



**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERLIPIDEMIA KOMBINASI
EKSTRAK DAUN JATI BELANDA (*Guazuma ulmifolia* Lamk.)
DAN KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.)
PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh

Mahmudatus Sholihah

NIM. 122210101019

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERLIPIDEMIA KOMBINASI EKSTRAK
DAUN JATI BELANDA (*Guazuma ulmifolia* Lamk.)
DAN KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.)
PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

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

Oleh

Mahmudatus Sholihah

NIM 122210101019

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT. Tuhan yang Maha Esa dan Nabi Muhammad SAW.;
2. Ayahanda H.Mufti Ali, Ibunda Nurhayati, Saudari Nurul Hikmah, Saudara Nurul Huda dan Keluarga tercinta yang senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang tiada henti serta pengorbanan yang telah dilakukan setiap waktu;
3. Guru-guru dari taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi, yang telah memberikan ilmu dan mendidik saya dengan penuh kesabaran untuk menjadikan saya manusia yang berilmu dan bertakwa;
4. Almamater yang saya banggakan, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTO

Allah tidak akan membebani seorang anak manusia di luar batas kemampuannya
(Q.S. Al Baqarah: 286)

Man jadda wajada
Siapa yang bersungguh-sungguh pasti akan berhasil
(Al-hadist)

Your time is limited, so dont waste it living someone else's life. Dont be trapped by dogma which is living with the result of other people's thinking. Don't let the noise of other's opinions drown out your own inner voice. And most important, have the courage to follow your heart and intuition. They somehow already know what you truly want to become
(Steve Jobs)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mahmudatus Sholihah

NIM : 122210101019

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Kombinasi Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember,
Yang menyatakan,

Mahmudatus Sholihah
NIM 122210101019

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERLIPIDEMIA KOMBINASI EKSTRAK DAUN
JATI BELANDA (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) DAN KELOPAK BUNGA
ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR
WISTAR (*Rattus norvegicus*)**

Oleh

Mahmudatus Sholihah

NIM 122210101019

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Indah Yulia Ningsih S.Farm., Apt., M.Farm.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Kombinasi Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Rabu, 18 Mei 2016

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP.198107232006042002

Indah Yulia Ningsih S.Farm., Apt., M.Farm.
NIP.198407122008122002

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt.
NIP.197305132005012001

Ari Satia N., S.F., GdipSc., MSc-Res., Ph.D., Apt.
NIP.197807212003121001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Kombinasi Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Ratus norvegicus*); Mahmudatus Sholihah, 122210101019; 2016: 46 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyakit jantung dan pembuluh darah (kardiovaskular) merupakan penyakit pembunuh utama di dunia. Penyakit ini terutama disebabkan oleh proses aterosklerosis pada arteri koronaria. Salah satu penyebab utama aterosklerosis adalah hiperlipidemia. Daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) sering digunakan sebagai agen antihiperlipidemia. Kedua herbal ini dapat menurunkan kadar kolesterol dengan mekanisme kerja yang berbeda dan memungkinkan terjadinya efek komplementer. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antihiperlipidemia kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella pada tikus putih jantan galur wistar. Parameter yang digunakan pada penelitian ini adalah kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan berat badan tikus. Selain itu, juga dilakukan analisis flavonoid total pada kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella.

Pengujian aktivitas antihiperlipidemia dilakukan pada hewan uji yang diinduksi diet lemak tinggi selama 60 hari, kemudian diberi perlakuan kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella selama 15 hari dengan tetap diberi diet lemak tinggi. Diet lemak tinggi terdiri dari pakan, lemak babi, dan kuning telur puyuh dengan perbandingan 80:15:5. Penelitian ini menggunakan rancangan *pretest-posttest with control group* terhadap 25 ekor tikus jantan yang terbagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif CMC Na, kelompok kontrol positif orlistat, kelompok kombinasi ekstrak perbandingan 3:1, kelompok kombinasi ekstrak perbandingan 1:3, serta kelompok kombinasi ekstrak 1:1. Sampling darah dan

pengukuran berat badan tikus dilakukan pada hari ke-0, 60, dan 75. Tujuannya untuk mengukur kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan berat badan tikus sebelum dan sesudah perlakuan. Data perubahan kadar lipid kemudian diubah menjadi penurunan dan peningkatan kadar lipid, sedangkan perubahan berat badan tikus diubah menjadi penurunan berat badan tikus. Data kolesterol total dan kolesterol LDL diuji dengan uji parametrik *ANOVA*, sedangkan data trigliserida, kolesterol HDL, dan berat badan diuji dengan uji non-parametrik *Kruskal Wallis*.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, diketahui bahwa kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella mampu menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, dan meningkatkan kadar HDL dibandingkan kontrol negatif, namun tidak dapat menurunkan berat badan tikus. Kombinasi dengan perbandingan 1:1 mampu meningkatkan kadar HDL terbesar dibandingkan dengan kelompok lain. Kadar flavonoid pada kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3, dan 1:1 berturut-turut adalah 1,70; 0,80; dan 1,18 %. Kemungkinan tidak hanya senyawa flavonoid yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antihiperlipidemia. Selain flavonoid, senyawa yang terlibat dalam aktivitas antihiperlipidemia adalah senyawa tanin dan saponin. Mekanisme aktivitas antihiperlipidemia kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dalam penelitian ini kemungkinan adalah melalui penghambatan enzim lipase yang berperan dalam absorpsi lipid, serta penghambatan terhadap enzim HMG KoA reduktase yang berperan dalam sintesis kolesterol dalam tubuh. Dengan demikian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait mekanisme antihiperlipidemia.

PRAKATA

Puji syukur kepada Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Kombinasi Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk 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. Bapak Drs. Wiratmo, M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt. dan Ibu Indah Yulia N., S.Farm., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian beliau dalam penulisan skripsi ini;
4. Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt. dan Bapak Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc., MSc-Res., Ph.D., Apt. selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Bapak Nuri, S.Si., Apt., M.Si. selaku Dosen Pembimbing penelitian yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian beliau dalam penelitian ini;
6. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas bimbingan serta bantuannya selama ini;
7. Ayahanda H.Mufti Ali, Ibunda Nurhayati, Saudari Nurul Hikmah, Saudara Nurul Huda dan keluarga tercinta yang tak henti-hentinya selalu memberikan doa dan dukungannya, menjadi sumber inspirasi bagi penulis untuk terus mengejar cita-cita dan memberikan yang terbaik;

8. Sahabat “Lima” yang selalu memberi motivasi, semangat, keceriaan, bantuan dan dukungan yang tak pernah putus selama ini;
9. Rekan Kerja sekaligus sahabat Novia Hilma dan Putu Argianti Meyta Sari yang telah membantu, mendampingi, dan memberikan semangat yang tak henti dari awal hingga selesainya skripsi ini;
10. Keluarga Besar Petruk Rolas Fakultas Farmasi Universitas Jember 2012 yang telah menuliskan berbagai catatan yang tak terlupakan dalam kesejawatan ini;
11. Laboran Laboratorium Biomedik dan Fitokimia Mbak Dini, Mbak Indri, Ibu Widi, dan Mbak Anggra yang telah memberikan bimbingan dalam penelitian ini;
12. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

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

Jember, Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan tentang Jati Belanda	6
2.1.1 Klasifikasi Jati Belanda	6
2.1.2 Deskripsi Jati Belanda	7
2.1.3 Kandungan dan Efek Farmakologi Jati Belanda.....	7
2.2 Tinjauan tentang Rosella	8
2.2.1 Klasifikasi Rosella.....	8
2.2.2 Deskripsi Rosella.....	9
2.2.3 Kandungan dan Efek Farmakologi Rosella	9

2.3	Tinjauan tentang Hiperlipidemia	10
2.4	Tinjauan tentang Triglicerida	12
2.5	Tinjauan tentang Kolesterol.....	14
2.6	Tinjauan tentang Lipoprotein	16
2.7	Tinjauan tentang LDL (<i>Low Density Lipoprotein</i>).....	18
2.8	Tinjauan tentang HDL (<i>High Density Lipoprotein</i>)....	18
2.9	Tinjauan tentang Propiltiourasil.....	19
2.10	Tinjauan tentang Orlistat	20
2.11	Tinjauan tentang Obat-Obat untuk Hiperlipidemia	21
BAB 3. METODE PENELITIAN		24
3.1	Jenis Penelitian	24
3.2	Rancangan Penelitian.....	24
3.3	Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.4	Subyek Uji dan Jumlah Subyek.....	25
	3.4.1 Subyek Uji	25
	3.4.2 Jumlah Subyek Uji	26
3.5	Alat dan Bahan	26
	3.5.1 Alat	26
	3.5.2 Bahan	26
3.6	Variabel Penelitian	27
	3.6.1 Variabel Bebas.....	27
	3.6.2 Variabel Terikat.....	27
	3.6.3 Variabel Terkendali	27
3.7	Definisi Operasional	27
3.8	Prosedur Penelitian	28
	3.8.1 Ekstraksi Daun Jati Belanda	28
	3.8.2 Ekstraksi Kelopak Bunga Rosella	28
	3.8.3 Aklimatisasi dan Pengelompokan Hewan Uji	28

3.8.4	Pembuatan Pakan Tinggi Lemak	29
3.8.5	Pembuatan Larutan Propiltiourasil 0,01%	29
3.8.6	Pembuatan Suspensi Kombinasi Ekstrak Daun Jati Belanda dan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella pada Tingkat Perbandingan Tertentu	30
3.8.7	Uji Aktivitas Antihiperlipidemia	31
3.8.8	Preparasi Serum	32
3.8.9	Prosedur Pengukuran Kadar Lemak Darah	32
3.8.10	Analisis flavonoid	34
3.9	Analisis Data	34
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1	Ekstraksi Daun Jati belanda	35
4.2	Ekstraksi Kelopak Bunga Rosella	35
4.3	Aktivitas Antihiperlipidemia Kombinasi Ekstrak Daun Jati Belanda dan Kelopak Bunga Rosella	35
BAB 5.	PENUTUP	41
5.1	Kesimpulan	41
5.2	Saran	41
DAFTAR PUSTAKA		42
LAMPIRAN		47

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Klasifikasi kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan Triglicerida.....	12
4.1 Penurunan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan peningkatan kadar HDL.....	36
4.2 Penurunan berat badan tikus.....	37
4.3 Kadar flavonoid pada kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella	37
4.4 Perbandingan hasil penurunan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan peningkatan kadar HDL dengan penelitian sebelumnya	40

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Daun jati belanda	6
2.2 Bunga rosella	8
2.3 Biosintesis dan metabolisme trigliserida	13
2.4 Skema sintesis kolesterol.....	15
2.5 Transpor lipid dan lipoprotein	17
2.6 Mekanisme kerja orlistat.....	21
3.1 Skema rancangan penelitian	25

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Lembar Identifikasi Tanaman	47
A.1 Lembar Identifikasi Daun Jati Belanda	47
A.2 Lembar Identifikasi Rosella	48
B. Perhitungan dan Pemberian Dosis	49
B.1 Perhitungan Rendemen Ekstraksi	49
B.2 Perhitungan Pembuatan Sediaan Suspensi Ekstrak	49
B.3 Volume Pemberian Suspensi Ekstrak.....	50
B.4 Perhitungan Dosis dan Volume Pemberian Orlistat	51
B.5 Perhitungan Pembuatan Sediaan dan Volume Pemberian CMC Na 0,5%	51
C. Data Kadar Kolesterol Total, Triglicerida, LDL, HDL, dan Berat Badan Tikus	52
C1. Data Kadar Kolesterol Total	52
C2. Data Kadar Triglicerida.....	53
C3. Data Kadar LDL.....	54
C4. Data Kadar HDL	55
C5. Data Berat Badan Tikus	57
D. Perhitungan Total Flavonoid	59
E. Hasil Uji Statistik Kadar Kolesterol Total, Triglicerida, LDL, HDL, dan Berat Badan Tikus.....	63

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit jantung dan pembuluh darah (kardiovaskular) merupakan penyakit pembunuh utama di dunia. Pada tahun 2012 diperkirakan sebanyak 17,5 juta orang meninggal karena penyakit kardiovaskular yang mewakili 31% dari seluruh kematian global. Dari kematian ini diperkirakan 7,4 juta adalah karena penyakit jantung koroner (PJK) dan 6,7 juta adalah karena stroke. Lebih dari tiga perempat kematian karena penyakit kardiovaskular terjadi di negara yang sedang berkembang termasuk Indonesia (WHO, 2015). Di Indonesia dilaporkan penyakit jantung koroner merupakan penyebab utama dan pertama dari seluruh kematian, yakni sebesar 26,4%, angka ini empat kali lebih tinggi dari angka kematian yang disebabkan oleh kanker (6%). Dengan kata lain, lebih kurang satu di antara empat orang yang meninggal di Indonesia adalah akibat PJK (Ditjen Binfar, 2006). Pengaruh diet yang tidak teratur dan sering mengonsumsi makanan berlemak tinggi dapat meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular, salah satunya penyakit jantung koroner. Penyakit ini terutama disebabkan oleh proses aterosklerosis pada arteri koronaria (Katzung, 2002).

Aterosklerosis adalah suatu keadaan pada arteri besar dan sedang yang ditandai dengan lesi lemak pada permukaan bagian dalam arteri. Salah satu penyebab utama aterosklerosis adalah hiperlipidemia. Hiperlipidemia merupakan kelainan metabolisme lemak yang ditandai dengan peningkatan salah satu atau lebih dari kolesterol, kolesterol ester, fosfolipid, dan trigliserida. Kelainan metabolisme lemak ditunjukkan dengan tingginya kadar kolesterol total, kolesterol LDL (*Low Density lipoprotein*), dan trigliserida, serta rendahnya kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) dalam darah (Dipiro *et al.*, 2008).

Penatalaksanaan hiperlipidemia meliputi terapi non farmakologi yaitu pengaturan diet dan pola hidup serta terapi farmakologi menggunakan obat terutama obat sintetik. Secara umum, obat-obat antihiperlipidemia dapat dibagi menjadi

beberapa golongan, yaitu golongan penghambat HMG-CoA reduktase (statin), fibrat, niacin, ezetimibe, dan resin. Namun, penggunaan obat-obat tersebut dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping yang tidak dapat dibiarkan begitu saja. Misalnya, obat golongan statin yang memiliki efek samping seperti *miopati*, serta *rabdomiolisis* karena terjadi disfungsi ginjal. Selain itu, obat sintetik pada umumnya hanya bekerja melalui satu mekanisme, misalnya obat golongan statin yang menghambat 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A reduktase untuk biosintesis kolesterol. Dengan dosis terapi, statin menurunkan namun tidak menghambat biosintesis kolesterol (Syamsudin, 2011). Oleh karena itu perlu dicari obat alternatif dari bahan alam yang kemungkinan mengandung beberapa senyawa aktif dengan mekanisme aksi berbeda dan kemungkinan memiliki efek komplementer (Katno, 2008), sehingga diharapkan aktifitas farmakologinya menjadi lebih baik.

Jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) secara tradisional telah digunakan untuk menurunkan berat badan karena adanya kandungan polisakarida, serta mengurangi kadar lemak yang berlebihan (Mardisiswojo, 1985). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sari *et al.* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jati belanda dengan dosis 59,6 mg/kg berat badan memiliki aktivitas paling tinggi di antara beberapa herbal antikolesterol Indonesia dalam menurunkan kadar kolesterol pada tikus percobaan, serta memiliki aktivitas yang sebanding dengan kontrol positif yaitu orlistat. Demikian juga kombinasi ekstrak air daun jati belanda dan ekstrak etanol rimpang kunyit dapat menurunkan kadar kolesterol total dan kadar LDL pada tikus jantan secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol (Sukandar *et al.*, 2012). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Iswantini *et al.* (2011), ekstrak etanol daun jati belanda mengandung flavonoid, saponin, dan tanin dengan kadar tinggi. Kandungan flavonoid daun jati belanda yaitu katekin, kamferol, prosianidin, dan tilirosida (Maldini *et al.*, 2013). Menurut Havsteen (2002), flavonoid dapat menghambat kerja enzim HMG-CoA reduktase yang berperan dalam sintesis kolesterol. Selain itu, tanin di dalam tubuh akan berikatan dengan protein tubuh dan akan melapisi dinding usus, sehingga penyerapan lemak terhambat dan terjadi

penurunan berat badan (Chung *et al.*, 2010). Oleh karena itu, pada penelitian ini perlu dilakukan pengukuran berat badan tikus.

Kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) secara tradisional juga digunakan untuk pengobatan hiperlipidemia. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sari *et al.* (2013), ekstrak air kelopak bunga rosella dengan dosis 45 mg/kg berat badan memiliki aktivitas penghambatan lipase paling baik dibandingkan dengan beberapa herbal antikolesterol di Indonesia. Adapun kandungan senyawa dalam kelopak bunga rosella adalah asam organik, flavonoid antosianin, dan glikosida kuersetin. Antosianin adalah senyawa aktif yang diduga memiliki efek antihiperlipidemia (Hopkins *et al.*, 2013).

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengungkapkan apakah kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella memiliki aktivitas antihiperlipidemia. Hal ini dikarenakan masing-masing ekstrak tersebut memiliki kandungan kimia berbeda dengan mekanisme kerja yang berbeda. Kandungan senyawa dalam ekstrak daun jati belanda diduga dapat menurunkan kadar kolesterol dengan menghambat enzim HMG-CoA reduktase, sehingga sintesis kolesterol akan terhambat (Havsteen, 2002), sedangkan kandungan senyawa dalam ekstrak kelopak bunga rosella menurunkan kadar kolesterol dengan menghambat enzim lipase (Sari *et al.*, 2013). Kombinasi kedua ekstrak tersebut memungkinkan efek komplementer dalam menurunkan kadar kolesterol, sehingga efektivitasnya akan lebih baik jika dibandingkan dengan penggunaan tunggal. Selain itu, kedua ekstrak tersebut mengandung senyawa flavonoid yang tinggi (Iswantini *et al.*, 2011; Hopkins *et al.*, 2013). Oleh karena itu, perlu dilakukan standarisasi flavonoid untuk mengetahui kadar flavonoid total pada kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antihiperlipidemia kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella. Tikus diinduksi dengan diet tinggi lemak dan propiltiourasil (PTU) yang dicampur dengan air minum tikus (Hasimun *et al.*, 2011; Sari *et al.*, 2013). Kondisi hiperlipidemia dan parameter

yang diukur untuk menentukan aktivitas antihiperlipidemia, antara lain kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan berat badan tikus. Pada penelitian ini digunakan kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan tiga perbandingan, yaitu perbandingan 3:1, 1:3, dan 1:1.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Apakah kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3, dan 1:1 memiliki aktivitas antihiperlipidemia terhadap tikus yang diinduksi dengan diet tinggi lemak dan propiltiourasil?
2. Apakah ada perbedaan aktivitas antihiperlipidemia kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3 dan 1:1?
3. Apakah kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3, dan 1:1 mampu menurunkan berat badan tikus yang diinduksi dengan diet tinggi lemak dan propiltiourasil?
4. Berapa kadar flavonoid total pada kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3, 1:1?

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk:

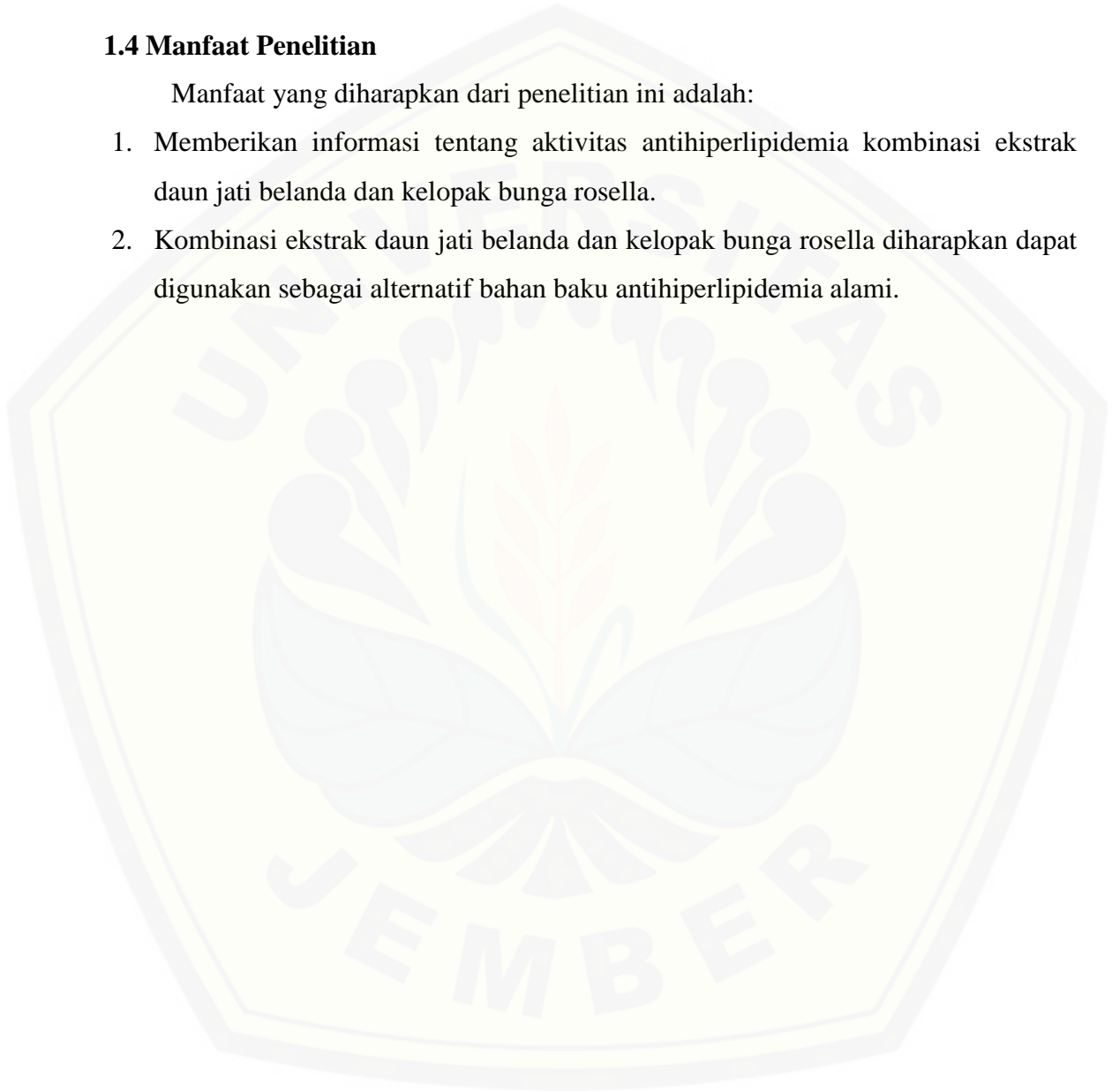
1. Menguji aktivitas antihiperlipidemia kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3 dan 1:1 terhadap tikus yang diinduksi dengan diet tinggi lemak dan propiltiourasil.
2. Mengetahui perbedaan aktivitas antihiperlipidemia kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3 dan 1:1.
3. Mengetahui kemampuan kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3, dan 1:1 dalam menurunkan berat badan tikus yang diinduksi dengan diet tinggi lemak dan propiltiourasil.

4. Mengetahui kadar flavonoid total pada kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3, dan 1:1.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi tentang aktivitas antihiperlipidemia kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella.
2. Kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella diharapkan dapat digunakan sebagai alternatif bahan baku antihiperlipidemia alami.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Jati Belanda

2.1.1 Klasifikasi Jati Belanda

Jati belanda merupakan tanaman herba termasuk familia Sterculiaceae yang berasal dari negara Amerika latin. Tanaman ini memiliki beberapa nama daerah antara lain jati belanda (Melayu) dan jati londo (Jawa). Sementara itu, nama-nama asingnya adalah *west indian elm*, *bastard cedar* (Inggris), *orme d'amerique* (Prancis), dan *guasima* (Meksiko) (Suharmiyati dan Maryani, 2003). Gambar daun jati belanda dapat dilihat pada Gambar 2.1. Berikut ini adalah klasifikasi dari tanaman jati belanda (Backer dan Brink, 1965):

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Viridiplantae
Divisi : Magnoliophyta
Subdivisi : Spermatophytina
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Malvales
Familia : Sterculiaceae
Genus : *Guazuma*
Species : *Guazuma ulmifolia* Lamk.



Gambar 2.1 Daun jati belanda (Sumber: pitchandikulam-herbarium.org)

2.1.2 Deskripsi Jati Belanda

Jati belanda adalah tanaman berbentuk semak atau pohon dengan tinggi 10 sampai 20 meter, percabangan ramping, masih termasuk dalam kelas Dicotyledonae dan dari suku Sterculiaceae. Tanaman ini memiliki nama daerah *orme d'amerique* (Prancis), *bartard cedar* (Inggris), *guasima* (Meksiko), jati belanda (Indonesia), jati londa, jati landi (Jawa). Tanaman ini memiliki bentuk daun bundar telur sampai lanset, panjang helai daun 4 cm sampai 22,5 cm, lebar 2-10 cm, pangkal menyerong berbentuk jantung, bagian ujung tajam, permukaan daun bagian atas berambut jarang, permukaan bagian bawah berambut rapat, panjang tangkai daun 5-25 mm, mempunyai daun penumpu berbentuk lanset atau berbentuk paku, panjang 3-6 cm. Perbungaan berupa mayang, panjang 2-4 cm, berbunga banyak, bentuk bunga agak ramping dan berbau wangi; panjang gagang bunga lebih kurang 5 mm; kelopak bunga lebih kurang 3 mm; mahkota bunga berwarna kuning, panjang 3-4 mm; tajuk terbagi dalam 2 bagian, berwarna ungu tua kadang-kadang kuning tua, panjang 3-4 mm; bagian bawah terbentuk garis panjang 2-2,5 mm; tabung benang sari berbentuk 5 mangkuk; bakal buah berambut, panjang buah 2-3,5 cm. Buah yang telah masak berwarna hitam (Depkes RI, 1979).

2.1.3 Kandungan dan Efek Farmakologi Jati Belanda

Secara tradisional jati belanda telah digunakan untuk menurunkan berat badan dan mengurangi kadar lemak yang berlebihan (Mardisiswojo, 1985). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Iswantini *et al.* (2011), ekstrak etanol jati belanda mengandung metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, steroid, dan tanin dengan kadar tinggi. Kandungan flavonoid daun jati belanda yaitu katekin, kamferol, prosianidin, dan tilirosida (Maldini *et al.*, 2013)

Ekstrak etanol daun jati belanda konsentrasi 60 mg/liter dapat menghambat aktivitas enzim lipase sebesar 25,13% secara *in vitro*, hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan orlistat konsentrasi 100 mg/liter yang menghambat aktivitas enzim lipase sebesar 17,53% (Iswantini *et al.*, 2011). Hasil penelitian yang dilakukan

oleh Sukandar *et al.* (2009) menunjukkan bahwa ekstrak air daun jati belanda dapat menurunkan kolesterol total dan LDL secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol. Demikian juga kombinasi ekstrak air daun jati belanda dengan ekstrak etanol rim pang kunyit dapat menurunkan kadar kolesterol total dan LDL secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol (Sukandar *et al.*, 2012). Daun jati belanda juga menunjukkan efek hepatoprotektif pada liver tikus albino yang diinduksi CCl₄ (Sharma *et al.*, 2013). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sari *et al.* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jati belanda dengan dosis 59,6 mg/kg berat badan memiliki aktivitas paling tinggi di antara beberapa herbal antikolesterol Indonesia dalam menurunkan kadar kolesterol pada tikus percobaan.

2.2 Tinjauan tentang Rosella

2.2.1 Klasifikasi Rosella

Rosella memiliki beberapa nama daerah antara lain; asam susur (Melayu), asam jarot (Sunda), dan kasturi roriha (Ternate) (Wijayakusuma, 2008). Gambar bunga rosella dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Bunga rosella (Sumber: plantamor.com)

Berikut ini adalah klasifikasi dari tanaman rosella (Backer dan Brink, 1965):

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Viridiplantae
Divisi : Magnoliophyta
Subdivisi : Spermatophytina
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Malvales
Familia : Malvaceae
Genus : *Hibiscus*
Species : *Hibiscus sabdariffa* L.

2.2.2 Deskripsi Rosella

Rosella merupakan herba tahunan yang bisa mencapai ketinggian 0.5-3 meter. Batangnya bulat, tegak, berkayu, dan berwarna merah. Daunnya tunggal, berbentuk bulat telur, pertulangan menjari, ujung tumpul, tepi bergerigi, pangkal berlekuk. Panjang daun 6-15 cm dan lebarnya 5-8 cm. Tangkai daun bulat berwarna hijau, dengan panjang 4-7 cm (Maryani, 2005)

Bunga rosella yang keluar dari ketiak daun merupakan bunga tunggal. Bunga ini mempunyai 8-11 helai kelopak yang berbulu, panjangnya 1 cm, pangkalnya saling berlekatan dan berwarna merah. Mahkota bunga berbentuk corong, terdiri dari 5 helaian, panjangnya 3-5 cm. Buahnya berebentuk kotak kerucut, berambut, terbagi menjadi 5 ruang, berwarna merah. Bentuk biji menyerupai ginjal, berbulu, dengan panjang 5 mm dan lebar 4 mm. Saat masih muda, biji berwarna putih dan setelah tua berubah menjadi abu-abu (Maryani, 2005).

2.2.3 Kandungan dan Efek Farmakologi Rosella

Tanaman rosella memiliki kandungan kimia antosianin, gossyptin, *glucoside hibicin*, vitamin A, vitamin C, asam amino, asam organik, dan polisakarida (Wijayakusuma, 2008). Sedangkan kelopak bunga rosella mengandung asam organik,

senyawa antosianin, flavonoid dan glikosida (Hopkins *et al.*, 2013). Ekstrak etanol kelopak bunga dan daun rosella mengandung polifenol dan flavanol (Ochani *et al.*, 2009). Sedangkan menurut Zarrabal *et al.* (2012) kelopak bunga rosella mengandung beberapa senyawa polifenol, asam organik, serta beberapa vitamin (Vitamin C, B1, B2, dan β karoten). Senyawa fenol yang terdapat dalam kelopak bunga rosella adalah senyawa fenol sederhana (asam protokatesuik dan eugenol) beberapa flavonoid (antosianin, antosianidin dan glikosida kuersetin).

Penelitian yang dilakukan oleh Aguilar *et al.* (2007) juga menunjukkan bahwa ekstrak air terstandar bunga rosella yang mengandung antosianin total 33,64 mg per 120 mg ekstrak dapat menurunkan berat badan mencit kegemukan secara signifikan. Kelopak bunga rosella memiliki kegunaan untuk menurunkan kolesterol tinggi, hipertensi, mencegah gangguan jantung, mencegah kanker, sariawan, dan sembelit (Wijayakusuma, 2008). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sari *et al.* (2013) ekstrak air kelopak bunga rosella dengan dosis 45 mg/kg berat badan memiliki aktivitas hambatan lipase paling tinggi di antara beberapa herbal antikolesterol Indonesia yang lain.

Berdasarkan hal tersebut, ekstrak etanol daun jati belanda dan ekstrak air kelopak bunga rosella mengandung senyawa flavonoid yang tinggi (Iswantini *et al.*, 2011; Hopkins *et al.*, 2013). Oleh karena itu, perlu dilakukan standarisasi flavonoid untuk mengetahui kadar flavonoid total pada kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella.

2.3 Tinjauan tentang Hiperlipidemia

Hiperlipidemia adalah kenaikan kadar lipid dan kolesterol di dalam darah atau juga dikenal dengan dislipidemia untuk menggambarkan manifestasi penyakit metabolisme lipoprotein yang berbeda. Hiperlipidemia merupakan salah satu faktor penyebab aterosklerosis. Meskipun elevasi kolesterol LDL dianggap sebagai indikator terbaik untuk risiko aterosklerosis, dislipidemia juga bisa ditemukan dengan adanya elevasi kolesterol total (hiperkolesterolemia), trigliserida (hipertrigliserida),

atau rendahnya kadar kolesterol HDL. Kelainan di dalam lipoprotein plasma dan gangguan metabolisme lipid merupakan faktor risiko yang paling kuat untuk aterosklerosis (Syamsudin, 2011).

Hiperlipidemia sering disebut juga sebagai hiperlipoproteinemia karena kandungan lemak yang merupakan senyawa nonpolar dan tidak larut dalam plasma darah dapat terangkut oleh adanya suatu protein (lipoprotein) (Lehninger, 1988). Klasifikasi hiperlipidemia dibagi menjadi dua kelompok yaitu hiperlipidemia primer dan hiperlipidemia sekunder. Hiperlipidemia primer dibagi dalam dua kelompok besar yaitu hiperlipoproteinemia monogenik karena kelainan gen tunggal yang diturunkan serta hiperlipoproteinemia yang dikarenakan gabungan faktor-faktor genetik dengan faktor lingkungan. Sedangkan hiperlipoproteinemia sekunder disebabkan oleh penyakit seperti diabetes melitus yang tidak terkontrol, hipotiroidisme, penyakit obstruksi hati, dan disproteinemia atau penggunaan obat-obatan seperti kortikosteroid, estrogen, endogen, diuretik, serta penghambatan adenoreseptor beta (Gunawan, 2012).

Adanya hiperlipidemia dapat dilihat dengan memeriksa nilai kolesterol total, trigliserida, lipoprotein yaitu kolesterol LDL dan kolesterol HDL (Suyatna, 2008). Penurunan kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, dan peningkatan kolesterol HDL dapat diikuti dengan penurunan berat badan (Murray *et al.*, 2003). Oleh sebab itu, perlu dilakukan pengukuran berat badan tikus sebagai data pendukung.

Klasifikasi kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan trigliserida dapat dilihat pada Tabel 2.1 menurut Dipiro *et al.* (2008). Semua nilai dalam miligram per desiliter. Prinsip utama pengobatan hiperlipidemia ialah mengatur diet yang mempertahankan berat badan normal dan mengurangi kadar lipid plasma. Kondisi hiperlipidemia dapat dicapai dengan adanya suatu penginduksi yang dapat meningkatkan kadar lipid plasma, seperti diet tinggi lemak dan propiltiourasil (Hasimun *et al.*, 2011). Sedangkan salah satu cara mengurangi kadar lipid plasma adalah dengan menggunakan obat-obat penghambat enzim lipase yaitu orlistat.

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

Jenis lipid	Kadar dalam darah (mg/dL)	Klasifikasi
Kolesterol total	<200	Normal
	200-239	Batas atas
	≥240	Tinggi
LDL	<100	Normal
	100-129	Mendekati normal
	130-159	Batas atas
	160-189	Tinggi
	≥190	Sangat tinggi
HDL	<40	Rendah
	≥60	Tinggi
Trigliserida	<150	Normal
	150-199	Batas atas
	200-499	Tinggi
	≥500	Sangat tinggi

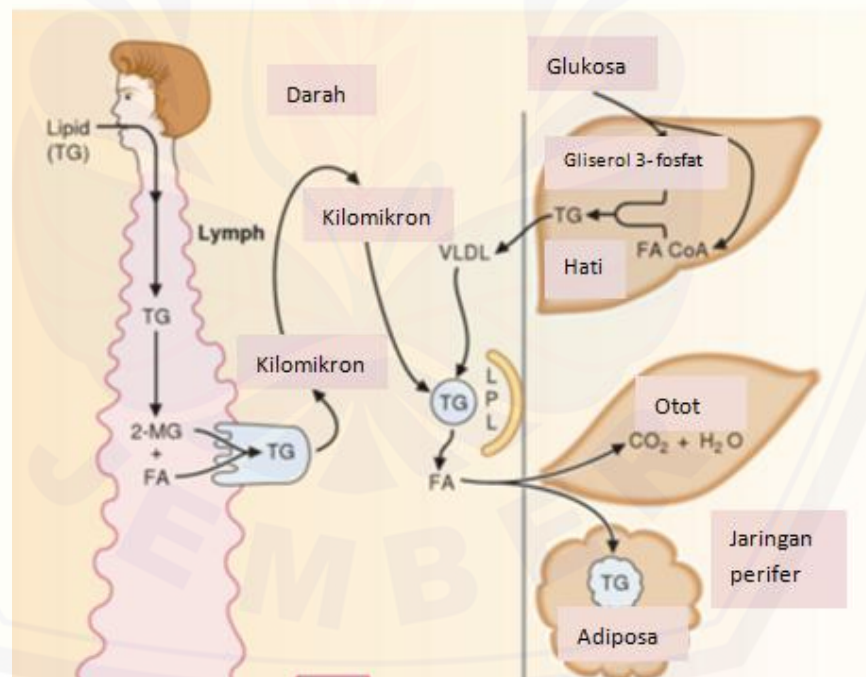
Sumber: Dipiro *et al.*, 2008

2.4 Tinjauan tentang Trigliserida

Trigliserida merupakan ester dari gliserol dengan tiga molekul asam lemak. Dari sudut kimia, trigliserida merupakan substansi yang terdiri dari gliserol yang mengikat gugus asam lemak (Lehninger, 1988). Fungsi utama dari trigliserida adalah sebagai lemak penyimpan. Pada adiposit atau sel lemak, sejumlah besar trigliserida disimpan sebagai tetes lemak yang mengisi hampir seluruh volume sel. *National Institutes of Health* (NIH) menyimpulkan bahwa ada hubungan antara peningkatan kadar trigliserida dengan kejadian kardiovaskuler (NIH Consensus Conference, 1993).

Trigliserida adalah lipid utama dalam makanan dan mengalami pencernaan dalam lumen usus. Trigliserida dalam usus dicerna menjadi asam lemak dan 2-monoasilgliserol oleh lipoprotein lipase sehingga dapat diserap oleh sel epitel usus dan akan diubah kembali menjadi trigliserida. Selanjutnya trigliserida masuk ke dalam darah sebagai kilomikron. Selama di dalam darah kilomikron dipecah oleh

lipoprotein lipase menjadi asam lemak yang disimpan dalam jaringan adiposa dan otot. Sisa kilomikron yang disebut kilomikron remnan diteruskan ke hati untuk dimetabolisme. Selain berasal dari makanan, trigliserida juga dapat disintesis di hati. Sintesis trigliserida berawal dari glukosa. Trigliserida asal hati diangkut dalam darah oleh lipoprotein VLDL yang selanjutnya dipecah oleh lipoprotein lipase sehingga menghasilkan IDL dan asam lemak yang disimpan dalam jaringan adiposa dan otot. IDL selanjutnya diubah menjadi LDL yang kaya akan kolesterol (Lieberman, 2013). Biosintesis dan metabolisme trigliserida dapat dilihat pada Gambar 2.3. Langkah yang paling menentukan dalam penyerapan lipid pada jaringan perifer adalah pemecahan lipid oleh lipoprotein lipase menjadi lipid yang lebih sederhana. Apabila lipoprotein lipase dihambat, maka pemecahan dan penyerapan kolesterol juga akan terhambat. Akibatnya, profil lipid dalam darah dan jaringan akan menurun.



Gambar 2.3 Biosintesis dan metabolisme trigliserida (TG: trigliserida; 2-MG: 2-monogliserida; FA: *fatty acid*; LPL; lipoprotein lipase; FA CoA: *fatty acid CoA*) (Sumber: Lieberman, 2013)

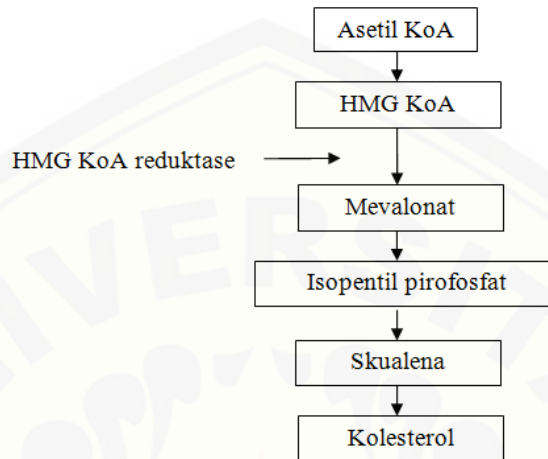
Mengonsumsi makanan yang mengandung lemak akan meningkatkan trigliserida di dalam darah dan cenderung meningkatkan kadar kolesterol. Tingginya kadar kolesterol dapat meningkatkan potensi terjadinya aterosklerosis (Katzung, 2002). Para ahli menegaskan bahwa peningkatan kadar trigliserida di dalam darah merupakan salah satu faktor risiko penyakit jantung koroner (Bangun, 2003). Oleh sebab itu, pengukuran kadar trigliserida dalam darah perlu dilakukan sebagai parameter untuk melihat adanya penyakit hiperlipidemia.

2.5 Tinjauan tentang Kolesterol

Kolesterol adalah salah satu jenis lemak yang secara alami terdapat dalam tubuh. Kolesterol dapat berasal dari metabolisme makanan berlemak dan hasil sintesis di hati. Kolesterol banyak terdapat dalam kuning telur, daging, hati, dan otak. Kolesterol mempunyai sifat sebagai lipid amfipatik yaitu sebagian molekulnya bersifat hidrofobik dan sebagian lagi bersifat hidrofilik. Kolesterol merupakan unsur penting dalam membran plasma dan lipoprotein yang seringkali ditemukan dalam bentuk kombinasi dengan asam lemak seperti kolesterol ester, dimana gugus hidroksil pada posisi 3 teresterifikasi dengan asam lemak rantai panjang. Dalam proses patologis, kolesterol merupakan faktor utama dalam pembentukan aterosklerosis pada arteri vital, yang dapat menyebabkan penyakit serebrovaskuler dan penyakit jantung koroner (Murray *et al.*, 2003).

Kolesterol disintesis di hati dari asetil KoA yang selanjutnya dikonversi menjadi 3-hidroksi-3-metilglutaril-KoA (HMG KoA) oleh enzim HMG KoA reduktase. HMG KoA diubah menjadi mevalonat yang dikonversi ke molekul berbasis isoprena yaitu, isopentenil pirofosfat (IPP). Selanjutnya isopentenil pirofosfat diubah menjadi skualen lalu dari skualen diubah menjadi kolesterol yang merupakan prekursor bagi pembentukan steroid dalam tubuh, meliputi kortikosteroid, hormon kelamin, asam empedu, dan vitamin D (Syamsudin, 2011). Skema sintesis kolesterol dapat dilihat pada Gambar 2.4. Langkah yang paling menentukan dalam sintesis kolesterol adalah pembentukan HMG KoA yang dikatalisis oleh HMG KoA

reduktase. Apabila HMG KoA reduktase dihambat maka pembentukan kolesterol juga terhambat, sehingga terjadinya aterosklerosis juga dihambat.



Gambar 2.4 Skema sintesis kolesterol (Sumber: Syamsudin, 2011)

Sintesis dan pemanfaatan kolesterol harus diatur secara ketat untuk mencegah akumulasi berlebih dan deposisi abnormal dalam tubuh. Secara klinis yang harus diatur ketat adalah deposisi abnormal kolesterol dan lipoprotein kaya kolesterol dalam arteri koroner. Deposisi tersebut dapat menyebabkan aterosklerosis yang merupakan faktor utama penyebab penyakit arteri koroner (Price, 1994). Kadar kolesterol dapat dipengaruhi oleh trigliserida yang merupakan komponen utama dari makanan berlemak. Mengonsumsi makanan berlemak dapat meningkatkan kadar trigliserida dan cenderung meningkatkan kadar kolesterol sehingga potensi penyakit aterosklerosis akan meningkat (Katzung, 2002).

Adapun beberapa faktor yang mempengaruhi kadar kolesterol dalam tubuh menurut Rajaratnam (2000), antara lain :

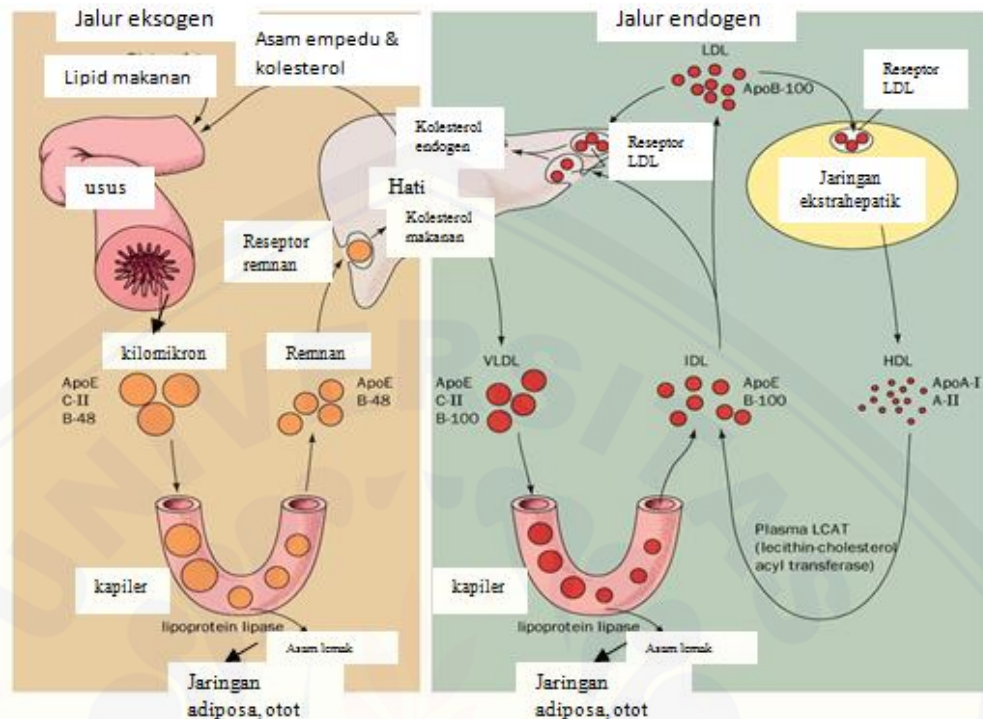
- Makanan yang mengandung kolesterol
- Absorpsi kolesterol di intestinal dan pembentukan lipoprotein
- Transpor kolesterol dari jaringan
- Pengambilan lipoprotein hepatic oleh reseptor
- Sintesis kolesterol hepatic

- f. Sekresi lipoprotein hepatic
- g. Sintesis asam empedu
- h. Pengambilan kolesterol oleh jaringan perifer
- i. Ekskresi bilier dan eliminasi kolesterol feses dan asam empedu.

2.6 Tinjauan tentang Lipoprotein

Lipoprotein adalah kompleks agregat lipid dan protein yang membuat lipid sesuai dengan lingkungan cairan tubuh serta membantu transportasi lipid ke seluruh tubuh (Syamsudin, 2011). Lipoprotein umumnya disintesis dalam hati dan usus, serta dimetabolisme dalam jalur yang berbeda yaitu jalur kilomikron, VLDL/IDL/LDL, dan jalur HDL (Loscalzo, 2005). Lipoprotein plasma dibagi menjadi lima kelas berdasarkan densitasnya atau kepadatannya, yaitu kilomikron ($d < 0.94$ g/ml), *very low density lipoprotein* (VLDL, $d = 0.94-1.006$ g/ml), *intermediate density lipoprotein* (IDL, $d = 1.006-1.019$ g/ml), *low density lipoprotein* (LDL, $d = 1.019-1.063$ g/ml), dan *high density lipoprotein* (HDL, $d = 1.063-1.210$ g/ml) (Syamsudin, 2011).

Secara umum lipid dalam tubuh memiliki banyak fungsi yang utama adalah sebagai sumber atau cadangan energi, melapisi, dan melindungi organ tubuh dan komponen dinding tiap sel tubuh. Lipid harus diserap terlebih dahulu dari usus kecil agar tubuh bisa menggunakan lipid yang terkandung di dalam makanan. Lipid yang terdapat dalam makanan akan diuraikan menjadi kolesterol, trigliserida, fosfolipid, dan asam lemak bebas pada saat dicerna dalam usus. Keempat unsur lemak ini akan diserap dari usus dan masuk ke dalam darah. Kolesterol dan unsur lemak lain tidak larut dalam darah. Agar dapat diangkut dalam aliran darah, kolesterol bersama dengan lemak-lemak lain (trigliserida dan fosfolipid) harus berikatan dengan protein untuk membentuk senyawa yang larut dan disebut dengan lipoprotein (Porth, 2011). Transpor lipid dan lipoprotein dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Transpor lipid dan lipoprotein (Sumber: Dipiro *et al.*, 2005)

Lipid dari makanan diangkut dalam darah oleh kilomikron, lalu dipecah oleh lipoprotein lipase menjadi asam lemak yang dapat diserap oleh jaringan adiposa dan otot. Sisa kilomikron diteruskan ke hati dan diubah menjadi kolesterol yang berasal dari makanan. Sedangkan lipid yang bersal dari hati diangkut oleh lipoprotein VLDL yang kaya akan trigliserida. Selanjutnya VLDL dikonversi oleh lipoprotein lipase menjadi IDL dan asam lemak sehingga dapat diabsorpsi oleh jaringan perifer. IDL dikonversi menjadi LDL dengan hilangnya trigliserida dan apo E. LDL akan membawa lipid menuju jaringan perifer dan hati yang dilepaskan sebagai kolesterol. Kelebihan kolesterol akan dibawa oleh lipoprotein HDL menuju ke hati untuk dimetabolisme lalu dieliminasi dari tubuh melalui feses (Katzung, 2002).

2.7 Tinjauan tentang LDL (*Low Density Lipoprotein*)

LDL merupakan lipoprotein pengangkut kolesterol terbesar pada manusia (70% total). Partikel LDL mengandung trigliserida sebanyak 10% dan kolesterol 50%. Jalur utama katabolisme LDL berlangsung lewat *receptor mediated endocytosis* di hati dan sel lain. Ester kolesterol dari inti LDL dihidrolisis menghasilkan kolesterol bebas untuk sintesis sel membran dan hormon steroid. Selain lewat proses endositosis, sel juga mendapat kolesterol dari sintesis kolesterol di hati (Gunawan, 2012).

LDL juga disebut sebagai lipoprotein beta dan merupakan sumber utama kolesterol yang terikat dengan apoprotein B. LDL ini bertugas menghantarkan kolesterol ke dalam tubuh melalui reseptor LDL yang ada di permukaan sel di jaringan ekstrahepatik. Setelah berikatan dengan reseptor, partikel LDL akan diambil oleh sel melalui endositosis. Melalui reseptor inilah kebutuhan kolesterol dari sel-sel tubuh akan terpenuhi. Adanya kenaikan kadar plasma LDL berkorelasi positif dengan kejadian aterosklerosis (Murray *et al.*, 2003). LDL juga mengalami oksidasi di dalam pembuluh darah dengan bantuan makrofag membentuk *foam cell*. Proses oksidasi ini memegang peranan penting dalam terbentuknya plak lemak pada pembuluh darah yang disebut aterosklerosis (Syamsudin, 2011). Kolesterol yang terkandung dalam LDL ini disebut kolesterol beta yang bersifat aterogenik. Tingginya kadar LDL berhubungan dengan kadar kolesterol yang tinggi sehingga meningkatkan risiko terjadinya aterosklerosis (Kamaludin, 1993).

2.8 Tinjauan tentang HDL (*High Density Lipoprotein*)

HDL disebut lipoprotein alfa dan kolesterol yang terikat di dalamnya dinamakan kolesterol alfa (HDL kolesterol) yang bersifat anti aterogenik atau faktor protektif. HDL mengandung 52 % protein dan 48 % lemak (17 % kolesterol dan 6 % trigliserida) dan terikat pada apoprotein A, C, D, dan E (Murray *et al.*, 2003). HDL memiliki komponen kolesterol paling sedikit jika dibandingkan dengan lipoprotein LDL yang mengandung banyak kolesterol. Lipoprotein ini disekresi oleh hati dan

usus. Sebagian besar lipid dalam HDL didapatkan dari permukaan satu lapis kilomikron dan VLDL selama proses lipolisis. HDL juga mendapatkan kolesterol dari jaringan ekstrahepatik. Kolesterol bebas tersebut kemudian diesterifikasi oleh *lecitin cholesterol acyltransferase* (LCAT) menjadi kolesterol ester, yang menyebabkan pembentukan spesies HDL yang lebih besar. Kolesterol ester ditransfer ke VLDL, IDL, LDL, dan kilomikron sisa dengan bantuan protein transfer ester kolesterol (CETP). Jadi, sebagian besar kolesterol ester yang ditransfer pada akhirnya dibawa ke hati untuk dimetabolisme dan diekskresikan melalui garam empedu (Katzung, 2002).

Efek protektif HDL diduga karena mengangkut kelebihan kolesterol dari perifer untuk dimetabolisme di hati dan menghambat modifikasi oksidatif LDL (Katzung, 2002). HDL mempunyai kandungan lemak lebih sedikit dan kepadatan tinggi sehingga lebih berat. Konsentrasi kolesterol pada HDL dan LDL adalah prediktor kuat untuk penyakit jantung koroner. Konsentrasi tinggi dari LDL dan konsentrasi rendah dari HDL sangat terkait dengan penyakit kardiovaskular karena berisiko tinggi terkena aterosklerosis (Murray *et al.*, 2003). Kadar HDL dapat meningkat pada hiper alfa lipoproteinemia familier, penurunan berat badan, olahraga teratur, berhenti merokok, pemberian obat-obatan seperti estrogen, asam nikotik, alkohol, dan heparin. Sedangkan kadar HDL menurun pada kegemukan, perokok, pasien diabetes yang tidak terkontrol dan pada pemakai kombinasi estrogen-progestin (Gunawan, 2012).

2.9 Tinjauan tentang Propiltiourasil

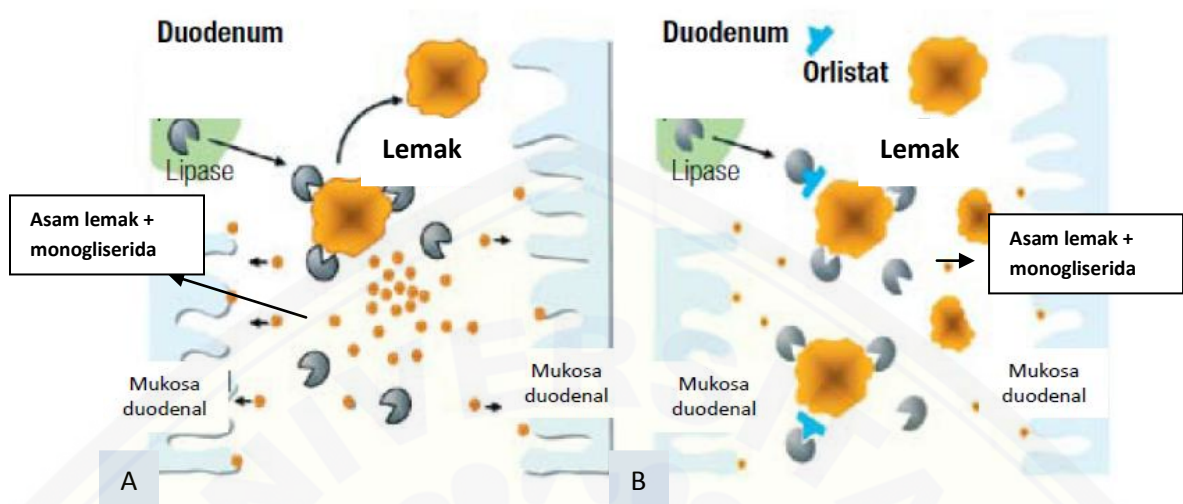
Propiltiourasil adalah agen antitiroid yang digunakan untuk terapi hipertiroidisme. Mekanisme aksi propiltiourasil adalah menghambat hormon tiroid dengan memblok oksidasi iodin pada kelenjar tiroid, serta memblok sintesis tiroksin dan triiodotironin (American Pharmacist Association, 2008). Menurut Kutty *et al.* (1978) kondisi hipotiroidisme diikuti dengan hiperkolesterolemia dengan peningkatan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, dan trigliserida dalam serum darah. Propiltiourasil dapat meningkatkan kadar lipid dalam darah dengan cara mengambat

proses penggabungan iodium pada residu tirosil dari triglobulin dan juga menghambat penggabungan residu dari iodotirosil untuk membentuk iodotironin, sehingga menyebabkan penurunan sintesis dan ekspresi reseptor kolesterol LDL di hati dan meningkatkan kadar kolesterol, fosfolipid, dan trigliserida darah (Ganiswara, 2008).

2.10 Tinjauan tentang Orlistat

Orlistat merupakan obat sintetik turunan lipstatin, suatu inhibitor alami lipase yang diproduksi oleh *Streptomyces toxytrincini*. Orlistat merupakan obat penurunan berat badan yang bekerja secara lokal pada sistem pencernaan. Mekanisme kerja orlistat yaitu memblokir absorpsi lemak dengan menghambat enzim lipase di saluran cerna dan pankreas. Penghambatan enzim lipase dapat meningkatkan ekskresi lemak dalam feses (Dipiro *et al.*, 2008). Orlistat berikatan secara kovalen dengan sisi aktif dari enzim lipase dan membentuk kompleks yang stabil. Kompleks ini menginduksi perubahan konformasi pada enzim tersebut. Hal ini menyebabkan asilasi gugus hidoksil pada residu serin sehingga menyebabkan enzim ini menjadi inaktif. Enzim lipase yang tidak aktif tidak dapat untuk menghidrolisis lemak menjadi asam lemak dan monogliserida sehingga lebih sulit diabsorpsi dan keluar bersama feses (Al-Suwailem *et al.*, 2006). Gambar mekanisme kerja orlistat dapat dilihat pada Gambar 2.6.

Selama penggunaan orlistat kemungkinan terjadi efek samping seperti sakit pada perut, diare dan flatulensi. Orlistat dikontraindikasikan pada pasien dengan sindrom malabsorpsi, kolestasis, ibu menyusui dan tidak direkomendasikan untuk ibu yang sedang hamil. Orlistat tidak direkomendasikan untuk diresepkan bersama dengan obat golongan fibrat, acarbose atau metformin. (Dipiro *et al.*, 2005).



Gambar 2.6 Mekanisme kerja orlistat (A: pemecahan dan penyerapan lemak tanpa orlistat; B: pemecahan dan penyerapan lemak dengan orlistat (Diadaptasi dari Coutinho, 2009).

Adanya orlistat dapat menghambat pemecahan lemak oleh lipase, sehingga menyebabkan rendahnya jumlah asam lemak dan monogliserida yang terbentuk dan terserap oleh mukosa usus. Sedangkan tidak adanya orlistat, lipase akan dengan mudah memecah lemak sehingga menyebabkan tingginya jumlah asam lemak dan monogliserida yang terbentuk dan terserap oleh mukosa usus. Hal ini dapat meningkatkan profil lipid dalam darah.

2.11 Tinjauan tentang Obat-Obat untuk Hiperlipidemia

Obat-obat untuk terapi hiperlipidemia dapat diklasifikasikan menjadi lima golongan, yaitu:

- a. Penghambat kompetitif reduktase HMG-KoA (penghambat reduktase)

Senyawa penghambat Ko-enzim A reduktase ini merupakan analog struktural dari HMG KoA (3-hidroksi-3-metilglutaril-KoA). Obat yang pertama dari golongan tersebut adalah *compactin*. Kongener penting pertama secara klinis adalah lovastatin. Atorvastatin, cerivastatin, fluvastatin, pravastatin, dan simvastatin merupakan obat yang serupa. Obat golongan ini dapat menurunkan kadar LDL, kolesterol, sedikit trigliserida, dan meningkatkan sedikit HDL dalam

plasma. Mekanisme kerja obat ini yaitu memblok sintesis kolesterol dalam hati (Katzung, 2002)

b. Niacin (asam nikotinat)

Niacin adalah suatu vitamin yang larut dalam air (vitamin B3). Niacin dapat menurunkan kadar LDL dan VLDL dalam plasma pada pasien dengan berbagai macam jenis hiperlipidemia. Cara kerja niacin yang utama diduga melibatkan penghambatan sekresi VLDL yang selanjutnya menurunkan produksi LDL. Penurunan produksi apoprotein VLDL telah dibuktikan. Peningkatan klirens VLDL melalui jalur lipase telah berperan serta pada efek penurunan trigliserida dalam plasma (Katzung, 2002).

c. Turunan asam fibrat

Fibrat akan menyebabkan penurunan ringan pada LDL (sekitar 10%) dan peningkatan HDL (sekitar 10%). Sebaliknya fibrat akan menyebabkan penurunan yang bermakna pada trigliserida plasma (sekitar 30%). Fibrat bekerja sebagai ligan untuk reseptor transkripsi nukleus, reseptor alfa peroksisom yang diaktivasi proliferasi (PPAR- α , *peroksisome proliferasi-activated receptor alpha*) dan menstimulasi aktivitas lipoprotein lipase. Gemfibrosil dan fenofibrate adalah kongener asam fibrat generasi pertama turunan clofibrate (Katzung, 2002).

d. Resin pengikat asam empedu

Resin menurunkan kadar kolesterol dengan cara mengikat asam empedu dalam saluran cerna, mengganggu sirkulasi enterohepatik sehingga ekskresi steroid yang bersifat asam dalam tinja meningkat. Penurunan kadar asam empedu ini oleh pemberian resin akan menyebabkan meningkatnya produksi asam empedu yang berasal dari kolesterol. Karena sirkulasi enterohepatik dihambat oleh resin maka kolesterol yang diabsorpsi lewat saluran cerna akan terhambat dan keluar bersama tinja (Suyatna, 2008). Colestipol dan *cholestyramine* merupakan contoh obat pada golongan ini. Keduanya mengikat asam empedu pada lumen usus dan mencegah absorpsi kembali (Katzung, 2002).

Penggunaan obat-obat tersebut dapat menimbulkan efek samping yang tidak dapat dibiarkan begitu saja. Misalnya, obat golongan statin yang memiliki efek samping seperti *miopati*, serta *rabdomiolisis* karena terjadi disfungsi ginjal (Syamsudin, 2011). Oleh karena itu perlu dicari obat alternatif dari bahan alam yang kemungkinan memiliki aktifitas farmakologi lebih baik dengan efek samping yang minimal.



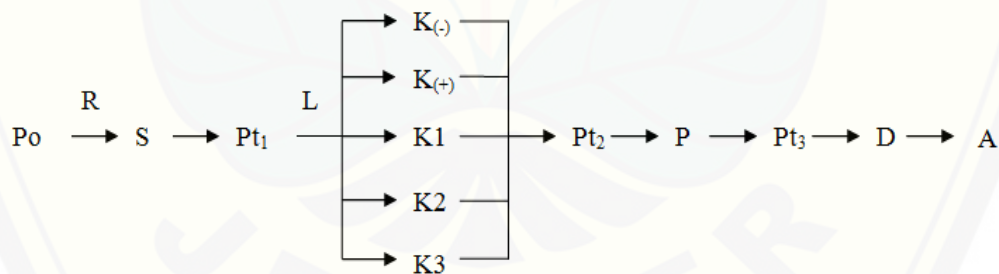
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental laboratories*. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh yang timbul akibat suatu perlakuan tertentu.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah *pretest-posttest with control group*. Rancangan penelitian ini terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pengelompokan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan berdasarkan acak terhadap 25 ekor tikus jantan yang terbagi menjadi 5 kelompok. Selanjutnya dilakukan *pretest* pada kelompok tersebut dan diikuti dengan pemberian perlakuan pada kelompok perlakuan. Setelah beberapa waktu dilakukan *posttest* pada kedua kelompok tersebut. Gambar rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1. Secara skematis rancangan penelitian adalah sebagai berikut :



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

Po = Populasi tikus

R = Pengelompokan tikus secara *simple random sampling*

S = Sampel

- Pt₁ = Pengambilan darah dan pengukuran berat badan sebelum pemberian diet lemak tinggi
- L = Tikus diinduksi pakan tinggi lemak dan propiltiourasil
- K₍₊₎ = Kelompok kontrol positif dengan pemberian orlistat
- K₍₋₎ = Kelompok kontrol negatif dengan pemberian CMC Na
- K1 = Kelompok perlakuan dengan pemberian kombinasi ekstrak jati belanda dan rosella perbandingan 3:1
- K2 = Kelompok perlakuan dengan pemberian kombinasi ekstrak jati belanda dan rosella perbandingan 1:3
- K3 = Kelompok perlakuan dengan pemberian kombinasi ekstrak jati belanda dan rosella perbandingan 1:1
- Pt₂ = Pengambilan darah dan pengukuran berat badan setelah pemberian diet lemak tinggi.
- P = Pemberian orlistat pada kelompok kontrol positif, CMC Na pada kelompok kontrol negatif, dan ekstrak pada kelompok perlakuan.
- Pt₃ = Pengambilan darah dan pengukuran berat badan setelah pemberian perlakuan.
- D = Data
- A = Analisis

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember mulai bulan Maret 2015.

3.4 Subyek Uji dan Jumlah Subyek

3.4.1 Subyek Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan galur Wistar dengan umur 2 bulan, sehat, dan memiliki berat 100 - 150 gram.

3.4.2 Jumlah Subyek Uji

Estimasi jumlah subjek uji yang digunakan dalam penelitian ini dapat dihitung menggunakan rumus Federer, yaitu:

$$(p - 1)(n - 1) \geq 15 : \{(p - 1)(n - 1)\} \geq 15$$

Keterangan :

n: jumlah subyek uji

p : jumlah kelompok kontrol dan perlakuan

jika, $p = 5$

maka, $\{(5 - 1)(n - 1)\} \geq 15$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$n \geq 4,75$$

Pada penelitian ini jumlah kelompok kontrol dan perlakuan adalah 5 kelompok, masing masing kelompok sebanyak 5 ekor tikus. Jadi jumlah subyek uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 25 ekor tikus.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat-alat gelas, *grinder mixer* (Orsatti Single Phase Motor) , *Rotary evaporator* (Laborota 4000-efficient), oven (memmert), panci infus, termometer, kompor gas, *freeze dryer* (Zirbus VacO 5-II-D), alumunium foil, spatula, timbangan analitik (Pioneer™ OHAUS), timbangan tikus, *microtube*, sentrifus (Hettich Zentrifugen), mikropipet (Socorex), *stopwatch*, spektrofotometer (Biolyzer 100), kandang tikus, botol minum tikus, mortir, stamper, dan masker.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jati belanda, kelopak bunga rosella, pakan tikus BR2, etanol 95%, CMC Na, Tween (Brataco), lemak babi, kuning telur puyuh, propiltiourasil (didapatkan dari PT Roche Indonesia), orlistat (Xenical®), akuades (Aquadm Brataco) *yellow tip*, *blue tip*, sarung tangan, spuit

injeksi oral 5 mL (One Med), *Cholesterol assay kit*, *Triglyceride FS*, LDL dan HDL *precipitant*.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun jati belanda dan ekstrak rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3, dan 1:1 yang akan diberikan.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan berat badan tikus.

3.6.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dari penelitian ini adalah metode ekstraksi, pakan dan minum tikus, volume dosis perlakuan, waktu perlakuan, galur tikus, umur tikus, jenis kelamin tikus, kondisi lingkungan, lamanya pengkondisian sebelum pengujian, jalur pemejanaan dari senyawa uji.

3.7 Definisi Operasional

Berikut definisi operasional dari penelitian ini :

- a. Daun jati belanda dikumpulkan dari daerah Kabupaten Banyuwangi. Daun yang digunakan adalah daun tua dan daun muda yang berasal dari pohon berumur 5 sampai 7 tahun. Daun jati belanda dipanen pada bulan Januari. Terlampir surat keterangan identifikasi tumbuhan dari UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan nomor surat: No.1608/IPH.06/HM/XI/2015.
- b. Kelopak bunga rosella berasal dari daerah Kabupaten Jember. Bunga yang digunakan adalah bunga yang sudah berwarna merah dan tua yang berasal dari tanaman berumur 7 sampai 8 bulan. Bunga rosella dipanen pada bulan

Februari. Terlampir surat keterangan identifikasi tumbuhan dari UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan nomor surat: No.1608/IPH.06/HM/XI/2015.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Ekstraksi Daun Jati Belanda

Daun jati belanda dicuci bersih menggunakan air lalu dikeringkan pada oven dengan suhu 50°C. Daun jati belanda yang sudah kering dipotong dadu kecil lalu dihaluskan dengan *grinder mixer* hingga diperoleh serbuk daun jati belanda. Serbuk kering yang diperoleh selanjutnya ditimbang sejumlah yang diperlukan lalu dimaserasi dengan etanol 95% selama 24 jam dengan sesekali pengadukan. Ekstrak maserasi kemudian disaring, lalu residu (ampas) diremaserasi menggunakan etanol 95% selama 24 jam. Setelah 24 jam disaring, filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C sehingga dihasilkan ekstrak kental daun jati belanda (Sari *et al.*, 2013).

3.8.2 Ekstraksi Kelopak Bunga Rosella

Kelopak bunga rosella dicuci bersih menggunakan air lalu dikeringkan pada oven dengan suhu 50°C. Kelopak bunga rosella yang sudah kering dipotong dadu kecil lalu dihaluskan dengan *grinder mixer* hingga diperoleh serbuk daun jati belanda. Serbuk kering yang diperoleh selanjutnya ditimbang sejumlah yang diperlukan lalu diekstraksi dengan memanaskan serbuk kelopak bunga rosella pada suhu 90°C selama 15 menit dalam pelarut air hingga diperoleh konsentrasi 10% (Depkes RI, 1995). Setelah itu disaring, filtrat dikeringkan menggunakan *freeze dryer*.

3.8.3 Aklimatisasi dan Pengelompokan Hewan Uji

Aklimatisasi adalah penyesuaian terhadap lingkungan. Lingkungan yang baik adalah dengan suhu ruang untuk hewan percobaan adalah 22°C ($\pm 3^\circ\text{C}$). Suhu ruang kandang hewan uji pada penelitian ini kurang lebih 25°C ($\pm 3^\circ\text{C}$). Aklimatisasi

dilakukan selama 5 hari dengan dilakukan pemuasaan (tidak diberikan makanan tapi tetap diberikan minum) selama semalam sebelum dilakukan pemejanaan terhadap hewan uji dan hewan uji dapat diberikan makan lagi 3-4 jam setelah pemejanaan. Tujuan dari aklimatisasi agar hewan uji dalam kondisi yang stabil, telah mengenal lingkungan untuk percobaan dan tidak ada stres yang mungkin dapat mempengaruhi penelitian yang dilakukan. Pemuasaan dilakukan untuk mengurangi pengaruh makanan terhadap pemejanaan bahan uji.

Hewan uji dipilih secara acak, dilakukan penandaan untuk memudahkan identifikasi dan kemudian dikelompokkan. Hewan uji diberi diet lemak tinggi (terdiri dari 80% pakan pelet, 15 % lemak babi, dan 5% kuning telur puyuh) dan minum larutan propiltiourasil (PTU). Pemberian pakan diet lemak tinggi dan larutan PTU dilakukan selama 75 hari. Pemejanaan ekstrak dilakukan mulai hari ke-61 hingga hari ke-75.

3.8.4 Pembuatan Pakan Tinggi Lemak

Hewan uji diberi diet tinggi lemak dengan komposisi pakan pelet (80%), lemak babi (15%), dan kuning telur puyuh (5%). Pakan tinggi lemak dibuat dengan cara mencampur sampai homogen pakan pelet, lemak babi, dan kuning telur puyuh (Sari *et al.*, 2013). Pakan yang sudah jadi ditimbang, selanjutnya diberikan kepada hewan uji. Berdasarkan hasil orientasi, jumlah konsumsi pakan setiap harinya adalah maksimum sebesar 25 g/ekor tikus.

3.8.5 Pembuatan Larutan Propiltiourasil 0,01%

Hewan uji diberi minum larutan propiltiourasil dengan konsentrasi 0,01%. Larutan minum propiltiourasil dibuat dengan cara melarutkan propiltiourasil dalam akuades hingga konsentrasi 0,01% (Hasimun *et al.*, 2011). Larutan minum PTU yang sudah jadi diukur, selanjutnya diberikan kepada hewan uji. Berdasarkan hasil orientasi, jumlah konsumsi minum setiap harinya adalah maksimum sebesar 20 ml/ekor tikus.

3.8.6 Pembuatan Suspensi Kombinasi Ekstrak Daun Jati Belanda dan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella pada Tingkat Perbandingan Tertentu

a. Pembuatan CMC Na 0,5%

CMC Na 0,5 % dibuat dengan menimbang 1 gram CMC Na kemudian dikembangkan menggunakan akuades hangat pada suhu 70°C sejumlah 20 kali beratnya. Setelah CMC Na mengembang lalu digerus dengan ditambahkan akuades hingga volume 200 ml dengan menggunakan labu takar.

b. Pembuatan sediaan suspensi kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella

Suspensi kombinasi ekstrak daun jati belanda dan ekstrak kelopak bunga rosella dibuat dengan mencampurkan kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella pada berbagai perbandingan (3:1, 1:3, 1:1) dengan pelarut CMC Na 0,5 % dan tween 1% dari sediaan uji. Dosis jati belanda yang digunakan adalah 59,6 mg/kg berat badan serta dosis rosella adalah 45 mg/kg berat badan (Sari *et al.*, 2013).

Perhitungan stok untuk sediaan yang akan dibuat:

Perhitungan dosis jati belanda:

$$\text{Dosis} = 59,6 \text{ mg/kg BB}$$

Misal berat badan tikus adalah 300 gram, maka:

$$\text{Dosis} = \frac{59,6 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{300 \text{ g}}$$

$$x = 17,88 \text{ mg}$$

Perhitungan dosis rosella:

$$\text{Dosis} = 45 \text{ mg/kg BB}$$

Misal berat badan tikus adalah 300 gram, maka:

$$\text{Dosis} = \frac{45 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{300 \text{ g}}$$

$$x = 13,50 \text{ mg}$$

Pembuatan sediaan ekstrak perbandingan 3:1

Jati belanda = $17,88 \text{ mg} \times 3 = 53,64 \text{ mg}$ ekstrak

Rosella = $13,50 \text{ mg} \times 1 = 13,50 \text{ mg}$ ekstrak

Untuk tikus dengan berat badan 300 g diberi sediaan sebanyak 2 ml.

Pembuatan sediaan ekstrak perbandingan 1:3

Jati belanda = $17,88 \text{ mg} \times 1 = 17,88 \text{ mg}$ ekstrak

Rosella = $13,50 \text{ mg} \times 3 = 40,50 \text{ mg}$ ekstrak

Untuk tikus dengan berat badan 300 g diberi sediaan sebanyak 2 ml.

Pembuatan sediaan ekstrak perbandingan 1:1

Jati belanda = $17,88 \text{ mg} \times 2 = 35,76 \text{ mg}$ ekstrak

Rosella = $13,50 \text{ mg} \times 2 = 27 \text{ mg}$ ekstrak

Untuk tikus dengan berat badan 300 g diberi sediaan sebanyak 2 ml.

3.8.7 Uji Aktivitas Antihiperlipidemia

Penelitian terhadap tikus hiperlipidemia menggunakan rancangan acak pola searah dengan 5 kelompok perlakuan dan masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus.

Pembagian kelompok hewan uji sebagai berikut:

Kelompok I : diberi pakan diet lemak tinggi (DLT) dan air minum PTU serta perlakuan Na CMC 0,5% (po)

Kelompok II : diberi pakan DLT dan air minum PTU serta perlakuan orlistat dosis 10,9 mg/kgBB (po)

Kelompok III : diberi pakan DLT dan air minum PTU serta perlakuan kombinasi ekstrak daun jati belanda dan ekstrak kelopak bunga rosela 75%:25% (po)

Kelompok IV : diberi pakan DLT dan air minum PTU serta perlakuan kombinasi ekstrak daun jati belanda dan ekstrak kelopak bunga rosela 25%:75% (po)

Kelompok V : diberi pakan DLT dan air minum PTU serta perlakuan kombinasi ekstrak daun jati belanda dan ekstrak kelopak bunga rosela 50%:50% (po)

Pemberian pakan diet lemak tinggi dan larutan PTU dimulai pada hari ke-0 hingga hari ke-75 sedangkan pemejanaan ekstrak dilakukan mulai hari ke-61 hingga hari ke-75. Sampling darah dan pengukuran berat badan dilakukan pada hari ke-0, 60, dan 75 (Sari *et al.*, 2013). Data berat badan selanjutnya dihitung penurunan berat badan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Penurunan berat badan: } \frac{(\text{BB hari ke-75} - \text{BB hari ke-60}) \text{ gram}}{\text{BB hari ke-60}} \times 100\%$$

3.8.8 Preparasi Serum

Darah tikus diambil melalui vena mata. Sebelum dilakukan pengambilan darah, tikus dipuaskan terlebih dahulu selama 12-16 jam namun tetap diberi minum. Darah tikus diambil sebanyak 1,5 ml dan didiamkan selama 15 menit lalu disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 5-10 menit. Kemudian diambil bagian yang jernih dengan hati-hati untuk dianalisis selanjutnya.

3.8.9 Prosedur Pengukuran Kadar Lemak Darah

Pengukuran kadar lemak dalam darah dilakukan dengan menggunakan *Cholesterol assay kit*, *Triglyseride assay kit*, *LDL precipitant*, *HDL precipitant*. Pengukuran ini dilakukan pada hari ke 0, 30, dan 45.

a. Kadar kolesterol

Diambil 10 µl serum kemudian dimasukkan reagen *Cholesterol FS 1000* µl, dicampur, kemudian inkubasi pada suhu kamar selama 10 menit, kemudian diukur dengan alat *Biolzyer 100*, dicatat *output* nilai kadar kolesterol yang tercatat pada alat.

b. Kadar trigliserida

Diambil 10 µl serum kemudian dimasukkan reagen *Trigliserides FS 1000* µl, dicampur, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit, kemudian diukur dengan alat *Bioalyzer 100*, dicatat *output* nilai kadar trigliserida yang tercatat pada alat.

c. Kadar LDL

Diambil 50 µl serum kemudian dimasukkan reagen LDL *Precipitant 500* µl, disentrifus selama 10 menit 4.000 rpm, kemudian diambil 100 µl supernatannya dan ditambahkan 1000 µl reagen *Cholesterol FS*, inkubasi pada suhu kamar selama 10 menit, kemudian diukur dengan alat *Bioalyzer 100*, dicatat *output* nilai kadar kolesterol yang tercatat pada alat.

Data kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL selanjutnya dihitung penurunannya menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Penurunan kadar: } \frac{(\text{kadar hari ke-60} - \text{kadar hari ke-75}) \text{ mg/dl}}{\text{kadar hari ke-60}} \times 100\%$$

d. Kadar HDL

Diambil 100 µl serum kemudian dimasukkan reagen HDL *Precipitant 250* µl, disentrifus selama 10 menit 4.000 rpm, kemudian diambil 100 µl supernatannya dan ditambahkan 1000 µl reagen *Cholesterol FS*, inkubasi pada suhu kamar selama 10 menit, kemudian diukur dengan alat *Bioalyzer 100*, dicatat *output* nilai kadar kolesterol yang tercatat pada alat.

Data kadar HDL selanjutnya dihitung peningkatannya menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Peningkatan kadar: } \frac{(\text{kadar hari ke-75} - \text{kadar hari ke-60}) \text{ mg/dl}}{\text{kadar hari ke-60}} \times 100\%$$

3.8.10 Analisis Flavonoid

Kandungan total senyawa flavonoid ditentukan berdasarkan metode kolorimetri yang mengacu pada Chang *et al.* (2002) dan dihitung berdasarkan standar kuersetin. Metode penelitian ini telah dioptimasi oleh Wahyudi (2015). Larutan sampel ekstrak dipipet sebanyak 150 μL ditambahkan dalam 400 μL akuades. Kemudian ditambahkan dengan 30 μL NaNO_2 5% (b/v) dan 30 μL AlCl_3 10% (v/v). Setelah 6 menit, ditambahkan 200 μL NaOH 1 M dan 240 μL akuades, lalu dicampur menggunakan *vortex*. Absorbansi campuran diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm. Total flavonoid masing-masing kombinasi ekstrak ditentukan dalam mg QE per gram ekstrak menggunakan persamaan dari kurva standar kuersetin. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali replikasi.

3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian berupa kadar lemak (kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL dan kolesterol LDL). Data kolesterol total dan LDL diuji dengan uji parametrik *ANOVA*, sedangkan data trigliserida, HDL, dan berat badan diuji dengan uji non-parametrik *Kruskal Wallis*. Jika pada uji *ANOVA* dan *Kruskal Wallis* menghasilkan nilai $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan analisis *Post-Hoc* yaitu LSD untuk *ANOVA* dan *Mann-Whitney* untuk *Kruskal Wallis*.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil uraian pembahasan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan dosis 3:1, 1:3, dan 1:1 mampu menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL, serta meningkatkan kadar HDL dalam plasma.
2. Kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3 dan 1:1 memiliki kemampuan yang sama dalam penurunan kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL. Namun, hanya kelompok 1:1 yang memiliki peningkatan kadar HDL paling tinggi dan berbeda signifikan dengan semua kelompok.
3. Kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3, dan 1:1 tidak dapat menurunkan berat badan secara signifikan.
4. Kadar flavonoid total pada kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan 3:1, 1:3, dan 1:1 berturut-turut adalah 1,70; 0,80; dan 1,18 %.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah perlu penelitian lebih lanjut terkait mekanisme dalam aktivitas antihiperlipidemia kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar, F. J. A., Zamilpa, A., Garcia, M. D. P., Perez, J. C. A., Nuñez, E. R., Sepulveda, E. A. C., Carrillo, L. I. V., dan Ramosa, R. R. 2007. Effect of *Hibiscus sabdariffa* on Obesity in MSG Mice. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 114: 66–71.
- Al-Suwailem, K., Al-Tamimi A. S., Al-Omar, M. A., dan Al-Suhbani, M. S. 2006. Safety and Mechanism of Action of Orlistat (Tetrahydrolipstatin) as the First Local Antiobesity Drug. *Journal of Applied Sciences Research*. Vol. 2(4): 205-208.
- American Pharmacist Association. 2008. *Drug Information Handbook: A Comprehensive Resource for all Clinicians and Healthcare Professionals*. USA: Lexicomp.
- Backer, dan Van B. D. B. 1965. *Flora Of Java*. Groningen: N.V.P. Noordhoff.
- Bangun, A. P. 2005. *Terapi Jus & Ramuan Tradisional untuk Kolesterol*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Batubara, I., Kotsuka, S., Yamauchi, K., Kuspradini, H., Mitsunaga, T., dan Darusman, L. K. 2012. TNF- α Production Inhibitory Activity, Phenolic, Flavonoid and Tannin Contents of Selected Indonesian Medicinal Plants. *Research Journal of Medicinal Plant*. Vol. 6(6): 406-415.
- Besral. 2010. *Pengolahan dan Analisa Data-1 Menggunakan SPSS*. Depok: Departemen Biostatistika Fakultas Kesehatan Masyarakat UI.
- Chang, Kim, Hwang, Choi, Ahn, Lee, dan Park. 2002. Antioxidant Activity and Free Radical Scavenging Capacity Between Korean Medicinal Plants and Flavonoids by Assay-Guided Comparison. *Plant Sciences*. Vol. 163: 1161-1168.
- Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C. I., Huang, Y. W., dan Lin, Y. 2010. Tannins and Human Health: A Review. *Food Sciences and Nutrition*. Vol. 38: 421-464.
- Coutinho, W. 2009. The First Decade of Sibutramine and Orlistat: A Reappraisal of their Expanding Roles in The Treatment of Obesity and Associated Conditions. *Arq Bras Endocrinol Metab*. Vol. 53(2): 262-270.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid 3. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi 4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Desmiaty, Y., dan Alatas, F. 2008. Determination of Quercetin in *Hibiscus sabdariffa* L. Calyces by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Proceeding of The International Seminar on Chemistry*. Vol. 1: 385-388
- Dipiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, dan Posey. 2005. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. New York: Mc Graw Hill.
- Dipiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, dan Posey. 2008. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. New York: Mc Graw Hill.
- Ditjen Binfar. 2006. *Pharmaceutical Care untuk Pasien Penyakit Jantung Koroner: Fokus Sindrom Koroner Akut*. Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Klinik dan Komunitas.
- Ganiswara, G. S. 2008. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi kelima. Jakarta: Balai Penerbit FK UI.
- Gunawan, S. G. 2012. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5 Cetak Ulang dengan Tambahan. Jakarta : Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Hasimun, P., Sukandar, E. Y., Adnyana, dan Tjahjono, D. H. 2011. Simple Methode for Screening Antihyperlipidemia. *International Journal Pharmacology*. Vol. 7(1): 74-78.
- Havsteen, B. H. 2002. The Biochemistry and Medical Significance of the Flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*. Vol. 96: 67-202.
- Hopkins, A. L., Lamm, M. G., Funk, J. L., dan Ritenbaugh, C. 2013 *Hibiscus sabdariffa* L. in the Treatment of Hypertension and Hyperlipidemia: A Comprehensive Review of Animal and Human Studies. *Fitoterapia*. Vol. 85: 84-94
- Iswantini, D., Silitonga, R. F., Martatilofa, E., dan Darusman, L. K. 2011. *Zingiber cassumunar*, *Guazuma ulmifolia*, and *Murraya paniculata* Extracts as Antiobesity: In Vitro Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity. *HAYATI Journal of Biosciences*. Vol. 18(1): 6-10.

- Kamaludin, T. M. 1993. *Farmakologi Obat Anti Hiperlipidemia*. Jakarta: Cermin Dunia Kedokteran.
- Katno. 2008. *Tingkat Manfaat, Keamanan dan Efektivitas Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Tawangmangu: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional.
- Katzung, B. G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Penerjemah Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UNAIR. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Kutty, K. M., Brayant, dan Farid. 1978. Serum Lipids in Hypothyroidism A Reevaluation. *Journal Clinical Endocrinology Metabolism*. Vol. 46: 55-60.
- Lehninger, A. L. 1988. *Dasar-dasar Biokimia*. Terjemahan oleh Maggy Thenawidjaja. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Lieberman, M., dan Marks, A. D. 2013. *Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach*. Edisi 4. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins.
- Loscalzo, J. 2005. *Molecular Mechanism of Atherosclerosis*. UK: Taylor & Francis.
- Maldini, M., Micco, S. D., Montoro, P., Darra, E., Mariotto, S., Bifulco, G., Pizza, C., dan Sonia, S. 2013. Flavanocoumarins from *Guazuma ulmifolia* Bark and Evaluation of their Affinity for STAT1. *Phytochemistry*. Vol. 86: 64-71.
- Mardisiswojo, S., dan Rajakmangunsudarso, H. 1985. *Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang*. Jakarta: Penerbit Balai Pustaka.
- Maryani. 2005. *Khasiat dan Manfaat Rosella*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Murray, R. K., Granner, D. K, Mayes, P. A, dan Rodwell, V. W.,. 2003. *Harper's Illustrated Biochemistry*. Edisi 26. USA: Mc Graw Hill Companies.
- Nakaou, E. S., Filippatos, T. D., Kiortsis, D. N., Derdemezis, C. S., Tselepis, A. D., Mikhailidis, D. P., dan Elisaf, M. S. 2008. The Effects of Ezetimibe and Orlistat, Alone or in Combination, on High-Density Lipoprotein (HDL) Subclasses and HDL-Associated Enzyme Activities in Overweight and Obese Patients with Hyperlipidaemia. *Pharmacother*. Vol. 9(18): 3151-3158.

- NIH Consensus Conference. 1993. Consensus Development Panel on Triglyceride, High Density Lipoprotein, and Coronary Heart Disease. NIH Consensus Conference: Triglyceride, High-Density Lipoprotein, and Coronary Heart Disease. *JAMA*. Vol. 269: 505-510.
- Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Ochani, P. C., dan D'Mello, P. 2009. Antioxidant and Antihyperlipidemic Activity of *Hibiscus sabdariffa* Linn. Leaves and Calyces Extracts in Rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. Vol. 47: 276-282.
- Pithandikulam Forest. *Guazuma ulmifolia* Lam. <http://www.pitchandikulam-herbarium.org/contents/description-leaf.php?id=30>. [11 Desember 2015].
- Plantamor. *Hibiscus sabdariffa* L. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=677> . [11 Desember 2015].
- Porth, C. M. 2011. *Essentials of Pathophysiology*. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins.
- Price, S. A., dan Wilson L. M. 1994. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Terjemahan oleh Dr Peter Anugrah. Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC.
- Rajaratnam, R. 2000. *Impact of Serum Squalene, Postprandial Lipoproteins, and Cholesterol Metabolism on Coronary Artery Disease in Postmenopausal Women*. Finland : Academic Dissertation, Department of medicine, University of Helsinki, Helsinki.
- Sari, I. P., Nurrochmad, A., dan Setiawan, I. M. 2013. Indonesian Herbals Reduce Cholesterol Levels in Diet-Induced Hypercholesterolemia through Lipase Inhibition. *Malaysian Journal Of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 11(1): 13–20.
- Sharma, M., Yashwant, dan Prasad, S. B. 2013. Hepatoprotective Activity of Guazoma Tomentosa Leaf Extracts Against CCl₄ Induced Liver Damage in Rats. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*, Vol. 4 (4): 128-138.
- Suharmiyati, dan Maryani, H. 2003. *Khasiat & Manfaat Jati Belanda: Sipelansing & Peluruh Kolesterol*. Yogyakarta: Agro Media Pustaka.

- Sukandar, E. Y., Elfahmi, dan Nurdewi, 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) terhadap Kadar Lipid Darah pada Tikus Jantan. *JKM*. Vol. 8(2): 102-112.
- Sukandar, E. Y., Elfahmi, dan Nurdewi, 2012. Antihypercholesteromic Effect of Combination of *Guazuma ulmifolia* Lamk. Leaves and *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Rhizomes Extract in Wistar Rat. *International Journal of Pharmacology*. Vol. 8(4): 277-282.
- Suyatna, F. D. 2008. *Anti Angina: Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbit FK-UI.
- Syamsudin. 2011. *Buku Ajar Farmakoterapi Kardiovaskular dan Renal*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika
- Wahyudi, 2015. Potensi Ekstrak Fenolik Tanaman Obat Taman Nasional Meru Betiri: Bidara Upas (*Merreima mammosa*) dan Kayu Kuning (*Arcangelisia flava*) sebagai Antidiabet dan Antioksidan. Jember: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.
- Wijayakusuma, M. H. 2008. *Ramuan Herbal Penurun Kolesterol*. Jakarta: Pustaka Bunda.
- World Health Organization (WHO). 2015. Cardiovascular Disease. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/> [2 Oktober 2015].
- Zao, H. L., Sim, J. S., Shim, S. H., Ha, Y. W., Kang, S. S., dan Kim, Y. S. 2005. Antiobese and Hypolipidemic Effect of Platycodin: Saponins in Diet-induced Obese Rats: Evidences for Lipase Inhibition and Calorie Intake Restriction. *International Journal of Obesity*. Vol. 29: 983-990.
- Zarrabal, O. C., Maria, D., Dermitz, B., Flores, Z. O., Margaret, P., Jones, H., Hipolito, C. N., Uscanga, M. G. A., Medina, A. M., dan Bujang, K. B. 2012. *Hibiscus sabdariffa* L., Roselle Calyx, from Ethnobotany to Pharmacology. *Journal of Experimental Pharmacology*. Vol. 4: 25-39.

LAMPIRAN A. LEMBAR IDENTIFIKASI TANAMAN

A.1 Lembar Identifikasi Jati Belanda



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI

LIPI

JL. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046, Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046
website: <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 1602/IPH.06/HM/XI/2015

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Nuri, S.Si., Apt., M.Si, NIM : 196904122001121007

Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 17 Nopember 2015, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume 1, tahun 1963, halaman 408 dan PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 12 (2) ; Medicinal and poisonous plants 2, editor J.L.C.H van Valkenburg dan Bunyaphratsara, tahun 2002, halaman 286 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Guazuma*
Species : *Guazuma ulmifolia* Lmk.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XIV adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*
Class : *Magnoliopsida*
Subclass : *Dilleniidae*
Ordo : *Malvales*
Family : *Sterculiaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 23 Nopember 2015

An. Kepala
Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,

Deden Mudiana, S.Hut, M.Si

A.2 Lembar Identifikasi Rosella



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI**

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046, Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046
website: <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 167/PH.06/HM/XI/2015

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Nuri, S.Si., Apt., M.Si, NIM : 196904122001121007

Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 17 Nopember 2015, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume I, tahun 1963, halaman 431 dan PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 12 (2) ; Medicinal and poisonous plants 2, editor J.L.C.H van Valkenburg dan Bunyaphaphatsara, tahun 2002, halaman 297 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Hibiscus*
Species : *Hibiscus sabdariffa L.*

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVIII adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*
Class : *Magnoliopsida*
Subclass : *Dilleniidae*
Ordo : *Malvales*
Family : *Malvaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 24 Nopember 2015

An. Kepala
Kepala Balai Konservasi Ex-situ,



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si

LAMPIRAN B. PERHITUNGAN DAN PEMBERIAN DOSIS**B1. Perhitungan Rendemen Ekstraksi****B.1a Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda**

Berat simplisia daun jati belanda	= 600,14 gram
Berat ekstrak daun jati belanda	= 37,12 gram
% Rendemen ekstrak daun jati belanda	= $\frac{37,12}{600,14} \times 100\% = 6,19\%$

B.1b Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella

Berat simplisia kelopak bunga rosella	= 300,06 gram
Berat ekstrak kelopak bunga rosella	= 40,26 gram
% Rendemen kelopak bunga rosella	= $\frac{40,26}{300,06} \times 100\% = 13,42\%$

B2. Perhitungan Pembuatan Sediaan Suspensi Ekstrak

Dibuat sediaan dengan setiap pemberian disamakan 2 ml/300 g BB

Perhitungan stok untuk sediaan yang akan dibuat:

Perhitungan dosis jati belanda:

Dosis = 59,6 mg/kg BB

Misal berat badan tikus adalah 300 gram, maka:

$$\text{Dosis} = \frac{59,6 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{300 \text{ g}}$$

$$x = 17,88 \text{ mg}$$

Perhitungan dosis rosella:

Dosis = 45 mg/kg BB

Misal berat badan tikus adalah 300 gram, maka:

$$\text{Dosis} = \frac{45 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{300 \text{ g}}$$

$$x = 13,50 \text{ mg}$$

Pembuatan sediaan ekstrak perbandingan 3:1

Jati belanda = 17,88 mg x 3 = 53,64 mg ekstrak

Rosella = 13,50 mg x 1 = 13,50 mg ekstrak

Untuk tikus dengan berat badan 300 g diberi sediaan sebanyak 2 ml.

Pembuatan sediaan ekstrak perbandingan 1:3

Jati belanda = 17,88 mg x 1 = 17,88 mg ekstrak

Rosella = 13,50 mg x 3 = 40,50 mg ekstrak

Untuk tikus dengan berat badan 300 g diberi sediaan sebanyak 2 ml.

Pembuatan sediaan ekstrak perbandingan 1:1

Jati belanda = 17,88 mg x 2 = 35,76 mg ekstrak

Rosella = 13,50 mg x 2 = 27 mg ekstrak

Untuk tikus dengan berat badan 300 g diberi sediaan sebanyak 2 ml.

B.3 Volume Pemberian Suspensi Ekstrak

Tikus dengan berat badan 300 g diberi sediaan sebanyak 2 ml

Misal berat badan tikus adalah 150 g, maka:

$$\text{Volume pemberian} = \frac{2\text{ml}}{300\text{ g}} = \frac{x}{150\text{ g}}$$

$$x = 1\text{ ml}$$

1. Kombinasi Ekstrak Perbandingan 3:1

Tikus ke-1 BB: 160,4 g, maka sediaan yang diberikan: 1,07 ml

Tikus ke-2 BB: 137,9 g, maka sediaan yang diberikan: 0,9 ml

Tikus ke-3 BB: 193,2 g, maka sediaan yang diberikan: 1,3 ml

Tikus ke-4 BB: 168,9 g, maka sediaan yang diberikan: 1,13 ml

2. Kombinasi Ekstrak Perbandingan 1:3

Tikus ke-1 BB: 179,4 g, maka sediaan yang diberikan: 1,2 ml

Tikus ke-2 BB: 191,9 g, maka sediaan yang diberikan: 1,3 ml

Tikus ke-3 BB: 205,4 g, maka sediaan yang diberikan: 1,4 ml

Tikus ke-4 BB: 199,4 g, maka sediaan yang diberikan: 1,33 ml

3. Kombinasi Ekstrak Perbandingan 1:1

Tikus ke-1 BB: 195,9 g, maka sediaan yang diberikan: 1,3 ml

Tikus ke-2 BB: 181,9 g, maka sediaan yang diberikan: 1,2 ml

Tikus ke-3 BB: 172,6 g, maka sediaan yang diberikan: 1,15 ml

Tikus ke-4 BB: 140,4 g, maka sediaan yang diberikan: 0,94 ml

B.4 Perhitungan Dosis dan Volume Pemberian Orlistat

Dosis Orlistat: 10,9 mg/kg BB

Misal BB tikus: 300 g, maka:

$$\text{Dosis} = \frac{10,9 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{300 \text{ g}}$$

$$x = 3,27 \text{ mg}$$

Untuk tikus dengan berat badan 300 g diberi sediaan sebanyak 2 ml.

Volume pemberian orlistat:

Tikus ke-1 BB: 199 g, maka sediaan yang diberikan: 1,33 ml

Tikus ke-2 BB: 134,9 g, maka sediaan yang diberikan: 0,9 ml

Tikus ke-3 BB: 177,4 g, maka sediaan yang diberikan: 1,2 ml

Tikus ke-4 BB: 175,1 g, maka sediaan yang diberikan: 1,17 ml

B.5 Perhitungan Pembuatan Sediaan dan Volume Pemberian CMC Na 0,5%

Sediaan yang dibuat adalah 150 ml

CMC Na: 0,5% x 150 ml = 0,75 g

Tween 1%: 1% x 150 ml = 1,5 ml

Akuades hingga 150 ml

Untuk tikus dengan berat badan 300 g diberi sediaan sebanyak 2 ml.

Volume pemberian CMC Na:

Tikus ke-1 BB: 174,9 g, maka sediaan yang diberikan: 1,16 ml

Tikus ke-2 BB: 222,6 g, maka sediaan yang diberikan: 1,48 ml

Tikus ke-3 BB: 183,4 g, maka sediaan yang diberikan: 1,22 ml

Tikus ke-4 BB: 220,5 g, maka sediaan yang diberikan: 1,47 ml

LAMPIRAN C. DATA KADAR KOLESTEROL TOTAL, TRIGLISERIDA, LDL, HDL, DAN BERAT BADAN TIKUS

C1. Data Kadar Kolesterol Total

1. Kelompok Kontrol Negatif (-)

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan kolesterol total (%)
1	133,33	136,57	-2,43
2	85,73	101,72	-18,65
3	148,36	151,72	-2,26
4	112,68	113,1	-0,37

2. Kelompok Kontrol Positif (+)

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan kolesterol total (%)
1	196,2	107,12	45,40
2	220,34	103,37	53,09
3	245,67	71,18	71,03
4	200,71	149,81	25,36

3. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 3:1

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan kolesterol total (%)
1	245,66	113,86	53,65
2	279,81	109,36	60,92
3	220,11	132,58	39,77
4	343,91	89,7	73,92

4. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 1:3

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan kolesterol total (%)
1	245,65	110,11	55,18
2	231,11	128,84	44,25
3	198,32	86,89	56,19
4	241	164,04	31,93

5. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 1:1

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan kolesterol total (%)
1	293,24	123,6	57,85
2	221,21	140,07	36,68
3	200	128,84	35,58
4	230,91	128,09	44,53

C2. Data Kadar Triglicerida

1. Kelompok Kontrol Negatif (-)

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan trigliserida (%)
1	70,23	113,76	-61,98
2	59,07	60,21	-1,93
3	149,03	150,76	-1,16
4	57,97	110,09	-89,91

2. Kelompok Kontrol Positif (+)

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan trigliserida (%)
1	70,27	27,75	60,51
2	69,18	54,55	21,15
3	71,9	75,6	-5,15
4	118,66	100,48	15,32

3. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 3:1

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan trigliserida (%)
1	99,18	90,91	8,34
2	80,41	43,06	46,45
3	76,71	79,43	-3,54
4	82,3	66,99	18,60

4. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 1:3

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan trigliserida (%)
1	95,65	92,48	3,31
2	58,37	55,78	4,44
3	51,67	49,33	4,53
4	95,65	92,48	3,31

5. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 1:1

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan trigliserida (%)
1	103,35	102,39	0,93
2	123,68	108,13	12,57
3	80,65	55,5	31,18
4	78,9	63,16	19,95

C3. Data Kadar LDL

1. Kelompok Kontrol Negatif (-)

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan LDL (%)
1	84,3	85,32	-1,21
2	89,44	100,21	-12,04
3	69,79	80,18	-14,89
4	116,16	116,25	-0,08

2. Kelompok Kontrol Positif (+)

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan LDL (%)
1	105,21	77,1	26,72
2	123,3	78,13	36,63
3	140,71	57,57	59,09
4	120,65	100,3	16,87

3. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 3:1

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan LDL (%)
1	151,71	65,79	56,63
2	143,65	86,35	39,89
3	158,11	21,59	86,34
4	131,11	88,41	32,57

4. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 1:3

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan LDL (%)
1	163,23	87,28	46,53
2	174,28	72,99	58,12
3	123,62	45,23	63,41
4	110	77,1	29,91

5. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 1:1

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan LDL (%)
1	125,35	90,46	27,83
2	156,48	57,3	63,38
3	153,81	99,72	35,17
4	150,61	74,02	50,85

C4. Data Kadar HDL

1. Kelompok Kontrol Negatif (-)

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Peningkatan HDL (%)
1	47,32	47,65	0,70
2	29,4	27,13	-7,72
3	56	51,7	-7,68
4	42,56	44,24	3,95

2. Kelompok Kontrol Positif

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Peningkatan HDL (%)
1	52,08	63,87	22,64
2	41,72	55,72	33,56
3	54,6	62,72	14,87
4	82,04	72,8	-11,26

3. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 3:1

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Peningkatan HDL (%)
1	78,4	80,44	2,60
2	63,28	71,4	12,83
3	61,88	62,72	1,36
4	57,68	60,2	4,37

4. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 1:3

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Peningkatan HDL (%)
1	69,16	85,68	23,89
2	70,56	77	9,13
3	77,56	78,12	0,72
4	57,96	64,96	12,08

5. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 1:1

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Peningkatan HDL (%)
1	18,76	66,36	253,73
2	63,32	86,52	36,64
3	35,84	85,4	138,28
4	52,92	67,2	26,98

C5. Data Berat Badan Tikus

1. Kelompok Kontrol Negatif (-)

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan berat badan (%)
1	197	198	-0.51
2	235,2	236	-0.34
3	201,2	200,2	0.5
4	236	235,7	0.13

2. Kelompok Kontrol Positif (+)

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan berat badan (%)
1	199	201	-1.0
2	134,9	130,5	3.26
3	177,4	176	0.79
4	200,7	194	3.34

3. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 3:1

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan berat badan (%)
1	160,4	157,5	1.81
2	181,9	175	3.79
3	193,2	191	1.14
4	168,9	152,5	9.71

4. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 1:3

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan berat badan (%)
1	179,4	182	-1.45
2	191,9	184	4.12
3	205,4	207,5	-1.02
4	199,4	196	1.7

5. Kelompok Perlakuan Ekstrak Perbandingan 1:1

No	H ₀ (mg/dl)	H ₁₅ (mg/dl)	Penurunan berat badan (%)
1	159,5	186	-16.61
2	181,3	175	3.47
3	172,6	172,5	0.06
4	241,9	238	1.61



LAMPIRAN D. PERHITUNGAN TOTAL FLAVONOID

1. Hasil standar

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
5	0,027
10	0,055
20	0,103
60	0,300

2. Hasil Sampel

Perbandingan	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)
3:1	0,442	88,6
	0,417	83,52
	0,425	85,15
1:3	0,192	37,86
	0,208	41,10
	0,206	40,70
1:1	0,308	61,4
	0,288	57,34
	0,303	60,38

3. Perhitungan Kadar Flavonoid

a. Kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella perbandingan

3:1

Replikasi 1

$$88,6 \text{ ppm} = 88,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 88,6 = 13,29 \text{ } \mu\text{g}$$

$$\frac{10000 \text{ } \mu\text{l}}{150 \text{ } \mu\text{l}} \times 13,29 \text{ } \mu\text{g} = 886 \text{ } \mu\text{g} = 0,89 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,89 \text{ mg}}{50,2 \text{ mg}} \times 100\% = 1,77 \%$$

Replikasi 2

$$83,52 \text{ ppm} = 83,52 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 83,52 = 12,53 \mu\text{g}$$

$$\frac{10000 \mu\text{l}}{150 \mu\text{l}} \times 12,53 \mu\text{g} = 835,33 \mu\text{g} = 0,83 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,83 \text{ mg}}{50,2 \text{ mg}} \times 100\% = 1,65 \%$$

Replikasi 3

$$85,15 \text{ ppm} = 85,15 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 85,15 = 12,77 \mu\text{g}$$

$$\frac{10000 \mu\text{l}}{150 \mu\text{l}} \times 12,77 \mu\text{g} = 851,33 \mu\text{g} = 0,85 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,85 \text{ mg}}{50,2 \text{ mg}} \times 100\% = 1,69 \%$$

$$\text{rata - rata } \% \text{ kadar} = 1,70 \%$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(1,77 - 1,70)^2 + (1,65 - 1,70)^2 + (1,69 - 1,70)^2}{3 - 1}} = 0,06$$

$$\text{CV} = \frac{0,06}{1,70} \times 100\% = 3,53 \%$$

- b. Kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella perbandingan 1:3

Replikasi 1

$$37,86 \text{ ppm} = 37,86 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 37,86 = 5,679 \mu\text{g}$$

$$\frac{10000 \mu\text{l}}{150 \mu\text{l}} \times 5,679 \mu\text{g} = 378,6 \mu\text{g} = 0,38 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,38 \text{ mg}}{50,2 \text{ mg}} \times 100\% = 0,76 \%$$

Replikasi 2

$$41,10 \text{ ppm} = 41,10 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 41,10 = 6,16 \mu\text{g}$$

$$\frac{10000 \mu\text{l}}{150 \mu\text{l}} \times 6,16 \mu\text{g} = 410,67 \mu\text{g} = 0,41 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,41 \text{ mg}}{50,2 \text{ mg}} \times 100\% = 0,82 \%$$

Replikasi 3

$$40,70 \text{ ppm} = 40,70 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 40,70 = 6,10 \mu\text{g}$$

$$\frac{10000 \mu\text{l}}{150 \mu\text{l}} \times 6,10 \mu\text{g} = 406,67 \mu\text{g} = 0,41 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,41 \text{ mg}}{50,2 \text{ mg}} \times 100\% = 0,82 \%$$

$$\text{rata - rata } \% \text{ kadar} = \frac{0,76 + 0,82 + 0,82}{3} = 0,8 \%$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(0,76 - 0,8)^2 + (0,82 - 0,8)^2 + (0,82 - 0,8)^2}{3 - 1}} = 0,03$$

$$\text{CV} = \frac{0,03}{0,8} \times 100\% = 3,75 \%$$

c. Kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella perbandingan

1:1

Replikasi 1

$$61,4 \text{ ppm} = 61,4 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 61,4 = 9,21 \mu\text{g}$$

$$\frac{10000 \mu\text{l}}{150 \mu\text{l}} \times 9,21 \mu\text{g} = 614 \mu\text{g} = 0,61 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,61 \text{ mg}}{50,2 \text{ mg}} \times 100\% = 1,21 \%$$

Replikasi 2

$$57,34 \text{ ppm} = 57,34 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 57,34 = 8,60 \text{ } \mu\text{g}$$

$$\frac{10000 \text{ } \mu\text{l}}{150 \text{ } \mu\text{l}} \times 8,60 \text{ } \mu\text{g} = 573,3 \text{ } \mu\text{g} = 0,57 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,57 \text{ mg}}{50,2 \text{ mg}} \times 100\% = 1,13 \%$$

Replikasi 3

$$60,38 \text{ ppm} = 60,38 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 60,38 = 9,06 \text{ } \mu\text{g}$$

$$\frac{10000 \text{ } \mu\text{l}}{150 \text{ } \mu\text{l}} \times 9,06 \text{ } \mu\text{g} = 604 \text{ } \mu\text{g} = 0,60 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,60 \text{ mg}}{50,2 \text{ mg}} \times 100\% = 1,19 \%$$

$$\text{rata - rata } \% \text{ kadar} = 1,18 \%$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(1,21 - 1,18)^2 + (1,13 - 1,18)^2 + (1,19 - 1,18)^2}{3 - 1}} = 0,04$$

$$\text{CV} = \frac{0,04}{1,18} \times 100\% = 3,39 \%$$

LAMPIRAN E. HASIL UJI STATISTIK KADAR KOLESTEROL TOTAL, TRIGLISERIDA, LDL, HDL, DAN BERAT BADAN TIKUS

E1. Kolesterol Total

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Kolesterol negatif	.317	4	.	.896	4	.410
positif	.180	4	.	.994	4	.977
3:1	.219	4	.	.979	4	.899
1:3	.275	4	.	.890	4	.385
1:1	.248	4	.	.930	4	.592

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal.

2. Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.372	4	15	.099

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA.

ANOVA

Kolesterol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10014.462	4	2503.615	20.253	.000
Within Groups	1854.246	15	123.616		
Total	11868.708	19			

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan uji *Post Hoc* LSD.

3. Hasil Uji LSD

Multiple ComparisonsKolesterol
LSD

(I) kelomp ok	(J) kelomp ok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Negatif	positif	-50.78240*	8.92414	.000	-69.8038	-31.7610
	3:1	-59.12750*	8.92414	.000	-78.1489	-40.1061
	1:3	-48.94984*	8.92414	.000	-67.9712	-29.9285
	1:1	-45.72329*	8.92414	.000	-64.7447	-26.7019
Positif	negatif	50.78240*	8.92414	.000	31.7610	69.8038
	3:1	-8.34510	8.92414	.365	-27.3665	10.6763
	1:3	1.83256	8.92414	.840	-17.1888	20.8539
	1:1	5.05911	8.92414	.579	-13.9622	24.0805
3:1	negatif	59.12750*	8.92414	.000	40.1061	78.1489
	positif	8.34510	8.92414	.365	-10.6763	27.3665
	1:3	10.17766	8.92414	.272	-8.8437	29.1990
	1:1	13.40421	8.92414	.154	-5.6171	32.4256
1:3	negatif	48.94984*	8.92414	.000	29.9285	67.9712
	positif	-1.83256	8.92414	.840	-20.8539	17.1888
	3:1	-10.17766	8.92414	.272	-29.1990	8.8437
	1:1	3.22655	8.92414	.723	-15.7948	22.2479
1:1	negatif	45.72329*	8.92414	.000	26.7019	64.7447
	positif	-5.05911	8.92414	.579	-24.0805	13.9622
	3:1	-13.40421	8.92414	.154	-32.4256	5.6171
	1:3	-3.22655	8.92414	.723	-22.2479	15.7948

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

E2. Trigliserida

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Tg negatif	.296	4	.	.850	4	.227
positif	.276	4	.	.939	4	.651
3:1	.229	4	.	.952	4	.730
1:3	.426	4	.	.679	4	.006
1:1	.139	4	.	1.000	4	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data tidak normal.

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.402	4	15	.015

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data tidak homogen, sehingga dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis*.

3. Uji Kruskal-Wallis

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
Tg negatif	4	3.50
positif	4	13.00
3:1	4	12.00
1:3	4	11.00
1:1	4	13.00
Total	20	

Test Statistics^{a,b}

	Tg
Chi-Square	7.314
Df	4
Asymp. Sig.	.120

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p > 0,05$), sehingga tidak dapat dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.

E3. LDL

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ldl negatif	.282	4	.	.849	4	.223
positif	.206	4	.	.966	4	.816
3:1	.221	4	.	.923	4	.553
1:3	.220	4	.	.943	4	.671
1:1	.217	4	.	.960	4	.779

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal.

2. Uji Homogenitas dan ANOVA satu arah

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.942	4	15	.467

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA

ANOVA

Ldl

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9684.481	4	2421.120	8.418	.001
Within Groups	4314.361	15	287.624		
Total	13998.842	19			

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan uji *Post Hoc*.



3. Hasil Uji LSD

Multiple Comparisons

(I) kelomp ok	(J) kelomp ok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Negatif	positif	-41.66433*	11.99216	.003	-67.2250	-16.1036
	3:1	-60.91424*	11.99216	.000	-86.4749	-35.3536
	1:3	-56.54742*	11.99216	.000	-82.1081	-30.9867
	1:1	-51.36374*	11.99216	.001	-76.9244	-25.8030
Positif	negatif	41.66433*	11.99216	.003	16.1036	67.2250
	3:1	-19.24991	11.99216	.129	-44.8106	6.3108
	1:3	-14.88309	11.99216	.234	-40.4438	10.6776
	1:1	-9.69941	11.99216	.431	-35.2601	15.8613
3:1	negatif	60.91424*	11.99216	.000	35.3536	86.4749
	positif	19.24991	11.99216	.129	-6.3108	44.8106
	1:3	4.36683	11.99216	.721	-21.1939	29.9275
	1:1	9.55050	11.99216	.438	-16.0102	35.1112
1:3	negatif	56.54742*	11.99216	.000	30.9867	82.1081
	positif	14.88309	11.99216	.234	-10.6776	40.4438
	3:1	-4.36683	11.99216	.721	-29.9275	21.1939
	1:1	5.18368	11.99216	.672	-20.3770	30.7444
1:1	negatif	51.36374*	11.99216	.001	25.8030	76.9244
	positif	9.69941	11.99216	.431	-15.8613	35.2601
	3:1	-9.55050	11.99216	.438	-35.1112	16.0102
	1:3	-5.18368	11.99216	.672	-30.7444	20.3770

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

D4. HDL

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hdl negatif	.300	4	.	.838	4	.190
positif	.248	4	.	.943	4	.672
3:1	.316	4	.	.802	4	.106
1:3	.224	4	.	.977	4	.887
1:1	.267	4	.	.886	4	.366

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal.

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.451	4	15	.001

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data tidak homogen, sehingga dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis*.

3. Uji Kruskal-Wallis

Kruskal-Wallis Test**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank
Hdl negatif	4	4.00
positif	4	10.50
3:1	4	10.75
1:3	4	9.50
1:1	4	17.75
Total	20	

Test Statistics^{a,b}

	hdl
Chi-Square	10.957
Df	4
Asymp. Sig.	.027

- a. Kruskal Wallis Test
- b. Grouping Variable: kelompok

Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan uji *Post Hoc* Mann-Whitney.

4. Uji Mann-Whitney

Mann-Whitney Test

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
hdl	Negatif	4	3.50	14.00
	Positif	4	5.50	22.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	hdl
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
hdl negatif	4	3.00	12.00
3:1	4	6.00	24.00
Total	8		

Test Statistics^b

	hdl
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.732
Asymp. Sig. (2-tailed)	.083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
hdl negatif	4	2.75	11.00
1:3	4	6.25	25.00
Total	8		

Test Statistics^b

	hdl
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	11.000
Z	-2.021
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
hdl	negatif	4	2.50	10.00
	1:1	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	hdl
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
hdl	positif	4	4.75	19.00
	3:1	4	4.25	17.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	hdl
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-.289
Asymp. Sig. (2-tailed)	.773
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.886 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
hdl positif	4	5.00	20.00
1:3	4	4.00	16.00
Total	8		

Test Statistics^b

	hdl
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.577
Asymp. Sig. (2-tailed)	.564
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
hdl positif	4	2.75	11.00
1:1	4	6.25	25.00
Total	8		

Test Statistics^b

	hdl
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	11.000
Z	-2.021
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
hdl 3:1	4	4.75	19.00
1:3	4	4.25	17.00
Total	8		

Test Statistics^b

	hdl
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-.289
Asymp. Sig. (2-tailed)	.773
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.886 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
hdl 3:1	4	2.50	10.00
1:1	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	hdl
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
hdl	1:3	4	2.50	10.00
	1:1	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	hdl
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

E5. Berat Badan Tikus

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
penurunan BB	kontrol negatif	.233	4	.946	4	.691
	kontrol positif	.286	4	.873	4	.308
	3:1	.283	4	.849	4	.222
	1:3	.263	4	.907	4	.467
	1:1	.374	4	.767	4	.055

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal.

1. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.139	4	15	.019

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data tidak homogen, sehingga dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis*.

2. Uji Kruskal-Wallis

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank
penurunanBB	kontrol negatif	4	7.00
	kontrol positif	4	11.25
	3:1	4	15.75
	1:3	4	9.25
	1:1	4	9.25
	Total	20	

Test Statistics^{a,b}

	penurunanBB
Chi-Square	4.971
Df	4
Asymp. Sig.	.290

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p > 0,05$), sehingga tidak dapat dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.