



**KADAR LDL (*Low Density Lipoprotein*) SERUM DARAH DAN STRUKTUR  
HISTOLOGI ARTERI KORONARIA MENCIT (*Mus musculus*) STRAIN  
SWISS WEBSTER OVARIKTOMI PASCA PEMBERIAN  
EKSTRAK TEPUNG TEMPE KEDELAI**

**SKRIPSI**

Oleh

**Nur Fadilah  
NIM 121810401034**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**



**KADAR LDL (*Low Density Lipoprotein*) SERUM DARAH DAN STRUKTUR  
HISTOLOGI ARTERI KORONARIA MENCIT (*Mus musculus*) STRAIN  
SWISS WEBSTER OVARIIEKTOMI PASCA PEMBERIAN  
EKSTRAK TEPUNG TEMPE KEDELAI**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Progran Studi Biologi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

**Nur Fadilah**  
**NIM 121810401034**

**JURUSAN BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2016**

## PERSEMBAHAN

Dengan nama Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Ayahanda Budi Wiyono, S.Pd dan Ibunda Siti Sunwani Arrazy tercinta, terimakasih atas kasih sayang serta limpahan doa yang tiada henti;
2. keluarga besar K.Yahya Ismail, yang telah memberi doa serta dukungan;
3. bapak ibu guru SDN Gunung Malang 4, SMPN Sumber Jambe 1, dan MAN Jember 1 yang telah mendidik dan mengajarkan banyak ilmu, serta menjadi motivasi dan inspirasi bagi saya;
4. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

## MOTO

Wahai orang-orang yang beriman! niscaya Allah akan mengangkat derajat orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat, dan Allah mahateliti apa yang kamu kerjakan.

(QS. Al-Mujadilah 57 : 11\*)

Wahai orang-orang yang beriman! Bersabarlah kamu dan kuatkanlah kesabaranmu dan tetaplah bersiap siaga (diperbatasan negerimu) dan bertaqwalah kepada Allah, agar kamu beruntung.

(QS. Al-Imron 3 : 200\*\*)

---

\*) Kementerian Agama Republik Indonesia, Yayasan Penyelenggara Penerjemah/Penafsiran Al-Qur'an. 2009. *Mushaf Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Bogor: Nur Publishing.

\*\*\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. *Al-Qur'an dan terjemahnya*. Semarang: PT. Karya Toha Putra.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Nur Fadilah

NIM : 121810401034

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) Serum Darah dan Struktur Histologi Arteri Koronaria Mencit (*Mus musculus*) Strain Swiss Webster Ovariectomi Pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai” adalah benar-benar hasil karya ilmiah sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Penelitian ini didanai oleh Dra. Mahriani, M.Si dan tidak dapat dipublikasikan tanpa ijin dari pihak yang mendanai. 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, 01 Juni 2016

Yang menyatakan,

Nur Fadilah

NIM 121810401034

**SKRIPSI**

**KADAR LDL (*Low Density Lipoprotein*) SERUM DARAH DAN STRUKTUR  
HISTOLOGI ARTERI KORONARIA MENCIT (*Mus musculus*) STRAIN  
SWISS WEBSTER OVARIETOMI PASCA PEMBERIAN  
EKSTRAK TEPUNG TEMPE KEDELAI**

Oleh

**Nur Fadilah**  
**NIM 121810401034**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dra. Mahriani, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Eva Tyas Utami, S.Si, M. Si

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) Serum Darah dan Struktur Histologi Arteri Koronaria Mencit (*Mus musculus*) Strain Swiss Webster Ovariectomi Pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai”, telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Rabu, 01 Juni 2016

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tim Penguji,

Ketua,

Sekretaris,

Dra. Mahriani, M.Si  
NIP 195703151987022001

Eva Tyas Utami, S.Si, M.Si  
NIP 197306012000032001

Anggota I,

Anggota II,

Dra. Susantin Fajariyah, M.Si  
NIP 196411051989022001

Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd  
NIP 195805281988021001

Mengesahkan  
Dekan,

Drs. Sujito, Ph.D  
196102041987111001

## RINGKASAN

**Kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) Serum Darah dan Struktur Histologi Arteri Koronaria Mencit (*Mus musculus*) Strain Swiss Webster Ovariectomi Pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai**; Nur Fadilah, 121810401034; 2016: 41 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Aterosklerosis merupakan penyakit non reproduktif yang dapat disebabkan oleh peningkatan kadar LDL serum darah dan dapat menjadi faktor risiko penyakit jantung koroner. Risiko penyakit ini meningkat pada wanita menopause akibat defisiensi estrogen, sehingga dapat menyebabkan perubahan fisiologis. Aterosklerosis ditandai dengan penebalan dinding arteri yang semakin lama dapat menyebabkan terbentuknya plak ateromatosa, sehingga perlu diatasi dengan pemanfaatan fitoestrogen sebagai hormon pengganti pada wanita menopause. Fitoestrogen dapat diperoleh dari tempe, salah satu kandungan fitoestrogen dominan pada tempe adalah isoflavon yang dapat berikatan dengan reseptor estrogen tubuh karena memiliki struktur mirip dengan 17 -estradiol pada mamalia. Isoflavon dapat menimbulkan efek estrogenik seperti menurunkan kadar LDL serum darah melalui aktivasi reseptor LDL dan dapat meningkatkan produksi zat NO (*Nitric Oxide*) sebagai vasodilatasi yang mempunyai kemampuan antiaterosklerosis. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak tepung tempe kedelai terhadap mencit strain Swiss Webster ovariectomi sebagai model hewan yang mengalami defisiensi estrogen.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimental murni dengan hewan uji berupa mencit betina strain Swiss Webster sebanyak 45 ekor yang dibagi menjadi lima kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (mencit normal tanpa ovariectomi dan tanpa pemberian ekstrak tepung tempe kedelai), kontrol positif (mencit ovariectomi tanpa pemberian ekstrak tepung tempe kedelai), kelompok perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai D1 (0,21 g/ml/hari), D2 (0,42 g/ml/hari), dan D3 (0,63 g/ml/hari).



Ekstrak tepung tempe kedelai diberikan selama 10, 20, dan 30 hari secara *gavage*. Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi kadar LDL serum darah dan tebal dinding arteri koronaria.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 10, 20, dan 30 hari dapat menurunkan kadar LDL serum darah dan ketebalan dinding arteri koronaria. Nilai rata-rata kadar LDL serum darah paling rendah dijumpai pada perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai selama 30 hari dan D3 (dosis 0,63 g/ml/hari) yaitu 54,48 mg/dl, dan ketebalan dinding arteri koronaria paling rendah juga dijumpai pada perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai selama 30 hari dan D3 (dosis 0,63 g/ml/hari) yaitu 15  $\mu\text{m}$  (mikrometer).

## PRAKATA

Syukur Alhamdulillah ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, nikmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) Serum Darah dan Struktur Histologi Arteri Koronaria Mencit (*Mus musculus*) Strain Swiss Webster Ovariectomi Pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan Skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Dra. Mahriani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama, Eva Tyas Utami, S.Si, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
2. Dra. Susantin Fajariyah, M.Si., selaku Dosen Penguji I dan Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd., selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi ini;
3. Dr. rer. nat. Kartika Senjarini, M.Si., Sri Mumpuni W.W. M.Si., dan Eva Tyas Utami, S.Si, M.Si., yang pernah menjadi Dosen Pembimbing Akademik, terimakasih telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Ir. Efi Fadrijah E.D selaku Teknisi Laboratorium Zoologi yang telah banyak membantu demi kelancaran selama penelitian berlangsung;
5. seluruh dosen pengajar, staff akademik, teknisi Laboratorium Botani, Ekologi, dan Mikrobiologi, serta teknisi LPPT 4 Universitas Gadjah Mada yang telah mendukung dan membantu selama masa penelitian berlangsung;
6. kakakku Hasbi Ashshiddiqi dan keluarga besar K.H. Fathor yang telah memberikan dorongan dan doanya demi terselesaikannya skripsi ini;

7. adik-adikku Mohammad Sukron, Mamduhatuz Zulfah, dan Ifatihatul Mahmudah, terima kasih atas bantuan doa dan motivasi kepada saya;
8. rekan kerja selama penelitian dan sahabatku tercinta Nurul Aini Afifah, Dita Ayu Faradilla, dan Riza Oktaviana, terima kasih atas kerjasamanya;
9. kakak-kakak angkatan, Dia Qori Yaswinda, Arlina Mustika Sari, Nidaul Hikmah, terima kasih atas masukan, saran, serta dukungannya;
10. teman-teman terbaikku Izzatul Munawwarah, Nur Hayati, Dwi Erlinda dan Putri Yulia Pramesti, terimakasih atas semua dukungan, doa, serta semangat kepada saya;
11. teman-teman KKN 127 Siti Romlah, Galistyanissa Wirastika, Esterina Danar P.P., Yolana Aprilia, Ima Fatmawati, Samsul Arifin, Wisnu Putra Citayasa, Molyadi, Cahyadita Arif Ramadan, yang saling memotivasi dan saling mendoakan satu sama lain;
12. teman-teman seperjuangan angkatan 2012 Jurusan Biologi Universitas Jember yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu;
13. semua pihak yang telah memberikan sumbangan tenaga dan pikiran yang tidak dapat disebutkan satu persatu oleh penulis dalam kelancaran penulisan skripsi ini.

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

Jember, 01 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	2
<b>1.3 Batasan Masalah</b> .....	3
<b>1.4 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.5 Manfaat Penelitian</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 LDL (<i>Low Density Lipoprotein</i>) Serum Darah</b> .....	4
<b>2.2 Struktur Anatomi dan Histologi Arteri Koronaria</b> .....	5
<b>2.3 Estrogen dan Perannya terhadap Kadar LDL dan Struktur         Histologi Arteri Koronaria</b> .....	7
<b>2.4 Struktur dan Manfaat Kandungan Fitoestrogen dalam         Tempe Kedelai</b> .....	11

2.5 Hipotesis .....	14
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>15</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	15
3.2 Alat dan Bahan.....	15
3.3 Rancangan Penelitian .....	17
3.4 Prosedur Penelitian.....	18
3.5 Metode Penelitian .....	19
3.5.1 Persiapan Hewan Uji .....	19
3.5.2 Ovariectomi Mencit.....	19
3.5.3 Pembuatan Ekstrak Tepung Tempe Kedelai.....	20
3.5.4 Perlakuan Hewan Uji .....	20
3.5.5 Uji Kadar LDL.....	21
3.5.6 Pengambilan Organ Jantung Mencit.....	22
3.5.7 Pembuatan Preparat Histologi Arteri Koronaria.....	22
3.6 Parameter Penelitian .....	24
3.7 Analisis Data.....	24
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>25</b>
4.1 Pengaruh Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Kadar LDL Serum Darah Mencit Strain Swiss Webster Ovariectomi.....	25
4.2 Pengaruh Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Ketebalan Dinding Arteri Koronaria Mencit Strain Swiss Webster Ovariectomi .....	29
<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>36</b>
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran .....	36
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>37</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>42</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Hasil analisis kuantitatif senyawa isoflavon tepung kedelai dan tepung tempe dalam kg bahan .....	13
4.1 Rata-rata kadar LDL serum darah mencit strain Swiss Webster ovariektomi pasca pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 10, 20, dan 30 hari .....	24
4.2 Rata-rata ketebalan dinding arteri koronaria mencit strain Swiss Webster ovariektomi pasca pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 10, 20, dan 30 hari .....	28

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Struktur dan komposisi kimia LDL.....	4
2.2 Anatomi arteri koronaria .....	6
2.3 Penampang melintang arteri koronaria normal pada tikus .....	7
2.4 Struktur senyawa estrogen.....	8
2.5 Kerusakan endotel akibat LDL-oks pada tunika intima .....	10
2.6 Perkembangan plak aterosklerosis .....	11
2.7 Struktur genistein dan 17 -estradiol.....	13
3.1 Prosedur penelitian .....	18
3.2 Prosedur pengukuran kadar LDL .....	21
4.1 Penampang melintang preparat arteri koronaria mencit pasca ovariektomi perlakuan 10 hari .....	33

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Penentuan dosis ekstrak tepung tempe kedelai .....	42
B. Hasil uji normalitas data pengaruh ekstrak tepung tempe kedelai terhadap kadar LDL serum darah mencit.....	43
C. Hasil analisis <i>One Way</i> ANOVA dan uji Duncan pengaruh dosis ekstrak tepung tempe kedelai terhadap kadar LDL serum darah mencit .....	44
D. Analisis uji <i>One Way</i> ANOVA dan uji Duncan pengaruh lama pemberian hari terhadap kadar LDL serum darah mencit.....	47
E. Hasil analisis GLM ( <i>General Linear Model</i> ) <i>Repeated Measures</i> kadar LDL serum darah mencit .....	50
F. Hasil uji normalitas data pengaruh ekstrak tepung tempe kedelai terhadap ketebalan arteri koronaria mencit.....	51
G. Hasil analisis <i>One Way</i> ANOVA dan uji Duncan pengaruh dosis ekstrak tepung tempe kedelai terhadap ketebalan arteri koronaria mencit.....	52
H. Analisis uji <i>One Way</i> ANOVA dan uji Duncan pengaruh lama pemberian hari terhadap ketebalan arteri koronaria mencit.....	55
I. Hasil analisis GLM ( <i>General Linear Model</i> ) <i>Repeated Measures</i> ketebalan arteri koronaria mencit.....	58
J. Preparat penampang melintang arteri koronaria mencit ovariektomi pasca pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 10 hari.....	59
K. Preparat penampang melintang arteri koronaria mencit ovariektomi pasca pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 20 hari.....	60
L. Preparat penampang melintang arteri koronaria mencit ovariektomi pasca pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 30 hari.....	61
M. Hasil uji normalitas dan <i>One Way</i> ANOVA berat badan mencit.....	62



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit jantung koroner merupakan penyakit yang menyebabkan kematian sekitar 15 juta jiwa atau sekitar 30% dari total penyebab kematian, dan diperkirakan meningkat mencapai 40% pada tahun 2020. Salah satu penyebabnya adalah aterosklerosis (WHO, 2011). Aterosklerosis merupakan penyakit kardiovaskuler yang ditandai dengan penebalan dinding arteri akibat pembentukan plak lemak atau sering disebut plak ateromatosa, dan dapat menimbulkan gangguan aliran arteri (Suryohudono, 2002). Gangguan aliran arteri berakibat pada ketidakseimbangan suplai oksigen, sehingga menyebabkan *infark miokardium*, yang ditandai dengan penurunan kontraktilitas jantung dan nekrosis jaringan (Leonard, 2007).

Aterosklerosis dapat diakibatkan oleh peningkatan kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) serum darah, salah satunya disebabkan oleh penurunan kadar hormon estrogen pada wanita menopause. Peran estrogen dapat mempengaruhi metabolisme lipid melalui penghambatan sintesis apoB-100 yang merupakan protein utama pembentuk LDL. Kadar estrogen yang rendah pada wanita menopause dapat meningkatkan kadar apoB-100, sehingga dapat menjadi prekursor tingginya kadar LDL (Szafran and Smielak, 1998). LDL yang meningkat akan mengakibatkan LDL teroksidasi juga meningkat dan dapat membentuk plak ateromatosa pada dinding pembuluh darah (Berg and Tymoczko, 2002). Menurut Suhargo (2008), mencit yang diovariektomi selama 20 hari menunjukkan kadar LDL serum darah yang lebih tinggi dibandingkan mencit tanpa ovariektomi.

Kadar estrogen yang rendah pada wanita menopause, dapat diatasi dengan terapi yang lebih murah dan efektif untuk mencegah aterosklerosis, yaitu dengan pemanfaatan estrogen eksogen yang berasal dari kedelai. Kedelai mengandung

senyawa fitoestrogen berupa isoflavon (Hidayati, 2003). Isoflavon kedelai banyak ditemukan dalam bentuk genistein, yang memiliki struktur mirip 17 $\beta$ -estradiol pada mamalia dan bersifat estrogenik (Kim and Moustaid, 2000). Menurut Rathel *et al.* (2005), genistein mampu berikatan dengan reseptor estrogen pada endotel pembuluh darah untuk membentuk zat NO (*Nitric Oxide*) yang dapat menyebabkan relaksasi otot polos pembuluh darah.

Fitoestrogen dapat diperoleh dari tempe yang merupakan produk makanan hasil fermentasi kedelai. Proses fermentasi kedelai terbukti dapat meningkatkan kandungan isoflavon (Cahyadi, 2007). Astuti (1999) melaporkan, bahwa kandungan total isoflavon pada tepung tempe kedelai lebih tinggi yaitu sebanyak 77,98 mg/100 g berat kering (BK) dibandingkan pada tepung kedelai yaitu sebanyak 22,93 mg/100 g berat kering (BK).

Mustofa *et al.* (2014) membuktikan, bahwa ekstrak cabe jawa dosis 10 mg/kg berat badan (BB) yang mengandung flavonoid diberikan selama 28 hari dapat menurunkan kadar LDL serum darah dan ketebalan dinding arteri koronaria tikus jantan strain Wistar yang diberi diet kuning telur 1 cc/hari. Dibuktikan pula oleh Nurhalida *et al.* (2015), bahwa pemberian ekstrak natto kedelai hitam (fermentasi dari bakteri *Bacillus subtilis*) pada konsentrasi 400 mg/ml dapat menurunkan jumlah *foam cell* dan ketebalan dinding aorta mencit strain Swiss Webster model aterosklerosis. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai efek pemberian ekstrak tepung tempe kedelai terhadap kadar LDL serum darah dan struktur histologi arteri koronaria mencit (*Mus musculus*) strain Swiss Webster ovariektomi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian ekstrak tepung tempe kedelai mampu menurunkan kadar LDL serum darah dan ketebalan dinding arteri koronaria mencit strain Swiss Webster ovariektomi?

2. Berapakah dosis dan lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai yang mampu menurunkan kadar LDL serum darah dan ketebalan dinding arteri koronaria mencit strain Swiss Webster ovariektomi?

### **1.3 Batasan Masalah**

Pada penelitian ini pengamatan arteri koronaria dilakukan pada daerah subepicardial jantung.

### **1.4 Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui apakah pemberian ekstrak tepung tempe kedelai mampu menurunkan kadar LDL serum darah dan ketebalan dinding arteri koronaria mencit strain Swiss Webster ovariektomi.
2. Mengetahui dosis dan lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai yang mampu menurunkan kadar LDL serum darah dan ketebalan dinding arteri koronaria mencit strain Swiss Webster ovariektomi.

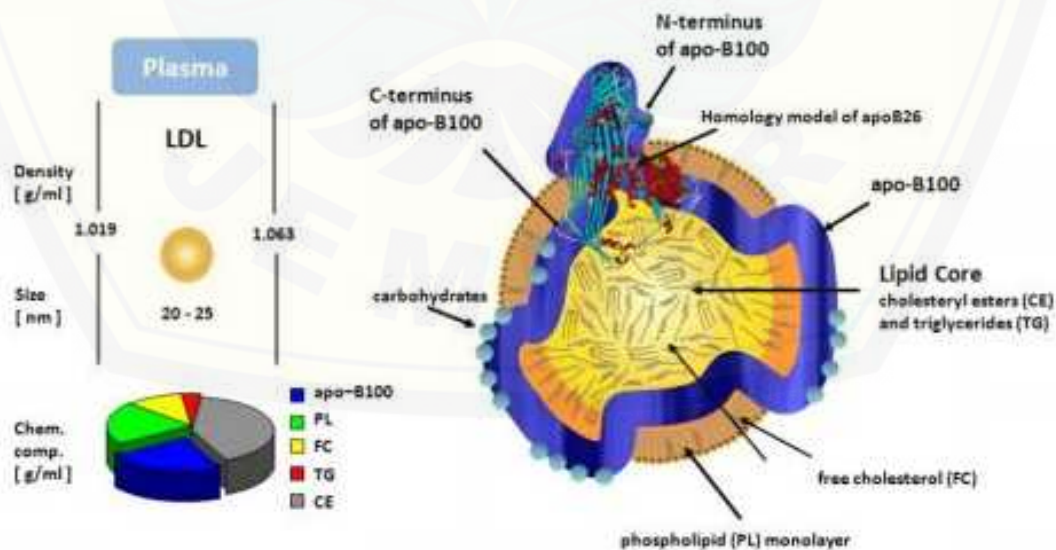
### **1.5 Manfaat**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang pemanfaatan tempe kedelai sebagai salah satu terapi alami hormon estrogen eksogen pada wanita menopause, dan tidak hanya mengandung nilai gizi tinggi tetapi juga dapat menjadi alternatif agen anti aterosklerosis yang murah dan efektif.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 LDL (*Low Density Lipoprotein*) Serum Darah

Sebagian besar lipid bersifat non polar atau relatif tidak larut dalam plasma sehingga harus terikat pada protein yang disebut apoprotein, gabungan apoprotein dengan lipid disebut lipoprotein. Salah satu lipoprotein plasma adalah LDL (Murray *et al.*, 1996). LDL berbobot molekul kecil dengan diameter 22-28 nm dan kepadatan 1,019-1,063 g/ml, di bagian luarnya terdapat apoprotein apo-B100 sebagai pemisah antara lipid dengan lingkungan berair, sehingga dapat larut di dalam plasma (Mursito, 2002). Inti lipid bersifat hidrofobik yang terdiri atas 1.600 molekul kolesterol ester (CE) dan 170 molekul trigliserida (TG). Inti lipid dikelilingi oleh lapisan tunggal yang terdiri atas sekitar 700 molekul fosfolipid (PL), fosfatidil kolin (FC), beberapa trigliserida (TG), serta 600 molekul kolesterol bebas (Prassl and Laggner, 2012). Struktur dan komposisi kimia LDL dapat dilihat pada Gambar 2.1.

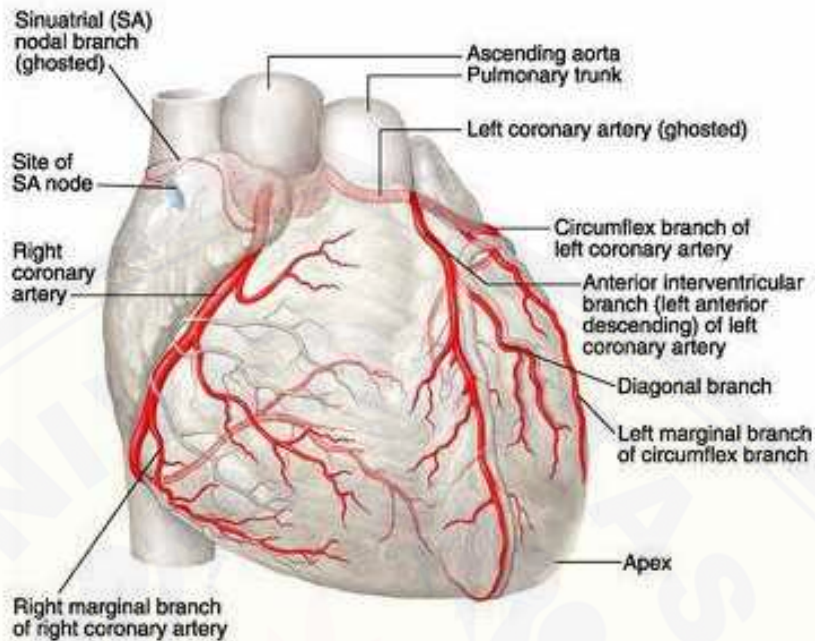


Gambar 2.1 Struktur dan komposisi kimia LDL (Prassl and Laggner, 2012)

LDL dapat diproduksi langsung oleh hepar dan sebagian merupakan produk akhir dari metabolisme VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) di dalam hepar (Mayes, 1996). Perubahan VLDL menjadi LDL dimulai dengan proses hidrolisis oleh enzim LPL (*Lipoprotein Lipase*) yang menempel pada dinding kapiler hepar dan pelepasan trigliserida dari VLDL, sehingga dapat membentuk VLDL *remnant* yang akan terus didegradasi sampai terbentuk LDL. LDL berfungsi membawa trigliserida, fosfolipid, dan dapat membawa 2/3 kolesterol dari hepar ke jaringan lain di dalam tubuh (Murray, 1996). Sintesis kolesterol sebagian besar di dalam hepar, dan sebagian diabsorpsi dari usus halus (Nilawati *et al*, 2008). Kolesterol yang diabsorpsi dari usus halus akan diangkut menuju hepar oleh lipoprotein kilomikron, kemudian akan bergabung dengan kolesterol dari hepar (Tomkins and Daphne, 2012). Kolesterol merupakan komponen utama sel-sel otak dan jaringan syaraf, penyusun membran sel, produksi hormon seks, hormon korteks adrenal, vitamin D dan sintesis empedu (Ganong, 1995).

## 2.2 Struktur Anatomi dan Histologi Arteri Koronaria

Arteri koronaria dan percabangan utamanya terdapat di permukaan jantung, pada lapisan subepicardial yang berfungsi mengangkut darah, nutrien, dan oksigen ke dalam jaringan jantung. Jantung mendapat vaskularisasi dari *right artery coronary* yang terletak diantara atrium kanan dan *left artery coronary* yang terletak diantara atrium kiri, yang berasal dari *aorta ascendens*. *Right marginal branch* adalah cabang yang terbesar dari *right artery coronary* dan berjalan sepanjang pinggir bawah untuk mencapai apex. *Left artery coronary* memiliki beberapa cabang antara lain *circumflex branch*, *anterior interventricular*, *diagonal branch*, dan *left marginal branch*. *Left artery coronary* merupakan cabang yang lebih besar dibandingkan dengan *right artery coronary* (Raja *et al.*, 2001). Anatomi arteri koronaria dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Anatomi arteri koronaria (Sumber: Anatomy Learning Resources, 2015)

Secara umum, arteri terdiri atas 3 lapisan yaitu tunika intima, tunika media dan tunika adventisia. Tunika intima adalah lapisan paling dalam yang tersusun atas selapis sel endotel pipih dan dibawahnya terdapat selapis tipis subendotel jaringan ikat longgar. Endotel membentuk selapis sel yang *continue* dan dihubungkan oleh *tight junction* dan *gap junction* (Junqueira and Carneiro, 2007). Sifat endotel antara lain selektif permeabel dan dapat membentuk zat vasoaktif yang bersifat vasodilatasi seperti *prostasiklin* dan *endotelin* (Japardi, 2002).

Pembatas antara tunika intima dan tunika media adalah lamina elastika interna, yang terdiri atas serat elastin, celah (*fenestra*) yang memungkinkan terjadinya difusi zat untuk menutrisi bagian sel di dalamnya. Tunika media adalah lapisan tengah arteri yang tersusun atas lapisan konsentris sel-sel otot polos secara berpilin, diantara sel-sel otot polos terdapat berbagai serat elastin, retikular kolagen tipe III, glikoprotein, proteoglikan, dan memiliki lamina elastika eksterna yang membatasi dengan tunika adventisia. Tunika adventisia yaitu lapisan luar jaringan yang terdiri atas serat

kolagen tipe I dan serat elastin (Junqueira and Carneiro, 2007). Penampang melintang arteri koronaria normal pada tikus dapat dilihat pada Gambar 2.3.



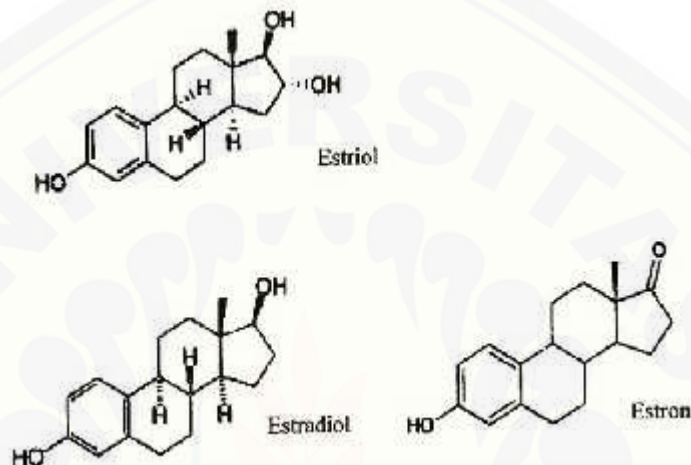
Gambar 2.3 Penampang melintang arteri normal pada tikus, TI (Tunica Intima), TM (Tunica Media), dan TA (Tunica Adventisia), perbesaran 1000x (Sumber: Anderson, 2013)

### 2.3 Peran Estrogen terhadap Kadar LDL dan Struktur Histologi Arteri Koronaria

Estrogen merupakan salah satu hormon steroid yang diproduksi oleh sel teka interna dan sel granulosa folikel ovarium, korpus luteum, plasenta, dan sedikit diproduksi oleh korteks adrenal (Ganong, 1995). Estrogen akan berikatan dengan dua reseptor yang dikenal sebagai RE $\alpha$  dan RE $\beta$  yang terdistribusi pada jaringan yang berbeda. RE $\alpha$  banyak terdapat pada jaringan reproduksi seperti ovarium, endometrium, dan payudara, sedangkan RE $\beta$  lebih banyak terdistribusi diluar jaringan reproduksi seperti pada jaringan otak, tulang, kandung kemih, hepar, dan endotel pembuluh darah (Peach, 2001).

Efek estrogenik estrogen dimulai setelah berikatan dengan reseptor di dalam sitosol. Kompleks ikatan estrogen dengan reseptor akan masuk ke dalam inti sel dan menempel pada DNA untuk menginduksi sintesis dan ekspresi mRNA berupa sintesis protein sehingga dapat menimbulkan respon seluler pada sel target (Ganong, 2003).

Estrogen terdapat dalam bentuk estradiol, estron, dan estriol. Estradiol merupakan estrogen dominan di dalam tubuh dan mempunyai potensi estrogenik 12 kali kekuatan estron dan 80 kali lebih besar daripada estriol (Guyton, 1996). Struktur senyawa estrogen dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur senyawa estrogen (Guyton, 1996)

Menurut Wratsangka (1999), estrogen dapat mengurangi risiko penyakit jantung koroner sampai 50% pada wanita yang terbukti mengalami penyumbatan arteri koronaria akibat aterosklerosis. Mekanisme kerja estrogen tersebut antara lain memicu produksi zat seperti *prostasiklin* dan *endotelin* dari sel-sel endotel pembuluh darah. *Prostasiklin* berperan dalam proses vasodilatasi sedangkan *endotelin* sebagai zat relaksasi otot polos pembuluh darah.

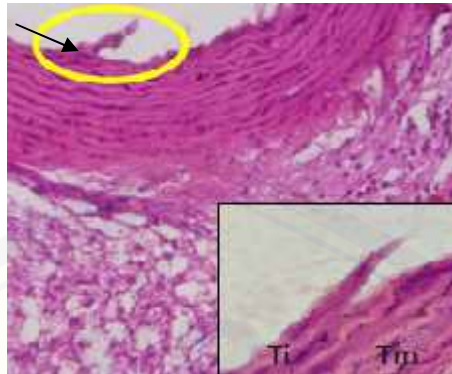
Risiko penyakit kardiovaskuler dapat meningkat pada wanita yang mengalami menopause akibat penurunan fungsi ovarium yang menyebabkan defisiensi hormon estrogen tubuh (Kenny *et al.*, 2000). Salah satu penyakit kardiovaskuler adalah aterosklerosis yang dapat disebabkan oleh tingginya kadar LDL (Anwar, 2004). Estrogen dapat mengatur metabolisme lipid melalui penghambatan sintesis apoB-100 yang merupakan protein utama pembentuk LDL di dalam jaringan hepar. Kadar



estrogen yang rendah pada wanita menopause dapat meningkatkan kadar apoB-100, sehingga dapat menjadi prekursor tingginya kadar LDL (Szafran and Smielak, 1998).

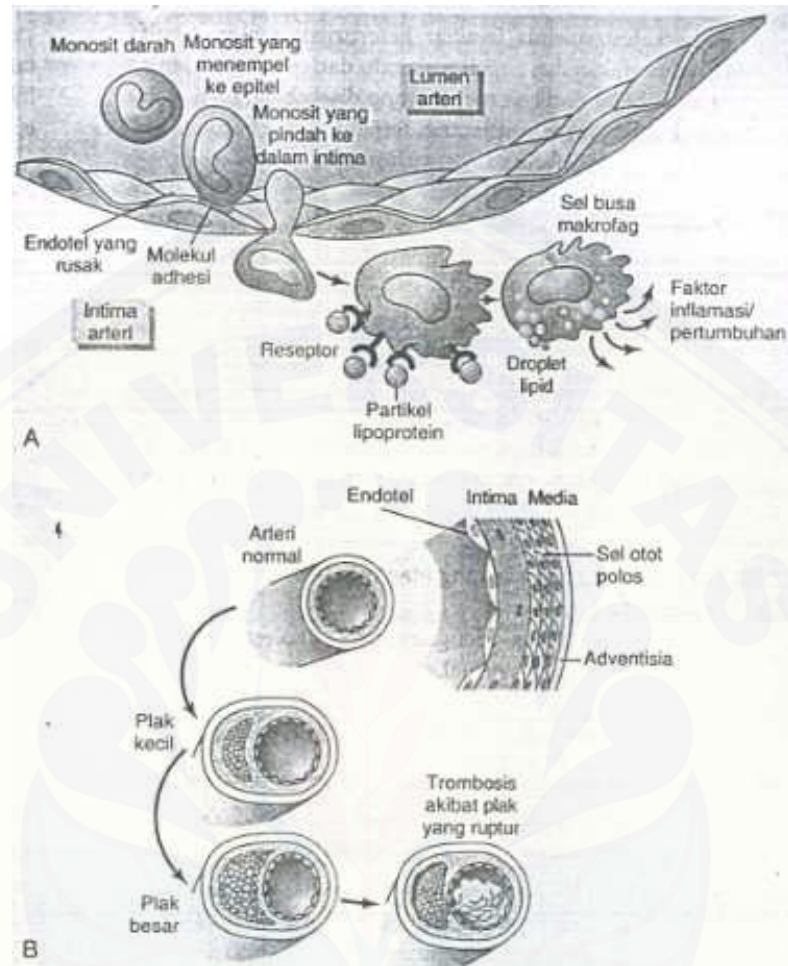
Aterosklerosis merupakan penebalan dinding arteri akibat terbentuknya plak lemak atau plak ateromatosa yang dapat menyebabkan penyakit jantung koroner (Anwar, 2004). Aterosklerosis menyebabkan suplai oksigen terganggu yang berakibat pada penurunan kontraktilitas jantung dan nekrosis jaringan (Leonard, 2007). Menurut Sargowo (2001), kadar LDL yang meningkat akan disertai peningkatan LDL teroksidasi yang bersifat aterogenik bagi pembuluh darah salah satunya pada arteri koronaria. LDL dapat dioksidasi oleh ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang merupakan senyawa turunan oksigen yang lebih reaktif dibandingkan oksigen pada kondisi dasar dan terdiri atas molekul oksigen tanpa pasangan elektron, sehingga rentan untuk mengikat LDL menjadi LDL yang teroksidasi atau LDL-oks (Chabbra, 2009).

LDL-oks dapat merusak endotel dengan cara merangsang pengeluaran molekul *adhesi* dan zat kemoatraktan seperti *kemokin* sehingga menyebabkan disfungsi endotel (Japardi, 2002). LDL-oks juga dapat menurunkan kemampuan endotel untuk memproduksi *nitric oxide* yang berperan dalam relaksasi otot polos pembuluh darah (Guyton dan Hall, 2014). Fanny *et al.* (2012) membuktikan, bahwa diet hiperkolesterol menggunakan minyak babi sebanyak 2 g, asam kolat 0,02 g, dan kuning telur puyuh 1 g secara *gavage* selama 14 hari pada tikus jantan strain Wistar menyebabkan kerusakan endotel pembuluh darah akibat adanya respon inflamasi oleh LDL-oks. Kerusakan endotel dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Kerusakan endotel akibat LDL-oks tampak tidak rata pada tunika intima, ditunjukkan dengan tanda panah, perbesaran 1000x (Sumber: Fanny *et al.*, 2012)

Menurut Wijaya (1995), peningkatan kadar LDL-oks dapat merangsang sel endotel untuk mensekresikan zat MCP-1 (*Monocyte Chemotactic Protein*) yang dapat menyebabkan *adhesi* monosit pada endotel, selanjutnya akan dirangsang oleh M-CSF (*Macrophage Colony Stimulating Factor*) untuk berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag akan memfagosit LDL-oks sehingga terbentuk *foam cell*, yang semakin lama dapat membentuk plak ateromatosa. Plak ateromatosa mengakibatkan penebalan pada dinding arteri dan penyempitan lumen arteri yang dapat menyebabkan penyumbatan pembuluh darah sehingga dapat menjadi salah satu faktor terjadinya penyakit jantung koroner. Proses terbentuknya aterosklerosis dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Terbentuknya aterosklerosis A) Proses inflamasi akibat LDL-oks, B) Tahap pembentukan plak aterosklerosis (Sumber: Guyton dan Hall, 2014)

#### 2.4 Struktur dan Manfaat Kandungan Fitoestrogen dalam Tempe Kedelai

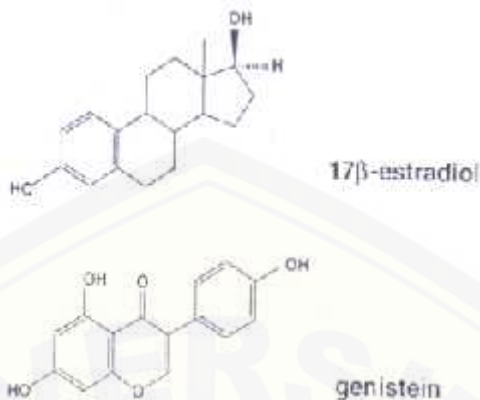
Tempe merupakan produk yang dihasilkan dari bahan kedelai yang difermentasi. Produk kedelai fermentasi antara lain tempe, kecap, taucu, dan oncom, sedangkan kedelai tanpa fermentasi antara lain tahu, tauge, susu kedelai, dan tepung kedelai. Fermentasi adalah proses oksidasi karbohidrat anaerob, dan merupakan hasil kegiatan beberapa jenis mikroorganisme (Koswara, 1995).

Salah satu jenis mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi kedelai menjadi tempe yaitu *Rhizopus oligosporus* yang dapat mengubah bentuk senyawa

*glikosida* menjadi bentuk senyawa *aglikon*. *Glikosida* merupakan senyawa yang terkonjugasi dengan senyawa gula melalui suatu ikatan glukosida yang dipertahankan oleh tanaman dalam bentuk inaktif sebagai antioksidan, sedangkan *aglikon* dihasilkan dari pelepasan glukosa dari ikatan glikosida melalui proses hidrolisa pada proses fermentasi (Anderson and Carner, 1997). Proses fermentasi tersebut menghasilkan senyawa-senyawa isoflavon dalam bentuk bebas (*aglikon*) dan senyawa faktor-II (6,7,4'-trihidroksiisoflavon) yang berfungsi sebagai antikontriksi pada pembuluh darah sehingga dapat mengurangi terbentuknya plak lemak (Pawiroharsono, 2007).

Fitoestrogen merupakan metabolit sekunder yang berasal dari tumbuh-tumbuhan yang memiliki struktur mirip dengan estrogen. Fitoestrogen memiliki dua gugus hidroksil (-OH) yang berjarak 11-11,5 Å sama dengan estrogen sehingga dapat menimbulkan efek estrogenik yang sama (Fitriasari *et al.*, 2007). Senyawa fitoestrogen antara lain berupa *Isoflavon*, *flavon*, *coumestans*, *triterpene glycosides*, dan *acyclics* (Hidayati, 2003).

Adanya kandungan zat aktif isoflavon seperti *daidzein*, *genistein*, *glisitein* dan *isoflavon faktor-II* pada tempe dapat bersifat estrogenik (Pawiroharsono, 2007). Afinitas isoflavon terhadap reseptor estrogen lebih rendah jika dibandingkan dengan estrogen tubuh, sehingga diperlukan jumlah asupan isoflavon yang lebih banyak untuk memperoleh efek estrogenik (Miksicek, 1994). Genistein kedelai memiliki struktur yang mirip dengan estrogen mamalia yaitu 17-estradiol seperti pada Gambar 2.7, sehingga dapat menduduki reseptor endogen tubuh dan dapat mendukung substansi dalam meregulasi profil lipid plasma (Kim and Moustaid, 2000). Afinitas genistein berikatan dengan reseptor estrogen pada sistem kardiovaskuler lebih besar dibandingkan reseptor estrogen (Morito *et al.*, 2001).



Gambar 2.7 Struktur genistein dan 17 $\beta$ -estradiol (Sumber: Kim and Moustaid, 2000)

Isoflavon dapat membantu menurunkan kadar kolesterol melalui suatu mekanisme yaitu meregulasi metabolisme lipid pada jaringan adiposa dan hepatosit dengan cara mengaktifkan enzim LPL (*Lipoprotein Lipase*) pada jaringan adiposa sehingga pencernaan dan ekskresi lipid berlangsung lebih cepat, sedangkan pengaruh isoflavon dalam jaringan hepatosit dapat meningkatkan sintesis apolipoprotein untuk HDL (*High Density Lipoprotein*) yaitu apoA-I dan apoA-II (Szafran and Smielak, 1998).

HDL sebagian besar disintesis di hepar, namun juga disintesis di usus halus. HDL dari usus halus berperan membawa kolesterol dari jaringan tubuh menuju hepar untuk diubah menjadi asam empedu dan selanjutnya disimpan atau dibuang melalui usus besar, sehingga HDL memegang peranan penting dalam mengatur jumlah kolesterol (Soetardjo, 1990). Isoflavon dapat menstimulasi suatu aktivitas SERBP-2 (*Sterol Regulatory Element Binding Protein*) pada hepar yang dapat menghambat aktivitas enzim HMG-CoA (3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA) reduktase. HMG-CoA reduktase merupakan enzim yang dapat mengubah Acetyl CoA menjadi mevalonat dalam serangkaian pembentukan kolesterol, sehingga sintesis kolesterol menjadi menurun (Aparicio *et al.*, 2008).

Astuti (1999) melaporkan, bahwa kandungan total isoflavon pada tepung tempe kedelai lebih tinggi dibandingkan tepung kedelai. Pada tepung tempe kedelai

ditemukan sebanyak 77,98 mg/100 g Bk dan pada tepung kedelai ditemukan sebanyak 22,93 mg/100 g Bk. Safrida (2008) membuktikan, bahwa pemberian tepung kedelai dan tepung tempe sebanyak 10 g/100 g BB/hari selama 28 hari menunjukkan adanya peningkatan hormon estrogen pada tikus. Hasil analisis kuantitatif kandungan total isoflavon tepung kedelai dan tepung tempe dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Hasil analisis kuantitatif senyawa isoflavon tepung kedelai dan tepung tempe dalam kg bahan

Komponen	Tepung kedelai (mg/kg Bk)	Tepung tempe (mg/kg Bk)
Daidzein	113,63	555,55
Genistein	65,15	250,65
Glisitein	27,59	95,04
Total Isoflavon	206,37	901,24

Sumber: Safrida (2008).

## 2.5 Hipotesis

Adapun hipotesis penelitian ini yaitu:

1. Pemberian ekstrak tepung tempe kedelai mampu menurunkan kadar LDL serum darah dan ketebalan dinding arteri koronaria mencit strain Swiss Webster ovariektomi.
2. Semakin tinggi dosis dan lama perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai, semakin menurunkan kadar LDL serum darah dan ketebalan dinding arteri koronaria.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2015 sampai Maret 2016, di Laboratorium Zoologi dan Botani Jurusan Biologi FMIPA (Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam) Universitas Jember, Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember serta Laboratorium PA (Patologi Anatomi) Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat persiapan, alat OVX (Ovariectomi), alat ekstraksi tepung tempe kedelai, alat pengukuran kadar LDL serum darah, dan alat pembuatan preparat histologi arteri koronaria mencit. Alat persiapan meliputi kandang hewan percobaan mencit berbahan dasar plastik dan penutup dari ram kawat besi, timbangan analitik 200 x 0,1 gram (*Ohaus*), jarum sonde lambung ujung tumpul berukuran 20 gauge 5 cm, dan botol minum mencit. Alat OVX meliputi papan dan alat seksi, *sput injection (Terumo Syringe 1 cc/ml)* 0,45 x 13 mm, *sput injection (Terumo Syringe 3 ml)* 0,65 x 32 mm, pinset (*Yamako*), Silet (*Gold*), ekskavator (*SMIC*), jarum sutura nomor 2 (*One Med*), klem arteri (*One Med*), klem *kocher (One Med)*, klem *masquito (One Med)*, pinset sirugis (*One Med*), pinset anatomi (*One Med*), *needle holder (One Med)*, gunting balutan (*One Med*), gunting *melzenbaum (One Med)*, gunting runcing (*One Med*), dan *paratus case*.

Alat ekstraksi tepung tempe kedelai antara lain *beaker glass 1000 ml (Iwaki pyrex)*, gelas ukur 100 ml, *beaker glass 200 ml (Iwaki pyrex)*, botol *scott 500 ml (Duran)*, botol *scott 100 ml (Iwaki pyrex)*, pipet tetes, spatula, corong plastik kecil,

*waterbath*, cawan porselen 75 cc, saringan tepung 70 *mesh* (*Retsch*), baki *stainless steel*, baki plastik, sendok plastik, telenan, cup kecil, dan pisau. Sedangkan alat pengukuran kadar LDL serum darah meliputi pipa kapiler, eppendorf, tabung reaksi, pipet mikro, sentrifuge, dan spektrofotometer. Alat pembuatan preparat histologi arteri koronaria mencit meliputi gelas objek, gelas penutup (*cover glass*), *rotary microtom*, botol reagen, oven, mikroskop opti lab '*Olympus*', *staining jar*, flakon, holder, scalpel, dan *hot plate*.

### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan pemeliharaan hewan uji, bahan OVX (Ovariektomi), bahan ekstraksi tepung tempe kedelai, bahan pengukuran kadar LDL serum darah, dan bahan pembuatan preparat histologi arteri koronaria mencit. Bahan pemeliharaan hewan uji meliputi mencit betina strain Swiss Webster umur 90 hari yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT-UGM) Yogyakarta, pakan pellet (Turbo), aquades, ekstrak tepung tempe kedelai, serbuk gergaji kayu, dan sekam padi. Bahan OVX meliputi mencit betina strain Swiss Webster, ketamil 10%, *xyla*, benang *silk* nomor 3 (*One Med*), benang *catgut* nomor 3, *betadine* (*Povidone Iodine*) 10%, alkohol 70% (*Mediss*), antibiotik (*Levofloxacin*), cairan infus 0,9% '*Sodium Chloride*' (*Cotsu-NS*), kasa steril, tisu, *gloves*, masker, sekam padi steril, dan serbuk gergaji kayu steril.

Bahan ekstraksi tepung tempe kedelai meliputi tempe kedelai, kertas saring, etanol 70%, tisu, dan kain saring. Bahan pengukuran kadar LDL serum darah meliputi darah yang diambil dari organ mata mencit, reagen LDL dan reagen kolesterol (fluitest® CHOL). Bahan pembuatan preparat histologi arteri koronaria meliputi *chloroform*, larutan fiksatif PBS (*Phosphate Buffer Saline*) formalin, parafin, NaCl 0,9, gliserin, albumin, xilol, alkohol bertingkat, alkohol absolut, pewarna HE (*Haematoxylin-Eosin*) dan entelan.



### 3.3 Rancangan Penelitian

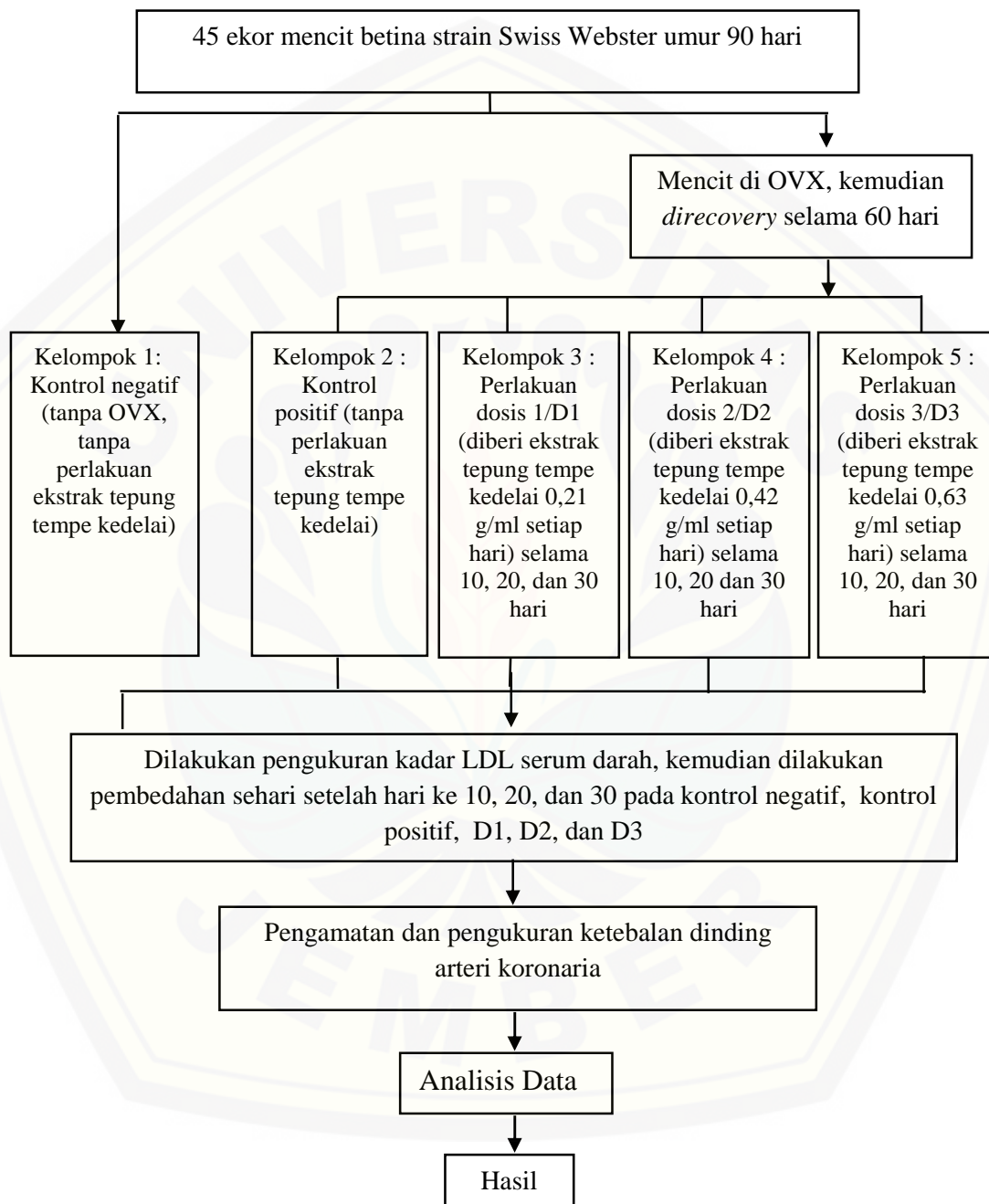
Penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental murni yang dilakukan di laboratorium secara *in vivo* dengan pola RAL (Rancangan Acak Lengkap) faktorial *Posttest Only Control Group Design*. Bertujuan untuk menguji pengaruh perlakuan pada kelompok uji yang dibandingkan dengan kelompok kontrol. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis pemberian ekstrak tepung tempe kedelai, sedangkan variabel terikatnya adalah kadar LDL serum darah dan struktur histologi arteri koronaria mencit pasca ovariektomi.

Pada penelitian ini digunakan 45 ekor mencit strain Swiss Webster ovariektomi umur 90 hari. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok, dengan tiga kali pengulangan yaitu dengan pembagian sebagai berikut:

- Kelompok 1: Kelompok kontrol negatif (mencit tanpa ovariektomi dan tanpa perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai).
- Kelompok 2: Kelompok kontrol positif (mencit ovariektomi dan tanpa perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai).
- Kelompok 3: Kelompok perlakuan dosis 1/D1 (mencit ovariektomi dan diberi perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai dosis 0,21 g/ml/hari selama 10, 20, dan 30 hari).
- Kelompok 4: Kelompok perlakuan dosis 2/D2 (mencit ovariektomi dan diberi perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai dosis 0,42 g/ml/hari selama 10, 20, dan 30 hari).
- Kelompok 5: Kelompok perlakuan dosis 3/D3 (mencit ovariektomi dan diberi perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai dosis 0,63 g/ml/hari selama 10, 20, dan 30 hari).

### 3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian secara keseluruhan, dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

### 3.5 Metode Penelitian

#### 3.5.1 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian adalah 45 ekor mencit strain Swiss Webster umur 90 hari yang diovariectomi dan diadaptasikan di dalam kandang berukuran  $34 \times 25 \times 12 \text{ cm}^3$  selama 60 hari masa *recovery*. Kandang berbahan dasar plastik dan penutup dari ram kawat besi, dengan alas sekam padi dan serbuk gergaji kayu yang steril. Pemberian pakan standar sebanyak 1/10 dari berat badan (BB) mencit dengan menggunakan pakan pellet (Turbo) dan diberi minum aquades secara *ad libitum*.

#### 3.5.2 Ovariectomi Mencit

Prosedur ovariectomi dilakukan pada mencit berusia 90 hari yang dibius dengan *ketamil* 10% dan *xyla* perbandingan 1:1 dengan dosis 0,05 ml secara intramuskular. Mencit dibaringkan secara terlentang pada papan operasi dan diolesi dengan air sabun antibakteri serta *betadine* pada bagian medial perut, kemudian dilakukan pencukuran rambut pada bagian medial perut dengan menggunakan silet secara perlahan. Selanjutnya dilakukan pembedahan hingga lapisan muskulus daerah abdomen terbuka, dilakukan penyayatan dengan menggunakan gunting ujung tumpul dan pinset pada kulit bagian luar (*musculus obliquus abdominis eksternus*) dengan lebar 1,5 cm dan kulit bagian dalam (*musculus obliquus abdominis internus*) dengan lebar 1 cm. Selanjutnya diangkat uterus dan dijepit dengan klem arteri dan diikat antara bagian ujung oviduct dengan ovarium menggunakan benang *silk*, kemudian ovarium dipotong dengan menggunakan gunting secara perlahan. Pematangan ovarium dilakukan pada ovarium kanan dan kiri. Kemudian organ direposisi kembali dalam abdomen dan diberi 0,5 ml larutan *Sodium Chloride* 0,9%.

Setelah ovarium berhasil diangkat, segera dilakukan penutupan pada bagian *musculus obliquus abdominis internus* dengan cara dijahit dengan menggunakan *cutgut chromic* ukuran 3 dengan pola sederhana. Sedangkan untuk menjahit *musculus*

*obliquus abdominis eksternus* digunakan benang *silk* ukuran 3 dan jarum sutura. Luka akibat pembedahan, diolesi dengan betadin pada daerah insisi. Dilakukan injeksi antibiotik (*Levofloxacin*) secara intramuskular pada mencit dengan dosis 0,05 ml serta paracetamol 1 sendok teh/200 ml aquades selama 1 minggu.

### 3.5.3 Pembuatan Ekstrak Tepung Tempe Kedelai

Tepung tempe kedelai yang sudah dihasilkan selanjutnya ditimbang berat kering dan dilarutkan dengan etanol 70% perbandingan 1:4, kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 2 x 24 jam. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtratnya, kemudian dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* selama  $\pm 6$  jam pada suhu  $90^{\circ}\text{C}$  hingga didapatkan filtrat alami tanpa campuran etanol. Filtrat alami yang dihasilkan di letakkan ke dalam cawan porselen dan dimasukkan kedalam *waterbath* pada suhu  $70^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 8$  jam, hingga berat hasil ekstrak konstan.

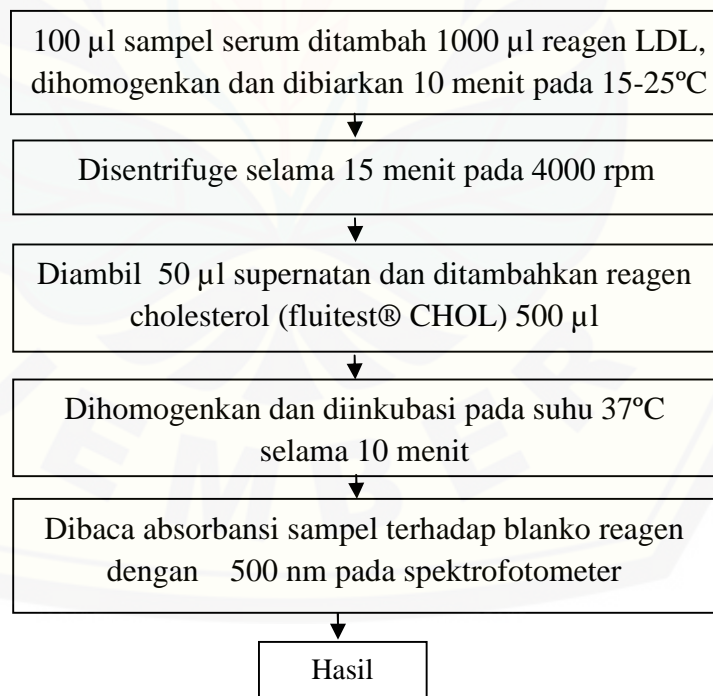
### 3.5.4 Perlakuan Hewan Uji

Pada penelitian ini digunakan 45 ekor mencit betina strain Swiss Webster umur 90 hari. Perlakuan hewan uji yang dilakukan pada penelitian ini yaitu dengan pemberian ekstrak tepung tempe kedelai secara oral (*gavage*), dengan bantuan alat jarum sonde lambung tumpul. Dosis perlakuan ditentukan berdasarkan penelitian Safrida (2008), yaitu dosis harian tikus ovariektomi diberi tepung tempe kedelai 10 g BK/100 g BB yang dikonversi menurut kebutuhan harian mencit dalam bentuk pasta disesuaikan dengan masing-masing berat badan yang dirata-rata kelompok uji, sehingga diperoleh dosis sebesar 0,21 g/ml untuk perlakuan dosis 1 (D1), 0,42 g/ml untuk perlakuan dosis 2 (D2), dan 0,63 g/ml untuk perlakuan dosis 3 (D3). Perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai diberikan setelah mencit *direcovery* selama 60 hari, dan diberikan selama 10, 20, dan 30 hari pada masing-masing dosis. Kemudian dilengkapi dengan kelompok kontrol positif yaitu mencit ovariektomi dan tanpa

pemberian ekstrak tepung tempe kedelai, serta kelompok kontrol negatif yaitu mencit tanpa ovariektomi dan tanpa pemberian ekstrak tepung tempe kedelai, kedua kontrol tersebut hanya diberi pakan standar berupa pellet (Turbo).

### 3.5.5 Uji Kadar LDL

Uji kadar LDL serum darah dilakukan dengan cara pengambilan darah dari organ mata mencit sebanyak 0,8 ml dengan menggunakan pipa kapiler, ditampung dalam eppendorf dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Selanjutnya disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum. Lapisan atas yang bening diambil dengan menggunakan mikropipet dan ditampung dalam eppendorf baru, untuk selanjutnya dianalisis di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember. Prosedur pengukuran kadar LDL serum darah dapat dilihat pada Gambar 3.2 sebagai berikut:



Gambar 3.2 Prosedur pengukuran kadar LDL

Reagen LDL adalah heparin 0,68 g/l, sodium citrate 0,064 mol/l, stabilisers 2%, sedangkan reagen kolesterol adalah kolesterol oxide 200 U/l, pipes buffer pH 90 mmol/l, 4-Aminoantipyrine 0,4 mmol/l, peroxidase 1250 U/l, kolesterol esterase 300 U/l, dan phenol 26 mmol/l.

### 3.5.6 Pengambilan Organ Jantung Mencit

Pengambilan organ jantung dilakukan untuk pembuatan preparat histologi arteri koronaria pada masing-masing sampel yaitu sehari setelah hari ke 10, 20, dan 30 pada kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai D1, D2, dan D3. Pengambilan organ jantung dilakukan dengan cara membedah bagian thorax mencit. Masing-masing organ jantung yang sudah diambil dimasukkan ke dalam larutan fiksatif PBS formalin.

### 3.5.7 Pembuatan Preparat Histologi Arteri Koronaria Mencit

Pembuatan preparat histologi arteri koronaria dilakukan dengan cara pengambilan organ jantung mencit, arteri koronaria terdapat pada lapisan subepicardial jantung. Metode yang digunakan adalah metode parafin dan pewarnaan HE (*Haemotoxylin-Eosin*) yang meliputi langkah sebagai berikut:

#### a. *Fiksasi, Dehidrasi dan Clearing*

Organ jantung yang telah diambil, di cuci dengan NaCl 0,9%, kemudian dimasukkan ke dalam botol flakon yang berisi larutan fiksatif PBS formalin, diamkan selama  $\pm 3$  jam. Organ diambil, kemudian dicuci dengan alkohol 70%, dilakukan proses *dehidrasi* dengan alkohol bertingkat, dari 70%, 80%, 95%, alkohol Absolut I masing-masing selama 30 menit. Kemudian dilanjutkan dengan alkohol absolut dan xilol dengan perbandingan 3:1, 1:1, dan 1:3 masing-masing selama 30 menit. Selanjutnya proses *clearing*  $\pm 2$  jam dengan menggunakan xilol.

b. Infiltrasi dan Penanaman (*Embedding*)

Sebelum melakukan penanaman organ, dilakukan infiltrasi parafin secara bertingkat menggunakan campuran xilol parafin perbandingan 1:3, selanjutnya dimasukkan ke dalam parafin I, masing-masing 30 menit. Dilanjutkan ke dalam parafin II, parafin III masing-masing selama 1 jam. Infiltrasi parafin dilakukan pada suhu 56-58°C. Kemudian, organ jantung ditanam dalam blok parafin yang telah dicairkan di dalam oven, dilakukan dengan cepat sebelum parafin menjadi beku kembali.

c. Penyayatan (*Sectioning*)

Blok yang sudah terbentuk dan membeku direkatkan pada holder kayu menggunakan scalpel, parafin cair, dan bunsen. Organ jantung disayat melintang menggunakan *rotary microtom* dengan ketebalan 5 µm.

d. Perekatan Pita Parafin (*Affixing*)

Hasil sayatan *rotary microtom* diletakkan pada gelas objek yang sebelumnya telah diolesi dengan gliserin dan albumin sebagai perekatnya, kemudian gelas objek ditempatkan pada *hot plate* dengan suhu 4°C selama 24 jam.

e. Pewarnaan (*Staining*)

Preparat jantung yang akan dilakukan pewarnaan terlebih dahulu di deparafinasi menggunakan xilol I & II masing-masing 15-30 menit. Kemudian, dilakukan *hidrasi* menggunakan alkohol bertingkat mulai dari campuran alkohol absolut dan xilol perbandingan 1:3, 1:1, 3:1, alkohol absolut, alkohol 95%, 80%, 70%, 50%, dan aquades masing-masing selama 2 menit. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan menggunakan *Haematoxylin* selama 15 detik, dan dicuci dengan aquades. Selanjutnya dimasukkan ke dalam alkohol 50% dan 70% masing-masing selama 2 menit. Setelah itu dimasukkan ke dalam pewarna *Eosin* selama 10 menit. Kemudian dilanjutkan kembali ke dalam alkohol bertingkat 80%, 95%, alkohol absolut, campuran alkohol absolut xylol 3:1, 1:1, 1:3 masing-masing selama 2 menit, kemudian dimasukkan ke dalam xylol I dan xylol II selama 5 menit.

#### f. Penutupan (*Mounting*)

Irisan diberi entelan kemudian ditutup dengan *cover glass*, dikeringanginkan di atas *hot plate* sampai kering dan tanpa gelembung udara, selanjutnya preparat dapat diamati menggunakan mikroskop (Junqueira and Carneiro, 2007).

### 3.6 Parameter Penelitian

#### 3.6.1 Pengukuran Kadar LDL

Pengukuran kadar LDL dilakukan secara kuantitatif yang diperoleh dari hasil analisis kadar LDL serum darah pada masing-masing sampel.

#### 3.6.2 Pengamatan Arteri Koronaria

Pengamatan arteri koronaria dilakukan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran ketebalan dinding arteri koronaria menggunakan optilab. Pengukuran ketebalan dinding arteri koronaria dilakukan dari tunika intima hingga tunika adventisia, dengan 3 kali pengukuran yaitu 3 posisi yang berlawanan dalam satuan  $\mu\text{m}$  (Mustofa *et al.*, 2014).

### 3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan uji *one way* ANOVA dengan taraf kepercayaan 99% ( $\alpha=0,01$ ), dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) untuk melihat beda nyata antar kelompok uji. Kemudian dilakukan analisis GLM (*General Linear Model*) *Repeated Measures* untuk mengetahui hubungan antara perlakuan yang diberikan dengan lama waktu perlakuan (Steel dan Torrie, 1993).



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

Pemberian ekstrak tepung tempe kedelai pada mencit ovariektomi dapat menurunkan kadar LDL serum darah dan ketebalan dinding arteri koronaria. Pemberian dosis ekstrak tepung tempe kedelai yang mampu menurunkan kadar LDL serum darah dan ketebalan dinding arteri koronaria paling rendah yaitu pada D3 (dosis 0,63 g/ml/hari) dan perlakuan selama 30 hari jika dibandingkan dengan perlakuan selama 10 dan 20 hari. Penurunan rata-rata kadar LDL serum darah dan ketebalan dinding arteri koronaria berjalan dengan semakin tingginya dosis dan semakin lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai.

### 5.2 Saran

Penelitian ini merupakan langkah awal dalam mengkaji potensi ekstrak tepung tempe kedelai sebagai salah satu terapi alami hormon estrogen eksogen pada wanita menopause terkait kadar LDL dan arteri koronaria, sehingga untuk penelitian lebih lanjut;

1. Perlu dilakukan analisis kadar hormon estrogen darah pada mencit.
2. Perlu dilakukan pewarnaan imunohistokimia untuk melihat ekspresi VCAM-1 (*Vascular Cell Adhesion Molecul*) pada pembuatan preparat arteri koronaria sehingga dapat melihat adanya molekul *adhesi* yang menempel pada endotel.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Anatomy Learning Resources. 2015. *Coronary Vessel Dissection*. USA: Duke University School of Medicine.
- Anderson, J. J. B. and Carner, S. C. 1997. The Effect of Phytoestrogens on Bone. *Nutr Res*. Vol. 17: 1617-1623.
- Anderson, P. 2013. Histology Cardiovascular Heart. *Pathology Education Informational Resource*: 00007739.
- Anwar, T. B. 2004. Dislipidemia sebagai Faktor Risiko Penyakit Jantung Koroner. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Aparicio, I. M., Redondo, C., and Zapata, R. 2008. Soybean, a Promising Health Source. *Nutr Hosp*. Vol. 23: 305-312.
- Astuti, S. 1999. *Pengaruh Tepung Kedelai dan Tempe dalam Ransum terhadap Fertilisasi Tikus Percobaan*. [tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Berg, J. M. and Tymoczko, J. L. 2002. *Biochemistry Fifth Edition*. New York: W. H. Freeman and Company.
- Cahyadi, W. 2007. *Kedelai Khasiat dan Teknologi*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Campbell, N. A. dan Reece, J. B. 2008. Biologi Edisi 8 Jilid 3. Jakarta: Erlangga.
- Cassidy, A. and Bingham, S. 1995. Biological Effects of Isoflavones in Young Women: Importance of the Chemical Composition of Soybean Products. *British Journal of Nutrition*. 74: 587-601.
- Chabbra, N. 2009. Endothelial Dysfunction-A Predictore of Atherosclerosis. *Internal Journal of Medical Update*. 4 (1): 33-41.
- Fanny, R., Aulanni'am., dan Murwani, S. 2012. Profil Kadar Kolesterol Total, *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan Gambaran Histopatologis Aorta pada Tikus Hiperkolesterolemia dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga. *Jurnal Penelitian*. Malang: Fakultas Kedokteran Hewan Univeritas Brawijaya.

- Fitriasari, A. 2007. Efek Proliteratif Ekstrak Etanolik Kacang Panjang pada Sel T47D. *Pharmacon*. Vol. 8 No. 2, 44-50.
- Ganong, W. F. 1995. *Fisiologi Kedokteran*. Diterjemahkan oleh Andrianto, P. Jakarta: EGC.
- Ganong, W. F. 2003. *Refiew of Medical Physiology*. Internal Edition. San Fransisco: Mc Graw Hill Book.
- Guyton, A. C. 1996. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit (Human Physiology and Mechanism of Disease) Edisi 3*. Jakarta: EGC.
- Guyton dan Hall. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 12*. Alih bahasa oleh Elsevier. Jakarta: EGC Press.
- Harp, J. B. 2004. New Insights Into Inhibitors of Adipogenesis. *Curr Opin Lipidol*. 15 (3): 303-7.
- Hidayati. 2003. *Peran Isoflavon untuk Kesehatan Reproduksi Wanita*. Cermin Dunia Kedokteran 193.
- Japardi, I. 2002. *Patomekanisme Stroke Infark Aterotrombotik*. [Serial Online]. <http://library.usu.ac.id/download/fk/bedah-iskandar%20japardi35.pdf>. [13 September 2015].
- Jones, M. E. E., Thorburn, A. W., Britt, K. I., Hewitt, K. N., Wreford, N. G., Proietto, J., Oz, O. K., Leury, B. J., Robertson, K. M., Yao, S., and Simpson, E. R. 2000. Aromatase-Deficient (ArKO) Mice have a Phenotype of Increased Adiposity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*: 97 (23): 12735-12740.
- Junqueira, L. C. and Carneiro. 2007. *Histologi Dasar: Text and Atlas*. Jakarta: EGC.
- Kenny, A. M., Prestwood., and Raisz, L. G. 2000. The Short Term Effect of Tamoxifen on Bone Turnover in Older Women. *J Clin Endocrinol Metab*. 80: 3287-3291.
- Kim, S. and Moustaid, M. N. 2000. Secretary, Endocrine, and Autocrine/Paracrine Function of the Adipocyte. Symposium: Adipocyte Function, Differentiation and Metabolism. *J Nutr*. 130: 12.
- Koswara, S. 1995. *Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadikan Makanan Bermutu*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.

- Leonard, L. 2007. *Pathophysiology of Heart Disease Fourth Edition*. Lippincott. William & Wilkins.
- Lestari, B., Hanif, N. I., Anggarany, A. D., Ziyad, T., Walidah, Z., dan Retno, M. 2014. Potensi Biji Labu Kuning Sebagai Agen Fitoestrogen Pada Wanita Postmenstrual. *Jurnal Penelitian PKM-P*. Prosiding Elektronik PIMNAS.
- Lichtenstein, A. H. 1998. Soy Protein, Isoflavones and Cardiovascular Disease Risk. *Am J Clin Nutr*. 128: 1589-1592.
- Mahriani dan Utami, E. T. 2014. Kajian Pemanfaatan Phytoestrogen dari Biji Kedelai untuk Pencegahan Kanker Payudara pada Mencit Strain CH3. *Laporan Penelitian Hibah Bersaing*. Jember: FMIPA Universitas Jember.
- Miksicek, R. J. 1994. Interaction of Naturally Occuring Nonsteroidal Estrogen with Expressed Recombinant Human Estrogen receptor. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol*. 49: 153-160.
- Morito, K., Hirose, T., Kinjo, J., Hirakawa, T., and Okawa, M. 2001. Interaction of Phytoestrogens with Estrogen Receptor and . *Biol Pharm Bull*. 24: 351-6.
- Murray, R. K., Granner, D., Mayes, P., and Rodwell, V. W. 1996. *Harper's Biochemistry 24th Ed*. Jakarta: EGC Press.
- Mursito, 2002. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Jantung*. Jakarta: PT Penebar Swadaya.
- Mustofa, S., Anindito A. A., Pratiwi, A., Putri, A. A., dan Maulana, M. 2014. The Influence of *Piper retrofractum* Vahl (Java's chili) Extract Towards Lipid Profile and Histology of Rats Coronary Artery with High-Fat Diet. *JUKE*. Volume 4 Nomor 7.
- Nijveldt, R. J. 2001. Flavonoids : a Review of Probable Mechanism of Action and Potential Applications. *Am J Clin Nutr*. 74: 418-425.
- Nilawati, S. 2008. *Care Your Self Cholesterol*. Cetakan 1. Jakarta: Penebar Plus.
- Noerpramana dan Tjahjanto, 2006. Fitoserm: Terapi Terkini dalam Mengatasi Masalah Kesehatan Menopause. *Simposium Nasional Perkumpulan Menopause Indonesia*. Jakarta: 25 Februari 2006.

- Nurhalida, Q., Susilowati., dan Lestari, S. R. 2015. Pengaruh Natto Kedelai Hitam (*Glicine soja* L.) terhadap Jumlah *Foam Cell* dan Ketebalan Dinding Aorta Mencit Model Aterosklerosis. *Jurnal Penelitian*. Malang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Pawiroharsono, S. 2007. *Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan*. Jakarta: Direktorat Teknologi Bioindustri, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi.
- Peach, K. 2001. Interaction of Phytoestrogen with estrogen receptor ER- dan ER- at ap-1 Sites. *Science*. 277: 1508-1510.
- Pramana, D. G. 2008. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Tempe terhadap Kolesterol Total dan Profil Lipoprotein Plasma Darah Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*)*. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kdokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Prassl, R. and Laggnner, P. 2012. Lipoprotein Structure and Dynamics: Low Density Lipoprotein Viewed as a Highly Dynamics and Flexible Nanoparticle. *Biochem Genet Mol Biol Lipoproteins-Role Heal Dis*. 3-20.
- Rahmad, A. N. 2009. *Studi Histopatologi Aktivitas Ekstrak Metanol Tempe sebagai Bahan Pencegah Aterosklerosis pada Kelinci*. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Raja, P., Hariyanto, S., dan Sukono. 2001. *Faktor-Faktor Risiko PJK*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada. P.36-69.
- Rathel, T. R., Leikert, J. F., Vollmar, A. M., and Dirsch, V. M. 2005. The Soy Isoflavone Genistein Induces a Late but Sustained Activation of the Endothelial Nitric Oxide Synthase System in Vitro. *Br J. Pharmacol*. 144: 394-399.
- Safrida. 2008. *Perubahan Kadar Hormon Estrogen pada Tikus yang diberi Tepung Kedelai dan Tepung Tempe*. [Tesis]. Bogor: Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Sargowo, D. 2001. Peranan Kadar Trigliserida dan Lippoprotein sebagai faktor Risiko Penyakit Jantung Koroner. *Jurnal Sainatika*. Malang: Lembaga Penelitian Universitas Brawijaya. Vol. 13 No. 2.
- Steel, R. dan Torrie, J. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistik*. Diterjemahan oleh Sumantri, B. Jakarta: Gramedia Pustaka.

- Singh, V. N. 2014. *Low LDL Cholesterol (Hypobetalipoproteinemia)*. [Serial Online]. <http://emedicine.medscape.com/article/121975-overview>. [16 Mei 2016].
- Soetardjo, S. 1990. Pengaruh Diet pada Lipida Darah dan Penyakit Jantung Koroner. *Prosiding Khusus Pangan Ilmu Gizi dan Kongres VIII*: 174-178.
- Suhargo, L. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum pictum*) untuk Penurunan Kadar Kolesterol Serum Darah Mencit Betina yang Diovariectomi. Universitas Airlangga: *Berk Panel Hayati*. 13 (97-100).
- Suryohudono, P. 2002. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Jakarta: CV Sagung Seto.
- Szafran, H. and Smielak, K. W. 1998. The Role of Estrogens in Hormonal Regulation of Lipid Metabolism in Women. *US National Library of Medicine National Institutes of Health*. 55(5):266-70.
- Tomkins, G. and Daphne, O. 2012. LDL as cause of Atherosclerosis. *Open Atheroscler Thromb J*. 13-21.
- Tortora, G. J. and Derrickson, B. 2009. *Principles of Anatomy and Physiology 12<sup>th</sup> Edition*. United States of America: John Wiley and Sons Inc.
- Tumbelaka, L. I. 1997. *Efek Isoflavon dan Vitamin E terhadap Aterogenesis pada Monyet Ekor Panjang (Macaca fascicularis)*. [Disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana IPB.
- Vincent, A. and Fitzpatrick, L. A. 2000. Soy Isoflavon: are They Useful in Menopause. *Subspecialty Clinics: Endroconology, Metabolism, and Nutrition. Mayo Clin Proc*. 75: 11741184.
- Wijaya, A. 1995. Parameter Risiko Penyakit Vaskular Aterosklerotik Koroner dan Serebral. *Forum Diagnosticum*. 2: 1-28.
- World Health Organization. 2011. *Cardiovascular Disease*. [Serial Online]. [http://www.who.int/cardiovascular\\_disease/en/](http://www.who.int/cardiovascular_disease/en/). [30 Desember 2015].
- Wratsangka, R. 1999. Pemberian Terapi Sulih Hormon sebagai Upaya Meningkatkan Kesehatan Wanita Menopause. *Kedokter Trisakti*. Vol. 18 No. 3.

## LAMPIRAN

### A. Penentuan Dosis Ekstrak Tepung Tempe Kedelai

Penentuan dosis ekstrak tepung tempe kedelai ditentukan berdasarkan penelitian Safrida (2008), yaitu 10 gram berat kering (BK) / 100 gram berat badan (BB) tikus.

- Konversi pasta dari berat kering tempe kedelai

Berat kering tempe :	Berat pasta
2034,8 gram	: 175,6 gram
1 gram	: 0,086 gram

10 gram BK/100 gram BB tikus

10 gram BK/100 gram BB = 0,1 gram BK/gram tikus

- Rata-rata BB tikus = 200 gram  
 $0,1 \times 200 = 20$  gram BK/200 gram BB mencit
- Konversi 200 gram BB tikus  $\rightarrow$  20 gram BB mencit = 0,14 gram  
 $20 \times 0,14 = 2,8$  gram
- Dikonversi ke pasta
  - $2,8 \times 0,086 = 0,24$  gram pasta/20 gram BB mencit  
 $0,24/20 = 0,12$  gram pasta/gram BB mencit
  - Rata-rata BB mencit perlakuan = 35 gram  
 $0,12 \times 35 = 0,42$  gram
- Penentuan dosis diambil dari acuan 0,42 (D2)  $\rightarrow$  setengah lebih rendah yaitu 0,21 gram (D1) dan setengah lebih tinggi yaitu 0,63 gram (D3).

## B. Hasil Uji Normalitas Data Pengaruh Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Kadar LDL Serum Darah Mencit

### - Uji Normalitas Data Hari Ke-10

#### Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_LDL	Kontrol Negatif	.176	3	.	1.000	3	.983
	Kontrol Positif	.176	3	.	1.000	3	.975
	Dosis 1	.191	3	.	.997	3	.901
	Dosis 2	.183	3	.	.999	3	.934
	Dosis 3	.223	3	.	.985	3	.766

a Lilliefors Significance Correction

### - Uji Normalitas Data Hari Ke-20

#### Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_LDL	Kontrol Negatif	.227	3	.	.983	3	.747
	Kontrol Positif	.176	3	.	1.000	3	.984
	Dosis 1	.178	3	.	.999	3	.952
	Dosis 2	.187	3	.	.998	3	.916
	Dosis 3	.191	3	.	.997	3	.900

a Lilliefors Significance Correction

### - Uji Normalitas Data Hari Ke-30

#### Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_LDL	Kontrol Negatif	.178	3	.	.999	3	.956
	Kontrol Positif	.177	3	.	1.000	3	.967
	Dosis 1	.205	3	.	.993	3	.840
	Dosis 2	.176	3	.	1.000	3	.979
	Dosis 3	.208	3	.	.992	3	.828

a Lilliefors Significance Correction



### C. Hasil Analisis *One Way* ANOVA dan Uji Duncan Pengaruh Dosis Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Kadar LDL Serum Darah Mencit

#### Ñ Analisis Kadar LDL Serum Darah Hari Ke-10

##### Descriptives

Kadar\_LDL

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	3	108.9700	.99504	.57449	106.4982	111.4418	107.98	109.97
Kontrol Positif	3	284.3100	1.97517	1.14037	279.4034	289.2166	282.32	286.27
Dosis 1	3	275.5000	.83612	.48274	273.4230	277.5770	274.69	276.36
Dosis 2	3	265.1500	1.00060	.57770	262.6644	267.6356	264.13	266.13
Dosis 3	3	95.6000	1.06297	.61370	92.9594	98.2406	94.62	96.73
Total	15	205.9060	87.91576	22.69975	157.2199	254.5921	94.62	286.27

##### ANOVA

Kadar\_LDL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	108193.096	4	27048.274	17514.682	.000
Within Groups	15.443	10	1.544		
Total	108208.539	14			

##### Kadar\_LDL

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01				
		1	2	3	4	5
Kontrol Negatif	3		108.9700			
Kontrol Positif	3					284.3100
Dosis 1	3				275.5000	
Dosis 2	3			265.1500		
Dosis 3	3	95.6000				
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Ĥ Analisis Kadar LDL Serum Darah Hari Ke-20**

**Descriptives**

Kadar\_LDL

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	3	105.7600	1.04919	.60575	103.1537	108.3663	104.80	106.88
Kontrol Positif	3	295.0100	1.00504	.58026	292.5133	297.5067	294.01	296.02
Dosis 1	3	165.5100	2.06066	1.18972	160.3910	170.6290	163.42	167.54
Dosis 2	3	133.6400	2.16709	1.25117	128.2566	139.0234	131.42	135.75
Dosis 3	3	95.0700	.99136	.57236	92.6073	97.5327	94.05	96.03
Total	15	158.9980	74.80517	19.31461	117.5723	200.4237	94.05	296.02

**ANOVA**

Kadar\_LDL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	78317.317	4	19579.329	8133.450	.000
Within Groups	24.073	10	2.407		
Total	78341.389	14			

**Kadar\_LDL**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01				
		1	2	3	4	5
Kontrol Negatif	3		105.7600			
Kontrol Positif	3					295.0100
Dosis 1	3				165.5100	
Dosis 2	3			133.6400		
Dosis 3	3	95.0700				
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Ĥ Analisis Kadar LDL Serum Darah Hari Ke-30**

**Descriptives**

Kadar\_LDL

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	3	106.8500	1.89549	1.09436	102.1413	111.5587	104.98	108.77
Kontrol Positif	3	297.0600	1.01015	.58321	294.5507	299.5693	296.04	298.06
Dosis 1	3	125.4200	1.03363	.59677	122.8523	127.9877	124.44	126.50
Dosis 2	3	94.5800	3.92524	2.26624	84.8292	104.3308	90.68	98.53
Dosis 3	3	54.4800	1.05929	.61158	51.8486	57.1114	53.37	55.48
Total	15	135.6780	86.94505	22.44912	87.5294	183.8266	53.37	298.06

**ANOVA**

Kadar\_LDL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	105787.773	4	26446.943	5953.488	.000
Within Groups	44.423	10	4.442		
Total	105832.195	14			

**Kadar\_LDL**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01				
		1	2	3	4	5
Kontrol Negatif	3			106.8500		
Kontrol Positif	3					297.0600
Dosis 1	3				125.4200	
Dosis 2	3		94.5800			
Dosis 3	3	54.4800				
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

### D. Analisis Uji *One Way* ANOVA dan Uji Duncan Pengaruh Lama Pemberian Hari terhadap Kadar LDL Serum Darah Mencit

#### Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	Hari Ke-10	3	108.9700	.99504	.57449	106.4982	111.4418	107.98	109.97
	Hari Ke-20	3	105.7600	1.04919	.60575	103.1537	108.3663	104.80	106.88
	Hari Ke-30	3	106.8500	1.89549	1.09436	102.1413	111.5587	104.98	108.77
	Total	9	107.1933	1.84913	.61638	105.7720	108.6147	104.80	109.97
Kontrol Positif	Hari Ke-10	3	284.3100	1.97517	1.14037	279.4034	289.2166	282.32	286.27
	Hari Ke-20	3	295.0100	1.00504	.58026	292.5133	297.5067	294.01	296.02
	Hari Ke-30	3	297.0600	1.01015	.58321	294.5507	299.5693	296.04	298.06
	Total	9	292.1267	6.05308	2.01769	287.4739	296.7795	282.32	298.06
Dosis_Kel	Hari Ke-10	3	275.5000	.83612	.48274	273.4230	277.5770	274.69	276.36
	Hari Ke-20	3	165.5100	2.06066	1.18972	160.3910	170.6290	163.42	167.54
	Hari Ke-30	3	125.4200	1.03363	.59677	122.8523	127.9877	124.44	126.50
	Total	9	188.8100	67.30624	22.43541	137.0738	240.5462	124.44	276.36
Dosis_Ke2	Hari Ke-10	3	265.1500	1.00060	.57770	262.6644	267.6356	264.13	266.13
	Hari Ke-20	3	133.6400	2.16709	1.25117	128.2566	139.0234	131.42	135.75
	Hari Ke-30	3	94.5800	3.92524	2.26624	84.8292	104.3308	90.68	98.53
	Total	9	164.4567	77.42488	25.80829	104.9426	223.9707	90.68	266.13
Dosis_Ke3	Hari Ke-10	3	95.6000	1.06297	.61370	92.9594	98.2406	94.62	96.73
	Hari Ke-20	3	95.0700	.99136	.57236	92.6073	97.5327	94.05	96.03
	Hari Ke-30	3	54.4800	1.05929	.61158	51.8486	57.1114	53.37	55.48
	Total	9	81.7167	20.44857	6.81619	65.9985	97.4348	53.37	96.73

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Kontrol_Negatif	Between Groups	15.987	2	7.993	4.219	.072
	Within Groups	11.368	6	1.895		
	Total	27.354	8			
Kontrol_Positif	Between Groups	281.255	2	140.628	71.122	.000
	Within Groups	11.864	6	1.977		
	Total	293.119	8			
Dosis_Ke1	Between Groups	36229.015	2	18114.507	9036.470	.000
	Within Groups	12.028	6	2.005		
	Total	36241.042	8			
Dosis_Ke2	Between Groups	47914.689	2	23957.344	3405.451	.000
	Within Groups	42.210	6	7.035		
	Total	47956.899	8			
Dosis_Ke3	Between Groups	3338.683	2	1669.342	1548.171	.000
	Within Groups	6.470	6	1.078		
	Total	3345.153	8			

**Kontrol\_Negatif**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01
		1
Hari Ke-20	3	105.7600
Hari Ke-30	3	106.8500
Hari Ke-10	3	108.9700
Sig.		.033

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Kontrol\_Positif**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01	
		1	2
Hari Ke-10	3	284.3100	
Hari Ke-20	3		295.0100
Hari Ke-30	3		297.0600
Sig.		1.000	.124

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Dosis\_Ke1**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01		
		1	2	3
Hari Ke-30	3	125.4200		
Hari Ke-20	3		165.5100	
Hari Ke-10	3			275.5000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Dosis\_Ke2**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01		
		1	2	3
Hari Ke-30	3	94.5800		
Hari Ke-20	3		133.6400	
Hari Ke-10	3			265.1500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Dosis\_Ke3**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01	
		1	2
Hari Ke-30	3	54.4800	
Hari Ke-20	3		95.0700
Hari Ke-10	3		95.6000
Sig.		1.000	.555

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

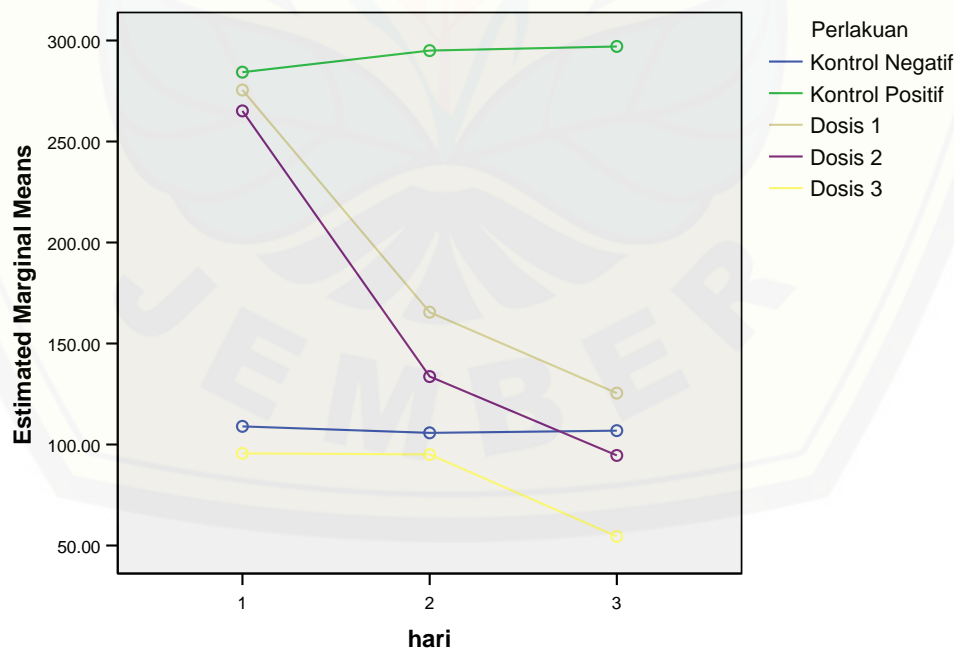
**E. Hasil Analisis GLM (General Linear Model) Repeated Measures Kadar LDL Serum Darah Mencit**

**Tests of Within-Subjects Effects**

Measure: MEASURE\_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
hari	Sphericity Assumed	38380.774	2	19190.387	29973.272	.000	1.000
	Greenhouse-Geisser	38380.774	1.430	26832.270	29973.272	.000	1.000
	Huynh-Feldt	38380.774	2.000	19190.387	29973.272	.000	1.000
	Lower-bound	38380.774	1.000	38380.774	29973.272	.000	1.000
hari * Perlakuan	Sphericity Assumed	49398.854	8	6174.857	9644.446	.000	1.000
	Greenhouse-Geisser	49398.854	5.722	8633.772	9644.446	.000	1.000
	Huynh-Feldt	49398.854	8.000	6174.857	9644.446	.000	1.000
	Lower-bound	49398.854	4.000	12349.713	9644.446	.000	1.000

**Estimated Marginal Means of MEASURE\_1**



## F. Hasil Uji Normalitas Data Pengaruh Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Ketebalan Dinding Arteri Koronaria Mencit

### -Uji Normalitas Hari Ke-10

#### Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ketebalan_Arteri_Koronaria	Kontrol Negatif	.285	3	.	.932	3	.498
	Kontrol Positif	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Dosis 1	.368	3	.	.790	3	.091
	Dosis 2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Dosis 3	.182	3	.	.999	3	.935

a Lilliefors Significance Correction

### -Uji Normalitas Hari Ke-20

#### Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ketebalan_Arteri_Koronaria	Kontrol Negatif	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Kontrol Positif	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Dosis 1	.333	3	.	.862	3	.272
	Dosis 2	.259	3	.	.959	3	.611
	Dosis 3	.230	3	.	.981	3	.736

a Lilliefors Significance Correction

### -Uji Normalitas Hari Ke-30

#### Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ketebalan_Arteri_Koronaria	Kontrol Negatif	.270	3	.	.948	3	.562
	Kontrol Positif	.269	3	.	.949	3	.567
	Dosis 1	.296	3	.	.919	3	.448
	Dosis 2	.217	3	.	.988	3	.789
	Dosis 3	.259	3	.	.959	3	.613

a Lilliefors Significance Correction



### G. Hasil Analisis *One Way* ANOVA dan Uji Duncan Pengaruh Dosis Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Ketebalan Dinding Arteri Koronaria Mencit

#### Ñ Analisis Ketebalan Dinding Arteri Koronaria Hari Ke-10

##### Descriptives

###### Ketebalan\_Arteri\_Koronaria

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	3	17.4300	3.76443	2.17339	8.0786	26.7814	14.36	21.63
Kontrol Positif	3	29.1000	2.60000	1.50111	22.6412	35.5588	26.50	31.70
Dosis 1	3	26.6667	3.15013	1.81873	18.8413	34.4920	24.70	30.30
Dosis 2	3	21.0000	1.00000	.57735	18.5159	23.4841	20.00	22.00
Dosis 3	3	19.5133	.08505	.04910	19.3021	19.7246	19.43	19.60
Total	15	22.7420	5.04433	1.30244	19.9485	25.5355	14.36	31.70

##### ANOVA

###### Ketebalan\_Arteri\_Koronaria

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	292.510	4	73.128	11.476	.001
Within Groups	63.723	10	6.372		
Total	356.233	14			

##### Ketebalan\_Arteri\_Koronaria

###### Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01		
		1	2	3
Kontrol Negatif	3	17.4300		
Kontrol Positif	3			29.1000
Dosis 1	3		26.6667	26.6667
Dosis 2	3	21.0000	21.0000	
Dosis 3	3	19.5133		
Sig.		.129	.021	.265

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## Ñ Analisis Ketebalan Dinding Arteri Koronaria Hari Ke-20

### Descriptives

#### Ketebalan\_Arteri\_Koronaria

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	3	16.3000	2.20000	1.27017	10.8349	21.7651	14.10	18.50
Kontrol Positif	3	33.3000	2.10000	1.21244	28.0833	38.5167	31.20	35.40
Dosis 1	3	26.1200	4.93429	2.84881	13.8625	38.3775	22.60	31.76
Dosis 2	3	20.7400	7.19856	4.15609	2.8578	38.6222	14.53	28.63
Dosis 3	3	19.1767	4.88156	2.81837	7.0502	31.3031	14.73	24.40
Total	15	23.1273	7.36579	1.90184	19.0483	27.2064	14.10	35.40

### ANOVA

#### Ketebalan\_Arteri\_Koronaria

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	541.076	4	135.269	6.191	.009
Within Groups	218.492	10	21.849		
Total	759.569	14			

#### Ketebalan\_Arteri\_Koronaria

#### Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01	
		1	2
Kontrol Negatif	3	16.3000	
Kontrol Positif	3		33.3000
Dosis 1	3	26.1200	26.1200
Dosis 2	3	20.7400	20.7400
Dosis 3	3	19.1767	
Sig.		.037	.010

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**-Analisis Ketebalan Dinding Arteri Koronaria Hari Ke-30****Descriptives**

## Ketebalan\_Arteri\_Koronaria

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	3	14.3667	2.41316	1.39324	8.3720	20.3613	11.70	16.40
Kontrol Positif	3	33.6667	2.05264	1.18509	28.5676	38.7657	31.40	35.40
Dosis 1	3	22.9533	4.08981	2.36125	12.7937	33.1130	18.36	26.20
Dosis 2	3	20.2333	2.61598	1.51033	13.7349	26.7318	17.80	23.00
Dosis 3	3	15.0000	6.02329	3.47755	.0373	29.9627	9.80	21.60
Total	15	21.2440	7.89858	2.03941	16.8699	25.6181	9.80	35.40

**ANOVA**

## Ketebalan\_Arteri\_Koronaria

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	733.653	4	183.413	13.122	.001
Within Groups	139.773	10	13.977		
Total	873.427	14			

**Ketebalan\_Arteri\_Koronaria**

## Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01	
		1	2
Kontrol Negatif	3	14.3667	
Kontrol Positif	3		33.6667
Dosis 1	3	22.9533	
Dosis 2	3	20.2333	
Dosis 3	3	15.0000	
Sig.		.025	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

### H. Analisis Uji *One Way* ANOVA dan Uji Duncan Pengaruh Lama Pemberian Hari terhadap Ketebalan Dinding Arteri Koronaria Mencit

#### Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
Kontrol Negatif	Hari Ke-10	3	17.4300	3.76443	2.17339	8.0786	26.7814	14.36	21.63
	Hari Ke-20	3	16.3000	2.20000	1.27017	10.8349	21.7651	14.10	18.50
	Hari Ke-30	3	14.3667	2.41316	1.39324	8.3720	20.3613	11.70	16.40
	Total	9	16.0322	2.82991	.94330	13.8570	18.2075	11.70	21.63
Kontrol Positif	Hari Ke-10	3	29.1000	2.60000	1.50111	22.6412	35.5588	26.50	31.70
	Hari Ke-20	3	33.3000	2.10000	1.21244	28.0833	38.5167	31.20	35.40
	Hari Ke-30	3	33.6667	2.05264	1.18509	28.5676	38.7657	31.40	35.40
	Total	9	32.0222	2.94524	.98175	29.7583	34.2861	26.50	35.40
Dosis_Ke1	Hari Ke-10	3	26.6667	3.15013	1.81873	18.8413	34.4920	24.70	30.30
	Hari Ke-20	3	26.1200	4.93429	2.84881	13.8625	38.3775	22.60	31.76
	Hari Ke-30	3	22.9533	4.08981	2.36125	12.7937	33.1130	18.36	26.20
	Total	9	25.2467	3.97035	1.32345	22.1948	28.2985	18.36	31.76
Dosis_Ke2	Hari Ke-10	3	21.0000	1.00000	.57735	18.5159	23.4841	20.00	22.00
	Hari Ke-20	3	20.7400	7.19856	4.15609	2.8578	38.6222	14.53	28.63
	Hari Ke-30	3	20.2333	2.61598	1.51033	13.7349	26.7318	17.80	23.00
	Total	9	20.6578	3.87681	1.29227	17.6778	23.6378	14.53	28.63
Dosis_Ke3	Hari Ke-10	3	19.5133	.08505	.04910	19.3021	19.7246	19.43	19.60
	Hari Ke-20	3	19.1767	4.88156	2.81837	7.0502	31.3031	14.73	24.40
	Hari Ke-30	3	15.0000	6.02329	3.47755	.0373	29.9627	9.80	21.60
	Total	9	17.8967	4.44637	1.48212	14.4789	21.3145	9.80	24.40

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Kontrol_Negatif	Between Groups	14.399	2	7.199	.870	.466
	Within Groups	49.668	6	8.278		
	Total	64.067	8			
Kontrol_Positif	Between Groups	38.629	2	19.314	3.767	.087
	Within Groups	30.767	6	5.128		
	Total	69.396	8			
Dosis_Ke1	Between Groups	24.115	2	12.058	.709	.529
	Within Groups	101.994	6	16.999		
	Total	126.110	8			
Dosis_Ke2	Between Groups	.912	2	.456	.023	.977
	Within Groups	119.325	6	19.888		
	Total	120.237	8			
Dosis_Ke3	Between Groups	37.928	2	18.964	.946	.439
	Within Groups	120.234	6	20.039		
	Total	158.162	8			

**Kontrol\_Negatif**

## Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01
		1
Hari Ke-30	3	14.3667
Hari Ke-20	3	16.3000
Hari Ke-10	3	17.4300
Sig.		.254

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Kontrol\_Positif**

## Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01
		1
Hari Ke-10	3	29.1000
Hari Ke-20	3	33.3000
Hari Ke-30	3	33.6667
Sig.		.055

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Dosis\_Ke1**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01
		1
Hari Ke-30	3	22.9533
Hari Ke-20	3	26.1200
Hari Ke-10	3	26.6667
Sig.		.327

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Dosis\_Ke2**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01
		1
Hari Ke-30	3	20.2333
Hari Ke-20	3	20.7400
Hari Ke-10	3	21.0000
Sig.		.845

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Dosis\_Ke3**

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .01
		1
Hari Ke-30	3	15.0000
Hari Ke-20	3	19.1767
Hari Ke-10	3	19.5133
Sig.		.277

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

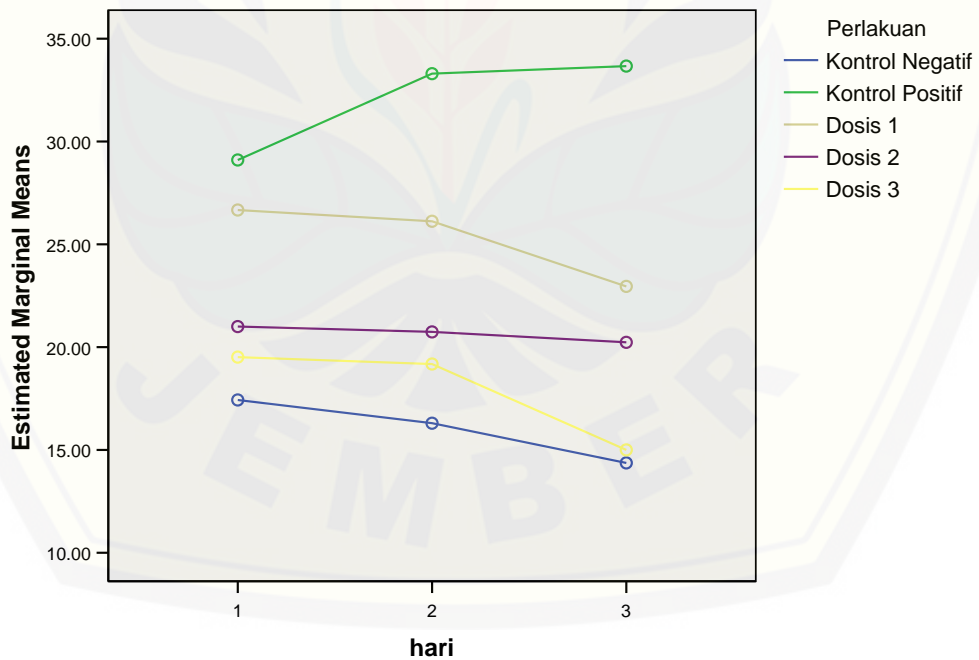
**I. Hasil Analisis GLM (General Linear Model) Repeated Measures Ketebalan Dinding Arteri Koronaria Mencit**

**Tests of Within-Subjects Effects**

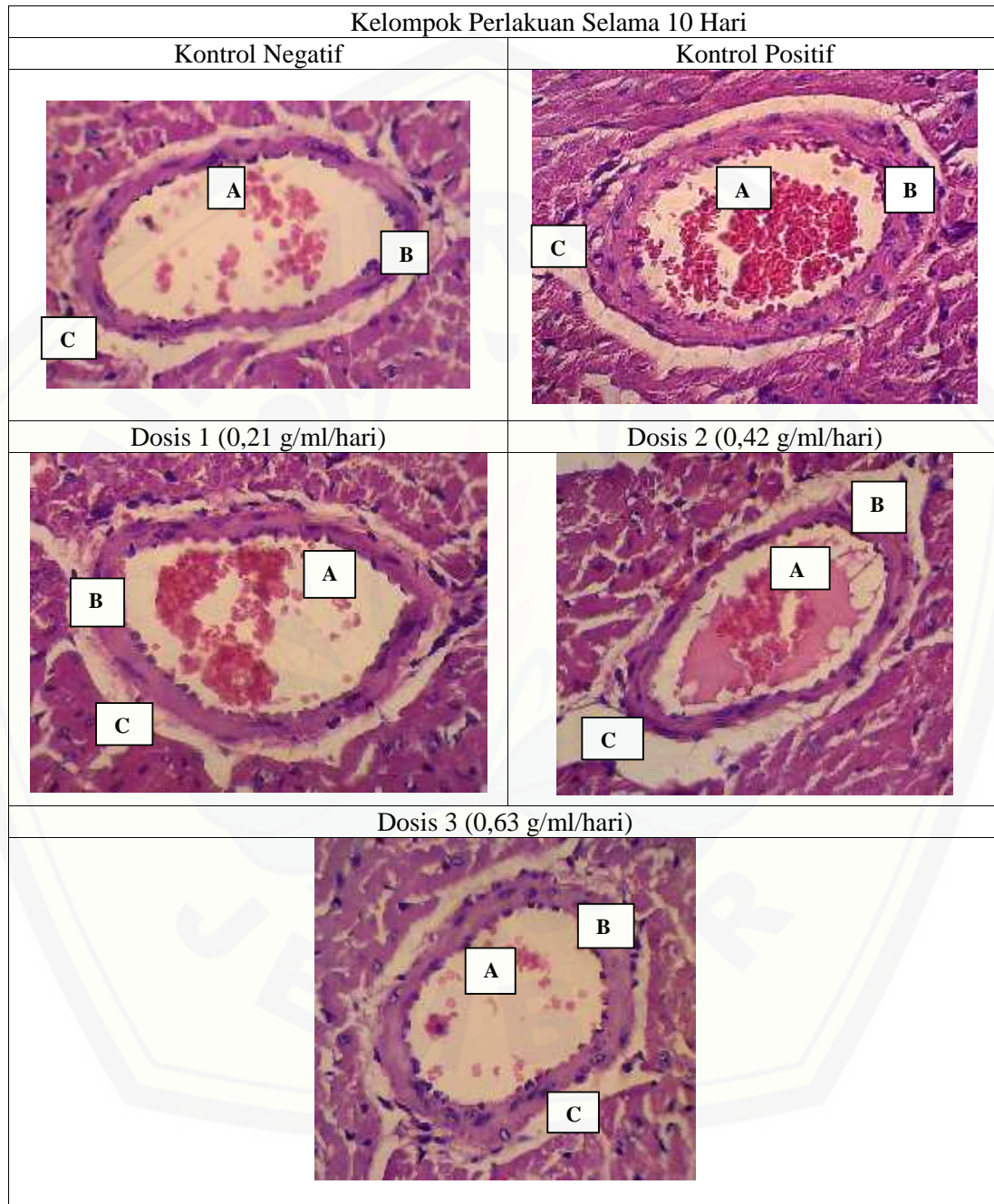
Measure: MEASURE\_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Hari	Sphericity Assumed	29.697	2	14.849	1.020	.379	.093
	Greenhouse-Geisser	29.697	1.401	21.195	1.020	.358	.093
	Huynh-Feldt	29.697	2.000	14.849	1.020	.379	.093
	Lower-bound	29.697	1.000	29.697	1.020	.336	.093
hari * Perlakuan	Sphericity Assumed	86.286	8	10.786	.741	.656	.229
	Greenhouse-Geisser	86.286	5.605	15.396	.741	.618	.229
	Huynh-Feldt	86.286	8.000	10.786	.741	.656	.229
	Lower-bound	86.286	4.000	21.572	.741	.585	.229

**Estimated Marginal Means of MEASURE\_1**



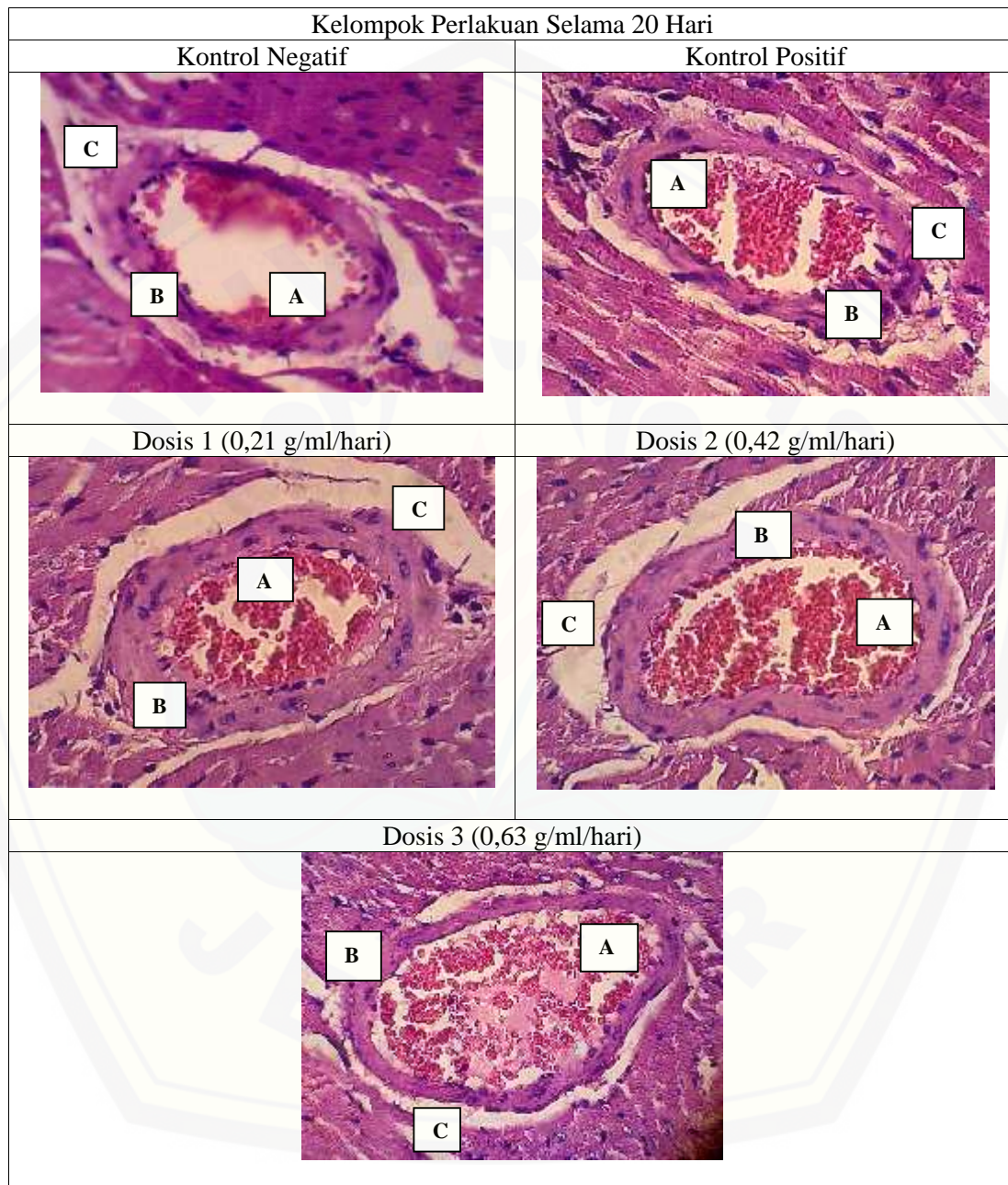
**J. Preparat Penampang Melintang Arteri Koronaria Mencit Ovariectomi Pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai Selama 10 Hari**



Keterangan: Preparat penampang melintang histologi arteri koronaria pasca pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 10 hari, perbesaran 400x. (A) Tunika intima, (B) Tunika media, (C) Tunika adventisia. Semakin tinggi dosis ekstrak tepung tempe kedelai, dinding arteri koronaria semakin menipis.

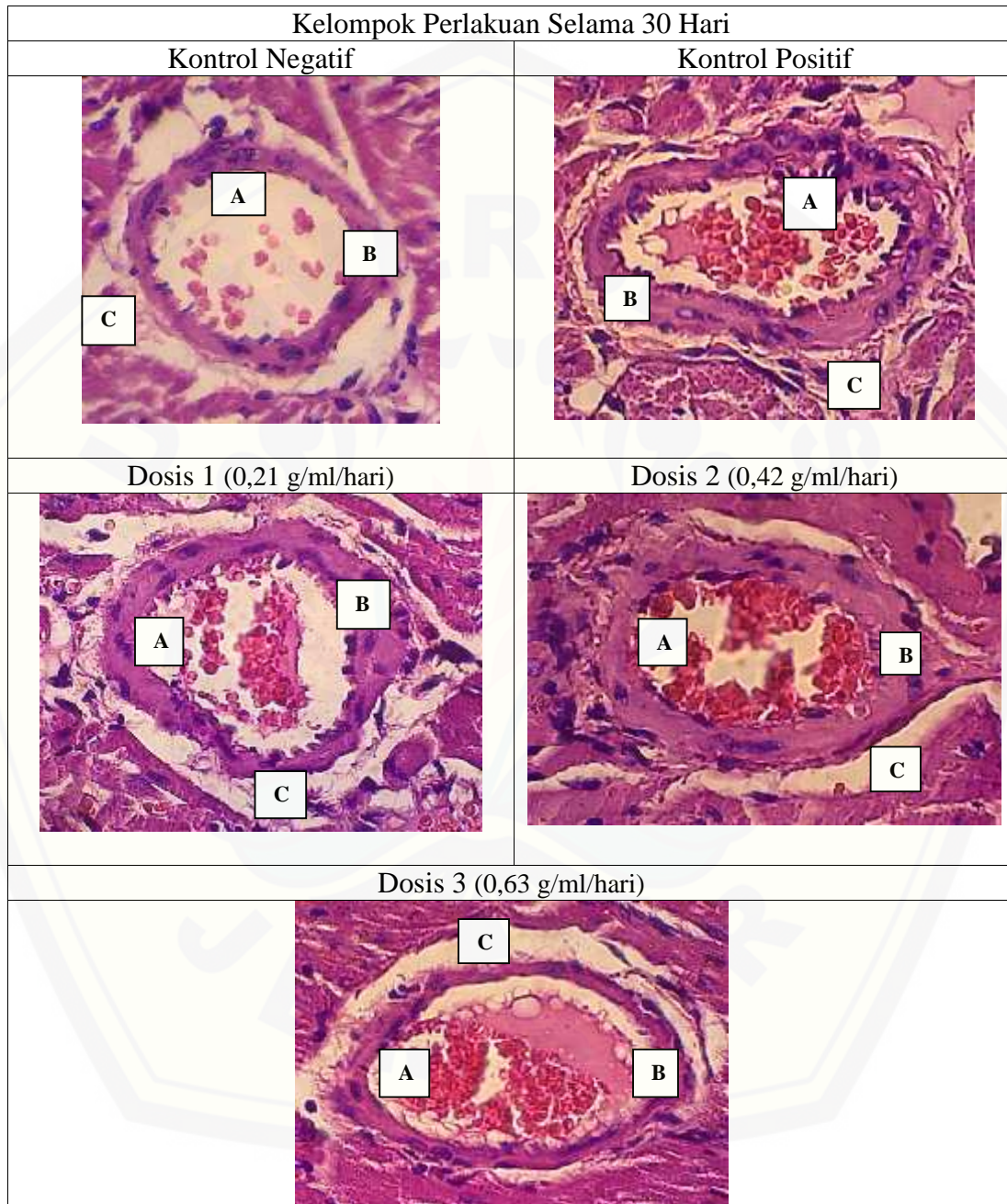


**K. Preparat Penampang Melintang Arteri Koronaria Mencit Ovariectomi Pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai Selama 20 Hari**



Keterangan: Preparat penampang melintang histologi arteri koronaria pasca pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 20 hari, perbesaran 400x. (A) Tunika intima, (B) Tunika media, (C) Tunika adventisia. Semakin tinggi dosis ekstrak tepung tempe kedelai, dinding arteri koronaria semakin menipis.

**L. Preparat Penampang Melintang Arteri Koronaria Mencit Ovariectomi Pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai Selama 30 Hari**



Keterangan: Preparat penampang melintang histologi arteri koronaria pasca pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 30 hari, perbesaran 400x. (A) Tunika intima, (B) Tunika media, (C) Tunika adventisia. Semakin tinggi dosis ekstrak tepung tempe kedelai, dinding arteri koronaria semakin menipis.

**M. Hasil Uji Normalitas dan One Way ANOVA Berat Badan Mencit****- Kontrol Negatif****Tests of Normality**

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Berat_Badan	H-10	.194	3	.	.996	3	.886
	H-20	.219	3	.	.987	3	.780
	H-30	.301	3	.	.912	3	.424

**- Kontrol Positif****Tests of Normality**

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Berat_Badan	H-10	.276	3	.	.942	3	.537
	H-20	.299	3	.	.915	3	.433
	H-30	.321	3	.	.881	3	.328

**- Dosis 1****Tests of Normality**

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Berat_Badan	H-10	.359	3	.	.810	3	.138
	H-20	.328	3	.	.871	3	.298
	H-30	.260	3	.	.959	3	.609

**- Dosis 2****Tests of Normality**

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Berat_Badan	H-10	.292	3	.	.923	3	.463
	H-20	.234	3	.	.978	3	.719
	H-30	.249	3	.	.967	3	.653

**- Dosis 3****Tests of Normality**

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Berat_Badan	H-10	.177	3	.	1.000	3	.972
	H-20	.304	3	.	.907	3	.407
	H-30	.288	3	.	.928	3	.482

Ń Uji *One Way* ANOVA

- **Kontrol Negatif**

**Descriptives**

Berat\_Badan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
H-10	3	27.9000	1.45258	.83865	24.2916	31.5084	26.50	29.40
H-20	3	27.2000	.75498	.43589	25.3245	29.0755	26.50	28.00
H-30	3	27.5500	1.02103	.58949	25.0136	30.0864	26.40	28.35
Total	9	27.5500	1.01119	.33706	26.7727	28.3273	26.40	29.40

- **Kontrol Positif**

**Descriptives**

Ń Berat\_Badan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
H-10	3	30.2000	.72111	.41633	28.4087	31.9913	29.60	31.00
H-20	3	28.9000	1.77764	1.02632	24.4841	33.3159	27.50	30.90
H-30	3	29.5500	.87892	.50744	27.3666	31.7334	28.90	30.55
Total	9	29.5500	1.19583	.39861	28.6308	30.4692	27.50	31.00

- **Dosis 1**

**Descriptives**

Ń Berat\_Badan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
H-10	3	35.5000	2.77849	1.60416	28.5979	42.4021	32.30	37.30
H-20	3	36.6000	.96437	.55678	34.2044	38.9956	35.90	37.70
H-30	3	34.8000	2.55343	1.47422	28.4569	41.1431	32.60	37.60
Total	9	35.6333	2.10000	.70000	34.0191	37.2475	32.30	37.70

- **Dosis 2****Descriptives**

N		Berat_Badan						
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
H-10	3	36.7000	2.49800	1.44222	30.4946	42.9054	33.90	38.70
H-20	3	34.6000	1.76918	1.02144	30.2051	38.9949	33.00	36.50
H-30	3	32.8667	2.23681	1.29142	27.3101	38.4232	30.90	35.30
Total	9	34.7222	2.52130	.84043	32.7842	36.6603	30.90	38.70

- **Dosis 3****Descriptives**

Berat_Badan								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
H-10	3	32.3667	1.95021	1.12596	27.5221	37.2113	30.40	34.30
H-20	3	33.2333	.94516	.54569	30.8854	35.5812	32.50	34.30
H-30	3	33.8667	2.80238	1.61795	26.9052	40.8282	31.60	37.00
Total	9	33.1556	1.88753	.62918	31.7047	34.6064	30.40	37.00