

**AKTIVITAS MINYAK IKAN NILA MERAH (*Oreochromis niloticus*)
TERHADAP PENURUNAN KADAR KOLESTEROL TOTAL SERUM
DARAH PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR**



Oleh:

**Asrizal Aziz
18123508A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul :

**AKTIVITAS MINYAK IKAN NILA MERAH (*Oreochromis niloticus*)
TERHADAP PENURUNAN KADAR KOLESTEROL TOTAL SERUM
DARAH PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR**

Oleh :
Asrizal Aziz
18123508A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 27 Juni 2016

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



Prof. Dr. R.A. Oetari, SU.,MM.,M.Sc.,Apt

Pembimbing,

Dra. Suhartinah, M.Sc.,Apt
Pembimbing Pendamping.

Meta Kartika.,M.Sc.,Apt

Penguji:

1. Mamik Ponco Rahayu,M.Si.,Apt
2. Iswandi, M.Farm.,Apt
3. Meta Kartika.,M.Sc.,Apt
4. Dra. Suhartinah, M.Sc.,Apt

1.

2.

3.

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila telah selesai dari semua urusan, kerjakanlah urusan lainya dengan sungguh-sungguh dan hanya kepada Tuhanmu lah hendaknya berharap”

*“QS. Al-Insyirah: 6-8”
“ Man Jadda Wa Jadda”*

(Barang siapa yang bersungguh-sungguh, maka pasti akan berhasil)

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah tertulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 11 Juni 2016



Asrizal Aziz

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas semua limpahan dan Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini dan skripsi yang berjudul "**AKTIVITAS MINYAK IKAN NILA MERAH (*Oreochromis niloticus*) TERHADAP PENURUNAN KADAR KOLESTEROL TOTAL SERUM DARAH PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR**". Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi. Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. dr. Djoni Tarigan, MBA, selaku rector Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dra. Suhartinah,M.Sc.,Apt selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktunya guna memberikan bimbingan, nasihat dan semangat dalam menyusun skripsi.
4. Meta Kartika.,M.Sc.,Apt selaku pembimbing pendamping yang dengan sabar memberikan bimbingan, nasihat dan arahan dalam menyusun skripsi.
5. Selaku penguji yang telah meluangkan waktunya untuk menguji dan memberikan masukan untuk menyempurnakan skripsi ini.

6. Segenap dosen , asisten dosen, staf perpustakaan Universitas Setia Budi, staf Laboratorium Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran dan selesainya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharap segala saran dan kritik yang bersifat membangun. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBERAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
INTISARI	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Ikan Nila	5
1. Sistematika hewan	5
2. Habitat	5
3. Deskripsi.....	6
4. Morfologi.....	6
5. Kandungan ikan nila	6
B. Asam lemak tak jenuh	7
1. Definisi asam lemak tak jenuh	7
2. Peranan asam lemak tak jenuh	8
C. Kolesterol	9
1. Pengertian kolesterol.....	9
2. Metabolisme kolesterol	10
D. Hiperkolesterolemia	12

E.	Mekanisme hiperkolesterolemia	13
F.	Obat anti hiperkolesterolemia golongan statin (Simvastatin)	13
G.	Metode pemeriksaan kadar kolesterol total	14
H.	Minyak Ikan	15
1.	1. Pengertian minyak ikan	15
	2. Peranan minyak ikan	15
	3. Metode pembuatan minyak ikan	16
	3.1 Rendering	16
	3.2 Pengepresan (pressing).....	17
	3.3 Pemurnian minyak.....	17
I.	Hewan Uji.....	17
1.	1. Sistematika tikus putih	17
	2. Karakteristik tikus putih	18
	3. Biologi tikus putih	18
J.	Dosis	19
K.	Landasan teori	19
L.	Hipotesis	22
 BAB III METODE PENELITIAN		23
A.	Populasi dan Sampel.....	23
1.	1. Populasi	23
	2. Sampel	23
B.	Variabel Penelitian	23
1.	1. Identifikasi variabel utama	23
	2. Klasifikasi variabel utama	24
	3. Definisi operasional variabel utama	24
C.	Bahan dan Alat	26
1.	1. Alat	26
	2. Bahan.....	26
D.	Jalannya Penelitian	26
1.	1. Determinasi ikan nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	26
	2. Pembuatan minyak ikan nila	27
	3. Analisa rendemen minyak ikan	28
	4. Analisa sifat fisik minyak ikan	29
	4.1 Organoleptik	29
	4.2 Berat jenis minyak ikan.....	29
	4.3 Indeks bias	30
	5. Analisa asam lemak minyak ikan	31
	6. Pembuatan emulsi untuk per oral	31
	7. Penentuan dosis	31
	7.1 PGA 0,5 %	31
	7.2 Simvastatin	31
	7.3 Minyak ikan nila.....	31
	8. Pemberian pakan diet tinggi lemak	32
	9. Persiapan hewan uji.....	32

10. Perlakuan hewan uji	32
11. Uji penurunan kadar kolesterol total	35
E. Analisis Data	36
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	37
A. Hasil determinasi ikan nila	37
B. Hasil pengambilan minyak ikan nila	37
C. Analisa sifat fisik minyak ikan	38
1. Hasil pemeriksaan organoleptik	38
2. Hasil pemeriksaan berat jenis	38
3. Hasil pemeriksaan indeks bias	39
D. Hasil analisa asam lemak dengan GC--MS	39
E. Hasil pengujian penurunan kadar kolesterol total minyak ikan nila	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	48
A. Kesimpulan	48
B. Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema pembuatan minyak	28
2. Skema perlakuan hewan uji	34
3. Histogram % kenaikan kadar kolesterol total	43
4. Histogram % penurunan kadar kolesterol total.....	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Perbandingan konversi dosis	19
2. Prosedur pengujian kolesterol total.....	35
3. Presentase rendemen minyak ikan nila	38
4. Pemeriksaan organoleptik minyak ikan nila	38
5. Bobot jenis minyak ikan nila	38
6. Indeks bias minyak ikan nila.....	39
7. Kandungan minyak dengan analisa GC-MS	40
8. Hasil rata-rata penurunan kadar kolesterol total hewan uji.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan identifikasi ikan nila	52
Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji	53
Lampiran 3. Foto ikan nila dan minyak ikan nila	54
Lampiran 4. Foto alat dan bahan pembuatan minyak ikan	55
Lampiran 5. Foto alat pemeriksaan dan hasil pemeriksaan indeks bias dan bobot jenis minyak ikan.....	56
Lampiran 6. Hasil pemeriksaan indeks bias.....	57
Lampiran 7. Foto larutan stok sediaan uji.....	57
Lampiran 8. Foto alat dan reagen kolesterol total.....	58
Lampiran 9. Pemberian sediaan secara oral dan pengambilan sempel darah	59
Lampiran 10. Perhitungan presentase minyak ikan nila	60
Lampiran 11. Perhitungan indeks bias minyak ikan nila	60
Lampiran 12. Perhitungan bobot jenis minyak ikan nila	61
Lampiran 13. Hasil analisa kromatografi gas-spektrofotometri massa.....	63
Lampiran 14. Prosedur uji kadar kolesterol total	71
Lampiran 15. Perhitungan dosis dan volume pemberian.....	73
Lampiran 16. Volume pemberian secara oral	79
Lampiran 17. Hasil pengukuran kadar kolesterol total	80
Lampiran 18. Hasil analisa data selisih peningkatan dan penurunan kadar kolesterol total dengan uji <i>Shapiro-wilk</i> dilanjutkan <i>One-way Anova</i>	81

INTISARI

AZIZ, A., 2016, AKTIVITAS MINYAK IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) TERHADAP PENURUNAN KADAR KADAR KOLESTEROL TOTAL SERUM DARAH PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Hiperlipidemia merupakan suatu kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan penurunan HDL didalam serum darah yang akan memicu terjadinya aterosklerosis. Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan jenis ikan air tawar yang mengandung berbagai macam asam lemak yang dapat menurunkan kadar kolesterol total. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian minyak ikan nila terhadap penurunan kadar kolesterol total pada tikus putih jantan dan dosis efektifnya.

Minyak ikan nila dibuat dengan metode *dry rendering*, pemisahan minyak ikan yang terikat dengan air menggunakan Na₂SO₄ anhidrat. Penelitian ini dilakukan pada hewan uji 30 ekor tikus putih jantan yang dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok I (kontrol normal), kelompok II (kontrol negatif PGA 0,5%), kelompok III (kontrol positif simvastatin), kelompok IV (minyak ikan nila 0,8 ml/200g BB), kelompok V (minyak ikan nila 1,6 ml/200g BB), kelompok IV (minyak ikan nila 3,2 ml/200g BB). Data yang diperoleh dianalisa dengan *One-Way Anova* menggunakan uji *Shapiro-Wilk*.

Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan kadar kolesterol total pada ketiga variasi dosis minyak ikan nila pada hari ke-21. Dosis 3,2 ml/200g BB menurut data statistik memiliki efek penurunan kadar kolesterol yang cukup tinggi.

Kata kunci : Minyak ikan nila, Kadar kolesterol total dan Tikus jantan.

ABSTRACT

AZIZ, A., 2016, FISH OIL ACTIVITIES INDIGO (*Oreochromis niloticus*) DECREASED LEVELS OF TOTAL CHOLESTEROL LEVELS IN BLOOD SERUM WHITE RATS WISTAR MALE, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Hyperlipidemia is a disorder of lipid metabolism characterized by elevated levels of total cholesterol, triglycerides, LDL, and HDL decrease in blood serum that will lead to atherosclerosis. Tilapia (*Oreochromis niloticus*) is a type of freshwater fish that contains a variety of fatty acids that can lower total cholesterol. This study aims to determine the effect of tilapia fish oil to the decrease in total cholesterol levels in male rats and the effective dose.

Oil tilapia made with dry rendering method, the separation of fish oil that are tied to water use Na_2SO_4 anhidrat. This research was conducted in test animals 30 male rats were divided into six groups. Group I (normal control), group II (negative control PGA 0.5%), Group III (positive control simvastatin), Group IV (oil tilapia 0.8 ml / 200g BB), group V (oil tilapia 1, 6 ml / 200g BB), group IV (tilapia fish oil 3.2 ml / 200g BB). The data obtained were analyzed by One-Way ANOVA using the Shapiro-Wilk test.

The results showed a decrease in total cholesterol levels at all three dose variation tilapia fish oil on the 21st day. A dose of 3.2 ml / 200g BB according to statistical data had the effect of decreasing cholesterol levels were quite high.

Keywords: Oil tilapia, total cholesterol levels and male mice.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Saat ini dalam masyarakat untuk masalah kesehatan telah banyak terjadi perubahan kasus penyakit yang dulu banyak terjadi penyakit infeksi sekarang lebih banyak terjadi penyakit degeneratif penyebabnya adalah prilaku yang tidak sehat seperti merokok, pola makan yang tidak seimbang, rendahnya asupan buah dan sayur, kegemaran mengkonsumsi makanan dan minuman yang instan, kebiasaan meminum alkohol dan rendahnya aktivitas fisik (Indrawati *et al* 2009).

Perubahan pola makan yang serba instan dan aktifitas fisik yang kurang dapat mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan energi dan dapat menimbulkan hiperlipidemia atau sering dikenal dengan kolesterol (Hakim 2010). Hiperlipidemia merupakan suatu kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan penurunan HDL didalam serum yang akan memicu terjadinya aterosklerosis sebagai penyebab jantung koroner (Salim 2013).

Kadar kolesterol dalam darah dapat mengalami peningkatan diketahui dengan dilakukan pemeriksaan, melalui uji kadar kolesterol total menggunakan alat seperti photometer. Masyarakat masih banyak yang memilih menggunakan pengobatan alternatif yang berasal dari alam langsung tanpa banyak melalui proses untuk menjadi bentuk obat sintetik karena opini masyarakat pengobatan alternatif cenderung memiliki efek samping yang rendah, lebih aman, murah

tetapi memiliki efektivitas yang sama dengan obat-obat sintetik. Obat sintetik dihindari pemakainnya karena dilihat dari aspek efek sampingnya, maka pengobatan dengan menggunakan ramuan tradisional atau obat alam merupakan jalan terbaik karena mempunyai efek samping yang relatif rendah (Dalimarta 2007).

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan jenis ikan air tawar yang sangat popular di Indonesia dan banyak dibudidayakan oleh masyarakat (Purwani *et al* 2012). Ikan mempunyai peranan penting dalam mencegah munculnya penyakit *aterosklerosis*. Ikan banyak mengandung asam lemak tidak jenuh, diantaranya adalah jenis asam lemak omega 3. Asam lemak omega-3 ini diketahui dapat menurunkan kadar kolesterol dan lemak dalam darah maka diharapkan dapat mengurangi terjadinya penimbunan kolesterol dan lemak pada dinding pembuluh darah (Khamidinal *et al* 2007).

Minyak ikan memiliki keistimewaan khusus ditinjau dari komposisi asam lemaknya. Lemak ikan banyak mengandung asam lemak tidak jenuh jamak *Poly unsaturated fatty acid* (PUFA) yang meliputi asam linoleat, linolenat, *eikosapentaenoat* (EPA) dan *dokosahexaenoat* (DHA) yang merupakan asam lemak esensial yang dibutuhkan tubuh untuk mempertahankan kesehatan yang optimal (Salamah *et al* 2004).

Minyak ikan (*fish oil*) memiliki kandungan hampir 30% asam lemak tidak jenuh ganda omega-3. Asam lemak omega-3 dapat mencegah terjadinya arteroklerosis melalui efek anti agregasi trombosit dengan menghambat pembentukan tromboksan-A2 yang dapat menyebabkan trombosis (Syarieff 2011).

Asam lemak omega-3 memiliki jenis yang paling berkaitan dengan gizi dan kesehatan yaitu EPA (*Eicosa Pentaenoic Acid*) dan DHA (*Docosa Hexaenoic Acid*). EPA (C20:5n-3) dan DHA (C22:6n-3) merupakan asam lemak omega-3 banyak terdapat dalam ikan dan memakan fitoplankton yang hidup di laut, danau atau kumpulan air lainnya (Khamidinal *et al* 2007).

Peranan asam lemak esensial, yaitu asam lemak omega 3 (DHA) dan asam lemak omega 6 (EPA) dalam sistem kardiovaskuler sudah banyak dibuktikan. Diet yang seimbang ditambah asupan makanan yang mengandung cukup asam lemak esensial, dapat mencegah peningkatan kadar kolesterol dan tekanan darah (Ali Khomsan 2008). Asam lemak omega-3 mencegah terjadinya aterosklerosis melalui efek anti agregasi trombosit. Penelitian menunjukkan bahwa pemberian 4 g minyak ikan tuna (*fish oil*) yang mengandung EPA dan DHA sejumlah 1,4 g per hari selama 3 minggu dapat menurunkan trigliserida darah sebesar 22,3 % (Micallef dan Garg 2008).

Omega-3 menghambat enzim diasil gliserol transferase (DGAT) dan enzim *phospatic acid phosphohydrolase* (PAP) sehingga menurunkan produksi TG dan menurunkan sekresi VLDL (Syarief 2011). Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan diatas, peneliti ingin melakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap kadar kolesterol total pada tikus putih jantan galur wistar.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah minyak ikan nila mempunyai aktivitas menurunkan kadar kolesterol total ?

Kedua, dosis berapakah yang dapat menurunkan kadar kolesterol total setelah diberi minyak ikan nila ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

Pertama, membuktikan aktivitas minyak ikan nila dalam menurunkan kadar kolesterol total.

Kedua, mengetahui dosis minyak ikan nila yang dapat menurunkan kadar kolesterol total.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan :

Pertama, memberikan informasi kepada tenaga kesehatan lain mengenai aktivitas minyak ikan nila dalam menurunkan kadar kolesterol total.

Kedua, memberikan informasi kepada masyarakat mengenai aktivitas minyak ikan nila dalam menurunkan kadar kolesterol total.

Ketiga, memberikan informasi kepada peneliti mengenai aktivitas minyak ikan nila dalam menurunkan kadar kolesterol total.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Ikan Nila

1. Sistematika hewan

Manurut Ghufran (2013) kedudukan ikan nila dalam sistematika hewan sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Filum : Vertebrata
Class : Osteichtyes
Divisi : Halecostomi
Ordo : Perchomorphi
Famili : Cichlidae
Genus : Oreochromis
Spesies : *Oreochromis niloticus*

2. Habitat

Ikan nila merupakan salah satu jenis ikan air tawar. Ikan nila telah tersebar diberbagai daerah yang beriklim tropis maupun yang beriklim subtropis. Ikan nila memiliki kemampuan beradaptasi yang bagus didalam bebagai jenis air selain itu ikan nila juga tahan terhadap perubahan suhu. Untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan, suhu optimal bagi ikan nila adalah 25-30°C. (Suyatno 2004).

3. Deskripsi

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang termasuk dalam familia *Cichidae*, yang memiliki ciri-ciri khusus : bentuk tubuh panjang dan ramping serta memiliki sisik yang berukuran besar. Mata besar, menonjol, dan bagian tepi bewarna putih. Ikan nila merah merupakan varietas tersendiri dan kemungkinan merupakan hasil persilangan antara *Oreochromis mossambicus*, atau *Oreochromis niloticus* dengan *Oreochromis honorum*, *Oreochromis aureus*, atau *Oreochromis zili* (Amri dan Khairuman 2003).

4. Morfologi

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dikenal memimiliki lima buah sirip yang terdapat pada sirip punggung (*dorsal fin*), sirip dada (*pectoral fine*), sirip perut (*ventral fin*), sirip anus (*anal fin*) dan sirip ekor (*candal fin*). Gurat sisi (Linea Literalis) terputus di nagian tengah badan kemudian berlanjut, tetapi letaknya lebih di bawah dari pada letak garis yang memanjang di atas sirip dada. Jumlah sisi pada gurat sisi jumlahnya 34 buah. Mempunyai jari jari lemah tetapi keras dan tajam seperti duri, seperti pada bagian sirip punggung (Khairuman 2013).

5. Kandungan ikan nila

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) banyak memiliki komponen asam lemak terutama jika dalam bentuk minyak. Ikan nila terdiri dari asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh terdiri dari Asam 9,12,15-oktadekatrienoat metil ester (19:3, ω -3), Asam 5,8,11,14,17-eikosapentaenoat metil ester (21:5, ω -3), Asam 4,7,10,13,16,19 dokosaheksaenoat metil ester (23:6, ω -3), Asam cis-5,8,11,14,17-eikosapentaenoat metil ester (21:5, ω -3).

Asam 5,8,11,14-eikosa tetraenoat metil ester (21:4, ω -6), Asam 9,12-oktadekadienoat metil ester (19:2, ω -6), Asam 9,12-oktadekadienoat (Z,Z) metil ester (19:2, ω -6), Asam 9-oktadesenoat metil ester (19:1, ω -9), Asam 9-oktadesenoat (Z) metil ester (19:1, ω -9) dan Asam 9-heksadesenoat metil ester (17:1, ω -7) (Kurniawan 2013).

B. Asam lemak tak jenuh

1. Definisi asam lemak tak jenuh

Asam lemak tak jenuh tunggal (Mono Unsaturated Fatty Acid) merupakan jenis asam lemak yang mempunyai 1 ikatan rangkap pada rantai atom karbon. Asam lemak ini tergolong dalam asam lemak rantai panjang (LCFA), yang kebanyakan ditemukan dalam minyak zaitun, minyak kedelai, minyak kacang tanah, minyak biji kapas dan kanola. Minyak zaitun adalah salah satu contoh yang mengandung MUFA 77 % (Ketaren 2012).

Secara umum, lemak tak jenuh tunggal berpengaruh menguntungkan terhadap kadar kolesterol dalam darah, terutama bila digunakan sebagai pengganti asam lemak jenuh. Asam lemak tak jenuh tunggal (MUFA) lebih efektif menurunkan kadar kolesterol darah, daripada asam lemak tak jenuh jamak (PUFA), sehingga asam oleat lebih populer dimanfaatkan untuk formulasi makanan olahan menjadi populer (de Roos NM et al.2001; Almatsier 2001).

Asam lemak omega 3 merupakan asam lemak tak jenuh ganda. Dalam ilmu gizi disebut dengan alfa-asam linolenat (C 18:3 ω -3) serta turunannya asam eikosapentaenoat/EPA (C 20:5 ω -3) dan asam doksaheksaenoat/DHA (C 22:6 ω -

3). Asam lemak omega-3 dibutuhkan tubuh untuk membantu metabolisme dan pembentukan jaringan retina (Almatsier 2004).

Salah satu jenis MUFA adalah omega-9 (Oleat), memiliki sifat lebih stabil dan lebih baik perannya dibandingkan PUFA. PUFA dapat menurunkan kolesterol LDL, tetapi dapat menurunkan HDL. Sebaliknya MUFA dapat menurunkan K-LDL dan meningkatkan HDL. Penelitian yang dilakukan oleh Wood (1993) menyatakan bahwa MUFA dapat menurunkan LDL dan meningkatkan HDL secara lebih besar dari pada omega-3 dan omega-6 (Muller et al. 2003).

Asam lemak tak jenuh jamak adalah asam lemak mengandung dua atau lebih ikatan rangkap, bersifat cair pada suhu dingin, karena titik lelehnya lebih rendah dibandingkan dengan MUFA atau SFA. Asam lemak ini banyak ditemukan pada minyak ikan dan nabati seperti saflower, jagung, dan biji matahari. Sumber alami PUFA yang penting bagi kesehatan adalah kacang-kacangan dan biji-bijian (Almatsier 2001).

2. Peranan asam lemak tak jenuh

Asam lemak omega-3 merupakan asam lemak poli tak jenuh dan memiliki rantai karbon panjang yang merupakan bagian dari asam lemak essensial dapat memberikan keuntungan bagi tubuh manusia. Asam lemak omega-3 dalam bentuk EPA (*eicosapentaenoic acid*) dan DHA (*docosahexaenoic acid*) merupakan asam lema alfa-linolenat yang paling umum. Asam lemak essensial ini dicukupi harus melalui makanan karena tidak dapat disintesis oleh tubuh (Almunady et al 2011).

Asam lemak omega 3 memiliki peran penting bagi tubuh manusia. EPA dapat memperbaiki sistem sirkulasi dan dapat membantu pencegahan

penyempitan, pengerasan pembuluh darah dan penggumpalan keping darah. Akhir-akhir ini penelitian terhadap sistem saraf pusat menunjukkan bahwa DHA penting bagi perkembangan manusia sejak awal (Rasyid 2003).

Asam lemak omega-3 dapat membersihkan plasma dari lipoprotein kilomikron dan kemungkinan juga dari VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*), dapat menurunkan produksi trigliserida dan apolipoprotein β (beta) di dalam hati. Selain berperanan dalam pencegahan penyakit jantung koroner dan artritis, asam lemak omega-3 dianggap penting untuk memfungsikan otak dan retina secara baik (Almatsier 2001; Mayes PA 2003).

C. Kolesterol

1. Pengertian Kolesterol

Kolesterol adalah lemak yang terdapat di dalam aliran darah atau sel tubuh dan merupakan sterol yang penting bagi tubuh. Kolesterol secara alami dapat diproduksi sendiri di dalam tubuh (kolesterol endogen) terdapat pada darah, empedu, kelenjar adrenal bagian luar dan jaringan syaraf. Kolesterol yang dari luar tubuh (kolesterol eksogen) yang dapat dari makanan hewani, seperti daging, margarin, keju dan susu. Adapun kolesterol eksogen yang berasal dari makanan nabati seperti buah, sayur, dan beberapa biji-bijian (Rahmat dan Wiradiatmadja 2011).

Kolesterol merupakan lipid amfipatik dan komponen struktural esensial pada membrane dan lapisan luar lipoprotein plasma. Kolesterol banyak disintesis pada banyak jaringan dari asetil-KoA dan merupakan prekusor semua steroid lain

di tubuh, termasuk kortikosteroid, hormone seks, asam empedu, dan vitamin D. Kolesterol sebagai produk tipikal metabolisme hewan sehingga terdapat dalam makanan yang berasal dari hewan misalnya kuning telur, daging, hati, dan otak (Murray *et al* 2006).

Kolesterol dibedakan menjadi dua jenis yaitu kolesterol jahat LDL (*Low Density Lipoprotein*) yang menyebabkan penimbunan lemak pada dinding pembuluh darah dan kolesterol baik HDL (*High Density Lipoprotein*) yang dapat membersihkan atau mengangkut timbunan lemak dari dinding pembuluh darah ke hati. Kolesterol dapat membahayakan tubuh tergantung dari berapa banyak jumlah dan di bagian mana kolesterol terdapat (Almatsier 2004).

Kolesterol tidak larut dalam cairan darah, untuk itu agar dapat dikirim keseluruh tubuh perlu dikemas bersama protein menjadi partikel yang disebut (*lipoprotein*), yang dianggap sebagai pembawa. Kolesterol diproduksi di hati berfungsi untuk membangun dinding sel dan pembentukan hormon-hormon steroid yang disintesis misalnya pada kelenjar suprarenalis serta untuk membentuk garam empedu yang diperlukan oleh tubuh (Harjana 2011).

2. Metabolisme kolesterol

Kolesterol merupakan bagian struktural membrane sel yang mengatur aliran membrane sel pada jaringan tertentu selain itu kolesterol merupakan perkusor asam empedu, hormone steroid dan vitamin D. Hati berperan sentral pada metabolisme kolesterol karena pada proses metabolisme, kolesterol akan masuk ke dalam simpanan kolesterol di dalam hati, yang berasal dari sejumlah sumber, misalnya kolesterol makanan dan juga kolesterol yang disintesis secara *de*

nova oleh jaringan ekstrahepatik oleh hati. Kolesterol yang telah dieliminasi adalah kolesterol yang tidak termodifikasi dalam empedu, atau dapat diubah menjadi garam empedu yang disekresikan ke dalam lumen usus (Champe *et al.* 2004).

Metabolisme kolesterol mengikuti beberapa jalur dari metabolisme lipoprotein. Metabolisme lipoprotein terdapat tiga jalur yang ada dalam tubuh, yaitu jalur metabolisme eksogen, jalur metabolisme endogen dan jalur balik kolesterol (*reverse cholesterol transport*). Jalur metabolisme eksogen dan jalur metabolism endogen berhubungan dengan metabolisme kolsterol-LDL (low density lipoprotein). Jalur balik kolesterol berhubungan dengan metabolisme kolesterol-HDL (*high density lipoprotein*) (Wahyudi 2009).

Jalur Metabolisme eksogen dimana trigliserida dan kolesterol dari makanan berlemak masuk ke dalam usus halus diserap oleh eritrosit mukosa usus halus. Trigliserida diserap dalam bentuk asam lemak bebas sedangkan kolesterol diserap sebagai kolesterol. Setelah melewati mukosa usus halus, asam lemak bebas diubah lagi menjadi trigliserida dan kolesterol diesterifikasi menjadi kolesterol ester. Trigliserida dan kolesterol ester akan membentuk lipoprotein atau kilomikron bersamaan dengan fosfolipid dan apolipoprotein.

Kilomikron adalah nama lain dari lipoprotein, masuk ke saluran limfe dan menuju ke aliran darah. Kilomikron dalam aliran darah dihidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase menjadi asam lemak bebas. Asam lemak bebas akan diserap oleh endotel pembuluh darah dan dapat disimpan sebagai trigliserida kembali pada jaringan endipose, dalam jumlah banyak sebagian akan diambil oleh hati untuk membentuk trigliserida hati (Wahyudi 2009).

Kolesterol disintesis dalam tubuh keseluruhannya dari asetil-KoA dan terjadi di dalam sitoplasma, dengan enzim yang berasal dari sitosol dan membran retikulum endoplasma. Jalur sintensis kolesterol berfungsi untuk menekan peningkatan kadar kolesterol yang terdapat di VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*), IDL (*Intermediate Density Lipoprotein*) atau HDL (*High Density Lipoprotein*) dan LDL (*Low Density Lipoprotein*), sehingga menyeimbangkan sintesis kolesterol. Mencegah terjadinya penyakit arteri koroner (Murray *et al.* 2006).

D. Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia adalah kadar kolesterol total plasma ≥ 200 mg/dl. Kadar kolesterol total plasma 200 mg/dl setara dengan kadar kolesterol LDL 130 mg/dl (Anwar 2003). Kolesterol didalam tubuh berasal dari dua sumber yaitu dari produksi tubuh sendiri dan dari makanan. Sebagian besar kolesterol dibuat di dalam jaringan hati dan sebagian kecil dibuat dalam hampir setiap sel di dalam tubuh, terutama di bagian usus luar (korteks) kelenjar adrenal, dan bahkan dibentuk di kulit. Kolesterol tidak bisa bergerak sendiri, sehingga kolesterol di angkut oleh yang namanya lipoprotein (Anies 2015).

Lipoprotein yang utama adalah HDL (kolesterol baik) dan LDL (kolesterol jahat). LDL akan di simpan dalam pembuluh darah. Kolesterol dalam tubuh yang berlebih akibat adanya asupan makanan yang tinggi lemak akan tertimbun di dinding pembuluh darah akibatnya, pada jangka panjang penyumbatan pada pembuluh darah akan terjadi sehingga bisa berkembang menjadi penyakit seperti

aterosklerosis, jantung koroner, dan stroke. Lipoprotein dibagi menjadi 5 macam, yaitu chylomicron, *very low density lipoprotein* (VLDL), *intermediate density lipoprotein* (IDL), *low density lipoprotein* (LDL), *high density lipoprotein* (HDL) (Anies 2015).

E. Mekanisme Hiperkolesterolemia

Kelebihan kolesterol akibat sering mengkonsumsi makanan yang mengandung tinggi kolesterol dan kurangnya aktivitas fisik bisa menyebabkan gangguan pada sistem transportasi darah baik secara langsung dan tidak langsung. Kolesterol berlebih atau disebut dengan hiperkolesterolemia umumnya diderita oleh orang gemuk atau orang yang sudah lanjut usia tapi tidak menutup kemungkinan gangguan metabolisme ini dapat menyerang orang kurus (Mega *et al.* 2013).

Hiperkolesterolemia merupakan hasil dari meningkatnya produksi dan atau meningkatnya penggunaan LDL (*Low Density Lipoprotein*) akibatnya terdapat defek gen pada reseptor LDL permukaan membran sel tubuh. Ketidakadaan reseptor LDL menyebabkan hati tidak bisa mengasorbsi LDL. LDL dianggap tidak ada dalam hati, kemudian hati memproduksi VLDL yang banyak kedalam plasma yang menyebabkan hiperkolesterolemia (Wahyudi 2009).

F. Obat Anti Hiperkolesterolemia Golongan Statin (Simvastatin)

Statin merupakan obat penurun lipid yang efektif untuk menurunkan kolesterol LDL dan terbukti aman tanpa efek samping yang berarti. Statin

merupakan senyawa yang paling efektif dan paling baik toleransinya untuk mengobati dislipidemia. Obat golongan ini efektif untuk menurunkan kolesterol dan pada dosis tinggi dapat juga menurunkan trigliserida yang disebabkan oleh peninggian VLDL. Statin bekerja dengan menghambat sintesis kolesterol di hati yakni dengan penghambatan enzim HMG CoA reduktase secara kompetitif (Suyatna 2009).

Simvastatin merupakan prodrug dalam bentuk lakton yang setelah dihidrolisis akan menjadi obat aktif yaitu asam β -hidroksi. Simvastatin dapat terabsorbsi 30-50%. Simvastatin mengalami metabolisme lintas pertama, bekerjanya di dalam hati. Obat golongan statin mengalami biotransformasi dan sebagian besarnya masih dalam bentuk aktif (Selvadurai 2009).

Efek samping simvastatin yang timbul adalah berupa rasa, nyeri otot, nyeri dada, sakit kepala, mual (*nausea*), muntah (*vomitus*), diare dan rasa lelah. Simvastatin tidak boleh diberikan pada pasien dengan penyakit hati yang aktif atau adanya peningkatan enzim hati (SGPT, SGOT), perempuan hamil dan menyusui. Interaksi simvastatin dengan obat gemfibrozil, siklosporin dan eritromesin dapat menyebabkan gagal ginjal (Dalimartha 2007).

G. Metode Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total

Metode yang digunakan untuk pengukuran kadar kolesterol total antara lain dengan, metode CHOD-PAP (*Enzymatic Photometric Test*). Pemeriksaan kadar kolesterol dengan metode CHOD-PAP (*Enzymatic Photometric Test*) pada prinsipnya kolesterol ditentukan secara enzimatik dimulai dari perubahan

ester kolesterol mengalami esterase menjadi kolesterol dan asam amino, kemudian kolesterol mengalami oksidasi menjadi H_2O_2 kemudian $2H_2O_2$ bereaksi dengan 4-aminoantipyrin dan fenol membentuk quinonimine yang berwarna, absorben warna sebanding dengan kolesterol (Rhoechisu 1979).

H. Minyak Ikan

1. Pengertian minyak ikan

Minyak ikan berbeda dengan minyak lain karena memiliki jenis asam lemak yang lebih beragam. Asam lemak yang dominan pada minyak ikan adalah asam lemak tak jenuh, terutama asam lemak tak jenuh ganda. Kandungan asam lemak tak jenuh ganda yang tinggi pada minyak ikan menyebabkan minyak ikan mudah rusak karena reaksi oksidatif. Reaksi oksidasi pada minyak ikan akan menyebabkan penurunan nilai gizi serta menimbulkan bau dan citarasa yang tidak diinginkan (Estiasih 2009).

Minyak merupakan salah satu golongan lipid yang netral dan paling umum, minyak yang telah dipisahkan dari jaringan asalnya mengandung beberapa komponen diantaranya adalah trigliserida, lipid komplek (leshitin, cephalin, fosfatida, glikolipid), sterol, asam lemak bebas, pelarut lemak dan hidrokarbon. Komponen tersebut mempengaruhi warna dan flavor produk (Fauzy 2012).

2. Peranan minyak ikan

Lemak atau minyak tersebut dikenal sebagai lemak tersembunyi (*invisible fat*). Sedangkan lemak atau minyak yang telah diekstraksi dari ternak atau bahan nabati dan dimurnikan dikenal sebagai lemak minyak biasa atau lemak kasat mata (*visible fat*). Lemak hewani mengandung banyak sterol yang disebut kolesterol,

sedangkan lemak nabati mengandung fitosterol dan lebih banyak mengandung asam lemak tak jenuh sehingga umumnya berbentuk cair. Lemak hewani ada yang berbentuk padat (lemak) yang biasanya berasal dari lemak hewan darat seperti lemak susu, lemak babi, lemak sapi. Lemak hewan laut seperti minyak ikan paus, minyak ikan cod, minyak ikan *herring* berbentuk cair dan disebut minyak (Estiasih 2009).

Pemilihan bentuk minyak agar kandungan Omega-3 pada ikan tidak mengalami pengurangan yang signifikan karena pemrosesan selain itu mempunyai nilai ekonomis lebih dan mudah digunakan untuk dikonsumsi oleh masyarakat luas. Minyak ikan berdasarkan FI IV berbentuk sediaan cair minyak encer yang tidak larut dalam etanol, mudah larut dalam eter, dalam klorofom, karbon disulfide dan dalam etil asetat. Minyak ikan nila memiliki kadar lemak sekitar 4,17% dengan berbagai komponen asam lemak serta pada fraksi lipid ikan menunjukkan adanya poly unsaturated fatty acid ω -3 (PUFA) yang berfungsi untuk menurunkan kadar trigliserida dan mencegah penyakit jantung koroner (Kurniawan 2013).

3. Metode pembuatan minyak ikan

Minyak dapat diperoleh dengan cara mengekstraksi jaringan hewan atau tanaman, ada beberapa metode pembuatan minyak, yaitu:

3.1. Rendering, adalah suatu proses yang sering digunakan dalam proses ekstraksi minyak hewan dengan cara pemanasan, pemanasan bisa dilakukan pada ketel, menurut pengrajaannya rendering dibagi menjadi dua acara yaitu *wet rendering* dan *dry rendering*. *Wet rendering* adalah proses rendering dengan penambahan sejumlah air selama berlangsungnya proses tersebut sedangkan *dry*

rendering adalah proses rendering tanpa penambahan air selama proses berlangsung (Estiasih 2009).

3.2. Pengepresan (pressing), terlebih dahulu dipotong kecil terlebih dahulu sebelum proses pengepresan, proses pengpresan dengan cara menggunakan tekanan tinggi berupa tekanan hidrolik atau *screw press*, dengan cara ini minyak tidak dapat terekstrasi secara maksimal, sehingga dilakukan pengepresan kembali dengan menggunakan *filter press* (Estiasih 2009).

3.3. Pemurnian minyak, guna memperoleh hasil minyak yang bermutu baik, minyak dan lemak kasar harus dimurnikan dari bahan-bahan serta kotoran dalam minyak sendiri dengan cara pengendapan (*setiling*) dan pemisahan gumi (*degumming*), bertujuan untuk menghilangkan partikel halus yang tersuspensi atau terbentuk koloidal, dilakukan dengan cara pemanasan uap dan adsorben terkadang dilakukan pula sentrifusa, netralisasi dengan alkali bertujuan memisahkan senyawa terlarut seperti fosfatida, asam lemak bebas, dan hidrokarbon (Estiasih 2009).

I. Hewan Uji

1. Sistematika tikus putih

Tikus putih memiliki sistematika berikut :

Filum : Chordata

Sub filum : Vertebrata

Classis : Mammalia

Sub classis : Placentalia

Ordo : Rodentia
Familia : Muridae
Genus : Rattus
Species : *Rattus norvegicus*
(Sugiyanto 1995).

2. Karakteristik tikus putih

Tikus putih merupakan hewan yang cerdas dan relatif resisten terhadap infeksi. Pada umumnya tikus putih tenang dan mudah ditangani, tidak begitu bersifat fotofobik seperti halnya mencit. Kecenderungan untuk berkumpul dengan sesama tidak begitu besar sehingga tikus putih dapat tinggal sendirian di kandang asal bisa mendengar dan melihat tikus lain. Hewan ini harus diperlakukan dengan halus namun sigap dan makanan harus dijaga agar tetap memenuhi kebutuhannya. Tikus putih yang dibiakan di laboratorium lebih cepat dewasa dan berkembang biak (Smith & Mangkoewidjojo 1998).

3. Biologi tikus putih

Tikus putih baik jantan maupun betina rata-rata memiliki umur 2-3 tahun, bahkan sampai 4 tahun. Pertumbuhan tikus mencapai usia dewasa pada umur 40-60 hari. Berat badan tikus jantan berbeda dengan tikus betina, tikus jantan dewasa memiliki berat badan berkisar 300-400 gram, sedangkan pada tikus betina memiliki berat badan 250-300 gram. Tikus dapat berkembangbiak dengan dikawinkan pada umur 10 minggu (Smith & Mankoewidjojo 1998).

J. Dosis

Dosis dikonversikan pada tikus berdasarkan luas permukaan tubuh pada tikus yaitu 200 g dari dosis 1 g/70 kg BB manusia maka mengambil faktor konversi 0,018 dari tabel dibawah ini, diperoleh dosis untuk tikus = $1 \text{ g} \times 0,018 = 0,018 = 18 \text{ mg}$, seperti pada tabel :

Tabel 1. Perbandingan konversi dosis.

Dicari Di-ketahui	20 g Mencit	200 g Tikus	400 g Marmot	1,5 kg Kelinci	2,0 kg Kucing	4,0 kg Kera	12,0 kg Anjing	70,0 kg Manusia
20 g Mencit	1,0	7,0	12,29	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
200 g Tikus	0,14	1,0	1,74	3,3	4,2	9,2	17,8	56,0
400 g Marmot	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
1,5 kg Kelinci	0,04	0,25	0,44	1,0	1,06	2,4	4,5	14,2
2,0 kg Kucing	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
4,0 kg Kera	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
12,0 kg Anjing	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
70,0 kg Manusia	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,013	0,16	0,32	1,0

(Ningsih D 2013)

K. Landasan Teori

Kolesterol adalah lemak yang terdapat di dalam aliran darah atau sel tubuh dan merupakan sterol yang penting bagi tubuh (Rahmat dan Wiradiatmadja 2011). Kolesterol disintesis dalam tubuh keseluruhannya dari asetyl-KoA dan terjadi di dalam sitoplasma, dengan enzim yang berasal dari sitosol dan membran retikulum endoplasma. Jalur sintesis kolesterol berfungsi untuk menekan

peningkatan kadar kolesterol yang terdapat di VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*), IDL (*Intermediate Density Lipoprotein*) atau HDL (*High Density Lipoprotein*) dan LDL (*Low Density Lipoprotein*), sehingga menyeimbangkan sintesis kolesterol. Mencegah terjadinya penyakit arteri coroner (Murray *et al.* 2006).

Minyak ikan berbeda dari kebanyakan minyak, karena komponen dari asam lemak dan tingginya asam lemak tak jenuh. Secara umum lebih dari 90% terdiri dari minyak murni terdiri dari trigliserida dan sisanya monogliserida, digliserida dan lemak tak tersaponifikasi (seperti, sterol, gliseril eter, vitamin A, D dan E). EPA dan DHA ini tidak diproduksi oleh ikan, melainkan oleh tumbuhan laut seperti alga. Kandungan EPA dan DHA dalam ikan disebabkan karena ikan tersebut mengkonsumsi alga yang mengandung kedua asam lemak tersebut (Haris 2004).

Bentuk minyak dipilih agar kandungan Omega-3 pada ikan tidak mengalami pengurangan yang signifikan karena pemrosesan selain itu mempunyai nilai ekonomis lebih dan mudah digunakan untuk dikonsumsi oleh masyarakat luas. Minyak ikan berdasarkan FI IV berbentuk sediaan cair minyak encer yang tidak larut dalam etanol, mudah larut dalam eter, dalam klorofom, karbon disulfide dan dalam etil asetat. Asam lemak omega 3 memiliki peran penting bagi tubuh manusia. EPA dapat memperbaiki sistem sirkulasi dan dapat membantu pencegahan penyempitan, pengerasan pembuluh darah dan penggumpalan keping darah. Akhir-akhir ini penelitian terhadap sistem saraf pusat menunjukkan bahwa DHA penting bagi perkembangan manusia sejak awal (Rasyid 2003).

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) banyak memiliki komponen asam lemak terutama jika dalam bentuk minyak. Ikan nila terdiri dari asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh terdiri dari Asam 9,12,15-oktadekatrienoat metil ester (19:3, ω -3), Asam 5,8,11,14,17-eikosapentaenoat metil ester (21:5, ω -3), Asam 4,7,10,13,16,19 dokosaheksaenoat metil ester (23:6, ω -3), Asam cis-5,8,11,14,17-eikosapentaenoat metil ester (21:5, ω -3), Asam 5,8,11,14-eikosa tetraenoat metil ester (21:4, ω -6), Asam 9,12-oktadekadienoat metil ester (19:2, ω -6), Asam 9,12-oktadekadienoat (Z,Z) metil ester (19:2, ω -6), Asam 9-oktadesenoat metil ester (19:1, ω -9), Asam 9-oktadesenoat (Z) metil ester (19:1, ω -9) dan Asam 9-heksadesenoat metil ester (17:1, ω -7) (Kurniawan 2013).

Asam lemak omega 3 merupakan asam lemak tak jenuh ganda. Dalam ilmu gizi disebut dengan alfa-asam linolenat (C 18:3 ω -3) serta turunannya asam eikosapentaenoat/EPA (C 20:5 ω -3) dan asam doksaheksaenoat/DHA (C 22:6 ω -3). Asam lemak omega-3 dibutuhkan tubuh untuk membantu metabolism dan pembentukan jaringan retina selain itu asam lemak omega-3 diduga dapat menurunkan produksi trigliserida dan apolipoprotein β (beta) di dalam hati, bagian utama lipida dan protein dalam VLDL. (Almatsier 2004).

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan, usia 3-4 bulan, berat badan \pm 200 gram. Jenis kelamin tikus yang dipakai adalah tikus jantan karena memiliki sistem metabolisme tubuh yang lebih stabil dibandingkan dengan tikus betina (Smith & Mankowidjojo 1998). Metode yang digunakan untuk pengukuran kadar kolesterol total dengan, metode CHOD-PAP (*Enzymatic Photometric Test*). Prinsip pemeriksaan kadar kolesterol kolesterol secara enzimatik (Rhoechisu 1979).

L. Hipotesis

Hipotesis yang dapat disusun dalam penelitian ini adalah :

Pertama, aktivitas minyak ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol total pada tikus putih jantan.

Kedua, pada dosis 3,2 ml/200g BB minyak ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus putih jantan.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan unit atau individu dalam ruang lingkup yang ingin diteliti. Populasi dalam penelitian ini adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diperoleh dari Tambak ikan nila, Waduk Gajah Mungkur, Kabupaten Wonogiri, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian dari populasi yang ingin diteliti, yang ciri-ciri dan keberadaannya diharapkan mampu mewakili atau menggambarkan ciri-ciri dan keberadaan populasi sebenarnya. Sampel pada penelitian ini menggunakan ikan nila segar (*Oreochromis niloticus*) yang memiliki ciri tubuh bentuk tubuh panjang dan ramping dengan sisik berukuran besar, menonjol, dan bagian tepinya bewarna putih, jumlah sisi pada gurat sisi jumlahnya 34 buah. Sirip punggung, sirip perut, dan sirip dubur.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama yang pertama dalam penelitian ini adalah minyak ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Variabel utama yang kedua adalah dosis minyak ikan nila terhadap tikus putih jantan. Variabel utama yang ketiga dalam penelitian ini

adalah kadar kolesterol total serum darah tikus putih jantan dengan metode CHOD-PAP. Variabel utama yang keempat adalah tikus putih berkelamin jantan.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat berbagai macam variabel yang meliputi variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali.

Variabel bebas adalah variabel yang dengan sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi dosis minyak ikan.

Variabel tergantung adalah titik pusat permasalahan yang merupakan kriteria pilihan dalam penelitian dan merupakan akibat dari variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar kolessterol total serum darah tikus putih jantan setelah diberi perlakuan dengan menggunakan minyak ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan variasi dosis yang dibagi ke dalam kelompok uji berdasarkan metode CHOD-PAP .

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh penelitian lain secara tepat. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kondisi pengukur atau peneliti, kondisi fisik hewan uji yang melipui berat badan, usia, dan jenis kelamin, lingkungan tempat tinggal, dan laboratorium.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, ikan nila (*Oreochromis niloticus*) adalah biota air tawar yang diperoleh dari Waduk Gajah Mungkur daerah Wonogiri, Jawa Tengah pada bulan Februari.

Kedua, sari ikan nila (*Oreochromis niloticus*) adalah ikan nila segar yang dibersihkan dengan air, dipotong-potong kemudian dikukus pada suhu 105°C-110°C selama kurang lebih 3,5-4 jam sampai keluar sari dari daging ikan, sisa daging diperas manual untuk mendapatkan sari ikan didalam daging selanjutnya sari ikan dikumpulkan, disaring, kemudian dipisahkan antara minyak dan air menggunakan corong pemisah dilanjutkan penambahan natrium sulfat anhidrat (Na₂SO₄anhidrat).

Ketiga, minyak ikan nila (*Oreochromis niloticus*) adalah minyak ikan nila yang masih kasar, kemudian disaring atau dipisahkan dengan corong pemisah. Minyak disimpan dengan cara dibekukan untuk menghindari kerusakan selama proses penyimpanan.

Keempat, dosis minyak ika nila adalah dosis minyak ikan yang diberikan terhadap hewan uji sebagai model aktivitas penurunan kadar kolesterol total bedasar dosis hasil orientasi.

Kelima, hewan uji adalah tikus putih jantan, umur 2-3 bulan berat 150-200 gram yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi.

Keenam, kadar kolesterol total adalah naiknya kadar kolesterol total setelah diberi diet tinggi lemak yakni lemak babi dan kuning telur selama 14 hari.

Ketujuh, aktivitas minyak ikan adalah turunnya kadar kolesterol total setelah diberi perlakuan yang diukur dari hari ke 14 sampai ke 21.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: alat untuk pembuatan minyak ikan yaitu seperangkat alat gelas (gelas ukur, *beaker glass*), stamfer, timbangan, panci kecil, kain lap, *stopwatch*, *freezer box*, penyaring, seperangkat peralatan pemisahan minyak. Alat untuk perlakuan hewan uji yaitu spuit injeksi, jarum suntik oral, pipa kapiler mikrohematokrit, dan alat untuk pengukuran kadar kolesterol total yaitu *centrifuge* tipe T121, Seperangkat alat kromatografi gas dan spektrofotometer massa, tabung *centrifuge*, mikropipet, dan fotometer Stardust yang terdapat di Laboratorium Klinik Univeritas Setia Budi Surakarta.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*), tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) umur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 g, aquadest, simvastatin, minyak babi, pakan ternak BR II, kuning telur, reagen *Cholesterol Assay Kit*, Natrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4 anhidrat), Zat pengemulsi PGA.

D. Jalannya Penelitian

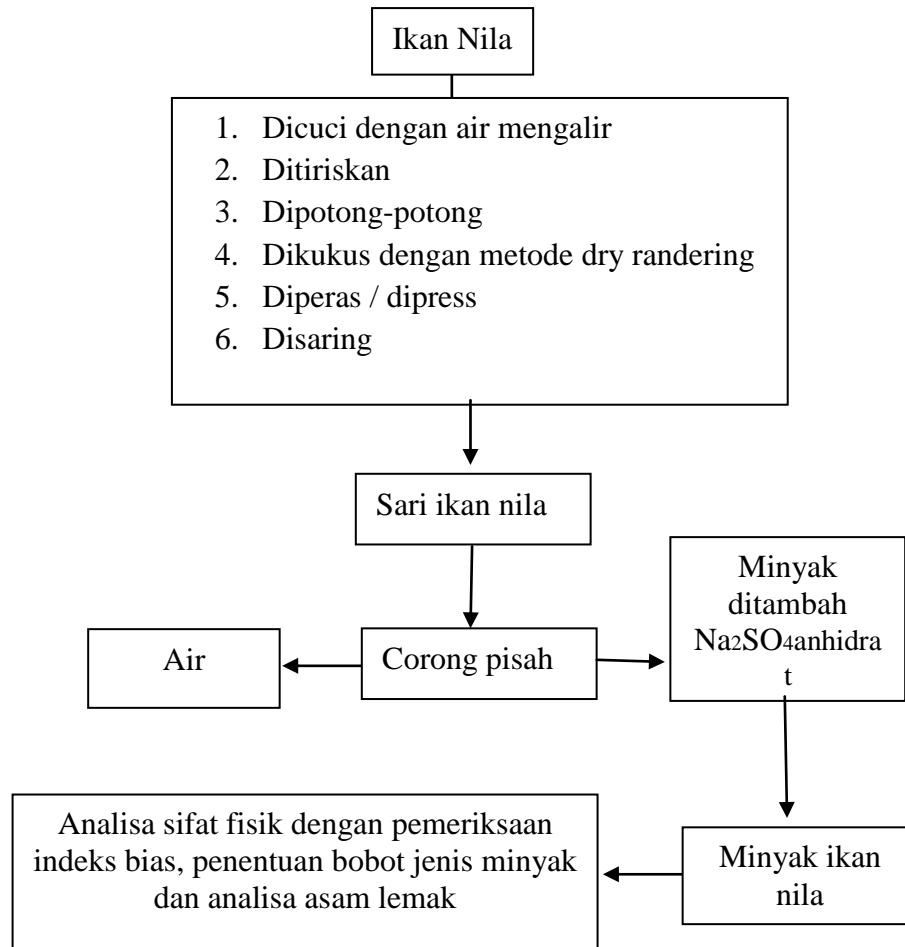
1. Determinasi ikan nila (*Oreochromis niloticus*)

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, serta ciri-ciri morfologi yang ada pada ikan nila yang dilakukan determinasi di Laboratorium Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

2. Pembuatan minyak ikan nila

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) diperoleh dari waduk Gajah Mungkur, Kabupaten Wonogiri, Jawa Tengah. Ikan nila yang didapat dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan cemaran kemudian dipotong kecil-kecil, dikukus dengan metode dry rendering pada suhu 105°C-110°C dengan waktu 3,5-4 jam, sari ikan yang bebas dari daging ikan ditampung pada wadah yang telah disediakan dan disaring. Daging ikan yang masih mengandung minyak, diperas dengan kain atau dipress manual (Winarno1984).

Pemisahan minyak ikan dan air menggunakan corong pisah, selanjutnya hasil minyak ikan ditambahkan natrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4) untuk mengikat air yang teremulsi dalam minyak ikan kemudian hasil akhir minyak ikan nila dianalisa sifat fisik, indeks bias dan penentuan bobot jenis minyak ikan nila. Minyak ikan nila yang diperoleh kemudian disimpan dalam botol dan dimasukkan dalam lemari pendingin. Minyak ikan dibuat bentuk emulsi dengan ditambahkan zat pengemulsi PGA untuk memudahkan pemberian oral pada hewan uji. Proses pembuatan minyak ikan nila seperti skema pada gambar 1:



Gambar 1. Skema pembuatan minyak

3. Analisa rendemen minyak ikan

Analisa untuk mengetahui kuantitas minyak ikan yang dihasilkan dengan dihitung rendemennya menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{volume minyak yang dihasilkan}}{\text{Bobot bahan awal}} \times 100\%$$

Bobot bahan awal

4. Analisa sifat fisik minyak ikan

4.1 Organoleptik. Analisa dilakukan dengan cara mengamati bentuk, bau, warna, rasa. Pengamatan yang pertama terhadap bentuk, dapat dilihat apakah bentuk cairan encer atau kental. Kedua, pengujian warna dengan melihat minyak yang didapat. Ketiga, pengujian rasa mengambil sedikit minyak kemudian merasakannya.

4.2 Berat jenis minyak ikan, Berat jenis adalah konstanta atau ketetapan bahan yang tergantung pada suhu yang padat, cair dan bentuk gas yang homogen. Rapat jenis adalah perbandingan antara bobot zat berbanding dengan volume zat pada suhu tertentu. Untuk bidang farmasi biasanya 25^0 C (Ansel 2004). Uji berat jenis digunakan untuk mengetahui kemurnian minyak. Berat jenis suatu zat adalah perbandingan berat zat terhadap air suling volume sama yang ditimbang di udara pada suhu yang sama. Alat yang digunakan adalah piknometer bobot jenis minyak pada umumnya berkisar antara 0,917-0,945 g/ml (Drijen POM 1979) dan umumnya bobot jenis adalah salah satu dari cara analisa yang dapat menggambarkan kemurnian minyak.

Piknometer dikeringkan kemudian didiamkan di neraca analitik selama 30 menit, kemudian ditimbang (berat piknometer kosong). Setelah itu piknometer disi aqua dest secara perlahan-lahan hingga tidak terjadi gelembung udara dan diletakkan di *water bath* yang mempunyai sirkulasi air pada suhu 25^0C selama 30 menit, kemudian diangkat dan dilap sampai bersih. Kemudian ditimbang dalam neraca analitik selama 30 menit dan ditimbang beratnya (berat piknometer + minyak) (Ansel 2004).

$$\text{Bobot jenis} = \frac{\text{volume minyak}}{\text{bobot air}} \times 100$$

4.3 Indeks bias, Uji fisik yang sering juga dilakukan adalah indeks bias. Indeks bias suatu zat adalah perbandingan kecepatan cahaya dalam zat tersebut. Air dialirkan melalui alat refraktometer pada suhu pembacaan yang akan dilakukan. Suhu tidak boleh lebih dari 2^0 C dari suhu referensi dan harus dipertahankan toleransi $\pm 0,2^0\text{C}$. Sebelum minyak dialirkan di dalam alat, minyak harus berada pada suhu yang sama dengan suhu pengukuran yang akan dilakukan. Pembacaan hanya boleh dilakukan bila suhu sudah stabil.

Instrumen diletakkan dalam posisi yang jelas dengan sinar matahari atau penerangan lilin. Prisma dicuci dengan aqua dest 20 cc, dan dibersihkan dengan alkohol dengan hati-hati. Prisma dibuka dengan memutar sekrup atas. Beberapa tetes minyak diteteskan dalam prisma dan prisma ditutup dengan memutar sekrup. Instrumen dibiarkan untuk beberapa saat sebelum dibaca. Aliade digerakkan ke belakang muka hingga bayangan dalam bagian yang gelap atau terang. Garis yang membagi ini disebut *border line*. Kemudian *border line* disesuaikan hingga jatuh dalam titik, sehingga memotong *cross hair*. Indeks bias dapat dibaca langsung dari skala sector. Pembacaan kedua dilakukan setelah beberapa menit untuk meyakinkan keseimbangan suhu yang telah digunakan (Ansel 2004).

5. Analisa asam lemak minyak ikan

Analisa asam lemak dilakukan dengan menggunakan kromatografi gas-spektro massa. Spektrum yang terdeteksi oleh KG-SM merupakan spektum dari metil ester asam lemak. Minyak ikan nila dilarutkan dengan methanol 15 % hingga

membentuk dua lapisan, lapisan atas dan lapisan bawah. Temperatur oven kolom 50°C, temperatur injeksi 300°C, tekanan 12.0 kPa, total aliran 60.0 mL/menit, laju alir 26.6 cm/detik dan aliran kolom 0.54 mL/menit (Willdan 2000).

6. Pembuatan emulsi untuk per oral

Emulsi untuk per oral bertipe M/A dengan zat pengemulsi PGA (*Pulvis Gummi Acacia*) dengan metode gom basah. PGA ditimbang sesuai kebutuhan, lalu dikembangkan dengan air ditambah nipagin sebagai pengawet dan kemudian ditambah minyak ikan nila diaduk hingga homogen .

7. Penentuan dosis

7.1. PGA 0,5 %, Kontrol negatif yang kami gunakan adalah PGA 0,5 %. Dosis kontrol negatif ditentukan dari volume yang dioralkan ke tikus sebanyak 1 ml. Volume pemberian 1 ml/200 g BB tikus.

7.2. Simvastatin,Dosis simvastatin untuk manusia adalah 10 mg sehingga jika dikonversikan ke tikus menjadi 0,18 mg/200 g BB tikus. Dosis simvastatin sebagai kontrol positif ditentukan berdasarkan dosis manusia yang memiliki berat badan 70 kg. Konversi dosis yang digunakan adalah konversi dosis dari manusia ke tikus dengan berat badan 200 g dengan nilai konversi yaitu 0,018. Dosis simvastatin untuk manusia adalah 10 mg sehingga jika dikonversikan ke tikus menjadi 0,8 ml/200 g BB tikus.

7.3. Minyak ikan nilaDosis minyak ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan dosis hasil orientasi dari dosis empiris penelitian sebelumnya.yaitu dosis 0,8 ml/g BB, 1,6ml/g BB dan 3,6 ml/g BB.

8. Pemberian pakan diet tinggi lemak

Diet lemak tinggi yang diberikan pada tikus yang berupa lemak babi dan kuning telur secara per oral bertujuan untuk menginduksi kenaikan kadar trigliserida. Komposisi pakan terdiri dari 5 gram lemak babi, 10 gram kuning telur puyuh dan air sampai 100 ml. Cara pembuatannya yaitu memanaskan lemak babi berupa padatan sehingga diperoleh minyak lemak babi. Kemudian minyak lemak babi tersebut dicampur dengan kuning telur sehingga terbentuk korpus emulsi dan ditambahkan air 100 ml diaduk cepat sehingga terbentuk emulsi yang halus dan homogen. Emulsi lemak babi dibuat baru setiap hari sebelum diberikan per oral pada tikus (Widyaningsih 2011). Emulsi diberikan setiap hari selama 7 hari dengan dosis 1 ml/200 g BB tikus.

9. Persiapan hewan uji

Hewan uji pada penelitian ini adalah tikus putih jantan karena untuk menghindari kehamilan, berumur 2-3 bulan dengan berat 150-200 gram sebanyak 30 ekor. Tikus diaklimatisasi terlebih dahulu, sebelum digunakan untuk percobaan , dengan pakan dan lingkungan penelitian selama 7 hari, kemudian dibagi secara acak menjadi 6 kelompok perlakuan yang terdiri dari 5 ekor tikus untuk masing-masing kelompok perlakuan. Masing-masing tikus di tiap kelompok diberi tanda di ekornya.

10. Perlakuan hewan uji

Pada penelitian ini hewan uji ditimbang dan diukur kadar kolesterol dalam tigaperiode: Periode I (kadar kolesterol awal), periode II (hiperlipidemia), periode III(setelah perlakuan). Jumlah tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor tikus putih jantan yang terbagi dalam 6 kelompok perlakuan.

Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor tikus. Adapun kelompok-kelompok tersebut yaitu :

Kelompok I : kontrol normal, tikus diberi diet standar BR II dan diberi air minum.

Kelompok II : kontrol negatif, tikus diberi PGA 0,5%.

Kelompok III : kontrol positif, simvastatindosis 0,36 mg/200 g BB tikus.

Kelompok IV : Minyak ikan nila 0,8 ml/200 g BB tikus

Kelompok V : Minyak ikan nila 1,6 ml/200 g BB tikus

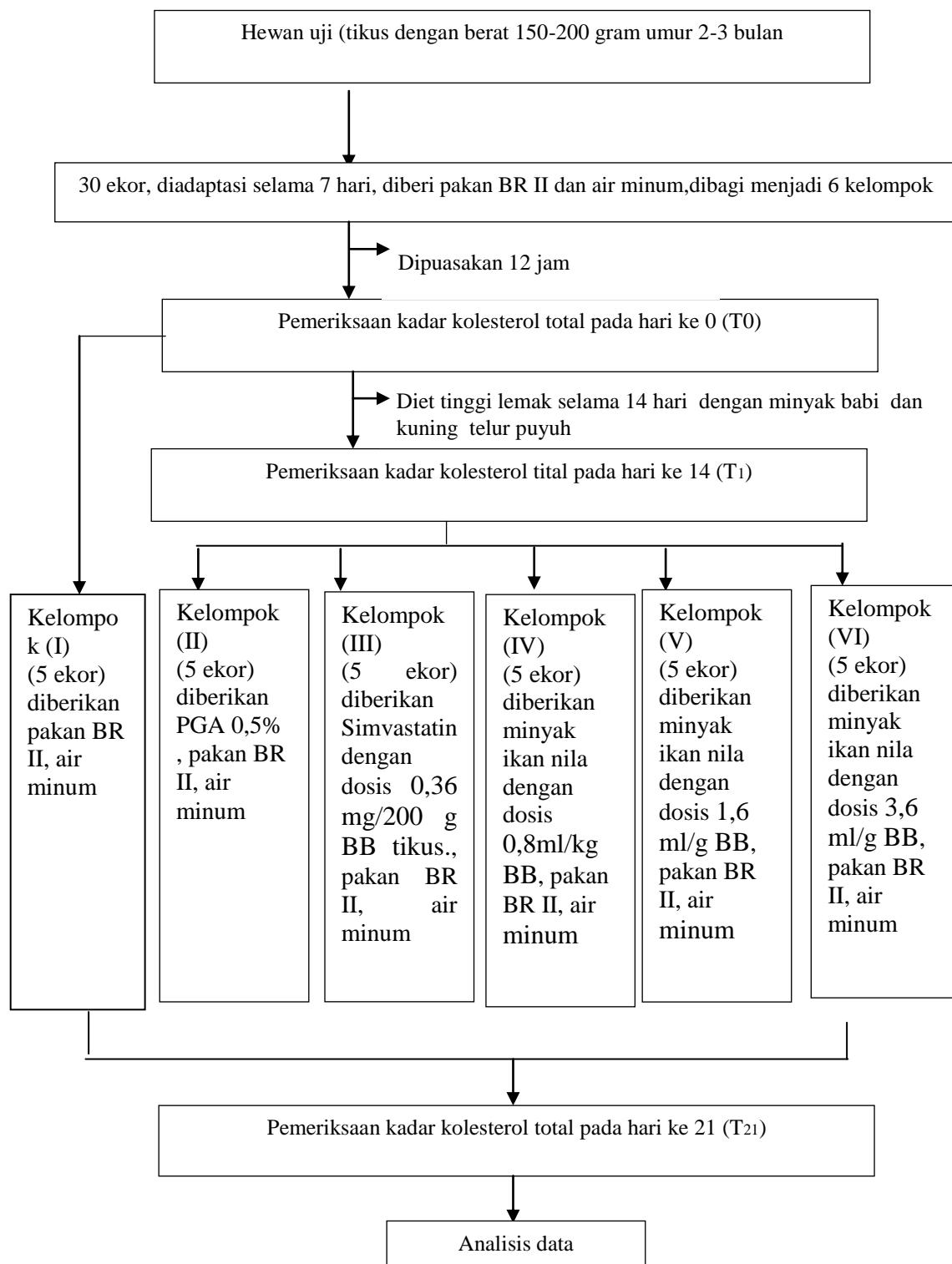
Kelompok VI : Minyak ikan nila 3,2 ml/200 g BB tikus

Sebelum perlakuan, hewan uji diadaptasikan terlebih dahulu dengan lingkungan penelitian diberi pakan BR II dan air minum selama 7 hari. Tikus yang telah diadaptasi diambil darahnya untuk diukur kadar kolesterol awal (T_0), yang sebelumnya dipuaskan selama \pm 12 jam tetapi tetap diberi air minum.

Pengambilan darah pada hewan uji (kecuali hewan kelompok I) yang telah dilakukan diet lemak tinggi selama 14 hari, darah diambil dengan cara menusukkan pipa kapiler di daerah vena mata tikus. Darah akan mengalir melalui pipa kapiler dan ditampung dalam tabung sentifuge sebanyak \pm 2 ml digunakan untuk penentuan kadar kolesterol total pada kondisi hiperkolesterolemia (T_{14}). Semua kelompok perlakuan (kecuali kelompok I) diberi perlakuan sesuai dengan kelompok masing-masing dan dibaca kolesterol totalnya setelah 7 hari perlakuan (T_{21}).

Pengukuran kadar kolesterol total awal dimaksudkan sebagai pembanding terhadap pengukuran kadar kolesterol total setelah perlakuan, yaitu untuk melihat apakah hasil perlakuan baik kontrol normal, kontrol negatif, dan perlakuan dengan

sediaan minyak ikan nila dalam berbagai konsentrasi mengalami perubahan atau tidak dibandingkan kadar awal. Prosedur perlakuan hewan uji dapat dilihat pada gambar. 2



Gambar 2. Skema perlakuan hewan uji

11. Uji penurunan kadar kolesterol total

Penurunan kadar kolesterolukur dengan menggunakan metode CHOD-PAP *Enzymatic Photometric Test*dengan mengambil sempel serum darah hewan uji melalui vena mata (*vena orbitalis plexus*) sebanyak 2 ml, pada hari ke-0, hari ke-14, dan hari ke-21. Pengukuran kadar kolesterol total pada hari ke-0 bertujuan untuk mengetahui kadar awal kolesterol, hari ke-14 untuk mengetahui kondisi hiperkoleterolemia pada tikus dan pada hari ke-21 bertujuan untuk mengetahui penurunan kadar kolesterol total yang optimal setelah diberi perlakuan, kemudian darah disentrifugasi pada 300 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serum.

Pembacaan absorbansi dilakukan dengan cara dimasukkan kedalam kuvet atau tabung reaksi, kemudian serum darah yang terbentuk dipipet 10 μL ditambah 1000 μL preaksi kolesterol total. Campuran tersebut diinkubasi selama 20 menit pada suhu 20-25°C, lalu diamati serapannya menggunakan alat fotometer sehingga didapat kadar kolesterol total serum darah tikus. Target kadar normal kolesterol total adalah 2,95756 mg/dL.

Tabel 2. Prosedur pengujian kolesterol total

	Blanko	Standart	Sampel
Sampel	-	-	10 μl
Standart	-	10 μl	-
Aquadest	10 μl	-	-
Reagen	1000 μl	1000 μl	1000 μl

Perhitungan kadar kolesterol total :

$$\text{Kadar kolesterol (mg/dL)} = \frac{As}{Ast} \times \text{Konsentrasi standart}$$

Keterangan :

As = Absorbansi sempel

Ast = Absorbansi standart

E. Analisis Data

Data kadar kolesterol total yang diperoleh pada penelitian ini merupakan data yang dianalisa untuk mendapatkan dosis paling efektif sebagai penurunan kadar kolesterol total serum darah tikus dengan *One-Way Anova*. Uji yang dapat digunakan untuk mengetahui normalitas sebaran data yaitu uji *Kolmogorov-Smirnov* atau *Shapiro-Wilk*. Uji *Kolmogorov-Smirnov* digunakan untuk sampel yang besar (berjumlah lebih dari 50 data) sedangkan *Shapiro-Wilk* untuk sampel yang sedikit (berjumlah kurang atau sama dengan 50 data).

Hasil uji *Shapiro-Wilk* data kadar kolesterol total nilai $P > 0,05$ sehingga secara keseluruhan data yang digunakan memenuhi asumsi distribusi normal. Uji *Levene* digunakan untuk mengetahui varians data. Jika varians data $p > 0,05$ maka data tersebut mempunyai varians data yang sama. Pengujian homogenitas varians (*levene test*) data kolesterol total menghasilkan signifikansi ($p > 0,05$) yang artinya asumsi varians data sama. Setelah kedua syarat terpenuhi, maka uji *One Way Anova* dapat dilakukan. Uji *One WayAnova* digunakan karena faktor yang dibandingkan hanya satu faktor yaitu kadar kolesterol total. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* dengan taraf kepercayaan 95 %. Jika variannya sama maka di lanjutka uji tukey HSD (*Honestly significant difference*) analisa menggunakan pogram SPSS *Windows Release 17.0*.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Ikan Nila

Ikan nila (*Oreochromis nilotikus L*) sebagai sempel untuk determinasi diambil dari karamba Waduk Gajah Mungkur, Wonogiri, Jawa Tengah pada bulan April 2016. Sempel ini kemudian diidentifikasi di Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dengan mencocokkan ciri morfologi yang ada pada sempel bahan. Berdasarkan surat keterangan No: BF/420/Ident/Det/XII/2015, hasil identifikasi menyatakan bahwa sempel bahan tersebut adalah ikan nila (*Oreochromis nilotikus L*) yang termasuk dalam suku Cichlidae. Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1.

B. Hasil Pengambilan Minyak Ikan Nila

Ikan nila yang digunakan sebagai bahan baku minyak ikan merupakan, ikan nila segar yang sudah berusia 2 sampai 3 bulan dengan bobot rata-rata 250 gram diambil langsung dari karamba di Bendungan Waduk Gajah Mungkur. Prosedur pengambilan minyak ikan dengan metode *Dry rendering* yang sudah dijabarkan sebelumnya pada bagian cara kerja. Pada tabel 1. Berdasarkan bobot keseluruhan ikan nila yaitu 15 kg yang kemudian diekstrak menjadi minyak, menghasilkan minyak ikan nila sebanyak 421 ml.

Tabel 3 . Persentase rendemen minyak ikan nila

Berat ikan nila (gram)	Volume minyak ikan nila (ml)	Rendemen (%)
14000	421	2,8

C. Analisa sifat fisik minyak ikan

1. Hasil pemeriksaan organoleptik

Analisa organoleptik dengan mengamati bentuk, bau, warna, rasa. Hasil dari pemeriksaan organoleptik minyak ikan dapat dilihat pada tabel 4 .

Tabel 4. Pemeriksaan organoleptik minyak ikan nila

No	Jenis Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1	Warna	Kuning muda	Kuning muda
2	Bau	Khas ikan	Khas
3	Bentuk	Cair	Cair

2. Hasil pemeriksaan berat jenis

Uji berat jenis untuk menggambarkan kemurnian minyak, dengan perbandingan berat zat terhadap air suling volume sama yang di timbang di neraca analitik pada suhu yang sama menggunakan piknometer, berat jenis minyak pada umumnya berkisar antara 0,917-0,9245 g/ml (Dirjen POM 1979). Dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Bobot jenis minyak ikan nila

Botol timbang kosong (gram)	Botol timbang + minyak (gram)	Bobot minyak (gram)	Bobot jenis minyak (g/ml)
28,383	75,378	46,995	0,918
28,383	75,355	46,972	0,917
28,383	75,345	46,962	0,918
	Rata-rata	46,976	0,917

3. Hasil pemeriksaan indeks bias

Indeks bias merupakan perbandingan kecepatan cahaya dalam zat tersebut. Air dialirkan melalui alat refraktometer pada suhu pembacaan yang akan dilakukan. Sebelum minyak dialirkan di dalam alat, minyak harus berada pada suhu yang sama dengan suhu pengukuran yang akan dilakukan. Pembacaan dilakukan bila suhu sudah stabil, hasil dari pembacaan indeks bias seperti tertera pada tabel 6.

Tabel 6. Indeks bias minyak ikan nila

Indeks bias minyak ikan pada suhu 25°C	Pustaka
1, 4772	1,478-1,482 (25°C)

D. Hasil analisa asam lemak dengan GC-MS

Analisa kandungan asam lemak minyak ikan nila dilakukan dengan menggunakan *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS) di laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gadjah Mada. Hasil dari analisa GC-MS dapat dilihat pada lampiran 13 dan tabel 5. Keragaman komposisi asam lemak pada minyak ikan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti spesies, ukuran ikan nila, pergantian musim dan umur ikan nila.

Tabel 7. Kandungan minyak ikan nila dengan analisa GC-MS

BM	Rumus Molekul	Nama Asam Lemak
242	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	Asam tetradekanoat metil ester Metil miristat Metil tetradekanoat Asam miristat metil ester Metholeneat
312	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	Asam nonadekanoat metil ester Metil nonadekanoat
296	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	Asam-9-oktadekanoat metil ester Asam oleat Metil cis-9-oktadekanoat Asam oleat Metil oleat Metil trans -9-oktadekanoat
268	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	Asam-10-oktadekanoat metil ester Asam-9-heksadekanoat metil ester Metil palmitat
270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Asam heksadekanoat metil ester Metil palmitat Metil heksadekanoat Metholeneat Asam palmitat metil ester
266	C ₁₇ H ₃₀ O ₂	Asam 9,12-Heksadekadienoat metil ester Metil 9,12-Heksadekadienoat
294	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	Asam 9,12-Oktadekadienoat metil ester Metil linolelaidate Metil trans 9,12-Oktadekadienoat
298	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	Metil 9,9-dideutere oktadekanoat

E. Hasil pengujian penurunan kadar kolesterol total minyak ikan nila

Penelitian antihiperlipid ini dilakukan dengan menggunakan minyak ikan nila (*Oreochromis nilotikus L*). Pengujian dilakukan dengan mengetahui penurunan kadar kolesterol total yang dilakukan terhadap tikus putih jantan galur wistar. Tikus putih jantan galur wistar dipilih sebagai hewan uji dalam penelitian

ini karena lebih resisten terhadap infeksi selain itu memiliki ketenangan yang baik dan tidak sulit dalam perlakuan sehingga mempermudah pengamatan.

Pada pemeriksaan T-0 dapat diketahui kadar kolesterol normal tikus putih sebelum dipengaruhi diet tinggi lemak. Pemeriksaan hari ke-14 (T-1) untuk mengetahui peningkatan kadar kolesterol setelah diinduksi tinggi lemak dengan menggunakan minyak babi dan kuning telur puyuh, kecuali pada kelompok kontrol normal.

Pemeriksaan hari ke-21 (T-2) bertujuan untuk mengetahui penurunan kadar kolesterol total tikus putih setelah diberi perlakuan sesuai kelompok uji yaitu kelompok I sebagai kontrol normal, kelompok II sebagai kontrol negatif, kelompok III kontrol positif menggunakan simvastatin, kelompok IV menggunakan minyak ikan dosis 1 (0,8 ml/200 gram BB), kelompok V menggunakan minyak ikan dosis 2 (1,6 ml/200 gram BB) dan kelompok VI menggunakan minyak ikan dosis 3 (3,2 ml/200 gram BB). Hasil rata-rata kadar kolesterol total pada hari ke-0, hari ke-14, dan ke-21 dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil rata-rata penurunan kadar kolesterol total hewan uji.

Kelompok	Rata-rata Kadar Kolesterol			ΔT (T ₁ -T ₀)	% ΔT (T ₁ -T ₀)	ΔT (T ₁ -T ₂)	% ΔT (T ₁ -T ₂)
	Total T ₀	Total T ₁	Total T ₂				
I	80,4	80,8	80,8	0,4	0,4	0	0
II	75	195,2	187,6	120,2	61,5	6,4	3,2
III	75,4	191,4	152,2	116	60,6	36,4	19
IV	79	186,6	170	115,4	61,8	16,6	8,8
V	70	190,8	168,4	120,8	63,3	19,2	10
VI	73,4	194,4	167,6	121	62,2	26,8	13,7

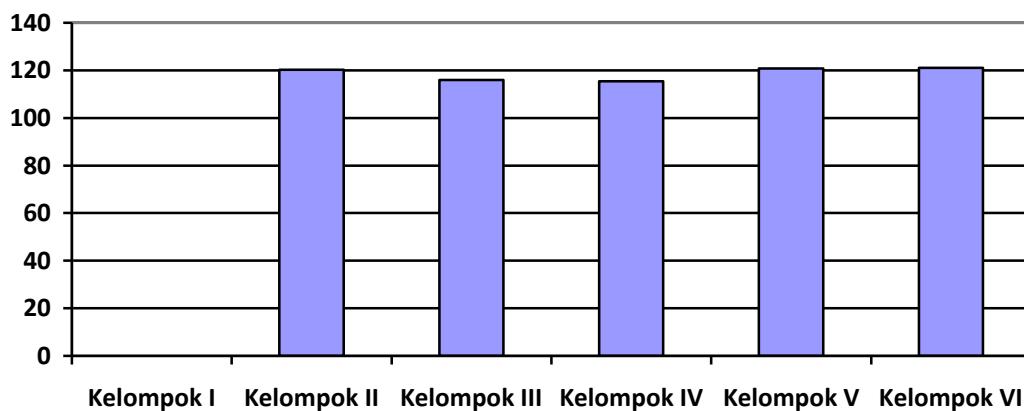
Keterangan

Kelompok I	: Kontrol normal
Kelompok II	: Kontrol negatif (PGA 0,5 %)
Kelompok III	: Kontrol positif (Simvastatin)
Kelompok IV	: Minyak ikan nila 0,8 ml/200 g BB tikus
Kelompok V	: Minyak ikan nila 1,6 ml/200 g BB tikus
Kelompok VI	: Minyak ikan nila 3,2 ml/200 g BB tikus
T0	: Hari ke 0
T1	: Hari ke 14
T2	: Hari ke 21
ΔT (T1-T0)	: Selisih kenaikan kolesterol total
ΔT (T1-T2)	: Selisih penurunan kolesterol total
% ΔT (T1-T0)	: Presentase kenaikan kolesterol total
% ΔT (T1-T2)	: Presentase penurunan kolesterol total

Tabel diatas menggambarkan hasil kadar kolesterol total dari perlakuan selama penelitian. Berdasarkan hasil angka rata-rata pada hari ke-7 atau T0 kadar kolesterol total hewan uji, merupakan kadar kolesterol total awal yang belum dipengaruhi peningkatanya atau penurunannya sehingga hasilnya terlihat lebih rendah dari data T1 dan T2. Kelompok I mulai hari ke-0 sampai dengan hari ke-21 tidak terdapat perbedaan kadar kolesterol total yang signifikan, karena kelompok I sebagai parameter peningkatan dan penurunan kadar kolesterol total bagi kelompok yang lain sehingga hanya diberi pakan.

Perlakuan diet tinggi lemak menggunakan induksi emulsi minyak babi dan kuning telur puyuh pada semua kelompok dengan dosis 1 ml/200 g BB bedasarkan uji orientasi, kecuali pada kelompok I sebagai kontrol normal perhitungan dosis pada lampiran 15. Pada hari ke-14 kadar kolesterol total mengalami peningkatan, kelompok II, III, IV, V dan VI menunjukkan peningtan kadar kolesterol total. Kuning telur puyuh dan minyak babi yang memiliki kandungan kolesterol cukup tinggi dapat membantu meningkatkan kadar

kolesterol hingga hiperkolesterolemia pada hewan uji pada hari ke- 14. Berikut merupakan histogram % kenaikan kadar kolesterol total.

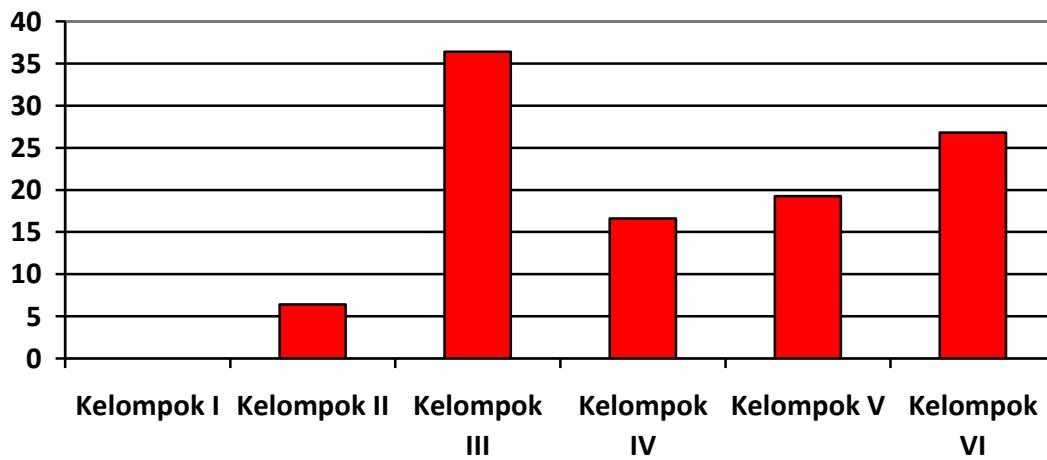


Gambar 3. Histogram %kenaikan kadar kolesterol total

Keterangan

- Kelompok I : Kontrol normal
- Kelompok II : Kontrol negatif (PGA 0,5 %)
- Kelompok III : Kontrol positif (Simvastatin 0,36 mg/200 g BB tikus)
- Kelompok IV : Minyak ikan nila 0,8 ml/200 g BB tikus
- Kelompok V : Minyak ikan nila 1,6 ml/200 g BB tikus
- Kelompok VI : Minyak ikan nila 3,2 ml/200 g BB tikus

Kadar kolesterol total hewan uji pada hari ke-21, menunjukkan adanya penurunan kadar kolsterol total yang berbeda-beda pada masing-masing kelompok, pada kelompok 3 sebagai kontrol positif mengalami penurunan yang signifikan. Kelompok 2 sebagai kontrol negatif mengalami penurunan lebih rendah dari kelompok 3, 4, 5 dan 6. Pada perlakuan kelompok 2 tidak diberikan zat aktif yang berfungsi menurunkan kadar kolesterol total, sehingga menjadi faktor penurunan kadar kolesterol lebih rendah. Berikut merupakan histogram % penurunan kadar kolesterol total.



Gambar 4. Histogram %penurunan kadar kolesterol total

Keterangan

- Kelompok I : Kontrol normal
- Kelompok II : Kontrol negatif (PGA 0,5 %)
- Kelompok III : Kontrol positif (Simvastatin 0,36 mg/200 g BB tikus)
- Kelompok IV : Minyak ikan nila 0,8 ml/200 g BB tikus
- Kelompok V : Minyak ikan nila 1,6 ml/200 g BB tikus
- Kelompok VI : Minyak ikan nila 3,2 ml/200 g BB tikus

Berdasarkan gambar 3, menunjukkan bahwa kelompok IV, V, VI memberikan efek menurunkan kadar kolesterol total darah pada hewan uji. Kelompok VI memiliki penurunan kadar kolesterol tota lebih besar dari kelompok V dan IV , selisih hasil penurunan kadar kolesterol total tidak terlalu jauh dengan kelompok VI

Hasil uji *Shapiro-Wilk* data kadar kolesterol total nilai $P > 0,05$ sehingga secara keseluruhan data yang digunakan memenuhi asumsi distribusi normal. Uji *Levene* digunakan untuk mengetahui varians data. Jika varians data $p > 0,05$ maka data tersebut mempunyai varians data yang sama. Pengujian homogenitas varians (*levene test*) data trigliserida menghasilkan signifikansi ($p > 0,05$) yang

artinya asumsi varians data sama. Setelah kedua syarat terpenuhi, maka uji *One Way Anova* dapat dilakukan. Uji *One Way Anova* digunakan karena faktor yang dibandingkan hanya satu faktor yaitu kadar trigliserida. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* dengan taraf kepercayaan 95 %.

Berdasarkan hasil uji Tukey HSD ada perbedaan yang signifikan antara kelompok normal dengan kelompok positif. Kelompok normal tidak mengalami perubahan kadar koleseterol total sedangkan kontrol positif terdapat perubahan kadar kolesterol total seperti kelompok yang lain. Penurunan kadar kolesterol total pada kontrol positif cenderung paling besar dibandingkan kelompok dosis 1, dosis 2, dosis 3 dan kontrol negatif, hal tersebut disebabkan penurunan kadar kolesterol total pada kontrol positif menggunakan obat generik simvastatin yang memiliki efek menurunkan kadar kolesterol total.

Simvastatin adalah senyawa antilipermic derivat asam mevinat yang mempunyai mekanisme kerja menghambat *3-hidroksi-3-metil-glutaril-koenzim A* (HMG-CoA) reduktase yang berfungsi sebagai katalis dalam pembentukan kolesterol. HMG-CoA berubah menjadi asam mevalonat yang menyebabkan penurunan sintesa kolesterol dan meningkatkan jumlah reseptor *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada membrane sel hati dan jaringan ekstrahepatik. (Page *et al.* 2006)

Penurunan kadar kolesterol total pada kelompok dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 tidak ada perbedaan yang signifikan antara tiga kelompok tersebut namun pada dosis 3 menunjukkan jumlah penurunann yang paling banyak diantara dosis 1 dan dosis 2. Penurunan kadar kolesterol total pada dosis 3 berdasarkan data statistik

mendekati jumlah penurunan pada kelompok kontrol positif yang menggunakan simvastatin, diperoleh signifikan $0,160 \geq 0,05$ yang artinya penurunan kadar kolesterol total tidak ada nyata dengan kontrol positif lebih jelasnya mendekati kontrol positif. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi dosis yang diberikan, kemampuan penurunan kadar kolesterol total juga semakin baik.

Pada kelompok kontrol negatif tidak mengalami penurunan kadar kolsterol total karena pada kontrol negatif tidak diberikan zat yang menurunkan kadar kolesterol total sehingga terdapat perbedaan signifikan dengan kontrol positif. Penurunan kadar kolesterol total diduga karena kandungan asam lemak yang terdapat didalam minyak ikan nila.

Berdasarkan dari pengujian kromatografi gas-spektrofotometer massa maka dapat disimpulkan bahwa sebagian besar komponen asam lemak dari minyak ikan adalah MUFA (*Mono Unsaturated Fatty Acid*). Secara umum, asam lemak tak jenuh tunggal (MUFA) berpengaruh menguntungkan terhadap kadar kolesterol darah daripada asam lemak tak jenuh jamak (PUFA) (de Roos NM *et al.*, 2001;Almatsier 2001).

Kandungan gizi dalam minyak ikan nila yang dapat menurunkan kadar kolesterol total adalah asam lemak omega-3, omega-6 dan omega-9. Asam lemak oleat berfungsi meningkatkan kadar kolesterol HDL. Mekanisme penekanan sintesis kolesterol dengan omega-9 asam oleat dalam minyak ikan nila adalah konfigurasi *cis* dapat mengurangi absorbs lemak yang menyebabkan kolesterol serum darah berkurang. Asam oleat menunjukkan tidak meningkatkan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) tetapi dapat meningkatkan *High Density Lipoprotein*

(HDL). Asam omega-9 melindungi kolesterol HDL dari oksidasi sehingga tidak terjadi hambatan laju pengambilan kolesterol di jaringan (Haryanti 2009).

Omega-6 lenoleat memmiliki fungsi menurunkan kadar kolesterol yaitu dengan cara mengurangi absorpsi kolesterol termasuk trigliserida dan lemak makanan dalam sistem pencernaan. Pengurangan absorpsi tersebut dikaukan dengan cara mengikat molekul lemak dari makanan dengan menghambat molekul tersebut agar tidak diserap oleh makanan (Santoso 2013)

BAB V

KESIMPILAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

Pertama, Pemberian minyak ikan nila (*Oreochromis nilotikus L*) dengan dosis 0,8 ml/200 g BB ,1,6 ml/200 g BB dan 3,2 ml/200 g BB memiliki aktivitas penurunan kadar kolesterol total.

Kedua, pemberian minyak ikan nila dengan dosis 3,2 ml/200 g BB mempunyai pengaruh paling optimal dalam menurunkan kadar kolesterol total berikutnya diikuti dosis 1,6 ml/200 g BB dan 0,8 ml/200 g BB.

B. Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian lebih lanjut adalah :

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap minyak ikan nila dalam bentuk sediaan emulsi untuk meningkatkan efek penurunan kadar kolesterol yang optimal.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menambah durasi pemberian minyak ikan nila untuk mendapatkan efek penurunan kadar kolesterol total yang lebih maksimal .

DAFTAR PUSTAKA

- Ali Khomsan, Faisal Anwar. 2008. *Sehat itu Mudah*. Jakarta: Hikmah.
- Almatsier S. 2004. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Almunandy T, Panangan, Heni Y, Jojor UG. 2011. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Asam Lemak Tak Jenuh Omega-3 dari Minyak Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) dengan Metode Kromatografi Gas. *Jurnal Penelitian Sains* 14: 38-42.
- Amri, K. Dan Khairuman. 2003. *Budidaya Ikan Nila Secara Intensif*. Agromedia. Jakarta. Hlm 15-16.
- Andre K. 2013 . *Analisis komponen asam lemak pada minyak ikan nila (*Oreochromis nilotikus*) secara GC-MS* [Skripsi]. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatra Utara.
- Andy W. 2009. Metabolisme kolesterol hati: *Khasiat ramuan jati belanda (Guazama ulmifolia Lamk.) dalam mengatur konsentrasi kolesterol seluler* [Skripsi]. Bogor; Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Anies, Andin, Nur Hidayah, editor. 2015. *Kolesterol dan Penyakit Jantung Koroner*. Jogjakarta. AR RUZZ MEDIA.
- Ansel H.C. 2004 . *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Terjemahan Farida Ibrahim, Universitas Indonesia Press.
- Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. 2004. *Biokimia Ulasan Bergambar*. Ed ke-3. Rachman YL, Danny F, Penerjemah; Jakarta: Buku Indonesia EGC. Terjemahan dari: *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*.
- Dalimartha S. 2007. *36 Resep Tumbuhan Obat untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penerbit Swadaya. hlm 1-13.
- de Roos NM, Bots ML, Katan B. 2001. Replacement of dietary saturated fatty acids by trans fatty acids lowers serum HDL cholesterol and impairs endothelial function in healthy men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21:1233-1237.
- Dedi R dan Rachmat W. 2011. Pendugaan Kadar Kolesterol Daging dan Telur Berdasarkan Kadar Kolesterol Darah pada Puyuh Jepang. *JURNAL ILMU TERNAK* 11:35-38.
- Drijen POM. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Depkes RI. Jakarta

- Eni P, Yulia DS, Dwi PN, Widati, Qudwatun Qudwatun Q. 2012. *Kateristik daya hambat pertumbuhan bakteri perusak pangan hasil isolasi dari nila (Oreochromis niloticus) oleh ekstrak jahe (Zingiber officinale) dengan pengencer emulsi tween 80.* ISSN V (1) 45-55.
- Estiasih. T. 2009. *Minyak Ikan Teknologi dan Penerapanya untuk Pangan dan Kesehatan.* Graha Ilmu. Yokjakarta.
- Fatimah S. 2011. Efek suplementasi serat chitosan dengan Omega-3 dalam minyak ikan terhadap trigliserida dan kolesterol total pada pekerja obes. *Jurnal kedokteran Indonesia* 2: 23-29.
- Ghufran H Kodri, M. (2013). *Budidaya Nila Unggul.* Jakarta: Agromedia Pustaka. Hal. Iii, 1-3. Hlm 72.
- Haris, W.S. 2004. Review: fish oil supplementation: evidence for health benefits, *Cleveland Clinic J. of Medicine*, 71(3):208-219.
- Haryanti, H.W.2009. Potensi omega 9-Asam Oleat pada Daging buah alpukat dalam Penurunan Kolesterol Serum Darah. Artikel Penelitian . Jurusan Pendidikan Biologi IKIP PGRI. Semarang. <http://portalgaruda.org/article.php?article=7034%val=523>.
- Ketaren, S. 2012. *Pengantar Teknologi Minyak Lemak Dan Pangan.* UI. Press. Jakarta.
- Khairuman. 2013. Budi Daya Ikan Nila; penyunting. Miyosi. Jakarta. PT.Agro Media Pustaka
- Khamidal, Ngatidja H, Mudasir. 2007. Pengaruh antioksidan terhadap kerusakan asam lemak Omega-3 pada proses pengolahan ikan tongkol. *Kaunia III* 2: 130-136.
- Kurniawan, A. 2013. *Analisis Komponen Asam Lemak pada Minyak Ikan Nila (Oreochomis niloticus) secara GC-MS.* [SKRIPSI] Medan: Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara.
- Laila KM. 2011. Penentuan kadar kolesterol dengan metode kromatografi gas. *AGROITEK* 5:28-32, 28.
- Lely I, Asri W, Antonius YK. 2009. Hubungan pola kebiasaan konsumsi makanan masyarakat miskin dengan kejadian hipertensi di Indonesia. *Indrawati XIX* (4)174-184.
- Lena JD. 2008. Kandungan asam lemak tak-jenuh minyak hati ikan cicut botol (*Centrophorus sp*) yang diekstrasi dengan cara pemanasan. *Jurnal Ilmiah Sains* 8:250-253.

- Mayes PA. 2003. *Biosintesis asam lemak*. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, editors. Biokimia. Jakarta.
- Mega AM, Yanti MM, Stefana HMK. 2013. Gambaran kadar kolesterol total darah pada mahasiswa angkatan 2011 fakultas kedokteran Universitas Sam Ratulangi dengan indeks massa tubuh 18,5-22,9 kg/m. *Jurnal e-Biomrdik (eBM)* I (2)1008-1013.
- Micallef MA dan Gard ML 2008. The Lipid lowering effect of phytosterols and (n-3) polyunsaturated fatty acids are synergistic and complementary in hyperlipidemic men and women. *The Journal of Nutrition* 138: 1086-1090.
- Muller H, Lindman AS, Brantsaeter AL. 2003. Pedersen Jl. The serum LDL/HDL cholesterol ratio is influenced more favorably by exchanging saturated with unsaturated fat than by reducing saturated fat in the diet of women. *J Nutr.*
- Ningsih D. 2013. Petunjuk Praktikum Farmakologi Dasar. Surakarta. Universitas Setia Budi. Hlm 16.
- Page C, Curist M, Walker M, Hoffaman B. 2006. Integrated Pharmacology 3rd ed. Mosby Elsevier. Hlm 325-326
- Rasyid A. 2003. *Asam lemak omega-3 dari minyak ikan*. Oseana Volume XXVIII (Nomor 3): 11-16.
- Reoschisu P, Bent E. 1979. Biochem Jellin, Chem clin. London hal : 403-411.
- Ridwan HS. 2013. Pengaruh yoghurt kacang kedelai kuning terhadap kadar LDL serum pada tikus putih jantan galur wistar hyperlipidemia [Skripsi]. Pontianak : Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- Rosmaini H. 2010. Terapi sederhana menekan gejala penyakit degenerative. *Jurnal Ilmu Keolahragaan* 8 : 78-93.
- Salamah; Joko Santoso; Ella. 2004. *Pemanfaatan Tepung Tulang Ikan Patin Pangasius sp Sebagai Sumber Kalsium dan Fosfor dalam Pembuatan Biskuit Ichtyos*. 8: 9-14.
- Santoso A, Ning I, Tri R. 2013. Penggunaan pakan fungsional mengandung omega-3, probiotik dan isolate anti histamine N3 terhadap kadar lemak dan kolesterol kuning telur ayam kkampung, *Jurnal Ilmiah Perternakan* 3:848-855.
- Selvadurai M, Janaki SKN, Sachin S, Anil D. 2009. Bioequivalence study of simvastatin. *J Bional Biomed.* 1: 028-032.

- Smith dan Mangkoewidjojo. 1998. *Pemeliharaan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia. Hlm 37-38.
- Suyatna. 2009. Hiperlipidemia. Di dalam: Gunawan GS, Setiabudi R, Nafrialdi, editor. *Farmakologi dan terapi dan terapi*. Ed ke-5 (cetak ulang dengan perbaikan, 2011). Jakarta: FKUI. hlm. 377, 383.
- Suyatno, S.R. 2004. Nila. Cetakan 10. Penebar Swadaya, Jakarta, hlm. 2-13.
- Tri H. 2011. *Kajian tentang potensi bahan-bahan alami untuk penurunan kadar kolesterol darah*.
- Widyaningsih W. 2011. Efek ekstrak etanol rimpang temugiring (*Curcuma heynaena* val) terhadap kadar trigliserida. *Jurnal Ilmu Kefarmasian* 1 : 55.
- Wildan F. 2000. *Perbedaan Kandungan Omega-3 Dan Omega-6 Dalam Minyak Ikan Lemuru Dengan Teknik Kromatografi*. Bogor: BalaiPenelitian Ternak. Hlm 204-209.
- Winarno FG.1984. *Kimia Pangan & Gizi*. Jakarta : PT Gramedia. Hlm 99.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan identifikasi ikan nila



**BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA**

Alamat: Sekip Utara Jl. Kaliurang Km 4, Yogyakarta 55281
Telp. , 0274.542738, 0274.649.2568 Fax. +274-543120

SURAT KETERANGAN
No.: BF/1/2 Ident/Det/XII/2015

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Asrizal Azis
NIM. 18123508 A
Fakultas Farmasi USB
Di Surakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi sampel yang Saudara kirimkan ke Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
420	<i>Oreochromis niloticus</i> L. Sinonim : <i>Tilapia nilotica</i> L.	Cichlidae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 16 Desember 2015

Ketua



* Prof. Dr. Wahyono, SU., Apt.
NIP. 195007011977021001

Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji.

"ABIMANYU FARM"

✓ Mencit putih jantan ✓ Tikus Wistar ✓ Swis Webster ✓ Cacing
 ✓ Mencit Balb/C ✓ Kelinci New Zeland

Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

Selaku pengelola Abimanyu Farm, menerangkan bahwa hewan uji yang digunakan untuk penelitian, oleh:

Nama : Asrizal Aziz
 Nim : 18123508 A
 Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Wistar
 Umur : 2-3 bulan
 Jenis kelamin : Jantan
 Jumlah : 30 ekor
 Keterangan : Sehat
 Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

Yang pengembangan dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 26 Mei 2016

Hormat kami



Sigit Pramono
"ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Foto ikan nila dan minyak ikan nila3a.Ikan nila (*Oreochromis niloticus*)

3b. Minyak ikan nila

Lampiran 4. Foto alat dan bahan pembuatan minyak ikan4a. Panci4b. Panci4c. Press4d. Daging ikan nila yang sudah dipotong-potong4f. Kepala dan tulang ikan nila

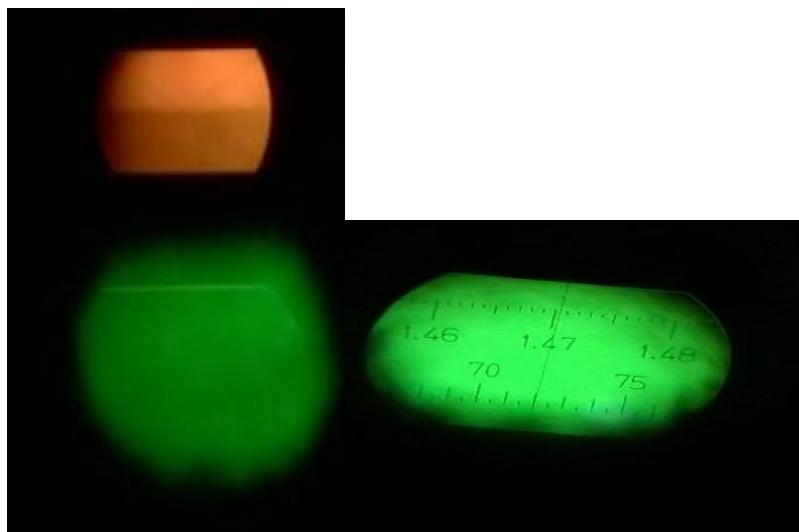
Lampiran 5. Foto alat pemeriksaan dan hasil pemeriksaan indeks bias dan bobot jenis minyak ikan



5a. Piknometer



5b. Refraktrometer

Lampiran 6. Hasil pemeriksaan indeks bias**Lampiran 7. Foto larutan stok sediaan uji**7a. Larutan stok PGA 0,5 %7b. Simvastatin7c. Minyak Ikan Nila

Lampiran 8. Foto alat dan reagen kolesterol total8a. Alat foto stardust8b. Alat sentrifuge8c. Reagen kolesterol tota dan Reagen standar

Lampiran 9. Pemberian sediaan secara oral dan pengambilan sampel darah9a. Pengambilan sampel darah9b. Pemberian sediaan secara oral

Lampiran 10. Perhitungan persentase minyak ikan nila

Berat ikan nila (gram)	Volume minyak ikan nila (ml)	Rendemen (%)
15000	421	2,8

Rendemen dapat diperoleh dengan rumus :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Volume minyak ikan}}{\text{Berat ikan nila}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{421 \text{ ml}}{15.000 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = 2,8 \% \text{ v/b}$$

Kesimpulan: rendemen volume minyak ikan nila terhadap berat ikan nila yang didapat adalah 2,8 % v/b

Lampiran 11. Perhitungan indeks bias minyak ikan nila.

Indeks bias minyak ikan pada suhu	Pustaka
1,4772	1,478-1,482 (25^0C)

Perhitungan:

Faktor konversi suhu pada setiap kenaikan 1^0C = 0,0004

Indeks bias teoritis 25^0C = 1,478-1,482

Suhu praktek = 25^0C

Perhitungan

$$= (25-25) \times 0,0004 = 0$$

Jadi indeks bias

$$= (1,478+0)-(1,482+0)$$

$$= 1,478-1,482$$

Lampiran 12. Perhitungan bobot jenis minyak ikan nila

Botol timbang kosong (gram)	Botol timbang + minyak (gram)	Bobot minyak (gram)
28,383	75,378	46,995
28,383	75,355	46,972
28,383	75,345	46,962
	Rata-rata	46,976

Perhitungan bobot jenis:

$$\begin{aligned}
 \text{Botol timbang + air} &= 79,534 \\
 \text{Botol timbang kosong} &= 28,383 \quad — \\
 \text{Bobot air} &= \underline{\underline{51,151}} \\
 \text{Bobot jenis minyak ikan} &= \frac{\text{Bobot minyak}}{\text{Bobot air}} = \frac{46,995}{51,151} = 0,918
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Botol timbang + air} &= 79,596 \\
 \text{Botol timbang kosong} &= 28,383 \quad — \\
 \text{Bobot air} &= \underline{\underline{51,213}} \\
 \text{Bobot jenis minyak ikan} &= \frac{\text{Bobot minyak}}{\text{Bobot air}} = \frac{46,972}{51,213} = 0,917
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Botol timbang + air} &= 79,511 \\
 \text{Botol timbang kosong} &= 28,383 \quad — \\
 \text{Bobot air} &= \underline{\underline{51,128}} \\
 \text{Bobot jenis minyak ikan} &= \frac{\text{Bobot minyak}}{\text{Bobot air}} = \frac{46,962}{51,128} = 0,918
 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata bobot jenis minyak ikan} = \frac{0,918 + 0,917 + 0,918}{3} = 0,917$$

Jadi bobot jenis minyak ikan adalah 0,917

Perhitungan konversi suhu ruang dalam percobaan bobot jenis:

Faktor konversi suhu pada setiap kenaikan 1°C = 0,0007

Bobot jenis teoritis 25°C = 0,917 - 0,9245

Suhu ruang praktek = 25°C

Perhitungan:

$$= (25-25) \times 0,0007 = 0$$

Jadi bobot jenis teoritis pada suhu 25°C

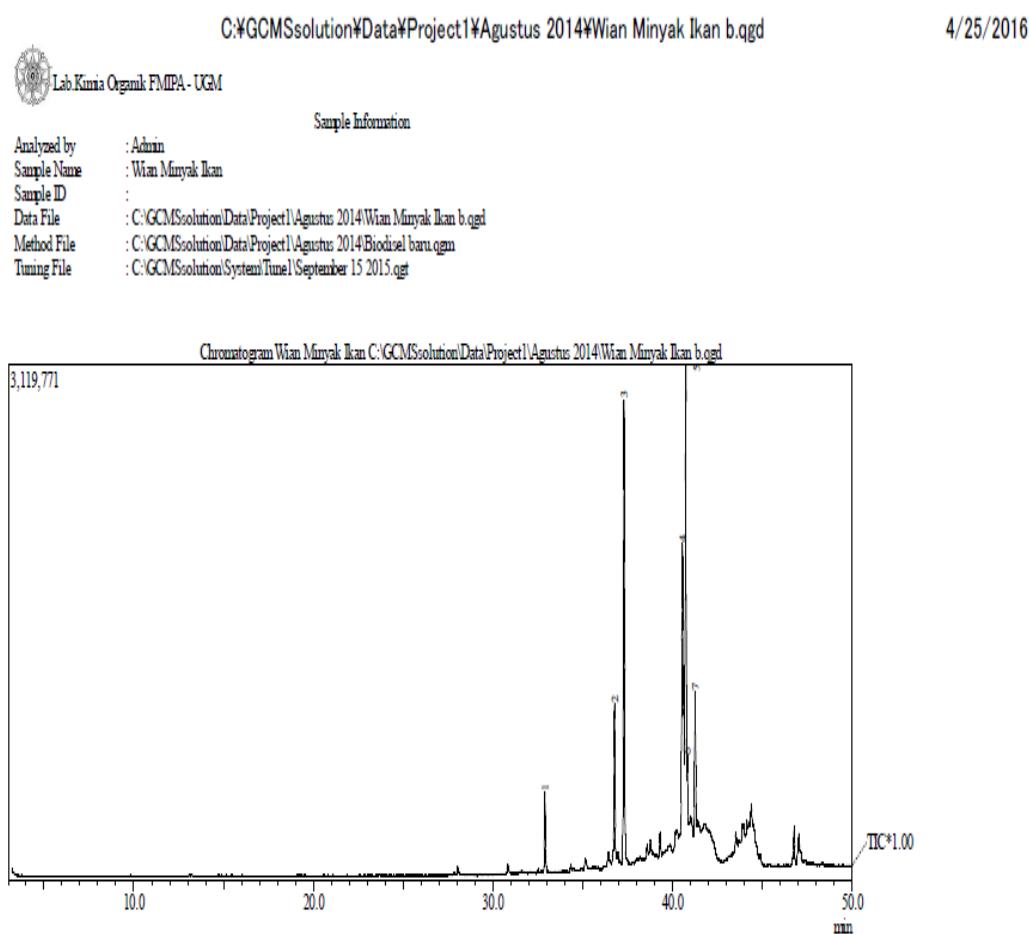
$$= (0,917+0)-(0,9245+0)$$

$$= 0,917-0,9245$$

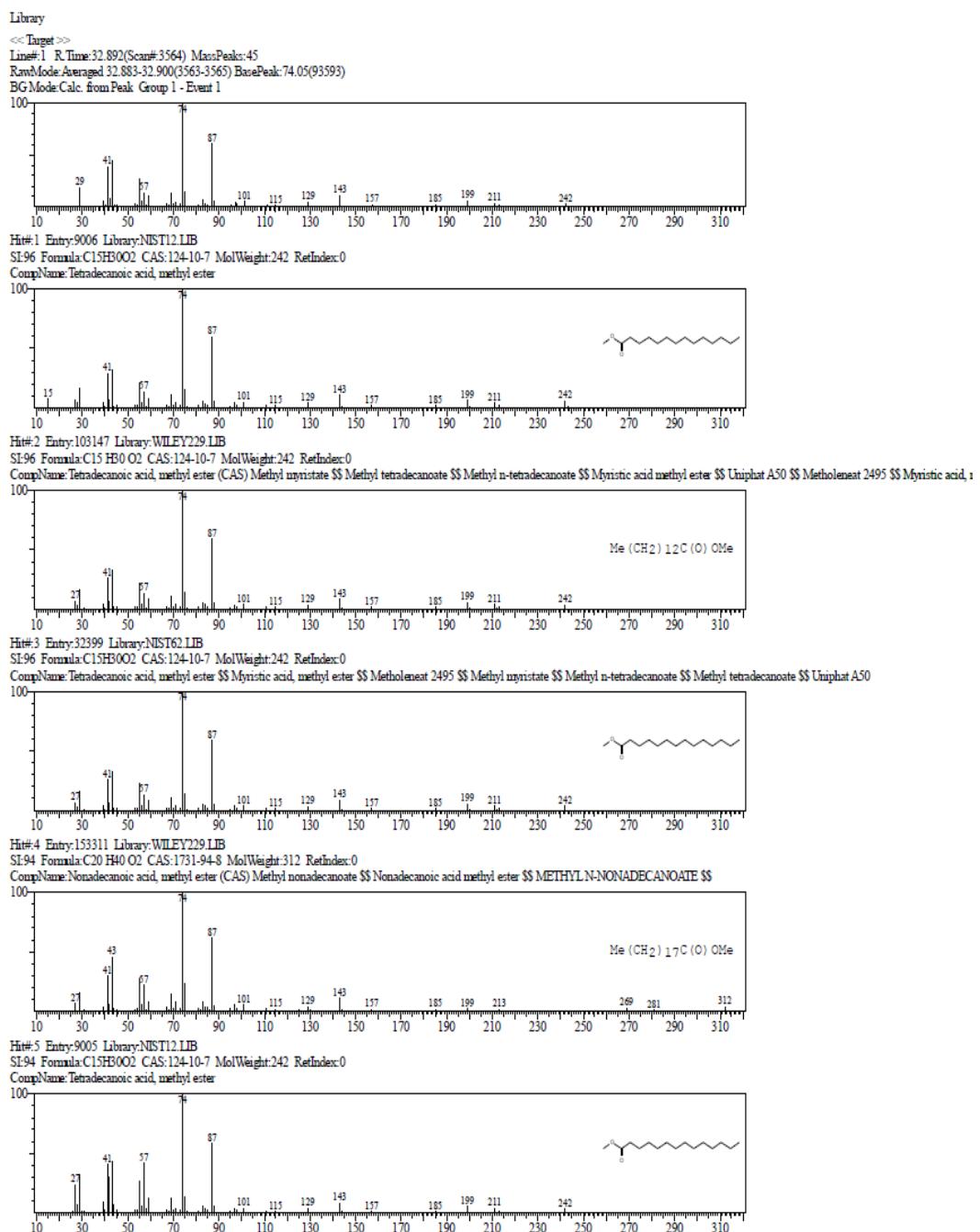
Bobot jenis menurut praktek adalah 0,917

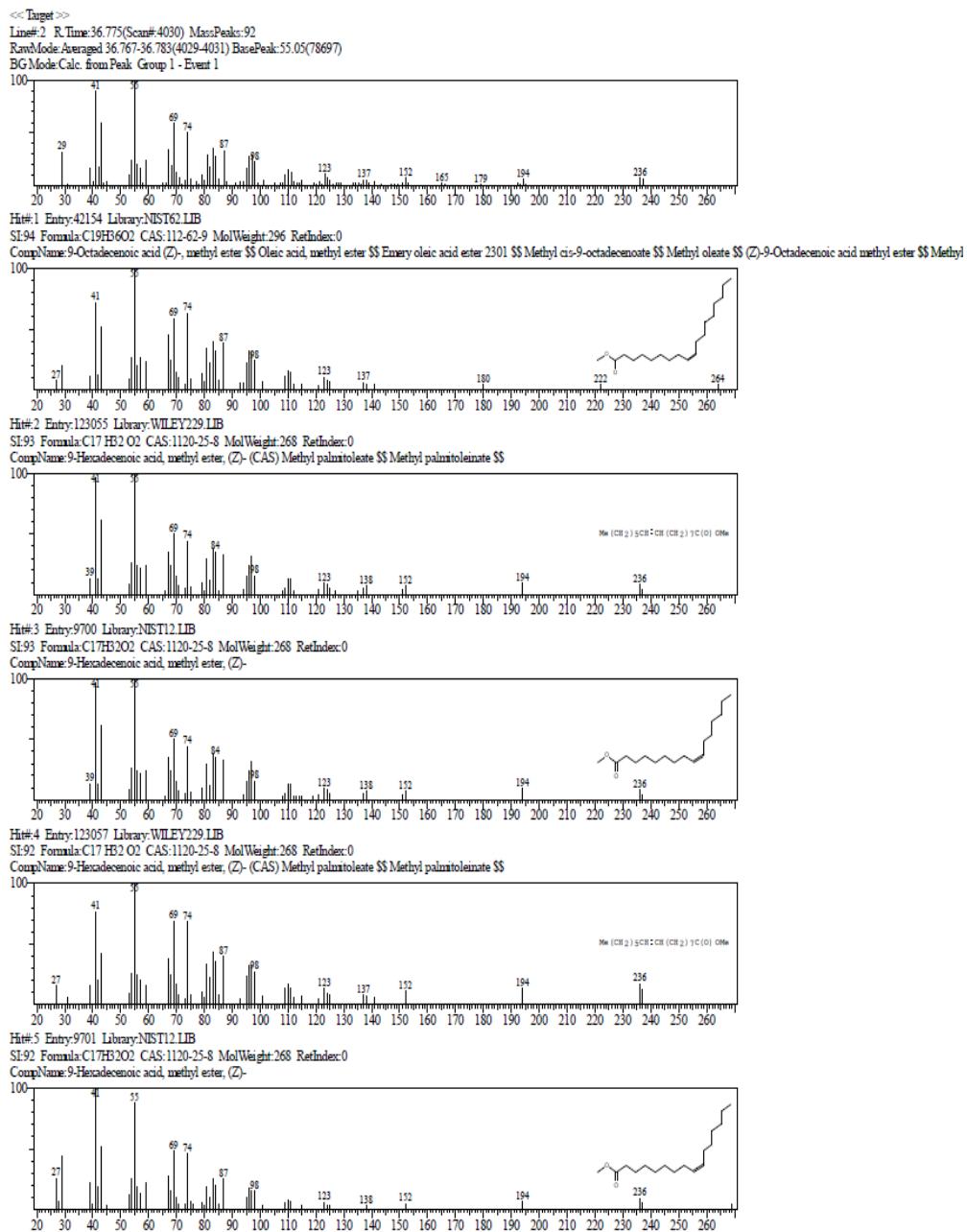
Jadi bobot jenis praktek sesuai dengan bobot jenis menurut pustaka.

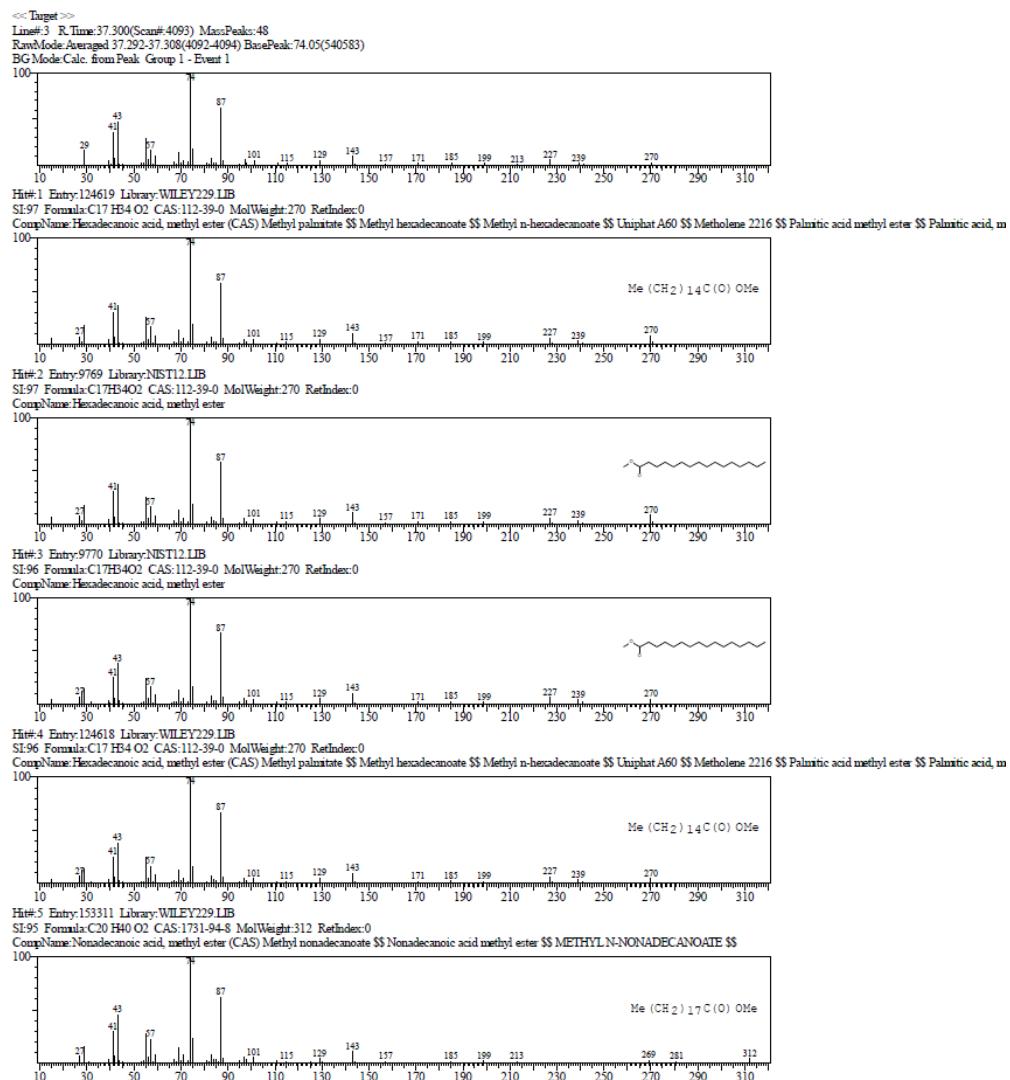
Lampiran 13. Hasil analisa kromatografi gas-spektrofotometri massa

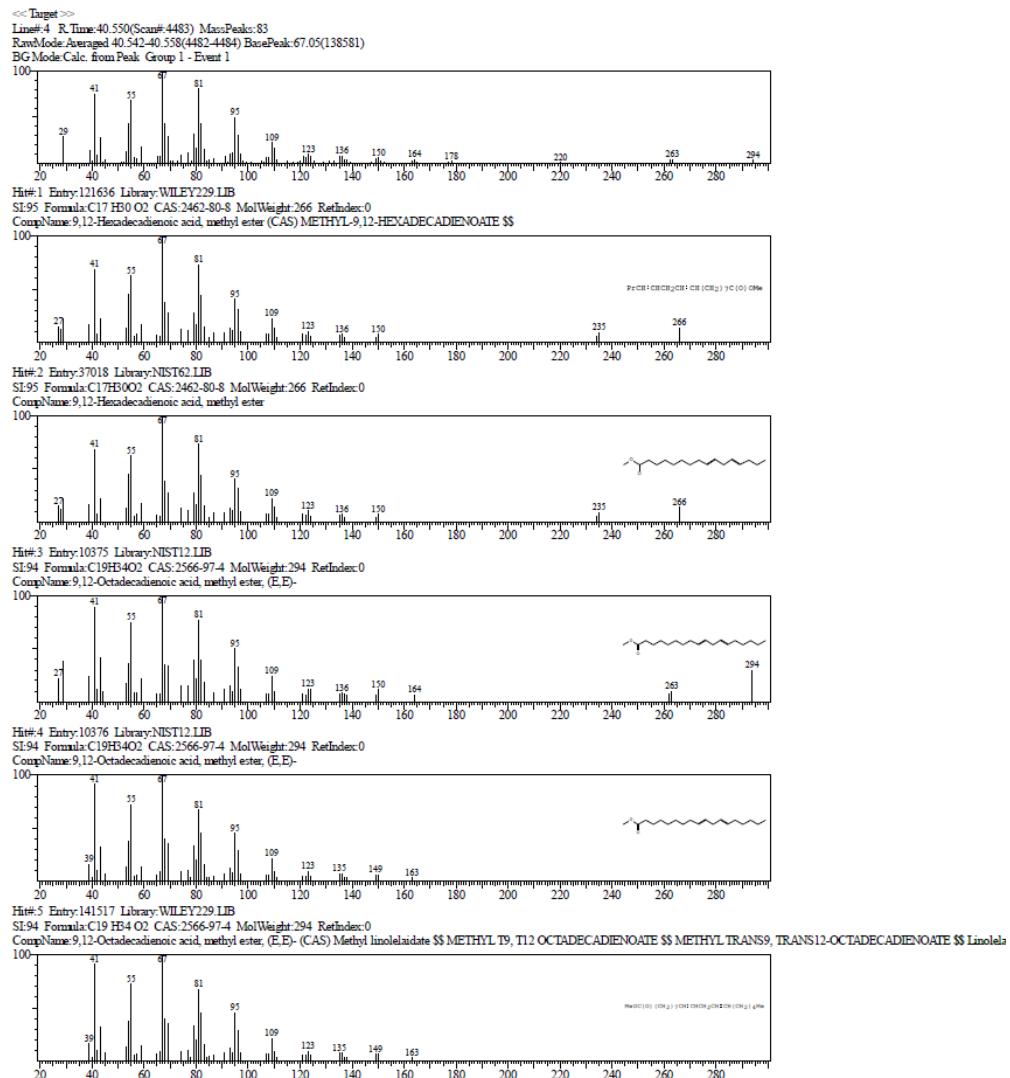


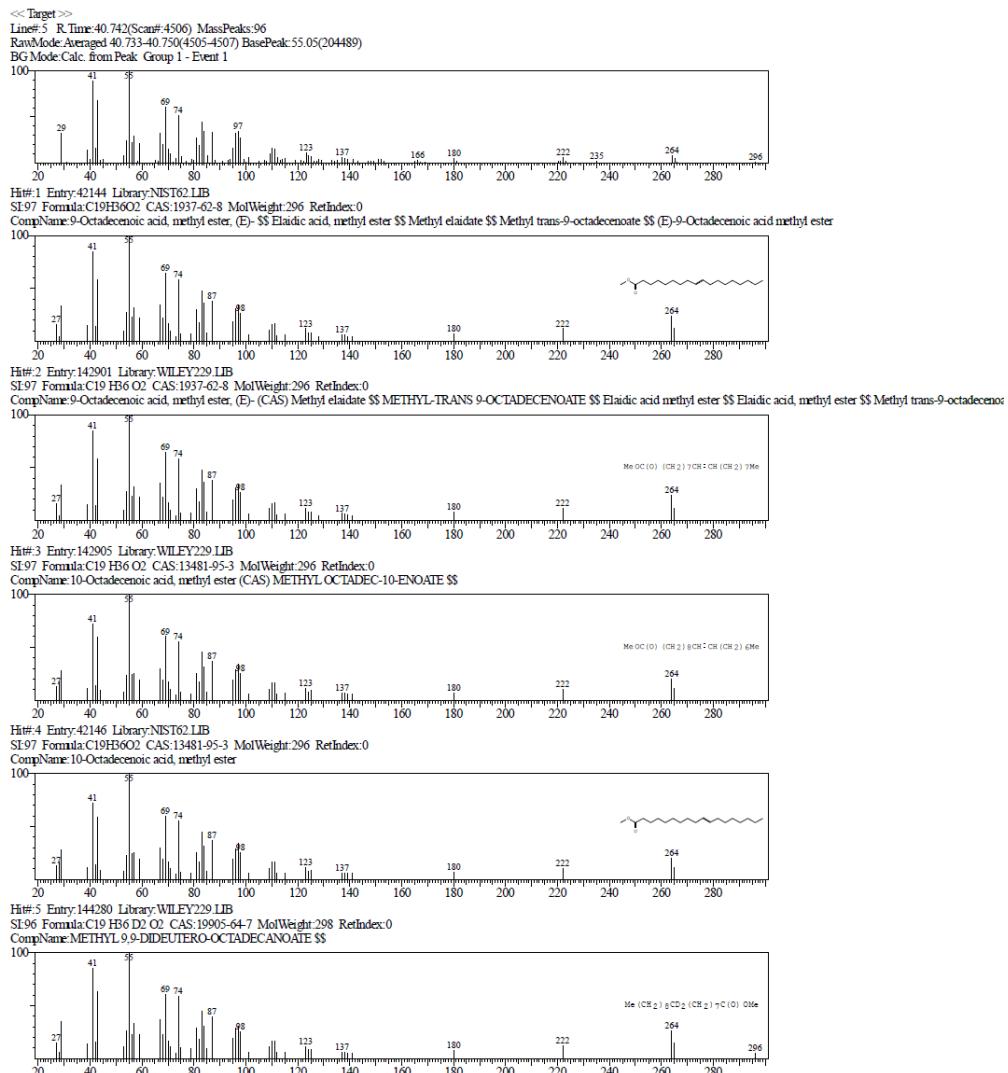
Peak Report TIC							
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Name
1	32.893	32.825	32.975	1704784	4.01	473624	
2	36.774	36.700	36.858	3257925	7.66	905404	
3	37.301	37.192	37.400	11507158	27.05	2785197	
4	40.551	40.442	40.658	9762021	22.95	1738685	
5	40.740	40.658	40.800	11998830	28.21	2801126	
6	40.825	40.800	40.900	1162695	2.73	420428	
7	41.264	41.183	41.342	3142849	7.39	839091	
				42536262	100.00	9963555	

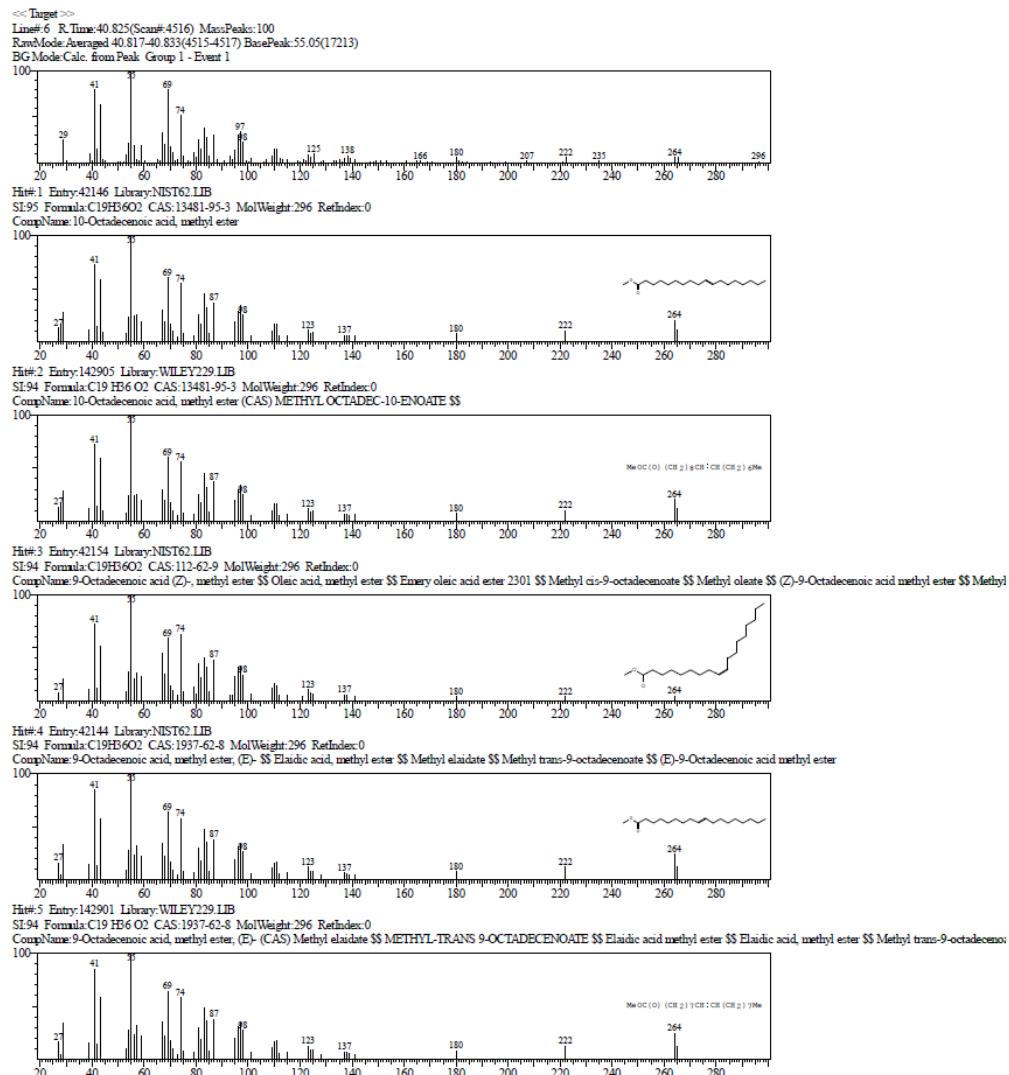


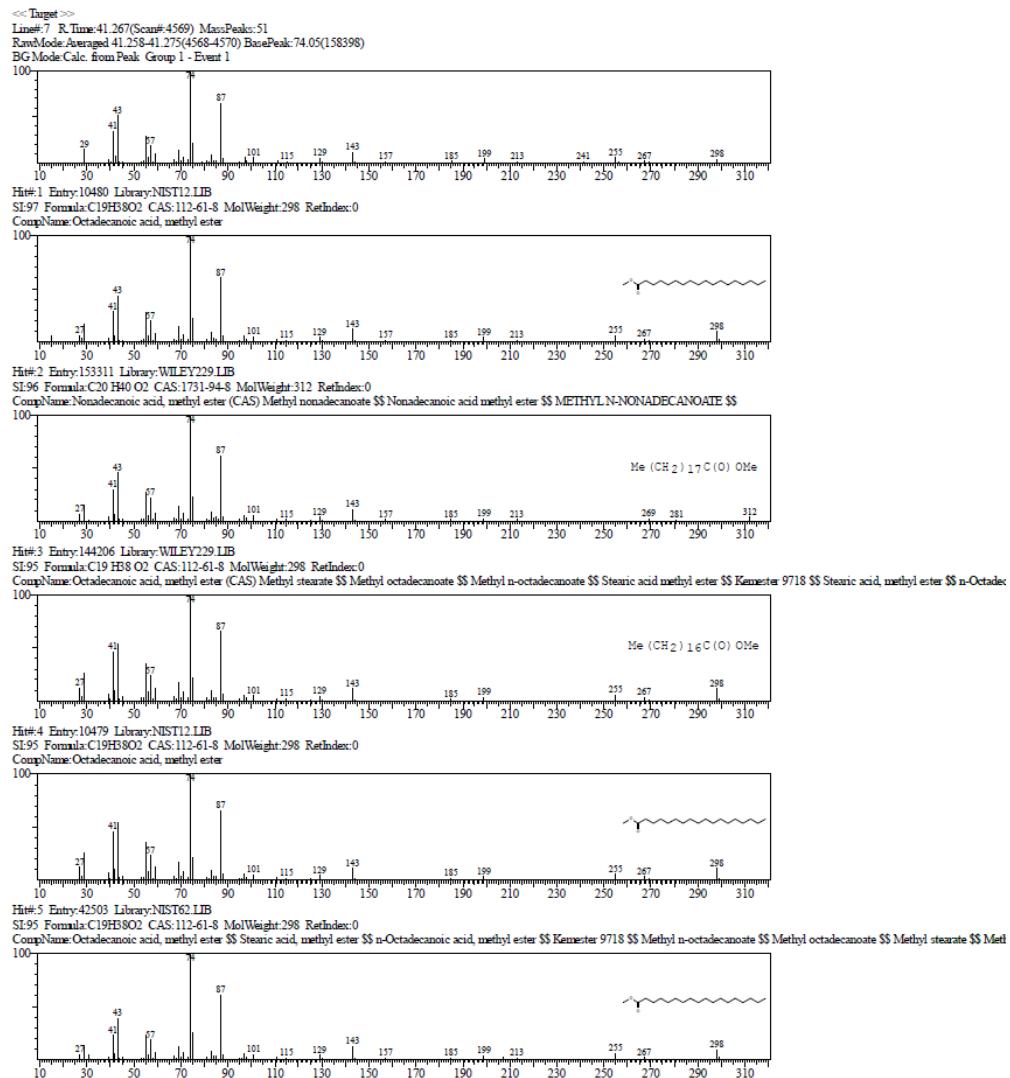












Lampiran 14. Prosedur uji kadar kolesterol total

DiaSys
Diagnostic Systems

Cholesterol FS*

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

Order Information

Kit No.	Kit size
1 1300 99 10 021	R 5 x 25 mL + 1 x 3 mL Standard
1 1300 99 10 026	R 6 x 100 mL
1 1300 99 10 703	R 1 x 100 mL
1 1300 99 10 704	R 8 x 50 mL
1 1300 99 10 717	R 6 x 100 mL
1 1300 99 10 917	R 10 x 60 mL
1 1300 99 10 192	R 4 x 60 mL
1 1300 99 10 193	R 12 x 25 mL
1 1300 99 10 952	6150 Tests on Advia 1650/1800 6 x 3 mL Standard
1 1300 99 10 030	

Summary [1,2]

Cholesterol is a component of cell membranes and a precursor for steroid hormones and bile acids synthesized by body cells and absorbed with food. Cholesterol is transported in plasma via lipoproteins, namely complexes between lipids and apolipoproteins. 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. 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 which for a better risk assessment it is necessary to measure additional HDL 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 quinonimine which is generated from 4-aminoantipyrine and phenol by hydrogen peroxide under the catalytic action of peroxidase (Trinder's reaction) [3].

Cholesterol ester + H₂O → Cholesterol + Fatty acid

Cholesterol + O₂ → Quinonimine + H₂O₂

2 H₂O₂ + 4-Aminoantipyrine + Phenol → Quinonimine + 4 H₂O

Reagents

Components and Concentrations

Reagent:	pH	Concentration
Good's buffer	6.7	50 mmol/L
Phenol		5 mmol/L
4-Aminoantipyrine		0.5 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. Standard is harmful R22: Harmful if swallowed. R43: May cause sensitisation by skin contact. S2: Keep out of the reach of children. S13: Keep away from food, drink and animal feedings. S24: Avoid contact with skin. S37: Wear suitable gloves. S46: If swallowed, seek medical advice immediately and show this container or label. S64: If swallowed, rinse mouth with water (only if the person is conscious).
3. Please refer to the safety data sheet and 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 [5]:

7 days	at	20 - 25 °C
7 days	at	4 - 8 °C
3 months	at	-20 °C

Discard contaminated specimens!

Cholesterol FS - Page 1

* fluid stable

Sample 2

Calculation

With standard or calibrator

commercially available test (x) using 95 samples gave following results:

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

To correct for free glycerol, subtract 10 mg/dL (0.11 mmol/L) from the triglycerides value calculated above.

Conversion factor

$$\text{Triglycerides [mg/dL]} \times 0.01126 = \text{Triglycerides [mmol/L]}$$

Calibrators and Controls

For the calibration of automated photometric systems the DiaSys TruCal U calibrator is recommended. The assigned values of TruCal U have been made traceable to the reference method gas chromatography-isotope dilution mass spectrometry (GC-IDMS). For internal quality control DiaSys TruLab N and P or TruLab L controls should be assayed. Each laboratory should establish corrective action in case of deviations in control recovery:

	Cat. No.	Kit size
TruCal U	5 9100 99 10 063 5 9100 99 10 064	20 x 3 mL 6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 061 5 9050 99 10 062	6 x 5 mL 20 x 5 mL
TruLab L Level 1	5 9020 99 10 065	6 x 5 mL
TruLab L Level 2	5 9030 99 10 065	3 x 3 mL

Performance Characteristics

Measuring range

The test has been developed to determine triglyceride concentrations within a measuring range from 1 - 1000 mg/dL (0.01 - 11.3 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 interferences were observed by ascorbic acid up to 3 mg/dL, conjugated bilirubin up to 30 mg/dL, by unconjugated bilirubin up to 9 mg/dL and hemoglobin up to 500 mg/dL. For further information on interfering substances refer to Young DS [5].

Sensitivity/Limit of Detection

The lower limit of detection is 2 mg/dL.

Precision (at 37 °C)

Intra-assay precision n = 20	Mean [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Sample 1	55.5	0.301	0.54
Sample 2	212	1.69	0.80
Sample 3	447	3.09	0.69

Inter-assay precision n = 20	Mean [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Sample 1	88.9	0.795	0.89
Sample 2	235	3.61	1.54

Method Comparison

A comparison of DiaSys Triglycerides FS (y) with a commercially available test (x) using 95 samples gave following results: $y = 0.969 x - 0.092$ mg/dL; $r = 0.9999$

Reference Range [2]

Desirable: < 200 mg/dL (fasting) (2.3 mmol/L)
 Borderline high: 200 - 400 mg/dL (2.3 - 4.5 mmol/L)
 Elevated: > 400 mg/dL (4.5 mmol/L)

Each laboratory should check if the reference ranges are transferable to its own patient population and determine own reference ranges if necessary.

Clinical Interpretation [3]

Epidemiological studies have observed that a combination of plasma triglycerides > 180 mg/dL (> 2.0 mmol/L) and HDL-cholesterol < 40 mg/dL (1.0 mmol/L) predict a high risk of CHD. Borderline levels (> 200 mg/dL) should always be regarded in association with other risk factors for CHD.

Literature

- Rifai N, Bachorik PS, Albers JJ. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis CA, Ashwood EH, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999. p. 809-61.
- Cole TG, Klotzsch SG, McNamara J. Measurement of triglyceride concentration. In: Rifai N, Warnick GR, Dominicak MH, eds. Handbook of Lipoprotein testing. Washington: AACC Press, 1997. p. 115-26.
- 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.
- Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 46-7.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.

Manufacturer

IVD **CE** DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Germany

Lampiran 15. Perhitungan dosis dan volume pemberian perlakuan dan induksi emulsi minyak babi kuning telur puyuh

A. Perhitungan dosis dan volume pemberian PGA 0,5%

$$\begin{aligned} \text{PGA } 0,5\% &= 0,5 \text{ gram}/100 \text{ ml} \\ &= 500 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 5 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

Dibuat larutan stok, dengan cara melarutkan PGA 0,5 dengan aqua dest sampai 100 ml.

$$1. \text{ Tikus dengan berat badan } 160 \text{ gram} = \frac{160 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 5 \text{ mg} = 4 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{4 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$$

$$2. \text{ Tikus dengan berat badan } 155 \text{ gram} = \frac{155 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 5 \text{ mg} = 3,88 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{3,88 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,7 \text{ ml}$$

$$3. \text{ Tikus dengan berat badan } 165 \text{ gram} = \frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 5 \text{ mg} = 4,12 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{4,12 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$$

$$4. \text{ Tikus dengan berat badan } 160 \text{ gram} = \frac{160 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 5 \text{ mg} = 4 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{4 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$$

$$5. \text{ Tikus dengan berat badan } 165 \text{ gram} = \frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 5 \text{ mg} = 4,13 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{4,13 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$$

B. Perhitungan dosis dan volume pemberian obat simvastatin

Untuk obat simvastatin 20 mg konversi dosis dari manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018

$$\text{Pemakaian untuk 1 hari} = 2 \times 20 \text{ mg} = 40 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis tikus} = 20 \text{ mg} \times 0,018 = 0,36 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus}$$

$$\text{Larutan stok } 0,036 \% = 0,036 \text{ gram}/100 \text{ ml}$$

$$= 36 \text{ mg}/100 \text{ ml}$$

$$= 0,36 \text{ mg/ ml}$$

Bobot tiap tablet yang berisi 20 mg simvastatin = $0,5995 = 0,1998$
 $\overline{3}$

$$\begin{aligned} \text{Pengambilan serbuk} &= \frac{\text{dosis tikus}}{\text{dosis simvastatin}} \times \text{bobot tablet} \\ &= \frac{0,36 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 0,1998 = 0,0035 \times 100 \text{ ml} = 0,35 \text{ g} \end{aligned}$$

Menggerus 2 tab simvastatin dan ditimbang sejumlah 0,35 kemudian dilarutkan dalam PGA 0,5 % sampai volume 100 ml dan selanjutnya digunakan sebagai larutan stok volume oral $= \frac{0,36 \text{ mg}}{0,36 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$

$$1. \text{ Tikus dengan berat badan 165 gram} = \frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,36 \text{ mg} = 0,3 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,3 \text{ mg}}{0,36 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,83 \text{ ml}$$

$$2. \text{ Tikus dengan berat badan 155 gram} = \frac{155 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,36 \text{ mg} = 0,3 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,3 \text{ mg}}{0,36 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,83 \text{ ml}$$

$$3. \text{ Tikus dengan berat badan 160 gram} = \frac{160 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,36 \text{ mg} = 0,3 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,3 \text{ mg}}{0,36 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,83 \text{ ml}$$

$$4. \text{ Tikus dengan berat badan 165 gram} = \frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,36 \text{ mg} = 0,3 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,3 \text{ mg}}{0,36 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,83 \text{ ml}$$

$$5. \text{ Tikus dengan berat badan 160 gram} = \frac{160 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,36 \text{ mg} = 0,3 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,3 \text{ mg}}{0,36 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,83 \text{ ml}$$

C. Perhitungan dosis dan volume pemberian minyak ikan

Dosis I = 0,8 ml

$$1. \text{ Tikus dengan berat badan 160 gram} = \frac{160 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,8 \text{ ml} = 0,64 \text{ ml}$$

$$2. \text{ Tikus dengan berat badan 160 gram} = \frac{160 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,8 \text{ ml} = 0,64 \text{ ml}$$

$$3. \text{ Tikus dengan berat badan 170 gram} = \frac{170 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,8 \text{ ml} = 0,68 \text{ ml}$$

4. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,8 \text{ ml} = 0,66 \text{ ml}$

5. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,8 \text{ ml} = 0,66 \text{ ml}$

Dosis II = 1,6 ml

1. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1,6 \text{ ml} = 1,32 \text{ ml}$

2. Tikus dengan berat badan 170 gram = $\frac{170 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1,6 \text{ ml} = 1,36 \text{ ml}$

3. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1,6 \text{ ml} = 1,32 \text{ ml}$

4. Tikus dengan berat badan 160 gram = $\frac{160 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1,6 \text{ ml} = 1,28 \text{ ml}$

5. Tikus dengan berat badan 170 gram = $\frac{170 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1,6 \text{ ml} = 1,36 \text{ ml}$

Dosis III = 3,2 ml

1. Tikus dengan berat badan 155 gram = $\frac{155 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 3,2 \text{ ml} = 2,48 \text{ ml}$

2. Tikus dengan berat badan 155 gram = $\frac{155 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 3,2 \text{ ml} = 2,48 \text{ ml}$

3. Tikus dengan berat badan 170 gram = $\frac{170 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 3,2 \text{ ml} = 2,72 \text{ ml}$

4. Tikus dengan berat badan 160 gram = $\frac{160 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 3,2 \text{ ml} = 2,56 \text{ ml}$

5. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 3,2 \text{ ml} = 2,64 \text{ ml}$

D. Pemberian dosis emulsi minyak babi dan kuning telur

Kelompok negatif

1. Tikus dengan berat badan 160 gram = $\frac{160 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1 \text{ ml} = 0.8 \text{ ml}$

2. Tikus dengan berat badan 155 gram = $\frac{155 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1 \text{ ml} = 0.7 \text{ ml}$

3. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1 \text{ ml} = 0.8 \text{ ml}$

4. Tikus dengan berat badan 160 gram = $\frac{160 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$
5. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$

Kelompok positif

1. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$
2. Tikus dengan berat badan 155 gram = $\frac{155 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.7 ml$
3. Tikus dengan berat badan 160 gram = $\frac{160 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$
4. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$
5. Tikus dengan berat badan 160 gram = $\frac{160 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$

Kelompok dosis I minyak ikan dosis 0.8 ml

1. Tikus dengan berat badan 160 gram = $\frac{160}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$
2. Tikus dengan berat badan 160 gram = $\frac{160}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$
3. Tikus dengan berat badan 170 gram = $\frac{170}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.9 ml$
4. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$
5. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$

Kelompok dosis II minyak ikan 1.6 ml

1. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$
2. Tikus dengan berat badan 170 gram = $\frac{170}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.9 ml$
3. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$
4. Tikus dengan berat badan 150 gram = $\frac{150}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.75 ml$
5. Tikus dengan berat badan 170 gram = $\frac{170}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.9 ml$

Kelompok dosis III minyak kan 3.2 ml

1. Tikus dengan berat badan 155 gram = $\frac{155}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$
2. Tikus dengan berat badan 155 gram = $\frac{155}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$

3. Tikus dengan berat badan 170 gram = $\frac{170}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.9 ml$
4. Tikus dengan berat badan 160 gram = $\frac{160}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$
5. Tikus dengan berat badan 165 gram = $\frac{165}{200 \text{ gram}} \times 1ml = 0.8 ml$

Lampiran 16. Volume pemberian secara oral

Kelompok	Tikus	BB (gram)	Volume pemberian (ml)
Kontrol Negatif (PGA 0,5 %)	1	160	0,8
	2	155	0,8
	3	165	0,8
	4	160	0,8
	5	165	0,8
Kontrol Positif (Simvastatin)	1	165	0,8
	2	155	0,8
	3	160	0,8
	4	165	0,8
	5	160	0,8
Dosis I	1	160	0,6
	2	160	0,6
	3	170	0,7
	4	165	0,7
	5	165	0,7
Dosis II	1	165	1,3
	2	170	1,4
	3	165	1,3
	4	160	1,3
	5	170	1,4
Dosis III	1	155	2,5
	2	155	2,5
	3	170	2,7
	4	160	2,7
	5	165	2,6

Lampiran 17. Hasil pengukuran kadar kolesterol total

Kelompok	No	Kadar trigliserida tikus (mg/dl)			<i>ΔT</i> Kenaikan	<i>ΔT</i> Penurunan
		Minggu 0	Minggu 14	Minggu 21		
Kelompok Normal	1.	75	76	72	1	4
	2.	77	73	77	-4	-4
	3.	88	92	91	3	1
	4.	75	76	75	1	1
	5.	86	87	89	1	-2
Rata-rata±SD		80,4±6,6	80,8± 8,2	80,8 ± 8,6	0,4±2,6	0±3
Kelompok Kontrol Negatif	1.	79	177	169	98	8
	2.	70	201	179	131	22
	3.	74	193	191	119	14
	4.	80	210	198	130	-6
	5.	79	195	201	123	-6
Rata-rata±SD		75±4,3	195,2±12,1	187,6±13, 4	120,3±13, 3	6,4±12,3
Kelompok Kontrol Positif	1.	65	191	153	126	24
	2.	80	214	167	134	47
	3.	76	201	158	125	43
	4.	77	187	150	110	37
	5.	79	164	133	85	31
Rata-rata±SD		75,4±6	191,4±18,5	152,2±12, 5	116±19,3	36,4±9,2
Kelompok Dosis I	1.	85	187	172	107	15
	2.	55	191	165	139	26
	3.	79	210	190	131	20
	4.	55	155	139	100	16
	5.	87	190	184	103	6
Rata-rata±SD		128,9± 15,1	186,6±19,8	170± 19,9	115,4±16, 8	16,6±7,3
Kelompok Dosis II	1.	72	185	167	113	18
	2.	77	201	172	124	29
	3.	60	170	157	110	13
	4.	76	200	183	124	17
	5.	65	198	163	133	83
Rata-rata±SD		70±7,3	190,8±13,2	168,4±9,8	120,8±9,3	19,2±9,2
Kelompok Dosis III	1.	64	189	150	125	39
	2.	87	191	162	104	29
	3.	67	178	156	111	22
	4.	67	201	172	134	29
	5.	82	213	198	131	15
Rata-rata±SD		73,4±10,3	194,4±13,2	167,6±18, 8	121±12,9	26,8±8,9

Lampiran 18. Hasil analisa data selisih peningkatan dan penurunan kadar kolesterol total dengan uji *Shapiro-wilk* dilanjutkan *One-way Anova*

Case Processing Summary

Kelompok		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Penurunankadarkolesteroltotal	Kontrol normal	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Kontrol negatif	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Kontrol positif	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Dosis 1	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Dosis 2	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Dosis 3	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
Peningkatankadarkolesteroltotal	Kontrol normal	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Kontrol negatif	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Kontrol positif	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Dosis 1	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Dosis 2	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Dosis 3	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Penurunan kadar kolesterol total	Kontrol normal	.227	5	.200 [*]	.960	5	.811
	Kontrol negatif	.242	5	.200 [*]	.899	5	.403
	Kontrol positif	.163	5	.200 [*]	.975	5	.905
	Dosis 1	.214	5	.200 [*]	.977	5	.918
	Dosis 2	.284	5	.200 [*]	.905	5	.437
	Dosis 3	.203	5	.200 [*]	.970	5	.876
Peningkatan kadar kolesterol total	Kontrol normal	.391	5	.012	.796	5	.075
	Kontrol negatif	.264	5	.200 [*]	.846	5	.182
	Kontrol positif	.279	5	.200 [*]	.884	5	.326
	Dosis 1	.291	5	.191	.834	5	.149
	Dosis 2	.234	5	.200 [*]	.928	5	.584
	Dosis 3	.221	5	.200 [*]	.910	5	.468

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Penurunankadarkolesteroltotal	Based on Mean	1.745	5	24	.163
	Based on Median	.989	5	24	.445
	Based on Median and with adjusted df	.989	5	19.25 8	.450
	Based on trimmed mean	1.751	5	24	.161
Peningkatankadarkolesteroltotal	Based on Mean	3.030	5	24	.029
	Based on Median	.890	5	24	.503
	Based on Median and with adjusted df	.890	5	14.28 7	.513
	Based on trimmed mean	2.847	5	24	.037

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Peningkatan kadarkoleste roltotal	Kontrol normal	5	.40	2.608	1.166	-2.84	3.64	-4	3
	Kontrol negatif	5	120.20	13.368	5.978	103.60	136.80	98	131
	Kontrol positif	5	116.00	19.378	8.666	91.94	140.06	85	134
	Dosis 1	5	115.40	16.802	7.514	94.54	136.26	100	136
	Dosis 2	5	120.80	9.311	4.164	109.24	132.36	110	133
	Dosis 3	5	121.00	12.981	5.805	104.88	137.12	104	134
	Total	30	98.97	46.549	8.499	81.59	116.35	-4	136
Penurunank darkolesterol total	Kontrol normal	5	.00	3.082	1.378	-3.83	3.83	-4	4
	Kontrol negatif	5	6.40	12.361	5.528	-8.95	21.75	-6	22
	Kontrol positif	5	36.40	9.209	4.118	24.97	47.83	24	47
	Dosis 1	5	16.60	7.335	3.280	7.49	25.71	6	26
	Dosis 2	5	22.40	9.209	4.118	10.97	33.83	13	35
	Dosis 3	5	26.80	8.955	4.005	15.68	37.92	15	39
	Total	30	18.10	14.789	2.700	12.58	23.62	-6	47

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Peningkatan kandarkol esteroltotal	Kontrol normal	Kontrol negatif	-119.800 [*]	8.558	.000	-146.26	-93.34
		Kontrol positif	-115.600 [*]	8.558	.000	-142.06	-89.14
		Dosis 1	-115.000 [*]	8.558	.000	-141.46	-88.54
		Dosis 2	-120.400 [*]	8.558	.000	-146.86	-93.94
		Dosis 3	-120.600 [*]	8.558	.000	-147.06	-94.14
		Kontrol negatif	119.800 [*]	8.558	.000	93.34	146.26
	Kontrol negatif	Kontrol normal	4.200	8.558	.996	-22.26	30.66
		Kontrol positif	4.800	8.558	.993	-21.66	31.26
		Dosis 1	-.600	8.558	1.000	-27.06	25.86
		Dosis 2	-.800	8.558	1.000	-27.26	25.66
		Dosis 3	-.600	8.558	1.000	-27.06	25.66
	Kontrol positif	Kontrol normal	115.600 [*]	8.558	.000	89.14	142.06
		Kontrol negatif	-4.200	8.558	.996	-30.66	22.26
		Dosis 1	-.600	8.558	1.000	-25.86	27.06
		Dosis 2	-4.800	8.558	.993	-31.26	21.66
		Dosis 3	-5.000	8.558	.991	-31.46	21.46
	Dosis 1	Kontrol normal	115.000 [*]	8.558	.000	88.54	141.46
		Kontrol negatif	-4.800	8.558	.993	-31.26	21.66
		Kontrol positif	-.600	8.558	1.000	-27.06	25.86
		Dosis 2	-5.400	8.558	.987	-31.86	21.06
		Dosis 3	-5.600	8.558	.985	-32.06	20.86
	Dosis 2	Kontrol normal	120.400 [*]	8.558	.000	93.94	146.86
		Kontrol negatif	.600	8.558	1.000	-25.86	27.06
		Kontrol positif	4.800	8.558	.993	-21.66	31.26
		Dosis 1	5.400	8.558	.987	-21.06	31.86
		Dosis 3	-.200	8.558	1.000	-26.66	26.26
	Dosis 3	Kontrol normal	120.600 [*]	8.558	.000	94.14	147.06
		Kontrol negatif	.800	8.558	1.000	-25.66	27.26
		Kontrol positif	5.000	8.558	.991	-21.46	31.46
		Dosis 1	5.600	8.558	.985	-20.86	32.06
		Dosis 2	-.200	8.558	1.000	-26.26	26.66
Penurunan kandarkoles teroltotal	Kontrol normal	Kontrol negatif	-6.400	5.573	.856	-23.63	10.83
		Kontrol positif	-36.400 [*]	5.573	.000	-53.63	-19.17
		Dosis 1	-16.600	5.573	.064	-33.83	.63
		Dosis 2	-22.400 [*]	5.573	.006	-39.63	-5.17
		Dosis 3	-26.800 [*]	5.573	.001	-44.03	-9.57

Kontrol negatif	Kontrol normal	6.400	5.573	.856	-10.83	23.63
	Kontrol positif	-30.000*	5.573	.000	-47.23	-12.77
	Dosis 1	-10.200	5.573	.466	-27.43	7.03
	Dosis 2	-16.000	5.573	.080	-33.23	1.23
	Dosis 3	-20.400*	5.573	.014	-37.63	-3.17
Kontrol positif	Kontrol normal	36.400*	5.573	.000	19.17	53.63
	Kontrol negatif	30.000*	5.573	.000	12.77	47.23
	Dosis 1	19.800*	5.573	.018	2.57	37.03
	Dosis 2	14.000	5.573	.160	-3.23	31.23
	Dosis 3	9.600	5.573	.531	-7.63	26.83
Dosis 1	Kontrol normal	16.600	5.573	.064	-.63	33.83
	Kontrol negatif	10.200	5.573	.466	-7.03	27.43
	Kontrol positif	-19.800*	5.573	.018	-37.03	-2.57
	Dosis 2	-5.800	5.573	.899	-23.03	11.43
	Dosis 3	-10.200	5.573	.466	-27.43	7.03
Dosis 2	Kontrol normal	22.400*	5.573	.006	5.17	39.63
	Kontrol negatif	16.000	5.573	.080	-1.23	33.23
	Kontrol positif	-14.000	5.573	.160	-31.23	3.23
	Dosis 1	5.800	5.573	.899	-11.43	23.03
	Dosis 3	-4.400	5.573	.967	-21.63	12.83
Dosis 3	Kontrol normal	26.800*	5.573	.001	9.57	44.03
	Kontrol negatif	20.400*	5.573	.014	3.17	37.63
	Kontrol positif	-9.600	5.573	.531	-26.83	7.63
	Dosis 1	10.200	5.573	.466	-7.03	27.43
	Dosis 2	4.400	5.573	.967	-12.83	21.63

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

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Peningkatankadarkolesteroltotal	3.030	5	24	.029
Penurunankadarkolesteroltotal	1.745	5	24	.163

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Peningkatan kadarkolesteroltotal	Between Groups	58442.967	5	11688.593	63.843	.000
	Within Groups	4394.000	24	183.083		
	Total	62836.967	29			
Penurunan kadarkolesteroltotal	Between Groups	4479.100	5	895.820	11.537	.000
	Within Groups	1863.600	24	77.650		
	Total	6342.700	29			

PeningkatankadarkolesteroltotalTukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol normal	5	.40	
Dosis 1	5		115.40
Kontrol positif	5		116.00
Kontrol negatif	5		120.20
Dosis 2	5		120.80
Dosis 3	5		121.00
Sig.		1.000	.985

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Penurunankadarkolesteroltotal

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol normal	5	.00			
Kontrol negatif	5	6.40	6.40		
Dosis 1	5	16.60	16.60	16.60	
Dosis 2	5		22.40	22.40	22.40
Dosis 3	5			26.80	26.80
Kontrol positif	5				36.40
Sig.		.064	.080	.466	.160

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

