

**AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SARANG SEMUT (*Hydnophytum formicarum* Jack)
TERHADAP PENURUNAN KADAR KOLESTEROL TOTAL DAN LEMAK
ABDOMINAL PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR**



**Oleh:
ING JANURABES KASE
17113324A**

**FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI S1 FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

**AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SARANG SEMUT (*Hydnophytum formicarum* Jack)
TERHADAP PENURUNAN KADAR KOLESTEROL TOTAL DAN LEMAK
ABDOMINAL PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR**



Oleh:

**ING JANURABES KASE
17113324A**

**FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI S1 FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SARANG SEMUT (*Hydnophytum formicarum* Jack) TERHADAP PENURUNAN KADAR KOLESTEROL TOTAL DAN LEMAK ABDOMINAL PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR

Oleh:

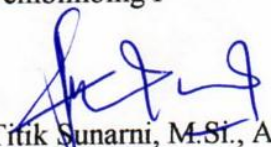
Ing Janurabes Kase
17113324A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 04 Januari 2016

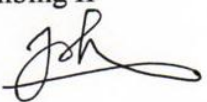
Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan

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

Pembimbing I


Titik Sunarni, M.Si., Apt.

Pembimbing II


Jamilah Sarimanah, S.Si., M.Si., Apt.

Penguji:

1. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.
2. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt.
3. Jamilah Sarimanah, S.Si., M.Si., Apt.
4. Titik Sunarni, M. Si., Apt.


1.

2.

3.

4.

PERSEMBAHANKU

*“Mintalah, maka akan diberikan kepadamu, carilah maka kamu akan mendapat, ketuklah maka pintu akan dibukakan bagimu.
(Matius 7:7)*

“Janganlah hendaknya kamu kuatir tentang apapun juga, tetapi nyatakanlah dalam segala hal keinginanmu kepada Allah dalam doa dan permohonan dengan ucapan syukur”

(Filipi 4 : 6)

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

- Tuhan Yesus yang selalu memberikan saya berkat dan kekuatan dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
- Kedua orang tua saya bapak Imanuel Kase dan ibu Hulda Ana Mariana Manu
- Untuk ba'I tercinta Ba'I Manu (Alm) dan nenek Manu
- Untuk adik tersayang Lhie kase, Wherent Kase, Rhyo Kase, dan Che jerahi
- Untuk pacar yang selalu setia menemani dan selalu jadi penyemangat Nofriana Lemba Mbaya
- Untuk teman-teman seperjuangan, (evy bere, ona klau, gita mauk, cian gatung, Bana JN, faldy angkat, Riko MC, Alunk Budi, ka Rilex (musisi), ka Rino kaka, ka Engki, Nya Igo slankers, Nya efren dede, Chercik, Russell cules, Santus CR, Anoh Ninu dan fendy leste)
- Untuk seluruh teman-teman angkatan 2011, semoga kita tidak saling melupakan.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar sarjana farmasi di suatu Perguruan Tinggi dan menurut pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan dapat 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, 04 Januari 2016



Ing Janurabes Kase

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan YME atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul: **AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SARANG SEMUT (*Hydnophytum formicarum* Jack) TERHADAP PENURUNAN KADAR KOLESTEROL TOTAL DAN LEMAK ABDOMINAL PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR**, penyusunan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat memperoleh sarjana farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat bimbingan, petunjuk dan saran-saran yang berguna dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA. selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Titik Sunarni, M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Jamilah Sarimanah, S.Si., M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan nasehat, saran, bimbingan dan kesabaran yang tiada henti kepada penulis selama penelitian berlangsung.
4. Segenap karyawan Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta yang banyak membantu kelancaran dalam pelaksanaan skripsi ini.
5. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Terima kasih untuk kerjasama dan dukungannya selama ini.

Semoga Tuhan melimpahkan rahmat dan karunia-Nya atas segala keikhlasan bantuan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membutuhkan segala kritik dan saran yang bersifat membangun untuk kesempurnaan skripsi ini.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis, pembaca dan perkembangan ilmu farmasi dan pengobatan.

Surakarta, 04 Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERSEMBAHANKU	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tanaman Sarang Semut.....	6
1. Sistematika Tanaman	6
2. Morfologi.....	6
3. Habitat	7
4. Kegunaan.....	8
5. Kandungan kimia	9
5.1. Flavonoid.....	9
5.2. Tanin.....	9
5.3. Polifenol	10
B. Metode Penyarian	10
1. Simplisia.....	10
2. Ekstraksi	11
3. Maserasi.....	11
4. Pelarut.....	12
C. Kolesterol Total.....	13
1. Pengertian kolesterol	13
2. Metabolisme kolesterol	14
3. Hiperkolesterolemia	15

4. Simvastatin	15
D. Lemak Abdominal	17
1. Definisi	17
2. Jenis lemak pada tubuh.....	18
2.1. Lemak <i>visceral</i> (lemak abdominal).....	18
2.2. Lemak subkutan	18
E. Hewan Uji.....	19
1. Sistematika tikus putih	19
2. Karakteristik utama tikus putih	19
3. Biologi tikus	20
F. Landasan Teori	20
G. Hipotesis	22
BAB III METODE PENELITIAN.....	23
A. Populasi dan Sampel.....	23
1. Populasi	23
2. Sampel	23
B. Variabel Penelitian	23
1. Identifikasi variabel utama	23
2. Klasifikasi variabel utama	24
3. Definisi operasional variabel utama	24
C. Bahan dan Alat	25
1. Bahan.....	25
2. Alat	26
D. Jalannya Penelitian	26
1. Determinasi tanaman	26
2. Pengeringan daun sarang semut	26
3. Penetapan susut pengeringan.....	27
4. Pembuatan ekstrak etanolik daun sarang semut	27
5. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk daun sarang semut (<i>Hydnophytum formicarum</i> Jack.)	28
5.1 Identifikasi reaksi warna dalam tabung reaksi	28
5.1.1. Identifikasi flavonoid	28
5.1.2. Identifikasi tanin.....	29
5.1.3. Identifikasi Polifenol	29
6. Pembuatan larutan CMC 0,5%	29
7. Pembuatan pakan diet lemak tinggi.....	29
8. Penetapan dosis	30
9. Penanganan hewan uji	30
10. Pengelompokkan hewan uji.....	31
11. Cara penetapan kadar kolesterol total dan lemak abdominal	32
11.1. Pengukuran kadar kolesterol	32
11.2. Pengukuran kadar lemak abdominal	33
E. Analisa Hasil	34

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	36
A. Hasil Determinasi Tanaman Sarang Semut	36
B. Persiapan Bahan, Pengeringan dan Pembuatan Serbuk	36
C. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Sarang Semut	38
D. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun Sarang Semut	38
E. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Sarang Semut ...	39
F. Penetapan Dosis.....	40
G. Hasil Pengujian Penurunan Kadar Kolesterol Total.....	41
H. Hasil Penimbangan Lemak Abdominal Setelah Perlakuan	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
A. Kesimpulan.....	47
B. Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Biosintesis kolesterol	16
2. Skema pembuatan ekstrak etanolik daun sarang semut	28
3. Skema uji peningkatan kadar kolesterol total dan penimbangan berat lemak abdominal tikus putih jantan.	34
4. Grafik rata-rata kadar kolesterol	42
5. Grafik penimbangan lemak abdominal tiap ekor tikus setelah perlakuan ...	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Rendemen pengeringan daun sarang semut	37
2. Hasil penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun sarang semut	38
3. Hasil rendemen ekstrak etanolik daun sarang semut	39
4. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun sarang semut	40
5. Hasil identifikasi ekstrak kromatografi lapis tipis	40
6. Variasi dosis ekstrak etanolik daun sarang semut.....	41
7. Rata-rata kadar kolesterol total darah tikus (mg/dl).....	41
8. Hasil analisa perubahan kadar kolesterol pada hari ke-0 sampai hari ke-21 pada berbagai kelompok perlakuan hewan uji dengan menggunakan <i>Post Hoc Test</i>	44
9. Hasil rata-rata penimbangan berat lemak abdominal.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil determinasi tanaman	52
2. Surat keterangan hewan uji	53
3. Foto tanaman daun sarang semut dan serbuk daun sarang semut.....	54
4. Foto bejana maserasi dan hasil ekstrak daun sarang semut	55
5. Identifikasi serbuk dan ekstrak daun sarang semut.....	56
6. Foto tikus putih dan pengambilan darah serta pemberian sediaan.....	57
7. Foto alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian	58
8. Identifikasi senyawa secara Kromatografi Lapis Tipis	60
9. Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah	63
10. Hasil penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun sarang semut	64
11. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun sarang semut	65
12. Perhitungan dosis, pembuatan larutan stok simvastatin.....	66
13. Perhitungan dosis, pembuatan larutan stok dan penetapan volume pemberian ekstrak	68
14. Hasil pengukuran kadar kolesterol total serum darah tikus	70
15. Hasil penimbangan berat lemak abdominal tiap ekor tikus setelah perlakuan.....	71
16. Lemak abdominal pada tikus	72
17. Hasil uji normalitas kadar kolesterol total (Kolmogorov-Smirnov Test)	73
18. Hasil uji penimbangan berat lemak abdominal setelah perlakuan menggunakan <i>one-way</i> ANOVA	80
19. Prosedur kerja pengujian kolesterol total.....	82

INTISARI

KASE, IJ., 2015, AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SARANG SEMUT (*Hydnophytum formicarum* Jack) TERHADAP PENURUNAN KADAR KOLESTEROL TOTAL DAN LEMAK ABDOMINAL PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Hasil penelitian ini pada variasi ketiga dosis ekstrak etanolik daun sarang semut pada hari ke 21, dosis 72 mg/200 g BB lebih efektif menurunkan kadar kolesterol total dan lemak abdominal, sebab dosis 72 mg/200 g BB tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif.

Kelebihan lemak dapat mengakibatkan terjadinya hiperkolesterolemia dan hiperlipidemia. Hiperlipidemia adalah keadaan dimana terjadi peningkatan kadar semua fraksi lipid dalam plasma terutama trigliserida dan kolesterol. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat untuk menurunkan kolesterol total dan lemak abdominal yaitu tanaman sarang semut (*Hydnophytum formicarum*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total dan kadar lemak abdominal pada tikus yang diberi diet lemak tinggi.

Tikus tersebut dibagi secara acak ke dalam 6 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Pengukuran kadar kolesterol dilakukan pada hari ke 0, 14 dan 21. Untuk mengetahui kondisi hiperkolesterolemia dilakukan dengan pemberian lemak babi dan kuning telur puyuh selama 14 hari. Dosis ekstrak etanol daun sarang semut yang diberikan pada tikus adalah dosis 18 mg/200 g BB, 36 mg/200 g BB dan 72 mg/200 g BB. Sediaan uji diberikan selama 7 hari. Data yang diperoleh dianalisa dengan uji statistik.

Kata kunci: Daun sarang semut, kadar kolesterol total, lemak abdominal.

ABSTRACT

KASE, IJ., 2015, THE ACTIVITY OF SARANG SEMUT (*Hydnophytum formicarum* Jack) LEAVES ETHANOL EXTRACT ON TOTAL CHOLESTEROL AND ABDOMINAL FAT LEVEL DECREASE IN WISTAR-STRAIN MALE WHITE MICE, THESIS, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

From the three varying doses of *sarang semut* leave ethanol extract on the day-21, it could be found that dose 72 mg/200 g BW lowered total cholesterol and abdominal fat levels more effectively because there was no significant difference of this dose from positive control.

Fat excess can result in hypercholesterolemia and hyperlipidemia. Hyperlipidemia is a condition where the level of all plasma lipid fractions, particularly triglyceride and cholesterol, increases. One of plant usable as an agent to lower total cholesterol and abdominal fat levels is *sarang semut* (*Hydnophytum formicarum* Jack) plant. This research aimed to find out the effective dose in lowering total cholesterol level and abdominal fat level in the mice given high-fat diet.

The mice were allocated randomly into 6 groups, each of which consisted of 5 mice. The measurement of cholesterol level was conducted on the days-0, -14, and -21. To find out the hypercholesterolemia condition, swine fat and quail yolk were administered for 14 days. The doses of *sarang semut* ethanol extract given to the rat were 18 mg/200 g BW, 36 mg/200 g BW, and 72 mg/200 g BW. The tested preparation was given for 7 days. The data obtained was analyzed using statistic test.

Keywords: *Sarang Semut* leaves, total cholesterol level, abdominal fat.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Salah satu dampak negatif perkembangan zaman yang begitu pesat saat ini adalah adanya pergeseran pola makan, dari pola makan yang seimbang dan alami menjadi pola makan yang monoton dan serba *instan*, sehingga kecenderungan untuk mengkonsumsi makanan berlemak tinggi secara berlebihan semakin meningkat. Ditambah lagi dengan tingkat stres yang tinggi dan gaya hidup yang salah, seperti kebiasaan merokok, akan mengakibatkan timbulnya gangguan metabolisme lemak (Goodman & Gillman 2007).

Fungsi utama lemak adalah sebagai zat energi. Lemak disimpan di dalam tubuh dalam bentuk kolesterol. Kelebihan jumlah lemak tubuh umumnya akan disimpan di jaringan adiposa di bagian bawah kulit atau rongga perut. Lemak yang terdapat pada rongga perut dinamakan lemak abdominal.

Kelebihan jumlah lemak dapat mengakibatkan terjadinya hiperkolesterolemia dan hiperlipidemia (tingginya kadar lemak dalam darah). Hiperlipidemia adalah keadaan dimana terjadi peningkatan kadar semua fraksi lipid dalam plasma terutama trigliserida (TG) dan kolesterol (Istiadi & Sunarsih 2010).

Proporsi kolesterol abnormal penduduk Indonesia umur ≥ 15 tahun berdasarkan karakteristik jenis kelamin pada laki-laki 30,0% dan perempuan 39,6%, berdasarkan karakteristik tempat tinggal di perkotaan 39,5% dan di

pedesaan 32,1% sehingga diperoleh rata-rata proporsi kolesterol abnormal di Indonesia sebesar 35,9% (Riskesdas 2013).

Pengaturan metabolisme kolesterol akan berjalan normal apabila jumlah kolesterol dalam darah mencukupi kebutuhan dan tidak melebihi jumlah normal yang dibutuhkan. Kolesterol merupakan zat yang sangat diperlukan oleh tubuh dalam batas-batas tertentu untuk kelangsungan hidup sel-sel tubuh. Secara normal, kolesterol diproduksi oleh tubuh dalam jumlah yang tepat.

Ada banyak usaha yang dapat dilakukan untuk menurunkan kadar kolesterol yang tinggi dalam darah yaitu dengan diet, olahraga maupun dengan obat-obatan. Namun, harga obat yang mahal menyebabkan tidak semua orang dapat menjangkaunya. Pemakaian obat juga tidak dapat dihindari dari efek samping, sehingga pengobatan dengan ramuan tradisional merupakan jalan terbaik karena tidak mempunyai efek samping dan harganya relatif lebih murah (Dalimartha 2010).

Salah satu tanaman yang digunakan secara tradisional sebagai obat untuk menurunkan kolesterol total dan lemak abdominal yaitu tanaman sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) karena dalam uji kandungan kimia dari tumbuhan sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack.) menunjukkan bahwa tumbuhan ini mengandung senyawa fenolik seperti flavonoid terutama isoliquiritigenin, protocatechualdehyde dan butein (Prachayasittikul *et al.* 2008). Selain flavonoid, zat yang berkhasiat dalam sarang semut adalah tanin dan polifenol (As'adi, 2011).

Penggunaan *Hydnophytum formicarum* sebagai obat diperoleh dari pengalaman empiris beberapa penduduk lokal di Papua dan sebagian di daerah

Indonesia Timur. Umumnya bagian yang digunakan sebagai obat adalah hipokotil (umbi) dengan cara meminum air rebusannya. Kemampuan tanaman sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) mengandung senyawa aktif diantaranya saponin, polifenol, alkaloid, tanin dan flavonoid (Soeksmanto *et al.* 2010). Beberapa penelitian mengenai flavonoid menyatakan bahwa aktivitas hipolipidemik dan antioksidan memiliki aktivitas dalam menghambat terjadinya aterosklerosis pada pembuluh darah melalui berbagai mekanisme. Flavonoid membantu pengeluaran kolesterol dari jaringan perifer menuju hepar untuk selanjutnya dikeluarkan melalui ekskresi biliar (Sundari 2012).

Flavonoid yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan bila dikonsumsi secara rutin dapat melindungi tubuh dari penyakit kardiovaskuler dan beberapa penyakit kronis lain. Ternyata flavonoid mampu memperbaiki fungsi endotel pembuluh darah, dapat mengurangi kepekaan LDL terhadap pengaruh radikal bebas dan dapat bersifat hipolipidemik, antiinflamasi serta sebagai antioksidan yang baik (Jawi & Budiasa 2011).

Kerja flavonoid menghambat perkembangan penyakit kardiovaskuler mirip estrogen yaitu sebagai kardioprotektif. Kerjanya melalui mekanisme perbaikan profil lipid, yaitu menurunkan kolesterol total, LDL, dan trigliserida serta meningkatkan HDL, pada orang-orang dengan kadar kolesterol tinggi (Winarsi, 2005). Flavonoid sendiri dalam peranannya untuk mempengaruhi sekresi leptin, berpotensi sebagai inhibitor dari proses diferensiasi sel-sel lemak di dalam tubuh, sehingga maturasi pembentukan lemak (adipogenesis) menjadi terhambat.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi karena keuntungan dari penyarian ini adalah cara pengerjaannya dan peralatan yang digunakan mudah didapatkan. Cairan penyari yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol 70%, karena dapat melarutkan saponin dan flavonoid yang merupakan zat yang terkandung dalam tumbuhan sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack) yang memiliki khasiat sebagai antihiperkolesterolemia. Keuntungan dari pelarut etanol 70% yaitu tidak toksik, tidak ditumbuhi mikroba, mudah diuapkan serta sifatnya yang mengendapkan bahan putih telur (Robinson 1995).

Atas dasar alasan tersebut, maka peneliti mencoba meneliti apakah pemberian daun sarang semut benar-benar berpengaruh pada penurunan kadar kolesterol total dan kadar lemak abdominal, dengan menggunakan tikus putih jantan galur wistar sebagai hewan percobaan. Peneliti lebih menekankan pada pengaruh flavonoid dalam daun sarang semut sebagai pendugaan sementara, karena flavonoid tersebut dalam beberapa studi literatur telah jelas berperan dalam penurunan kadar kolesterol total dan lemak abdominal.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

Pertama, bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak etanolik daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack) terhadap kadar kolesterol total dan lemak abdominal tikus putih jantan galur wistar yang mendapat diet kuning telur puyuh dan lemak babi ?

Kedua, berapakah dosis ekstrak etanolik daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack) yang paling efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total dan kadar lemak abdominal dari variasi dosis yang diberikan pada tikus putih jantan galur wistar setelah diberi diet kuning telur puyuh dan lemak babi ?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, pemberian ekstrak etanolik daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack) bertujuan untuk mengetahui penurunan kadar kolesterol total dan lemak abdominal terhadap tikus putih jantan yang mendapat diet kuning telur puyuh dan lemak babi.

Kedua, pemberian ekstrak etanolik daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack) bertujuan untuk mengetahui dosis efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total dan kadar lemak abdominal pada serum darah tikus putih jantan yang mendapat diet kuning telur puyuh dan lemak babi.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat memberikan tambahan ilmu pengetahuan dalam bidang obat tradisional tumbuhan asli Indonesia, yang saat ini masih berdasarkan data empiris, dengan menambah data klinis khususnya yang berkhasiat sebagai antihiperkolesterolemia dan lemak abdominal dari daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sarang Semut

1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi dan sistematika tanaman sarang semut menurut Plantamor (2011) adalah sebagai berikut :

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Rubiales
Family	: Rubiaceae
Genus	: <i>Hydnophytum</i>
Spesies	: <i>Hydnophytum formicarum</i> Jack.

2. Morfologi

Umbi pada tumbuhan sarang semut umumnya berbentuk bulat saat muda, kemudian menjadi lonjong memendek atau memanjang setelah tua. Umbinya hampir selalu berduri. Umbi tersebut memiliki suatu sistem jaringan lubang-lubang yang bentuk serta interkoneksi dari lubang-lubang tersebut sangat khas, sehingga sering digunakan untuk mengembangkan sistem klasifikasi dari tumbuhan ini.

Tumbuhan sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) merupakan anggota keluarga Rubiaceae dengan 5 genus yang secara epifit pada tumbuhan lain yang

berbatang kokoh seperti kayu putih, cemara, kaha dan pohon *beech* (Subroto & Saputro 2008). Tumbuhan sarang semut biasanya memiliki satu atau beberapa cabang. Batangnya memang jarang ada yang bercabang. Bahkan, pada beberapa spesies tidak bercabang sama sekali. Batangnya tebal dan internodalnya sangat dekat, kecuali pada pangkal sarang semut dari beberapa spesies.

Daun sarang semut sangatlah tebal seperti kulit. Pada beberapa spesies, memiliki daun yang sempit dan panjang. Penumpu besar, persisten, terbelah dan berlawanan dengan tangkai daun (petiol), serta membentuk “telinga” pada kliepeli. Kadang-kadang, daun terus berkembang menjadi sayap di sekitar bagian atas kliepulus.

Pembungaan dimulai sejak terbentuknya beberapa ruas (intermodal) dan ada pada tiap nodus (buku). Dua bagian pada setiap bunga berkembang pada suatu kantong udara (alveolus) yang berbeda. Alveoli tersebut mungkin ukurannya tidak sama dan terletak pada tempat yang berbeda pada batang. Kuntum bunga muncul pada dasar alveoli. Setiap bunga berlawanan dengan brakteola. Bunga dari sarang semut jarang yang *kleistogamus* (menyerbuk tidak terbuka), namun kadang-kadang *heterostilus*. Kelopak bunga biasanya terpotong. Polen adalah 1-,2-,3-, porat (kolporat) dan sering 1,2,3 vesikel sitoplasma yang besar. Buah berkembang dalam alveolus dan akan menonjol keluar setelah masak.

3. Habitat

Menurut Subroto dan Saputro (2008), sarang semut merupakan tumbuhan dari Famili Hydnophytinae (Rubiaceae) yang berasosiasi dengan semut. Tumbuhan ini bersifat epifit, artinya menempel pada tumbuhan lain, tidak hidup

secara parasit pada inangnya tetapi hanya memanfaatkan untuk menempel. Batang bagian bawahnya menggelembung berisi rongga-rongga yang disediakan sebagai sarang semut jenis tertentu.

Ukuran sarang semut juga beragam, tergantung pada varian spesiesnya. Biasanya bagian umbi sarang semut mengalami proses menggelembung sejalan dengan penambahan usia tanaman. Daunnya juga beragam, ada yang membulat lonjong, ada yang memanjang, namun rata-rata umbinya melonjong dengan tebaran duri bersusun pada pola tertentu di bagian luarnya.

4. Kegunaan

Secara empiris, rebusan sarang semut dapat menyembuhkan beragam penyakit ringan dan berat, seperti kanker dan tumor, asam urat, jantung koroner, wasir, tuberkulosis, migrain, rematik dan leukemia. Analisis kimia dari sarang semut menunjukkan bahwa tumbuhan sarang semut terutama mengandung senyawa-senyawa kimia dari golongan flavonoid, tanin, tokoferol, multimineral dan polisakarida. Berbagai penelitian tentang sarang semut menyebutkan bahwa, sarang semut memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, sehingga memiliki aktivitas antikanker yang efektif dan mampu menyembuhkan beberapa penyakit maut lainnya (Roslizawaty *et al.* 2013).

Selain itu, hasil analisis penghambatan aktivitas enzim santin oksidase oleh ekstrak sarang semut menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan sarang semut dapat menghambat aktivitas enzim santin oksidase. Aktivitas tersebut setara dengan allopurinol, obat komersial yang digunakan untuk pengobatan asam urat atau *gout* (salah satu jenis penyakit rematik). Namun, bila dampak negatif dari

allopurinol bisa meningkatkan kadar kreatin hingga merusak ginjal, maka sarang semut selain menurunkan asam urat juga akan memperbaiki fungsi ginjal (Syahnur 2011).

Pada penelitian-penelitian *in vitro* sebelumnya diketahui, bahwa tanaman sarang semut memiliki efek menghambat ekspresi p53 mutan dari sel kanker payudara T47D serta mempunyai aktifitas antiproliferasi terhadap kanker serviks, kanker paru, kanker usus, sebagai antibiotik, antivirus untuk virus HIV dan herpes (Wulansari *et al.* 2010).

5. Kandungan kimia

Uji kandungan kimia dari tumbuhan sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack.) menunjukkan bahwa tumbuhan ini mengandung senyawa fenolik seperti flavonoid terutama isoliquiritigenin, protocatechualdehyde dan butein (Prachayasittikul *et al.* 2008). Selain flavonoid, zat yang berkhasiat dalam sarang semut Tanin dan polifenol (As'adi, 2011)

5.1. Flavonoid. Senyawa flavonoid adalah senyawa yang mempunyai struktur C6-C3-C6. Yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida (Harborne, 1987). Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid untuk beberapa tumbuhan yang mengandungnya ialah pengatur tumbuh, pengatur fotosintesa, kerja antimikroba dan antivirus (Robinson,1995).

5.2. Tanin. Tanin merupakan salah satu jenis senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol. Senyawa tanin ini banyak dijumpai pada tumbuhan. Tanin dapat mengikat alkaloid dan glatin. Tanin secara umum didefinisikan

sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Berdasarkan strukturnya, tanin dibedakan menjadi dua kelas yaitu menjadi tanin terkondensasi (condensed tannins) dan tanin terhidrolisis (hydrolysable tannins). Tanin tidak larut dalam pelarut organik nonpolar seperti benzene dan kloroform. Tanin merupakan senyawa kompleks, biasanya merupakan campuran polifenol yang sukar dipisahkan karena tidak dalam bentuk kristal. Senyawa polifenol yang terkandung dalam tanin diduga mempunyai mekanisme kerja dengan cara merusak permeabilitas barrier dalam mikroorganisme, sehingga bersifat antibakteri (Harborne, 1987).

5.3. Polifenol. Polifenol mempunyai berat molekul (BM) rendah tetapi bersifat stabil. Polifenol berfungsi sebagai keratolitik dan antiseptik. Polifenol merupakan golongan fenol yang telah diketahui memiliki aktivitas antiseptik (Harborne, 1987).

B. Metode Penyarian

1. Simplisia

Simplisia adalah bahan baku alami yang digunakan untuk membuat ramuan obat tradisional yang belum mengalami pengolahan apa pun kecuali proses pengeringan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelican atau mineral.

Simplisia nabati berasal dari tanaman, baik yang masih utuh bagian-bagiannya, maupun zat-zat nabati yang dipisahkan dari tanamannya yang belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh

atau zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelican atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelican atau mineral yang belum berupa zat kimia murni (Irianty *et al.* 2012).

2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan zat yang terdapat dalam sel dan ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Pada umumnya penyarian akan bertambah lebih baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas. Metode dasar penyarian adalah maserasi, perkolasi dan soxhlet. Pemilihan terhadap ketiga metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik dari tujuan penelitian tersebut dan ketahanan simplisia terhadap panas.

3. Maserasi

Maserasi berasal dari kata *mecerase* yang berarti mengairi, melunakkan dan merendam. Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan yang di luar dan di dalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Maserasi merupakan proses paling tepat dimana serbuk simplisia yang sudah

halus memungkinkan untuk direndam dalam cairan penyari sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah melarut akan terlarut (Voigt 1994).

Maserasi serbuk simplisia yang akan diekstraksi biasanya ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar, bersama dengan cairan penyari yang telah ditetapkan, bejana ditutup rapat dan isinya dikocok berulang-ulang, lamanya biasa berkisar 2-14 hari. Pengocokan memungkinkan pelarut segar mengalir berulang-ulang masuk ke seluruh permukaan dari serbuk simplisia yang sudah halus. Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15-20⁰C dalam waktu selama 5 hari sampai bahan-bahan yang larut melarut (Istiqomah 2013).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah pekerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugian metode ini yaitu membutuhkan waktu yang lama dan penyarian kurang sempurna. Ekstrak hasil maserasi dipisahkan ampasnya dengan menyaring dan atau menyari dimana ampas yang telah dibilas bebas dari ekstrak dengan penambahan cairan penyari melalui ayakan atau saringan ke dalam seluruh ekstrak dalam wadahnya.

4. Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam melarutkan zat-zat aktif harus memenuhi beberapa kriteria. Pelarut yang digunakan harus murah, mudah didapat, bersifat netral, selektif (dapat menarik zat berkhasiat yang diinginkan) dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat.

Cairan penyari yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Etanol merupakan pelarut yang sangat efektif untuk menghasilkan bahan aktif

dalam jumlah yang optimal, tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, selektif, pada konsentrasi diatas 20% dapat mencegah tumbuhnya kapang, tidak beracun dan absorpsinya baik. Pelarut etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, antrakuinon, flavonoid, steroid dan saponin.

Proses penyarian ini digunakan pelarut etanol karena mampu mengekstraksi senyawa polar maupun nonpolar, tidak toksik, tidak ditumbuhi mikroba serta mudah diuapkan. Keuntungan lainnya adalah sifatnya mengendapkan bahan putih telur dan menghambat kerja enzim serta dihasilkan suatu bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotornya sebagian kecil larut dalam cairan pengestraksi.

C. Kolesterol Total

1. Pengertian kolesterol

Kolesterol pada dasarnya adalah sejenis lemak yang sangat vital bagi kehidupan karena kolesterol merupakan zat pembentuk membran sel dan sejumlah hormon. Fungsi utama kolesterol yaitu menyediakan komponen esensial membran setiap sel tubuh, digunakan untuk membantu empedu yang berperan penting pada proses pencernaan makanan berlemak, membentuk penghambat produksi hormon yang utama dalam kehidupan, merupakan salah satu bahan yang diperlukan oleh tubuh untuk membuat vitamin D dan membantu melapisi saraf dan menyediakan suatu zat anti air pada permukaan arteri (Subinarto & Djoko 2004).

Tekstur kolesterol lembut dan berlilin, dengan konsistensi seperti tetesan lilin panas. Warna putih kehijauan, substansi berlemak, merupakan bagian terbesar yang dibentuk oleh tubuh di hati. Sekitar dua pertiga kolesterol tubuh diproduksi dengan cara ini menggunakan substansi yang diperoleh dari lemak pada makanan kita, sehingga makin banyak lemak yang kita makan, hati makin terpacu untuk mensintesis lebih banyak kolesterol. Kolesterol yang berada di dalam tubuh berasal dari rute yang berbeda-beda, sebagian besar berasal dari dinding usus kecil sebagai hasil dari lemak yang kita makan (Fatmawati 2008).

Povey dan Robert (2002) menyatakan, kadar kolesterol total yang diinginkan atau normal adalah $<5,2$ mmol/L atau <200 mg/dL, kolesterol LDL di bawah $5,2$ mmol/L atau <162 mg/dL, kolesterol HDL di atas $1,0$ mmol/L atau >39 mg/dL dan kadar trigliserida adalah di bawah $2,0$ mmol/L atau <177 mg/dL dan kadar di atas kadar tersebut adalah hiperkolesterolemia. Ontoseno dan Teddy (2006) menambahkan bahwa, kadar kolesterol darah secara umum dapat dibagi atas *acceptable* yaitu kadar kolesterol total kurang dari 170 mg/dL dan atau kadar LDL kolesterol kurang dari 110 mg/dL, *borderline* yaitu jika kadar kolesterol total antara $170-199$ mg/dL dan atau kadar LDL kolesterol antara $110-129$ mg/dL dan *high* yaitu apabila kadar kolesterol total lebih dari 200 mg/dL dan atau kadar LDL kolesterol lebih dari 130 mg/dL.

2. Metabolisme kolesterol

Kolesterol dalam tubuh didapat dari sintesis makanan yang kita makan. Lemak yang kita makan terdiri dari kolesterol, lemak jenuh dan lemak tidak jenuh. Karbohidrat dan lemak tersebut didalam tubuh akan diproses menjadi suatu

senyawa yang disebut asetil koenzim-A. Asetil koenzim-A membentuk beberapa zat yang penting seperti pembentukan asam lemak, trigliserida, fosfolipid dan kolesterol.

Kilomikron merupakan lipoprotein dengan berat molekul terbesar. Kilomikron mengandung kolesterol untuk dibawa ke hati. Asam lemak bebas di hati akan membentuk VLDL (lipoprotein densitas sangat rendah) kemudian dimetabolisme menjadi IDL (lipoprotein densitas sedang). IDL merupakan zat antara yang terjadi sewaktu VLDL dikatabolisme menjadi LDL (lipoprotein densitas rendah) (Dalimartha 2007).

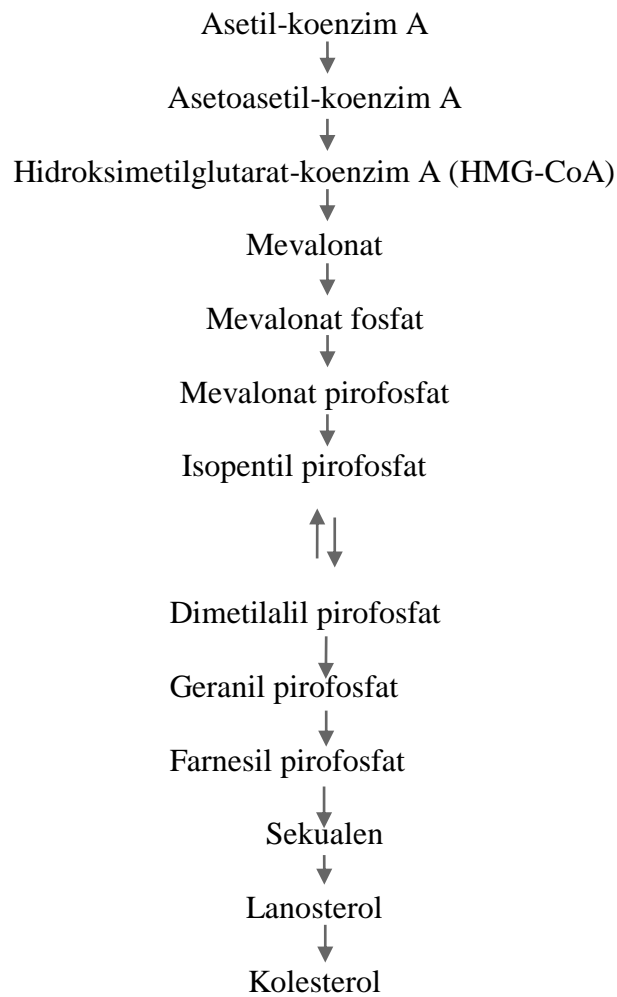
LDL merupakan metabolit VLDL yang disebut juga kolesterol jahat, karena kolesterol LDL mudah melekat di dinding sebelah dalam pembuluh darah dan menyebabkan penumpukan lemak yang dapat menyempitkan pembuluh darah. Proses tersebut dinamakan aterosklerosis (Sudewo 2004).

3. Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia merupakan suatu peningkatan kadar kolesterol yang melebihi kadar kolesterol normal dalam darah. Peningkatan kadar kolesterol dalam darah dapat disebabkan pola makan yang tidak sehat seperti mengonsumsi makanan yang mengandung kolesterol tinggi seperti daging, jeroan, otak, kuning telur, kulit ayam, minyak babi dan lain-lain (Sudewo 2004). Biosintesis kolesterol dapat digambarkan melalui skema pada gambar 1:

4. Simvastatin

Obat yang tersedia di pasaran mengurangi kadar lipid plasma umumnya menurunkan kadar kolesterol atau trigliserida, tetapi tidak menurunkan keduanya



Gambar 1. Biosintesis kolesterol

sekaligus. Obat penurun kolesterol yang banyak digunakan oleh masyarakat sekarang adalah simvastatin yang termasuk dalam golongan statin.

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. Simvastatin merupakan senyawa yang diisolasi dari jamur *Penicillium citrinum*, senyawa ini memiliki struktur yang mirip dengan HMG-CoA reduktase (Kharmayani *et al.* 2013).

Simvastatin bekerja dengan cara menghambat HMG-CoA reduktase secara kompetitif pada proses sintesis kolesterol di hati. Simvastatin akan menghambat HMG-CoA reduktase mengubah asetil-CoA menjadi asam mevalonat. Simvastatin jelas menginduksi suatu peningkatan reseptor LDL dengan afinitas tinggi. Efek tersebut meningkatkan kecepatan ekstraksi LDL oleh hati, sehingga mengurangi simpanan LDL plasma.

Simvastatin merupakan *prodrug* dalam bentuk lakton yang harus dihidrolisis terlebih dulu menjadi bentuk aktifnya yaitu asam β -hidroksi di hati, lebih dari 95% hasil hidrolisisnya akan berikatan dengan protein plasma. Konsentrasi obat bebas di dalam sirkulasi sistemik sangat rendah yaitu kurang dari 5% dan memiliki waktu paruh 2 jam. Sebagian besar obat akan dieksresi melalui hati. Dosis awal pemberian obat adalah sebesar 5-10 mg/hari, dengan dosis maksimal 40 mg/hari. Pemberian obat dilakukan pada malam hari (Adesta *et al.* 2010).

D. Lemak Abdominal

1. Definisi

Lemak merupakan komponen penting dalam tubuh karena lemak merupakan cadangan energi kedua yang disimpan dalam jaringan tubuh. Lemak dalam tubuh terdiri dari empat kelas yaitu triasilgliserol, fosfolipid, sterol dan lipoprotein. Lemak dalam tubuh berfungsi sebagai sumber energi yang efisien, secara langsung dan secara potensial, bila disimpan dalam jaringan adiposa, berfungsi sebagai penyekat panas dalam jaringan sub kutan dan sekeliling organ-organ tertentu dan lipid nonpolar bekerja sebagai penyekat listrik (*elektrikal*

ansulator) yang memungkinkan perambatan cepat gelombang depolarisasi sepanjang syaraf bermielin (Adyana 2008).

2. Jenis lemak pada tubuh

2.1. Lemak *visceral* (lemak abdominal). Lemak visceral adalah lemak yang melapisi sekeliling organ internal tubuh, terutama di bagian perut. Lemak inilah yang menjadi penyebab perut buncit sehingga sering disebut lemak perut. Lemak *visceral* lebih sulit dihilangkan karena lemak tersebut lebih kuat tertanam dan menempel didalam jaringan tubuh. Timbunan lemak visceral di perut sangat berbahaya bagi kesehatan karena dapat meningkatkan risiko penyakit degeneratif, seperti diabetes, penyakit jantung, hipertensi, stroke dan bahkan kanker (Yuliana 2014).

Menurut Noverina (2011), lemak yang ada di sekitar perut tak hanya menjadi gudang penyimpanan kelebihan kalori. Lemak ini bersifat aktif dan memproduksi *cytokine*, senyawa berbahaya yang dapat menyebabkan inflamasi (peradangan) dan merusak pembuluh darah arteri sehingga meningkatkan risiko penyakit jantung. Selain itu, lemak ini di dalam hati akan mengalami proses metabolisme dan dilepaskan ke dalam aliran darah dalam bentuk kolesterol sehingga meningkatkan kadar kolesterol di dalam tubuh. Kolesterol akan membentuk plak dalam pembuluh darah yang menyumbat aliran darah, sehingga mengakibatkan serangan jantung dan stroke.

2.2. Lemak subkutan. Lemak subkutan adalah lemak yang berada dekat dengan permukaan kulit. Lemak subkutan dianggap kurang berbahaya karena lebih mudah dihilangkan daripada lemak visceral. Lemak subkutan merupakan lemak yang dapat dilihat. *Subcutaneous* berarti di bawah (*sub*) kulit (*cutaneous*).

Lemak subkutan terdapat di beberapa tempat terutama di paha maupun ketiak. Jumlah lemak subkutan yang sedang-sedang saja penting bagi kehidupan, contohnya untuk menjaga tubuh tetap hangat saat cuaca dingin. Tetapi, jika jumlahnya berlebihan akan berbahaya (Karyani 2012).

E. Hewan Uji

1. Sistematika tikus putih

Sistematika tikus putih menurut Sugiyanto (1995) adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Classis	: Mamalia
Sub classis	: Placentalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Species	: <i>Rattus norvegicus</i>

2. Karakteristik utama 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

Tikus putih baik jantan maupun betina dapat bertahan hidup 2-3 tahun, bahkan sampai 4 tahun. Tikus tumbuh dewasa pada umur 40-60 hari. Berat badan tikus jantan yang dewasa berkisar 300-400 gram, sedangkan betina 250-300 gram. Tikus dapat dikawinkan pada umur 10 minggu.

Tikus jantan memiliki kondisi biologis serta sistem hormonal yang lebih stabil dibanding tikus betina, lebih tenang dan mudah ditangani. Selain itu tikus jantan memiliki kecepatan metabolisme obat lebih cepat daripada tikus betina.

F. Landasan Teori

Kolesterol merupakan zat yang diperlukan dalam tubuh dalam batas-batas normal sebagai bahan pembentuk hormon-hormon steroid. Kolesterol diproduksi oleh hati. Asupan kolesterol yang tinggi akibat pola makanan yang tidak teratur dapat menyebabkan terjadinya hiperkolesterol yang akan menimbulkan plak dalam pembuluh darah. Hal inilah yang menjadi penyebab terjadinya penyakit jantung koroner (Jawi dan Budiasa 2011).

Lemak visceral adalah lemak yang melapisi sekeliling organ internal tubuh, terutama dibagian perut. Lemak inilah yang menjadi penyebab perut buncit sehingga sering disebut lemak perut. Lemak *visceral* lebih sulit dihilangkan karena lemak tersebut lebih kuat tertanam dan menempel di dalam jaringan tubuh. Timbunan lemak *visceral* di perut sangat berbahaya bagi kesehatan karena dapat

meningkatkan risiko penyakit degeneratif, seperti diabetes, penyakit jantung, hipertensi, stroke dan bahkan kanker.

Peningkatan kadar kolesterol total dan lemak abdominal pada tikus dapat menggunakan kuning telur karena dalam kuning telur mengandung 17 gram protein, 35 gram lemak dan kolesterol 884 mg/100 gram dan lemak babi mengandung 2% asam lemak miristat, 25% asam lemak palmitat, 15% asam lemak stearat, 45% asam lemak oleat dan 9% asam lemak linoleat sehingga dapat meningkatkan kadar kolesterol total dan kadar lemak abdominal pada tikus (Dewi 2013).

Daun sarang semut mengandung tanin, flavonoid dan polifenol. Flavonoid dapat mengurangi kepekaan LDL terhadap pengaruh radikal bebas dan dapat bersifat hipolipidemik. Tanin dapat menghambat absorpsi kolesterol sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol, sedangkan polifenol bersifat sebagai antioksidan (Defrin *et al.* 2010).

Metode untuk mengukur kadar kolesterol total yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode CHOD-PAP karena sangat mudah, praktis dan efisien. Metode ini mempunyai prinsip, kolesterol ditentukan setelah hidrolisa enzimatis dan oksidasi H_2O_2 bereaksi dengan 4-aminoantipyrin dan fenol membentuk quinonimine yang berwarna, absorben warna sebanding dengan kolesterol (Purwani 2012).

Dosis daun sarang semut yang digunakan merujuk pada penggunaan umbi sarang semut secara empiris oleh masyarakat dengan cara direbus untuk mengobati berbagai macam penyakit, yaitu 20 g serbuk kering/minggu atau 2,86 g serbuk kering/hari (Hendarsula, 2011).

G. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada dalam penelitian ini dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

Pertama, ekstrak etanolik daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack.) dapat menurunkan kadar kolesterol total serum darah dan berat lemak abdominal tikus putih jantan galur wistar yang diberi diet lemak tinggi.

Kedua, ekstrak etanolik daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack.) yang setara dengan dosis empiris merupakan dosis efektif untuk menurunkan kadar kolesterol total serum darah dan berat lemak abdominal tikus putih jantan galur wistar yang diberi diet lemak tinggi.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tumbuhan sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) yang diperoleh dari daerah Polen, Timor Tengah Selatan, Nusa Tenggara Timur pada Juli 2014.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum*). Tanaman sarang semut diambil secara acak dengan memilih daun yang tidak terlalu tua juga tidak terlalu muda dan masih segar dari daerah Polen, Kabupaten Timor Tengah Selatan, Nusa Tenggara Timur.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama yang pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sarang semut yang diperoleh dari simplisia kering yang diserbuk. Variabel utama yang kedua adalah aktivitas penurunan kolesterol total dan penurunan lemak abdominal yang diamati pada tikus putih jantan galur wistar. Variabel utama yang ketiga adalah tikus putih jantan galur wistar (dengan berat badan 165-200 g dan umur 2-3 bulan).

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel terikat.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk mempelajari pengaruhnya terhadap variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sarang semut dalam berbagai dosis.

Variabel terikat merupakan variabel akibat dari variabel utama. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah taraf penurunan kolesterol total dan penurunan berat lemak abdominal tikus putih jantan galur wistar dalam waktu tertentu yang diamati setelah diberi ekstrak daun sarang semut.

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kondisi sampel, waktu pengamatan, kondisi percobaan, kondisi fisik tikus yang meliputi berat badan tikus, jenis kelamin, usia serta galur.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, serbuk daun sarang semut diperoleh dari daerah Polen, Kabupaten Timor Tengah Selatan, Nusa Tenggara Timur.

Kedua, ekstrak etanolik daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack.) merupakan hasil penarikan dari daun sarang semut dalam bentuk cairan dengan metode maserasi dengan cairan penyari etanol 70%.

Ketiga, hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar usia 2-3 bulan dengan berat 165-200 g, yang diperoleh dari Laboratorium Universitas Setia Budi.

Keempat, kenaikan kadar kolesterol total adalah selisih kadar kolesterol total pada hari ke-0 dengan hari ke-14.

Kelima, lemak abdominal adalah lemak yang melapisi sekeliling organ internal tubuh, terutama di bagian perut. Penurunan lemak abdominal hewan uji dilakukan dengan membandingkan lemak abdominal yang terdapat pada hewan kontrol yang tidak diberi perlakuan dengan hewan kontrol setelah diberi perlakuan.

Keenam, penurunan kadar kolesterol total adalah selisih kadar kolesterol total pada hari ke-14 dengan hari ke-21.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack), tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) umur 2-3 bulan dengan berat badan 165-200 gram, etanol 70% yang digunakan sebagai pelarut pada maserasi, CMC dan simvastatin (pembanding penurun kadar kolesterol), lemak babi, kuning telur, reagen yang digunakan untuk mengukur kadar kolesterol total yaitu kolesterol kit DiaSys dan reagen yang digunakan untuk identifikasi kandungan kimia dari daun sarang semut yaitu serbuk Mg, alkohol, larutan HCl, amil alkohol, FeCl₃ 5 %, silika gel, metanol, aquades dan BR II (sebagai kontrol normal).

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: alat untuk pembuatan ekstrak etanolik daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack) yaitu blender, penggiling, ayakan 40 mesh, bejana maserasi, kain flanel, kertas saring, timbangan analitik, timbangan milligram, oven, beaker glass dan waterbath dhh-6.

Alat untuk perlakuan hewan uji yaitu timbangan analitik, jarum suntik oral dan pipa kapiler. Alat untuk mengukur kadar kolesterol total yaitu chamber, UV 366, spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2900), penyemprot reagen untuk KLT, labu takar, *sentrifuge* T121, *mikro pipet*, alat-alat gelas dan fotometer stardust FC. Alat untuk penetapan susut pengeringan adalah *moisture balance*.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack). Determinasi ini dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian ini, selain determinasi harus diperhatikan pula ciri-ciri morfologi tanaman terhadap kepustakaan dan dibuktikan dibagian Biologi Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

2. Pengeringan daun sarang semut

Daun sarang semut yang diperoleh disortasi basah kemudian dicuci dengan air bersih menggunakan air mengalir atau bak bertingkat dan ditiriskan, hal ini bertujuan untuk menghilangkan tanah atau kotoran yang melekat pada daun

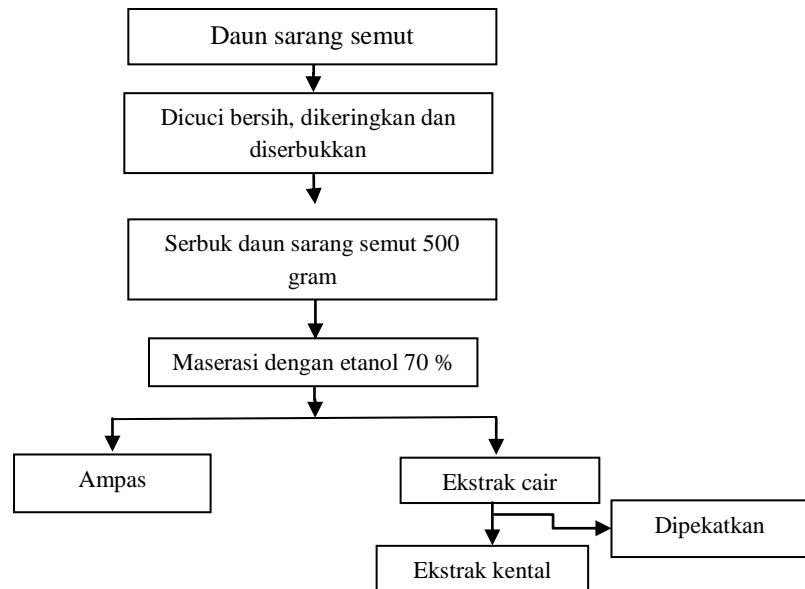
sarang semut. Dari daun yang sudah dibersihkan tersebut dilakukan pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan dengan tujuan mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh mikroorganisme yaitu cendawan atau bakteri, selain itu bahan yang telah dikeringkan lebih mudah dihaluskan menjadi serbuk. Setelah kering, kemudian dihaluskan dengan blender menjadi serbuk sarang semut lalu diayak dengan menggunakan pengayak no 40.

3. Pembuatan ekstrak etanolik daun sarang semut

Serbuk daun sarang semut ditimbang sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam botol maserasi dengan pelarut etanolik 70 % sebanyak 3750 ml, direndam selama 5 hari dan digojok 3 kali sehari. Hasil maserasi disaring dengan kain flannel steril atau penyaring vakum, ekstrak yang didapat dipekatkan di watterbath sampai memperoleh maserat yang kental. Skema cara pembuatan ekstrak etanolik daun sarang semut dapat dilihat pada gambar 2.

4. Penetapan kadar air daun sarang semut

Penetapan susut pengeringan serbuk dan daun sarang semut dilakukan di laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta dengan cara serbuk daun sarang semut ditimbang sebanyak 20 gram dan ekstrak daun sarang semut sebanyak 10 g kemudian dimasukan kedalam labu alas bulat pada alat *Sterling-Bidwell* secara terpisah kemudian ditambahkan xylen masing-masing sebanyak 100 ml dan dipanaskan sampai tidak ada tetesan air lagi, kemudian dilihat volume tetesan tadi dan dihitung kadarnya dalam satuan (%) (Sudarmadji *et al.* 2011).



Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanolik daun sarang semut

5. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack.)

Identifikasi kandungan kimia yang dimaksudkan untuk mendapatkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack). Identifikasi dilakukan terhadap senyawa flavonoid, tanin dan polifenol dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

5.1 Identifikasi reaksi warna dalam tabung reaksi

5.1.1. Identifikasi flavonoid. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan cara serbuk dan ekstrak etanolik daun sarang semut masing-masing ditimbang sebanyak 20 mg ditambah aquadest kemudian dipanaskan selama 1 menit, disaring dan diambil filtratnya. Filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah serbuk magnesium 0,1 g, 2 ml larutan alkohol : HCl (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran ini dikocok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah.

Reaksi positif jika terjadi warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

5.1.2. Identifikasi tanin. Sampel dididihkan dengan 20 ml air lalu disaring. Ditambahkan beberapa tetes feriklorida 1% dan terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman yang menunjukkan adanya tanin .

5.1.3. Identifikasi polifenol. Identifikasi polifenol dilakukan dengan cara serbuk dan ekstrak etanolik daun sarang semut masing-masing sebanyak 20 mg dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berbeda, lalu ditambah air panas masing-masing 15 ml kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah 0,5 ml Fehling A dan Fehling B, kemudian dipanaskan. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya endapan merah bata.

6. Pembuatan larutan CMC 0,5%

Pembuatan larutan CMC 0,5% dilakukan dengan cara melarutkan \pm 0,5 gram CMC yang telah di timbang secara seksama lalu dimasukkan ke dalam air sampai volume \pm 100 ml. Kemudian larutan ini akan digunakan sebagai pensuspensi simvastatin yang di berikan per oral pada tikus.

7. Pembuatan pakan diet lemak tinggi

Persiapan hewan percobaan hiperkolesterolemia (digunakan tikus jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 165–200 g dan kondisi sehat, diaklimasi selama 7 hari) dengan pemberian pakan tinggi lemak. Komposisinya 1 kg pakan BR II, 10 butir kuning telur puyuh dan 200 ml minyak babi selama 2 minggu. Cara pembuatannya yaitu lemak babi dipanaskan sehingga diperoleh minyak lemak babi. Kemudian minyak lemak babi tersebut dicampur dengan kuning telur puyuh

sehingga terbentuk korpus emulsi dan ditambahkan air hingga 100 ml diaduk cepat hingga terbentuk emulsi yang halus dan homogen (Vanessa *et al.* 2013).

8. Penetapan dosis

Dosis kontrol negatif ditentukan dari volume pemberian yang dioralkan ke tikus sebanyak 1 ml. Penelitian ini menggunakan CMC 0,5% sebagai kontrol negatif dengan volume pemberian 1 ml/200 g BB tikus.

Dosis kontrol positif ditentukan berdasarkan dosis manusia yang memiliki berat badan 70 kg yaitu 10 mg. Konversi dosis yang digunakan adalah konversi dosis dari manusia ke tikus dengan berat badan 200 g dengan nilai konversi yaitu 0,018. Penelitian ini menggunakan simvastatin sebagai kontrol positif dengan dosis 0,18 mg/200 g BB tikus.

Dosis sediaan dihitung dari dosis empiris yang kemudian dikonversikan ke dalam dosis ekstrak etanolik daun sarang semut. Peringkat dosis dihitung dari hasil perkalian dosis empiris yang diperoleh yaitu setengah kali dosis empiris ($1/2$ DE), satu kali dosis empiris (1 DE) dan dua kali dosis empiris (2 DE). Dosis empiris untuk satu kali penggunaan adalah 20 g serbuk daun sarang semut (± 20 g) (Hendarsula, 2011).

9. Penanganan hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) umur 2-3 bulan dengan berat badan 165-200 gram. Sebelum digunakan untuk percobaan, terlebih dahulu tikus dipuaskan dengan pakan dan lingkungan penelitian selama 7 hari, dibagi secara acak menjadi 6 kelompok perlakuan yang terdiri dari 5 ekor tikus untuk masing-masing kelompok

perlakuan. Hewan uji dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam dengan tetap diberi air minum.

10. Pengelompokan hewan uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar umur 2-3 bulan, berat 165-200 gram. Tikus sebelum diberi perlakuan diadaptasikan terlebih dahulu dengan pakan dan lingkungan penelitian selama 1 minggu selanjutnya dibagi secara acak menjadi 6 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

Pada periode pertama, tikus dipuasakan dahulu selama 12 jam kemudian diambil darahnya untuk mengetahui kadar awal kolesterol total (T_0). Kemudian pada periode kedua, tikus mulai dikelompokkan sesuai kelompok perlakuan masing, yaitu: Kelompok I sebagai kontrol normal, kelompok II sebagai kontrol positif (kontrol simvastatin yang akan diberikan setelah periode kedua), kelompok III sebagai kontrol negatif serta kelompok IV, V dan VI yang merupakan variasi dosis ekstrak daun sarang semut yang akan diberikan setelah periode kedua. Semua hewan uji (kecuali kelompok I) diberi diet lemak tinggi selama 14 hari dan dibaca kadar kolesterolnya untuk mengetahui kondisi kolesterol total (T_{14}). Pada periode ketiga, pemberian induksi lemak dihentikan dan pada kelompok kontrol II (kontrol positif) diberi suspensi simvastatin, kelompok IV, V dan VI diberi suspensi ekstrak etanolik daun sarang semut selama 7 hari. Pada periode ini, kelompok kontrol I dan III tidak diberi perlakuan apapun tetapi tetap diberi makan dan minum bersama kelompok kontrol yang lain. Kemudian semua kelompok kontrol diambil darahnya untuk mengetahui penurunan kadar kolesterol total

(T₂₁). Pengukuran terhadap kadar kolesterol total awal dimaksudkan sebagai pembandingan kadar kolesterol total setelah perlakuan, untuk melihat ada atau tidaknya perubahan yang terjadi setelah diberi perlakuan kontrol positif, kontrol negatif, serta perlakuan ekstrak etanolik daun sarang semut dalam berbagai konsentrasi bila dibandingkan dengan kadar normalnya.

11. Cara penetapan kadar kolesterol total dan lemak abdominal

11.1. Pengukuran kadar kolesterol. Prinsip penetapan kadar kolesterol: Kolesterol dan ester-esternya dibebaskan dari lipoprotein oleh detergen. Kolesterol esterase menghidrolisa ester-ester tersebut dan H₂O₂ dibentuk dari kolesterol dalam proses oksidasi enzimatis oleh kolesterol oksidasi. H₂O₂ bereaksi dengan 4-aminoantipyrine dan fenol dengan katalisator peroksidase membentuk quinonimine yang berwarna. Absorbansi warna ini sebanding dengan kolesterol dalam sampel.

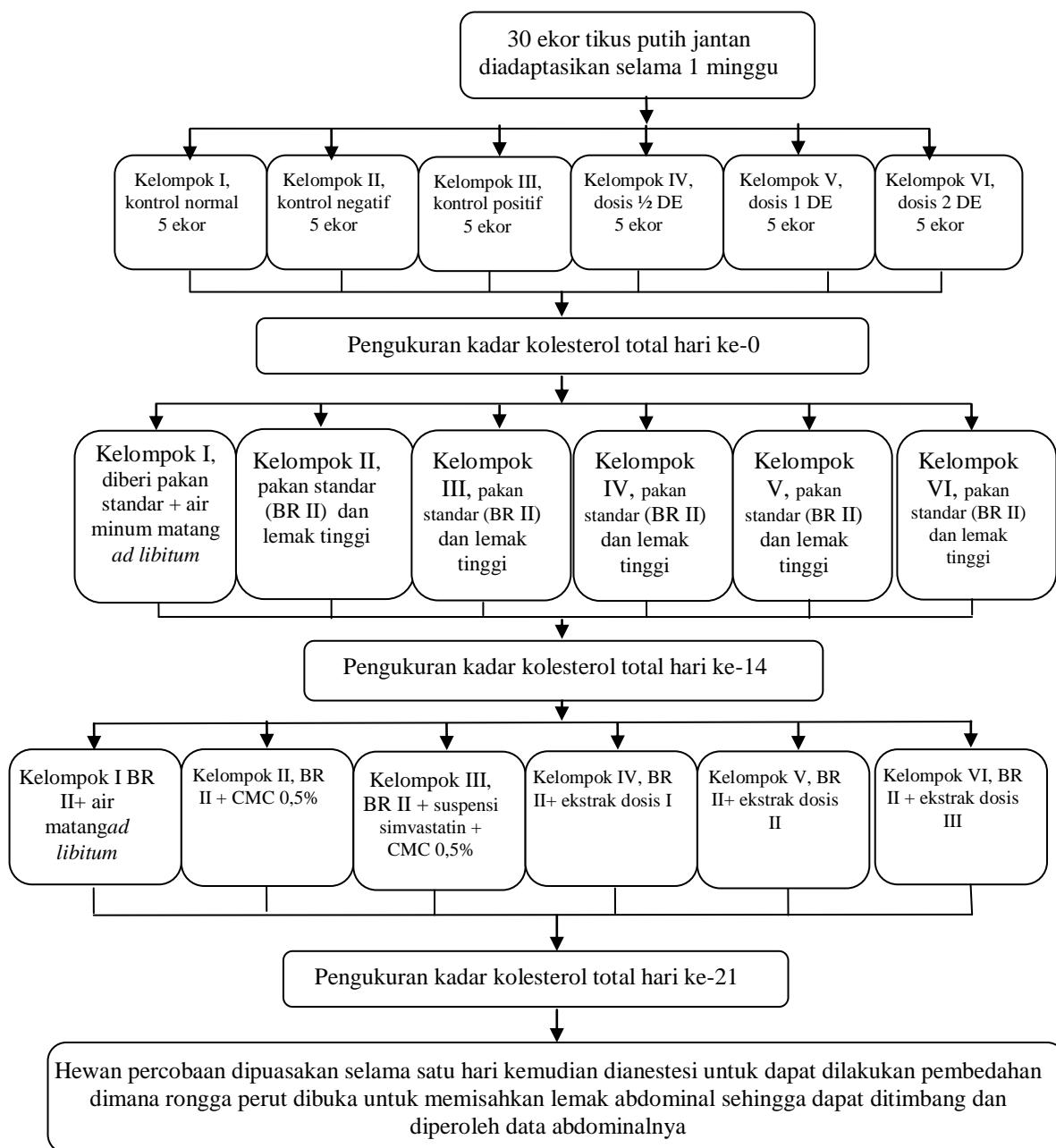
Pengukuran kadar kolesterol total dapat dilakukan pengukuran dengan mengambil serum darah dari hewan uji melalui vena mata pada hari ke-0, hari ke-14 dan hari ke-21. Pengukuran kadar kolesterol total pada hari ke-0 bertujuan untuk mengetahui kadar awal kolesterol total dan pada hari ke-14 dilakukan pengukuran kadar kolesterol total bertujuan untuk mengetahui kondisi hiperkolesterolemia pada tikus. Pada hari ke-21 bertujuan untuk mengetahui penurunan kadar kolesterol total setelah diberi perlakuan dosis ekstrak etanolik daun sarang semut dan kontrol positif.

Sampel darah disiapkan dari darah yang diambil pada mata tikus. Sebelum pengambilan darah, tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 8-10 jam. Kemudian

darah diambil menggunakan pipa kapiler dan ditampung dalam sentrifuge \pm 1,5ml lalu didiamkan selama setengah jam (Andriani 2007).

Metode yang digunakan untuk melakukan penelitian kadar kolesterol total adalah CHOD-PAP yang berlangsung dalam satu tahap yaitu darah diambil dari *vena mata* menggunakan pipa kapiler sebanyak 1 ml lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm sampai memisah dan kemudian serumnya dipisahkan untuk 10 μ L serum dan ditambah 1000 μ L pereaksi kolesterol total kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 20-25⁰C atau diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37⁰C, lalu diamati serapannya menggunakan alat fotometer stardust FC, sehingga diperoleh kadar kolesterol total serum darah tikus.

11.2. Pengukuran kadar lemak abdominal. Penentuan kadar lemak abdominal dilakukan dengan cara, bagian eksterior tikus diperiksa, kemudian tikus diletakkan terlentang. Irisan dimulai pada bagian abdomen dengan memotong kulit beserta muskulus abdominalis, kemudian dilanjutkan pada sisi kiri dan kanan, kemudian ke arah kranial dan memotong *costae* hingga rongga dada terbuka. Kaki depan dan kaki belakang dipreparasi dari tubuh (diiris sebagian) untuk mempermudah proses nekropsi. Irisan dilanjutkan untuk melepaskan alat penggantung dinding dorsal rongga perut sampai pelvis. Lemak subkutan abdomen diambil dan ditimbang sehingga diperoleh kadar lemak abdominal serum darah tikus (Siajadi 2014). Skema uji peningkatan kadar kolesterol total dan penimbangan berat lemak abdominal tikus putih jantan dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Skema uji peningkatan kadar kolesterol total dan penimbangan berat lemak abdominal tikus putih jantan.

E. Analisa Hasil

Uji homogenitas dilakukan apabila pada uji distribusi normal didapatkan hasil dari data terdistribusi normal ($p > 0,05$), apabila hasil uji diperoleh homogenitas yang tidak sama ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan metode *non*

parametric, apabila hasil uji didapatkan homogenitas yang sama ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan metode *parametric (One Way ANOVA)*, apabila hasil homogenitas nilai ($p < 0,05$) berarti ada perbedaan bermakna diantara masing-masing perlakuan dan apabila hasil homogenitas nilai ($p > 0,05$) berarti tidak ada perbedaan bermakna diantara masing-masing perlakuan. Tahap selanjutnya dilakukan dengan uji *Student-Newman-Keuls (SNK)* untuk melihat perlakuan yang paling baik diantara masing-masing kelompok dengan taraf kepercayaan 95%.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Tanaman Sarang Semut

Determinasi pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bagian Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Determinasi dilakukan untuk mencocokkan ciri morfologi pada tanaman yang diteliti dengan kunci determinasi, agar tumbuhan yang digunakan benar-benar tumbuhan yang diteliti dan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dengan tumbuhan lain.

Berdasarkan hasil determinasi dengan surat keterangan No : BF/168/Ident/Det/III/2015 dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack). Surat keterangan determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

B. Persiapan Bahan, Pengeringan dan Pembuatan Serbuk

Pada penelitian ini menggunakan daun sarang semut yang diperoleh dari daerah Polen, Soe, Kabupaten Timor Tengah Selatan, Propinsi Nusa Tenggara Timur pada bulan Juli 2014. Daun sarang semut yang digunakan dalam penelitian ini merupakan spesies *Hydnophytum formicarum* Jack. Daun yang dipilih adalah daun yang tidak terlalu muda juga tidak terlalu tua dan masih segar serta bebas dari hama. Hal ini dikarenakan jika terlalu muda senyawa yang terdapat pada daun tersebut belum terbentuk sempurna, sedangkan daun yang terlalu tua dikhawatirkan sudah banyak senyawa yang hilang.

Bahan yang sudah disortir dan bersih selanjutnya ditiriskan kemudian siap untuk dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C sampai kering. Hasil rendemen pengeringan daun sarang semut dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rendemen pengeringan daun sarang semut

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
3600	730	20,27

Pertimbangan pengeringan pada suhu 50°C dalam oven, karena jika suhunya di bawah 50°C dikhawatirkan tumbuhan cepat busuk dan jika dilakukan di atas suhu 50°C dikhawatirkan dapat merusak senyawa aktif pada simplisia.

Tujuan pengeringan secara umum yaitu untuk mencegah kerusakan kandungan zat aktif yang ada dalam tanaman, kadar sari dan kandungan bahan aktifnya lebih tinggi sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Kerusakan yang terjadi merupakan akibat penguraian zat aktif secara enzimatik seperti oksidasi, polimerasi dan hidrolisis. Pengeringan simplisia harus dilakukan secepatnya, sebab aktivitas enzim akan naik dengan adanya air dalam simplisia. Kadar air yang terdapat dalam simplisia akan berkurang dengan pengeringan, sampai pada titik tertentu yang menyebabkan enzim-enzim menjadi tidak aktif. Selain itu, dalam keadaan kering dapat mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri. Saat pemanasan suhu harus terus dikontrol karena akan merusak kandungan zat aktif pada simplisia seperti flavonoid yang tidak tahan terhadap pemanasan.

Daun sarang semut yang telah kering dibuat serbuk dengan mesin penyerbuk dan kemudian diayak menggunakan mesh no. 40. Penyerbukan ini bertujuan untuk memperluas permukaan partikel bahan yang kontak dengan

pelarut dan memperpendek jarak antar sel, sehingga penyarian dapat berlangsung efektif. Serbuk hasil ayakan ini dinamakan serbuk simplisia daun sarang semut yang kemudian digunakan untuk pembuatan ekstrak. Perhitungan rendemen pengeringan daun sarang semut terlampir pada lampiran 8.

C. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun Sarang Semut

Metode ekstraksi pada penelitian ini adalah dengan menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Wadah maserasi yang digunakan berkaca gelap untuk menghindarkan dari sinar matahari langsung. Proses maserasi dilakukan dalam keadaan tertutup agar etanol tidak menguap pada suhu kamar. Hasil maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan di dalam oven dan diperoleh berat ekstrak sebesar 50 g. Tabel 2 menunjukkan hasil rendemen ekstrak daun sarang semut. Perhitungan persentase dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 2. Hasil rendemen ekstrak etanolik daun sarang semut

Berat serbuk (g)	Etanol (ml)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
500	3750	50	10

D. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk dan Ekstrak Daun Sarang Semut

Penetapan kadar air menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Penetapan kadar air ini bertujuan untuk mengetahui hasil dari serbuk dan ekstrak daun sarang semut yang diperoleh apakah memenuhi persyaratan atau tidak sesuai dengan standar yang telah ditetapkan.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun sarang semut

Bahan	No	Penimbangan (g)	Skala (ml)	Kadar (%)
Serbuk	1	20	1,6	8
	2	20	1,7	8,5
	3	20	1,5	7,5
Rata-rata±SD				8±0,5
Ekstrak	1	10	0,7	7
	2	10	0,5	5
	3	10	0,8	8
Rata-rata±SD				6,6±1,5

Tabel 3 menunjukkan bahwa dari penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun sarang semut yang ditimbang sebanyak 20 gram serbuk dan 10 gram ekstrak kemudian diukur kadar airnya. Kadar air yang diperoleh hasilnya dalam satuan persen (%). Persentase rata-rata kadar air dalam serbuk daun sarang semut adalah 8% dan kadar air ekstrak daun sarang semut adalah 6,6% hal ini menunjukkan bahwa kadar air serbuk dan ekstrak daun sarang semut telah memenuhi syarat, yaitu tidak lebih dari 10%. Apabila kadar air daun sarang semut lebih dari 10% akan mudah ditumbuhi bakteri karena air merupakan media yang disukai bakteri untuk hidup dan berkembang biak. Hasil perhitungan persentase rata-rata kadar air serbuk daun sarang semut terlampir pada lampiran 9.

E. Identifikasi Kandungan Kimia Serbuk Dan Ekstrak Daun Sarang Semut

Setelah diperoleh serbuk dan ekstrak etanol daun sarang semut, maka hasil serbuk dan ekstrak kemudian diperiksa kandungan kimianya menggunakan reaksi warna dan uji kromatografi lapis tipis untuk memeriksa ada atau tidak adanya kandungan senyawa flavonoid, polifenol dan tanin. Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak etanol daun sarang semut dapat dilihat pada tabel 4.

Hasil identifikasi reaksi warna

Tabel 2. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun sarang semut

No.	Kandungan kimia	Identifikasi serbuk	Identifikasi ekstrak	Hasil	Pustaka
1	Flavonoid	20 mg serbuk + Mg + 2 ml alkohol + 2 ml HCl + amyl alkohol, dikocok kuat.	20 mg ekstrak + Mg + 2 ml alkohol + 2 ml HCl + amyl alkohol, dikocok kuat.	Kuning pada lapisan amyl alkohol (+)	Merah, kuning atau jingga pada lapisan amyl alkohol.
2	Tanin	20 mg serbuk + 20 ml air panas, disaring + FeCl ₃ 1%.	20 mg ekstrak + 20 ml air panas, disaring + FeCl ₃ 1%.	Terbentuk warna coklat kehijauan (+)	Warna coklat kehijauan atau biru kehitaman.
3	Polifenol	20 mg serbuk + 15 ml air panas disaring. Filtrat + 0,5 fehling A dan fehling B dipanaskan.	20 mg ekstrak + 15 ml air panas disaring. Filtrat + 0,5 fehling A dan fehling B dipanaskan.	Merah bata (+)	Hijau, biru, ungu, hitam atau endapan merah bata.

Hasil uji identifikasi kandungan senyawa terhadap serbuk dan ekstrak etanol daun sarang semut menunjukkan bahwa daun sarang semut positif mengandung flavonoid, polifenol dan tanin. Hal ini dapat diketahui dengan membandingkan hasil uji kualitatif yang dilakukan berdasarkan pustaka. Foto hasil uji identifikasi dapat dilihat pada lampiran 5.

F. Penetapan Dosis

Dosis simvastatin yang digunakan adalah 0,18 mg/200 g BB tikus. Penetapan dosis ekstrak etanolik daun sarang semut ditentukan berdasarkan dosis empiris dalam masyarakat yaitu 20 g serbuk daun sarang semut. Dari hasil perhitungan konversi dosis dari manusia ke tikus diperoleh variasi dosis yang ada pada tabel 6. Perhitungan penetapan dosis ekstrak etanolik daun sarang semut dan simvastatin dapat dilihat pada lampiran 11.

Tabel 3. Variasi dosis ekstrak etanolik daun sarang semut

No	Variasi dosis (mg/200 g BB tikus)
1.	18
2.	36
3.	72

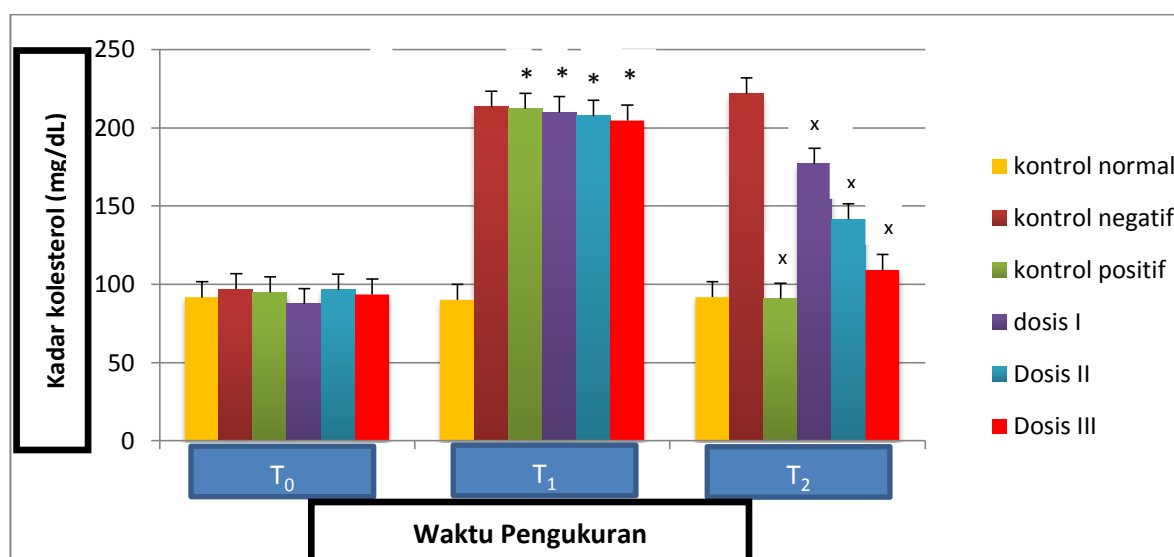
G. Hasil Pengujian Penurunan Kadar Kolesterol Total

Hasil ekstrak etanol daun sarang semut dilakukan pengujian penurunan kolesterol total terhadap tikus putih jantan galur wistar sesuai dengan kelompok yang telah ditentukan.

Pengukuran kadar kolesterol total menggunakan metode CHOD-PAP dengan alat spektrofotometri. Dari pengujian tersebut dilakukan 3 kali pemeriksaan kadar kolesterol yaitu hari ke-0, hari ke-14 dan hari ke-21.

Tabel 4. Rata-rata kadar kolesterol total darah tikus

Kelompok	Rata-rata kadar kolesterol total (mg/dl)				
	Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-21	Peningkatan ($T_{14}-T_0$)	Penurunan ($T_{14}-T_{21}$)
Normal	91,6 \pm 15,710	90,0 \pm 11,576	91,8 \pm 9,731	-1,6	-1,8
Negatif	96,8 \pm 15,450	213,2 \pm 14,805	221,8 \pm 12,422	116,4	-8,6
Positif	94,8 \pm 7,981	212,0 \pm 13,730	90,8 \pm 4,494	117,2	121,2
Dosis I	87,4 \pm 6,950	209,8 \pm 14,096	176,8 \pm 12,755	122,4	33
Dosis II	96,4 \pm 13,957	207,4 \pm 16,979	141,4 \pm 28,927	111	66
Dosis III	93,4 \pm 22,030	204,6 \pm 18,434	109,0 \pm 7,071	111,2	95,6



Gambar 4. Grafik rata-rata kadar kolesterol

Keterangan tabel 7 dan gambar 4 :

Semua kelompok hewan uji diberi makanan tikus jenis BR II dan induksi lemak (kecuali kontrol normal)

Kontrol normal : Tikus hanya diberi makanan jenis BR II dan minum

Kontrol negatif : Tikus diberi CMC 0,5%

Kontrol positif : Tikus diberi suspensi simvastatin

Dosis I : Kelompok tikus yang diberi ekstrak etanol daun sarang semut dengan dosis 18 mg/200 g BB (dosis I)

Dosis II : Kelompok tikus yang diberi ekstrak etanol daun sarang semut dengan dosis 36 mg/200 g BB (dosis II)

Dosis III : Kelompok tikus yang diberi ekstrak etanol daun sarang semut dengan dosis 72 mg/200 g BB (dosis III)

(*) : Berbeda signifikan (T_0-T_1) dengan uji *Paired-Samples T Test*, ($P<0,05$)

(x) : Berbeda signifikan (T_1-T_2) dengan uji *Paired-Samples T Test*, ($P<0,05$)

$T_{(0)}$: Pengukuran kadar kolesterol sebelum diberi perlakuan

$T_{(1)}$: Pengukuran kadar kolesterol setelah diinduksi lemak

$T_{(2)}$: Pengukuran kadar kolesterol setelah dilakukan penurunan

Nilai rata-rata kadar kolesterol total masing-masing kelompok dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel 7. Kontrol positif terjadi penurunan kadar kolesterol yang signifikan. Pada variasi ketiga dosis tampak dosis 72 mg/200 g BB tikus memberi efek penurunan yang paling baik karena hampir sama dengan kontrol positif. Dosis 36 mg/200 g BB tikus juga memiliki efek penurunan kolesterol yang cukup baik dan hampir sama dengan dosis III. Pada dosis 18 mg/200 g BB tikus terjadi juga penurunan kadar kolesterol tetapi masih berbeda jauh dari kontrol positif.

Kontrol negatif menunjukkan peningkatan kadar kolesterol pada hari ke-21 walaupun telah dihentikan pemberian lemak tinggi. Hal ini terjadi karena pada kontrol negatif tidak memiliki zat aktif yang berperan sebagai zat antikolesterol. Hasil pengukuran kadar kolesterol dapat dilihat pada lampiran 13.

Data hasil penurunan kadar kolesterol total dianalisis dengan statistik yang terlebih dahulu dilakukan uji distribusi dengan *Kolmogrov-Smirnov* untuk melihat datanya terdistribusi normal atau tidak. Kriteria uji ini adalah nilai signifikasinya (Asymp.Sig) lebih dari 0,05. Dari hasil uji *Kolmogrov-Smirnov* diperoleh nilai signifikasinya $>0,05$ pada semua kelompok, yang berarti data tersebut terdistribusi normal, hasil pengujiannya dapat dilihat pada lampiran 16. Setelah uji *Kolmogrov-Smirnov* dilanjutkan dengan uji *Paired-Samples T Test*. Hasil uji *Paired-Samples T Test* menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol normal (T_0-T_1), kelompok kontrol normal (T_1-T_2). Pada kelompok kontrol yang lainnya menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, dilihat dari nilai signifikannya yaitu kurang dari 0,05.

Setelah memperoleh dosis yang paling efektif maka dilanjutkan dengan uji statistik *Two Way Anova* dan dilanjutkan dengan *post hoc* SNK. Hasil pengujian pada lampiran 16, kelompok kontrol normal memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif, karena pada kelompok kontrol normal tidak diberi perlakuan sedangkan pada kelompok kontrol negatif mendapat perlakuan diet lemak tinggi. Kontrol normal memiliki perbedaan yang nyata dengan kontrol positif dan berbeda dengan kelompok perlakuan (dosis I, dosis II dan dosis III). Kelompok kontrol negatif juga menunjukkan perbedaan yang nyata dengan kelompok perlakuan yang lainnya. Kelompok kontrol positif tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata dengan ketiga kelompok yaitu kontrol dosis I, dosis II dan dosis III. Hal ini menunjukkan bahwa dosis I, dosis II dan dosis III memberikan efek penurunan yang sebanding dengan dosis pembanding

(simvastatin). Dosis yang efektif adalah dosis III yang tidak berbeda nyata dengan kontrol positif.

Tabel 5. Hasil analisa perubahan kadar kolesterol pada hari ke-0 sampai hari ke-21 pada berbagai kelompok perlakuan hewan uji dengan menggunakan SNK

Kelompok Perlakuan	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Dosis I	Dosis II	Dosis III
Kontrol Normal		*	*	*	*	*
Kontrol Negatif			*	*	*	*
Kontrol Positif				*	*	
Dosis I						*
Dosis II						
Dosis III						

(*)= Ada perbedaan yang signifikan dari hari ke-0 sampai hari ke-21

Penurunan kadar kolesterol dari daun sarang sarang dipengaruhi oleh kandungan flavonoid yang dimiliki. Menurut Dalimartha (2003) flavonoid merupakan antioksidan yang mampu memperkuat dinding sel darah merah dan menghambat oksidasi LDL sehingga mengurangi terjadinya proses penimbunan kolesterol dalam darah. Flavonoid sendiri dalam peranannya untuk mempengaruhi sekresi kolesterol, berpotensi sebagai inhibitor dari proses diferensiasi sel-sel lemak di dalam tubuh, sehingga maturasi pembentukan lemak (adipogenesis) menjadi terhambat dan otomatis akan ikut menurunkan sintesis kolesterol di dalam darah. Beberapa flavonoid juga berpotensi untuk menginduksi lipolisis di sel-sel adiposit. Flavonoid diketahui juga berperan sebagai natural antioksidan, yang potensial untuk menghambat pembentukan lemak yang berasal dari sel-sel lemak, sehingga mempengaruhi ekspresi kolesterol di dalam darah.

Kerja isoflavon menghambat perkembangan penyakit kardiovaskuler mirip dengan estrogen yaitu sebagai kardioprotektif. Kerjanya melalui mekanisme perbaikan profil lipid, yaitu menurunkan kolesterol total, LDL dan trigliserida

serta meningkatkan HDL, pada orang-orang dengan kadar kolesterol tinggi (Winarsi, 2005).

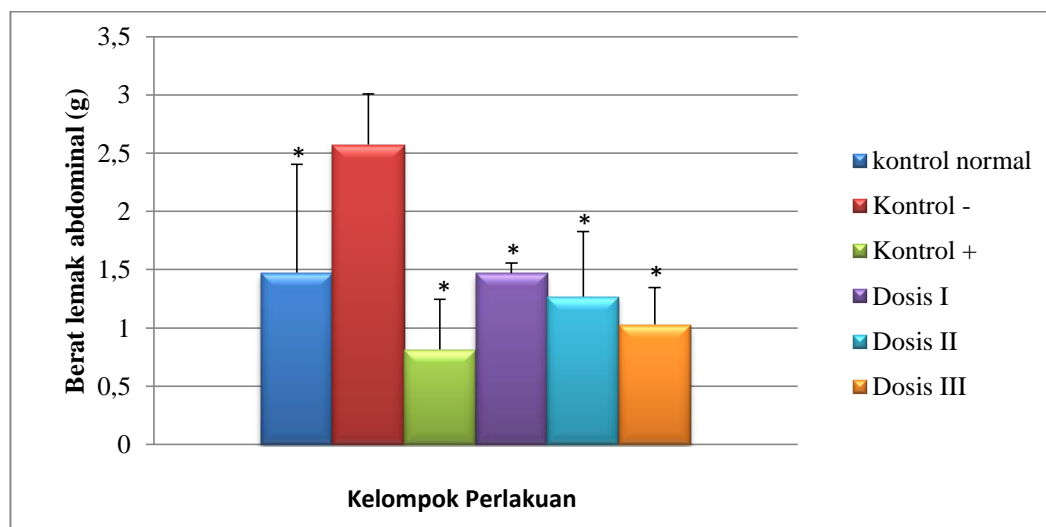
H. Hasil Penimbangan Lemak Abdominal Setelah Perlakuan

Penimbangan lemak abdominal dilakukan setelah 21 hari perlakuan. Setelah 21 hari hewan percobaan dipuasakan 1 hari (24 jam) kemudian dianestesi untuk dapat dilakukan pembedahan di mana rongga perut dibuka untuk memisahkan lemak abdominal sehingga dapat ditimbang lemak abdominal sebagai data. Hasil penimbangan berat lemak abdominal ini kemudian dibuat rata-rata. Hasil rata-rata penimbangan berat lemak abdominal hewan uji setelah perlakuan dapat dilihat pada Tabel 9. Hasil penimbangan berat lemak abdominal setelah perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 14. Grafik rata-rata berat lemak abdominal setelah perlakuan dapat dilihat pada Gambar 5.

Berdasarkan tabel 9 dan gambar 5, diperoleh rata-rata penimbangan dari masing-masing kelompok perlakuan yaitu : dosis 18 mg/200 g BB tikus setelah perlakuan 1,468 g; dosis 36 mg/200 g BB tikus setelah perlakuan 1,266 g; dosis 72 mg/200 g BB tikus setelah perlakuan 1,029 g; kontrol positif setelah perlakuan 0,814 g; kontrol negatif setelah perlakuan 2,571 g dan kontrol normal setelah perlakuan 1,476 g.

Tabel 6. Hasil rata-rata penimbangan berat lemak abdominal

Kelompok	Hasil penimbangan (g)
Dosis I 18 mg/200g BB tikus	1,468
Dosis II 36 mg/200 g BB tikus	1,266
Dosis III 72 mg/200 g BB tikus	1,029
Kontrol positif (simvastatin) 0,18 mg/200 g BB tikus	0,814
Kontrol negatif	2,571
Kontrol normal	1,476



Gambar 5. Grafik penimbangan lemak abdominal tiap ekor tikus setelah perlakuan

Keterangan tabel 9 dan gambar 5 :

Kontrol normal : Tidak diberi perlakuan

Kontrol negatif : CMC 0,5 %

Kontrol positif : Simvastatin 0,18 mg/200 g BB tikus

Dosis I : Ekstrak daun sarang semut dosis 18 mg/200 g BB tikus

Dosis II : Ekstrak daun sarang semut dosis 36 mg/200 g BB tikus

Dosis III : Ekstrak daun sarang semut dosis 72 mg/200 g BB tikus

(*) : Berbeda signifikan terhadap kontrol negatif dengan uji *SNK* ($P < 0,05$)

Data hasil penimbangan kadar lemak abdominal dianalisis dengan statistik yang terlebih dahulu dilakukan uji distribusi dengan *Kolmogrov-Smirnov* untuk melihat datanya terdistribusi normal atau tidak. Kriteria uji ini adalah nilai signifikasinya (*Asymp.Sig*) lebih dari 0,05. Hasil uji *Kolmogrov-Smirnov* diperoleh nilai signifikasinya $>0,05$ pada semua kelompok, yang berarti data tersebut terdistribusi normal, hasil pengujiannya dapat dilihat pada Lampiran 17.

Setelah melihat dosis yang paling efektif maka dilanjutkan dengan uji statistik *one-way ANOVA* dan dilanjutkan dengan *Post Hock*. Dari hasil pengujian diperoleh data bahwa kelompok kontrol negatif memiliki rata-rata kadar lemak abdominal yang lebih besar dibanding kelompok kontrol yang lain. Hal ini

disebabkan karena pada kelompok kontrol ini tidak diberi obat atau ekstrak yang mampu mengurangi kadar lemak abdominalnya. Dari ketiga variasi dosis yang diberikan, dosis 72 mg/200 g BB tikus lebih efektif dibanding dosis 36 mg/200 g BB tikus dan dosis 18 mg/200 g BB tikus.

Berkurangnya lemak abdominal akan menjadi sangat bermakna, dikarenakan kelebihan lemak di bagian abdomen merupakan salah satu faktor risiko dari penyakit kardiovaskular. Lemak intraabdominal (viseral) memiliki kadar *turnover* kolesterol yang tertinggi dan kelebihan adiposit visceral adalah hal yang paling berkaitan dengan gangguan metabolik terutama resistensi insulin dan hiperkolesterolemia. Lemak subkutan pada bagian tubuh atas adalah yang berikutnya, sedangkan lemak subkutan pada bagian tubuh bawah memiliki tingkat *turnover* kolesterol yang paling rendah, sehingga kelebihan lemak subkutan pada bagian tubuh bawah adalah yang paling kecil membawa dampak metabolik. Pada keadaan *postabsorptive*, adiposit yang teregang akan melepaskan lebih banyak jumlah asam lemak ke dalam sirkulasi (Maki *et al.* 2009).

Kelebihan masukan energi daripada pengeluaran energi akan mengarah menjadi akumulasi lemak abdominal pada tubuh. Massa lemak sendiri ditentukan oleh keseimbangan antara pemecahan (lipolisis) dan sintesis (lipogenesis). Sistem saraf simpatis adalah perangsang utama dari lipolisis, yang akan menyebabkan berkurangnya deposit lemak, terutama jika penggunaan energi individu meningkat. Jika masukan melebihi penggunaan energi, akan terjadi lipogenesis di hati dan jaringan adiposa. Lipogenesis dipengaruhi oleh diet (meningkat oleh asupan kaya kolesterol) dan hormon (terutama Growth Hormone (GH), insulin

dan leptin). Hormon utama yang terlibat dalam penyimpanan lemak adalah insulin (akan menstimulasi lipogenesis), GH, leptin (yang akan mengurangi lipogenesis). Hormon lain yang terlibat dalam regulasi lemak tubuh termasuk hormon seks seperti testosteron (Molina, 2006).

Jaringan adiposa abdominal adalah organ yang kompleks dan terdiri dari beberapa kompartemen dan subkompartemen, termasuk lemak subkutan dan lemak intra-abdominal, yang dapat dibagi menjadi lemak retroperitoneal dan intraperitoneal, yang dapat dibagi lagi menjadi massa lemak mesenterik dan omental. Lemak intraperitoneal juga dikenal sebagai jaringan adiposa viseral (visceral adipose tissue) dianggap sebagai penanda risiko metabolik (Klein, 2010). Lemak abdominal terdiri dari lemak subkutan abdomen dan lemak intraabdomen, yang secara jelas nampak lewat CT Scan dan MRI. Jaringan adiposa intraabdomen terdiri dari lemak viseral atau intraperitoneal yang terdiri dari lemak omental dan mesenterik dan massa lemak retroperitoneal yang dibatasi oleh batas dorsal dari intestine dan bagian ventral dari ginjal (Wajchenberg, 2000).

Menurut (Diepvens *et al.* 2007; Belza *et al.* 2009), secara mendasar terdapat 2 cara untuk mencegah atau menurunkan kadar lemak abdominal, yakni mengurangi masukan energi atau meningkatkan pengeluaran energi. Senyawa flavonoid dapat menghambat enzim catechol O-methyl-transferase (COMT), enzim yang mendegradasi norepinefrin. Dengan terhambatnya enzim COMT oleh catechin, terjadi reduksi degradasi norepinefrin yang akan menghasilkan penambahan waktu kerja norepinefrin pada sistem saraf simpatis. Aktivasi sistem saraf simpatis ini akan menstimulasi pengeluaran energi di antaranya dengan meningkatkan termogenesis dan oksidasi lemak.

Flavonoid dapat meningkatkan oksidasi lemak, terutama dalam periode postprandial. Peningkatan oksidasi lemak dapat disebabkan oleh bertambahnya oksidasi lemak hepar yang diaktivasi secara simpatik. Sistem saraf simpatis berperan dalam mobilisasi lipid dari depot adiposa (Maki *et al.* 2009).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, pemberian ekstrak etanolik daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack.) memiliki pengaruh terhadap kadar kolesterol total serum darah dan berat lemak abdominal tikus putih jantan galur wistar yang diberi diet tinggi lemak, yaitu mampu menurunkan kadar kolesterol total dan berat lemak abdominal tikus putih jantan galur wistar yang diberi diet tinggi lemak.

Kedua, dosis pemberian ekstrak etanolik daun sarang semut (*Hydnophytum formicarum* Jack.) yang paling efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total serum darah dan berat lemak abdominal tikus putih jantan galur wistar adalah dosis 72 mg/200 g BB.

B. Saran

Dalam penelitian ini masih banyak kekurangan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut lagi mengenai:

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode lain yang lebih efektif menurunkan kadar kolesterol total dan lemak abdominal.

Kedua, perlu dilakukan uji toksisitas akut dan kronis untuk mengetahui kemungkinan adanya efek samping dari ekstrak etanol daun sarang semut yang dipakai dalam jangka panjang pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesta FEA., Dani R, Budhi S. 2010. Pengaruh pemberian simvastatin terhadap fungsi memori jangka pendek tikus wistar hiperlipidemi. *Artikel Penelitian*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Adyana K. 2008. *Dasar-Dasar Anatomi dan Fisiologi Tubuh Manusia 2*. Bandung: Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.
- Andriani Y. 2007. Uji aktivitas antioksidan ekstrak betaglukan dari *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Gradien* 3 (1) :226-230.
- As'adi Muhammad, 2011. *Sarang Semut dan Buah Merah Pembasmi Ragam Penyakit Ganas*. Yogyakarta: Penerbit Laksana.
- Belza, A., Toubro, S., Astrup, A. 2009. The effect of caffeine, green tea and tyrosine on thermogenesis and energy intake. *European Journal of Clinical Nutrition* 63, 57-64. Macmillan Publishers Limited. <http://proquest.umi.com/pqdweb?index=2&did=1622618041&SrchMode=1&sid=3&Fmt=6&VInst=PROD&VType=PQD&RQT=309&VName=PQD&TS=1296616266&clientId=74186>, diakses 7 januari 2016.
- Dalimartha S. 2007. 36 *Resep Tumbuhan Obat untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya. 2-4, 28-29.
- Dalimartha S. 2010. 36 *Resep Tumbuhan Obat untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya. 1 – 13, 30 – 31.
- Defrin DP, Rahimah SB, Yuniarti L. 2010. Efek anti diare air umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens*) pada mencit putih (*Mus musculus*). *Prosiding SNaPP*.
- Dewi NCP. 2013. Pengaruh pemberian ekstrak kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap kadar kolesterol LDL serum tikus hiperkolesterolemia. Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang. *Artikel Penelitian* hlm. 20, 24-27.
- Diepvens, K., Westerterp, K.R., Westerterp-Platenga, M.S. 2007. Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. *AJP - Regu Physiol* January 2007 vol. 292 no. 1 R77-R85. <http://ajpregu.physiology.org/content/292/1/R77.full>, diakses 7 januari 2016.

- Efendi, Hartiani. 2012. Potensi antimikroba ekstrak etanol sarang semut (*Myrmecodia tuberosa* Jack.) terhadap *Candida albicans*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Traditional Medicine Journal*, 18(1), p 53-58.
- Ernawati, Susanti H. 2014. Penghambatan aktivitas *xanthine oxidase* oleh ekstrak etanol sarang semut (*Myrmecodia tuberosa* (non Jack) Bl.) secara *in vitro*. *Pharmacia* 4 (1): 15-22.
- Fatmawati E. 2008. Pengaruh lama pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) terhadap kadar kolesterol, LDL (*Low Density Lipoprotein*), HDL (*High Density Lipoprotein*) dan trigliserida darah tikus (*Rattus norvegicus*) diabetes [Skripsi]. Bandung: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri.
- Gilman AG, Hardman GJ, Limbird LE, editor. 2007. *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*. Ed ke-10. Volume 1. Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB, penerjemah; Jakarta: EGC. hlm 943. Terjemahan dari: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*.
- Harborne. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. diterjemahkan oleh Padmawinata K, Terbitan Kedua. Bandung: Penerbit ITB. hlm 102. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hayati *et al.* 2010. Fraksinasi dan identifikasi senyawa tanin pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia* 4 (2): 193-200.
- Hendarsula RA. 2011. Efek Imunostimulan Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia archboldiana*) pada Tikus Putih Jantan [Skripsi]. Jakarta: Departemen Farmasi, FMIPA UI.
- Hernani, Rahardjo M. 2004. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 17.
- Irianty, Rozanna S, Verawati, Riris. 2012. Variasi komposisi pelarut methanol-air pada ekstraksi daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *PROSIDING SNTK TOPI*.
- Istiadi H, Sunarsih ES. 2010. Pengaruh jus lidah buaya (*Aloe vera* Linn) terhadap kadar kolesterol tikus hiperlipidemia. *Media Medika Muda* 4:6.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar piperin buah cabe jawa (*Piperis retrofracti fructus*) [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.

- Jawi IM, Budiasa K. 2011. Ekstrak air umbi ubi jalar ungu menurunkan total kolesterol dan serta meningkatkan total antioksidan darah kelinci. *Jurnal Veteriner* 12: 121.
- Karyani D. 2012. Perut ramping dengan pola makan tepat. <http://winanto.typepad.com/blog/2012/01/fit-perut-ramping-dengan-pola-makan-tepat.html> [1 Maret 2014].
- Kharmayani MR, Lutfi H, Soesilowati D. 2013. Pengaruh simvastatin terhadap kadar proliferasi limfosit mencit Balb/C yang diinduksi sepsis dengan *LPS*. *V* (3): 193-201.
- Klein S. 2010. Is Visceral Fat Responsible for the Metabolic Abnormalities Associated With Obesity? Implications of omentectomy. *Diabetes Care* Vol. 33 No. 7 : 1693 - 1694. <http://care.diabetesjournals.org/content/33/7/1693.long>, diakses 5 januari 2016.
- Kristina, D. 2008. Efek anti inflamasi ekstrak etanol umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perri) pada tikus (*Ratus norvegicus* L). [Skripsi]. Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Surakarta.
- Maki KC, Reeves M.S, Farmer M, Yasunaga K, Matsuo N, Katsuragi Y, Komikado M, Tokimitsu I, Wilder D, Jones F, Blumberg JB, Cartwright Y. 2009. Green Tea Catechin Consumption Enhances Exercise-Induced Abdominal Fat Loss in Overweight and Obese Adults. *Journal of Nutrition*. Vol. 139, No. 2, 264-270. <http://jn.nutrition.org/cgi/reprint/139/2/264>. Diakses 6 januari 2016.
- Molina PE. 2006. *Lange Physiology Series, Endocrine Physiology*. International edition. 2nd edition. McGraw Hill. Halaman 247-262.
- Noverina A. 2011. Kikis lemak perut dengan diet sehat. <http://kamuskesehatan.com/arti/jaringanadiposa/> [14 Februari 2013].
- Oentoseno, Teddy. 2006. Pencegahan Primordial Penyakit Jantung Koroner. <http://pediatrik.com/buletin/06224113606-2g3Xih.doc>, diakses 18 Nofember 2013.
- Plantamor. 2011. *Hydnophytum formicarum*. <http://www.plantamor.com>. Diakses tanggal 29 November 2013.
- Povey, Robert. 2002. *Memantau Kadar Kolesterol Anda*. Wulandari, Widayanti D, penerjemah; Jakarta : Penerbit Arcan. Terjemahan dari: *How to Keep Your Cholesterol in check*.

- Prachayasittikul, S., Burapa ruangsang, P., Worachart cheewan, A., Isaran kurana., Ayudya, C., Ruchirawat, S., and Prachayasittikul, V. (2008). Antimicrobial and Antioxidative Activities of Bioactive Constituents from *Hydnophytum formicarum* Jack. *Molecules* 13:904-921.
- Purwani NPR. 2012. Pengaruh pemberian nata de coco terhadap kadar kolesterol total pada wanita hiperkolesterolemia. *Artikel Penelitian*. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Penerjemah Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic of Constituent of Higher Plant*.
- Roslizawaty, Budiman H, Laila H, Herrialfian, 2013. Pengaruh ekstrak etanol sarang semut (*Myrmecodia sp.*) terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit (*Mus musculus*) jantan yang hiperurisemia. *Jurnal Medika Veterinaria* 7 (2): 112.
- Siajadi Y. 2014. Pemberian ekstrak etanol kunyit (*Curcuma longa*) mencegah kenaikan berat badan dan lemak abdominal pada tikus wistar jantan yang diberi makanan tinggi karbohidrat tinggi lemak [Tesis]. Denpasar: Fakultas Ilmu Biomedik, Universitas Udayana.
- Sjahid LR. 2008. Isolasi dan identifikasi flavonoid dari daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah.
- Smith BJ, Mangkoewidjojo S. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Soeksmanto A, Simanjuntak P, Subroto MA. 2010. Uji toksisitas akut ekstrak air tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendans*) terhadap histologi organ hati mencit. *Jurnal Natur Indonesia* 12(2): 152-155.
- Subinarto, Djoko. 2004. *Bebas Kolesterol, Kiat Jitu hidup Sehat Tanpa Kolesterol*. Bandung : Nexx Media
- Subroto A dan Saputro H. 2008. *Gempur Penyakit dengan Sarang Semut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta : Liberty Yogyakarta. Hlm 64-66.
- Sudewo B. 2004. *Tanaman Obat Populer Penggempur Aneka Penyakit*. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
- Sugiyanto.1995. *Metodologi Penelitian*. Surakarta: UNS Press.

- Sundari, Santy. 2012. Pengaruh pemberian yoghurt kedelai hitam (*Black Soyghurt*) terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida pada laki-laki penderita dislipidemia usia 40-55 tahun [Skripsi]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Syahnur, S.R. 2011. Isolasi dan Karakterisasi Triterpenoid dari Tumbuhan Sarang Semut [Skripsi]. Padang, Universitas Andalas.
- Vanessa R, Purwijantiningsih LME, Aida Y. 2013. Pemanfaatan minuman serbuk instan kayu manis (*Cinnamomum burmanii* BI.) untuk menurunkan kadar kolesterol total darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah* hlm 3-4.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm 564. Terjemahan dari: *Lehrbuch Der Pharmazeutischen Technologie*.
- Wajchenberg, B.L., 2000. Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome, *Endocrine Reviews* 21 (6):697-738. Available from : <http://edrv.endojournals.org/cgi/content/full/21/6/697>. Diakses 7 januari 2016.
- Wardhani LK, Sulistyani N. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella flexneri* beserta profil Kromatografi Lapis Tipis [Jurnal Ilmiah Kefarmasian]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan. 2 (1): 1-16.
- Winarsi, Hery. 2005. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wulansari NH, Sejati AA, Supriatno, Indrayanti. 2010. Efektivitas ekstrak etanol tanaman sarang Semut terhadap proliferasi sel kanker lidah manusia (SP-C1) *in vitro experimental study*. *Prosiding Seminar Ilmiah Nasional Kesehatan* 66-69.
- Yuliana MN. 2014. Uji aktivitas teh celup daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) terhadap penurunan berat badan dan penurunan lemak abdominal pada tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman



**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/BSI / Ident/Det/III/2015

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Ing Janurabes Kase
NIM. 17113273 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
168	<i>Hydnophytum formicarum</i> Jack.	Rubiaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 26 Maret 2015
Ketua



Prak.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 Zealand

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 : Ing Janurabes Kase

Nim : 17113224 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 : -

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, 12 Juni 2015

Hormat kami



Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Foto Tanaman Daun Sarang Semut dan Serbuk Daun Sarang Semut



Foto Tanaman Sarang semut



Foto daun sarang semut



Foto serbuk daun sarang semut

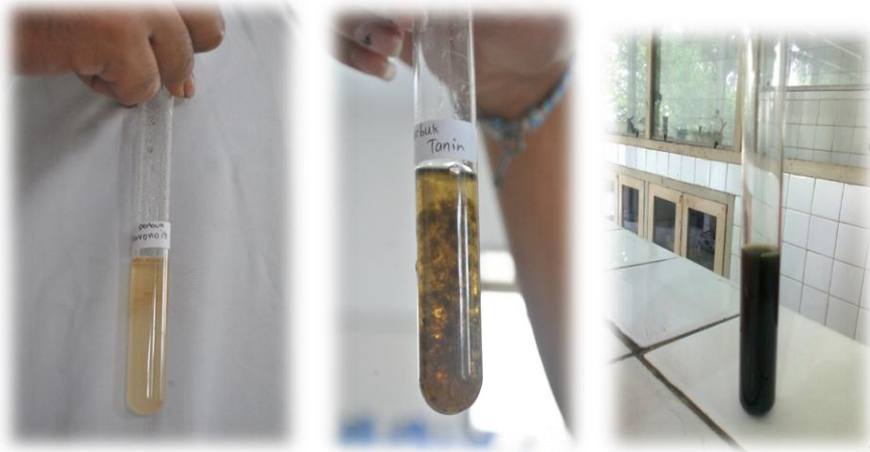
Lampiran 4. Foto bejana maserasi dan hasil ekstrak daun sarang semut



Foto Bejana Maserasi



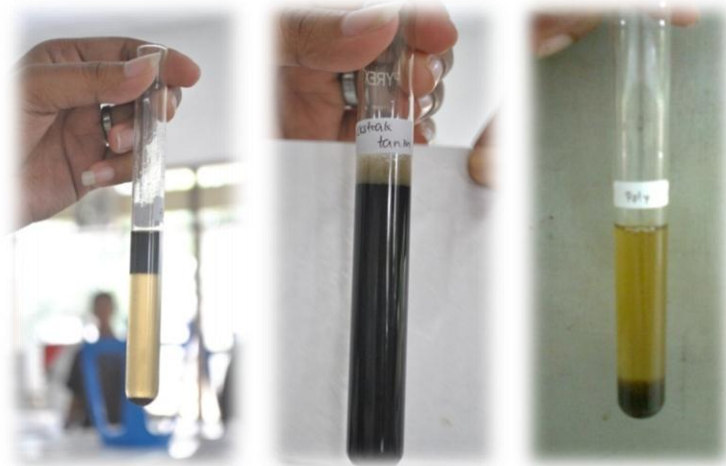
Foto hasil Ekstrak kental daun sarang semut

Lampiran 5. Identifikasi serbuk dan ekstrak daun sarang semut**A. Serbuk**

Flavonoid

Tanin

Polifenol

B. Ekstrak

Flavonoid

Tanin

Polifenol

Lampiran 6. Foto tikus putih dan pengambilan darah serta pemberian sediaan



Foto Pengambilan Darah



Foto Tikus Putih

Lampiran 7. Foto alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian

Spektrofotometri



Vortex



Centrifuge



Reagen kolesterol total



Mikrohematokrit



Evaporator



Sterling bidwell



Larutan stok

Lampiran 8. Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%)
3600	730	20,27%

Rendemen kering daun sarang semut dapat diperoleh dengan rumus :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot kering (gram)}}{\text{bobot basah (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{730 \text{ (gram)}}{3600 \text{ (gram)}} \times 100\%$$

$$= 20,27 \%$$

Lampiran 9. Hasil penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun sarang semut

Bahan	No	Penimbangan (g)	Skala (ml)	Kadar (%)
Serbuk	1	20 g	1,6	8
	2	20 g	1,7	8,5
	3	20 g	1,5	7,5
Rata-rata ± SD				8 ± 0,5
Ekstrak	1	10 g	0,7	7
	2	10 g	0,5	5
	3	10 g	0,8	8
Rata-rata ± SD				6,6 ± 1,5

Perhitungan penetapan kadar air

$$\text{Rumus} = \frac{\text{volume air}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% = \dots\%$$

$$\text{Rumus} = \frac{\text{volume air}}{\text{berat ekstrak}} \times 100\% = \dots\%$$

$$1. \text{ \% kadar air} = \frac{1,6}{20} \times 100\% = 8\%$$

$$1. \text{ \% kadar air} = \frac{0,7}{10} \times 100\% = 7\%$$

$$2. \text{ \% kadar air} = \frac{1,7}{20} \times 100\% = 8,5\%$$

$$2. \text{ \% kadar air} = \frac{0,5}{10} \times 100\% = 5\%$$

$$3. \text{ \% kadar air} = \frac{1,5}{20} \times 100\% = 7,5\%$$

$$3. \text{ \% kadar air} = \frac{0,8}{10} \times 100\% = 8\%$$

Rata – rata kadar air serbuk dan ekstrak daun sarang semut adalah

$$\text{Serbuk} = \frac{8\% + 8,5\% + 7,5\%}{3} = 8\% \quad \text{Ekstrak} = \frac{7\% + 5\% + 8\%}{3} = 6,6\%$$

Jadi, rata-rata kadar air serbuk daun sarang semut adalah 8 % yang berarti kurang dari 10%. Rata-rata kadar air ekstrak daun sarang semut adalah 6,6 % yang berarti kurang dari 30%.

Lampiran 10. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun sarang semut

Berat awal serbuk (g)	Berat wadah kosong (g)	Berat wadah + zat (g)	Rendemen (%)
500	121,07	50	10

Perhitungan % rendemen ekstrak etanol daun sarang semut

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental (g)}}{\text{berat awal serbuk (g)}} \times 100 \%$$

$$= \frac{50}{500} \times 100 \%$$

$$= 10 \%$$

Jadi, rendemen ekstrak daun sarang semut terhadap berat serbuk daun sarang semut adalah 10 % b/b.

Lampiran 11. Perhitungan dosis, pembuatan larutan stok simvastatin

Dosis simvastatin ditentukan berdasarkan faktor konversi dari manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018. Dosis pemakaian simvastatin untuk manusia (70 kg) yaitu 10 mg/hari. Maka hasil konversi dosis simvastatin untuk tikus sebesar = $10 \text{ mg} \times 0,018 = 0,18 \text{ mg}/200 \text{ g}$ BB tikus.

1. Larutan stok simvastatin dibuat konsentrasi 0,018 % b/v = 0,018 g/100 ml yang berarti dalam 1 ml larutan tersebut mengandung 0,18 mg simvastatin.

Perhitungan volume pemberian untuk simvastatin sebagai berikut :

$$\text{Berat badan tikus} = 200 \text{ g}$$

$$\text{Dosis untuk tikus} = 0,18 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$$

$$\text{Larutan stok} = 0,018 \% = 0,018 \text{ g}/100 \text{ ml} = 0,18 \text{ mg/ml}$$

Timbang 0,018 g serbuk simvastatin lalu dicampurkan kedalam suspensi CMC dan aquadest hingga volume 100 ml.

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,18}{0,18} \times 1 \text{ ml}$$

$$= 1 \text{ ml}/200 \text{ g BB}$$

Volume cairan maksimal yang diberikan peroral kepada tikus sebanyak 1 ml/200 g BB

2. Perhitungan volume pemberian berdasarkan berat badan tikus kontrol positif

No	Berat badan tikus (g)	Volume pemberian oral (ml)	Perhitungan volume
1	180	0,9	$V = \frac{180}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,9 \text{ ml}$
2	190	0,95	$V = \frac{190}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$
3	200	1	$V = \frac{200}{200} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$
4	170	0,85	$V = \frac{170}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,85 \text{ ml}$
5	185	0,92	$V = \frac{185}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,92 \text{ ml}$

3. Perhitungan dosis CMC 0,5 %

A. Kontrol normal

No	Berat badan (g)	Volume pemberian (ml)	Perhitungan volume pemberian
1	173	0,86	$V = \frac{173}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,86 \text{ ml}$
2	168	0,84	$V = \frac{168}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,84 \text{ ml}$
3	175	0,87	$V = \frac{175}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,87 \text{ ml}$
4	170	0,85	$V = \frac{170}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,85 \text{ ml}$
5	175	0,87	$V = \frac{175}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,87 \text{ ml}$

B. Kontrol negatif

No	Berat badan (g)	Volume pemberian (ml)	Perhitungan volume pemberian
1	187	0,93	$V = \frac{187}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,93 \text{ ml}$
2	193	0,96	$V = \frac{193}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,96 \text{ ml}$
3	180	0,9	$V = \frac{180}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,9 \text{ ml}$
4	190	0,95	$V = \frac{190}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$
5	185	0,95	$V = \frac{185}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$

Lampiran 12. Perhitungan dosis, pembuatan larutan stok dan penetapan volume pemberian ekstrak

Dosis ekstrak daun sarang semut dihitung berdasarkan dosis empiris yaitu 20 gram serbuk. Rendemen berat kering terhadap berat basah adalah 20,27 %. Rendemen ekstrak adalah 10%. Konversi dosis dari manusia ke tikus yaitu 0,018.

Perhitungan dosis untuk tikus = DE \times faktor konversi \times rendemen %

$$= 20000 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 \%$$

$$= \frac{36 \text{ mg}}{200 \text{ g}} \text{ BB tikus}$$

a. Dosis I = $\frac{1}{2}$ DE ($\frac{18 \text{ mg}}{200 \text{ mg}}$ BB tikus)

$$\text{Larutan stok} = 0,18\% \text{ } ^b/v = 1,8 \text{ mg/ml} \text{ (} 0,18 \text{ g/100 ml)} = 18 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Volume pemberian (200 g BB tikus)} = \frac{1,8 \text{ mg}}{1,8 \text{ mg/ml}} = 1 \text{ ml/200 g BB}$$

- Tikus dengan BB 186 g = $\frac{186 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,93 \text{ ml}$
- Tikus dengan BB 180 g = $\frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,9 \text{ ml}$
- Tikus dengan BB 193 g = $\frac{193 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,96 \text{ ml}$
- Tikus dengan BB 185 g = $\frac{185 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,92 \text{ ml}$
- Tikus dengan BB 190 g = $\frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$

b. Dosis II = 1 DE ($\frac{36 \text{ mg}}{200 \text{ mg}}$ BB tikus)

$$\text{Larutan stok} = 0,36\% \text{ } ^b/v = 3,6 \text{ mg/ml} \text{ (} 0,36 \text{ g/100ml)} = 36 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Volume pemberian (200g BB tikus)} = \frac{3,6 \text{ mg}}{3,6 \text{ mg/ml}} = 1 \text{ ml/200g BB}$$

- Tikus dengan BB 190 g = $\frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$

- Tikus dengan BB 187 g = $\frac{187 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,93 \text{ ml}$
- Tikus dengan BB 195 g = $\frac{195 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,97 \text{ ml}$
- Tikus dengan BB 188 g = $\frac{188 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,94 \text{ ml}$
- Tikus dengan BB 197 g = $\frac{197 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,98 \text{ ml}$

c. Dosis III = 2 DE ($\frac{72 \text{ mg}}{200 \text{ mg}}$ BB tikus)

$$\text{Larutan stok} = 0,72\% \text{ } ^b/v = 7,2 \text{ mg/ml} \text{ (} 0,72 \text{ g/100ml)} = 72 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Volume pemberian (200g BB tikus)} = \frac{7,2 \text{ mg}}{7,2 \text{ mg/ml}} = 1 \text{ ml/200g BB}$$

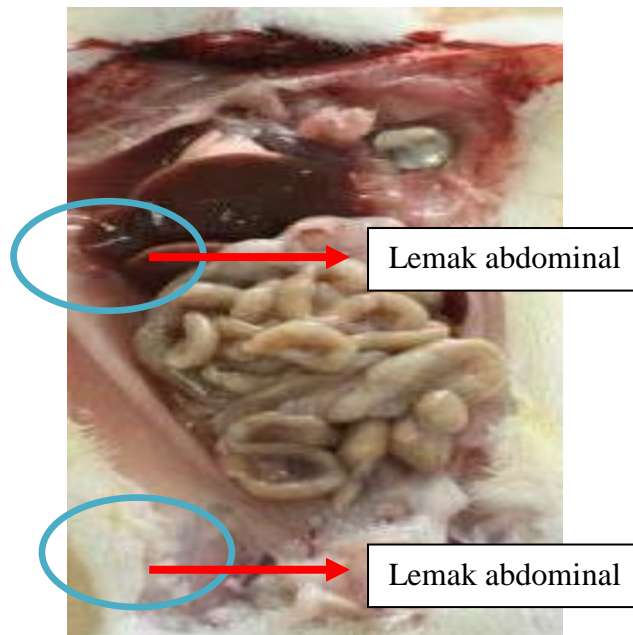
- Tikus dengan BB 192 g = $\frac{192 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,96 \text{ ml}$
- Tikus dengan BB 195 g = $\frac{195 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,97 \text{ ml}$
- Tikus dengan BB 188 g = $\frac{188 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,94 \text{ ml}$
- Tikus dengan BB 191 g = $\frac{191 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$
- Tikus dengan BB 185 g = $\frac{185 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 0,92 \text{ ml}$

Lampiran 13. Hasil pengukuran kadar kolesterol total serum darah tikus

Replikasi	No	Hari ke-0 (mg/dl)	Hari ke-14 (mg/dl)	Hari ke-21 (mg/dl)	Peningkatan (T ₁₄ -T ₀)	Penurunan (T ₁₄ -T ₂₁)
Kontrol normal	1	88	90	89	2	1
	2	92	94	91	2	3
	3	114	104	107	-10	-3
	4	94	90	92	-4	-2
	5	70	72	80	2	-8
Rata-rata ± SD		91,6 ± 15,7	90 ± 11,6	91,8 ± 9,7	-1,6 ± 5,4	-1,8 ± 4,2
Kontrol negatif	1	81	235	204	154	31
	2	110	221	229	111	-8
	3	116	209	237	93	-28
	4	85	201	218	116	-17
	5	92	200	220	108	-20
Rata-rata ± SD		96,8 ± 15,5	213,2 ± 14,8	221,6 ± 12,4	116,4 ± 22,7	-8,4 ± 23,2
Kontrol positif	1	97	232	94	135	138
	2	90	220	87	130	133
	3	86	207	85	121	122
	4	94	201	95	107	106
	5	107	200	93	93	107
Rata-rata ± SD		94,8 ± 7,9	212 ± 13,7	90,8 ± 4,5	117,2 ± 17,2	121,2 ± 14,6
Dosis I	1	80	232	162	152	70
	2	97	215	188	118	27
	3	83	204	173	121	31
	4	92	201	192	109	9
	5	85	197	169	112	28
Rata-rata ± SD		87,4 ± 6,9	209,8 ± 14,1	176,8 ± 12,8	122,4 ± 17,2	33 ± 22,4
Dosis II	1	82	232	102	150	130
	2	98	215	182	117	33
	3	116	203	140	87	63
	4	102	200	133	98	67
	5	84	187	150	103	37
Rata-rata ± SD		96,4 ± 13,9	207,4 ± 16,9	141,4 ± 28,9	111 ± 24,3	66 ± 38,8
Dosis III	1	63	231	118	168	113
	2	104	210	104	106	106
	3	121	202	115	81	87
	4	97	200	102	103	98
	5	82	180	106	98	74
Rata-rata ± SD		93,4 ± 22	204,6 ± 18,4	109 ± 7,1	111,2 ± 33,2	95,6 ± 15,5

Lampiran 14. Hasil penimbangan berat lemak abdominal tiap ekor tikus setelah perlakuan

Kelompok	Replikasi	Berat lemak (g)
Kontrol normal	1	1,110
	2	2,221
	3	1,492
	4	2,431
	5	0,124
	Rata-rata	1,4756
Kontrol positif	1	1,421
	2	0,702
	3	0,256
	4	0,692
	5	0,998
	Rata-rata	0,8138
Kontrol negatif	1	2,210
	2	3,124
	3	2,898
	4	2,510
	5	2,112
	Rata-rata	2,5708
Dosis I	1	1,388
	2	1,423
	3	1,543
	4	1,402
	5	1,582
	Rata-rata	1,4676
Dosis II	1	0,331
	2	1,443
	3	1,582
	4	1,762
	5	1,212
	Rata-rata	1,266
Dosis III	1	0,689
	2	0,731
	3	1,279
	4	1,046
	5	1,402
	Rata-rata	1,0294

Lampiran 15. Lemak abdominal pada tikus

Lampiran 16. Hasil uji normalitas kadar kolesterol total (Kolmogorov-Smirnov Test)

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kontrol normal t0	5	91.60	15.710	70	114
kontrol normal t1	5	90.00	11.576	72	104
kontrol normal t2	5	91.80	9.731	80	107
kontrolnegatif t0	5	96.80	15.450	81	116
kontrolnegatif t1	5	213.20	14.805	200	235
kontrolnegatif t2	5	221.60	12.422	204	237
kontrolpositif t0	5	94.80	7.981	86	107
kontrolpositif t1	5	212.00	13.730	200	232
kontrolpositif t2	5	90.80	4.494	85	95
dosis 1 t0	5	87.40	6.950	80	97
dosis 1 t1	5	209.80	14.096	197	232
dosis 1 t2	5	176.80	12.755	162	192
dosis 2 t0	5	96.40	13.957	82	116
dosis 2 t1	5	207.40	16.979	187	232
dosis 2 t2	5	141.40	28.927	102	182
dosis 3 t0	5	93.40	22.030	63	121
dosis 3 t1	5	204.60	18.434	180	231
dosis 3 t2	5	109.00	7.071	102	118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kontrol normal t0	kontrol normal t1	kontrol normal t2	Kontrol negatif t0	Kontrol negatif t1	kontrol negatif t2	kontrol positif t0	kontrol positif t1	kontrol positif t2	dosis 1 t0	dosis 1 t1	dosis 1 t2	dosis 2 t0	dosis 2 t1	dosis 2 t2	dosis 3 t0	dosis 3 t1	dosis 3 t2
N														5	5	5	5	5	5
Normal	Mean	91.6	90.0	91.8	96.8	213.2	221.6	94.8	212.0	90.8	87.4	209.8	176.8	96.40	207.40	141.40	93.40	204.60	109.00
Parameters ^{a,b}	Std. Deviation	15.71	11.57	9.73	15.45	14.80	12.42	7.98	13.73	4.49	6.95	14.09	12.75	13.957	16.979	28.927	22.030	18.434	7.071
Most Extreme Differences	Absolute	.23	.30	.29	.22	.21	.18	.19	.24	.28	.23	.26	.21	.213	.202	.186	.165	.201	.264
	Positive	.23	.16	.29	.22	.21	.15	.19	.24	.20	.23	.26	.21	.213	.202	.183	.116	.185	.264
	Negative	-.20	-.30	-.18	-.20	-.18	-.18	-.13	-.19	-.28	-.14	-.18	-.21	-.151	-.131	-.186	-.165	-.201	-.202
Kolmogorov-Smirnov Z		.53	.67	.65	.49	.47	.41	.42	.54	.64	.52	.58	.48	.476	.452	.415	.369	.451	.591
Asymp. Sig. (2-tailed)		.93	.75	.78	.96	.97	.99	.99	.93	.80	.94	.88	.97	.977	.987	.995	.999	.987	.876

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil uji perbandingan kadarkolesterol total T_0 , T_1 dan T_2 (Paired Samples Test)

		Paired Samples Statistics			
		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	kontrol normal t0	91.60	5	15.710	7.026
	kontrol normal t1	90.00	5	11.576	5.177
Pair 2	kontrol normal t1	90.00	5	11.576	5.177
	kontrol normal t2	91.80	5	9.731	4.352
Pair 3	kontrolnegatif t0	96.80	5	15.450	6.909
	kontrolnegatif t1	213.20	5	14.805	6.621
Pair 4	kontrolnegatif t1	213.20	5	14.805	6.621
	kontrolnegatif t2	221.60	5	12.422	5.555
Pair 5	kontrolpositif t0	94.80	5	7.981	3.569
	kontrolpositif t1	212.00	5	13.730	6.140
Pair 6	kontrolpositif t1	212.00	5	13.730	6.140
	kontrolpositif t2	90.80	5	4.494	2.010
Pair 7	dosis 1 t0	87.40	5	6.950	3.108
	dosis 1 t1	209.80	5	14.096	6.304
Pair 8	dosis 1 t1	209.80	5	14.096	6.304
	dosis 1 t2	176.80	5	12.755	5.704
Pair 9	dosis 2 t0	96.40	5	13.957	6.242
	dosis 2 t1	207.40	5	16.979	7.593
Pair 10	dosis 2 t1	207.40	5	16.979	7.593
	dosis 2 t2	141.40	5	28.927	12.937
Pair 11	dosis 3 t0	93.40	5	22.030	9.852
	dosis 3 t1	204.60	5	18.434	8.244
Pair 12	dosis 3 t1	204.60	5	18.434	8.244
	dosis 3 t2	109.00	5	7.071	3.162

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper			
Pair 1	kontrol normal t0 - kontrol normal t1	1.600	5.367	2.400	-5.063	8.263	.667	4	.541
Pair 2	kontrol normal t1 - kontrol normal t2	-1.800	4.207	1.881	-7.024	3.424	-.957	4	.393
Pair 3	kontrolnegatif t0 - kontrolnegatif t1	-116.400	22.700	10.152	-144.586	-88.214	-11.466	4	.000
Pair 4	kontrolnegatif t1 - kontrolnegatif t2	-8.400	23.158	10.357	-37.155	20.355	-.811	4	.463
Pair 5	kontrolpositif t0 - kontrolpositif t1	-117.200	17.210	7.697	-138.570	-95.830	-15.227	4	.000
Pair 6	kontrolpositif t1 - kontrolpositif t2	121.200	14.618	6.538	103.049	139.351	18.539	4	.000
Pair 7	dosis 1 t0 - dosis 1 t1	-122.400	17.213	7.698	-143.773	-101.027	-15.900	4	.000
Pair 8	dosis 1 t1 - dosis 1 t2	33.000	22.417	10.025	5.166	60.834	3.292	4	.030
Pair 9	dosis 2 t0 - dosis 2 t1	-111.000	24.321	10.877	-141.198	-80.802	-10.205	4	.001
Pair 10	dosis 2 t1 - dosis 2 t2	66.000	38.846	17.372	17.767	114.233	3.799	4	.019
Pair 11	dosis 3 t0 - dosis 3 t1	-111.200	33.192	14.844	-152.413	-69.987	-7.491	4	.002
Pair 12	dosis 3 t1 - dosis 3 t2	95.600	15.469	6.918	76.392	114.808	13.819	4	.000

Hasil uji kadarkolesterol total (Two Way Anova)

Kelompok perlakuan hewan uji

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kadarkolesterol total

	(I) kelompok perlakuan hewan uji	(J) kelompok perlakuan hewan uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	kontrol normal	kontrol negatif	-87.80	5.347	.000	-98.46	-77.14
		kontrol positif	-39.80	5.347	.000	-50.46	-29.14
		dosis 1	-66.13	5.347	.000	-76.79	-55.47
		dosis 2	-57.27	5.347	.000	-67.93	-46.61
		dosis 3	-38.67	5.347	.000	-49.33	-28.01
	kontrol negatif	kontrol normal	87.80	5.347	.000	77.14	98.46
		kontrol positif	48.00	5.347	.000	37.34	58.66
		dosis 1	21.67	5.347	.000	11.01	32.33
		dosis 2	30.53	5.347	.000	19.87	41.19
		dosis 3	49.13	5.347	.000	38.47	59.79
	kontrol positif	kontrol normal	39.80	5.347	.000	29.14	50.46
		kontrol negatif	-48.00	5.347	.000	-58.66	-37.34
		dosis 1	-26.33	5.347	.000	-36.99	-15.67
		dosis 2	-17.47	5.347	.002	-28.13	-6.81
		dosis 3	1.13	5.347	.833	-9.53	11.79
	dosis 1	kontrol normal	66.13	5.347	.000	55.47	76.79
		kontrol negatif	-21.67	5.347	.000	-32.33	-11.01
		kontrol positif	26.33	5.347	.000	15.67	36.99
		dosis 2	8.87	5.347	.102	-1.79	19.53
		dosis 3	27.47	5.347	.000	16.81	38.13
	dosis 2	kontrol normal	57.27	5.347	.000	46.61	67.93
		kontrol negatif	-30.53	5.347	.000	-41.19	-19.87
		kontrol positif	17.47	5.347	.002	6.81	28.13
		dosis 1	-8.87	5.347	.102	-19.53	1.79
dosis 3		18.60	5.347	.001	7.94	29.26	
dosis 3	kontrol normal	38.67	5.347	.000	28.01	49.33	
	kontrol negatif	-49.13	5.347	.000	-59.79	-38.47	
	kontrol positif	-1.13	5.347	.833	-11.79	9.53	
	dosis 1	-27.47	5.347	.000	-38.13	-16.81	
	dosis 2	-18.60	5.347	.001	-29.26	-7.94	

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 214.444.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Kadar kolesterol total

Kelompok perlakuan hewan uji	N	Subset			
		1	2	3	4
Student-Newman-Keuls ^{a,b}					
kontrol normal	15	91.13			
dosis 3	15		129.80		
kontrolpositif	15		130.93		
dosis 2	15			148.40	
dosis 1	15			157.27	
kontrolnegatif	15				178.93
Sig.		1.000	.833	.102	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 214.444.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

Waktu pengujian

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kadarkolesterol total

	(I) waktupe ngujian	(J) waktupe ngujian	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	t0	t1	-96.10 [*]	3.781	.000	-103.64	-88.56
		t2	-41.93 [*]	3.781	.000	-49.47	-34.40
	t1	t0	96.10 [*]	3.781	.000	88.56	103.64
		t2	54.17 [*]	3.781	.000	46.63	61.70
	t2	t0	41.93 [*]	3.781	.000	34.40	49.47
		t1	-54.17 [*]	3.781	.000	-61.70	-46.63

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 214.444.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Kadar kolesterol total

	waktupe ngujian	N	Subset		
			1	2	3
Student-Newman-Keuls ^{a,b}	t0	30	93.40		
	t2	30		135.33	
	t1	30			189.50
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 214.444.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 17. Hasil uji penimbangan berat lemak abdominal setelah perlakuan menggunakan *one-way* ANOVA

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
berat lemak abdominal	30	1.43720	.742276	.124	3.124

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		berat lemak abdominal
N		30
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	1.43720
	Std. Deviation	.742276
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.156
	Negative	-.074
Kolmogorov-Smirnov Z		.854
Asymp. Sig. (2-tailed)		.459

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

berat lemak abdominal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.

Descriptives

berat lemak abdominal

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol normal	5	1.47560	.925900	.414075	.32594	2.62526	.124	2.431
kontrol negatif	5	2.57080	.435161	.194610	2.03048	3.11112	2.112	3.124
kontrol positif	5	.81380	.430435	.192496	.27934	1.34826	.256	1.421
dosis I	5	1.46760	.088602	.039624	1.35759	1.57761	1.388	1.582
dosis II	5	1.26600	.559987	.250434	.57068	1.96132	.331	1.762
dosis III	5	1.02940	.318717	.142534	.63366	1.42514	.689	1.402
Total	30	1.43720	.742276	.135520	1.16003	1.71437	.124	3.124

Test of Homogeneity of Variances

berat lemak abdominal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.406	5	24	.067

ANOVA

berat lemak abdominal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.358	5	1.872	6.786	.000
Within Groups	6.620	24	.276		
Total	15.978	29			

Post Hoc Test

Student-Newman-Keuls^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
perlakuan tikus putih jantan galur wistar			
kontrol positif	5	.81380	
dosis III	5	1.02940	
dosis II	5	1.26600	
dosis I	5	1.46760	
kontrol normal	5	1.47560	
kontrol negatif	5		2.57080
Sig.		.300	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.



Liquid Reagents – ready to use

CHOLESTEROL

CHOD-PAP with ATCS*

Single Reagent

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

Cont.

- 1 x 1000 ml Single Reagent
- 5 x 50 ml Single Reagent
- 2 x 50 ml Single Reagent

Additionally offered:

- 1 x 3 ml Cholesterol Standard
- 5 x 3 ml Calibrator
- 3 x 3 ml Lipid Control normal
- 12 x 5 ml Control normal
- 12 x 5 ml Control abnormal

TEST PARAMETERS

Method: Colorimetric, Endpoint, Increasing
Reaction: CHOD-PAP
Wavelength: 500 nm, Hg 546 nm
Temperature: 20-25°C or 37°C
Sample: Serum, heparinized or EDTA-plasma
Linearity: up to 800 mg/dl (on Hitachi 911)
Sensitivity: The lower limit of detection is 3 mg/dl

* Advanced Turbidity Clearing System, minimizes turbidity caused by lipemia

S:\pmalig\insensinstens_wor\clinical chemistry\cholesterol.doc

REAGENT COMPOSITION

COMPONENTS	FINAL CONCENTRATIONS
Good's Buffer, pH 6.7	50 mmol/L
Phenol	5 mmol/L
4-Aminoantipyrine	0.3 mmol/L
Cholesterol Esterase	≥ 200 U/L
Cholesterol Oxidase	≥ 50 U/L
Peroxidase	≥ 3 KU/L

REAGENT PREPARATION

The reagent is ready to use.

REAGENT STABILITY AND STORAGE

Conditions: protect from light, store immediately after use
Storage: at 2 - 8°C
Stability: up to the expiration date

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.

SAMPLE STABILITY AND STORAGE

Stability: at 20 - 25°C 7 days
 at 4 - 8°C 7 days
 at -20°C 3 months
 Discard contaminated specimens.

STANDARD

(has to be ordered separately)
Concentration: 200 mg/dl
Storage: 2 - 25°C
Stability: up to the expiration date
CLOSE IMMEDIATELY AFTER USE!

INTERFERING SUBSTANCES

no interference up to:
 ascorbic acid 5 mg/dl
 bilirubin 20 mg/dl
 hemoglobin 200 mg/dl
 triglycerides 2000 mg/dl

Page 1 of 2

MANUAL TEST PROCEDURE

Bring reagents and samples to room temperature.

Pipette into test tubes	Blank	Std./Cal	Sample
Reagent	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Sample, Std./Cal	-	10 µl	10 µl
Dist. water	10 µl	-	-

Mix: Incubate for 10 minutes at 37°C or for 20 minutes at 20 - 25°C. Measure absorbance of Sample and Std./Cal. within 60 minutes against Reagent Blank.

CALCULATION (light path 1 cm)

Cholesterol (mg/dl) = $\frac{AA_{Sample}}{AA_{Std/Cal}} \times \text{Conc. of Std/Cal (mg/dl)}$

UNIT CONVERSION

mg/dl x 0.026 = mmol/L

REFERENCE RANGE *(mg/dl)

Desirable	≤ 200
Borderline high risk	200 - 240
High risk	> 240

* It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

TEST PRINCIPLE

Cholesterol Ester+H₂O \xrightarrow{CHO} Cholesterol + Fatty acids
 Cholesterol + O₂ \xrightarrow{POD} Cholesten-3-one + H₂O₂
 2 H₂O₂ + Phenol + 4 Aminoantipyrine \rightarrow Quinonimine + 4H₂O
 The intensity of the pink / red color is proportional to the Cholesterol concentration in the sample.

Dr. M. Wagner

Rev. 02, 2005.08.17.

Lampiran 18. Prosedur kerja pengujian kolesterol total