



**PENGARUH EKSTRAK METANOL  
DAUN KAYU KUNING (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.)  
TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL DAN TRIGLISERIDA  
TIKUS HIPERLIPIDEMIA**

**SKRIPSI**

Oleh  
Putri Eka Maryani  
NIM. 112210101050

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2015**



**PENGARUH EKSTRAK METANOL  
DAUN KAYU KUNING (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.)  
TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL DAN TRIGLISERIDA  
TIKUS HIPERLIPIDEMIA**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu Fakultas Farmasi  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Putri Eka Maryani**

**NIM. 112210101050**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2015**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Agama dan ilmu pengetahuan yang semoga senantiasa berjalan seimbang dan memberikan banyak manfaat dan kebahagiaan di dunia dan akhirat;
2. Ibu Sukini dan Bapak Suyono, orang tua terhebat yang senantiasa mengajarkan tentang kesabaran, kemandirian, memberikan do'a, semangat dan dukungan yang tak henti-hentinya;
3. Adikku Novanto Dwi Cahyono atas semua semangatnya;
4. Seluruh keluarga besar, sahabat dan teman-teman terkasih yang selalu memberikan dukungan, doa, dan motivasi;
5. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, Bapak/Ibu Guru SMK Farmasi Katolik Bina Farma Madiun, SMP Negeri 1 Madiun, SD Negeri 01 Madiun Lor dan TK Dharma Wanita Madiun yang telah memberikan ilmu dan pengalaman berharga sehingga saya dapat mendapatkan nikmat ilmu yang luar biasa dan tak ternilai harganya;
6. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan.

(Terjemahan Q.S. Al-Mujadalah: 11\*)

Barang siapa memudahkan langkah untuk menuntut ilmu, maka Allah memudahkan baginya jalan menuju surga.

(Hadist)

Dengan ilmu kita menuju kemuliaan.

(Ki Hajar Dewantara)

---

\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. Al Qur'an dan Terjemahannya. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Putri Eka Maryani

NIM : 112210101050

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Tikus Hiperlipidemia” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 21 Desember 2015

Putri Eka Maryani

NIM. 112210101050

**SKRIPSI**

**PENGARUH EKSTRAK METANOL DAUN KAYU KUNING  
(*ARCANGELISIA FLAVA* (L.) MERR.) TERHADAP KADAR KOLESTEROL  
TOTAL DAN TRIGLISERIDA TIKUS HIPERLIPIDEMIA**

Oleh

Putri Eka Maryani

NIM 112210101050

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Evi Umayah Ulfa, S.Si., Apt., M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Ema Rachmawati, S.Farm., Apt., M.Sc.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Tikus Hiperlipidemia” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Senin, 21 Desember 2015

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

**Tim Pembimbing:**

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

  
Evi Umayah Ulfa, S.Si., Apt., M.Si.  
NIP. 197807282005012001

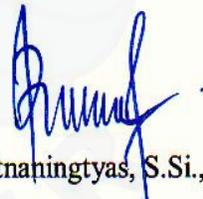
  
Ema Rachmawati, S.Farm., Apt., M.Sc.  
NIP. 198403082008012003

**Tim Penguji:**

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

  
Diana Holidayah, S.F., Apt., M.Farm.  
NIP. 197812212005012002

  
Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si.  
NIP. 197806092005012004

Mengesahkan

Dekan,



Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.

NIP. 197604142002122001

## RINGKASAN

**Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Tikus Hiperlipidemia;** Putri Eka Maryani, 112210101050; 71 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Hiperlipidemia adalah suatu kelainan bersifat heterogen yang biasanya ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total, *Low Density Lipoprotein* (LDL), *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), trigliserida, dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL). Selain itu, dapat pula didefinisikan sebagai serum kolesterol minimal 200 mg/dl atau serum trigliserida minimal 150 mg/dl. Penyebab terjadinya hiperlipidemia salah satunya adalah peningkatan jumlah konsumsi bahan pemanis tambahan, seperti fruktosa dan juga kebiasaan masyarakat mengkonsumsi makanan tinggi lemak.

Kondisi hiperlipidemia dapat diatasi dengan pemberian obat-obat antihiperlipidemik, namun saat ini telah banyak dikembangkan penggunaan tumbuhan obat tradisional, salah satunya adalah *Arcangelisia flava* (L.) Merr. atau yang lebih dikenal sebagai kayu kuning. Adanya kandungan beberapa senyawa penting seperti saponin, flavonoid dan alkaloid berberin diduga mampu bertindak sebagai agen hipolipidemik dengan menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida.

Tujuan penelitian adalah menentukan kemampuan ekstrak metanol daun *A. flava* dalam menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida, serta untuk mengetahui perbedaan kemampuannya dalam menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida pada beberapa variasi dosis ekstrak. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi mengenai manfaat ekstrak metanol daun *A. flava* yang mampu menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida, dan juga dapat

menjadi dasar untuk penelitian lebih lanjut tentang tumbuhan *A. flava* sebagai salah satu alternatif pengobatan hiperlipidemia berbahan alam.

Sebanyak 24 ekor tikus Wistar jantan dibagi menjadi 6 kelompok, dimana masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Lima kelompok tikus uji diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa 27,5% dalam air minum, sedangkan satu kelompok yang lain digunakan sebagai kontrol normal dengan diberi pakan dan minum standar selama 45 hari. Pada hari ke-46 dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total menggunakan metode CHOD-PAP dan trigliserida dengan metode GPO-PAP yang hasilnya digunakan sebagai kadar rata-rata awal. Selanjutnya, lima kelompok tikus uji masing-masing diberikan suspensi ekstrak metanol daun *A. flava* dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, 750 mg/kg BB, obat standar simvastatin (kontrol (+)), dan CMC Na 1% (kontrol (-)) selama 7 hari, dimana pada hari ke-8 dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total dan trigliserida dengan metode yang sama seperti pemeriksaan sebelumnya. Pada kedua metode pemeriksaan ini menggunakan serum darah tikus sebagai sampel uji.

Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kemampuan penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida seiring dengan peningkatan dosis ekstrak yang diberikan. Dari hasil uji ANOVA satu arah, diketahui terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Persentase penurunan kadar kolesterol total berturut-turut dari kontrol (+), dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan 750 mg/kg BB sebesar 36,85%, 18,79%, 22,56%, 26,53%, dan untuk kadar trigliserida sebesar 26,76%, 17,29%, 17,58%, 24%. Berdasarkan hasil tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol daun *A. flava* memiliki kemampuan menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida pada kondisi hiperlipidemia yang ditandai dengan penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida pada masing-masing kelompok tikus uji yang diberikan perlakuan ekstrak dengan beberapa variasi dosis.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “*Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kayu Kuning (Arcangelisia flava (L.) Merr.) terhadap Kadar Kolesterol total dan Trigliserida Tikus Hiperlipidemia*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Evi Umayah Ulfa, S.Si., Apt., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., Apt., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota, atas waktu, pikiran, dan perhatiannya dalam membimbing dan memberikan petunjuk sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan;
3. Ibu Diana Holidah, S.F., Apt., M.Farm. dan Ibu Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si. selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun sehingga penulis dapat menyempurnakan penyusunan skripsi ini;
4. Bapak Eka Deddy Irawan, S.Si., Apt., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan bimbingannya kepada penulis selama menjadi mahasiswa di Fakultas Farmasi Universitas Jember hingga terselesaikannya skripsi ini;
6. Orang tuaku tercinta, Ibu Sukini dan Bapak Suyono, yang sudah memberi semangat, dukungan, dan do'a yang tidak pernah putus, serta yang menjadi motivator utama untuk menyelesaikan skripsi ini;

7. Adikku Novanto Dwi Cahyono dan seluruh keluarga besar di Madiun yang selalu memberikan semangat, dukungan serta do'anya;
8. Sahabat-sahabat luar biasa, Ratnaning Setyowati, Nikmatur Rohmah, Zulviyati, dan Fitriana Yunus Apriliani, serta adik-adikku, Erlita Dinda dan Milly Farisa yang telah membagikan semangat dan kebersamaan selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
9. Teman-teman seperjuangan, Yuniar, Anggar, Arum, Aslyni, Orin, Husnul, Mely, Rere, Dio, Yun, dan Yuni, yang saling memberikan semangat dan bantuannya selama penulis melaksanakan penelitian;
10. Sahabat-sahabat semasa sekolah, Yenti, Intan, Fitri, Radika, Nurul, Aulia, Evi, Nanang, dan Fidhoh yang memberikan semangat kalian dari jauh;
11. Teman-teman ASMEF 2011 Fakultas Farmasi Universitas Jember atas semangat, kekeluargaan, persahabatan, bantuan tenaga dan do'anya selama ini,
12. Mbak Indri dan Mbak Dinik selaku teknisi Laboratorium Farmasi Klinik dan Komunitas serta Mbak Anggra dan Bu Widi selaku teknisi Laboratorium Biologi atas dukungan, semangat dan bantuan tenaganya selama penulis melaksanakan penelitian;
13. Guru-guruku yang terhormat mulai TK, SD, SMP, dan SMK yang telah membagikan ilmu pengetahuan yang bermanfaat;
14. Semua pihak yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung memberikan bantuan dan dukungannya dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 21 Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvii</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 Tinjauan Tumbuhan Kayu Kuning</b> .....	<b>5</b>
2.1.1 Klasifikasi .....	5
2.1.2 Nama Daerah.....	6
2.1.3 Morfologi .....	6
2.1.4 Kandungan kimia.....	6
2.1.5 Manfaat .....	6
<b>2.2 Tinjauan Zat Aktif yang Berkhasiat sebagai Antihiperlipidemia</b> .....	<b>7</b>

2.2.1	Alkaloid Berberin .....	7
2.2.2	Saponin dan Flavonoid .....	8
<b>2.3</b>	<b>Tinjauan Fruktosa .....</b>	<b>8</b>
2.3.1	Sumber Fruktosa.....	9
2.3.2	Absorpsi dan Metabolisme Fruktosa .....	9
2.3.3	Mekanisme Fruktosa Menginduksi Lipogenesis .....	10
2.3.4	Penelitian Mengenai Fruktosa.....	12
<b>2.4</b>	<b>Tinjauan Lipid Plasma .....</b>	<b>12</b>
2.4.1	Lipoprotein.....	13
2.4.2	Apolipoprotein.....	15
2.4.3	Transpor Lipid .....	16
<b>2.5</b>	<b>Tinjauan Hiperlipidemia .....</b>	<b>17</b>
2.5.1	Deskripsi .....	17
2.5.2	Klasifikasi .....	18
2.5.3	Penatalaksanaan Hiperlipidemia .....	19
<b>2.6</b>	<b>Simvastatin.....</b>	<b>20</b>
<b>2.7</b>	<b>Diet Tinggi Lemak .....</b>	<b>22</b>
2.7.1	Minyak dan Lemak .....	22
2.7.2	Telur.....	23
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis, Tempat, dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>25</b>
3.1.1	Jenis Penelitian .....	25
3.1.2	Tempat dan Waktu Penelitian .....	25
<b>3.2</b>	<b>Jumlah Hewan Coba.....</b>	<b>25</b>
<b>3.3</b>	<b>Rancangan Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.4</b>	<b>Variabel Penelitian .....</b>	<b>27</b>
3.4.1	Variabel Bebas .....	27
3.4.2	Variabel Terikat.....	27
3.4.3	Variabel Terkendali .....	27

<b>3.5</b>	<b>Definisi Operasional Variabel .....</b>	<b>28</b>
<b>3.6</b>	<b>Bahan dan Alat yang Digunakan .....</b>	<b>29</b>
3.6.1	Bahan .....	29
3.6.2	Alat .....	29
3.6.3	Hewan coba.....	29
<b>3.7</b>	<b>Prosedur .....</b>	<b>29</b>
3.7.1	Pembuatan Ekstrak Metanol Daun <i>A. flava</i> .....	29
3.7.2	Penetapan Kadar Berberin.....	30
3.7.3	Uji Kualitatif Flavonoid .....	30
3.7.4	Uji Saponin (Uji Buih).....	30
3.7.5	Pembuatan Larutan Fruktosa 27,5% .....	31
3.7.6	Pembuatan Pakan Tinggi Lemak.....	31
3.7.7	Pembuatan Mucilago CMC Na 1% .....	31
3.7.8	Pembuatan Suspensi Ekstrak Metanol Daun <i>A. flava</i> .....	31
3.7.9	Pembuatan Suspensi Simvastatin (Kontrol (+)).....	31
3.7.10	Perlakuan terhadap Hewan Coba.....	32
3.7.11	Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida.....	33
<b>3.8</b>	<b>Analisis Data .....</b>	<b>33</b>
<b>3.9</b>	<b>Alur Penelitian .....</b>	<b>34</b>
3.9.1	Skema Perlakuan Hewan Coba .....	34
3.9.2	Skema Pembuatan Ekstrak Metanol Daun <i>A. flava</i> .....	35
3.9.3	Penetapan Kadar Berberin (KLT-Densitometri) .....	35
3.9.4	Uji Kualitatif Flavonoid (Kromatografi Lapis Tipis) .....	36
3.9.5	Uji Saponin (Uji Buih).....	36
3.9.6	Skema Pembuatan Pakan Tinggi Lemak Tiap 1000 Gram .....	37
3.9.7	Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida.....	37
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>38</b>
<b>BAB 5.</b>	<b>PENUTUP .....</b>	<b>48</b>
<b>5.1</b>	<b>Kesimpulan .....</b>	<b>48</b>

5.2	Saran .....	48
	DAFTAR PUSTAKA.....	49
	LAMPIRAN .....	55

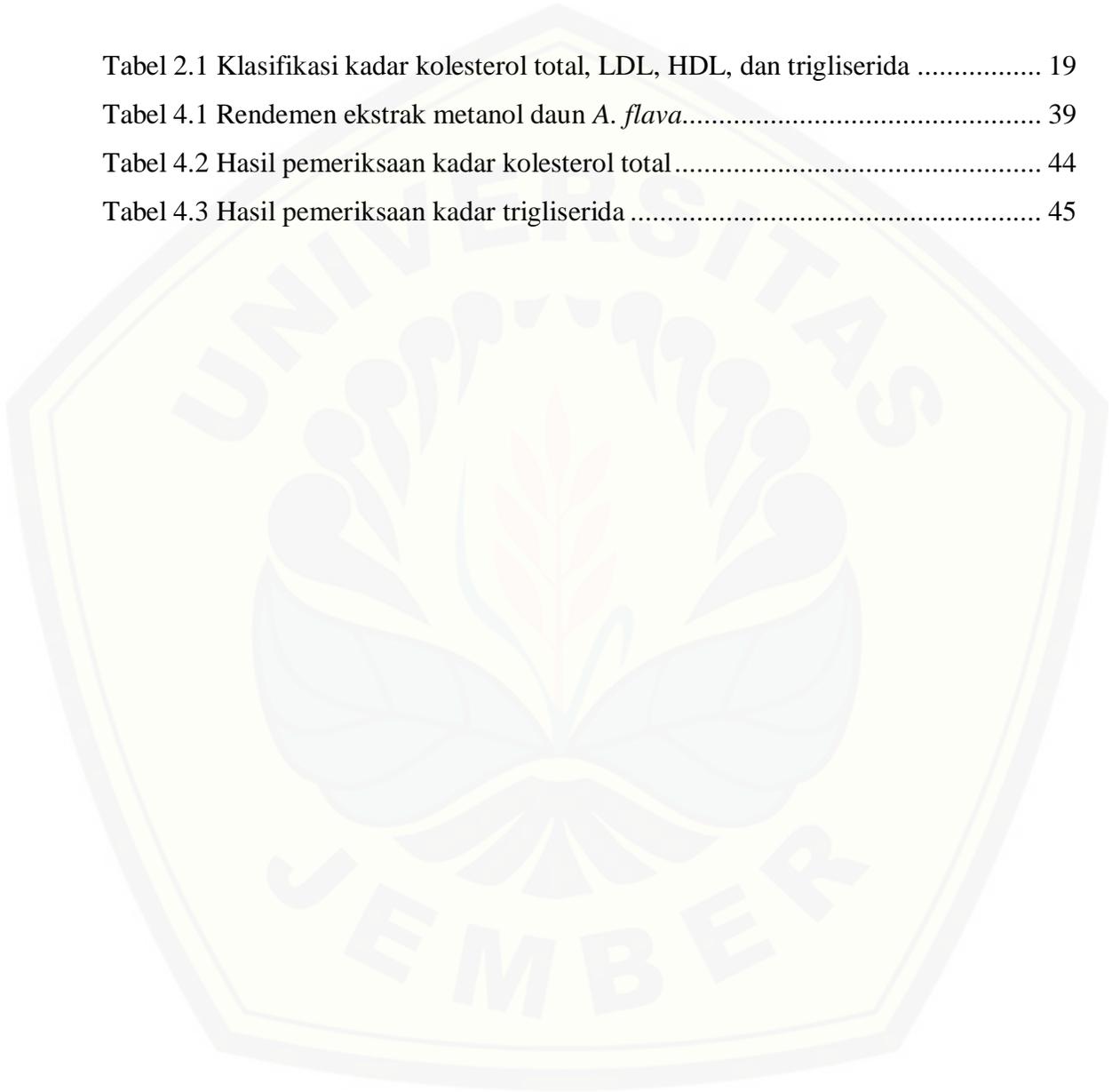


**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 Daun kayu kuning.....	5
Gambar 2.2 Struktur kimia berberin .....	7
Gambar 2.3 Absorpsi glukosa dan fruktosa pada sel epitel intestinal .....	10
Gambar 2.4 Metabolisme fruktosa hepatic .....	11
Gambar 2.5 Struktur lipoprotein.....	13
Gambar 2.6 Jalur sintesis kolesterol .....	21
Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian.....	26
Gambar 4.1 Hasil KLT uji flavonoid .....	39
Gambar 4.2 Hasil uji saponin. ....	40

**DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1 Klasifikasi kadar kolesterol total, LDL, HDL, dan trigliserida .....	19
Tabel 4.1 Rendemen ekstrak metanol daun <i>A. flava</i> .....	39
Tabel 4.2 Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total.....	44
Tabel 4.3 Hasil pemeriksaan kadar trigliserida .....	45



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hiperlipidemia adalah suatu kelainan bersifat heterogen yang biasanya ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total, *Low Density Lipoprotein* (LDL), *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), trigliserida, dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) (Kolovou, 2004). Selain itu, hiperlipidemia juga didefinisikan sebagai serum kolesterol minimal 200 mg/dl atau serum trigliserida minimal 150 mg/dl (Mihardja, 1999). Naiknya kadar trigliserida pada kondisi hiperlipidemia juga berhubungan dengan peningkatan resiko terjadinya penyakit jantung koroner (*Coronary Heart Disease* (CHD)) (Harikumar *et al.*, 2013).

Salah satu penyebab terjadinya hiperlipidemia adalah adanya perubahan pola konsumsi di masyarakat. Perubahan pola konsumsi masyarakat tersebut dapat dilihat dengan meningkatnya jumlah konsumsi bahan pemanis tambahan, salah satunya adalah fruktosa (Baena *et al.*, 2014). Fruktosa sebenarnya adalah gula alami yang terkandung dalam sayur dan buah segar, yaitu sekitar 5-10% bobotnya. Namun, jika asupan fruktosa harian lebih dari 25% dari kebutuhan energi per hari (sekitar 85 g fruktosa) menyebabkan hipertrigliseridemia dan resistensi insulin (Prahastuti, 2011). Adapula yang menyebutkan bahwa peningkatan konsumsi fruktosa menjadi salah satu penyebab terjadinya obesitas dan kelainan metabolik yang dapat mempercepat terjadinya aterosklerosis dan hipertensi. Metabolismenya dalam hati yang diketahui melalui jalur lipogenesis seringkali dihubungkan dengan kejadian hiperlipidemia dan peningkatan penyimpanan lemak tubuh (Vasankari *et al.*, 2006).

Di samping meningkatnya konsumsi fruktosa, kebiasaan masyarakat mengkonsumsi makanan tinggi lemak dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam darah sehingga seseorang semakin beresiko terserang penyakit degeneratif seperti jantung koroner dan *stroke* (Sartika, 2008; Tuminah, 2009). Peningkatan kadar

kolesterol ini juga merupakan salah satu tanda terjadinya hiperlipidemia (Dhingra *et al.*, 2014). Selain itu, tingginya kadar kolesterol dalam darah juga dapat mengakibatkan terjadinya pengerasan dinding pembuluh darah (*atherosclerosis*) karena endapan kolesterol dan lipid-lipid lain pada dinding sel pembuluh darah tersebut (Sandi *et al.*, 2008).

Pemanfaatan potensi hayati Indonesia telah lama dilakukan oleh masyarakat, baik sebagai sumber pangan maupun sebagai obat tradisional (Kinho, 2011). Penggunaan tumbuhan berkhasiat obat dalam pengobatan tradisional memang memiliki keuntungan jika dibandingkan dengan penggunaan obat-obat modern, yaitu efek sampingnya yang lebih kecil jika digunakan secara tepat, meliputi kebenaran bahan, ketepatan dosis, ketepatan waktu penggunaan, ketepatan cara penggunaan, ketepatan telaah informasi, dan tanpa penyalahgunaan obat tradisional itu sendiri (Sari, 2006). Saat ini masyarakat maupun pemerintah juga telah memberikan perhatian besar terhadap pemanfaatan obat tradisional yang dibuktikan dengan peningkatan jumlah industri obat tradisional dan fitofarmaka, serta dukungan melalui Departemen Kesehatan RI dalam upaya perluasan penggunaan obat tradisional di masyarakat (Fahri *et al.*, 2005).

Salah satu jenis tumbuhan yang menjadi perhatian penelitian saat ini adalah *Arcangelisia flava* (L.) Merr., atau yang lebih dikenal oleh masyarakat luas sebagai kayu kuning (Subiandono *et al.*, 2009). Tumbuhan yang termasuk dalam famili Menispermaceae ini mengandung beberapa senyawa penting antara lain saponin, terpenoid, flavonoid (Maryani *et al.*, 2013), serta alkaloid berberin yang dijumpai pada akar, batang, daun, dan tangkai tumbuhan (Kinho, 2011). Berberin sebagai suatu alkaloid telah diketahui memiliki efek farmakologis yang luas serta memiliki berbagai manfaat bagi kesehatan antara lain sebagai antidiare, antimalaria, membantu mengatasi gangguan kardiovaskuler (Wongbutdee, 2009), antifungi, kolagoga, antihipertensi, anti-aritmia, antiplatelet, antidepresan, antioksidan, hipolipidemik (menurunkan kadar lipid), dan pengobatan diabetes tipe-2 (Singh *et al.*, 2010), serta memiliki aktivitas melawan kanker (Ortiz *et al.*, 2014). Berberin sebagai suatu agen

hipolipidemik secara signifikan dapat menurunkan kadar kolesterol darah, trigliserida, LDL, dan lipoprotein aterogenik (Wongbutdee, 2009; Singh *et al.*, 2010). Selain alkaloid berberin, dalam tumbuhan kayu kuning juga terkandung senyawa saponin dan flavonoid yang juga memiliki peranan dalam menurunkan kadar kolesterol (Arief *et al.*, 2012). Pada pengujian toksisitas akut terhadap tikus putih, diketahui bahwa LD<sub>50</sub> dari ekstrak metanol *A. flava* adalah pada dosis 36680 mg/kg BB (Ibrahim *et al.*, 2012) dan EC<sub>50</sub> sebesar 25,7 µg/ml (Keawpradub *et al.*, 2005), sehingga hal inilah yang menjadi dasar pertimbangan pemilihan dosis dalam penelitian ini.

Berdasarkan penjelasan bahwa di dalam daun tumbuhan kayu kuning terkandung senyawa berberin yang dapat digunakan sebagai suatu agen hipolipidemik, serta adanya senyawa saponin dan flavonoid yang dapat menurunkan kadar kolesterol, maka dilakukan studi mengenai efek pemberian ekstrak metanol daun kayu kuning (*A. flava* (L.) Merr.) terhadap penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida tikus hiperlipidemia yang diinduksi fruktosa dan diet tinggi lemak.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

- a. Apakah ekstrak daun *A. flava* mampu menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida tikus putih hiperlipidemia?
- b. Bagaimana pengaruh variasi dosis ekstrak daun *A. flava* yang digunakan dalam menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

- a. Menentukan kemampuan ekstrak metanol daun *A. flava* dalam menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida tikus hiperlipidemia.

- b. Mengetahui perbedaan kemampuan menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida dari variasi dosis ekstrak metanol daun *A. flava* yang digunakan.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

- a. Memberikan informasi mengenai manfaat ekstrak metanol daun *A. flava* yang mampu menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida pada tikus hiperlipidemia.
- b. Menjadi dasar untuk penelitian lebih lanjut tentang tumbuhan *A. flava* sebagai salah satu alternatif pengobatan hiperlipidemia berbahan alam.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Tumbuhan Kayu Kuning

#### 2.1.1 Klasifikasi

Indonesia merupakan salah satu negara yang mempunyai keanekaragaman hayati cukup luas dan banyak diantaranya yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional, salah satunya adalah tumbuhan kayu kuning. Berikut adalah klasifikasi tumbuhan kayu kuning (Tjitrosoepomo, 1998):

kingdom	: Plantae
subkingdom	: Tracheobionta
super divisi	: Spermatophyta
divisi	: Magnoliophyta
kelas	: Magnoliopsida
kub kelas	: Magnoliidae
ordo	: Ranunculales
famili	: Menispermaceae
genus	: <i>Arcangelisia</i>
spesies	: <i>Arcangelisia flava</i> (L.) Merr.



Gambar 2.1 Daun kayu kuning (Sumber: Kinho, 2011)

### 2.1.2 Nama Daerah

*A. flava* memiliki beberapa nama daerah antara lain Tali kuning (BD. Tonsea), akar kuning (BD. Minahasa, BD. Mongondow), Reuy ki koneng (Sunda), oyod sirawanan, sirawan kunyit (Jawa), wali bulan (Ambon), kayu kuning (Palembang), oyod koneng (Madura), mololeya gumini (Halmahera Utara) (Kinho, 2011).

### 2.1.3 Morfologi

*A. flava* merupakan tumbuhan liana dengan panjang yang dapat mencapai  $\pm$  10 m, dengan batang dan cabang yang liat. Batang utama sebelum bercabang dua besarnya seperti lengan/betis orang dewasa dan mengandung air. Batang bagian dalam berwarna kuning dan rasanya pahit. Bentuk daun bundar telur sampai lonjong/elips yang meruncing di bagian ujung, dengan permukaan daun yang mengkilat. Perbungaan malai, terdapat pada batang tua atau di ketiak daun, warna bunga kuning pucat. Pada batang atau cabang-cabang yang besar terdapat tandan buah yang menggantung, buah berwarna kuning, terdiri atas daging buah yang berlendir dan biji besar, pipih (Kinho, 2011).

### 2.1.4 Kandungan kimia

Beberapa kandungan kimia yang terdapat di dalam kayu kuning yaitu berupa alkaloid berberin dan terpenoid yang dapat dijumpai pada akar, batang, daun dan tangkai tumbuhan. Daging buahnya mengandung zat lendir dan bijinya mengandung saponin yang merupakan racun keras untuk ikan (Kinho, 2011). Selain itu, dalam tumbuhan ini juga terkandung senyawa flavonoid (Maryani *et al.*, 2013).

### 2.1.5 Manfaat

Batang dari tumbuhan ini banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit kuning, gangguan pencernaan, cacingan, obat kuat/tonikum, mengatasi demam, peluruh haid, dan obat sariawan. Bijinya sering dimanfaatkan sebagai racun/bius ikan. Selain itu, tumbuhan ini memiliki kegunaan sebagai pewarna

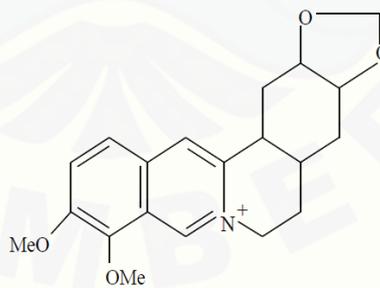
(Subiandono *et al.*, 2009). Daun dari tumbuhan ini telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat dari etnis Buton untuk mengobati hidung tersumbat, polip, dan asma, serta digunakan dalam perawatan pasca persalinan (Jahidin *et al.*, 2014). Ekstrak kloroform *A. flava* diketahui bersifat kardioprotektor dan dapat digunakan sebagai pendamping obat ko-kemoterapi anti kanker menggantikan simvastatin (Ramadhani, 2014).

## 2.2 Tinjauan Zat Aktif yang Berkhasiat sebagai Antihiperlipidemia

Dalam tumbuhan kayu kuning terkandung senyawa-senyawa yang dapat berperan dalam menurunkan kadar kolesterol (agen hipolipidemik) sebagai berikut:

### 2.2.1 Alkaloid Berberin

Berberin merupakan suatu alkaloid isoquinolin berwarna kuning terang, yang dapat ditemukan pada beberapa tanaman herba terutama dari bagian akar dan kulit batang dari spesies *Berberis* (Singh *et al.*, 2010). Berberin ini juga telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional Ayurveda, Cina, dan Asia Selatan. Beberapa tanaman dengan kandungan kimia berupa alkaloid berberin yaitu *Hydrastis canadensis*, *Coptis chinensis*, *Berberis aquifolium*, *Berberis aristata*, dan *Arcangelisia flava* (Wongbutdee, 2009). Berikut adalah struktur kimia dari alkaloid berberin:



Gambar 1.2 Struktur kimia berberin (Sumber: Wongbutdee, 2009)

Beberapa penelitian terkait manfaat farmakologis dari alkaloid berberin telah dilakukan dan diketahui bahwa alkaloid ini memiliki aktivitas farmakologis sebagai antidiare, anti malaria, membantu mengatasi gangguan kardiovaskuler seperti

iskemia, memiliki aktivitas anti infamasi dan antihepatotoksik (Wongbutdee, 2009). Efek farmakologis lain dari berberin yaitu sebagai antifungi, kolagoga, antihipertensi, anti-aritmia, antiplatelet, antidepresan, antioksidan, hipolipidemik, dan pengobatan diabetes tipe-2 (Singh *et al.*, 2010), serta memiliki aktivitas melawan kanker (Ortiz *et al.*, 2014). Berberin bekerja sebagai agen hipolipidemik dengan jalan up-regulasi ekspresi dari *low-density lipoprotein receptor* (LDLR) pada sel hepatosit manusia, juga secara signifikan menurunkan kadar kolesterol darah, trigliserida, dan LDL-kolesterol pada pasien hiperlipidemia (Wongbutdee, 2009). Selain itu, berberin juga dapat menurunkan ekspresi gen HMG-KoA reduktase (Chang *et al.*, 2012). Sedangkan pada kasus diabetes mellitus tipe-2, berberin membantu dalam menurunkan kadar glukosa darah sama efektifnya dengan metformin dosis 500 mg tiga kali sehari (Steriti, 2010).

### 2.2.2 Saponin dan Flavonoid

Selain alkaloid berberin, di dalam tumbuhan kayu kuning juga terdapat saponin dan flavonoid yang juga memiliki peranan sebagai senyawa yang berkhasiat antihiperlipidemia. Mekanisme kerja flavonoid dalam menurunkan kadar kolesterol belum diketahui secara pasti. Pada beberapa penelitian disebutkan bahwa flavonoid dapat menurunkan sintesis kolesterol dengan cara menghambat kerja dari HMG-KoA reduktase (Metwally *et al.*, 2009) serta menurunkan aktivitas enzim *Acyl-CoA Cholesterol Acyltransferase* (ACAT) di usus dan hati (Choi *et al.*, 2008; Koo *et al.*, 2007). Sedangkan mekanisme kerja saponin dalam menurunkan kadar kolesterol yaitu berikatan dengan asam empedu dan kolesterol (dari makanan) membentuk misel yang tidak dapat diserap oleh usus (Arief *et al.*, 2012).

## 2.3 Tinjauan Fruktosa

Fruktosa adalah gula sederhana (monosakarida) yang terdapat dalam makanan alami seperti buah-buahan, madu, sayuran, dan biji-bijian. Konsumsi fruktosa dalam jumlah sedikit umumnya memiliki efek positif yaitu menurunkan glukosa darah

melalui peningkatan *uptake* glukosa oleh hepar. Namun jika asupan fruktosa tersebut lebih dari 25% kebutuhan energi per hari (sekitar 85 g fruktosa) dapat menyebabkan terjadinya hipertrigliseridemia dan resistensi insulin (Prahastuti, 2011).

### 2.3.1 Sumber Fruktosa

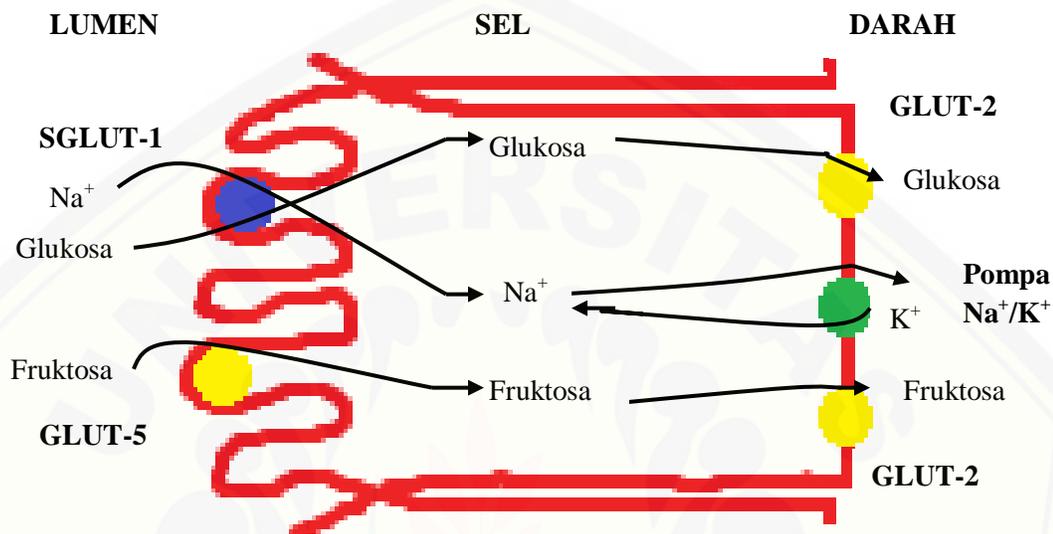
Sumber fruktosa pada umumnya adalah buah-buahan dengan jumlah yang bervariasi antara 5-10% bobotnya. Makanan yang mengandung fruktosa dalam jumlah tinggi yaitu *peach, prune, pear, cherry, plum, apel, anggur, dates*, dan susu (Prahastuti, 2011).

### 2.3.2 Absorpsi dan Metabolisme Fruktosa

Epitel intestinal memiliki tiga heksosa transporter yang membantu absorpsi glukosa, galaktosa, dan fruktosa. Pada membran apikal epitel intestinal terdapat dua transporter yaitu *sodium-glucose transporter-1* (SGLUT-1) yang merupakan transporter untuk glukosa dan galaktosa, serta *glucose transporter-5'* (GLUT-5) yang merupakan transporter bagi fruktosa dari lumen ke epitel intestinal. Pada basolateral plasma membran epitel intestinal terdapat GLUT-2 yang merupakan transporter glukosa, galaktosa maupun fruktosa keluar dari sel epitel intestinal masuk cairan ekstraseluler (Prahastuti, 2011).

Glukosa dan galaktosa ditranspor dari lumen intestinal ke sel epitel melalui transpor aktif oleh SGLUT-1 yang membutuhkan sodium (ion  $\text{Na}^+$ ) sebagai kotranspor. Pergerakan  $\text{Na}^+$  dari konsentrasi tinggi ke rendah menyediakan energi untuk mentranspor glukosa dan galaktosa melawan gradien konsentrasi (dari konsentrasi rendah ke tinggi). Sedangkan fruktosa ditranspor dari lumen intestinal ke sel epitel melalui GLUT-5 secara pasif searah gradien konsentrasi (dari konsentrasi tinggi ke rendah) sehingga tidak membutuhkan ion  $\text{Na}^+$  sebagai kotranspor. Selanjutnya, transpor glukosa, galaktosa dan fruktosa dari epitel intestinal masuk ke cairan ekstraseluler dilakukan oleh GLUT-2. Glukosa ditranspor dari konsentrasi tinggi, sedangkan fruktosa dari konsentrasi rendah dan terjadi pompa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  yang membutuhkan ATP. Absorpsi fruktosa tersebut lebih lambat karena melawan gradien

konsentrasi (Prahastuti, 2011). Absorpsi glukosa dan fruktosa dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Absorpsi glukosa dan fruktosa pada sel epitel intestinal

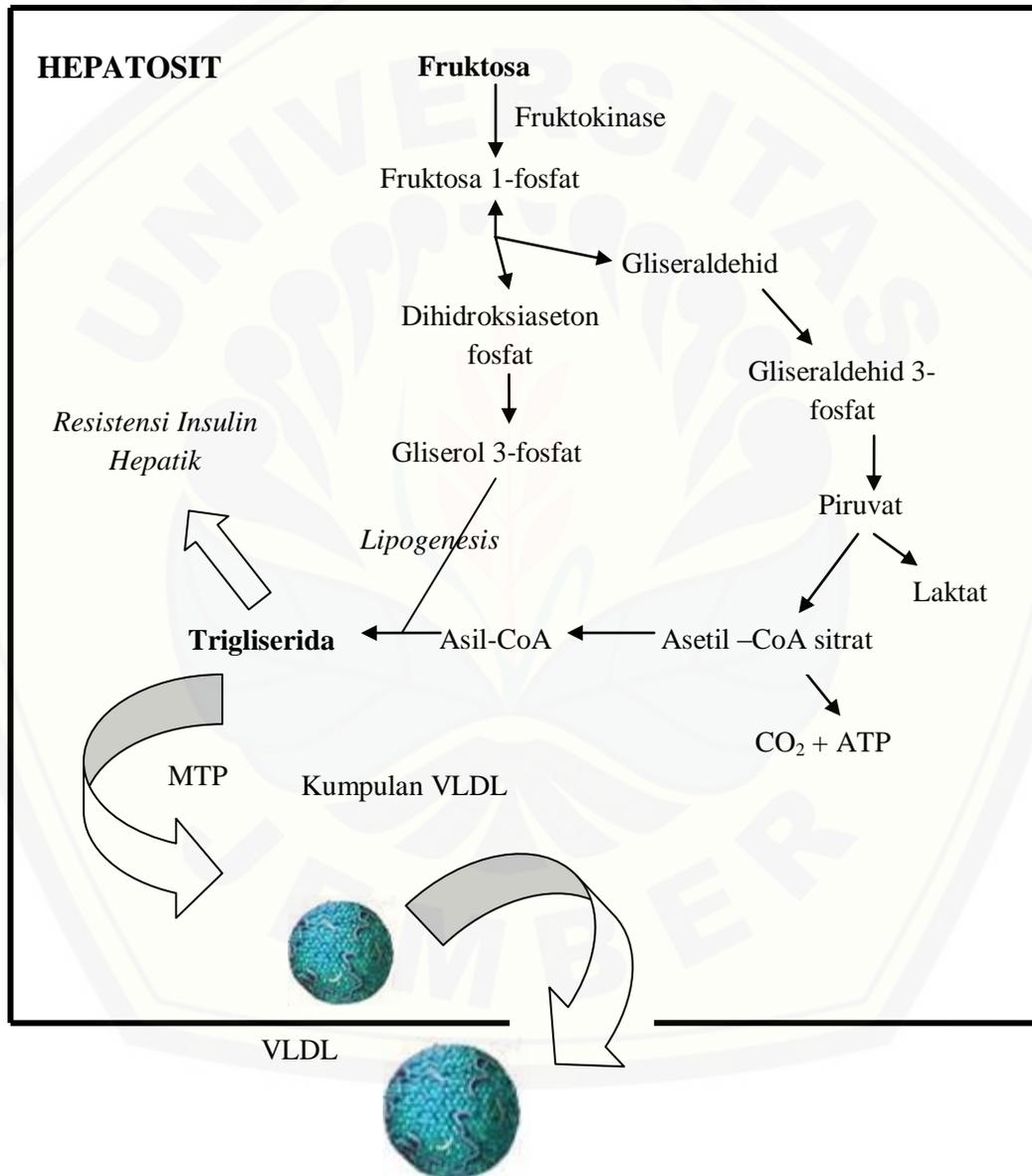
(Sumber: Prahastuti, 2011)

Sebanyak 80-90% fruktosa yang dimakan diabsorpsi oleh usus, kemudian ditranspor melalui vena porta ke hepar. Fruktosa tersebut sangat efisien menginduksi *de novo* lipogenesis (DNL) dengan menyediakan atom karbon untuk gliserol dan asil-KoA untuk sintesis trigliserida dan meningkatkan penimbunan lemak dalam hepar (Prahastuti, 2011).

### 2.3.3 Mekanisme Fruktosa Menginduksi Lipogenesis

Setelah 50-75% fruktosa dimetabolisme di hepar, sisa metabolisemenya akan dikeluarkan melalui ginjal. Enzim pertama yang berperan dalam metabolisme fruktosa adalah fruktokinase atau ketoheksokinase (KHK-C) yang menggunakan ATP untuk memfosforilasi fruktosa menjadi fruktosa 1-fosfat. Ekspresi KHK-C terutama pada hepar, epitel intestinal, sel adiposit dan endotelium vaskuler. Fruktosa 1-fosfat

diubah menjadi dihidroksiaseton fosfat dan gliseraldehid 3-fosfat yang merupakan bahan untuk membentuk gliserol 3-fosfat dan asetil-KoA. Selanjutnya, asetil-KoA diubah menjadi asil-KoA dan berikatan dengan gliserol 3-fosfat membentuk trigliserida.



Gambar 2.4 Metabolisme fruktosa hepatic (Sumber: Prahastuti, 2011)

Peningkatan stimulasi trigliserida ini juga dapat menyebabkan peningkatan stabilitas Apo-B dan *microsomal triglyceride transfer protein* (MTP) sehingga pembentukan VLDL meningkat (Prahastuti, 2011). Metabolisme fruktosa hepatic dapat dilihat pada Gambar 2.4.

#### 2.3.4 Penelitian Mengenai Fruktosa

Beberapa penelitian mengenai dampak dari konsumsi fruktosa dalam jumlah yang berlebihan telah dilakukan pada hewan coba maupun pada manusia. Penelitian pada hewan coba yang dilakukan pertama kali pada tahun 1950 menunjukkan bahwa diet tinggi fruktosa pada tikus dapat menyebabkan terjadinya kelainan metabolik, seperti hiperglikemia, resistensi insulin, hiperlipidemia, hipertensi, obesitas, dan hiperurikemia. Pemberian fruktosa 60% dalam diet tikus selama 8 minggu dapat menimbulkan hipertensi, hiperurikemia, hipertrigliseridemia, dan peningkatan kadar apoB yang mengandung VLDL (Prahastuti, 2011). Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Abo-youssef *et al.* (2013) menunjukkan bahwa pemberian fruktosa dapat meningkatkan kadar trigliserida dan kolesterol total secara signifikan. Selanjutnya, hasil penelitian pada manusia menunjukkan bahwa pemberian fruktosa 17-20% diet (60-70 g fruktosa setiap hari) pada pria selama 4 minggu menunjukkan peningkatan kadar trigliserida. Penelitian lain yang dilakukan pada manusia *overweight* dengan pemberian fruktosa 25% diketahui dapat memicu timbulnya gejala sindrom metabolik yaitu dislipidemia (peningkatan kadar trigliserida, LDL, dan kolesterol), resistensi insulin, serta peningkatan lemak visceral (Prahastuti, 2011).

### 2.4 Tinjauan Lipid Plasma

Lipid adalah suatu senyawa yang dapat larut dalam suatu pelarut lemak. Jenis lipid yang penting yaitu fosfolipid dan kolesterol, yang merupakan penyusun 2 persen dari massa sel total. Oleh karena sifatnya yang tidak larut dalam air, lipid menjadi penyusun membran sel dan membran barrier intrasel yang memisahkan kompartemen

sel yang berbeda. Selain fosfolipid dan kolesterol, di dalam sel juga terkandung sejumlah besar trigliserida (Guyton *et al.*, 2006).

#### 2.4.1 Lipoprotein

Lipoprotein adalah suatu makromolekul yang mengandung lipid dan protein. Lipid dalam hal ini termasuk kolesterol bebas, kolesterol ester, trigliserida, dan fosfolipid. Komponen protein diketahui sebagai apolipoprotein atau apoprotein, yang berfungsi sebagai pemberi stabilitas struktur pada lipoprotein dan juga berfungsi sebagai ligan pada reseptor lipoprotein (Brunton *et al.*, 2006), dimana strukturnya dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur lipoprotein (Sumber: Guyton *et al.*, 2006)

Pada suatu lipoprotein yang berbentuk sferis, lipid yang tidak larut air, seperti kolesterol ester dan trigliserida merupakan komponen inti dari lipoprotein, sedangkan lipid yang larut air seperti apoprotein, fosfolipid, *unesterified kolesterol*, berada pada permukaan lipoprotein (Brunton *et al.*, 2006). Konsentrasi total lipoprotein di dalam plasma berkisar antara 700 mg per 100 ml plasma, atau 700 mg/dl, yang tersusun atas 180 mg/dl kolesterol, 160 mg/dl fosfolipid, 160 mg/dl trigliserida, dan 200 mg/dl protein (Guyton *et al.*, 2006).

Menurut Suyatna (2007) dalam Farmakologi dan Terapi, lipoprotein dapat dibedakan menjadi 5 golongan besar dengan menggunakan elektroforesis, yaitu:

a. Kilomikron

Kilomikron merupakan suatu lipoprotein dengan berat molekul terbesar yang tersusun atas 80% trigliserida dan kurang dari 5% kolesterol ester. Lipoprotein jenis ini membawa trigliserida dari makanan ke jaringan lemak dan otot rangka, juga membawa kolesterol makanan ke hati. Trigliserida akan mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase (LPL), sehingga diameternya akan mengecil. Kilomikron remnant (kilomikron yang telah dihilangkan sebagian besar trigliseridanya) akan mengalami endositosis lewat reseptor hepatosit.

b. *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL)

Lipoprotein ini terdiri atas 60% trigliserida dan 10-15% kolesterol. VLDL disekresikan oleh hati untuk mengangkut trigliserida ke jaringan perifer. Trigliserida yang diangkut oleh VLDL ini akan dihidrolisis oleh LPL menghasilkan suatu asam lemak bebas untuk disimpan dalam jaringan adiposa dan bahan oksidasi di jantung dan otot skelet. Sedangkan sisa komponen VLDL (VLDL *remnant*) akan diubah menjadi LDL. Sehingga terjadinya peningkatan kadar trigliserida (hipertrigliserida) dapat diikuti dengan peningkatan LDL.

c. *Low Density Lipoprotein* (LDL)

LDL merupakan lipoprotein yang mengangkut kolesterol terbesar pada manusia, yaitu sekitar 70% total. Partikel LDL ini mengandung 10% trigliserida dan 50% kolesterol. Ester kolesterol dari inti LDL ini akan dihidrolisis menghasilkan kolesterol bebas untuk disintesis sel membran dan hormon steroid. Jalur utama katabolisme LDL berlangsung lewat *receptor-mediated endocytosis* di hati dan sel lain. Selain itu sel juga mendapat kolesterol dari sintesis *de novo* lewat enzim HMG-KoA reduktase.

d. *Intermediate Density Lipoprotein (IDL)*

IDL ini mengandung 30% trigliserida, 20% kolesterol, dan apoprotein B relatif lebih banyak. Lipoprotein jenis ini adalah zat perantara saat VLDL dikatabolisme menjadi LDL. IDL ini umumnya tidak terdapat dalam jumlah banyak di dalam plasma. Peningkatan jumlah IDL di dalam plasma ini dapat ditandai dengan terjadinya kekeruhan di plasma yang dipastikan dengan ultrasentrifugasi.

e. *High Density Lipoprotein (HDL)*

HDL merupakan lipoprotein protektif yang menurunkan resiko penyakit jantung koroner. Efek protektifnya ini diduga karena mengangkut kolesterol dari perifer untuk dimetabolisme di hati dan menghambat modifikasi oksidasi LDL melalui paraoksonase, suatu protein antioksidan yang berasosiasi dengan HDL. Metabolisme HDL bersifat kompleks dengan ApoA-I plasma sebagai apoprotein utamanya, yang merupakan *inverse predictor* resiko penyakit jantung koroner yang lebih baik dari kadar HDL. Kadar HDL pada pria dan wanita kira-kira berada dalam jumlah yang sama sampai dengan masa pubertas, kemudian menurun, dan biasanya kadar HDL pria 20% lebih rendah dari wanita. Penurunan kadar HDL ini juga terjadi pada kegemukan, perokok, pasien diabetes yang tidak terkontrol, dan pemakai kombinasi estrogen-progestin. Pada seorang individu dengan kadar lipid normal, kadar HDL relatif menetap sesudah dewasa, kira-kira 45 mg/dl pada pria dan 54 mg/dl pada wanita.

#### 2.4.2 Apolipoprotein

Fungsi dari apolipoprotein atau apoprotein ini adalah untuk mempertahankan struktur lipoprotein dan mengarahkan metabolisme lipid tersebut (Suyatna, 2007), sehingga dapat dikatakan bahwa apolipoprotein ini memiliki peranan penting dalam metabolisme lipoprotein plasma. Apolipoprotein terdiri dari apolipoprotein (apo)A-I, apo A-II, apoA-IV, apo-A-V, apoB-100, apoB-48, apoC-I, apoC-II, apoC-III, apoE, dan apo(a). Terkecuali apo(a), sisi ikatan lipid dari semua lipoprotein mengandung

struktur heliks amfifatik yang berinteraksi dengan bagian polar, bagian hidrofilik lipid (seperti fosfolipid), dan juga dengan plasma (Brunton *et al.*, 2006). Apoprotein utama HDL adalah apoA, apoprotein utama LDL adalah apoB, yang juga ditemukan pada VLDL dan kilomikron, dimana apoB-48 pada kilomikron lebih kecil daripada apoB-100. ApoC dan apoE dapat ditemukan pada semua lipoprotein plasma (Suyatna, 2007).

#### 2.4.3 Transpor Lipid

Dalam buku Farmakologi dan Terapi, dijelaskan mengenai dua jalur transpor lipid yaitu:

##### a. Jalur Eksogen

Pada jalur eksogen ini, trigliserida dan kolesterol yang berasal dari makanan, diubah ke dalam bentuk kilomikron yang kemudian akan diangkut ke dalam saluran limfe dan darah melalui duktus torasikus. Di dalam jaringan lemak, trigliserida dalam kilomikron akan dihidrolisis oleh lipoprotein lipase (LPL), sehingga akan terbentuk asam lemak dan kilomikron remnan (kilomikron yang telah dihilangkan sebagian besar trigliseridanya). Asam lemak bebas akan menembus endotel dan masuk ke dalam jaringan lemak atau sel otot untuk diubah menjadi trigliserida kembali atau dioksidasi menjadi energi. Sedangkan kilomikron remnan akan dibersihkan oleh hati dari sirkulasi dengan mekanisme endositosis oleh lisosom. Hasil metabolisme ini berupa kolesterol bebas yang akan digunakan untuk sintesis berbagai struktur seperti membran plasma, mielin, hormon steroid, dan sebagainya. Selain itu juga disimpan dalam hati sebagai kolesterol ester atau diekskresikan ke dalam empedu sebagai kolesterol atau asam empedu, atau diubah menjadi lipoprotein endogen yang dikeluarkan ke dalam plasma. Kolesterol juga dapat disintesis dari asetat di bawah pengaruh enzim HMG-KoA reduktase yang menjadi aktif jika terdapat kekurangan kolesterol endogen. Asupan kolesterol dari darah juga diatur oleh jumlah reseptor LDL yang terdapat pada permukaan sel hati (Suyatna, 2007).

## b. Jalur Endogen

Trigliserida dan kolesterol yang disintesis oleh hati diangkut secara endogen dalam bentuk VLDL kaya trigliserida dan mengalami hidrolisis dalam sirkulasi oleh lipoprotein lipase (LPL) yang juga menghidrolisis kilomikron menjadi partikel lipoprotein yang lebih kecil yaitu IDL dan LDL. LDL merupakan lipoprotein dengan kandungan kolesterol paling banyak, dan mengalami katabolisme melalui reseptor dan non reseptor. Jalur katabolisme reseptor dari LDL dapat ditekan oleh produksi kolesterol endogen. Pasien hiperkolesterolemia familial heterozigot memiliki sekitar 50% reseptor LDL yang fungsional, dimana katabolismenya oleh hati dan jaringan perifer berkurang, sehingga kadar kolesterol plasmanya meningkat. Peningkatan kadar kolesterol sebagian disalurkan ke dalam makrofag yang akan membentuk sel busa (*foam cells*) yang berperan dalam terjadinya aterosklerosis prematur. Bentuk homozigot lebih jarang dan lebih berbahaya sehingga pada usia anak dapat terjadi serangan infark jantung. HDL berasal dari hati dan usus sewaktu terjadi hidrolisis kilomikron di bawah pengaruh enzim *Lecithin Cholesterol Acyltransferase* (LCAT). Ester kolesterol ini akan mengalami perpindahan dari HDL menjadi VLDL atau IDL sehingga akan mengakibatkan terjadinya kebalikan arah transpor kolesterol dari perifer menuju ke hati untuk dikatabolisasi. Aktivitas ini mungkin berperan sebagai sifat antiaterogenik (Suyatna, 2007).

## 2.5 Tinjauan Hiperlipidemia

### 2.5.1 Deskripsi

Hiperlipidemia adalah suatu keadaan dimana terdapat kadar lipid yang berlebihan dalam darah, terutama kolesterol dan trigliserida. Hal ini juga sesuai dengan definisi yang diberikan oleh *American Heart Association*. Hiperlipidemia dapat disebut juga hiperlipoproteinemia karena komponen lemak berpindah di sepanjang sirkulasi darah dengan menempel pada protein. Itulah sebabnya, lemak ini dapat terlarut ketika berada di sepanjang sirkulasi. Hiperlipidemia secara umum dapat dibagi menjadi dua subkategori, yaitu:

- a. Hiperkolesterolemia, yang ditandai dengan tingginya kadar kolesterol, dan
- b. Hipertrigliseridemia, yang ditandai dengan tingginya kadar trigliserida, dimana triigliserida ini merupakan bentuk umum dari lemak.

Tingginya kadar lipid pada keadaan hiperlipidemia dapat meningkatkan kecepatan terjadinya aterosklerosis atau pengerasan pada pembuluh arteri karena menumpuknya plak pada permukaan arteri. Plak tersebut terbentuk karena endapan lipid dan material lainnya yang berada pada sirkulasi darah. Akibatnya, pembuluh arteri yang semula elastis akan menyempit dan mengeras. Terjadinya aterosklerosis ini dapat meningkatkan resiko terjadinya penyakit hati, stroke, dan penyakit vaskular yang lain (Harikumar *et al.*, 2013).

#### 2.5.2 Klasifikasi

Hiperlipidemia dapat diklasifikasikan atau dikelompokkan menjadi tiga jenis yaitu:

- a. *Familial hyperlipidemia* atau hiperlipidemia primer yang disebabkan oleh abnormalitas genetik. Berdasarkan klasifikasi Fredrickson, hiperlipidemia jenis ini dapat dibedakan lagi ke dalam lima tipe, sebagai berikut:
  - 1) Tipe I : peningkatan kolesterol dengan kadar trigliserida tinggi
  - 2) Tipe II : kolesterol tinggi dengan trigliserida normal
  - 3) Tipe III : peningkatan kolesterol dan trigliserida
  - 4) Tipe IV : peningkatan trigliserida, atheroma, dan asam urat
  - 5) Tipe V : peningkatan trigliserida
- b. *Acquired hyperlipidemia* atau hiperlipidemia sekunder, yaitu hiperlipidemia sebagai akibat dari kelainan atau penyakit lain yang menyebabkan perubahan pada metabolisme lipid plasma dan lipoprotein. Beberapa penyakit yang biasanya menjadi penyebab terjadinya hiperlipidemia jenis ini adalah diabetes melitus, penggunaan obat-obat seperti diuretik, *beta blockers*, dan estrogen, serta pada beberapa kondisi seperti hipotiroidisme, gagal ginjal, sindroma nefrotik, penggunaan alkohol, dan beberapa kelainan endokrin dan metabolik lainnya

- c. Hiperlipidemia idiopatik, yaitu hiperlipidemia yang tidak diketahui penyebabnya (Harikumar *et al.*, 2013).

### 2.5.3 Penatalaksanaan Hiperlipidemia

Sebelum dilakukan penanganan terhadap hiperlipidemia, harus dilakukan pemeriksaan (skrining) terhadap kadar lipid terlebih dahulu. Penatalaksanaan hiperlipidemia meliputi pengaturan diet, olah raga, dan pemberian obat antilipidemik atau disebut juga obat-obat hipolipidemik.

#### a. Diet

Diet merupakan langkah awal penatalaksanaan hiperlipidemia. Pengaturan diet bertujuan untuk mempertahankan berat badan normal dan mengurangi kadar lipid plasma (Suyatna, 2007). Pada orang dewasa dengan kadar kolesterol total  $< 6,5$  mmol/l (300 mg/dl) dan tanpa disertai dengan kelainan atau faktor resiko lain, hanya perlu diberikan diet saja (Asdie, 1991). Mereka dianjurkan makan makanan rendah kolesterol ( $< 300$  mg/hari), rendah lemak total ( $< 30\%$  dari kalori), dan rendah lemak jenuh ( $< 10\%$  dari kalori). Sedangkan, pada pasien dengan kelainan seperti jantung koroner, dianjurkan untuk mengubah gaya hidup (diet, latihan fisik, dan menurunkan berat badan) selama 3-6 bulan sebelum memulai terapi. Berikut adalah klasifikasi kadar lipid menurut *National Cholesterol Education Program* dalam Farmakologi dan Terapi (Suyatna, 2007)

Tabel 2.1 Klasifikasi kadar kolesterol total, LDL, HDL, dan trigliserida

	Kadar yang ingin dicapai (mg/dl)	Kadar batas-tinggi (mg/dl)	Kadar tinggi (mg/dl)
Kolesterol total	$<200$	200-239	$>240$
LDL	$<130$	130-159	$>160$
HDL			
- Pria	$>40$	$>60$	-
- Wanita	$>50$		
Trigliserida	$<150$	150-199	$>200$

b. Olah raga

Olah raga (aerobik) yang dilakukan secara teratur dapat membantu menurunkan kadar kolesterol, trigliserida, LDL-kolesterol, dan meningkatkan kadar HDL-kolesterol. Olah raga dapat meningkatkan aktivitas LPL di dinding kapiler, sehingga bahan-bahan HDL ditransfer ke plasma (Asdie, 1991).

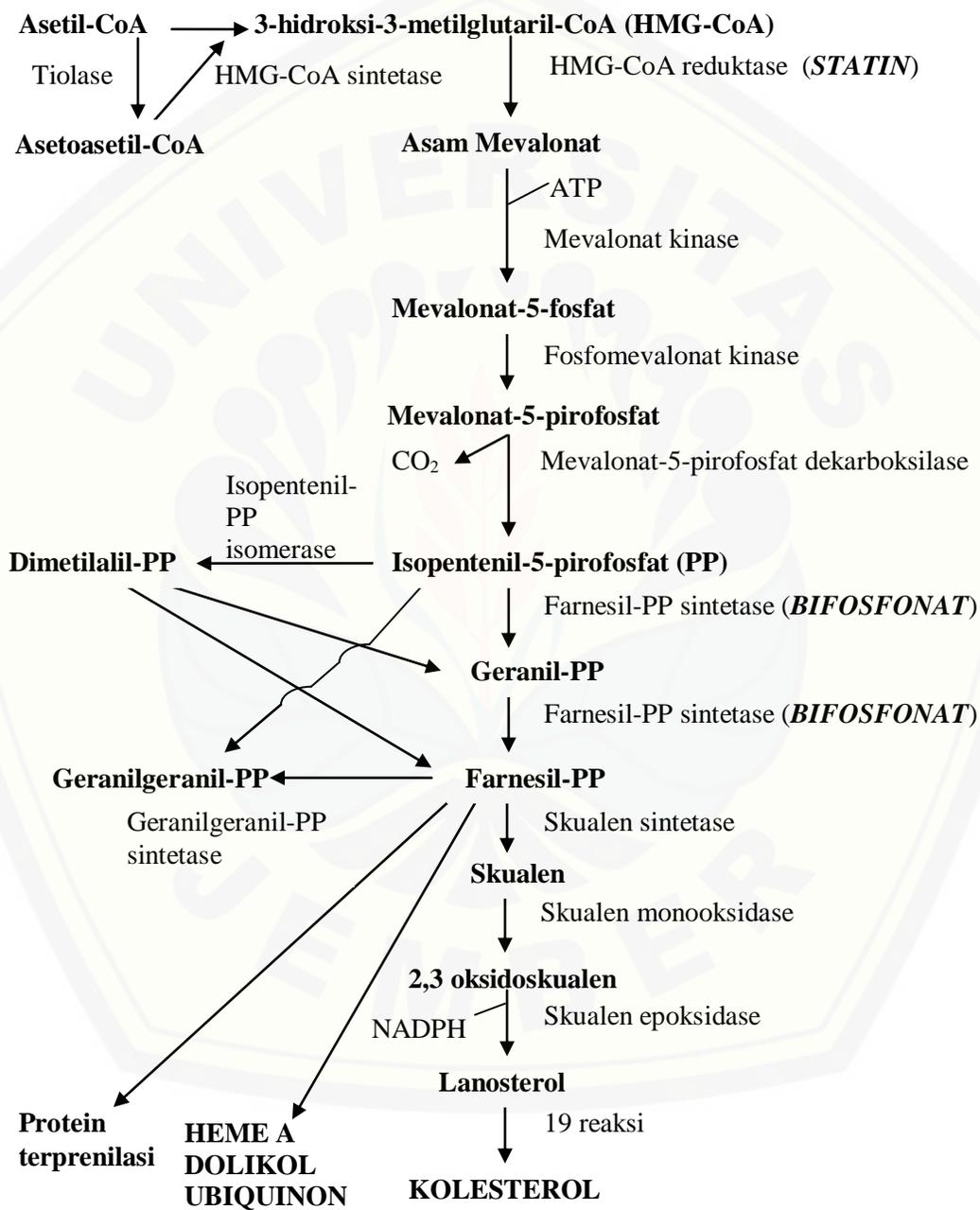
c. Obat hipolipidemik

Obat-obat hipolipidemia ditujukan untuk masalah kenaikan lipid serum (pada hiperlipidemia primer atau sekunder). Beberapa obat hipolipidemia dapat menurunkan produksi lipoprotein karier kolesterol dan triasilgliserol, sedangkan lainnya meningkatkan pemecahan lipoprotein (Mycek *et al.*, 1997). Penggunaan obat hipolipidemik dalam terapi hiperlipidemia dilakukan apabila diet dan olah raga tidak memberikan hasil yang memuaskan, atau pada pasien dengan kadar kolesterol total yang sangat tinggi. Oleh karena hiperlipidemia merupakan keadaan yang heterogen, maka tidak ada satupun obat hipolipidemik yang efektif untuk semua jenis hiperlipidemia (Asdie, 1991). Obat-obat hipolipidemik yang biasa digunakan pada pasien dengan hiperlipidemia antara lain derivat asam fibrat (Bezafibrat, Siprofibrat, Klofibrat, Gemfibrozil, dan Fenofibrat), golongan asam nikotinat (niasin), golongan HMG-KoA reduktase Inhibitor (Atorvastatin, Fluvastatin, Lovastatin, Pravastatin, Rosuvastatin, Simvastatin, Pitavastatin), dan golongan pengikat asam empedu (Kolestiramin, Kolesevelam dan Kolestipol) (Harikumar *et al.*, 2013).

## 2.6 Simvastatin

Simvastatin adalah salah satu obat yang termasuk dalam kelas statin. Statin sendiri kelas obat yang digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol dengan jalan menghambat enzim HMG-KoA reduktase yang memiliki peranan penting dalam menghasilkan kolesterol dalam hati. Peningkatan kadar kolesterol telah dihubungkan dengan penyakit kardiovaskuler, dan statin digunakan untuk mencegah terjadinya penyakit kardiovaskuler tersebut. Beberapa obat dari kelas statin yang biasa

digunakan adalah Atorvastatin, Fluvastatin, Lovastatin, Pravastatin, Rosuvastatin, Simvastatin, Pitavastatin (Harikumar *et al.*, 2013). Jalur pembentukan kolesterol ditunjukkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Jalur sintesis kolesterol (Sumber: Harikumar *et al.*, 2013)

Seperti yang terlihat pada gambar diatas, statin akan memblokade jalur HMG-KoA reduktase. Oleh karena statin memiliki kemiripan molekul dengan HMG-KoA reduktase, maka statin dapat menggantikan HMG-KoA reduktase dalam ikatannya dengan enzim dan mengurangi laju pembentukan mevalonat yang selanjutnya akan mencegah pembentukan kolesterol. Statin juga dapat menurunkan kadar LDL dan trigliserida, dan dapat meningkatkan sedikit HDL. Obat dari golongan ini menjadi obat pilihan pertama (*first line*) pada orang-orang dengan kadar kolesterol yang tinggi (Harikumar *et al.*, 2013; Mycek *et al.*, 1997).

## 2.7 Diet Tinggi Lemak

Induksi hiperlipidemia dilakukan dengan pemberian diet tinggi lemak yang merupakan campuran antara pakan standar, mentega dan kuning telur puyuh.

### 2.7.1 Minyak dan Lemak

Minyak dan lemak termasuk salah satu anggota golongan lipid, yaitu lipid netral. Minyak dan lemak memegang peranan penting dalam menjaga kesehatan tubuh manusia dengan menyumbangkan energi kepada tubuh sebesar 9 kalori tiap gram lemak (Ketaren, 1996).

Lemak dan minyak terdiri dari trigliserida campuran, yang merupakan ester dari gliserol dan asam lemak rantai panjang. Minyak nabati terdapat dalam buah-buahan, kacang-kacangan, biji-bijian, akar tanaman, dan sayur-sayuran. Dalam jaringan hewan, lemak terdapat di seluruh badan, dan sebagian besar terdapat dalam jaringan adipose dan tulang sumsum (Ketaren, 1996; Edwar, 2011).

Trigliserida dapat berwujud padat atau cair, tergantung dari komposisi asam lemak penyusunnya. Sebagian besar minyak nabati berbentuk cair karena mengandung sejumlah asam lemak tidak jenuh, seperti asam oleat, linoleat atau linolenat, yang memiliki titik cair yang rendah. Sedangkan asam lemak hewani umumnya berbentuk padat karena banyak mengandung asam lemak jenuh, misalnya asam palmitat dan stearat yang memiliki titik cair lebih tinggi (Ketaren, 1996; Tuminah, 2009). Secara umum, makanan yang berasal dari produk hewani seperti

daging berlemak, keju, mentega dan krim susu, selain mengandung asam lemak jenuh juga mengandung kolesterol (Sartika, 2008), jika dibandingkan dengan lemak nabati yang tidak mengandung kolesterol (Sherwood, 2003). Salah satu asam lemak jenuh yang menjadi komposisi dalam diet tinggi lemak pada penelitian ini adalah mentega.

Mentega merupakan salah satu asam lemak jenuh yang berasal dari produk hewani yang mengandung lemak tinggi (Tuminah, 2010). Secara alamiah, mentega adalah bahan pangan yang mengandung lemak *trans* walaupun dalam jumlah kecil, selain susu full-cream, keju, telur dan daging. Mentega menyumbangkan sekitar 10% asam lemak *trans* ke dalam tubuh (Silalahi *et al.*, 2002), dimana konsumsi asam lemak *trans* ini dapat berdampak negatif sama seperti asam lemak jenuh yaitu peningkatan pada kolesterol LDL (Sartika, 2008).

### 2.7.2 Telur

Telur merupakan salah satu bahan makanan yang bernilai gizi tinggi bagi pertumbuhan dan perkembangan anak maupun orang dewasa. Kandungan gizi yang terdapat dalam telur yaitu protein, asam amino esensial, lemak, vitamin, dan mineral. Protein telur memiliki mutu tinggi karena tersusun atas asam amino esensial yang lengkap. Sembilan puluh enam persen dari seluruh protein yang terdapat di dalam telur dapat diserap secara sempurna oleh dinding usus, dan 97% dari yang diserap tersebut digunakan tubuh untuk proses biologis. Telur terdiri dari tiga komponen utama, yaitu bagian kulit telur 8-11%, putih telur (albumen) 57-65%, dan kuning telur 27-32% (Anjarsari, 2010).

Telur dari berbagai jenis unggas memiliki fungsi yang sama, yaitu menyediakan kebutuhan hidup makhluk baru. Oleh sebab itu, komposisi telur-telur unggas tersebut hampir sama. Telur mengandung air, protein, lemak, karbohidrat, dan abu, dimana terdapat perbedaan proporsi kandungan zat-zat tersebut pada tiap spesies, yang umumnya dipengaruhi oleh keturunan, makanan, dan lingkungannya (Anjarsari, 2010).

Lemak telur terdiri dari gliserida 65,5%, fosfolipid 28,3%, dan kolesterol 5,2%. Jumlah lemak yang terkandung dalam tiap 100 gram telur ayam sebesar 11,5%, (Anjarsari, 2010) dan telur puyuh sebesar 8,2% (Latif *et al.*, 2011). Kuning telur mengandung lemak bebas dan lipoprotein. Lipoprotein kuning telur mengandung lemak netral 74% dan fosfolipid 26%. Lemak netral terdiri dari kolesterol bebas sebanyak 4% dan ester 0,2%. Lemak pada telur (99%) terdiri dari senyawaan berupa trigliserida, fosfolipid, sterol, dan serebrosida (Anjarsari, 2010).

Kuning telur juga merupakan salah satu bahan makanan dengan kadar kolesterol yang tinggi. Tingginya kadar kolesterol dalam telur ini dapat memicu terjadinya penumpukan lipid-lipid dan juga terbentuknya endapan kolesterol di pembuluh darah yang pada akhirnya akan memicu terjadinya *atherosclerosis* (Sandi *et al.*, 2008). Pada penelitian ini digunakan kuning telur puyuh dalam komposisi diet tinggi lemak karena kadar kolesterol per gram dari telur puyuh diketahui lebih tinggi dibandingkan dengan telur ayam, yaitu sekitar 16-17 mg, sementara pada telur ayam terdapat kolesterol sekitar 6-8 mg (Latif *et al.*, 2011). Untuk menginduksi terjadinya hiperlipidemia, sebanyak 5% kuning telur dicampurkan dalam pakan (Gani *et al.*, 2013).

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis, Tempat, dan Waktu Penelitian

#### 3.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian mengenai efek pemberian ekstrak metanol daun kayu kuning (*Arcangelisia flava*) terhadap penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida tikus hiperlipidemia yang diinduksi fruktosa dan diet tinggi lemak ini merupakan *True Experimental Laboratories*.

#### 3.1.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Klinik dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember dimulai dari bulan Agustus 2015.

### 3.2 Jumlah Hewan Coba

Pemilihan hewan coba penelitian dilakukan dengan cara *simple random sampling* yang kemudian dibagi menjadi lima kelompok. Estimasi jumlah pengulangan atau banyaknya hewan coba dalam penelitian ini dapat dihitung dengan menggunakan rumus Federer yaitu,  $(p-1)(n-1) \geq 15$  (Hanafiah, 2001).

dimana,

p : jumlah kelompok kontrol dan perlakuan

n : jumlah sampel

jika,  $p = 6$

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

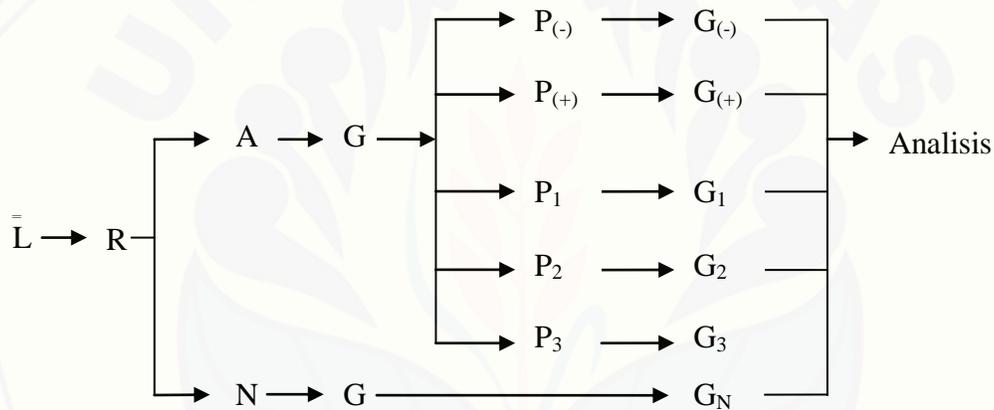
$(6-1)(n-1) \geq 15$

n  $\geq 4$

Berdasarkan hasil perhitungan di atas, jumlah hewan coba yang digunakan minimal 4 ekor tikus untuk tiap perlakuan.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Pretest and Posttest Control Group Design*. Hewan coba diukur kadar kolesterol total dan trigliserida sebelum dan setelah diberi perlakuan. Rancangan penelitian ini terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1 berikut ini:



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

- L : Populasi tikus putih jantan galur Wistar
- R : Randomisasi
- A : Tikus diberi diet tinggi lemak dan fruktosa 27,5% dalam air minum selama 56 hari
- N : Tikus kontrol normal diberi pakan dan minum standar
- G : Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida awal tikus perlakuan dan kontrol normal
- P<sub>(-)</sub> : Perlakuan berupa pemberian CMC Na 1% sebagai kontrol negatif selama 7 hari
- P<sub>(+)</sub> : Perlakuan berupa pemberian simvastatin 0,36 mg/200 g BB dalam CMC Na 1% sebagai kontrol positif selama 7 hari
- P<sub>1</sub> : Perlakuan berupa pemberian ekstrak metanol daun *A. flava* dosis 250 mg/kg BB 1 kali sehari selama 7 hari

- $P_2$  : Perlakuan berupa pemberian ekstrak metanol daun *A. flava* dosis 500 mg/kg BB 1 kali sehari selama 7 hari
- $P_3$  : Perlakuan berupa pemberian ekstrak metanol daun *A. flava* dosis 750 mg/kg BB 1 kali sehari selama 7 hari
- $G_{(-)}$  : Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida akhir kelompok kontrol negatif
- $G_{(+)}$  : Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida akhir kelompok kontrol positif
- $G_1$  : Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida akhir tikus uji kelompok perlakuan 1
- $G_2$  : Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida akhir tikus uji kelompok perlakuan 2
- $G_3$  : Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida akhir tikus uji kelompok perlakuan 3
- $G_N$  : Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida akhir tikus kontrol normal

### 3.4 Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak metanol daun kayu kuning (*Arcangelisia flava*) yang digunakan yaitu 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan 750 mg/kg BB.

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar kolesterol total dan trigliserida hewan coba setelah pemberian ekstrak metanol daun kayu kuning (*A. flava*).

#### 3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini meliputi:

- Umur (2-3 bulan), berat badan hewan coba  $\pm$  200 g
- Jenis kelamin hewan coba (hewan coba berkelamin jantan)
- Jenis hewan coba (tikus putih galur Wistar)
- Pemeliharaan hewan coba (jenis makanan dan penggantian sekam secara teratur)

- e. Cara pemberian diet tinggi lemak, fruktosa, ekstrak metanol daun *A. flava*, dan obat standar
- f. Frekuensi dan volume pemberian fruktosa, ekstrak metanol daun *A. flava* dan obat standar, serta frekuensi pemberian pakan diet tinggi lemak
- g. Masa percobaan dan prosedur pengujian kemampuan menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida pada tikus.

### 3.5 Definisi Operasional Variabel

- a. Daun *A. flava* diperoleh dari daerah Taman Nasional Meru Betiri, diambil daun berwarna hijau tua di atas tanah dengan diameter  $\pm$  10-15 cm, dan telah diidentifikasi oleh LIPI-Kebun Raya Purwodadi, kemudian dibuat menjadi simplisia, diserbuk halus dan diekstraksi dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol.
- b. Kadar kolesterol total dan trigliserida serum darah tikus adalah kadar kolesterol total dan trigliserida hasil pemeriksaan dengan menggunakan alat *Biolzyer 100<sup>TM</sup>*, kemudian dibandingkan dengan kadar kolesterol total dan trigliserida dari kelompok tikus kontrol normal. Darah diambil dari mata tikus dengan menggunakan pipa kapiler.
- c. Masa percobaan adalah lama pemberian diet tinggi lemak, fruktosa, suspensi ekstrak metanol daun *A. flava*, dan obat standar (simvastatin), dimana pada hari ke-0, ke-15, ke-29, ke-43, dan ke-57 dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total dan trigliserida.
- d. Diet tinggi fruktosa adalah pemberian fruktosa 27,5% dalam air minum tikus yang diberikan tiap hari.
- e. Diet tinggi lemak adalah pemberian pakan tinggi lemak yang terdiri dari campuran pakan standar : mentega : kuning telur puyuh dengan perbandingan 80 : 15 : 5.
- f. Tikus hiperlipidemia adalah tikus dengan kadar kolesterol total dan trigliserida yang secara statistik berbeda signifikan dengan tikus kontrol normal.

### 3.6 Bahan dan Alat yang Digunakan

#### 3.6.1 Bahan

Daun *A. flava*, n-heksana, metanol, lempeng Silika Gel F<sub>254</sub>, penampak noda sitrat borat, CMC Na, simvastatin, fruktosa 27,5%, akuades, pakan tinggi lemak, reagen uji kolesterol, reagen uji trigliserida.

#### 3.6.2 Alat

Neraca analitik digital, timbangan gram kasar, *holder* tikus, *rotavapour*, densitometer, alat-alat gelas, *hot plate*, sonde oral, *micropipette*, tip, tabung *microtube*, *centrifuge*, *Biolyzer 100<sup>TM</sup>*.

#### 3.6.3 Hewan coba

Tikus jantan galur Wistar umur 2-3 bulan, berat 150-200 g, sehat, kadar awal kolesterol total dan trigliserida tidak lebih dari kadar kolesterol total dan trigliserida tikus kontrol normal.

### 3.7 Prosedur

#### 3.7.1 Pembuatan Ekstrak Metanol Daun *A. flava*

Daun *A. flava* dicuci bersih, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama semalam, kemudian dioven pada suhu 50°C selama 2x24 jam dengan tujuan untuk mengurangi kadar airnya hingga diperoleh simplisia kering, kemudian digiling menjadi serbuk. Serbuk yang diperoleh ditimbang, dimasukkan dalam alat maserator, dimaserasi sebanyak 2 kali (masing-masing selama 48 jam) dengan pelarut n-heksana (perbandingan 1:6). Hasil maserasi disaring untuk memisahkan antara ampas dengan filtratnya. Ampas dikeringkan, dimaserasi kembali sebanyak 3 kali (masing-masing selama 48 jam) menggunakan pelarut metanol (perbandingan 1:6). Maserat dan ampas dipisahkan secara hati-hati menggunakan corong *Buchner* kemudian dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* suhu 50°C sampai seluruh metanol menguap dan diperoleh ekstrak kental.

### 3.7.2 Penetapan Kadar Berberin

Penetapan kadar berberin dilakukan menggunakan metode KLT-Densitometri dengan kondisi analisis yang telah divalidasi sebelumnya yaitu, fase diam Silika Gel F<sub>254</sub> dan fase gerak yang terdiri dari campuran toluen, etanol dan NH<sub>4</sub>OH 25% (3 : 4 : 1) (Baroroh, 2014). Ditimbang 10 mg standar berberin, dilarutkan dalam 10 ml metanol, sehingga diperoleh larutan baku induk 1000 ppm. Larutan baku induk diencerkan menjadi beberapa konsentrasi yaitu 100, 200, 250, dan 500 ppm. Ditimbang 75 mg ekstrak metanol daun *A. flava* (replikasi penimbangan 2 kali), ditambahkan 1 ml metanol. Masing-masing larutan baku ditotolkan sebanyak 2 µl, sedangkan larutan ekstrak ditotolkan sebanyak 8 µl (replikasi 1) dan 4 µl (replikasi 2) pada lempeng silika. Selanjutnya, lempeng dieluasi pada fase gerak dan dianalisis dengan densitometer.

### 3.7.3 Uji Kualitatif Flavonoid

Ditimbang 75 mg ekstrak metanol daun *A. flava* dan ditambahkan 1 ml metanol. Sebanyak 6 µl larutan ditotolkan pada fase diam kemudian dianalisis dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan:

Fase diam	: Silika Gel F <sub>254</sub>
Fase gerak	: toluen : etanol : NH <sub>4</sub> OH 25% (3 : 4 : 1)
Penampak noda	: sitrat borat
Hasil	: positif, jika terdapat warna kuning kehijauan.

### 3.7.4 Uji Saponin (Uji Buih)

Ditimbang 0,3 gram ekstrak metanol daun *A. flava*, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan akuades sebanyak 10 ml, kocok kuat selama 30 detik. Tes buih positif mengandung saponin bila terjadi buih yang stabil selama lebih dari 30 menit dengan tinggi 3 cm di atas permukaan cairan.

### 3.7.5 Pembuatan Larutan Fruktosa 27,5%

Sebanyak 50 ml fruktosa 55% dilarutkan aquades hingga 100 ml dan diberikan dalam minuman pada tiap kelompok perlakuan per hari.

### 3.7.6 Pembuatan Pakan Tinggi Lemak

Pembuatan pakan tinggi lemak tiap 1000 gram dilakukan dengan mencampurkan 800 g pakan standar, 150 g mentega, dan 50 g kuning telur puyuh (80 : 15 : 5). Mentega yang digunakan dalam pembuatan pakan tinggi lemak ini dicairkan terlebih dahulu untuk mempermudah pencampuran.

### 3.7.7 Pembuatan Mucilago CMC Na 1%

Sebanyak 1 gram CMC Na ditaburkan di atas 10 ml air panas (20 kali berat CMC Na), dibiarkan selama  $\pm 15$  menit hingga CMC Na mengembang, kemudian diaduk kuat sampai terbentuk massa kental dan ditambah air hingga volume 100 ml.

### 3.7.8 Pembuatan Suspensi Ekstrak Metanol Daun *A. flava*

Sebanyak 500 mg ekstrak kental daun *A. flava* disuspensikan ke dalam 20 ml CMC Na 1% untuk dosis 250 mg/kg BB, 1000 mg ekstrak kental daun *A. flava* disuspensikan ke dalam 20 ml CMC Na 1% untuk dosis 500 mg/kg BB, dan 1500 mg ekstrak kental daun *A. flava* disuspensikan ke dalam 20 ml CMC Na 1% untuk dosis 750 mg/kg BB.

### 3.7.9 Pembuatan Suspensi Simvastatin (Kontrol (+))

Sebanyak 18 mg simvastatin disuspensikan ke dalam larutan CMC Na 1% hingga diperoleh volume 100 ml. Suspensi simvastatin ini diberikan pada tikus uji kelompok kontrol (+) dengan dosis 0,36 mg/200 g BB per hari.

### 3.7.10 Perlakuan terhadap Hewan Coba

Sebanyak 24 ekor tikus putih jantan galur Wistar ditempatkan dalam kandang dengan diberi pakan standar dan minum *ad libitum*. Setelah diadaptasikan selama 1 minggu, semua tikus ditimbang, diberikan tanda pengenal pada bagian ekornya, kemudian dibagi ke dalam 6 kelompok yang masing-masingnya berisi 4 ekor tikus yang dipilih secara acak, diberi pakan tinggi lemak dan fruktosa selama 45 hari, diukur kadar kolesterol total dan trigliserida awal dan dibandingkan dengan kelompok kontrol normal, kemudian diberi perlakuan sekali sehari selama 7 hari dengan prosedur sebagai berikut:

- Kontrol normal : tikus tanpa perlakuan yang diberikan pakan standar.
- Kelompok I (P<sub>(-)</sub>) : tikus diberi minum fruktosa 27,5% dan pakan tinggi lemak, kemudian diberi CMC Na 1% selama 7 hari.
- Kelompok II (P<sub>(+)</sub>) : tikus diberi minum fruktosa 27,5% dan pakan tinggi lemak, kemudian diberi suspensi simvastatin 0,36 mg/200 g BB peroral per hari selama 7 hari.
- Kelompok III (P<sub>1</sub>) : tikus diberi minum fruktosa 27,5% dan pakan tinggi lemak, kemudian diberi suspensi ekstrak metanol daun *A. flava* dengan dosis 250 mg/kg BB peroral per hari selama 7 hari.
- Kelompok IV (P<sub>2</sub>) : tikus diberi minum fruktosa 27,5% dan pakan tinggi lemak, kemudian diberi suspensi ekstrak metanol daun *A. flava* dengan dosis 500 mg/kg BB peroral per hari selama 7 hari.
- Kelompok V (P<sub>3</sub>) : tikus diberi minum fruktosa 27,5% dan pakan tinggi lemak, kemudian diberi suspensi ekstrak metanol daun *A. flava* dengan dosis 750 mg/kg BB peroral per hari selama 7 hari.

Pada hari ke-0, ke-15, ke-29, dan ke-43 dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total dan trigliserida untuk mengetahui kenaikan pada dua parameter tersebut. Pemeriksaan dilakukan terhadap serum darah tikus dengan bantuan alat *Bioalyzer 100<sup>TM</sup>*, dimana darah yang digunakan dalam pengujian diambil terlebih dahulu melalui mata tikus (vena retro-orbitalis) menggunakan pipa kapiler.

Perhitungan penurunan kadar lipid (kolesterol total dan trigliserida):

$$\begin{array}{l} \text{\% penurunan} \\ \text{kadar lipid} \end{array} = \frac{(\text{kadar lipid hari ke-0 (H}_0\text{)}) - (\text{kadar lipid hari ke-8 (H}_8\text{)})}{(\text{kadar lipid hari ke-0 (H}_0\text{)})} \times 100\%$$

Keterangan:

Kadar lipid hari ke-0 (H<sub>0</sub>) : kadar lipid setelah 45 hari pemberian pakan tinggi lemak dan fruktosa 27,5%.

Kadar lipid hari ke-8 (H<sub>8</sub>) : kadar lipid setelah 7 hari pemberian suspensi ekstrak metanol daun *A. flava*.

#### 3.7.11 Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida

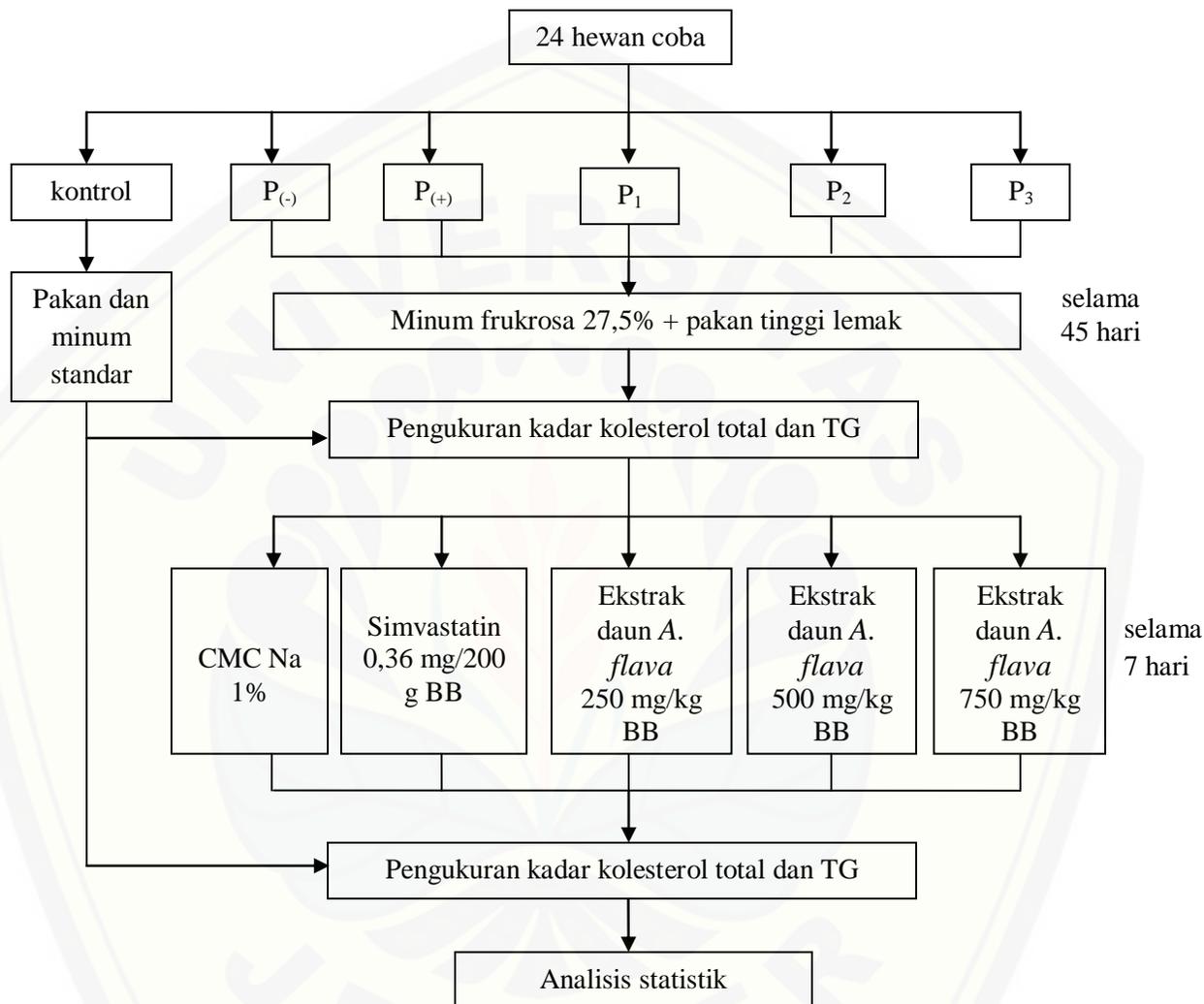
Pemeriksaan kadar kolesterol menggunakan metode CHOD-PAP, sedangkan untuk trigliserida menggunakan metode GPO-PAP. Sebanyak 10 µl serum darah tikus uji ditambahkan masing-masing dengan 1000 µl reagen uji kolesterol dan trigliserida, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya diukur kadarnya menggunakan alat *Bioalyzer*, dibandingkan dengan standar dan blanko uji.

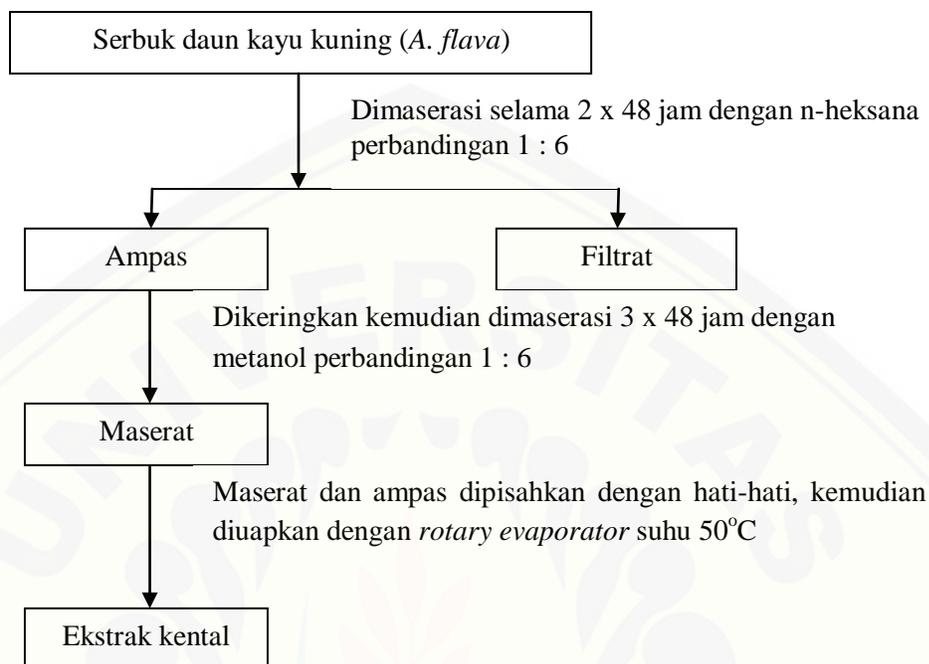
### 3.8 Analisis Data

Untuk menguji perbedaan kadar kolesterol total dan trigliserida tikus pada masing-masing kelompok perlakuan digunakan uji Anova satu arah, dan jika diperoleh hasil yang signifikan maka akan dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*). Hasil uji ANOVA satu arah dan LSD signifikan bila didapatkan harga  $p < 0.05$  dengan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0.05$ ).

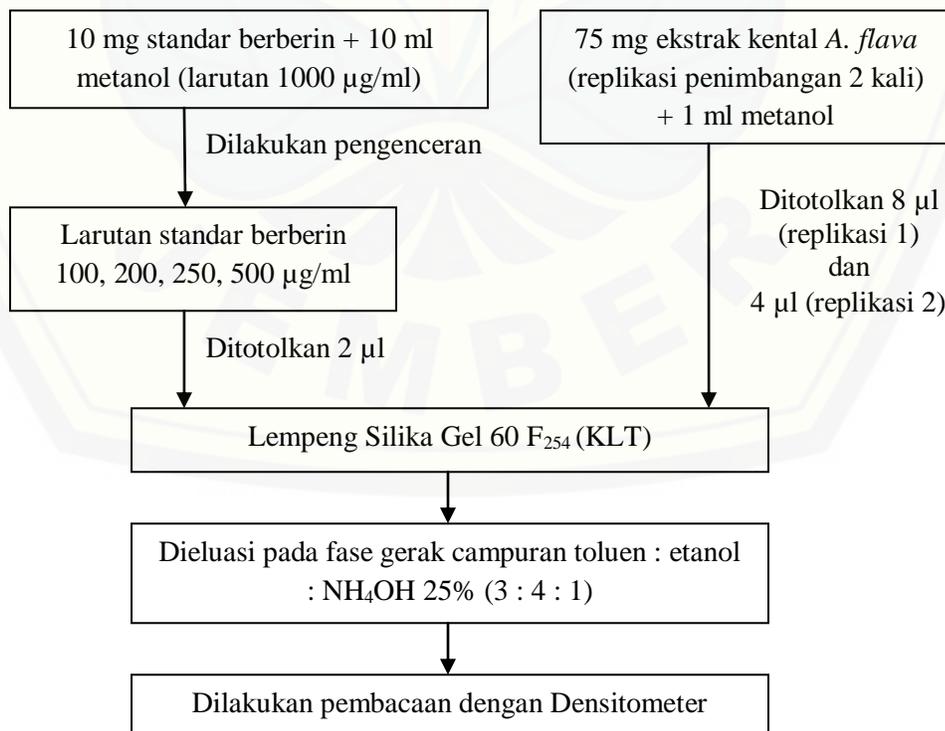
### 3.9 Alur Penelitian

#### 3.9.1 Skema Perlakuan Hewan Coba

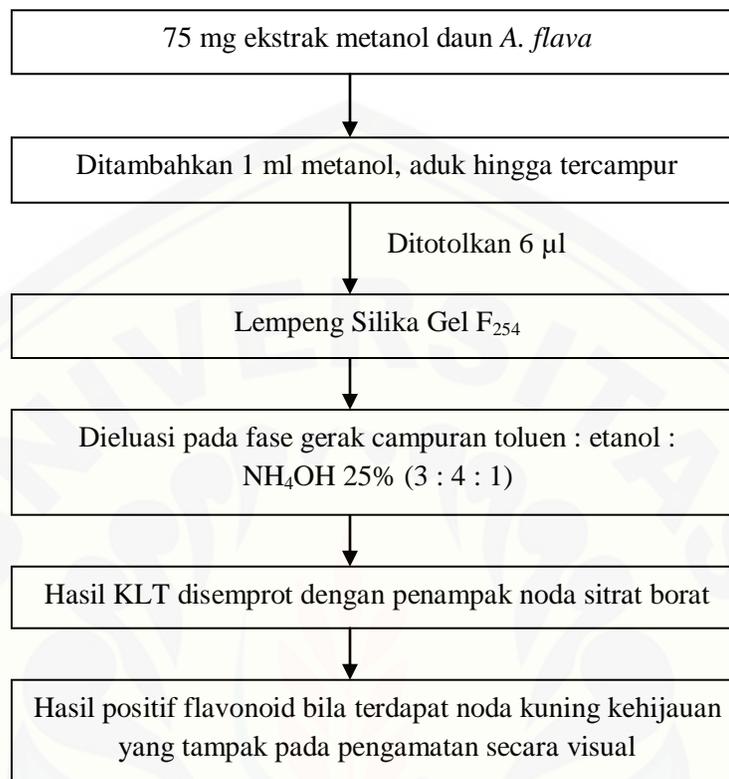


3.9.2 Skema Pembuatan Ekstrak Metanol Daun *A. flava*

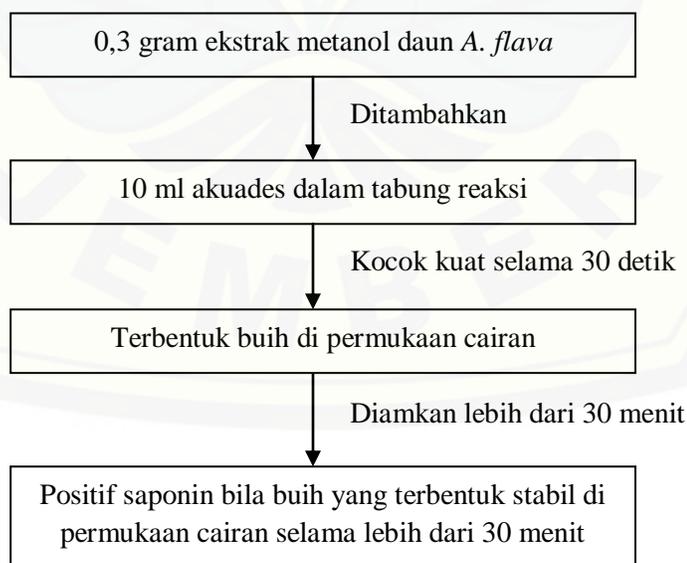
## 3.9.3 Penetapan Kadar Berberin (KLT-Densitometri)



## 3.9.4 Uji Kualitatif Flavonoid (Kromatografi Lapis Tipis)



## 3.9.5 Uji Saponin (Uji Buih)



## 3.9.6 Skema Pembuatan Pakan Tinggi Lemak Tiap 1000 Gram



## 3.9.7 Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida

