

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan :

Pertama, bahwa ekstrak etanolik daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) dapat menurunkan kadar kolesterol total serum darah tikus putih jantan galur wistar.

Kedua, bahwa ekstrak etanolik daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) pada dosis 22,92 mg/ 200 g BB mempunyai pengaruh paling efektif menurunkan kadar kolesterol total serum darah tikus putih jantan galur wistar setara dengan kontrol positif simvastatin.

B. Saran

Saran dalam penelitian ini adalah :

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan zat aktif utama yang dapat menurunkan kadar kolesterol total.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lama untuk menilai kadar kolesterol total.

Ketiga, perlu dilakukan uji toksisitas akut dan subkronis untuk mengetahui kemungkinan adanya efek samping dari ekstrak etanolik daun kepel pada hewan uji.

DAFTAR PUSTAKA

- Adib M. 2010. *Memahami dan Mencegah Kolesterol*. Yogyakarta: Kota Buku Indonesia.
- Anief. 2000. *Ilmu Meracik Obat*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Ansel HC. 1989. *Pengatur Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed ke-4. Ibrahim F, penerjemah; 607-609. Jakarta: UI Press.
- Autherhoff & Kovar. 2002. *Identifikasi Obat*. Ed ke-5. Bandung : ITB.
- Backer C.A.&Brink R.C.B. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes only)*. N.V.P.Noordhoff-Groningen-The Netherlands
- Bas et al. 2005. *Official Method of Analysis of the Association of Chemist*. Arlington : The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Blodinger J. 1994. *Formulasi Bentuk Sediaan Veterines*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Dalimartha S. 2002. *36 Resep Tumbuhan Untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Dalimartha S. 2007. *36 Resep Tumbuhan Untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Daniel. 2006. *Optimalisasi Manfaat Statin*. [http://www.majalahfarmacia.com/rubrik/one_News.asp?ID News=183](http://www.majalahfarmacia.com/rubrik/one_News.asp?ID%20News=183) [8 Maret 2008].
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi 3. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1987. *Analisis obat tradisional*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1993. *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*. Jakarta: 57-59.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: 333-337.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1997. *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2002. *Perencanaan Sumber Daya Manusia*. Jakarta.
- Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth, editor. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Ed ke-5. Jakarta : Balai Penerbit FKUI
- Guyton AC, John EH. 2006. *Fisiologi Kedokteran*, Edisi 9. Jakarta: EGC.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Terbitan kedua. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Harmita dan Maksum. 2005. *Analisis Hayati*. Jakarta: Ari Cipta.
- Hidayat A, Darusman, Batubara. 2011. Fractination of The Active Compound from Kepele (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) Leaf Extract as Antibacterial. Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPM. Bogor: 112-113.
- Hutapea. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid III. Jakarta: hlm 271.
- Kim WJ. 2005. *Kolesterol*, 12 November 2007. [http://id.inaheart.or.id/?p=32 - 29k](http://id.inaheart.or.id/?p=32-29k).
- King MW. 2010. Cholesterol and bile synthesis. <http://themedicalbiochemistry.org/cholesterol.html>.
- Kusmana D. 2007. *Aktifitas Fisik Membantu Mencegah Aterosklerosis*. Diakses tanggal 12 Agustus 2007. <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0306/19/iptek/378701.html>.
- Libby P. 2002. *Inflammation in atherosclerosis*. Nature 42:868-874.
- Lingga L. 2012. *The Healing Power of Anti-oxidant*. Jakarta: PT Elex Media.
- Lubis EN. 2007. *Penyakit Jantung Koroner pada anak dan pencegahannya*. Bagian ilmu kesehatan anak fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Medan : RSUP H. Adam Malik.

- Metwally MAA, El-Gellal AM, El-Sawaisi SM. 2009. *Effect of silymarin on lipid metabolism in rats*. World App Sci J 12: 1634-1637.
- Nijveldt RJ *et al.* 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. American Journals Clinical Nutrition. USA 74:418-425.
- Nugroho A. 2009. Formulasi Tablet Ekstrak Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F. & Th.) Dengan Bahan Penghancur Avicel[®] Ph 101 Secara Granulasi Basah (Skripsi). Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Purwatiningsih, Hakim AR, Purwantini. 2010. Antihyperuricemic activity of the Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F. & Th.) leaves extract and xanthine oxidase inhibitory study. International Jurnal of Pharmacy and Science. 2 (2): 123- 127.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, penerjemah Padmawinata. Bandung: Institut Teknologi Bandung. hlm 71-72, 91, 157.
- Rukmana R. 1995. *Temulawak-Tanaman Rempah dan Obat*. Yogyakarta: Kanisius.
- Smith, Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia. 37-38.
- Solikin. 2010. Ecology of Kepel (*Stelechocarpus Burahol* (Blume) Hook.F.&Thomsom) in Purwodadi Botanical Garden. *Proceeding of International Conference on Medicinal Plant*. Surabaya : 21July 2010.
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Praktikum Farmakologi dan Toksikologi*. Edisi IV. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.
- Sunarni T, Suwidjiyo P dan Ratna A.2007. Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.). *Majalah Farmasi Indonesia* 18(3): 111-116.
- Susanti L. 2009. Khasiat ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Kimia & Teknologi* 5 : 67-72.
- Sutomo. 2003. Penurunan asam urat darah ayam jantan Braille hiperurisemia oleh fraksi ekstrakmetanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. &Th.). Tesis. Pasca Sarjana. Yogyakarta: Prodi Ilmu Farmasi Universitas Gadjah Mada.

- Taku K *et al.* 2007. *Soy isoflavones lower serum total and LDL cholesterol in humans: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials.* Am J Clin Nutr 85:1148-1156.
- Tan HT, Rahardja K. 1986. *Obat-obat Penting.* Edisi IV. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Tisnadjaja D, Edward S, Silvia, Partomuan S. 2006. Pengkajian kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI.) Hook f. &Th.) sebagai buah yang memiliki kandungan senyawa antioksidan. Biodiversitas 7(2): 199-202.
- Vella CA, Kravitz L, Janot JM. 2001. A review of impact of exercise on cholesterollevels. http://www.unm.edu/-Ikravitz/article_folder/cholesterol.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi.* Edisi V. Dr. Soendani Noerono Soewandhi, penerjemah. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Warisno. 2003. *Budidaya Pepaya.* Yogyakarta: Kanisius.
- Willet WC. 1998. *Zat Gizi dan Makanan pada Penyakit Kardiovaskuler.* Andalas: UniversityPress.

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman kepel



No : 037/DET/UPT-LAB/07/III/2013
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Devi Agustine
NIM : 15092669 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Kepel (*Stelechocarpus burahol* (BL.) Hook. F & Th.)**

Determinasi berdasarkan **Backer: Flora of Java.**

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25a – 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33b – 35a – 36d – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b – 44b – 45b – 46e – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 72b – 73b – 74a – 75b – 76a – 77a – 78a – 79a – 80b – 186a – 287b – 288b – 289a – 298b – 302b – 308b – 309b – 311a – 312a – 313b. familia 10. Annonaceae. 1b – 10a – 11a. 1. ***Stelechocarpus burahol* (BL.) Hook. F & Th.**

Deskripsi:

- Habitus : Pohon, tinggi dapat mencapai 12 meter.
Batang : Tegak, bulat, berkayu, percabangan monopodial, diameter dapat mencapai 40 cm. Pada kulit batang terdapat benjolan-benjolan. Benjolan-benjolan merupakan tempat bunga dan buah.
Daun : **Tunggal, lonjong meruncing, panjang 12 – 15 cm, lebar 5 – 7 cm, berwarna hijau gelap, permukaan atas hijau gelap, mengkilap, ujung meruncing, pangkal runcing, tepi rata, bertulang daun menyirip, menyerupai kulit yang tipis.**
Bunga : majemuk, tandan, tersebar di batang dan cabang, tangkai silindris, panjang \pm 4 cm, benang-sari dan putik halus, kuning, mahkota lonjong berwarna kuning. Bunga berkelamin tunggal, berbau harum, bunga jantan terdapat di bagian atas atau cabang yang lebih tua, bergerombol 8 – 16, bunga betina hanya terdapat di bagian bawah.
Buah : Buni, bulat lonjong, terdapat pada batang, bentuk bulat lonjong dengan bagian pangkal agak meruncing, berwarna coklat keabu-abuan, kulit kasar, diameter \pm 5 cm, coklat, daging buah berwarna kuning sampai kecoklatan, membungkus biji yang berukuran cukup besar. Rasa buah kepel manis.
Biji : Bentuk seperti ginjal, berwarna coklat tua, besar,
Akar : Sistem akar tunggang, berwarna putih kotor.
Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands



Surakarta, 07 Maret 2013
Tim determinasi

[Signature]
Dra. Kartinah Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Surat keterangan pembelian hewan uji

"ABIMANYU FARM"

√ Mencit putih jantan √ Tikus Wistar √ Swis Webster √ Cacing √ Mencit Jepang √ Kelinci New Zealand
Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Menerangkan dengan sebenarnya bahwa Tikus Wistar yang dibeli oleh:

Nama : Devi Agustine
Alamat : Universitas Setia Budi Surakarta
Fakultas : Farmasi
Nim : 15092669 A
Keperluan : Praktikum Penelitian
Tanggal : 13 Mei 2013
Jenis : Tikus Wistar
Kelamin : Tikus Wistar Jantan
Umur : ± 2 - 3 bulan
Jumlah : 35 ekor jantan

Atas kerja samanya, kami mengucapkan terima kasih dan mohon maaf jika dalam pelayanannya banyak kekurangan.

Demikian surat keterangan ini dibuat, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 3 Juni 2013

Hormat kami



ABIMANYU FARM

Sigit/Pramono

Lampiran 3. Surat keterangan pengambilan bahan baku Simvastatin**PT IFARS PHARMACEUTICAL LABORATORIES**Jl. Raya Solo - Sragen km 14,9 Karanganyar - Solo 57762 Telp. (0271) 8200888 (Hunting), 827724, 656220
INDONESIA Fax. (0271) 656230

Surakarta, 06 Maret 2013

Nomor : IF/III/2013/21.007/025
Lamp. : 1 lembar
Hal : Bahan baku Simvastatin

Kepada Yth. :
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Jl. Let. Jend. Sutoyo
Solo 57127

Dengan hormat,

Bersama ini kami kirimkan sampel bahan baku Simvastatin sebanyak 500 mg (Lima Ratus miligram) beserta foto copy Certificate of Analysis untuk mahasiswa sebagaimana tercantum dalam surat saudara nomor: 620.20/FF.0/A/SPM/II/2013 pada tanggal 20 Februari 2013

Demikian agar dapat diterima dan diteruskan kepada mahasiswa yang bersangkutan.


Hormat kami,
PT IFARS Pharmaceutical Laboratories
Penanggung Jawab Produksi

PT IFARS
PHARMACEUTICAL LABORATORIES
SURAKARTA - INDONESIA

Dra. Agustini, Apt.

19690821/STRA-UNAIR/1995/224652

Lampiran 4. Sertifikat analisis bahan baku Simvastatin

 SHANGYU JINGXIN PHARMACEUTICAL CO., LTD. CERTIFICATE OF ANALYSIS Simvastatin		
D-QA542-F05-R03		Analysis serial No.:DK40-1204281-01
Batch No.: DK40-1204281	Quantity:25.00Kg	
Package Size: 25 Kg/Drum	Manufacturing Date: 28 Apr. 2012	
Issuing Date: 30 Apr. 2012	Expiry Date: 27 Apr. 2015	
Source: 516 Workshop	Quality Specification: USP34	
Items	Specification	Results
CHARACTERS		
Appearance	White to off-white powder	white powder
Solubility	Practically insoluble in water. Freely soluble in chloroform, in methanol, and in ethanol. Sparingly soluble in propylene glycol. Very slightly soluble in Hexane.	Complies
IDENTIFICATION		
IR	The spectrum obtained from sample consists with that obtained from Simvastatin RS	Complies
HPLC	The retention time of the major peak in the chromatogram of the standard preparation, as obtained in the Assay	Complies
Specific rotation	+285°~+298°	+291.0°
Loss on drying	Not more than 0.5%	0.02%
Residue on ignition	Not more than 0.1%	0.04%
Heavy metals	Not more than 0.002%	Less than 0.002%
Chromatographic purity		
Simvastatin hydroxyacid	Not more than 0.4%	0.04%
Epilovastatin and Lovastatin	Not more than 1.0%	0.44%
Methylene simvastatin	Not more than 0.4%	0.11%
Acetyl simvastatin	Not more than 0.4%	0.09%
Anhydro simvastatin	Not more than 0.4%	0.02%
Simvastatin dimer	Not more than 0.4%	0.17%
Any other individual impurity	Not more than 0.1%	0.06%
Total impurities other than lovastatin and epilovastatin	Not more than 1.0%	0.55%
Residual solvents		
Ethanol	Not more than 5000ppm	724ppm
Dichloromethane	Not more than 600ppm	Not more than 600ppm
ASSAY (on the dried basis)	98.0% to 102.0% of C ₂₅ H ₃₈ O ₅	99.4%
Conclusion: The results conform with do not conform with the specifications		
Analyst: Wu Xiaofei 吴晓飞	Checker: Geng Ruifeng 耿瑞峰	QA Manager: [Signature]
Address: No. 31 Weisang Road, Zhejiang Hangzhou Bay Shangyu Industrial Area, Shangyu City, Zhejiang Province, P.R. China, 312369		
Tel.: +86-575-82728559		Fax: +86-575-82728551

Lampiran 5. Bahan pembuatan ekstrak etanolik daun kepel



Tanaman kepel



Daun kepel



Serbuk daun kepel

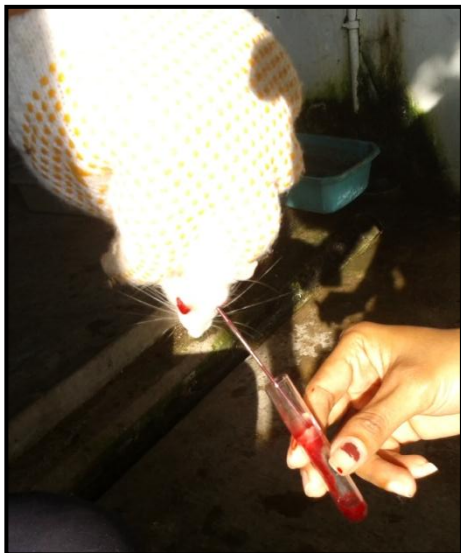


Maserasi



Ekstrak etanolik daun kepel

Lampiran 6. Foto alat-alat penelitian**Timbangan digital****Penggiling serbuk****Ayakan****Rotary Evaporator*****Moisture Balance***

Lampiran 7. Foto perlakuan hewan uji**Larutan stok****Pengambilan sampel darah****Pemberian sediaan uji secara oral**

Lampiran 8. Foto alat pemeriksaan kolesterol**Reagen Kolesterol Kit****Fotometer Stardust FC****Centrifuge**

Lampiran 9. Foto identifikasi kualitatif terhadap serbuk dan ekstrak etanolik daun kepel



Flavonoid



Polifenol



Flavonoid**Polifenol****Lampiran 10. Hasil pembuatan serbuk daun kepel**

Dari hasil penelitian diperoleh data sebagai berikut :

Berat basah (g)	Berat serbuk (g)	Prosentase (%)
4000	1900	47,5

Perhitungan % rendemen berat serbuk terhadap berat basah :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat serbuk (g)}}{\text{Berat basah (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{1900 \text{ g}}{4000 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 47,5 \%$$

Jadi rendemen berat serbuk terhadap berat basah daun kepel adalah 47,5 %.

Lampiran 11. Hasil pembuatan ekstrak etanolik daun kepel

Dari hasil penelitian diperoleh data sebagai berikut :

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (% b/b)
500	38,22	7,64

Perhitungan % rendemen ekstrak etanolik daun kepel :

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{38,22 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 7,64 \% \text{ b/b}\end{aligned}$$

Jadi rendemen ekstrak etanolik daun kepel terhadap bobot serbuk dan kepel adalah 7,64 % b/b.

Lampiran 12. Perhitungan dosis sediaan

A. Perhitungan dosis sediaan dari ekstrak etanol daun kepel

Dosis sediaan dihitung dari dosis empiris (dosis yang biasa digunakan dalam masyarakat) adalah 1 sendok teh = 2,3 gram serbuk daun kepel (dosis asam urat) (Nugroho 2009).

Pemakaian tradisional serbuk daun kepel dalam satu hari adalah :

Aturan pakai 1 hari (serbuk) = $3 \times 2,3 \text{ g} = 6,9 \text{ g}$

Konversi dosis dengan berat badan manusia 70 kg ke tikus yang berat badannya 200 g = 0,018 (Laurence dan Bacharach 1964).

Maka konversi dosis daun kepel ke tikus (200 g)

$$= 6,9 \text{ gram} \times 0,018$$

$$= 0,100 \text{ g} / 200 \text{ g BB}$$

$$= 100 \text{ mg} / 200 \text{ g BB}$$

Dosis ekstrak = dosis ke tikus x % rendemen

$$= 100 \text{ mg} / 200 \text{ g BB} \times 7,64 \%$$

$$= 7,64 \text{ mg} / 200 \text{ g BB}$$

Variasi dosis dapat diperoleh berdasarkan rendemen ekstrak etanolik dikalikan dengan perhitungan dosis. Variasi dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1DE, 2DE dan 3DE.

$$\text{Dosis I} = 1 \times 7,64 \text{ mg} / 200 \text{ g BB}$$

$$= 7,64 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$$

$$\text{Dosis II} = 2 \times 7,64 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$$

$$= 15,28 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$$

$$\text{Dosis III} = 3 \times 7,64 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$$

$$= 22,92 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$$

Perhitungan volume pemberian pada hewan uji :

- Dosis I = 7,64 mg/200 g BB

$$\begin{aligned} \text{Untuk tikus yang rata-rata berat badannya } 200 \text{ g} &= \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 7,64 \text{ mg} \\ &= 7,64 \text{ mg} \end{aligned}$$

Dibuat larutan stok = 0,764 % = 7,64 mg/ml = 382 mg/50 ml, menimbang 382 mg ekstrak + aquadest sampai volume 50 ml.

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian} &= \frac{7,64 \text{ mg}/200 \text{ g BB}}{7,64 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Dosis II = 15,28 mg/200 g BB

$$\begin{aligned} \text{Untuk tikus yang rata-rata berat badannya } 200 \text{ g} &= \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 15,28 \text{ mg} \\ &= 15,28 \text{ mg} \end{aligned}$$

Dibuat larutan stok = 1,528% = 15,28 mg/ml = 764 mg/50 ml, menimbang 764 mg ekstrak + aquadest sampai volume 50 ml.

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian} &= \frac{15,28 \text{ mg}/200 \text{ g BB}}{15,28 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Dosis III = 22,92 mg/200 g BB

$$\begin{aligned}\text{Untuk tikus yang rata-rata berat badannya } 200 \text{ g} &= \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 22,92 \text{ mg} \\ &= 22,92 \text{ mg}\end{aligned}$$

Dibuat larutan stok = 2,292% = 22,92 mg/ml = 1146 mg/50 ml, menimbang 1146 mg ekstrak + aquadest sampai volume 50 ml.

$$\begin{aligned}\text{Volume pemberian} &= \frac{22,92 \text{ mg}/200 \text{ g BB}}{22,92 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 1 \text{ ml}\end{aligned}$$

B. Penentuan dosis sediaan untuk obat simvastatin

Untuk obat simvastatin 10 mg konversi dosis ke manusia yang berat badannya 70 kg terhadap tikus yang berat badannya 200 g = 0,018 (Laurence dan Bacharach, 1964).

Pemakaian untuk 1 hari = 1 x 10 mg = 10 mg

$$\begin{aligned}\text{Maka konversi dosis ke tikus} &= 0,018 \times 10 \text{ mg} / 200 \text{ g BB} \\ &= 0,18 \text{ mg} / 200 \text{ g BB}\end{aligned}$$

Dibuat larutan stok = 0,018% = 0,18 mg/ml = 9 mg/50 ml, menimbang 9 mg serbuk simvastatin ditambah aquadest sampai volume 50 ml.

$$\begin{aligned}\text{Untuk tikus yang rata-rata berat badannya } 200 \text{ g} &= \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,18 \text{ mg} \\ &= 0,18 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,18 \text{ mg} / 200 \text{ g BB}}{0,18 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

C. Pembuatan suspensi CMC Na 0,5%

Suspensi CMC Na sebagai kontrol negatif dibuat dalam konsentrasi 0,5%.

Konsentrasi 0,5% = 0,5 gram/100 ml

= 250 mg/50 ml

= 5 mg/ml

Menimbang 250 mg serbuk CMC Na lalu dilarutkan dengan air hangat 50 ml lalu dihomogenkan.

Lampiran 13. Hasil analisa statistik pada penurunan kadar kolesterol total

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kelompok Perlakuan	30	3.50	1.737	1	6
Penurunan Kadar Kolesterol	30	87.20	26.685	58	143

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kelompok Perlakuan	Penurunan Kadar Kolesterol
N		30	30
Normal Parameters ^a	Mean	3.50	87.20
	Std. Deviation	1.737	26.685
Most Extreme Differences	Absolute	.139	.192
	Positive	.139	.192
	Negative	-.139	-.137
Kolmogorov-Smirnov Z		.764	1.049
Asymp. Sig. (2-tailed)		.604	.221

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data

Dari data uji One-Sample kolmogorov-Smirnov diperoleh signifikansi = 0,221 > 0,05 (H0 diterima). Disimpulkan data tersebut **terdistribusi normal** sehingga dapat dilakukan analisis varian (ANOVA).

Descriptives

Penurunan Kadar Kolesterol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Normal	5	91.80	5.675	2.538	84.75	98.85	86	100
Kontrol Negatif	5	139.60	2.408	1.077	136.61	142.59	137	143
Kontrol Positif	5	62.40	4.827	2.159	56.41	68.39	58	69
Dosis 7,64 mg/ 200 g BB	5	86.20	9.284	4.152	74.67	97.73	79	102
Dosis 15,28 mg/ 200 g BB	5	77.20	7.823	3.499	67.49	86.91	68	86
Dosis 22,92 mg/ 200 g BB	5	66.00	6.205	2.775	58.30	73.70	58	74
Total	30	87.20	26.685	4.872	77.24	97.16	58	143

ANOVA

Penurunan Kadar Kolesterol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19662.000	5	3932.400	95.447	.000
Within Groups	988.800	24	41.200		
Total	20650.800	29			

Anova (*Analysis of Variance*) dilakukan untuk menguji apakah keenam sampel mempunyai rata-rata (*Mean*) yang berbeda.

Analisis menggunakan Anova menunjukkan :

1. Hipotesis

- H_0 = Kelima rata-rata adalah identik
- H_1 = Kelima rata-rata adalah tidak identik

2. Terlihat bahwa F hitung = 95,447 dengan probabilitas $0,000 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti keenam perlakuan penurunan kadar kolesterol total tiap ekor tikus tersebut memang berbeda nyata.

Dari uji Anova (*Analysis of Variance*) yang dilakukan keenam sampel mempunyai rata-rata (*Mean*) yang berbeda. Maka dilanjutkan uji Levene untuk mengetahui variannya sama atau tidak.

Test of Homogeneity of Variances

Penurunan Kadar Kolesterol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.349	5	24	.278

Dari hasil uji Levene didapatkan nilai signifikansi $0,278 > 0,05$ dan dapat disimpulkan variannya tidak sama. Kemudian, dilanjutkan uji *Post Hoc Tukey*.

Post Hoc

Multiple Comparisons

Penurunan Kadar Kolesterol Total

Tukey HSD

(I) Kelompok Perlakuan	(J) Kelompok Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-47.800 [*]	4.060	.000	-60.35	-35.25
	Kontrol Positif	29.400 [*]	4.060	.000	16.85	41.95
	Dosis 7,64 mg/200 g BB	5.600	4.060	.738	-6.95	18.15
	Dosis 15,28 mg/200 g BB	14.600 [*]	4.060	.016	2.05	27.15
	Dosis 22,92 mg/200 g BB	25.800 [*]	4.060	.000	13.25	38.35
Kontrol Negatif	Kontrol Normal	47.800 [*]	4.060	.000	35.25	60.35
	Kontrol Positif	77.200 [*]	4.060	.000	64.65	89.75
	Dosis 7,64 mg/200 g BB	53.400 [*]	4.060	.000	40.85	65.95
	Dosis 15,28 mg/200 g BB	62.400 [*]	4.060	.000	49.85	74.95
	Dosis 22,92 mg/200 g BB	73.600 [*]	4.060	.000	61.05	86.15
Kontrol Positif	Kontrol Normal	-29.400 [*]	4.060	.000	-41.95	-16.85
	Kontrol Negatif	-77.200 [*]	4.060	.000	-89.75	-64.65
	Dosis 7,64 mg/200 g BB	-23.800 [*]	4.060	.000	-36.35	-11.25
	Dosis 15,28 mg/200 g BB	-14.800 [*]	4.060	.014	-27.35	-2.25
	Dosis 22,92 mg/200 g BB	-3.600	4.060	.946	-16.15	8.95
Dosis 7,64 mg / 200 g BB	Kontrol Normal	-5.600	4.060	.738	-18.15	6.95
	Kontrol Negatif	-53.400 [*]	4.060	.000	-65.95	-40.85
	Kontrol Positif	23.800 [*]	4.060	.000	11.25	36.35
	Dosis 15,28 mg/200 g BB	9.000	4.060	.267	-3.55	21.55
	Dosis 22,92 mg/200 g BB	20.200 [*]	4.060	.001	7.65	32.75
Dosis 15,28 mg / 200 g BB	Kontrol Normal	-14.600 [*]	4.060	.016	-27.15	-2.05
	Kontrol Negatif	-62.400 [*]	4.060	.000	-74.95	-49.85
	Kontrol Positif	14.800 [*]	4.060	.014	2.25	27.35
	Dosis 7,64 mg/200 g BB	-9.000	4.060	.267	-21.55	3.55

	Dosis 22,92 mg/200 g BB	11.200	4.060	.100	-1.35	23.75
Dosis 22,92 mg / 200 g BB	Kontrol Normal	-25.800	4.060	.000	-38.35	-13.25
	Kontrol Negatif	-73.600	4.060	.000	-86.15	-61.05
	Kontrol Positif	3.600	4.060	.946	-8.95	16.15
	Dosis 7,64 mg/200 g BB	-20.200	4.060	.001	-32.75	-7.65
	Dosis 15,28 mg/200 g BB	-11.200	4.060	.100	-23.75	1.35

Penurunan Kadar Kolesterol Total

Tukey HSD

Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kontrol Positif	5	62.40				
Dosis 22,92 mg/200 g BB	5	66.00	66.00			
Dosis 15,28 mg/200 g BB	5		77.20	77.20		
Dosis 7,64 mg/200 g BB	5			86.20	86.20	
Kontrol Normal	5				91.80	
Kontrol Negatif	5					139.60
Sig.		.946	.100	.267	.738	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Dari tabel diatas dapat diketahui grup/subset mana saja yang mempunyai perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Terlihat keenam kelompok perlakuan terbagi dalam lima subset, yang menunjukkan :

- Penurunan kadar kolesterol pada kontrol negatif terdapat dalam subset yang berbeda dengan kelompok yang lain, artinya mempunyai perbedaan yang nyata dengan kelompok yang lain.
- Penurunan kadar kolesterol kontrol normal dan dosis 7,64 mg/ 200 g BB tidak mempunyai perbedaan yang nyata, karena berada dalam satu subset.

- Penurunan kadar kolesterol dosis 7,64 mg/ 200 g BB dan dosis ,28 mg/ 200 g BB tidak mempunyai perbedaan yang nyata, karena berada dalam satu subset
- Penurunan kadar kolesterol dosis 15,28 mg/ 200 g dan dosis 22,92 mg/ 200 g BB tidak mempunyai perbedaan yang nyata, karena berada dalam satu subset.
- Penurunan kadar kolesterol kontrol positif dan dosis 22,92 mg/ 200 g BB tidak mempunyai perbedaan yang nyata, karena berada dalam satu subset.

Hasil uji Levene kadar kolesterol sebelum perlakuan (kadar normal)

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Normal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.991	5	24	.444

Dari hasil uji Levene didapatkan nilai signifikansi $0,444 > 0,05$ dan dapat disimpulkan variannya tidak sama. Jadi, data kadar kolesterol sebelum perlakuan homogen.

Hasil uji - t kadar kolesterol pada kontrol normal dengan kontrol perlakuan hiperkolesterol :

T-Test

Group Statistics

Kelompok Perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kelompok Kolesterol	Kontrol Normal	5	94.80	8.758	3.917
	Kontrol Hiperkolesterol	5	155.80	6.458	2.888

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Kelompok Kolesterol	Equal variances assumed	.554	.478	-12.535	8	.000	-61.000	4.866	-72.222	-49.778
	Equal variances not assumed			-12.535	7.357	.000	-61.000	4.866	-72.394	-49.606

Analisis apakah perbedaan kadar kolesterol pada kontrol normal dengan kontrol perlakuan hiperkolesterol tersebut nyata atau tidak, dilakukan dengan test *Levene* dan tets t.

1. Dari hasil test Levene diketahui nilai F hitung untuk kasus ini adalah 0,554 dengan probabilitas sebesar 0,478. Nilai probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima. Jadi, perbedaan kadar kolesterol pada kontrol normal dengan kontrol perlakuan hiperkolesterol tersebut sama.
2. Dari hasil test t diketahui nilai t untuk kasus ini adalah -12,535 dengan probabilitas sebesar 0,000. Nilai probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima. Jadi mean atau rata-rata kadar kolesterol kontrol normal dengan kontrol perlakuan hiperkolesterol tersebut sama.

Lampiran 14. Kadar kolesterol total serum darah tikus putih jantan

Tabel 9. Kadar kolesterol total serum darah tikus putih jantan

Kelompok	Replikasi	Hari ke-0 (mg/dL)	Hari ke-14 (mg/dL)	Hari ke-28 (mg/dL)
Kontrol Normal	1	83	108	100
	2	78	87	86
	3	80	92	90
	4	79	99	95
	5	82	88	88
Rata-rata		80,4	94,8	91,8
Kontrol (-) CMC Na0,5%	1	76	160	138
	2	69	159	141
	3	74	162	137
	4	70	151	139
	5	80	147	143
Rata-rata		73,8	155,8	139,6
Kontrol (+) Simvastatin	1	74	148	60
	2	72	142	66
	3	70	134	59
	4	81	152	69
	5	69	102	58
Rata-rata		73,2	135,6	62,4
Dosis I 7,64 mg/200 g BB	1	82	146	86
	2	69	150	79
	3	72	142	84
	4	77	134	80
	5	86	138	102
Rata-rata		77,2	142	86,2
Dosis II 15,28 mg/200 g BB	1	78	136	82
	2	83	148	86
	3	74	116	70
	4	68	124	68
	5	75	142	80
Rata-rata		75,6	133,2	77,2
Dosis III 22,92 mg/200 g BB	1	71	154	74
	2	68	138	70
	3	63	128	63
	4	58	120	58
	5	64	152	65
Rata-rata		64,8	138,4	66

Lampiran 15. Brosur kolesterol kit



Cholesterol FS*

Diagnostic reagent for quantitative in vitro determination of cholesterol in serum or plasma on photometric systems

Order Information

Cat. No.	Kit size	
1 1300 99 83 021	R 5 x	25 mL + 1 x 3 mL Standard
1 1300 99 83 026	R 6 x	100 mL
1 1300 99 83 023	R 1 x	1000 mL
1 1300 99 83 704	R 8 x	50 mL
1 1300 99 83 917	R 10 x	60 mL
1 1300 99 83 192	R 4 x	60 mL
1 1300 99 83 314	R 12 x	25 mL
1 1300 99 83 030	6 x	3 mL Standard

Summary

Cholesterol is a component of cell membranes and a precursor for steroid hormones and bile acids synthesized by body cells and absorbed with food [1]. Cholesterol is transported in plasma via lipoproteins, namely complexes between lipids and apolipoproteins [1]. There are four classes of lipoproteins: high density lipoproteins (HDL), low density lipoproteins (LDL), very low density lipoproteins (VLDL) and chylomicrons. While LDL is involved in the cholesterol transport to the peripheral cells, HDL is responsible for the cholesterol uptake from the cells. The four different lipoprotein classes show distinct relationship to coronary atherosclerosis [1]. LDL-cholesterol (LDL-C) contributes to atherosclerotic plaque formation within the arterial intima and is strongly associated with coronary heart disease (CHD) and related mortality. Even with total cholesterol within the normal range an increased concentration of LDL-C indicates high risk. HDL-C has a protective effect impeding plaque formation and shows an inverse relationship to CHD prevalence. In fact, low HDL-C values constitute an independent risk factor. The determination of the individual total cholesterol (TC) level is used for screening purposes while for a better risk assessment it is necessary to measure additionally HDL-C and LDL-C.

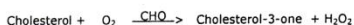
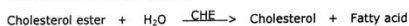
In the last few years several controlled clinical trials using diet, life style changes and / or different drugs (especially HMG CoA reductase inhibitors [statins]) have demonstrated that lowering total cholesterol and LDL-C levels reduce drastically CHD risk [2].

Method

"CHOD-PAP": enzymatic photometric test

Principle

Determination of cholesterol after enzymatic hydrolysis and oxidation [3,4]. The colorimetric indicator is quinoneimine which is generated from 4-aminoantipyrine and phenol by hydrogen peroxide under the catalytic action of peroxidase (Trinder's reaction) [3].



Reagents

Components and Concentrations

N.B. Concentrations are those in the final test mixture.

Reagent:

Good's buffer	pH 6.7	50 mmol/L
Phenol		5 mmol/L
4-Aminoantipyrine		0.3 mmol/L
Cholesterol esterase	(CHE)	≥ 200 U/L
Cholesterol oxidase	(CHO)	≥ 50 U/L
Peroxidase	(POD)	≥ 3 kU/L
Standard:		200 mg/dL (5.2 mmol/L)

Storage Instructions and Reagent Stability

The reagent is stable up to the end of the indicated month of expiry, if stored at 2 – 8 °C, protected from light and contamination is avoided. Do not freeze the reagents!

The standard is stable up to the end of the indicated month of expiry, if stored at 2 – 25 °C.

Note: It has to be mentioned, that the measurement is not influenced by occasionally occurring color changes, as long as the absorbance of the reagent is < 0.3 at 546 nm.

Warnings and Precautions

1. The reagent contains sodium azide (0.95 g/L) as preservative. Do not swallow! Avoid contact with skin and mucous membranes.
2. Take the necessary precautions for the use of laboratory reagents.

Waste Management

Please refer to local legal requirements.

Reagent Preparation

The reagent and the standard are ready-to-use.

Materials required but not provided

NaCl solution 9 g/L.

General laboratory equipment.

Specimen

Serum, heparin plasma or EDTA plasma.

Stability(6):	7 days	at 20 - 25°C
	7 days	at 4 - 8°C
	3 months	at -20°C

Discard contaminated specimens.

Assay Procedure

Application sheets for automated systems are available on request.

Wavelength	500 nm, Hg 546 nm
Optical path	1 cm
Temperature	20 - 25 °C / 37 °C
Measurement	Against reagent blank

	Blank	Sample or standard
Sample or standard	-	10 µL
Dist. water	10 µL	-
Reagent	1000 µL	1000 µL
Mix, incubate for 20 min. at 20 – 25 °C or for 10 min. at 37 °C. Read absorbance within 60 min against reagent blank.		

Calculation

With standard or calibrator.

$$\text{Cholesterol [mg / dL]} = \frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Std / Cal}} \times \text{Conc. Std / Cal [mg / dL]}$$

Conversion factor

$$\text{Cholesterol [mg/dL]} \times 0.02586 = \text{Cholesterol [mmol/L]}$$

Calibrators and Controls

For the calibration of automated photometric systems the TruCal U calibrator is recommended. For internal quality control TruLab N and P or TruLab L controls should be assayed with each batch of samples.

	Cat. No.	Kit size
TruCal U	5 9100 99 83 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 83 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 83 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 83 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 83 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 83 061	6 x 5 mL
TruLab L	5 9020 99 83 065	3 x 3 mL

Performance Characteristics

Measuring range

The test has been developed to determine cholesterol concentrations within a measuring range from 3 - 750 mg/dL (0.08 - 19.4 mmol/L). When values exceed this range samples should be diluted 1 + 4 with NaCl solution (9 g/L) and the result multiplied by 5.

Specificity / Interferences

No interference was observed by ascorbic acid up to 5 mg/dL, bilirubin up to 20 mg/dL, hemoglobin up to 200 mg/dL and lipemia up to 2,000 mg/dL triglycerides.

Sensitivity / Limit of Detection

The lower limit of detection is 3 mg/dL (0.08 mmol/L).

Precision (at 37°C)

Intra-assay precision n = 20	Mean [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Sample 1	108	1.76	1.62
Sample 2	236	1.45	0.61
Sample 3	254	1.57	0.62

Inter-assay precision n = 20	Mean [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Sample 1	104	1.19	1.14
Sample 2	211	2.57	1.22
Sample 3	245	2.28	0.93

Method Comparison

A comparison between Cholesterol FS (y) and a commercially available test (x) using 78 samples gave following results: $y = 1.00x - 2.50$ mg/dL; $r = 0.995$.

Reference Range [5]

Desirable	≤ 200 mg/dL (5.2 mmol/L)
Borderline high risk	200 - 240 mg/dL (5.2 - 6.2 mmol/L)
High risk	> 240 mg/dL (> 6.2 mmol/L)

Clinical Interpretation

The European Task Force on Coronary Prevention recommends to lower TC concentration to less than 190 mg/dL (5.0 mmol/L) and LDL-cholesterol to less than 115 mg/dL (3.0 mmol/L) [2].

Literature

1. Rifai N, Bachorik PS, Albers JJ. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 809-61.
2. Recommendation of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Eur Heart J 1998;19: 1434-503.
3. Artiss JD, Zak B. Measurement of cholesterol concentration. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACC Press, 1997:99-114.
4. Deeg R, Ziegenhorn J. Kinetic enzymatic method for automated determination of total cholesterol in serum. Clin Chem 1983;29:1798-802.
5. Schaefer EJ, McNamara J. Overview of the diagnosis and treatment of lipid disorders. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACC press, 1997:25-48.
6. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001. P. 22-3.

Manufacturer

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Germany
Distributed by Diagnostika Sistem Indonesia

Lampiran 16. Komposisi makanan tikus BR-II**Komposisi makanan tikus BR-II**

Unsur	Kadar (%)
Air	Maksimum 12
Protein kasar	Maksimum 15,5
Lemak kasar	Maksimum 14
Serat kasar	Maksimum 6
Abu	Maksimum 7
Kalsium	0,9 – 1,5
Phosphor	0,6 – 0,8

Lampiran 17. Tabel konversi perhitungan dosis

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,4	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,2
Kera 4 kg	0,16	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,08	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,026	0,018	0,031	0,031	0,076	0,16	0,32	1,0