). Data hasil pengamatan diolah menggunakan *one way ANOVA* apabila terdapat perbedaan yang signifikan, dilanjutkan dengan uji LSD. Apabila terdapat data yang tidak memenuhi syarat

untuk uji ANOVA, data diuji menggunakan uji non parametrik *Kruskall-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

Hasil penelitian menunjukkan pada konsentrasi 200mg/kgbb dan 300mg/kgbb memiliki efektivitas yang sebanding dengan simvastatin 0,9 mg/kgbb dalam menurunkan kadar kolesterol total dalam darah pada nilai $p>0,05$. Pemberian hidrolisat protein ikan baji-baji pada konsentrasi 200mg/kgbb dan 300mg/kgbb memiliki pengaruh yang sama dengan simvastatin 0,9 mg/kgbb dalam menurunkan kadar trigliserida. Pemberian hidrolisat protein ikan baji-baji juga berpengaruh pada penurunan kadar LDL pada semua dosis apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang diberi simvastatin, namun pemberian hidrolisat protein ikan baji- baji belum efektif dalam menaikkan kadar HDL. Pada Pengujian MDA konsentrasi pemberian hidrolisat protein ikan baji – baji sebesar 300mg/kgbb dan simvastatin 0,9mg/kgbb memiliki efektivitas yang sama dalam menurunkan kadar MDA.

SUMMARY

Effect of Protein Hydrolysate From Inferior-Grade Fish (*BAJI-BAJI*) on MDA Levels and Blood Lipid Profile in Male Wistar Rats; Dinda Aulia Rizky; 72 pages; Department of Agricultural Product Technology, Faculty of Agriculture Technology University of Jember.

The humans lifestyle who consume fatty foods can increase the risk of hyperlipidemia. Hyperlipidemia is a disease that disrupts fat metabolism characterized by an increase in total cholesterol levels in the blood, triglyceride levels, LDL levels and a decrease in HDL levels, in addition to the condition of hyperlipidemia can play a role in the production of free radicals in the body. This causes the formation of oxidant products such as Malondialdehyde (MDA). Antioxidant compounds are needed to inhibit the formation of free radicals produced by the lipid peroxidation process. Antioxidant compounds can be obtained from fish protein hydrolysate products. One example of a fish protein hydrolyzate product is a wedge fish protein hydrolyzate, which in this protein hydrolyzate product has antioxidant activity based on bioactive peptides and is thought to have an antihyperlipidemic effect. In this study using in vivo testing to determine the effectiveness of the administration of wedge fish protein hydrolysates in test animals, but not yet known the right concentration to be used as antioxidant and anti hyperlipidemia.

The purpose of this study were to determined the effectivity of administration crocodile flathead fish protein hydrolyzate with various concentrations MDA levels and blood lipid profiles of test animals including total cholesterol, triglycerides, LDL and HDL. The study conducted experimentally consisting of one factor with 6 treatments in vivo using a pre and post-test only control group design. The assay conducted were MDA levels and blood lipid profiles of test animals which include total cholesterol, triglycerides, LDL and HDL. The data were processed using one way ANOVA. If there any significant differences it will be continued with LSD post hoc. If there is data that doesn't

qualify for the ANOVA test, the data were tested using the non-parametric test of Kruskal-Wallis and with the Mann-Whitney test.

The result shows at concentrations of 200 mg/kgbw and 300 mg/kgbw have effectiveness comparable to simvastatin 0.9 mg/kgbw in reducing total cholesterol in the blood at $p > 0.05$. The provision of fish protein hydrolyzate from crocodile flathead fish at a concentration of 200mg /kgbw and 300mg / kgbw has the same effect as simvastatin 0.9 mg/kgbw in lowering triglyceride levels. The provision of fish protein hydrolysate from flat head fish also determines the decrease in LDL levels at all doses compared to the positive control group given simvastatin, but the administration of wedge fish hydrolyzate proteins is not effective in increasing HDL levels. In MDA assay the concentration of fish protein hydrolysate from crocodile flathead fish was 300mg/kgbw and simvastatin 0.9mg/kgbw had the same effectiveness in reducing MDA levels.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu wa ta'ala atas segala rahmat dan hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Efektivitas Pemberian Sediaan Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Bermutu Inferior Terhadap Kadar MDA dan Profil Lipid Darah Tikus Wistar". Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan S1 (Strata Satu) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Dengan selesainya penyusunan skripsi ini, penulis menyampaikan rasa terimakasih kepada pihak – pihak yang telah mendukung, membimbing, dan membantu dalam menyelesaikan skripsi yang antara lain adalah sebagai berikut :

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng, selaku dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Dr. Ir Jayus, selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
3. Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P, selaku Dosen pembimbing utama yang telah memberikan kesempatan, meluangkan waktu dan pikiran serta kesabaran dalam membimbing selama proses penelitian hingga penulisan skripsi;
4. Ir. Mukhammad Fauzi M.si. selaku Dosen pembimbing akademik dan Dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan kesabaran dalam mengarahkan dan membimbing selama proses skripsi;
5. Dr. Ir. Sih Yuwanti dan Dr. Maria Belgis, S,TP.,M.P, selaku dosen penguji utama dan penguji anggota.
6. Seluruh staf dan karyawan teknisi lab, mbak ketut, mas nugraha, mbk sari, mbk dini, dan mbk indri, di Laboraturium Kima dan Biokimia, Laboraturium Analisis Terpadu, di Fakultas Teknologi Pertanian, dan Laboraturium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah sabar dan memberikan banyak bantuan selama menempuh penelitian;
7. Kedua orang tua saya Bapak Sumarno dan Ibu Isnayah yang tak pernah lelah dalam memberikan semangat dan doa restu dalam menuntut ilmu, mengerjakan penelitian hingga menyelesaikan penulisan skripsi;

8. Kakakku Mifta Febriansyah dan Uswatun Hasanah yang tak pernah henti memberikan dukungan untuk menyelesaikan skripsi serta selalu memberikan nasihat untuk tetap berdiri tegak disaat rapuh;
9. Keluarga besar Mak Rokak Family dan Bani Hasan Ismunandar yang turut mendoakan dan memberikan dorongan untuk segera menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi;
10. Keris (Kelompok Riset) Antioksidan Dzanil Januar, Seno Dwi Pratama, Kind Aisyah, Yolla Leonanda dan Kinanti yang senantiasa membantu selama penelitian;
11. Keluarga besar “Puri bunga nirwana” Dony, Nofal, Fawaid, Irfan, Hayu, Iklila, Ega dan Ulva yang sama – sama sedang berjuang dan menyemangati satu sama lain dalam penyelesaian skripsi;
12. Seluruh teman – teman seperjuangan dari THP-C 15, FTP-15, seluruh anggota UK-PSM SC, serta teman – teman KKN 274 Jangur Probolinggo yang selalu memberikan doa dan semangat;
13. Teman sekaligus musuh dalam meraih gelar S.TP Dzanil Januar Prastio Putra yang selalu menemani, berdebat dan selalu mengerti dalam segala kondisi;
14. Semua pihak yang telah memberikan dukungan bantuan dan bimbingan selama penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan dan sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat memotivasi dari seluruh pihak dan dapat menambah wawasan serta bermanfaat untuk pembaca.

Jember, Januari 2020
Penulis

Dinda Aulia Rizky

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Antioksidan	4
2.1.1 Pengelompokan Antioksidan	4
2.1.2 Sumber Antioksidan.....	5
2.1.3 Mekanisme Antioksidan.....	6
2.2 Radikal Bebas	6
2.3 Kolesterol	8
2.3.1 <i>Low Density Lipoprotein</i>	9
2.3.2 <i>High Density Lipoprotein</i>	10
2.3.3 Trigliserida	10
2.4 Mekanisme Pepeto Sebagai Antihiperlipid dan Antioksidan	11
2.5 Hidrolisat Protein	12
2.6 Malondialdehyde (MDA)	13
2.7 Ikan Baji – baji	15
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	17
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	17
3.2.1 Alat Penelitian	17
3.2.2 Bahan Penelitian.....	17
3.3 Metode Penelitian	18
3.3.1 Rancangan Penelitian	18
3.3.2 Variabel Penelitian	19
3.4 Pelaksanaan Penelitian	20

3.4.1 Pembuatan Enzim Biduri dan Papain	20
3.4.2 Pembuatan Hidrolisat Protein	21
3.4.3 Pengujian Kadar MDA dan status profil lipid darah ..	21
3.5 Prosedur Analisis	26
3.6 Analisa Data	28
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Pengukuran Profil Lipid Darah	29
4.1.1 Pengukuran Kadar Kolesterol Total	29
4.1.2 Pengukuran Kadar Trigliserida.....	31
4.1.3 Pengukuran Kadar LDL.....	33
4.1.4 Pengukuran Kadar HDL	35
4.2 Pengukuran Kadar MDA	37
BAB 5 PENUTUP	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42

DAFTAR TABEL

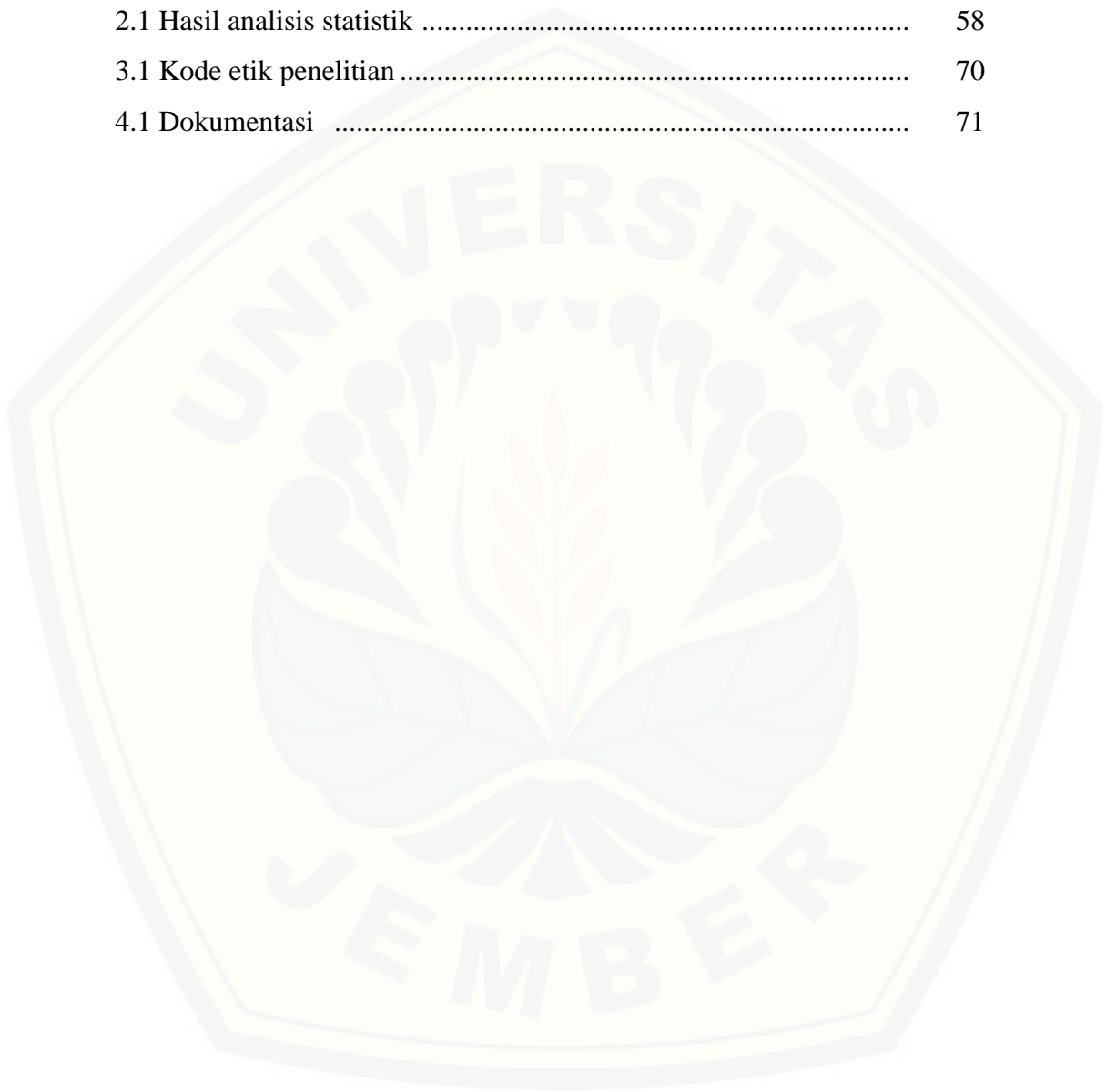
	Halaman
2.1 Komposisi kimia hidrolisat protein ikan	12
2.2 Hasil uji asam amino ikan baji – baji metode HPLC	16
4.1 Nilai rata – rata hasil pengujian kadar kolesterol total.....	29
4.2 Nilai rata – rata hasil pengujian kadar trigliserida	32
4.3 Nilai rata – rata pengujian kadar LDL	34
4.4 Nilai rata – rata hasil pengujian kadar HDL	36
4.5 Rata – rata kadar MDA sesudah perlakuan.....	39

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Sumber eksogen dan endogen radikal bebas.....	7
2.2 Proses metabolisme dan jalur transportasi yang mengontrol kadar kolesterol pada sel	8
2.3 Struktur kimia MDA	14
2.4 Ikan Baji – baji (<i>Platycephalidae cymbacephalus</i>	15
3.1 Rancangan Penelitian	19
3.2 Diagram alir pembuatan enzim biduri dan papain	20
3.3 Diagram alir pembuatan hidrolisat protein ikan.....	22
3.4 Pengujian kadar MDA dan profil lipid serum darah pada hewan uji	25
4.1 Grafik persamaan kurva baku	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1.1 Perhitungan	52
2.1 Hasil analisis statistik	58
3.1 Kode etik penelitian	70
4.1 Dokumentasi	71



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perubahan gaya hidup manusia pada zaman sekarang berakibat pada pola makan yang kurang baik, yaitu mengkonsumsi makanan tinggi lemak dan kolesterol. Hal tersebut berdampak pada meningkatnya resiko berbagai penyakit. Salah satu penyakit yang ditimbulkan akibat mengkonsumsi makanan tinggi lemak adalah hiperlipidemia. Hiperlipidemia adalah penyakit yang mengganggu metabolisme lemak yang biasanya ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total dalam darah, kadar trigliserida, kadar LDL dan penurunan kadar HDL, selain itu kondisi hiperlipidemia dapat berperan dalam produksi radikal bebas di dalam tubuh. Hal tersebut menyebabkan terbentuknya produk oksidan seperti Malondialdehida (MDA) yang dihasilkan dari proses peroksidasi lipid yang terjadi. Kelebihan kadar MDA dalam sel akan mengakibatkan kerusakan sel, untuk itu diperlukan asupan senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkal radikal bebas di dalam tubuh. Antioksidan dapat berasal nabati maupun hewani, salah satu antioksidan yang berasal dari hewani berupa produk hidrolisat protein dari ikan.

Hidrolisat protein ikan merupakan produk yang dihasilkan dari proses penguraian protein menjadi peptida dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh asam, basa, enzim, dan fermentasi. Beberapa penelitian telah mengemukakan hidrolisat protein ikan memiliki aktivitas antihiperlipidemik (Karnila, 2012), sebagai antioksidan dan memiliki aktivitas antihiperkolesterolemik dan memiliki aktivitas antihiperlipidemik (Khaled *et al*, 2011). Salah satu bahan yang berpotensi dalam dijadikan hidrolisat protein ikan yakni ikan baji-baji (*Platychepalidae cymbachepalus*). Ikan baji-baji merupakan ikan bermutu inferior dengan nilai ekonomis yang rendah. Menurut Witono *et al.*, (2014) ikan baji - baji memiliki 9 asam amino esensial yakni : isoleusin, leusin, lisin, metionin, sistein, fenilalanin, tirosin, treonin, dan valin. Ikan baji – baji memiliki kandungan protein sebesar 87,23% dan lemak sebesar 17,27% (Ali dan Saeed, 2015). Hidrolisat protein ikan baji-baji memiliki beberapa asam amino hidrofobik yang menunjukkan aktivitas

antioksidan yang tinggi (Diamonda,2018). Beberapa peptida bioaktif yang terdapat dalam hidrolisat ikan baji-baji ini juga dapat bertindak sebagai antihiperkolesterolemik. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Diamonda (2018) secara in vitro hidrolisat protein ikan baji-baji memiliki aktivitas antioksidan IC_{50} 1814,06 ppm dan memiliki berat molekul peptida bioaktif sebesar 28,896 kDa. Hal ini yang menjadi dasar pendugaan bahwa hidrolisat protein ikan baji-baji memiliki aktivitas antioksidan dan diduga mempunyai efek antihiperlipidemic untuk menghambat kerja enzim reduktase 3-hydroxyl-3-methyl-glutaryl-Koenzim A (HMG-CoA reduktase).

Penelitian ini menggunakan hidrolisat protein ikan baji – baji sebagai objek utama perlakuan untuk mengetahui dan menguji antioksidan dan efek antihiperlipidemia yang disebabkan oleh peroksidasi lipid akibat radikal bebas. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Diamonda (2018) hidrolisat protein ikan baji baji yang diuji secara in vitro memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menghambat radikal bebas. Oleh karena itu, perlu dilakukannya penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas yang meliputi kadar MDA dan profil lipid darah tikus wistar jantan.

1.2 Rumusan Masalah

Beberapa penelitian telah menunjukkan sediaan dari hidrolisat protein ikan baji – baji yang merupakan ikan bermutu inferior memiliki aktivitas antioksidan berbasis peptida bioaktif. Namun, pada penelitian sebelumnya, pengujian akitivitas antioksidan sebatas uji in vitro DPPH, sehingga diperlukan pengujian lebih lanjut yakni uji in vivo pada hewan uji. Oleh karena itu penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang dapat diukur melalui kadar MDA serta kemampuannya dalam menurunkan kadar lipid dalam darah.

1.3 Tujuan

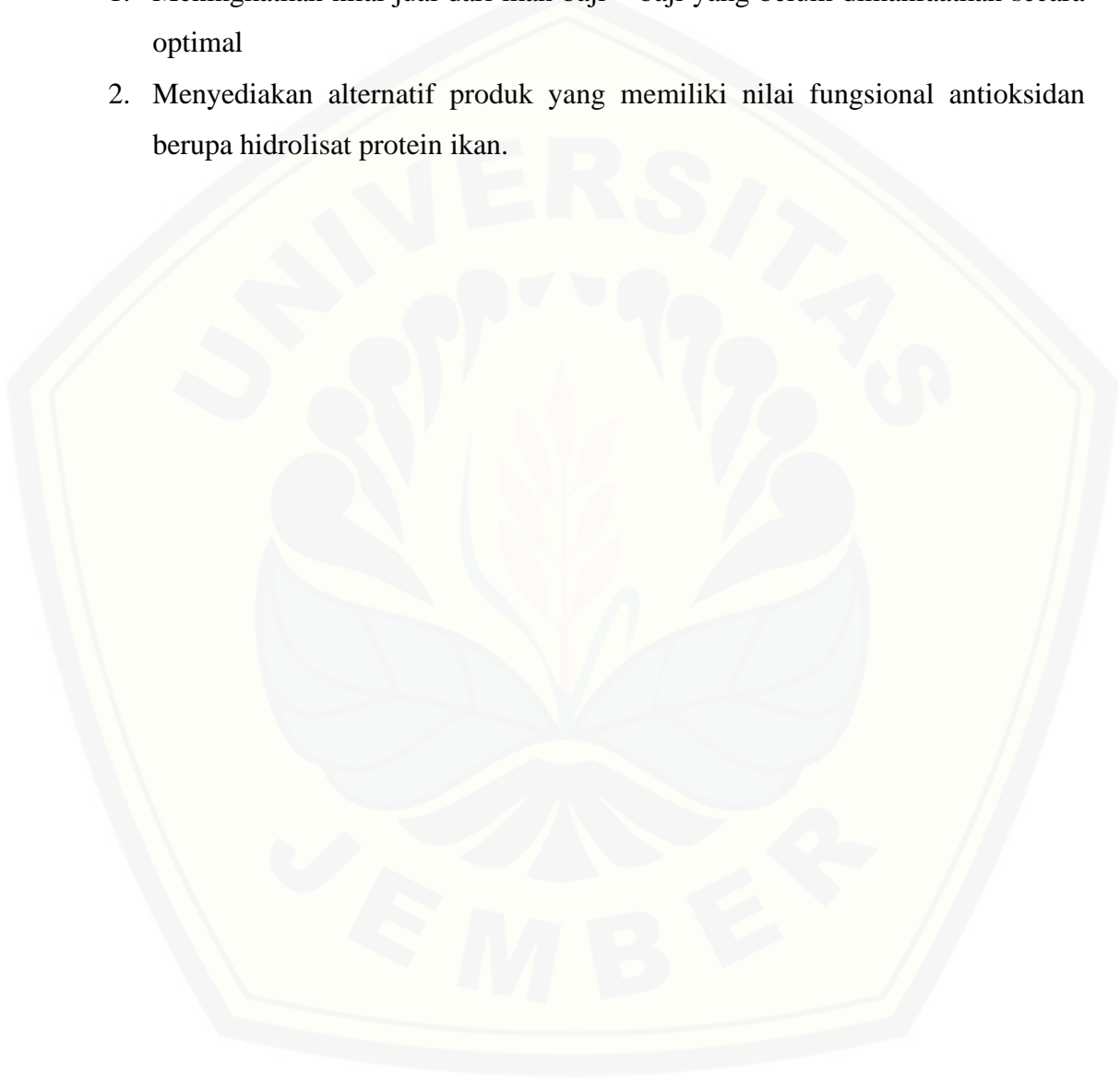
Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Mengetahui efektivitas pemberian hidrolisat protein ikan baji -baji terhadap kadar MDA pada serum darah hewan uji.

2. Mengetahui efektivitas pemberian hidrolisat protein ikan baji - baji terhadap profil lipid darah yang meliputi kolesterol total trigliserida, LDL dan HDL

1.4 Manfaat

1. Meningkatkan nilai jual dari ikan baji – baji yang belum dimanfaatkan secara optimal
2. Menyediakan alternatif produk yang memiliki nilai fungsional antioksidan berupa hidrolisat protein ikan.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkal radikal bebas. Menurut Helliwell dan Gutteridge (2000) Antioksidan adalah senyawa yang menghambat oksigen reaktif, nitrogen reaktif dan radikal bebas sehingga senyawa antioksidan dapat mencegah penyakit yang berhubungan dengan radikal bebas seperti penyakit kanker, kardiovaskuler, dan penuaan dini. Antioksidan melindungi lipid dari proses peroksidasi oleh radikal bebas. Radikal bebas mendapat elektron dari antioksidan, sehingga radikal bebas tidak menyerang sel dan reaksi oksidasi akan terputus. Antioksidan mempunyai kemampuan untuk melakukan perubahan elektron tanpa menjadi reaktif. Senyawa antioksidan terdapat di dalam tubuh manusia, senyawa tersebut juga dapat bersumber dari makanan seperti buah – buahan, sayur – sayuran, biji – bijian, daging dan minyak. Terdapat dua pertahanan antioksidan di dalam sel, yang pertama terdapat di dalam membran sel larut lemak yang mengandung betakaroten (Vitamin A), E dan koenzim Q (Clarkson dan Thomson, 2000)

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat pembentukan spesies oksigen dan nitrogen reaktif (Kuncahyo dan Sunardi, 2007). Antioksidan berperan dalam penghambatan proses aterosklerosis (Apriandi, 2011). Menurut Rohman dan Riyanto (2005). Antioksidan juga dapat berperan dalam menekan proliferasi sel kanker, karena menutup jalur pembentukan *blocking agents* (Trilaksani, 2003). Selain itu antioksidan berperan sebagai antiaging yang melindungi kulit dari proses perusakan kulit oleh sinar matahari dan radikal bebas yang dapat menimbulkan keriput dan penuaan pada kulit (Suryowinoto, 2005).

2.1.1 Pengelompokan Antioksidan

Tubuh memiliki pertahanan antioksidan yang dibagi menjadi 3 kelompok yakni :

1. Antioksidan Primer

Antioksidan primer merupakan antioksidan enzimatis yang berasal dari dalam tubuh (endogen). Contoh dari antioksidan ini yaitu SOD, katalase, dan

glutathion peroksidase (GSH-Px). Enzim tersebut mampu menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubah menjadi produk lebih stabil, reaksi tersebut dinamai reaksi *chain breaking antioxidant*. Menurut Winarsi (2007) Antioksidan primer merupakan senyawa yang dapat memberikan atom hidrogen kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang telah terbentuk berubah menjadi senyawa yang lebih stabil.

2. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder merupakan antioksidan non enzimatis yang berasal dari luar tubuh (eksogen). Antioksidan sekunder dapat berupa komponen non nutrisi dan komponen nutrisi dari makanan meliputi vitamin A, C, betakaroten, flavonoid, bilirubin dan albumin. Mekanisme antioksidan antioksidan sekunder yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas, yang mengakibatkan radikal bebas tidak bereaksi dengan komponen seluler (Lampe, 1999)

3. Antioksidan Tersier

Contoh dari antioksidan tersier yaitu enzim DNA-*repair* dan *metionin sulfoksidareduktase* yang berperan dalam perbaikan biomolekul rusak yang disebabkan oleh radikal bebas (Winarsi, 2005).

2.1.2 Sumber Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibagi menjadi dua kelompok yakni antioksidan alami yang biasanya berasal dari senyawa antioksidan yang terdapat di dalam makanan, selain itu senyawa antioksidan dapat terbentuk dari reaksi selama proses pengolahan dan senyawa antioksidan juga dapat diisolasi dari sumber alami. Isolasi antioksidan berasal dari tumbuhan yang dapat dimakan. Senyawa antioksidan alami pada tumbuhan merupakan senyawa fenolik atau polifenolik dari golongan flavonoid turunan asam sinamat, kumarin dan tokoferol. Antioksidan alami berupa golongan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, dan katekin. Senyawa antioksidan alami polifenolik merupakan senyawa yang multifungsional dan dapat bereaksi sebagai

pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkelat logam, dan pencegah terbentuknya singlet oksigen.

Sedangkan antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) contohnya yaitu *butil hidroksi anisol* (BHA), *butil hidroksi toluen* (BHT), *propil galat*, *ter-butil hidroksi quinon* (TBHQ). Menurut Pokorny *et al* (2001) antioksidan sintetis telah diproduksi untuk tujuan komersial. Antioksidan sintesis berfungsi untuk materi pengemas yakni BHA.

2.1.3 Mekanisme Antioksidan

Mekanisme dari antioksidan yaitu oksidasi yang terjadi di dalam tubuh dengan mencegah masuknya oksigen, inaktivasi enzim yang mengkatalis oksidasi. Antioksidan bereaksi dengan senyawa radikal bebas peroksil atau hidroksil yang terbentuk dari lipid. Senyawa antioksidan dapat menstabilkan hidroperoksida menjadi senyawa nonradikal. Hidroperoksida diuraikan dan dapat dikatalis oleh logam berat yang mengakibatkan senyawa – senyawa tersebut dapat mengkelat logam dan antioksidan. Antioksidan melindungi lipid dari peroksidasi lipid oleh radikal bebas. Radikal bebas mendapat elektron dari antioksidan, radikal bebas tidak menyerang sel dan reaksi rantai oksidasi akan terputus, setelah memberikan elektron, antioksidan bersifat tidak reaktif.

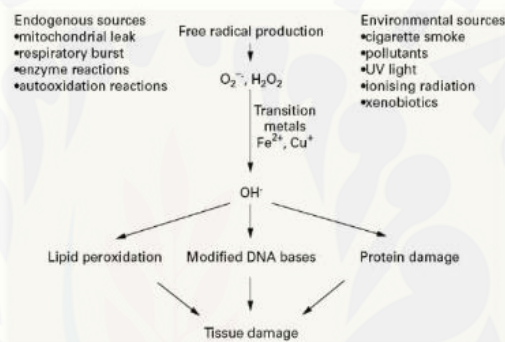
2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan yang seharusnya mempunyai pasangan (Iorio, 2007). Elektron yang tidak berpasangan ini mengakibatkan molekul ini tidak stabil dan bersifat reaktif, molekul yang bersifat reaktif akan mencari pasangan elektronnya, sehingga dapat disebut sebagai *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat dibedakan menjadi dua yaitu :

1. Molekul oksigen dengan elektron yang tidak berpasangan
2. Molekul Oksigen Tunggal

Radikal bebas secara alami dapat diproduksi sebagai produk samping dari proses pembentukan energi di dalam sel. Radikal bebas juga dapat berasal dari luar tubuh (eksogen) melalui paparan radiasi, polusi lingkungan, asap rokok,

penggunaan obat – obatan tertentu. Radikal bebas merupakan *reactive oxygen species* (ROS) yang menyerang molekul sekitarnya dan menyebabkan reaksi yang menghasilkan radikal bebas seperti anion peroksida (O_2^{2-}), hidroksi bebas (OH), dyhydrogen peroksida (H_2O_2), asam hipoklorous dan peroksinitrat. (Ardhie, 2011). Pada konsentrasi tinggi radikal bebas dapat mengakibatkan stress oksidatif dan menyebabkan kerusakan struktur sel termasuk kerusakan lipid, DNA dan protein, selain itu radikal bebas juga dapat menyebabkan penyakit degeneratif seperti kanker, ginjal, penuaan dini, diabetes, katarak, dan jantung. Sumber radikal bebas dapat dilihat pada Gambar 2.1

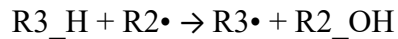


Gambar 2.1 Sumber eksogen dan endogen radikal bebas (Sumber : Young dan Woodside 2001)

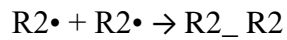
Stress oksidatif yang berasal dari tingginya radikal bebas daripada jumlah sitem antioksidan di dalam tubuh dapat ditentukan dengan mengukur kadar MDA dalam plasma darah, apabila kadar MDA tinggi maka sel mengalami stress oksidatif. Menurut Schilling *et al* (2010) terbentuknya radikal bebas dapat dari luar maupun dalm tubuh yang selanjutnya adalah peroksidasi lipid membran sitosol yang mengakibatkan reduksi asam lemak sehingga terjadi kerusakan membran dan organ sel. Peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai yang memberikan pasokan radikal bebas secara terus – menerus yang menginisiasi peroksidasi lebih lanjut. Terdapat tiga tahapan pembentukan radikal bebas yakni sebagai berikut (Winarsi, 2011) :

1. Tahap inisiasi merupakan tahap awal pembentukan radikal bebas

$$Fe^{++} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+++} + OH + \bullet OH$$
2. Tahap propagasi merupakan fase pemanjangan rantai radikal

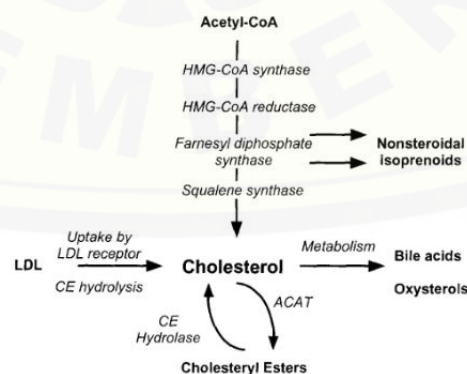


3. Tahap terminasi merupakan tahap terjadinya reaksi antara senyawa radikal satu dengan senyawa radikal lainnya atau dengan penangkap radikal



2.3 Kolesterol

Kolesterol merupakan lipid amfipatik yang termasuk komponen struktural esensial pada membran dan lapisan luar lipoprotein plasma. Kolesterol adalah komponen pembentuk lemak. Pada lemak terdapat berbagai macam komponen yaitu trigliserida, fosfolipid, asam lemak bebas, dan juga kolesterol. Menurut penelitian dari Mumpuni dan Wulandari (2011) kolesterol berperan penting dalam menjalankan fungsi saraf dan otak. Sebagian besar jaringan yang terdapat di dalam tubuh yang memiliki sel berinti dapat membentuk kolesterol yang berasal dari retikulum endoplasma dan sitosol (Murray *et al.*, 2009). Prekursor dalam sintesis kolesterol adalah asetil KoA, yang dapat dibentuk dari glukosa, asam lemak, asam amino. Dua molekul asetil KoA membentuk asetil KoA, yang bergabung dengan molekul asetil KoA lainnya membentuk hidrosimetilglutaril KoA (HMG-KoA). Reduksi HMG-KoA menghasilkan mevalonat. Reaksi yang dikatalis oleh HMG-KoA reduktase ini merupakan reaksi penentu kecepatan pembentukan kolesterol (Marks *et al.*, 2000). Jalur transportasi metabolisme kolesterol dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Proses metabolisme dan jalur transportasi yang mengontrol kadar kolesterol pada sel (Sumber : Liscum, 2002)

Kolesterol disintesis dari tubuh manusia oleh hepar dan usus menyumbang sekitar 10% dari seluruh jumlah yang disintesis. Kolesterol yang dihasilkan oleh hepar didistribusikan ke seluruh tubuh dengan bantuan lipoprotein yakni VLDL (*very low density lipoprotein*), IDL (*intermediate density lipoprotein*) dan LDL (*low density lipoprotein*), yang mengangkut kolesterol ester ke jaringan yang membutuhkan kolesterol untuk sintesis membran sel, hormon steroid, dan vitamin D. HDL berfungsi mengangkut kolesterol kembali ke hepar untuk proses metabolisme (Haryanto dan Sayogo, 2013).

Transportasi kolesterol terdiri dari 3 jalur utama yakni : jalur eksogen, endogen, dan *reverse cholesterol transport*. Pada siklus ini triasilgliserol dan kolesterol yang berasal dari makanan berlemak akan diserap di usus halus dan dibawa dalam bentuk kilomikron, dan selanjutnya masuk dalam sirkulasi limfe, dari *ductus toracicus* ke sirkulasi darah dan dihidrolisis oleh LPL (*lipoprotein lipase*) menjadi *free fatty acid* yang kemudian diserap oleh jaringan (Mayes dan Botham, 2009). Jalur endogen, terjadi di dalam hepar dan disintesis oleh VLDL dari triasilgliserol dan kolesterol. VLDL diubah menjadi IDL dan LDL oleh LPL. LPL (*lipoprotein lipase*) merupakan enzim dominan yang terdapat di jaringan adiposa dan muskuloskeletal. Setelah melalui hepar VLDL akan menuju ke jaringan adiposa, yang kemudian dihidrolisis oleh LPL adiposa menjadi IDL.

2.3.1 Low Density Lipoprotein (LDL)

Low Density Lipoprotein (LDL) merupakan lipoprotein berdensitas rendah yang dibentuk pada hati dari sisa – sisa VLDL. LDL berfungsi membawa kolesterol hati ke jaringan perifer. LDL sering disebut dengan kolesterol jahat. LDL salah satu penyebab terjadinya pembentukan kolesterol dan dapat menempel di dalam dinding arteri yang menyebabkan penyempitan arteri (Yovina, 2012). LDL diserap melalui proses endositosis

Apoprotein dan eseterkolesterol dihidrolisis di lisosom, dan kolesterol dipindahkan ke dalam sel (Murray, *et al.*, 2009). Kadar normal LDL yaitu tanpa pjk kurang sama dengan 160, dengan pjk kurang sama dengan 100 mg/dl (Murray, *et al.*, 2009).

2.3.2 High Density Lipoprotein (HDL)

High Density Lipoprotein (HDL) lipoprotein berdensitas tinggi yang diekskresikan dari hati dan usus (Murray *et al.*, 2009). Menurut Marks *et al.*, (2000) HDL berfungsi mengangkut kolesterol yang diperoleh dari jaringan perifer ke hati dan menukarkan protein dan lemak dengan kilomikron dan VLDL. HDL menukar protein dan lemak dengan lipoprotein lain dalam darah.

HDL memperoleh kolesterol dari lipoprotein lain dan dari membrane sel dan mengubahnya menjadi ester kolesterol melalui reaksi yang dikatalisis oleh lestin : kolesterol asiltransferase (LCAT). Kemudian HDL secara langsung mengangkut kolesterol dan ester kolesterol ke hati atau memindahkan ester kolesterol ke lipoprotein lain melalui protein pemindah ester kolesterol (cholesterol ester transfer protein, CETP). Kadar HDL normal pada pria lebih besar sama dengan 35 mg/dl, sedangkan pada wanita lebih besar sama dengan 45 mg/dl (Marks *et al.*, 2000).

2.3.3 Trigliserida

Trigliserida merupakan lemak utama dalam makanan, yang dicerna di dalam lumen usus. Produk-produk pencernaan tersebut dikemas dalam bentuk lipoprotein yang dikenal sebagai kilomikron, yaitu partikel lipoprotein yang tidak mudah menggumpal dalam lingkungan air. Bagian terpenting protein pada lipoprotein disebut apoprotein. Apoprotein utama yang berkaitan dengan kilomikron sewaktu meninggalkan sel usus adalah B-48. Kemudian kilomikron disekresikan ke dalam limfe dan masuk ke dalam darah yang berfungsi sebagai salah satu lipoprotein utama dalam darah (Marks *et al.*, 2000).

Triasilgliserol selain terdapat pada kilomikron, juga terdapat pada Lipoprotein berdensitas sangat rendah (VLDL) yang berasal dari sintesis di hati yang kemudian dicerna oleh lipoprotein lipase (LPL), suatu enzim yang melekat pada sel endotel kapiler. LPL mengkonversi triasilgliserol lipoprotein menjadi asam lemak bebas dan gliserol (Murray *et al.*, 2009). Asam-asam lemak yang dibebaskan kemudian diserap oleh otot dan jaringan lain untuk menghasilkan energi. Setelah itu asam-asam lemak ini diserap oleh jaringan adipose dan disimpan sebagai triasil gliserol. LPL mengubah kilomikron menjadi sisa-sisa kilomikron

dan mengubah VLDL menjadi lipoprotein berdensitas antara (IDL) (Marks *et al.*, 2000). Triasilgliserol mempunyai kadar ideal normal yaitu 60-160 mg/dl

2.4 Mekanisme Peptida Sebagai Antihiperlipid dan Antioksidan

Mekanisme penurunan kadar kolesterol menurut beberapa studi yang telah dilakukan, senyawa yang terdapat protein berupa peptida bioaktif dan asam amino dapat meregulasi metabolisme lipid dengan modulasi aktivitas faktor transkripsi utama sehingga mengubah ekspresi gen yang terlibat pada proses lanjutannya dalam lipogenesis maupun lipolisis. Asupan protein yang cukup mengubah ekspresi gen pengatur sterol yang terikat tipe 1-SREBP (*sterol regulatory element binding protein*), reseptor aktivasi proliferasi peroksisomal dan reseptor X hepar (Torres *et al.*, 2006). Protein dapat menurunkan insulin/glukagon yang dapat menyebabkan penurunan ekspresi faktor transkripsi di hepar yaitu SREBP-1 (*sterol regulatory element binding protein*). Penurunan faktor transkripsi menyebabkan menurunnya ekspresi beberapa enzim yang bersifat lipogenik sehingga mengakibatkan kadar kolesterol menurun. Konsumsi kedelai juga mengurangi lipotoksitas pada hepar dengan mempertahankan jumlah adiposit fungsional, mencegah transfer asam lemak ke jaringan adiposa tambahan.

Peptida bioaktif seperti IIAEK (lactolasin) yang didapat dari β -lactoglobulin dapat berpengaruh pada penurunan serum kolesterol dan menunjukkan aktivitas hipokolesterolemi lebih besar dari obat-obatan pada β -sitosterol tikus (Nagaoka, 2001). Peptida bioaktif yang memiliki C-terminal lisin dapat meningkatkan produksi enzim CYP7A1 yang berfungsi dalam metabolisme lemak dalam tubuh. Peptida bioaktif juga berfungsi sebagai antioksidan dan memiliki sifat antioksidatif. Sifat antioksidatif dari suatu peptida bioaktif dapat dipengaruhi oleh berat molekul, ionisasi dan hidrofobisitas. (Esfandi, 2019). Pada beberapa literatur mengemukakan bahwa peptida bioaktif memiliki kurang dari dua puluh asam amino dan aktivitasnya dipengaruhi oleh komposisi dan urutan asam aminonya.

2.5 Hidrolisat Protein

Hidrolisat protein merupakan protein yang mengalami degradasi secara kimiawi dan enzimatik melalui proses hidrolisis yang menghasilkan produk akhir berupa senyawa protein yang lebih sederhana (Muljanah, 1991). Proses hidrolisis protein merupakan proses pemecahan molekul menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan molekul air. Menurut Nielsen (2010) hidrolisis ikatan peptida akan menyebabkan peningkatan kelarutan protein karena bertambahnya kandungan NH_3^+ dan COO^- , selain itu berat molekul polipeptida akan berkurang dan struktur globular protein rusak. Hidrolisis protein merupakan protein yang mengalami degradasi hidrolitik dengan asam, basa maupun enzim yang akan menghasilkan produk yakni asam amino dan peptida (Haslaniza, 2010). Terjadi perubahan flavor pada saat protein dihidrolisis, hal ini disebabkan karena terbentuknya peptida rantai pendek dan asam amino dan lepasnya komponen – komponen flavor non protein dari bahan baku. Komposisi kimia hidrolisat protein dapat dilihat pada tabel 2.1

Tabel 2.1 Komposisi kimia hidrolisat protein ikan

Parameter	Hidrolisat Protein untuk pangan (%) *	Hidrolisat Protein ikan untuk pakan (%) **	Hidrolisat protein ikan untuk <i>flavour enhancer</i> (%)***
Kadar air	5	5-10	5
Kadar abu	0,3	4-9	25
Kadar protein	84,0	66-72	45
Kadar lemak	11	8-15	2
Daya cerna oleh pepsin	97	95-97	-

Keterangan: * = International Quality Ingredients (2005)

** = California Spray Dry Co. (2011)

*** = Thaddee dan Lyraz (1990)

Sumber : Widadi (2011)

Hidrolisat protein merupakan produk sumber protein yang dihidrolisis secara parsial sehingga mudah diasimilasi oleh tubuh. Hidrolisis secara sebagian mampu memecah molekul protein menjadi beberapa gugus asam amino dan peptida melalui ikatan rantai peptida (Rehm dan Reed, 1995). Hidrolisat protein ikan merupakan produk yang berbahan dasar dari ikan dengan menggunakan penghidrolisis asam, basa, maupun enzim. Menurut Wheatin dan Lawson (1985)

hidrolisat ikan yang menggunakan enzim diolah dengan cara mencampurkan ikan yang telah dilumatkan dengan air dan enzim proteolitik. Hidrolisat protein dapat dimanfaatkan sebagai penyedap makanan. Proses hidrolisis dapat dilakukan dengan cara enzimatik menggunakan satu atau beberapa enzim yang berbeda. Pembuatan hidrolisat protein menggunakan enzim perlu memperhatikan kondisi pH dan suhu optimum (Winarno, 1986). Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Witono *et al* (2014) metode secara enzimatik merupakan metode yang aman dan menghasilkan asam amino bebas dan peptida dengan rantai pendek yang bermacam – macam. Tingkat kehilangan asam amino esensial pada metode ini lebih rendah dan membutuhkan biaya yang relatif murah. Produk Hidrolisat pada yang menggunakan proses enzimatik menghasilkan komposisi asam amino dan peptida rantai pendek (dipeptida dan tripeptida) yang dapat dengan mudah diabsorpsi oleh tubuh (Giyatmi, 2001). Enzim yang biasa digunakan untuk produk hidrolisat protein adalah enzim proteolitik. Beberapa jenis enzim protease berbeda – beda dalam menghidrolisis ikatan peptida di dalam molekul protein, beberapa enzim protease mempunyai aktivitas proteolitiknya, semakin spesifik suatu enzim, semakin sedikit ikatan peptida yang mampu dihidrolisis (Winarno, 1995). Tingkat kerusakan asam amino selama terjadinya proses hidrolisis dapat dipengaruhi oleh kemurnian protein yang berasal dari bahan dasar, kondisi dan bahan penghidrolisis yang digunakan. Menurut Uhlig (1998) Produk akhir hidrolisat protein dapat berupa pasta atau bubuk yang bersifat higroskopis ataupun berbentuk cair.

2.6 Malondialdehyde (MDA)

Pengujian antioksidan dapat diukur pada kadar malondialdehid (MDA) dan SOD. Malondialdehid merupakan senyawa aldehida, senyawa ini merupakan produk akhir peroksidasi lipid di dalam tubuh. Malondialdehid juga merupakan produk dekomposisi dari asam amino, karbohidrat kompleks, pentose dan heksosa, selain itu MDA merupakan produk yang dihasilkan oleh radikal bebas melalui reaksi ionisasi yang terjadi di dalam tubuh dan produk sampah prostaglandin yang merupakan produk akhir oksidasi lipid membran. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$. Konsentrasi MDA yang tinggi

menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel. Penurunan kadar MDA merupakan parameter tingginya status antioksidan. Struktur kimia MDA dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur kimia MDA (Sumber : Current Protocols, 2010)

MDA terbentuk dari peroksidasi lipid pada membran sel yang merupakan reaksi dari radikal bebas. Aktivitas radikal bebas yang berlebihan akan menyebabkan gangguan metabolis seluler. Terbentuknya MDA berawal dari radikal bebas oksigen yang diproduksi melalui reaksi enzimatik dan non enzimatik. Sel – sel dalam tubuh yang dapat membentuk radikal bebas oksigen dan H_2O_2 adalah polimorfonuklir, monosit dan makrofag (Murray *et al.*, 2000). Kerusakan sel akibat radikal bebas yang paling banyak diketahui adal peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid paling banyak terjadi pada membran sel. Pengukuran tingkat peroksidasi lipid diukur dengan kadar MDA. MDA dapat bereaksi dengan komponen nukleofilik atau elektrofilik, selain itu MDA dapat berikatan dengan berbagai macam molekul seperti protein, asam nukleat, dan aminofosfolipid secara kovalen (Muchtadi, 2013).

Pemeriksaan kadar MDA dilakukan dengan menggunakan metode *thiobarbituric acid reactive substance* (TBARS) yang membentuk senyawa berwarna MDA-TBA₂ dengan mengabsorpsi sinar dengan panjang gelombang 532-534 nm. Senyawa berwarna diukur konsentrasinya berdasarkan absorbansi warna yang terbentuk dengan membandingkan pada absorbansi warna larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya menggunakan spektrofotometer. Tes ini juga berdasarkan pada reaksi kondensasi antara satu molekul MDA dengan dua molekul TBA pada kondisi asam.

2.7 Ikan Baji – Baji

Ikan merupakan sumber pangan hewani yang kaya akan kandungan asam amino esensial yang lengkap. Kualitas produk hasil perikanan sangat bergantung pada kesegaran. Mutu ikan harus dipertahankan, hal itulah yang menyebabkan penanganan pengolahan produk ikan sangat dibutuhkan. Selain itu, banyaknya jenis ikan yang beraneka ragam mengakibatkan beberapa ikan mutunya menjadi rendah. Salah satu ikan bermutu rendah yaitu ikan baji - baji (*platycephalidae cymbacephalus*) yang dapat dijumpai di Kabupaten Sumenep. Pada tahun 2012 penangkapan ikan baji – baji sebesar 23,93 ton. Klasifikasi Ikan Baji-Baji menurut Carpenter dan Niem (1999) adalah sebagai berikut :

Kelas	: Actinopterygii
Subkelas	: Neopterygii
Ordo	: Scorpaeniformes
Sub ordo	: Platycephaloidei
Famili	: Platycephalidae
Genus	: <i>Grammoplites</i>
Spesies	: <i>Grammoplites scaber</i> L
Genus	: <i>Inegocia</i>
Spesies	: <i>Platycephalidae cymbacephalus</i> .

Ikan baji – baji (*platycephalidae cymbacephalus*) merupakan ikan inferior bermutu rendah yang berasal dari genus *Platycephalus*. Ikan baji – baji memiliki kepala dan tubuh picak, tubuh dan ekor pada bagian atas tertutup sisik kretoid yang kecil dan sisik sikloid pada bagian bawah yang datar seperti Gambar 2.4



Gambar 2.4 Ikan Baji – baji (*Platycephalidae cymbacephalus*) (Sumber: Dokumentasi pribadi)

Ikan baji – baji merupakan jenis ikan yang mempunyai rasa enak dan daging yang tebal. Rasa enak yang terdapat pada daging ikan baji – baji berasal dari kandungan asam amino prekursor rasa gurih yang tinggi. Menurut penelitian Witono (2014) ikan baji – baji memiliki 17 asam amino dari uji metode HPLC. Asam amino tertinggi pada ikan baji – baji yaitu L-glutamic. Jenis – jenis asam amino yang terdapat pada ikan baji – baji dapat dilihat pada Tabel 2.2

Tabel 2.2 Hasil uji asam amino ikan baji – baji dengan metode HPLC

No	Parameter	Satuan	Hasil	Metode Uji
1	L-aspartic acid	%	2,100	HPLC
2	L-serine	%	0,504	HPLC
3	L-glutamic acid	%	3,218	HPLC
4	Glycine	%	0,968	HPLC
5	L-histidine	%	0,532	HPLC
6	L-agrinine	%	1,449	HPLC
7	L-threonine	%	0,89	HPLC
8	L-alanine	%	1,224	HPLC
9	L-proline	%	0,802	HPLC
10	L-cystine	%	0,027	HPLC
11	L-tyrosine	%	0,688	HPLC
12	L-valine	%	1,175	HPLC
13	L-Metheonine	%	0,788	HPLC
14	L-lysineHCl	%	2,457	HPLC
15	L-isoleucine	%	1,121	HPLC
16	L-leucine	%	1,766	HPLC
17	L-phenylalanine	%	1,011	HPLC

Sumber : Witono *et al* (2014b)

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Laboratorium Analisa Terpadu Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, dan Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember. Waktu penelitian dimulai pada bulan April 2019 hingga September 2019

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah *water bath*, *freeze dryer*, *food processor*, pH meter, sentrifuge dan tabungnya (Yenaco model YC-1180), kandang tikus, sonde lambung, timbangan hewan, mikrotube, *sputit*, mikrohematokrit, mikropipet *socorex*, fotometer bioanalizer *Biolyzer 100TM*, neraca analitik, *vortex*, *spectrofotometer*, penangas listrik.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi bahan baku dan bahan kimia. Bahan baku yang digunakan berupa Ikan Baji - Baji (*Platycephalidae cymbacephalus*) yang diperoleh dari perairan Pulau Talango, Sumenep Madura. Bahan baku lainnya adalah enzim papain hasil ekstraksi dari getah tanaman pepaya yang diperoleh di Jalan Aditywarman, Tidar, Jember dan enzim biduri hasil ekstraksi dari getah tanaman biduri yang diperoleh di pesisir pantai Payangan, Kecamatan Ambulu, Jember. Bahan kimia yang digunakan adalah buffer fosfat pH 7 (Na_2HPO_4 dan NaH_2PO_4), kasein, TCA (asam trikloroasetat), tirosin, NaOH, folin, Na_2CO_3 , aquades, etanol 70%. Pengujian kadar MDA dan profil lipid darah pada hewan uji menggunakan tikus wistar putih jantan (*Rattus novegicus*) dewasa galur *Sprague Dawley* umur 2 bulan, pakan standar tikus, telur puyuh, minyak jelantah, hidrolisat protein ikan baji – baji, SIMVASTATIN dosis 10 mg, PTU, CMC Na 1%, TCA 20%, HCL 1N, Na-TBA, NaOH, reagen fluidest trigliserida, reagen fluidest kolesterol, reagen fluidest HDL dan reagen fluidest LDL.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimental yang terdiri dari satu faktor dengan 6 perlakuan secara *in vivo*. Faktor yang digunakan adalah perbedaan konsentrasi hidrolisat yang diujikan kepada tikus wistar jantan. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *pre and post test only control group design*. Rancangan ini mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol (Arikunto, 2010).

Pemilihan sampel menggunakan *random sampling* yang dibagi menjadi 6 kelompok. Besar sampel pada setiap kelompok dalam penelitian dihitung menggunakan rumus Fredere, yaitu $(n - 1) (p - 1) \geq 15$.

Jika $p = 6$, maka $(n - 1) (6 - 1) \geq 15$

$$6n - 6 \geq 15$$

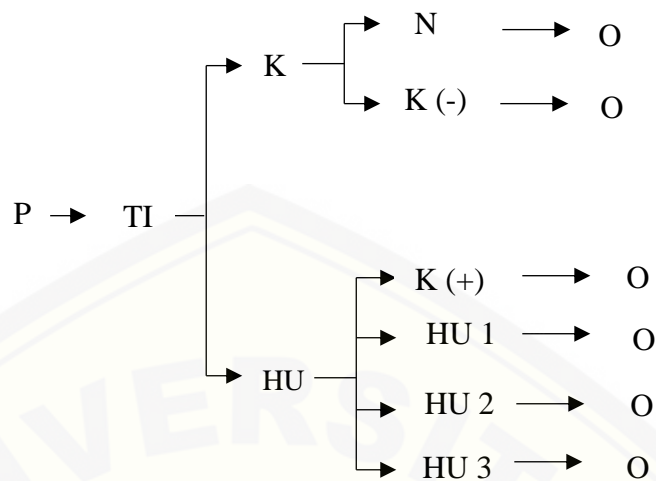
$$6n \geq 21$$

$$N \geq 3,5$$

Keterangan : n = jumlah sampel

P = jumlah perlakuan

Hasil perhitungan menggunakan rumus frederer didapatkan $n \geq 3,5$ menunjukkan jumlah minimal tikus yang digunakan untuk setiap perlakuan sebanyak 4 tikus. Penelitian ini menggunakan tikus uji sebanyak 4 ekor untuk setiap perlakuannya. Rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Rancangan Penelitian

Keterangan :

- P : Populasi normal diet
 TI : Sampel normal diet
 K : Kelompok kontrol normal diet
 K(-) : Pakan tinggi lemak, tidak diberi hidrolisat protein ikan
 N : Pakan standar, tidak diberi hidrolisat protein
 K (+) : Kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan diberi obat penurun kolesterol SIMVASTATIN dengan dosis 0,9 mg/kgBB
 HU1 : Kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan hidrolisat Protein pada hari ke-22 dengan dosis 100mg/KgBB
 HU2 : Kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan hidrolisat Protein pada hari ke-22 dengan dosis 200mg/KgBB
 HU3 : Kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan hidrolisat Protein pada hari ke-22 dengan dosis 300mg/KgBB
 O : Pengukuran kadar MDA dan profil lipid dalam darah akhir tikus pada setiap perlakuan

3.3.2 Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan 3 variabel yang terdiri dari variabel bebas, terikat dan terkontrol. Penjelasan dari variabel yang digunakan sebagai berikut :

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis hidrolisat protein ikan baji – baji (*Platycephalidae cymbacephalus*) dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar MDA, kolesterol total, trigliserida, LDL, dan HDL

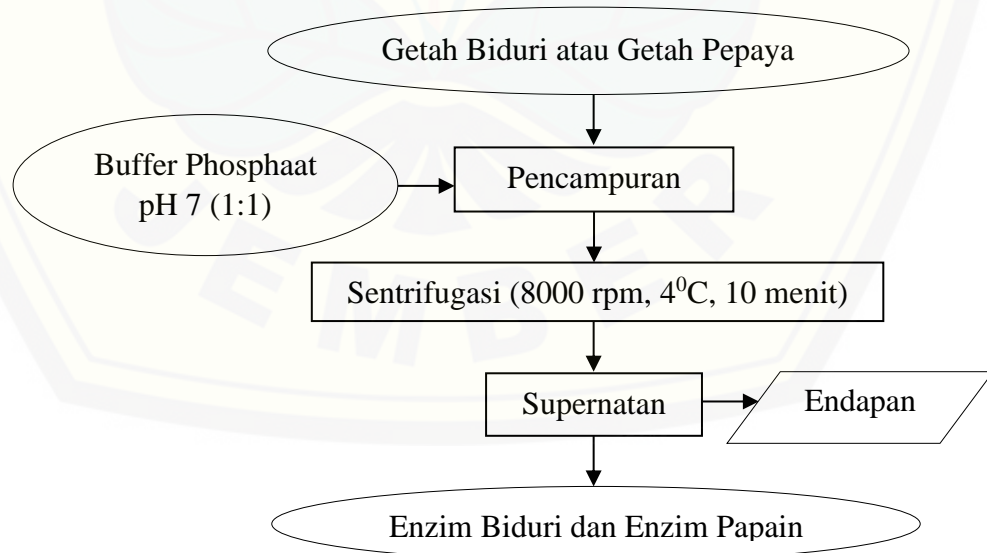
3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah berat badan hewan uji, galur, dan pemberian bahan penginduksi hiperlipidemia.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Enzim Biduri dan Papain

Pembuatan enzim biduri dan papain dilakukan setelah proses pengambilan getah pada bagian batang tanaman biduri dan buah pepaya muda yang kemudian ditambahkan phosphate pH 7 dengan perbandingan 1:1. kemudian disentrifugasi dingin pada suhu 4°C pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan supernatant dan endapan (mengandung gum dan komponen selain protein). Supernatan berupa ekstrak kasar enzim protease yang digunakan untuk menghidrolisis protein ikan baji-baji. Diagram alir pembuatan enzim biduri dan papain dapat dilihat pada Gambar 3.2



Gambar 3.2 Diagram alir pembuatan enzim biduri dan papain

3.4.2 Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan

Pembuatan hidrolisat ikan menggunakan ikan baji – baji yang telah dilakukan *debonning* dan *eviserasi* guna menghilangkan tulang, kepala, sisik, isi perut dan ekor sehingga diperoleh daging ikan. Dilakukan penimbangan daging ikan sebanyak 300 gram. Selanjutnya dilakukan penghancuran daging ikan menggunakan *food processor* dan ditambahkan aquades dengan perbandingan aquades dan daging sebesar 2:1 (v/b) sehingga menghasilkan suspensi daging ikan yang kemudian diberi penambahan campuran enzim biduri dan papain (3:7) sebanyak 3% dari berat daging. Suspensi yang telah diberi enzim diletakkan dalam *waterbath* pada suhu 55⁰C selama 3 jam. Setelah proses hidrolisis dilakukan pemanasan pada suhu 85⁰C selama 5 menit, untuk inaktivasi enzim. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 30 menit dengan suhu 10⁰C, untuk memisahkan antara endapan dan supernatan. Selanjutnya dilakukan penyaringan supernatan dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan endapan dan supernatan yang masih tersisa. Supernatan dikeringkan dengan metode *freeze drying*, sehingga dihasilkan bubuk hidrolisat protein. Diagram alir pembuatan hidrolisat protein ikan baji – baji dapat dilihat pada Gambar 3.3

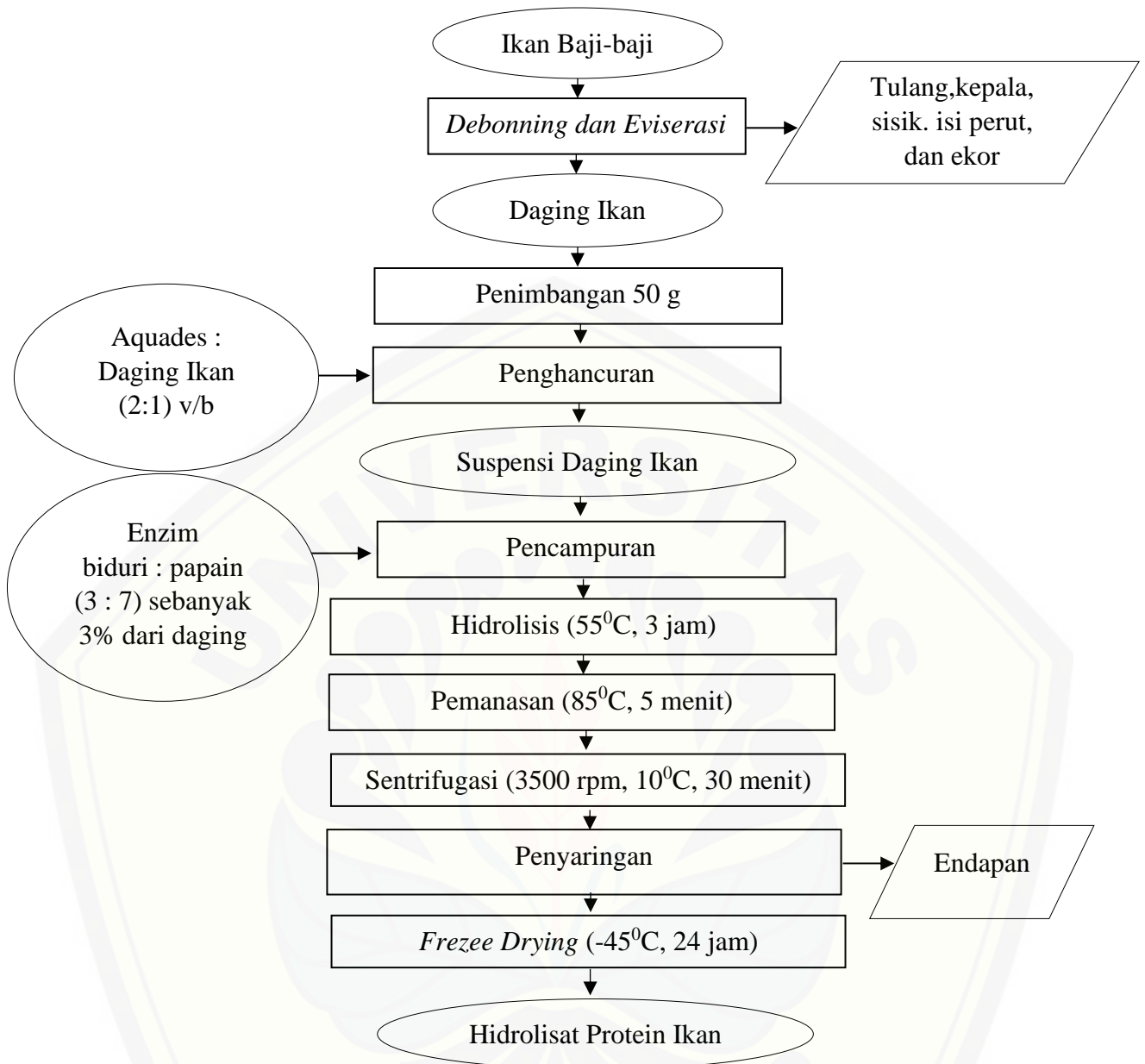
3.4.3 Pengujian kadar MDA dan status profil lipid serum darah pada Hewan Uji

1. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini tikus wistar putih jantan galur *Sprague Dawley* umur 2 bulan dengan berat 180 – 200 gram dalam kondisi sehat (aktif dan tidak cacat). Sebelum diujikan, hewan uji diadaptasi selama seminggu. Masa adaptasi berguna untuk menyesuaikan kondisi hewan uji pada lingkungan baru, dan selama masa adaptasi hewan uji diberikan pakan standar. Pada hari ke-0,8,21 dan 32 dilakukan penimbangan berat badan untuk mengetahui kondisi awal sebelum dan sesudah pemberian hidrolisat protein ikan baji – baji.

2. Pengelompokan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji yang dibagi menjadi 6 kelompok, masing – masing kelompok terdiri dari 4 tikus. Kelompok pertama tikus kontrol negatif diberi pakan standar dan tanpa diberi hidrolisat protein,



Gambar 3.3 Diagram alir pembuatan hidrolisat protein ikan

kelompok kedua tikus kontrol positif diberi pakan tinggi lemak dan tidak diberi hidrolisat protein ikan, kelompok ketiga yaitu kelompok Pb merupakan tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan obat penurun kolesterol (SIMVASTATIN) dengan dosis 0,9 mg/200gBB dengan volume yang disonde oral sejumlah 2 ml pada masing masing tikus. Sedangkan kelompok keempat hingga keenam diberi pakan tinggi kolesterol pada hari ke 8 sampai hari ke 21 dan diberi hidrolisat protein dengan perbedaan dosis pada setiap kelompok hewan uji selama 10 hari dimulai dari hari ke-22 hingga hari ke-32.

3. Pembuatan Simvastatin

Pembuatan suspensi simvastatin dengan mengkonversikan dosis lazim pada manusia ke tikus. Dosis simvastatin yang digunakan untuk manusia adalah 10mg/70 kgBB. Setelah dikonversikan untuk tikus putih berdasar tabel Laurence dan Bacharach (1964) yaitu $10\text{mg}/70\text{ kgBB} \times 0,018 = 0,18\text{ mg}/200\text{g BB}$ dan didapatkan dosis sebesar 0,9 mg/kgBB. Cara pembuatan suspensi simvastatin yakni sebanyak 9 mg tablet dihaluskan, kemudian ditambahkan sedikit larutan CMC Na 1%. Setelah homogen ditera hingga tanda batas labu ukur 20 ml

4. Pembuatan Pakan Tinggi Kolesterol

Pembuatan pakan tinggi kolesterol bertujuan untuk pengkondisian hewan uji mengalami kondisi hiperlipidemia. Formulasi dari pakan tinggi kolesterol adalah kuning telur sebanyak 42 ml, minyak jelantah 18 ml. Pakan tinggi kolesterol yang diberikan adalah 2 ml/200gramBB hewan uji yang diberikan secara oral sebanyak satu hari sekali selama 14 hari.

5. Pembuatan PTU (*Propiltiourasil*) 0,01%

Pemberian minuman tambahan tinggi kolesterol yang cukup. PTU 0,01% larut dalam air *ad libitum* selama 14 hari. Pembuatan PTU 0,01% dengan cara menghaluskan 1 tablet (100 mg) yang dilarutkan dalam aquades sebanyak 1000 ml, sehingga tiap ml larutan mengandung 0,1 mg PTU larut dalam air minum selama 7 hari (Hasimun *et al.*, 2011).

6. Pemberian Hidrolisat Protein

Hewan uji dipuasakan selama 8 - 12 jam sebelum diberi hidrolisat protein ikan baji – baji, hal tersebut bertujuan untuk mengurangi pengaruh makanan yang diberikan. Sediaan hidrolisat protein diberikan secara oral menggunakan sonde lambung. Pemberiaan sediaan dilakukan setiap hari pada hari ke-22 hingga hari ke-32 dengan dosis yang telah ditentukan. Penentuan dosis mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Karnila (2012) yakni sebesar 100 mg/KgBB ; 200 mg/KgBB ; 300 mg/KgBB.

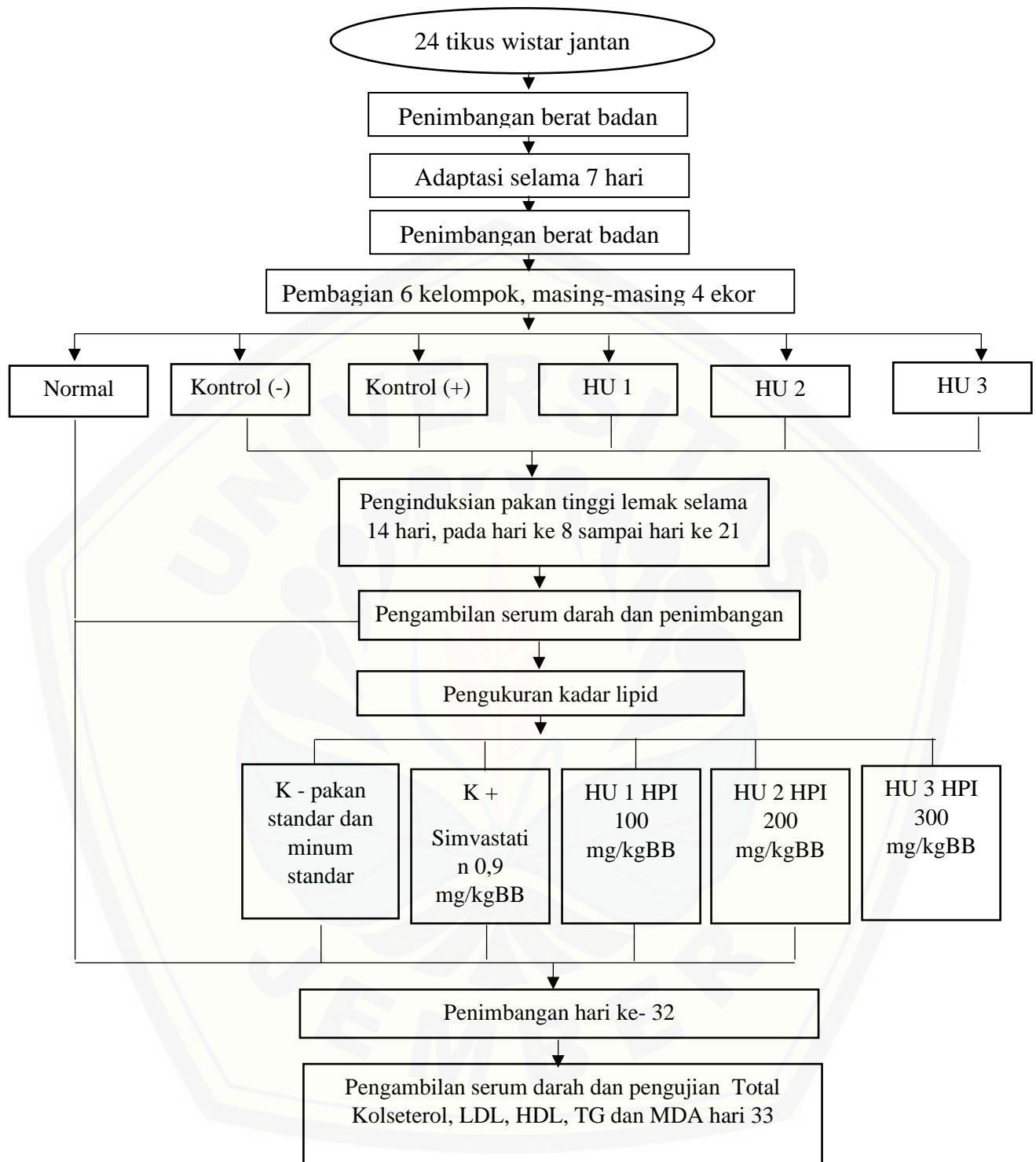
7. Pengambilan Serum darah

Pengambilan serum darah berfungsi untuk mengetahui parameter yang diuji yakni kadar kolesterol total, LDL, HDL, TG, dan MDA. Pengambilan serum darah dilakukan sebelum dan setelah diberi perlakuan pemberian hidrolisat protein ikan. Pengukuran awal serum darah bertujuan untuk menunjukkan kadar lipid dalam darah hewan uji setelah diberi pakan tinggi kolesterol hari ke-22. Kemudian diukur kembali kadar lipid dalam darah setelah diberi perlakuan hidrolisat protein ikan hari ke-32.

Tikus diberi perlakuan puasa selama 8 - 12 jam. Sebelum pengambilan darah tikus dianestesi terlebih dahulu dengan eter, setelah dianestesi tikus dijepit dengan jari tangan pada bagian tengkuk. Jarum pipa kapiler ditempelkan kebagian mata dan diputar sampai melukai *sinus orbitalis*, selanjutnya darah ditampung pada tube EDTA sejumlah 1 – 1,5 ml.

8. Pengukuran Kadar lipid dan kadar MDA dalam darah

Pengukuran kadar lipid meliputi kadar kolesterol total, HDL, LDL, dan Trigliserida. Sampel darah yang telah dimasukkan di dalam tabung sebanyak ± 0,5 ml – 1 ml. Disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Selanjutnya diukur kolesterol total, HDL, LDL dengan metode (CHOD-PAP), Trigliserida dengan metode GPO, dan MDA menggunakan metode *Thiobarbituric Acid Reacti* (TBARS) (Nurmasari, 2014).



Gambar 3.4 Pengujian kadar MDA dan profil lipid serum darah pada hewan uji.

3.5 Prosedur Analisis

3.5.1 Analisa Profil Lipid Darah

a. Kolesterol Total metode CHOD-PAP

Pengujian kadar kolesterol total menggunakan metode *Cholesterol Oxidase Para-aminophenazone* (CHOD-PAP) (Artiss and Zak, 1997). Pengujian ini dilakukan dengan cara mengambil darah dari *sinus orbitalis*. Pengambilan darah menggunakan hematokrit sebanyak 1 ml yang kemudian dimasukkan di dalam tube yang kemudian disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit yang berfungsi untuk memisahkan serum dengan plasma. Serum darah sejumlah 5 μ l direaksikan dengan 500 μ l pereaksi kit, dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk dihomogenkan menggunakan vortex. Kemudian dilakukan penginkubasian 10 menit pada suhu 20-25°C dan diabsorbansi pada panjang gelombang 546 nm.

b. HDL metode CHOD-PAP

Prinsip pengukuran HDL yakni dengan melihat pengendapan VLDL dan LDL oleh reagen yaitu fosfatungstat dan ion magnesium. Kemudian disentrifuse dan didapatkan supernatan yang mengandung HDL, lalu kadar HDL ditentukan dengan metode CHOD-PAP (Diasys, 2009). Pengukuran kadar HDL dalam serum darah dengan cara mengambil serum darah sebanyak 1ml pada bagian *sinus orbitalis* menggunakan hematokrit yang kemudian di masukan dalam tabung. Darah yang telah diperoleh di sentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Serum yang telah di dapat dari proses sentrifus diambil menggunakan mikropipet dan diletakkan di eppendorf. Sampel diambil sebanyak 50 μ l dan dimasukkan ke dalam eppendorf dan diberi penambahan reagen sebanyak 100 μ l HDL. Kemudian sampel di homogenkan, dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 25°C dan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 4000rpm. Dilakukan pengambilan supernatan sebanyak 50 μ l ditambah reagen kolesterol sebanyak 500 μ l dan dimasukkan kedalam tabung reaksi untuk di vortex. Setelah di vortex sampel diinkubasi selama 10 menit pada suhu 25°C dan dilakukan absorpsi pada panjang gelombang 546 nm.

c. LDL metode CHOD-PAP

Pengukuran kadar LDL berdasarkan metode CHOD-PAP dengan cara mengambil serum darah sebanyak 1ml pada bagian *sinus orbitalis* menggunakan hematokrit yang kemudian dimasukkan dalam tabung. Darah yang telah diperoleh disentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Serum yang telah didapat dari proses sentrifus diambil menggunakan mikropipet dan diletakkan di eppendorf dan diberi penambahan reagen sebanyak 1000 µl LDL. Kemudian sampel dihomogenkan, dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 25°C dan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Serum sebanyak 50µl ditambah reagen kolesterol sebanyak 500 µl dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk di vortex. Setelah di vortex sampel diinkubasi selama 10 menit pada suhu 25°C dan dilakukan absorpsi pada panjang gelombang 546 nm.

d. Trigliserida

Pengukuran kadar trigliserida dalam darah ditentukan melalui uji kolorimetri enzimatis menggunakan gliserol-3-fosfat-oksidas (GPO) dengan prinsip penguraian trigliserida secara enzimatis oleh lipoprotein lipase (Diasys, 2009). Pengukuran kadar trigliserida berdasarkan metode GPO dengan cara mengambil serum darah sebanyak 1ml pada bagian *sinus orbitalis* menggunakan hematokrit yang kemudian dimasukkan dalam tabung. Darah yang telah diperoleh disentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Serum yang telah didapat dari proses sentrifus diambil menggunakan mikropipet dan diletakkan di eppendorf. Sampel diambil sebanyak 5 µl dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah diberi perlakuan sterilisasi dan diberi penambahan reagen sebanyak 500 µl. Kemudian sampel dihomogenkan, dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20-25°C, kemudian diukur kadarnya menggunakan fotometer *Biolyzer 100TM*.

3.5.2 Analisa Kadar MDA pada Darah

Penentuan kadar MDA dilakukan dengan cara pembuatan kurva baku (Nurmasari, 2014) dengan cara pembuatan larutan stok I memipet *1,1,3,3-tetraethoxypropane* (TEP) sebanyak 5 µL kemudian dilarutkan dalam aquadest

sampai 10 mL. Selanjutnya, larutan stok I diambil 1 mL dan diencerkan dengan aquadest sampai 10 mL sehingga didapatkan larutan stok II. Kurva baku dibuat dengan cara mengambil larutan stok II kemudian dibuat 10 seri konsentrasi berbeda yaitu 5, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 31, 35 dan 39 μM . Masing-masing konsentrasi diambil 50 μL kemudian ditambahkan 1 mL aquadest, 100 μL TCA 20%, 250 μL HCl 1 N dan 100 μL Na-TBA 1%, setiap penambahan 2 reagen dihomogenkan dengan vortex. Tabung yang berisi supernatan dengan reagen ditutup aluminium foil dan dipanaskan dalam air suhu 100°C selama 30 menit. Setelah itu didinginkan pada suhu ruang selama 10 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm. Selanjutnya Pengukuran kadar MDA pada plasma darah dengan mengambil darah tikus sebanyak 50 μL dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL aquadest, 100 μL TCA 20%, 250 μL HCl 1 N dan 100 μL Na-TBA 1%, setiap penambahan 2 reagen dihomogenkan dengan vortex. Campuran tersebut dipanaskan dalam air suhu 100°C selama 30 menit dan didinginkan pada suhu ruang selama 10 menit. Campuran tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit dan hasil supernatannya dipindahkan ke dalam kuvet. Sampel diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm.

3.6 Analisa Data

Data yang telah diperoleh diolah dan dianalisis statistik menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh pemberian hidrolisat protein pada serum darah hewan uji dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$ ($\alpha = 95\%$), dan apabila terjadi perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan uji beda *Least significantly Different* (LSD) untuk mengetahui signifikansi perbedaan rata – rata antar kelompok dengan tingkat kemaknaan 95%.



DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A, Nejad SZ. 2015. Effect of cooking on quality commonly consumed marine fish *Platycephalidae (Platycephalus indicus)* in Iran. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science And Technology*. 3 (11): 891-893.
- Amalia, F. R., dan Ahmad, S. 2014. Perbedaan Kadar Kolesterol Total Sebelum dan Sesudah Pemberian Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus Linn*) Pada Pria Hiperkolesterolemia. *Journal of Nutrition College*, Volume 3 Nomor 4 Halaman 791-797. Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- Apriandi dan Azwin. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Keong Ipong – Ipong (*Fasciolaria salmo*). *Skripsi*. Bogor. Departemen Teknologi Hasil Perairan. FPIK. IPB
- Ardhie, A. M. 2011. Radikal Bebas dan Peran Antioksidan dalam Mencegah Penuaan. Jakarta. *Scientific Journal Of Pharmaceutical Development and Medical Application*.
- Arikunto, S. 2010. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*. Jakarta. Rineka Cipta
- Artist, J.D., and Zak, B. 1997. *Measurement of Cholesterol Concentration*. In: Rifai, N., Warnick, G.R., Dominiczak, M.H., eds. *Handbook of Lipoprotein Testing*. Washington: AACC Press. 99-114.
- Aviati, V., Siti, M. M., dan Tyas, R. S. 2014. Kadar Kolesterol Pemberian Tepung Kunyit Dalam Pakan. *Buletin Anatomi Fisiologi*. Volume 22, Nomor 1. Universitas Diponegoro
- Bashir., Imran. KM., Mohibbullah., MD., An., Hyeon Jeong., Choi., Yeon-Ji., Yong-Ki Hong., Shon., Hak Jae., Jin-Soo Kim., and Jae-Suk Choi. 2018. In vivo Antioxidant activity of mackerel (*Scomber japonicus*) muscle protein hydrolysate. *PeerJ*. DOI : 10.7717/Peerj.6181
- Carpenter KE., and Niem VH. 1999. *FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes. The Living Marine Resources Western of the Western Central Pacific. Volume 4. Bony fishes part 2 (Mugilidae to Carangidae)*. Rome (IT): FAO. 2069-2790 pp.
- Clarkson, P.M dan Thomson, H.S. 2000. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health, *J. Clin Nutr. Biochem*, 72.: 637S-46S.
- Diamonda, S. 2018. Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Baji-Baji (*Platycephalidae cymbacephalus*) dan Ikan Tawes (*Barbonymus*

- gonionotus*) Dengan Variasi Jenis dan Konsentrasi Enzim. *Skripsi*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Diasys, Diagnostic Systems. 2009. Glucose GOD FS. Diasys Diagnostic Systems GmbH. Germany
- Ellis, Pall S., dan V, Dahliwal S. 2010. Effect Of Whey Protein Isolate in Body Composition, Lipids, Insulin in Overweight and Obese Individual. *British Journal of Nutrition*; 104: 716-23
- Esfandi, R., Walters, E.M., Tsopmo, A. 2019. Antioxidant Properties and Potential Mechanism of Hydrolyzed Proteins and Peptides From Cereals. *Review Article*. Elsevier. Carleton University
- Evans, M.D., dan Cooke, M.S. 2006. Lipid- and Protein-Mediated Oxidative Damage to DNA. In: Singh, K.S., editor. *Oxidative Stress, Disease and Cancer*. Singapura: Mainland Press.
- Fitranti, D. Y., dan Marthandaru, D. 2016. Pengaruh Susu Kedelai dan Jahe Terhadap Kadar Kolesterol Total Pada Wanita Hiperkolesterolemia. *Jurnal Gizi Indonesia*. Vol. 4, No. 2 Juni. 2016 : 89 – 95. Semarang. Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- Gan, J. et al., 2014. Advancing and Exchanging Knowledge of the Causes, Natural History, Treatments, and Prevention of Atherosclerotic disease. *European Atherosclerosis Society Journals*. Volume 235, pp. 247-658.
- Giyatmi, 2001. Prospek Hidrolisat Protein ikan sebagai Pemer kaya Nutrisi Makanan. *Makalah. Program Pasca Sarjana*. Institute Pertanian, Bogor
- Goni, R.R., H. Hamsidar. 2014. Efek Penurunan kadar kolesterol total ekstrak daun geddi (*Abelmoschus manihot* L.) medik pada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) *Skripsi*. Gorontalo: Program Studi S1 Jurusan Farmasi Universitas Gorontalo
- Gunawan, H. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Herba Poguntano (*Picria FelTerae Lour.*) Terhadap Profil Lipid Tikus Putih Jantan Dislipidemia. *Talenta Conference series: Tropical Medicine* Vol. 1 issue 1-2018
- Hairunnisa, M., 2008. Pengaruh Pemberian Jus Buah Pare (*Momordica charantia*) terhadap Kadar HDL dan LDL Kolesterol Serum Tikus Jantan Galur Wistar yang Diberi Diet Tinggi Lemak. *Thesis*. Semarang, Universitas Diponegoro.
- Haryanto, A dan Sayogo, S. 2013. Hiperkolesterolemia: Bagaimana Peran Hesperidin?. *Cermin Dunia Kedokteran*. 40(1):12-16

- Hasimun, P., E. Y. Sukandar, I.K. Adnyana, dan D.H. Tjahjono. 2011. A simple method for screening antihyperlipidemic agents. *International Journal of Pharmacology*. 7(1):74-78
- Haslaniza, H. 2010. The effects of enzyme concentration, temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water. *International Food Research Journal* 17: 147-152.
- Helliwell, B dan Gutteridge, J.M.C. 2000. *Free Radical in Biology and Medicine*. New York. Oxford University Press
- Herwiyarirasanta., BA, Eduardus. 2010. *Effect of Black Soyben Extract Supplementation in Low Density Lipoprotein Level of Rats (Rattusnorvegicus) With High Fat Diet*. Journal Universitas Airlangga Vol. 10 No. 1
- Hidayat, M., Sijani P., Andreas A S., Khomaini H., Grabiella A., Janiefer G., Patrisia L., Cicilia L., dan Nathania, C. S. 2019. Hypolipidemic Effects of Pea Protein Hydrolysates on Lipid Profile and Uric Acid in Cisplatin-Induced Nephropathy Rats. *Journal of Medicine and Health*. Page 894-909 Vol. 2 No. 3 February. 2019. Maranatha Christian University
- Holt MP, Ju C. 2006. Mechanism of drug-induced liver injury. *APPS J*. 8 (1): 4854.
- Hosomi, R., Fukunaga, K., Arai, H., Kanda, S., Toshimasa, N, dan Munehiro, Y. 2011. Fish Protein Decrease Serum Cholesterol in Rats by Inhibition of Cholesterol and Bile Acid Absorption. *Journal of Food Science* Vol. 76, Nr 4. Institue of Food Technologists
- Hosomi, R. Fukunaga, K. Arai, H. Kanda, S. Toshimasa, N. dan Munehiro Y. 2012. Fish Protein Hydrolysate. Affect Cholesterol Metabolism in Rats Fed Non Cholesterol and High-Cholesterol Diets. *J. Of Medicinal Food* 15(3) 2012, 299-306. Korean Society of Food Science and Nutrition
- Iorio, E.L. 2007. *The Measurement of Oxidative Stress*. International Observatory of Oxidative Stress, Free Radicals and Antioxidant Systems. Special supplement to Bulletin
- Iseri, S., F. Ercan, N. Gerdik., M. Yuksel., I. Alican. 2007. Simvastatin attenuates cisplatin-induced kidney and liver damage in rats. *Journal of Toxicolgy* 230 (2007) 256-264.
- Janero, D.R. 2001. Malondialdehyde and Thiobarbarturic Acid Activity as Diagnosis Indices of Lipid Peroxidation and Peroxidative Tissues Injury. *Free Radical Biology & Medicine*;9: 515-40.
- Johnson, M. D., S. C. Gad, dan C. J. Kemper. 2016. *Animal Models in Toxicology*. Edisi 3th. CRC Press. Animal Models in Toxicology, Second Edition.

- Karnila, R. 2012. Daya Hipoglikemik Hidrolisat, Konsentrat, dan Isolat Protein Teripang Pasir (*Holothuria scabra J.*) Pada Tikus Percobaan. *Thesis*. Bogor. Sekolah Pasca Sarjana. IPB
- Katzung, B. G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 10. Jakarta: Salemba Medika.
- Khaled, B. H. Ghilissi, Z., Chtourou, Y., Hakim, A., Ktari, N., Fatma, M. A., Barkia, A., Sahnoun, Z., Nasri, M. 2011. Effect of Protein Hydrolysate from Sardinelle (*Sardinella aurita*) on The Ooxidative Status and Blood Lipid Profile of Cholesterol-Fed Rats. *Food Research Journal Vol 45* 60-68
- Khera, N dan Aruna, B. 2012. Antihyperlipidemic Activity of *Woodfordia fruticosa* Extract in High Cholesterol Diet Fed Mice. *International Journal and Phytopharmacology Research*. 2:3. 211-215
- Koswara, S., 2006. Isoflavon, Senyawa Multi-Manfaat Dalam Kedelai. Pustaka Sinar Harapan, Jakarta
- Kuncahyo, I., Sunardi. 2007. Uji Aktivitas Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi, L.*) terhadap 1,1-Dyphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH). *Seminar Nasional Teknologi*. Yogyakarta
- Lampe, JW. 1999. Health Effect of Vegetables and Fruit Assesing Mechanism Of Action In Human Experimental Studies. Dalam: *The American Journal Of Clinical Nutrition*.
- Lassoued, I. Mariem T., Zohra, G., Rim, N., Kamel, J., Modher, K., Zouheir, S., Tarik, R., Ahmed, B., Myriem, L. Se., Moncef, N. dan Ahmed, B. 2014. Evaluation of Hypocholesterolemic effect and antioxidant activity of Boops boops proteins in cholesterol-fed rat. *Journal of Food Funct*. 5. 1224-1231. Ministry of Gigher Education and Scietifi Research Tunisia
- Latifa, K. I. Tanti, A. Ika, T.D.K. 2016. Profil Kadar MDA (Malondialdehyde) pada Tikus yang Diberikan Ekstrak Herba Thymi (*Thymus vulgaris*[L.]). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- LIPI. 2013. Peraturan Kepala Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Nomor 6 Tahun 2013. Jakarta. 2013.
- Liscum, L., 2002, Cholesterol Biosynthesis, In Vance, D.E., dan Vance, J.E., (Eds) *Biochemistry of Lipids, Lipoprotein and Membranes*, 4th Ed, Elsevier, London.
- Loveric, J. M. M., Macan, M., Koprivanac, M. Kelava, M. B. V. 2008. Measurement of malondialdehyde (MDA) level in rat plasma after simvastatin treatment using two different analytical methods. *Periodicum Biologorum*. 110(1): 63-67.

- Macan M., Vukšić A, Tunec S., Konjevoda P., Lovric J., Kelava M., Štambulk N., Vrkić N, Bradamante V. 2015. Effects of simvastatin on malondialdehyde level and esterase activity in plasma and tissue of normolipidemic rats. *Pharmacol Rep.* 67: 907-913. Doi: 10.1016/j.pharep.2015.02.005.
- Marks, Dawn B., Allan, D Marks., and Collen M. Smith. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar Sebuah Pendekatan Klinis*. EGC. Jakarta
- Mawarti, H., R. Ratnawati., dan D. Lyrawati. 2002. Epigallocatechin Gallate Menghambat Resistensi Insulin pada Tikus dengan Diet Tinggi Lemak. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 27(1): 43-50.
- Mayes, P.A dan Botham, K.M.,. 2009. *Pengangkutan dan Penyimpanan Lipid: Biokimia Harper*. 27. Jakarta. EGC
- Muchtadi, T.R dan Sugiyono. 2013. *Prinsip Proses Dan Teknologi Pangan*. Alfabeta : Bandung.
- Muljanah, I. 1991. *Dalam Perkumpulan Penelitian Pengolahan Hasil Perikanan*.
- Mumpuni Y., dan Wulandari, A.,. 2011. *Cara Jitu Mengatasi Kolesterol*. Yogyakarta: Andi
- Murray, R. K., Granner, D. K., dan Rodwell Victor W. 2009. *Biokimia Harper*, Ed 27. Jakarta: EGC
- Nielsen, S. S., 2010. Introduction to Food Analysis, In: Nielsen SS (editor.) *Food Analysis 4th ed*. USA. Springer
- Notoatmodjo. 2005. *Metodologi Penelitian*. Edisi Revisian. Jakarta. Penerbit Rineka Cipta
- Nurmasari, DP., Utami WS., Sulistyaningsih E. 2014. Peranan ekstrak bangle (*Zingiber cassumunar Roxb*) Terhadap Produksi *Nitric Oxide* dan *Malondyaldehyde* pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. *eJ Pust Kes* 2 (3): 403-408
- Pasupuleti, V.K. & A.L. Demain. 2010. *Protein hydrolysates in Biotechnology*. New York. Springer.
- Pokorny, J., N. Yanishleva, and M. Gordon. 2001. *Antioxidant in Food*. England Woodhead Publishing Ltd.
- Pramono A, Solikah UK., Nurul HT., Rahma AY. Pengaruh Rebusan Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Kadar Trigliserida, Kolesterol Total dan Low Density Lipoprotein (LDL) Serum Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Mutiara Medika* 2011;11:130-143.

- Rajapakse, N., E. Mendis., H.G. Byun., and S.K. Kim. 2005. Purification and in vitro antioxidative effect of giants squid muscle peptides on free radical-mediated oxidative system. *J. Nutr. Biochem.* 16,562-569
- Rehm, H.J. and Reed, G. 1995. *Enzymes, Biomass, Food and Feed: Biotechnology vol 9.* Weinheim:VCH.
- Riansari A. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Tikus Jantan Galur Wistar Hiperlipidemia. Semarang: Universitas Diponegoro; 2008.
- Rianya, U. S. 2013. Drug-induced liver injury (DILI) pada penggunaan propiltiourasil (PTU). *CDK.* 40 (4): 278-281.
- Rigamonti E., Parolini C., Marchesi M., Diani E., Brambilla S., Sirtori CR. Hypolipidemic effect of dietary pea proteins: Impact on genes regulating hepatic lipid metabolism. 2010;54(1):S24-30.
- Rohman A, Riyanto S. 2005. Daya antioksidan ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata (L) Jack*) secara in-vitro. *Majalah Farmasi Indonesia* 16(3):136-140.
- Schilling, J.D., Lavine, K.L. 2014. *Evaluation Of Acute Heart Failure. In : Cuculich PS, Kates Am, Editors. Cardiology Subspecialty Consult (3rd Ed).* Philadelphia. Wolters Kluwer, 71-72.
- Schofield, J. D., Y. Liu, P. Rao-Balakrishna, R. A. Malik, dan H. Soran. 2016. Diabetes dyslipidemia. *Diabetes Therapy.* 7(2):203–219.
- Setiawan, D.I., Kusmiyati, T., Diana, N.A. 2016. Pemberian Kecambah Kacang Kedelai Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) dan *Superoxide Dismutase* (SOD) Tikus *Sprague Dawley* Hiperkolesterolemia. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia* vol 13 No. 1 (20 – 26).
- Soeksmanto, A., Hapsari, Y. & Simanjuntak, P., 2007, Kandungan Antioksidan pada Beberapa Bagian Tanaman Mahkota Dewa, *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl. (Thymelaceae), *Biodiversitas*, 8 (2), 92-95.
- Sorrentino, M. J. 2011. *Hyperlipidemia in Primary Care: A Practical Guide to Risk Reduction.* Chicago: Humana Press.
- Suryowinoto, S. 2005. Mengenal Beberapa Senyawa Pada Tanaman yang berperan sebagai Antiaging. *InfoPOM.* 6(3):7-11
- Torres, E., Massey, V. L., Poole, L. G., Sio, D. L., Warner, N. L., Schmidt, R. H., et al. (2015). Chronic Alcohol Exposure Enhances Lipopolysaccharide-Induced Lung Injury in Mice: Potential Role of Systemic Tumor Necrosis Factor-Alpha. *ISBRA*, 39(10), 1978-1988.

- Trilaksani. 2003. Aktivitas Antioksidan dan Imunomodulator Serelia Non Beras. *Skripsi*. Bogor. Jurusan Pertanian Institut Pertanian Bogor
- Uhlig, H. 1998. *Industrial Enzymes and Their Applications*. New York. John Wiley & Son Inc.
- Welinsa, F., E. Asni, Z. Malik, dan Ismawati. 2014. Gambaran histopatologi aorta torasika Rattus novergicus strain Wistar setelah pemberian dietatergenik selama 8 minggu *Skripsi*. Pekanbaru : Fakultas Kedokteran.
- Wergedahl, H., Liaset, B., Gudbrandsen, O. A., Lied, E., Espe, M., Muna., Z., Svere, M. 2004. Protein Hydrolysate Reduces Plasma Total Cholesterol, and Lowers Acyl-CoA: Cholesterol Acyltransferase Activity in Liver of Zucker Rats. *Biochemical and Molecular Actions of Nutriens Journal*. American Society for Nutritional Sciences
- Wheatin, F.W. and Lawson, W. 1985. *Processing Aquatic Food Product*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Widadi, I. R. 2011. Pembuatan dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Menggunakan Enzim Papain. *Skripsi*. Bogor. Departemen Teknologi Hasil Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Winarno, F. G. 1986. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta. Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno, F.G., 1995. *Enzim Pangan*. Jakarta .Gramedia Pustaka Utama,.
- Winarsi, H. 2005. Kajian Tentang Wanita Perimanapouse di Purwokerto dan beberapa Permasalahan dalam Sistem Imunnya. Dalam *majalah Obstetri dan Ginekologi Indonesia*.
- Winarsi, H. 2011. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Witono, Y., I. Taruna., W.S. Windrati,. 2014. Amino Acids Profiles and Chemical Properties of Four Inferior Sea Fishes in Madura, Indonesia. *International Journal of ChemTech Research*. Jember. Department of Agricultural Product Technology, Faculty of Agriculture, Jember University
- Young, I.S., and Woodside, J.V.(2001).Antioxidants in Health and Disease. *Jclin Pathol*.54:176-186
- Yovina, S. 2012. *Kolesterol*. Yogyakarta. Pinang Merah.

LAMPIRAN

1.1 Lampiran Perhitungan

Pembuatan bahan penginduksi lemak

1.1.1 Makanan Diet Tinggi Kolesterol dan Lemak

Pakan dibuat dengan perbandingan kuning telur puyuh : jelantah 7:3

Volume emulsi yang diberikan adalah 2 mL/200gBB

Jumlah total pakan yang dibuat 2 mL x 25 tikus = 50 mL (Dibuat 60 mL)

Jadi, dibuat emulsi :

Kuning telur puyuh

$$\frac{7}{10} \times 60 \text{ mL} = 42 \text{ mL}$$

Minyak Jelantah

$$\frac{3}{10} \times 60 \text{ mL} = 18 \text{ mL}$$

1.1.2 Pembuatan PTU 0,01%

PTU 0,01% dicampurkan ke dalam air minum tikus

Dosis PTU 100 mg

Volume PTU :

$$\frac{0.01 \text{ g}}{100 \text{ mL}} = \frac{0,1 \text{ g}}{x}$$

$$x = 1000 \text{ mL}$$

Jadi, pembuatan PTU dengan cara melarutkan PTU 100 mg ke dalam 1000 mL Aquades

1.1.3 Dosis Simvastatin

Dosis lazim simvastatin = 10 mg

Konversi ke dosis untuk tikus $10 \text{ mg} \times 0,018 = 0,18 - 0,18 \text{ mg}/200\text{gbb}$
 $= 0,9 \text{ mg}/\text{kgbb}$

Volume untuk 5 tikus $2 \text{ mL} \times 5 = 10 \text{ mL}$ (dibuat 20 mL)

Volume simvastatin yang diberikan 2 mL/ 200gbb

Jumlah simvastatin yang ditimbang :

$$20 \frac{mL}{2 mL} \times 0,9 mg = 9 mg$$

1.1.4 Dosis Hidrolisat Protein Ikan Baj – baji

Dosis hidrolisat protein ikan baji – baji yang digunakan dalam penelitian ini yakni 100mg/KgBB, 200mg/KgBB, 300MG/KgBB.

1. Dosis 100mg/KgBB

Volume HPI yang diberikan = 2 mL/ 200 gBB

Volume untuk 5 ekor tikus = 2mL x 4 = 8 ml (dibuat 10mL)

Dosis dikonversi kedalam dosis tikus :

$$\frac{100 mg}{1000 g} = \frac{x}{200 g}$$

$$x = 20 mg$$

$$\frac{20 mg}{2 ml} \times \frac{x}{10 ml}$$

$$x = 100 mg$$

Pembuatan Hidrolisat dengan dosis 100 mg/KgBB dilakukan dengan cara menimbang sediaan sebanyak 100 mg dan disuspensikan dengan CMC Na 1% b/v dan dilakukan pengadukan hingga homogen.

2. Dosis 200mg/KgBB

Volume HPI yang diberikan = 2 mL/ 200 gBB

Volume untuk 4 ekor tikus = 2mL x 4 = 8 ml (dibuat 10mL)

Dosis dikonversi kedalam dosis tikus :

$$\frac{200 mg}{1000 g} = \frac{x}{200 g}$$

$$x = 40 mg$$

$$\frac{40 mg}{2 ml} \times \frac{x}{10 ml}$$

$$x = 200 mg$$

Pembuatan Hidrolisat dengan dosis 200 mg/KgBB dilakukan dengan cara menimbang sediaan sebanyak 200 mg dan disuspensikan dengan CMC Na 1% b/v dan dilakukan pengadukan hingga homogen.

3. Dosis 300mg/KgBB

Volume HPI yang diberikan = 2 mL/ 200 gBB

Volume untuk 4 ekor tikus = 2 mL x 4 = 8 mL (dibuat 10 mL)

Dosis dikonversi kedalam dosis tikus :

$$\frac{300 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{200 \text{ g}}$$

$$x = 60 \text{ mg}$$

$$\frac{60 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times \frac{x}{10 \text{ mL}}$$

$$x = 300 \text{ mg}$$

Pembuatan Hidrolisat dengan dosis 300 mg/kgbb dilakukan dengan cara menimbang sediaan sebanyak 300 mg dan disuspensikan dengan CMC Na 1% b/v dan dilakukan pengadukan hingga homogen.

1.1.5 Lampiran Perhitungan Konsentrasi Baku MDA

Profil TEP

Kadar : $\geq 96\%$

Mr : 220,31 g/mol

Massa Jenis : 0,919 g/mL

1) Konsentrasi TEP

$$\text{Molaritas} : \frac{\text{Massa jenis} \times 1000 \times \text{kadar}}{\text{Mr}}$$

$$\text{Molaritas} : \frac{0,919 \text{ g/ml} \times 1000 \times \frac{96}{100}}{220,31 \text{ g/mol}}$$

$$\text{Molaritas} : 4,0045 \text{ mol/L}$$

2) Larutan Stok 1

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$4,0045 \text{ mol/L} \times (5 \mu\text{L} \times 10^{-3}) \text{ mL} = M_2 \times 10 \text{ mL}$$

$$0,02002 \text{ mol} = M_2 \times 10 \text{ mL}$$

$$0,002002 \text{ mol/mL} = M_2$$

$$2002 \mu\text{M} = M_2$$

Dipipet 5 μL TEP dilarutkan dalam aquadest sampai 10 mL.

3) Larutan Stok 2

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$2002 \mu\text{mol/mL} \times 1 \text{ mL} = M_2 \times 10 \text{ mL}$$

$$2002 \mu\text{mol} = M_2 \times 10 \text{ mL}$$

$$0,002002 \text{ mol/mL} = M_2$$

$$200,2 \mu\text{M} = M_2$$

Dipipet 1 mL Larutan Stok 1 dilarutkan dalam aquadest sampai 10 mL.

1.1.6 Pengenceran

Konsentrasi 5, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 31, 35 dan 39 μM

1) Konsentrasi 5 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 5 \mu\text{M}$$

$$x = 0,250 \text{ mL} = 250 \mu\text{L}$$

2) Konsentrasi 7 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 7 \mu\text{M}$$

$$x = 0,350 \text{ mL} = 350 \mu\text{L}$$

3) Konsentrasi 11 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 11 \mu\text{M}$$

$$x = 0,550 \text{ mL} = 550 \mu\text{L}$$

4) Konsentrasi 15 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 15 \mu\text{M}$$

$$x = 0,750 \text{ mL} = 750 \mu\text{L}$$

5) Konsentrasi 19 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 19 \mu\text{M}$$

$$x = 0,950 \text{ mL} = 950 \mu\text{L}$$

6) Konsentrasi 23 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 23 \mu\text{M}$$

$$x = 1,150 \text{ mL} = 1150 \mu\text{L}$$

7) Konsentrasi 27 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 27 \mu\text{M}$$

$$x = 1,350 \text{ mL} = 1350 \mu\text{L}$$

8) Konsentrasi 31 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 31 \mu\text{M}$$

$$x = 1,550 \text{ mL} = 1550 \mu\text{L}$$

9) Konsentrasi 35 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 35 \mu\text{M}$$

$$x = 1,750 \text{ mL} = 1750 \mu\text{L}$$

10) Konsentrasi 39 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 39 \mu\text{M}$$

$$x = 1,950 \text{ mL} = 1950 \mu\text{L}$$

1.1.7 Lampiran Perhitungan Pembuatan Reagen

1) Pembuatan TCA 20%

dibutuhkan 100 μL TCA untuk 11 konsentrasi = 1,1 mL TCA

$$20\% = \frac{20 \text{ g}}{100 \text{ mL}} = \frac{1 \text{ g}}{5 \text{ mL}}$$

menimbang 1 gram TCA dilarutkan dalam aquadest sampai 5 mL.

2) Pembuatan Na-TBA 1%

TBA larut dalam NaOH 1 M. Untuk membuat Na-TBA 1%, dibuat larutan NaOH 1 M sebagai berikut :

$$\text{Molaritas} = \frac{\text{Massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{V}$$

$$1 \text{ M} = \frac{\text{Massa}}{40} \times \frac{1000}{25 \text{ mL}}$$

$$\text{Massa} = 1 \text{ gram}$$

Melarutkan 1 gram NaOH dalam aquadest sampai 25 mL.

Setelah itu, membuat larutan Na-TBA 1% :

$$1\% = \frac{1 \text{ g}}{100 \text{ mL}} = \frac{0,1 \text{ g}}{10 \text{ mL}}$$

Menimbang 0,1 gram TBA dan dilarutkan dalam NaOH 1 M sampai 10 mL.

3) Pembuatan larutan HCl 1 N

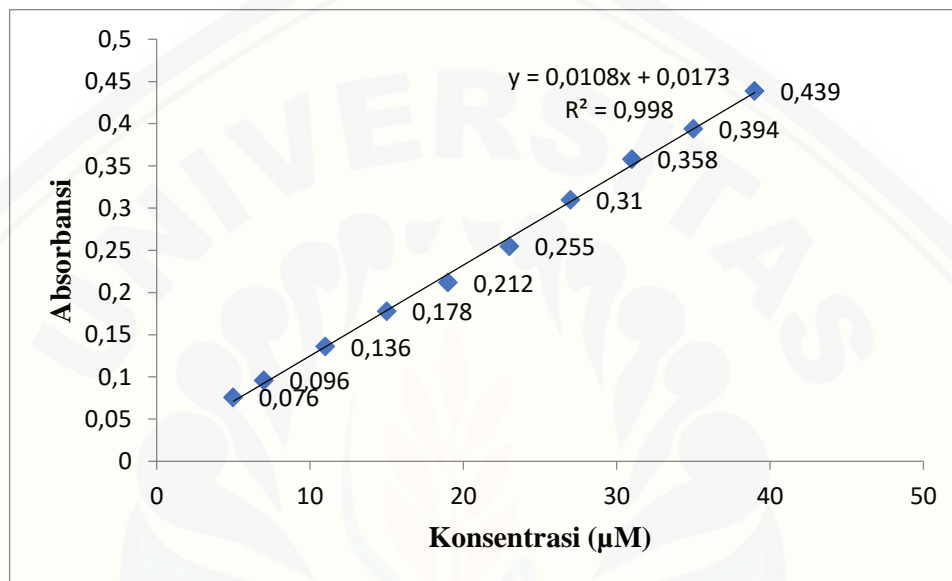
Mengencerkan HCL 12 N menjadi HCl 1 N :

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12 \text{ N} \times 1 \text{ mL} = 1 \text{ N} \times V_2$$

$$V_2 = 12 \text{ mL}$$

Memipet 1 mL HCL 12 N, dilarutkan dalam aquadest sampai 12 mL



Gambar 4.1 Grafik persamaan kurva baku

2.1 Lampiran Hasil Analisis

2.1.1 Hasil uji kadar kolesterol total

	Kelompok	Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KolesterolTotal	Normal	,362	4	.	,736	4	,028
	Kontrol	,292	4	.	,862	4	,268
	Negatif						
	Kontrol	,276	4	.	,835	4	,180
	Positif						
	HPI 100mg	,261	3	.	,958	3	,604
	HPI 200mg	,303	4	.	,922	4	,547
	HPI 300mg	,258	4	.	,832	4	,172

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances				
KolesterolTotal				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
2,061	5	17	,121	

ANOVA					
KolesterolTotal					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8613,028	5	1722,606	20,381	,000
Within Groups	1436,861	17	84,521		
Total	10049,889	22			

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: KolesterolTotal							
	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)		Sig.	95% Confidence Interval	
			Difference	Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
LSD	Normal	Kontrol	-4,85325	6,50082	,466	-18,5688	8,8623
		Negatif					
		Kontrol	-44,72275*	6,50082	,000	-58,4383	-31,0072
		Positif					
		HPI 100mg	-20,45342*	7,02168	,010	-35,2679	-5,6390
		HPI 200mg	-44,04400*	6,50082	,000	-57,7595	-30,3285
		HPI 300mg	-44,25575*	6,50082	,000	-57,9713	-30,5402

Dependent Variable: KolesterolTotal		95% Confidence Interval				
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
	Normal	4,85325	6,50082	,466	-8,8623	18,5688
	Kontrol	-39,86950*	6,50082	,000	-53,5850	-26,1540
Positif	HPI 100mg	-15,60017*	7,02168	,040	-30,4146	-,7857
	HPI 200mg	-39,19075*	6,50082	,000	-52,9063	-25,4752
	HPI 300mg	-39,40250*	6,50082	,000	-53,1180	-25,6870
Negatif	Normal	44,72275*	6,50082	,000	31,0072	58,4383
	Kontrol	39,86950*	6,50082	,000	26,1540	53,5850
	Negatif					
HPI 100mg	HPI 100mg	24,26933*	7,02168	,003	9,4549	39,0838
	HPI 200mg	,67875	6,50082	,918	-13,0368	14,3943
	HPI 300mg	,46700	6,50082	,944	-13,2485	14,1825
Kontrol	Normal	20,45342*	7,02168	,010	5,6390	35,2679
	Kontrol	15,60017*	7,02168	,040	,7857	30,4146
	Negatif					
Positif	Kontrol	-24,26933*	7,02168	,003	-39,0838	-9,4549
	HPI 200mg	-23,59058*	7,02168	,004	-38,4050	-8,7761
	HPI 300mg	-23,80233*	7,02168	,003	-38,6168	-8,9879
HPI 200mg	Normal	44,04400*	6,50082	,000	30,3285	57,7595
	Kontrol	39,19075*	6,50082	,000	25,4752	52,9063
	Negatif					
Positif	Kontrol	-,67875	6,50082	,918	-14,3943	13,0368
	HPI 100mg	23,59058*	7,02168	,004	8,7761	38,4050
	HPI 300mg	-,21175	6,50082	,974	-13,9273	13,5038
HPI 300mg	Normal	44,25575*	6,50082	,000	30,5402	57,9713
	Kontrol	39,40250*	6,50082	,000	25,6870	53,1180
	Negatif					
Positif	Kontrol	-,46700	6,50082	,944	-14,1825	13,2485
	HPI 100mg	23,80233*	7,02168	,003	8,9879	38,6168
	HPI 200mg	,21175	6,50082	,974	-13,5038	13,9273

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

Kolesterol Total

		Subset for alpha = 0.05			
	Kelompok	N	1	2	3
Duncan ^{a,b}	Normal	4	,9003		
	Kontrol Negatif	4	5,7535		
	HPI 100mg	3		21,3537	
	HPI 200mg	4			44,9443
	HPI 300mg	4			45,1560
	Kontrol Positif	4			45,6230
	Sig.			,477	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,789.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used.

Type I error levels are not guaranteed.

2.1.2 Hasil uji kadar trigliserida

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Trigliserida	Normal	,212	4	.	,954	4	,741
	Kontrol Negatif	,286	4	.	,894	4	,400
	Kontrol Positif	,243	4	.	,958	4	,764
	HPI 100mg	,163	4	.	,990	4	,959
	HPI 200mg	,279	4	.	,885	4	,363
	HPI 300mg	,261	4	.	,956	4	,754

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Trigliserida				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
2,156	5	18	,105	

ANOVA

Trigliserida					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7335,240	5	1467,048	5,685	,003
Within Groups	4645,237	18	258,069		
Total	11980,477	23			

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: Triglicerida							
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean		Sig.	95% Confidence Interval		
		Difference (I-J)	Std. Error		Lower Bound	Upper Bound	
LSD	Normal	Kontrol	-6,657500	11,359330	,565	-30,52257	17,20757
		Negatif					
		Kontrol	-43,462500*	11,359330	,001	-67,32757	-19,59743
	Positif	HPI 100mg	-36,265000*	11,359330	,005	-60,13007	-12,39993
		HPI 200mg	-36,525000*	11,359330	,005	-60,39007	-12,65993
		HPI 300mg	-42,670000*	11,359330	,001	-66,53507	-18,80493
	Kontrol	Normal	6,657500	11,359330	,565	-17,20757	30,52257
		Negatif					
		Kontrol	-36,805000*	11,359330	,005	-60,67007	-12,93993
	Positif	HPI 100mg	-29,607500*	11,359330	,018	-53,47257	-5,74243
		HPI 200mg	-29,867500*	11,359330	,017	-53,73257	-6,00243
		HPI 300mg	-36,012500*	11,359330	,005	-59,87757	-12,14743
Kontrol	Normal	43,462500*	11,359330	,001	19,59743	67,32757	
	Negatif						
	Kontrol	36,805000*	11,359330	,005	12,93993	60,67007	
Positif	HPI 100mg	7,197500	11,359330	,534	-16,66757	31,06257	
	HPI 200mg	6,937500	11,359330	,549	-16,92757	30,80257	
	HPI 300mg	,792500	11,359330	,945	-23,07257	24,65757	
HPI 100mg	Normal	36,265000*	11,359330	,005	12,39993	60,13007	
	Negatif						
	Kontrol	29,607500*	11,359330	,018	5,74243	53,47257	
Positif	Kontrol	-7,197500	11,359330	,534	-31,06257	16,66757	
	HPI 100mg	-,260000	11,359330	,982	-24,12507	23,60507	
	HPI 300mg	-6,405000	11,359330	,580	-30,27007	17,46007	
HPI 200mg	Normal	36,525000*	11,359330	,005	12,65993	60,39007	
	Negatif						
	Kontrol	29,867500*	11,359330	,017	6,00243	53,73257	
Positif	Kontrol	-6,937500	11,359330	,549	-30,80257	16,92757	
	HPI 100mg	,260000	11,359330	,982	-23,60507	24,12507	
	HPI 300mg	-6,145000	11,359330	,595	-30,01007	17,72007	

Dependent Variable: Triglicerida		95% Confidence Interval				
(I)	(J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound	
Normal	42,670000*	11,359330	,001	18,80493	66,53507	
Kontrol	36,012500*	11,359330	,005	12,14743	59,87757	
Negatif						
Kontrol	-,792500	11,359330	,945	-24,65757	23,07257	
Positif						
HPI 100mg	6,405000	11,359330	,580	-17,46007	30,27007	
HPI 200mg	6,145000	11,359330	,595	-17,72007	30,01007	

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

Triglicerida				
Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	
Duncan ^a				
Normal	4	1,03750		
Kontrol Negatif	4	7,69500		
HPI 100mg	4		37,30250	
HPI 200mg	4		37,56250	
HPI 300mg	4		43,70750	
Kontrol Positif	4		44,50000	
Sig.		,565	,569	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

2.1.3 Hasil uji kadar *Low density lipoprotein*

Tests of Normality							
Kelompok	Statistic	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
LDL	Normal	,209	4	.	,963	4	,796
	Kontrol Negatif	,371	3	.	,784	3	,076
	Kontrol Positif	,252	3	.	,965	3	,643
	HPI 100mg	,359	3	.	,811	3	,142
	HPI 200mg	,382	3	.	,758	3	,017
	HPI 300mg	,224	4	.	,949	4	,712

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

LDL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,002	5	14	,452

ANOVA

LDL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7433,336	5	1486,667	3,158	,041
Within Groups	6590,472	14	470,748		
Total	14023,807	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: LDL

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
LSD Normal	Kontrol	-13,56250	16,57115	,427	-49,1041	21,9791
	Negatif					
	Kontrol	-22,30583	16,57115	,200	-57,8474	13,2357
	Positif					
	HPI 100mg	-24,37583	16,57115	,163	-59,9174	11,1657
	HPI 200mg	-47,46583*	16,57115	,012	-83,0074	-11,9243
Kontrol Negatif	HPI 300mg	-52,66250*	15,34190	,004	-85,5676	-19,7574
	Normal	13,56250	16,57115	,427	-21,9791	49,1041
	Kontrol	-8,74333	17,71530	,629	-46,7389	29,2522
	Positif					
	HPI 100mg	-10,81333	17,71530	,551	-48,8089	27,1822
	HPI 200mg	-33,90333	17,71530	,076	-71,8989	4,0922
Kontrol Positif	HPI 300mg	-39,10000*	16,57115	,033	-74,6416	-3,5584
	Normal	22,30583	16,57115	,200	-13,2357	57,8474
	Positif	8,74333	17,71530	,629	-29,2522	46,7389
	Negatif					
	HPI 100mg	-2,07000	17,71530	,909	-40,0655	35,9255
	HPI 200mg	-25,16000	17,71530	,177	-63,1555	12,8355
HPI 300mg		-30,35667	16,57115	,088	-65,8982	5,1849

(J) Kelompok	Mean		Sig.	Lower Bound	Upper Bound
	Difference (I-J)	Std. Error			
Normal	24,37583	16,57115	,163	-11,1657	59,9174
Kontrol	10,81333	17,71530	,551	-27,1822	48,8089
Negatif					
Kontrol				-35,9255	40,0655
Positif	2,07000	17,71530	,909		
HPI 200mg	-23,09000	17,71530	,213	-61,0855	14,9055
HPI 300mg	-28,28667	16,57115	,110	-63,8282	7,2549
HPI 200mg					
Normal	47,46583*	16,57115	,012	11,9243	83,0074
Kontrol	33,90333	17,71530	,076	-4,0922	71,8989
Negatif					
Kontrol	25,16000	17,71530	,177	-12,8355	63,1555
Positif					
HPI 100mg	23,09000	17,71530	,213	-14,9055	61,0855
HPI 300mg	-5,19667	16,57115	,758	-40,7382	30,3449
HPI 300mg					
Normal	52,66250*	15,34190	,004	19,7574	85,5676
Kontrol	39,10000*	16,57115	,033	3,5584	74,6416
Negatif					
Kontrol	30,35667	16,57115	,088	-5,1849	65,8982
Positif					
HPI 100mg	28,28667	16,57115	,110	-7,2549	63,8282
HPI 200mg	5,19667	16,57115	,758	-30,3449	40,7382

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

LDL

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^{a,b}			
Normal	4	4,9675	
Kontrol Negatif	3	18,5300	18,5300
Kontrol Positif	3	27,2733	27,2733
HPI 100mg	3	29,3433	29,3433
HPI 200mg	3		52,4333
HPI 300mg	4		57,6300
Sig.		,205	,054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,273.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

2.2.4 Hasil uji kadar *High density lipoprotein*

Tests of Normality							
Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
HDL	Normal	,376	3	.	,772	3	,049
	Kontrol Negatif	,345	3	.	,839	3	,211
	Kontrol Positif	,342	3	.	,844	3	,225
	HPI 100mg	,177	3	.	1,000	3	,972
	HPI 200mg	,357	3	.	,815	3	,151
	HPI 300mg	,336	3	.	,855	3	,255

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

HDL				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
2,803	5	12	,067	

ANOVA

HDL					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10539,362	5	2107,872	5,199	,009
Within Groups	4865,290	12	405,441		
Total	15404,652	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HDL

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LSD	Normal	Kontrol Negatif	71,47667*	16,44062	,001	35,6556	107,2977
		Kontrol Positif	61,24667*	16,44062	,003	25,4256	97,0677
	HPI 200mg	66,42333*	16,44062	,002	27,9090	99,5510	
	HPI 300mg	51,96667*	16,44062	,008	16,1456	87,7877	
	KontrolNegatif	Normal	-71,47667*	16,44062	,001	-107,2977	-35,6556
	Kontrol Positif	-10,23000	16,44062	,545	-46,0510	25,5910	
	HPI 100mg	-7,74667	16,44062	,646	-43,5677	28,0744	

(J) Kelompok	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
				Difference (I-J)	Lower Bound
HPI 200mg	-5,05333	16,44062	,764	-40,8744	30,7677
HPI 300mg	-19,51000	16,44062	,258	-55,3310	16,3110
Kontrol Positif	-61,24667*	16,44062	,003	-97,0677	-25,4256
Kontrol Negatif	10,23000	16,44062	,545	-25,5910	46,0510
HPI 100mg	2,48333	16,44062	,882	-33,3377	38,3044
HPI 200mg	5,17667	16,44062	,758	-30,6444	40,9977
HPI 300mg	-9,28000	16,44062	,583	-45,1010	26,5410
HPI 100mg	-63,73000*	16,44062	,002	-99,5510	-27,9090
Kontrol Negatif	7,74667	16,44062	,646	-28,0744	43,5677
Kontrol Positif	-2,48333	16,44062	,882	-38,3044	33,3377
HPI 200mg	2,69333	16,44062	,873	-33,1277	38,5144
HPI 300mg	-11,76333	16,44062	,488	-47,5844	24,0577
HPI 200mg	-66,42333*	16,44062	,002	-102,2444	-30,6023
Kontrol Negatif	5,05333	16,44062	,764	-30,7677	40,8744
Kontrol Positif	-5,17667	16,44062	,758	-40,9977	30,6444
HPI 100mg	-2,69333	16,44062	,873	-38,5144	33,1277
HPI 300mg	-14,45667	16,44062	,396	-50,2777	21,3644
HPI 300mg	-51,96667*	16,44062	,008	-87,7877	-16,1456
Kontrol Negatif	19,51000	16,44062	,258	-16,3110	55,3310
Kontrol Positif	9,28000	16,44062	,583	-26,5410	45,1010
HPI 100mg	11,76333	16,44062	,488	-24,0577	47,5844
HPI 200mg	14,45667	16,44062	,396	-21,3644	50,2777

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

HDL

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a	Kontrol Negatif	3	-62,0100
	HPI 200mg	3	-56,9567
	HPI 100mg	3	-54,2633
	Kontrol Positif	3	-51,7800
	HPI 300mg	3	-42,5000
	Normal	3	9,4667
	Sig.		,299
			1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

2.2.5 Hasil uji kadar *Malondyaldehide* (MDA)

Tests of Normality							
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
MDA Normal	,221	4	.	,954	4	,739	
Kontrol Negatif	,205	4	.	,944	4	,677	
Kontrol Positif	,259	4	.	,867	4	,286	
HPI 100mg	,223	4	.	,945	4	,686	
HPI 200mg	,261	4	.	,916	4	,517	
HPI 300mg	,157	4	.	,994	4	,975	

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances				
MDA	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	2,107	5	18	,112

ANOVA					
MDA	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	252,621	5	50,524	12,999	,000
Within Groups	69,961	18	3,887		
Total	322,582	23			

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: MDA						
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean		Sig.	95% Confidence Interval	
		Difference (I-J)	Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
LSD Normal	Kontrol Negatif	-9,09722*	1,39404	,000	-12,0260	-6,1684
	Kontrol Positif	-,74074	1,39404	,602	-3,6695	2,1880
	HPI 100mg	-4,25926*	1,39404	,007	-7,1880	-1,3305
	HPI 200mg	-,62500	1,39404	,659	-3,5538	2,3038
	HPI 300mg	-,57870	1,39404	,683	-3,5075	2,3501
	KontrolNegatif Normal	9,09722*	1,39404	,000	6,1684	12,0260

		95% Confidence Interval				
(J)	Mean	Difference	Std.		Lower	Upper
Kelompok	(I-J)	Error	Sig.	Bound	Bound	
	Kontrol				5,4277	11,2853
	Positif	8,35648*	1,39404	,000		
	HPI 100mg	4,83796*	1,39404	,003	1,9092	7,7667
	HPI 200mg	8,47222*	1,39404	,000	5,5434	11,4010
	HPI 300mg	8,51852*	1,39404	,000	5,5897	11,4473
Kontrol Positif	Normal	,74074	1,39404	,602	-2,1880	3,6695
	Kontrol	-8,35648*	1,39404	,000	-11,2853	-5,4277
	Negatif					
	HPI 100mg	-3,51852*	1,39404	,021	-6,4473	-,5897
	HPI 200mg	,11574	1,39404	,935	-2,8130	3,0445
	HPI 300mg	,16204	1,39404	,909	-2,7667	3,0908
HPI 100mg	Normal	4,25926*	1,39404	,007	1,3305	7,1880
	Kontrol	-4,83796*	1,39404	,003	-7,7667	-1,9092
	Negatif					
	Kontrol	3,51852*	1,39404	,021	,5897	6,4473
	Positif					
	HPI 200mg	3,63426*	1,39404	,018	,7055	6,5630
	HPI 300mg	3,68056*	1,39404	,017	,7518	6,6093
HPI 200mg	Normal	,62500	1,39404	,659	-2,3038	3,5538
	Kontrol	-8,47222*	1,39404	,000	-11,4010	-5,5434
	Negatif					
	Kontrol	-,11574	1,39404	,935	-3,0445	2,8130
	Positif					
	HPI 100mg	-3,63426*	1,39404	,018	-6,5630	-,7055
	HPI 300mg	,04630	1,39404	,974	-2,8825	2,9751
HPI 300mg	Normal	,57870	1,39404	,683	-2,3501	3,5075
	Kontrol	-8,51852*	1,39404	,000	-11,4473	-5,5897
	Negatif					
	Kontrol	-,16204	1,39404	,909	-3,0908	2,7667
	Positif					
	HPI 100mg	-3,68056*	1,39404	,017	-6,6093	-,7518
	HPI 200mg	-,04630	1,39404	,974	-2,9751	2,8825

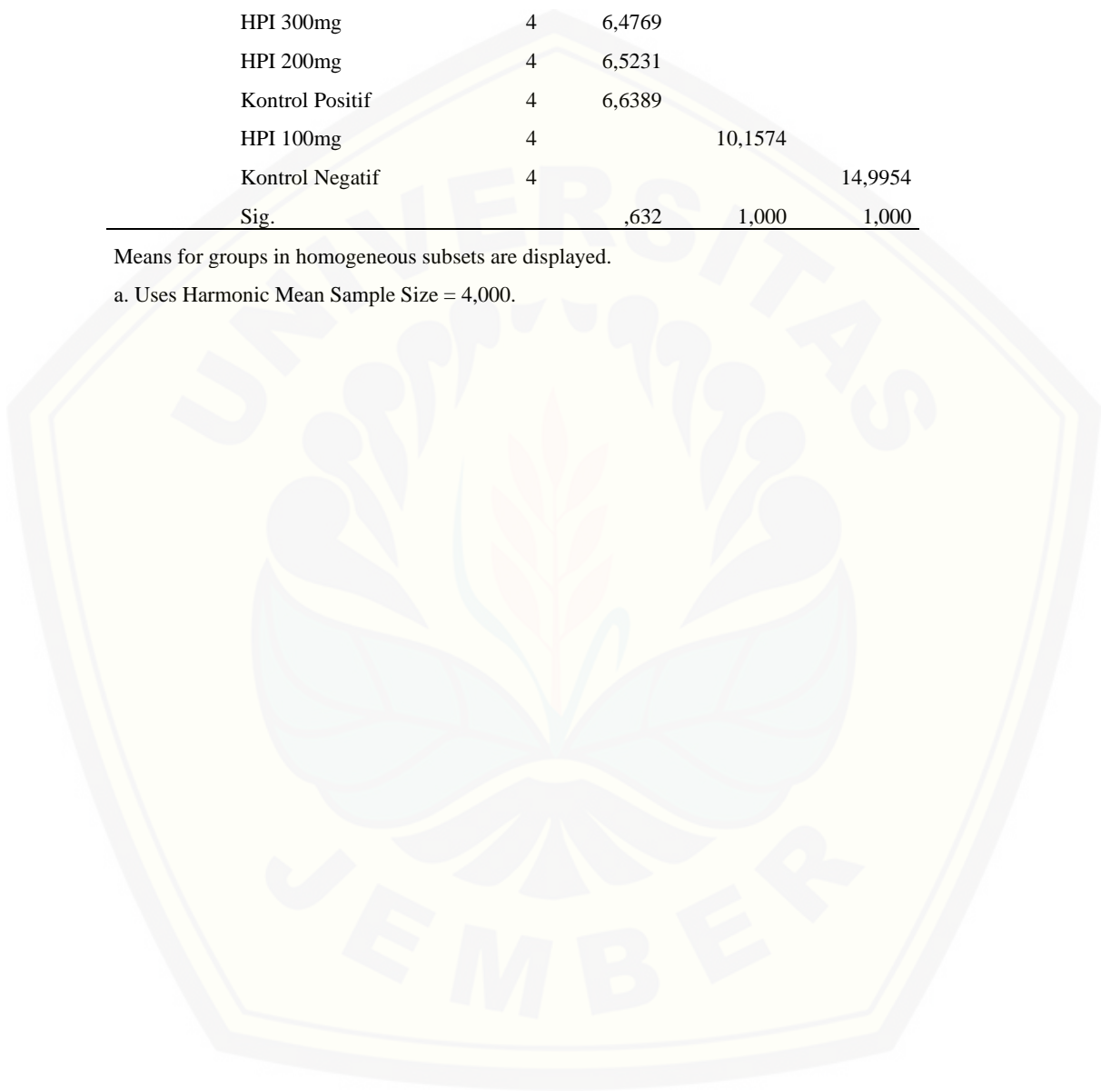
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

MDA

		Subset for alpha = 0.05			
	Kelompok	N	1	2	3
Duncan ^a	Normal	4	5,8981		
	HPI 300mg	4	6,4769		
	HPI 200mg	4	6,5231		
	Kontrol Positif	4	6,6389		
	HPI 100mg	4		10,1574	
	Kontrol Negatif	4			14,9954
	Sig.			,632	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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



3.1 Lampiran Kode etik penelitian

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p>
<p>ETHIC COMMITTEE APPROVAL <u>No.414/UN25.8/KEPK/DL/2019</u></p>	
Title of research protocol	: " The Effectivity Of Antioxidant Preparation Fish Protein Hydrolysis Form Inferior Fish Against MDA Levels And Blood Lipid Profile In Rats"
Document Approved	: Research Protocol
Principal investigator	: Dinda Aulia Rizky
Member of research	: 1. Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP.,M.P 2. Ir. Mukhammad Fauzi, M.Sc
Responsible Physician	: Dinda Aulia Rizky
Date of approval	: June-July 10 th , 2019
Place of research	: Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember
<p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember States That the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p>	
<p>Jember, May 10th, 2019</p>	
<p>Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>  <p>(drg. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros)</p>	<p>Chairman of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>  <p>(Prof. Dr. I. Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si)</p>

4.1 Lampiran dokumentasi



a. Pembuatan hidrolisat protein ikan baji - baji



b. Hidrolisat protein ikan baji - baji



c. CMC-Na



d. Penimbangan berat badan tikus



e. Penginduksian pakan tinggi lemak



f. Pengambilan darah melalui sinus orbitalis



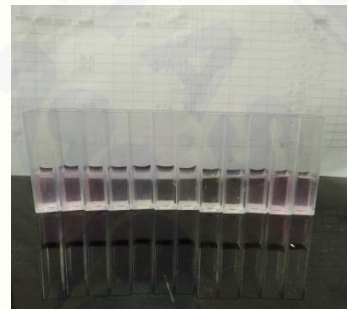
g. Pemisahan serum darah dengan cara sentrifugasi



h. Pengecekan menggunakan biolyzer



i. Serum darah



j. Pengecekan kadar MDA