

**UJI AKTIVITAS FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR EKSTRAK
ETANOL DAUN CEREMAI (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) TERHADAP
KADAR LDL DAN HDL PADA SERUM DARAH TIKUS PUTIH
JANTAN GALUR WISTAR**



**Oleh :
Suci Widy Yanti
19133975A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR EKSTRAK
ETANOL DAUN CEREMAI (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) TERHADAP
KADAR LDL DAN HDL PADA SERUM DARAH TIKUS PUTIH
JANTAN GALUR WISTAR**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai

Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)

Program Studi S1- Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

**Oleh :
Suci Widy Yanti
19133975A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR EKSTRAK
ETANOL DAUN CEREMAI (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) TERHADAP
KADAR LDL DAN HDL PADA SERUM DARAH TIKUS PUTIH
JANTAN GALUR WISTAR**

Oleh :
Suci Widy Yanti
19133975A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 17 Juli 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan

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

Pembimbing

Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Sunarti, M.Sc., Apt

Penguji :

1. Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt
2. Yane Dilla Keswara, M.Sc., Apt
3. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt
4. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt

HALAMAN PERSEMBAHAN

Jadikanlah sabar dan shalat sebagai penolongmu Dan sesungguhnya yang demikian itu sungguh berat kecuali bagi orang-orang yang khusyu' (QS. Al Baqarah/2: 45)

Jangan pernah berhenti berusaha saat kamu menemui kegagalan. Yakinlah kalau kamu bisa, karna sesungguhnya Allah selalu bersama kita

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah...

**Kata pertama yang dapat terucap saat skripsi ini selesai, puji syukur atas kehadiran
ALLAH SWT.**

**Dengan penuh keikhlasan, kesabaran, hingga air mata ku persembahkan skripsi ini
untuk**

**Kedua orangtuaku tercinta (Bapak Sutarto dan Ibu Surtiyati) yang telah mengasuhku,
memberikanku kasih sayang, didikan, serta do'a dalam setiap sujudnya**

**Kakak ku tersayang dan seluruh keluarga besarku, terimakasih untuk motifasi, do'a, dan
dukungan selama ini**

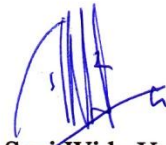
**Calon Kekasih Halalku Wahyu Agus Subagiyo, terimakasih atas bantuan, do'a,
dukungan, dan kesabaran selama ini**

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 17 juli 2017



Suci Widy Yanti

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil ‘Alamiin, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan, rahmat, nikmat, hidayah dan kemudahan, sehingga skripsi dengan judul “UJI AKTIVITAS FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR EKSTRAK ETANOL DAUN CEREMAI (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) TERHADAP KADAR LDL DAN HDL PADA SERUM DARAH TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR” ini dapat terselesaikan guna memenuhi persyaratan dan menyelesaikan program S-1 Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.


Dalam penyusunan skripsi ini, penulis telah banyak mendapatkan dukungan, bantuan dan bimbingan baik secara moril maupun materi. Untuk itu dengan segala ketulusan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terimakasih banyak kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A Oetari, SU, MM., M.Sc., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
3. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt, dan Sunarti, M.Sc., Apt, selaku pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan dan memberi saran dalam penulisan skripsi ini.
4. Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberi masukan untuk menyempurnakan skripsi ini.
5. Bapak Sutarto, ibu Surtiyati, kakak ku tercinta, dan seluruh keluarga ku yang tanpa henti memberikan doa dan dukungan kepada penulis.
6. Segenap dosen, karyawan, dan staff Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu dalam kelancaran para mahasiswa dalam manimba ilmu di universitas setia budi.
7. Segenap karyawan Laboratorium Universitas Setia Budi yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama penelitian.
8. Segenap karyawan perpustakaan Universitas Setia Budi yang telah menyediakan fasilitas dan referensi buku-buku untuk menunjang, membantuan kelancaran, dan selesainya penelitian ini.

9. Sahabat-sahatku (Endah, Dita, Rury, Hesty, Rika, mbak Ami) terimakasih atas kebersamaan, semangat, dan bantuannya
10. Seluruh teman-teman S1 Farmasi Universitas Setia Budi angkatan 2013, terutama teori 5 dan FKK 4 S1 Farmasi.
11. Teman-teman semua yang menyayangiku terimakasih atas kerjasamanya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk memperbaiki skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga Allah senantiasa melimpahkan berkat, rahmat dan ridhonya kepada kita semua. Mudah-mudahan skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi dan almamater tercinta.

Surakarta, 17 Juli 2017



penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	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 Masalah	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 4
A. Tanaman Ceremai	4
1. Sistematika tanaman ceremai	4
2. Nama lain	4
3. Morfologi tanaman	5
4. Kegunaan tanaman	5
5. Kandungan kimia	5
5.1. Flavonoid.	5
5.2. Tanin.	5
5.3. Saponin.	6
B. Simplisia	6
1. Pengertian simplisia	6
2. Cara pengumpulan simplisia	6
C. Penyarian	7
1. Pengertian penyarian	7
2. Ekstraksi	8

3.	Metode penyarian	8
4.	Fraksinasi	9
5.	Pelarut.....	9
5.1.	Etanol.....	9
5.2.	<i>n</i> -heksana.	10
5.3.	Etil asetat.....	10
5.4.	Air.	10
D.	Kolesterol	10
1.	Pengertian kolesterol	10
2.	Fungsi kolesterol	11
3.	Metabolisme kolesterol	11
4.	HDL (<i>High Density Lipoprotein</i>).....	12
5.	LDL (<i>Low Density Lipoprotein</i>)	12
6.	Metode pengukuran kadar HDL dan LDL	13
7.	Hiperkolesterolemia	13
E.	Simvastatin	14
F.	Minyak Jelantah, PTU dan Telur Puyuh	15
G.	Hewan Uji.....	16
1.	Sistematika tikus putih	16
2.	Karakteristik utama tikus putih	16
3.	Biologi tikus	16
H.	Landasan Teori	17
I.	Hipotesis.....	19
BAB III	METODE PENELITIAN	20
A.	Populasi dan Sampel	20
B.	Variabel Penelitian	20
1.	Identifikasi variabel utama	20
2.	Klasifikasi variabel utama	20
3.	Definisi operasional variabel utama	20
C.	Alat dan Bahan	21
1.	Alat	21
2.	Bahan.....	22
D.	Jalannya Penelitian	22
1.	Determinasi tanaman	22
1.1.	Pembuatan serbuk daun ceremai.....	22
1.2.	Penetapan kadar lembab	22
1.3.	Pembuatan ekstrak etanol daun ceremai.....	22
1.4.	Fraksinasi dari ekstrak daun ceremai	23
2.	Identifikasi kandungan kimia daun ceremai.....	23
2.1.	Identifikasi flavonoid.	23
2.2.	Identifikasi tanin.	23
2.3.	Identifikasi saponin.....	23
3.	Pembuatan CMC 0,5%	24
4.	Pemilihan dan penyiapan hewan uji	24
5.	Penetapan dosis sediaan	24

6.	Cara perlakuan hewan uji	25
7.	Pembuatan diet tinggi lemak dan PTU.....	26
8.	Pengambilan darah dan pengumpulan serum.....	26
9.	Penentuan kadar LDL dan HDL serum darah tikus	27
E.	Analisis Data	27
F.	Skema Jalannya Penelitian	28
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	30
A.	Pengumpulan dan Penyiapan daun ceremai	30
1.	Determinasi tanaman ceremai	30
2.	Pengumpulan bahan daun ceremai	30
3.	Pengeringan dan pembuatan serbuk daun ceremai	30
4.	Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun ceremai	31
5.	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun ceremai	31
6.	Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun ceremai.....	31
6.1.	Fraksi <i>n</i> -Heksana.	32
6.2.	Fraksi etil asetat.	32
6.3.	Fraksi air.	32
7.	Identifikasi kandungan kimia dalam serbuk dan ekstrak etanol daun ceremai	33
8.	Hasil perhitungan dosis sediaan uji	33
B.	Hasil Pemeriksaan kadar HDL dan LDL	34
1.	Hasil rata-rata peningkatan kadar HDL	35
2.	Hasil rata-rata penurunan kadar LDL.....	37
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	42
A.	Kesimpulan.....	42
B.	Saran.....	42
	DAFTAR PUSTAKA	43
	LAMPIRAN.....	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman ceremai.....	4
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi daun ceremai (<i>Phyllanthus acidus</i> (L.) Skeels).....	28
Gambar 3. Rancangan penelitian.....	29
Gambar 4. Rata-rata kadar HDL serum tikus putih (mg/dL)	35
Gambar 5. Rata-rata kadar LDL serum tikus putih (mg/dL)	38

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Formula diet tinggi lemak	26
Tabel 2. Pengukuran kadar LDL	26
Tabel 3. Pengukuran kadar HDL	267
Tabel 4. Hasil Rendemen bobot kering terhadap bobot basah	30
Tabel 5. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun ceremai.....	31
Tabel 6. Hasil rendemen ekstrak etanol daun ceremai	31
Tabel 7. Hasil rendemen fraksi <i>n</i> -heksana ekstrak etanol daun ceremai.....	32
Tabel 8. Hasil rendemen fraksi etil asetat ekstrak etanol daun ceremai.....	32
Tabel 9. Hasil rendemen fraksi air ekstrak etanol daun ceremai.....	32
Tabel 10. Hasil penetapan dosis fraksi dan simvastatin	34
Tabel 11. Rata-rata kadar HDL serum darah tikus (mg/dL)	35
Tabel 12. Rata-rata kadar LDL serum darah tikus (mg/dL)	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman	48
Lampiran 2. Surat keterangan pembelian hewan uji.....	49
Lampiran 3. Brosur HDL <i>precipitant</i>	50
Lampiran 4. Brosur LDL <i>precipitant</i>	51
Lampiran 5. Brosur reagen kolesterol kit	52
Lampiran 6. Gambar daun, serbuk, ekstrak dan fraksi daun ceremai.....	53
Lampiran 7. Gambar alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian	54
Lampiran 8. Perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah.....	58
Lampiran 9. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun ceremai	59
Lampiran 10. Perhitungan rendemen fraksi <i>n</i> -heksana.....	60
Lampiran 11. Perhitungan rendemen fraksi etil asetat.....	61
Lampiran 12. Perhitungan rendemen fraksi air.....	62
Lampiran 13. Hasil identifikasi kandungan kimia dari serbuk, ekstrak, dan fraksi etanol daun ceremai.....	63
Lampiran 14. Perhitungan dosis, pembuatan larutan stok, dan penetapan volume pemberian simvastatin dan CMC	64
Lampiran 15. Perhitungan dosis, pembuatan larutan stok, dan penetapan volume pemberian fraksi <i>n</i> -Heksana.....	66
Lampiran 16. Perhitungan dosis, pembuatan larutan stok, dan penetapan volume pemberian fraksi etil asetat.....	67
Lampiran 17. Perhitungan dosis, pembuatan larutan stok, dan penetapan volume pemberian fraksi air.....	68
Lampiran 18. Rata-rata kadar HDL serum darah tikus.....	69
Lampiran 19. Rata-rata kadar LDL serum darah tikus	70
Lampiran 20. Hasil analisis statistika kadar HDL	71
Lampiran 21. Hasil analisis statistika kadar LDL.....	75

INTISARI

YANTI, SW. 2017. UJI AKTIVITAS FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR EKSTRAK ETANOL DAUN CEREMAI (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) TERHADAP KADAR LDL DAN HDL PADA SERUM DARAH TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR). SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Ekstrak daun ceremai pada penelitian sebelumnya memiliki aktivitas sebagai antihiperlipidemia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui manakah yang lebih efektif antara fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air ekstrak etanol daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) untuk menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL dalam darah tikus putih jantan galur wistar.

Tikus putih jantan dibagi menjadi 7 kelompok. Kelompok 1 kontrol normal, Kelompok 2 kontrol negatif CMC 0,5%, kelompok 3 kontrol positif simvastatin, kelompok 4 ekstrak etanol 45 mg/kg BB, kelompok 5 fraksi *n*-heksana 17,38 mg/kg BB, kelompok 6 fraksi etil asetat 8,63 mg/kg BB, kelompok 7 fraksi air 18,9 mg/kg BB. Tikus diberi pakan diet lemak yaitu telur puyuh, minyak jelantah, dan PTU pada semua kelompok kecuali kelompok normal selama 2 minggu. Hari ke-14 sampai hari ke-28 diberikan larutan uji secara oral. Pada hari ke-0, ke-14, dan ke-28 dilakukan pengambilan darah puasa untuk mengukur kadar LDL dan HDL menggunakan metode CHOD-PAP. Data hasil penelitian dianalisa menggunakan uji *One Way ANOVA*.

Hasil penelitian menunjukkan fraksi-fraksi ekstrak etanol daun ceremai memiliki aktivitas antihiperlipidemia. Fraksi etil asetat dengan dosis 8,63 mg/kg BB adalah kelompok perlakuan yang paling efektif menurunkan kadar LDL dan meningkatkan HDL setelah kelompok positif.

Kata kunci : ekstrak etanol daun ceremai, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air , HDL, LDL, hiperlipidemia

ABSTRACT

YANTI, SW., 2017, ACTIVITY TEST OF FRACTION n-HEXANE, ETHYL ACETATE, WATER AND ETHANOL EXTRACT CEREMAI LEAVES (*Phyllanthusacidus* (L.) Skeels) FOR THE LDL AND HDL LEVELS IN BLOOD SERUM WHITE RATS MALE GALUR WISTAR. THESIS, THE FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Ceremai leaf extract had showed antihyperlipidemia activity in the research before. The aim of this study was to do a further study to know the most effective between n-hexane, ethylacetate, and water fraction of ethanol extract ceremai leaf (*Phyllanthusacidus* (L.) Skeels) can decrease LDL level and increase HDL level in hyperlipidemic wistar male white rat.

Rats were divided to 7 groups. Group I normal control, group II negative control CMC 0,5%, group III positive control simvastatin, group IV ethanol extract 45 mg/kg BW, group V n-hexane fraction 17,38 mg/kg BW, group VI ethylacetate fraction 8,63 mg/kg BW and water fraction 18,9 mg/kg BW. Rats were fed using lipid diet that is quail eggs, oil, and PTU in all group except normal control group for 2 weeks. On day-14 until day-28 the rats were given solution test orally. On day-0, day-14 and day-28 were taken fasting blood to measure LDL and HDL level using CHOD-PAP method. Data were analyzed using One Way ANOVA.

The result of this study showed that all fractions and ethanol extract of ceremai leaf have antihyperlipidemia activity. Ethylacetate fraction 8,63 mg/kg BW is the most effective treatment to decrease LDL Level and HDL level after the positive control.

Keywords : Ceremai leaf extract, n-hexane fraction, ethylacetate fraction, water fraction, LDL cholesterol, HDL cholesterol, hyperlipidemia

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kolesterol merupakan senyawa steroid yang terdapat dalam hewan dan manusia (Murray *et al.*, 2003). Senyawa ini merupakan salah satu komponen dari lipoprotein darah. Kolesterol berfungsi dalam menyelimuti serabut-serabut sel saraf yang bertujuan untuk membantu menghantarkan konduksi dan transmisi elektrik. Fungsi lainnya adalah sebagai substrat untuk pembentukan asam empedu, vitamin D, dan hormon steroid. Kolesterol yang terdapat dalam hewan dan manusia berasal dari sintesis kolesterol dalam tubuh dan asupan makanan. Lemak hewani dan kuning telur merupakan beberapa makanan yang mempunyai kadar kolesterol yang cukup tinggi (Hu *et al.*, 2001)

Tingginya kadar kolesterol akan menyebabkan terjadinya sumbatan di pembuluh darah sehingga mengakibatkan berbagai komplikasi penyakit (Inawati 2007). Menurut data Riset Kesehatan Dasar 2013 di Indonesia khususnya Jawa Tengah, prevalensi penyakit jantung koroner sebesar 1,4%. Riskesdas juga menyebutkan bahwa prevalensi penyakit jantung koroner meningkat seiring bertambahnya usia, tertinggi pada kelompok usia 65-74 tahun yaitu sebesar 3,6%. Bertambahnya usia seseorang berhubungan dengan kenaikan kadar kolesterol LDL karena kemampuan atau aktifitas reseptor LDL yang berkurang (Riskesdas 2013)

Secara umum penggunaan obat hiperkolesterolemia pada hewan berhasil mengendalikan dan menurunkan kadar kolesterol dalam darah, namun penggunaan obat hiperkolesterolemia jangka panjang akan menimbulkan efek samping. Penggunaan obat-obat tradisional merupakan salah satu cara yang biasa digunakan oleh masyarakat Indonesia, maka perlu dilakukan penelitian-penelitian mengenai pengembangan obat dari tanaman seperti uji efektivitas sehingga dapat diketahui aktivitas tumbuhan obat tersebut dalam mengobati suatu penyakit, dalam mendukung pencarian obat hipolipidemia yang aman dan efektif terutama yang berasal dari alam sangat giat dilakukan. (Dalimartha 2006).

Beberapa tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, mineral, dan atau sediaan galeniknya atau campuran dari bahan-bahan tersebut. Salah satu tumbuhan yang dapat berpotensi sebagai obat hipolipidemia adalah daun ceremai, yang mempunyai beberapa komponen kimia yaitu saponin, flavonoid, tannin, dan polifenol (Setiawan 2006).

Pada penelitian yang dilakukan Afifah *et al* (2013) bahwa ekstrak etanol daun ceremai dosis 22,5 dan 45 mg/kg BB tikus mampu menghambat pembentukan kolesterol, dimana efek antikolesterol terbaik ditunjukkan oleh ekstrak etanol dosis 45 mg/200 g BB tikus, yang mempunyai efek antikolesterol dalam serum berkaitan dengan kemampuannya menghambat penyerapan kolesterol di saluran cerna.

Berdasarkan uraian diatas adanya ekstrak etanol pada daun ceremai diyakini mempunyai efek sebagai antikolesterol yang dapat menurunkan hiperkolesterolemia. Hal ini yang menjadi latar belakang peneliti untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun ceremai terhadap peningkatan HDL dan penurunan LDL pada hewan uji tikus, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif terapi pengobatan.

B. Perumusan Masalah

Pertama, apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) dapat menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL pada tikus putih jantan galur wistar yang dibuat hiperlipidemia?

Kedua, manakah yang lebih efektif antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) untuk menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL pada tikus putih jantan galur wistar yang dibuat hiperlipidemia?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) dapat menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL pada tikus putih jantan galur wistar yang dibuat hiperlipidemia.

Kedua, untuk mengetahui manakah yang lebih efektif antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) untuk menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL dalam darah tikus putih jantan galur wistar yang dibuat hiperlipidemia.

D. Manfaat Penelitian

Pertama, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi kepada masyarakat agar mengetahui manfaat dari penggunaan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dari daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan pada penderita hiperlipidemia.

Kedua, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi untuk ilmu pengetahuan tentang manfaat dari penggunaan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dari daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang dapat menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL.

Ketiga, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan peluang usaha untuk membuat ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dari daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) menjadi sediaan yang memiliki nilai ekonomi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Ceremai



Gambar 1. Tanaman ceremai

1. Sistematika tanaman ceremai

Taksonomi lengkap tanaman ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) (Depkes RI 1994) sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Euphorbiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: <i>Phyllanthus</i>
Jenis	: <i>Phyllanthus acidus</i> (L.) Skeels

2. Nama lain

Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) memiliki berbagai macam nama seperti ceremai (Aceh), cerme (Sunda), cerme (Jawa), careme (Madura), cermen (Bali).

3. Morfologi tanaman

Pohon kecil, tinggi sampai ± 10 m dengan percabangan banyak. Daun majemuk, tetapi sampai agak lama masih memperlihatkan pertanaman memanjang sehingga anak daunnya mempunyai umur berbeda dan gugurnya tidak bersamaan. Helai anak daun bulat telur sampai jorong, ujung runcing, pangkal tumpul sampai bulat, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan licin tidak berambut, panjang 2-7 cm, lebar 1,5-12 cm, keluar di sepanjang percabangan dan batang utama, kelopak bentuk bintang, mahkota merah muda, terdapat bunga betina dan jantan dalam 1 tandan. Buah berupa buah batu, bentuk bulat pipih, berlekuk 6-8, panjang 1,25-1,5 cm, lebar 1,75-2,5 cm, warnanya kuning muda, berbiji 4-6, dan rasanya asam. Biji bulat pipih berwarna cokelat muda (Dalimartha 2008).

4. Kegunaan tanaman

Daun ceremai berkhasiat untuk batuk berdahak, menurunkan berat badan, mual, sariawan, dan membantu pengobatan kanker. Kulit akar berkhasiat untuk mengatasi asma dan sakit kepala. Biji berkhasiat untuk mengatasi sembelit dan mual akibat perut kotor (Dalimartha 2008).

5. Kandungan kimia

Daun, kulit batang, dan kayu ceremai mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol. Buah mengandung vitamin C (Dalimartha 2008).

5.1. Flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan dalam jaringan tanaman. Flavonoid berperan dalam menurunkan LDL dan meningkatkan HDL dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon. Flavonoid menghambat oksidasi LDL secara ex-vivo, menghambat sekresi Apo A-1 dan aktivitas enzim HMG CoA reduktase. Apo A-1 merupakan prekursor pembentukan HDL. Produksi oksidatif LDL dapat menyebabkan terjadinya penyempitan pembuluh darah coroner (Redha A 2010).

5.2. Tanin. Tanin merupakan senyawa polifenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk senyawa kompleks kuat yang

efektif dengan protein dan beberapa makromolekul (Sa'adah L 2010). Tanin mampu meningkatkan sintesis lemak, sehingga lemak berlebih dalam darah dapat diangkut menuju usus dan dibuang melalui feses dan tidak terjadi inisiasi lemak pada tunika adventisia (Riesanti 2010).

5.3. Saponin. Saponin merupakan metabolit sekunder yang banyak terdapat di alam, terdiri atas gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin. Saponin memiliki aktivitas farmakologi seperti antiinflamasi dan hipokolesterolemik. Saponin menunjukkan aktivitas antikolesterol dengan menghambat penyerapan kolesterol dalam usus (Matsui *et al* 2009)

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Suhu pengeringan simplisia kecuali dinyatakan lain tidak lebih dari 60°C. Simplisia dapat berupa simplisia segar dan simplisia nabati. Simplisia segar adalah bahan segar yang belum dikeringkan, simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya (Kemenkes 2010).

2. Cara pengumpulan simplisia

Proses pembuatan simplisia memiliki beberapa tahapan. Bahan baku dikumpulkan untuk menentukan kualitas bahan baku. Sortasi basah yaitu pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar, lalu dilakukan pencucian yang berguna untuk membersihkan kotoran yang melekat terutama untuk bahan-bahan yang tercemar peptisida. Bahan baku ditimbang untuk penetapan kadar zat yang saksama pada sejumlah bahan yang ditimbang (Kemenkes 2010).

Pengeringan bertujuan agar simplisia tidak mudah rusak dan pengurangan kadar air yang ada ditanaman serta menjamin stabilitas zat tanaman menjadi lebih baik karena tanaman dalam kondisi kering. Pengeringan dilakukan juga sebagai pengawet yang efektif untuk tanaman agar bias disimpan dalam waktu lebih lama.

Pengeringan biasa dilakukan dengan beberapa cara misalnya dengan cara sinar matahari atau dengan alat pengering yang disebut *evaporator*. Bila dilakukan pengeringan dengan menggunakan sinar matahari maka pengeringan harus dilakukan dengan proses sesingkat mungkin, karena meningkatkannya suhu umumnya meningkatkan kecepatan reaksi-reaksi kimia dan juga harus memperhatikan cuaca serta tempat atau wadah untuk menyimpan dalam proses pengeringan dengan sinar matahari.

Pengeringan dengan menggunakan sinar matahari yaitu menggunakan wadah sebagai pengering seperti anyaman bambu yang mempunyai dasar berlubang, kain kasar dan ditutupi dengan kain berwarna hitam, dasar pengeringan tidak boleh dari logam karena akan bereaksi dan merusak senyawa aktif tanaman. Pengeringan dengan menggunakan sinar matahari harus dilakukan 2-3 hari dan simplisia kering dengan kadar air hingga mencapai angka di bawah 10%, sedangkan dengan menggunakan alat pengering dapat diperoleh simplisia dengan kadar air sama dalam waktu 6-8 jam.

Sortasi kering yaitu pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang telah dikeringkan dilakukan dengan menggunakan alat dan diperoleh derajat kehalusan yang sama (Kemenkes 2010).

C. Penyarian

1. Pengertian penyarian

Penyarian merupakan kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Penyarian merupakan peristiwa pemindahan masa zat aktif yang pada awalnya berada dalam sel, kemudian ditarik keluar oleh cairan penyari. Bahan yang disari mengandung zat aktif yang dapat larut maupun zat yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstrak harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan semimumimum bagi unsur yang tidak diinginkan.

2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah peristiwa pemindahan zat terlarut di antara dua pelarut yang tidak saling campur. Zat terlarut akan tersebar pada kedua fase pelarut sehingga nisbah konsentrasinya pada suhu tertentu merupakan suatu tetapan kesetimbangan (konstanta distribusi/ K_d). Secara sederhana ekstraksi merupakan istilah yang digunakan untuk setiap proses yang didalamnya komponen-komponen pembentuk suatu bahan berpindah dari bahan ke cairan (pelarut). Ada beberapa teknik ekstraksi, yaitu maserasi, perkolasi, refluks, dan soxhlet. Pemilihan teknik ekstraksi untuk mengekstraksi suatu bahan tumbuhan bergantung pada tekstur, kandungan air, bahan tumbuhan, dan jenis senyawa yang akan diisolasi (Farah 2008).

Faktor penting dalam ekstraksi adalah pemilihan pelarut. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat menarik komponen aktif dalam campuran. Hal-hal penting yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah selektivitas, sifat pelarut, kemampuan untuk mengekstraksi, tidak bersifat racun, kemudahan untuk diuapkan, dan harganya yang relatif murah (Gamse 2002).

3. Metode penyarian

Metode penyarian yang digunakan tergantung pada wujud dan kandungan zat dari bahan yang akan disari. Metode dasar penyarian adalah maserasi, perkolasi dan soxhletasi, pemilihan terhadap ketiga metode ini tergantung dari kepentingan dalam memperoleh sari.

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi. Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Proses maserasi diawali dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari sampai meresap dan melunakan susunan sel sehingga zat-zat akan terlarut. Rendaman tersebut disimpan agar terlindungi dari cahaya matahari langsung kemudian dikocok.

Serbuk simplisia yang akan disari ditempatkan dalam wadah atau bejana dalam bermulut lebar dan ditutup rapat kemudian digojog berulang-ulang sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan simplisia. Bejana maserasi diletakkan di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung dan

dilakukan pada suhu 25°C selama 5 hari. Setelah perendaman lalu dilakukan penguapan dengan penangas air untuk mendapatkan ekstrak kental.

4. Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan golongan utama suatu kandungan kimia, prinsip pemisahan yang digunakan berdasarkan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawanya yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar.

5. Pelarut

Pemilihan sistem pelarut yang digunakan dalam ekstrak harus berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi bahan mentah obat tertentu berdasarkan daya pelarut zat aktif, zat tidak aktif yang tidak diinginkan tergantung preparat yang diperlukan.

Pelarut-pelarut yang biasa digunakan anatara lain etanol, methanol, eter, kloroform, dan etil asetat. Ekstraksi tergantung dari tekstur dan kandungan bahan dalam tumbuhan. Kandungan senyawa dalam tumbuhan memiliki kelarutan yang berbeda-beda dalam pelarut yang berbeda. Ekstraksi biasanya dilakukan secara bertahap dimulai dengan pelarut yang non polar (kloroform atau *n*-heksana), semipolar (etilasetat atau dietil eter), dan pelarut polar (methanol atau etanol) (Farah 2008).

5.1. Etanol. Etanol merupakan pelarut serbaguna untuk ekstraksi pendahuluan. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Etanol dipilih karena sifat kepolarannya yang dapat melarutkan flavonoid, alkaloid, minyak atsiri dan saponin yang terkandung dalam tanaman yang disari.

Etanol sebagai penyari dapat memperbaiki stabilitas bahan-bahan terlarut, karena etanol mempunyai sifat yang mampu menghambat enzim, kapang, dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas. Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membrane sel, tidak beracun, netral, absorpsi baik, panas yang diperlukan untuk penelitian rendah.

5.2. *n*-heksana. Pelarut *n*-heksana adalah hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih, terdiri atas campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna, transparan, mudah menguap, mudah terbakar, mempunyai bau yang khas, tidak dapat larut dalam air, larut dalam etanol, benzene, kloroform, eter. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-heksana yaitu senyawa yang bersifat non polar seperti steroid, triterpenoid, sterol, dan fenil propanoid (Tiwari *et al* 2011).

5.3. Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan suatu cairan methanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, dan beraroma khas (Tiwari *et al* 2011).

5.4. Air. Air dipertimbangkan sebagai pelarut karena stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Air dapat melarutkan enzim sehingga enzim yang terlarut dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatik, yang mengakibatkan penurunan mutu, tetapi adanya air akan mempercepat proses hidrolisis. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan, disamping zat aktif ikut terasari zat lain yang tidak diperlukan juga ikut tersari sehingga mengganggu proses penyarian.

D. Kolesterol

1. Pengertian kolesterol

Secara etimologi kolesterol berasal dari bahasa Yunani: *chole*, yang berarti empedu dan *stereos* yang artinya padat. Kolesterol adalah zat alamiah yang berwujud padatan. Kolesterol bukan merupakan asam lemak namun memiliki sifat fisika dan kimia seperti senyawa-senyawa yang mengandung asam lemak, dan berfungsi dalam pembentukan asam empedu (Gilman 2007).

Kolesterol merupakan lemak darah yang disintesis di hati serta ditemukan dalam sel darah merah, membran sel, dan otot. Kira-kira sebanyak 70% kolesterol diesterifikasikan (dikombinasi dengan asam lemak), serta 30% dalam bentuk bebas. Kolesterol digunakan tubuh untuk membentuk garam empedu sebagai fasilitator pencernaan lemak dan untuk pembentukan hormon oleh kelenjar

adrenal, ovarium, dan testis. Hormon tiroid dan estrogen dapat menurunkan konsentrasi kolesterol, serta sebaliknya tindakan pembedahan ooforektomi, meningkatkan konsentrasinya (Lefever 2014).

2. Fungsi kolesterol

Kolesterol terdapat pada bahan-bahan makanan yang berasal dari organ hewan, seperti: ginjal, kulit, hati, otak, jeroan, limfa dan lain-lain. Kolesterol sama sekali tidak terdapat pada bahan makanan yang berasal dari tumbuhan. Kolesterol berguna bagi tubuh tetapi bila jumlah konsumsinya sangat berlebihan justru akan merugikan. Menu makanan yang selalu mengandung kolesterol dan perhitungan masuk lemak baik dari prosentase energi dari lemak terhadap total kalori, akan menjadikan endapan kolesterol (Dalimartha 2000).

Kolesterol terdapat di setiap sel tubuh dan membentuk bagian penting dari selaput yang membungkus sel, dengan tujuan agar dinding sel tidak mudah bocor. Kolesterol merupakan dasar bagi pembentukan berbagai hormon yang sangat diperlukan untuk mengatur pertumbuhan dan mekanisme kerja tubuh. Beberapa hormon yang memerlukan kolesterol dalam mekanismenya yaitu hormon estrogen dan progesterone, testoteron, kortisol, aldosterone. Asam empedu juga dibentuk dari kolesterol di dalam jaringan hati dan berfungsi melarutkan lemak dari makanan yang dicerna. Fungsi ini sangat diperlukan untuk pencernaan dan penyerapan lemak dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak (A, D, E, dan K) (Anies 2015).

3. Metabolisme kolesterol

Hati melepaskan kolesterol ke darah sesuai kebutuhan dalam keadaan normal, tetapi bila diet mengandung terlalu banyak kolesterol atau lemak hewani jenuh, maka kadar kolesterol darah akan meningkat. Tubuh menyerap lemak dan minyak dalam bahan pangan digunakan sebagai sumber energi, melalui reaksi penguraian (Tan & Rahardja 2002).

Lipid plasma yang utama yaitu kolesterol, trigliserida, fosfolipid dan asam lemak bebas. Lipid tidak dapat larut dalam air sehingga agar dapat diangkut dalam darah maka susunan molekul perlu dimodifikasi yaitu berikatan dengan protein

membentuk ikatan molekul yang disertai lipoprotein yang sifatnya larut dalam air (Suyatna 2009).

Biosintesis kolesterol dapat dibagi menjadi 5 tahap, yaitu: (a) Sintesis mevalonat dari asetil-CoA. (b) Unit isoprenoid dibentuk dari mevalonat melalui pelepasan CO₂. (c) Enam unit isoprenoid mengadakan kondensasi untuk membentuk senyawa antara skualen. (d) Skualen mengalami siklisasi untuk menghasilkan senyawa steroid induk, yaitu lanosterol. (e) Kolesterol dibentuk dari lanosterol setelah melewati beberapa tahap lebih lanjut, termasuk pelepasan tiga gugus metil (Murray 2003).

4. HDL (*High Density Lipoprotein*)

High Density Lipoprotein (HDL) disebut juga sebagai lemak baik karena bersifat antiaterogenik yaitu mencegah aterosklerosis yang dapat mengangkat kolesterol berlebih pada jaringan pembuluh darah menuju liver yang dikeluarkan melalui saluran empedu. Kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) diharapkan tinggi di dalam darah. Kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) rendah pada orang gemuk, perokok, penderita diabetes mellitus yang tidak terkontrol, dan pemakaian pil KB (Dalimartha 2007).

High Density Lipoprotein (HDL) rendah < 35 mg % dapat disebabkan oleh merokok, obesitas, dan kurang gerak badan, juga akibat obat-obatan seperti diuretika dan β -blockers, hormone kelamin (anabolika), dan hormon stress (adrenalin dan kortisol). Banyak studi membuktikan bahwa HDL (*High Density Lipoprotein*) tinggi > 60 mg memiliki fungsi pelindung terhadap penyakit jantung coroner, karena khasiatnya dapat melarutkan endapan kolesterol pada dinding pembuluh sehingga menghindarkan pembentukan atheroma. Peningkatan HDL dapat dicapai dengan melakukan olahraga intensif, menurunkan berat badan, dan berhenti merokok (Tan & Rahardja 2002).

5. LDL (*Low Density Lipoprotein*)

Kolesterol LDL berperan sebagai alat transport kolesterol yang utama. LDL mengangkut sekitar 70-80% kolesterol dari hepar menuju ke jaringan perifer. LDL kaya akan kolesterol dan apoprotein B-100, karena LDL menahan kolesterol dan apoprotein B-100 yang berasal dari VLDL. LDL berikatan dengan reseptor

apoprotein B-100/E membrane plasma (reseptor LDL) yang berada di hepar dan jaringan ekstrahepatik untuk dihilangkan dari sirkulasi (Munaf 2009).

LDL terutama dikatabolisme dalam hepatosit dan dalam sel lain oleh endositosis yang diperantarai reseptor. Ester kolesterol dari LDL dihidrolisis menghasilkan kolesterol bebas untuk sintesis membrane sel. Sel hepatosit mensekresi kolesterol dalam empedu, dan mengubahnya menjadi asam empedu (Malloy *et al* 2010). Obat antihiperlipidemia dapat direkomendasikan untuk pengobatan pada pasien dengan kadar LDL lebih dari 160 mg/dL. Tujuan penggunaan obat hipolipidemik adalah untuk menurunkan LDL dibawah 130 mg/dL (Munaf 2009).

6. Metode pengukuran kadar HDL dan LDL

Metode yang banyak dipakai untuk mengukur kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) dan LDL (*Low Density Lipoprotein*) adalah metode *Lieberman Burchard*, metode Zak dan metode kolesterol oksidase-*p*-aminophenazone (CHOD-PAP). Metode CHOD-PAP digunakan pada penelitian ini karena metode ini lebih mudah, cepat, praktis, dan efisien. Reagent yang digunakan siap pakai dan lebih stabil jika dibandingkan dengan metode lainnya. Metode ini mempunyai prinsip yaitu kolestrerol akan ditentukan setelah hidrolisa enzimatik dan oksigen H₂O₂ bereaksi dengan 4-aminoantipyrin dan fenol kemudian membentuk quinine amin yang berwarna, absorben warna sebanding dengan kolesterol.

7. Hiperkolesterolemia

Kolesterol merupakan salah satu komponen dari lipid. Tingginya kadar kolesterol dalam darah dikenal dengan nama hiperkolesterolemia yang merupakan bagian dari hiperlipidemia primer. Hiperkolesterolemia dengan peningkatan kadar LDL dan kolesterol total. Hiperkolesterolemia memiliki peran penting dalam proses terjadinya aterosklerosis (Munaf 2008; Tjay & Rahardja 2007).

Hiperkolesterolemia merupakan peningkatan kadar kolesterol dalam darah. Hiperkolesterolemia bisa terjadi karena beberapa faktor, salah satunya yaitu mengkonsumsi makanan yang mengandung tinggi lemak, makanan siap saji dan sejenisnya Serta mereka yang mempunyai pola dan gaya hidup tidak sehat, seperti

merokok dan malas berolahraga, selain faktor makanan, kecenderungan kolesterol tinggi juga bisa disebabkan oleh faktor keturunan (Arora 2007).

E. Simvastatin

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 (Suyatna 2009).

Statin adalah terapi lini pertama untuk menurunkan kadar kolesterol LDL pada pasien yang memiliki faktor resiko yang tinggi untuk terjadinya *atherosclerotic cardiovascular disease* (ASCVD). Simvastatin menurunkan lipid dengan cara menghambat 3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzim-A (HMG-CoA) reduktase secara kompetitif pada proses sintesis kolesterol di hati. HMG-CoA reduktase melepaskan precursor kolesterol asam lemak mevalonik dari koenzim A. Kompetitif inhibisi oleh simvastatin menimbulkan respon kompensasi seluler seperti peningkatan enzim HMG-CoA reduktase dan reseptor LDL. Peningkatan dari HMG-CoA reduktase menyebabkan sintesis kolesterol seluler hanya dapat menurunkan sedikit, tetapi klirens dari kolesterol melalui mekanisme reseptor LDL meningkat secara signifikan (Dipiro 2008).

Dosis simvastatin 10 mg untuk terapi statin intensitas rendah, dosis 20 mg untuk terapi statin intensitas sedang yang dapat menurunkan LDL kira-kira 30%-50%. Dosis 80 mg dapat menimbulkan efek berbahaya (Go *et al.* 2013). Obat ini dinyatakan aman dan memiliki efek samping yang rendah pada dosis yang tepat, Efek samping penggunaan simvastatin antara lain miopati yang bersifat sementara namun angka kejadian jarang, sakit kepala, perubahan fungsi ginjal, mual, muntah, nyeri lambung, flatulen, konstipasi, diare, alopesia, anemia, dan hepatitis. Kontra indikasi penggunaan simvastatin antara lain pasien yang memiliki riwayat hepatitis, menyusui, dan kehamilan (BPOM 2008)

F. Minyak Jelantah, PTU dan Telur Puyuh

Minyak goreng merupakan salah satu bahan makanan pokok yang digunakan oleh masyarakat untuk menggoreng bahan pangan. Minyak goreng menjadi salah satu bahan yang sering dipakai dalam mengolah makanan (Amang 2001). Minyak goreng dipanaskan dengan suhu tinggi dan terus-menerus, akibatnya minyak akan mengalami perubahan kimia, warna, dan menjadi kotor yang menyebabkan kerusakan pada minyak goreng. Proses penggorengan akan menyebabkan dekomposisi asam lemak pada batas tertentu dapat mengakibatkan minyak menjadi tidak layak lagi digunakan (Rukmini 2007).

Pada penggunaan minyak goreng jelantah, khususnya yang digunakan dengan cara *deep frying* dapat terbentuk radikal bebas. Minyak jelantah adalah minyak limbah yang bisa berasal dari berbagai jenis minyak goreng, minyak jelantah ini merupakan minyak bekas yang sudah dipakai untuk menggoreng berbagai jenis makanan dan sudah mengalami perubahan pada komposisi kimianya.

Propiltiourasil (PTU) adalah zat antitiroid yang akan meningkatkan konsentrasi kolesterol darah secara endogen dengan cara merusak kelenjar tiroid. Propiltiourasil akan menimbulkan kondisi hipertiroid yang dihubungkan dalam peningkatan konsentrasi LDL plasma akibat penurunan katabolisme LDL. Penyebabnya yaitu pada hipertiroid terjadi penurunan sintesis dan ekskresi reseptor LDL di hati, sehingga LDL banyak beredar di plasma dan menjadi penyebab hiperkolesterolemia.

Telur puyuh merupakan sumber protein terbaik dari semua jenis telur kandungan proteinnya 13,05 gram lebih tinggi dibanding telur ayam 12,58 gram dan telur bebek 12,81 gram. Telur puyuh mengandung kolestrol yang tinggi. Total lemak yang terkandung dalam telur puyuh mencapai 11,09 gram (Astawan 2011).

Telur puyuh mempunyai kandungan kolesterol yang cukup tinggi dibandingkan dengan telur unggas lainnya. Kandungan kolesterol kuning telur burung puyuh mencapai 844 mg/g. Kandungan lemak total 11,09 mg, lemak jenuh 3,56 mg. MUFA 4,32, PUFA 1,32. Kuning telur ayam ras mengandung kolesterol 9,09 mg/gr dan kandungan kolesterol kuning telur itik 4,81 mg/gr.

G. Hewan Uji

1. Sistematika tikus putih

Sistematika hewan tikus putih yang digunakan dalam penelitian adalah (Lie Akbar 2013) :

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

2. Karakteristik utama tikus putih

Tikus putih merupakan hewan yang relatif resisten terhadap infeksi, cerdas, dan pada umumnya tenang dan mudah ditangani, tikus tidak begitu bersifat fotofobik seperti halnya dengan mencit, tidak memiliki kecenderungan berkumpul dengan teman-temannya. Hewan ini dapat tinggal sendiri dalam kandang asal masih bisa mendengar dan melihat tikus lainnya, aktivitasnya tidak terganggu dengan kehadiran manusia. Tikus putih mudah ditangani, tetapi kadang-kadang tikus dapat menjadi agresif terutama pada saat diperlakukan kasar atau mengalami defisiensi nutrisi selama diberi perlakuan, untuk menghindari tikus berubah agresif hendaknya selama perlakuan tikus dijaga makannya agar tetap mencukupi kebutuhannya (Irawan 2009).

Hewan percobaan yang sering digunakan adalah tikus. Spesies tikus pada dasarnya bermacam-macam, namun yang umum digunakan adalah *Sparague Dawley*. Tikus ini telah diketahui sifat-sifatnya dengan sempurna, yaitu mudah dipelihara, merupakan hewan yang relatif sehat, dan peka terhadap pengaruh kolesterol jika diberikan perlakuan terhadap komponen dietnya.

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, selain itu tikus jantan memiliki kecepatan metabolisme obat lebih cepat daripada tikus betina.

H. Landasan Teori

Kolesterol tidak dapat larut dalam air sehingga didalam darah disusun molekul yang perlu dimodifikasi yaitu berkaitan dengan protein membentuk ikatan makromolekul yang disebut lipoprotein. Lipoprotein memiliki sifat yang larut dalam air (Suyatna 2009). Lipoprotein merupakan protein-protein yang mengikat dan mengangkut lemak, seperti lipid dan trigliserida dalam darah. Lipoprotein densitas tinggi (HDL) sering disebut sebagai kolesterol baik, sedangkan lipoprotein densitas rendah (LDL) dan lipoprotein densitas sangat rendah (VLDL) disebut sebagai kolesterol jahat (Stringer 2006).

LDL merupakan kolesterol jahat karena memiliki sifat aterogenik (mudah melekat pada dinding sebelah dalam pembuluh darah dan mengurangi pembentukan reseptor LDL), hal ini akan menyebabkan terjadinya kenaikan kadar kolesterol LDL. LDL (*low density lipoprotein*) berasal dari lipoprotein berdensitas sedang yang mengeluarkan hampir semua trigliseridanya, menyebabkan konsentrasi kolesterol sangat tinggi dan konsentrasi fosfolipid menjadi cukup tinggi (Kroenberg *et al.* 2008).

HDL (*High Density Lipoprotein*) disebut sebagai lemak baik karena bersifat antiaterogenik yaitu mencegah aterosklerosis yang dapat mengangkat kolesterol berlebihan pada jaringan pembuluh darah menuju liver yang dikeluarkan melalui saluran empedu. Kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) diharapkan tinggi didalam darah. Kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) rendah pada orang gemuk, perokok, penderita diabetes mellitus yang tidak terkontrol, dan pemakai pil KB (Dalimartha 2007). HDL (*high density lipoprotein*) mengandung protein berkonsentrasi tinggi, dengan konsentrasi kolesterol dan fosfolipid yang jauh lebih kecil (Kroenberg *et al.* 2008).

Pada penelitian yang dilakukan Afifah *et al* (2013) bahwa ekstrak etanol daun ceremai dosis 22,5 dan 45 mg/200 g BB tikus mampu menghambat pembentukan kolesterol jika dibandingkan terhadap kontrol pada hari ke-14, dimana efek antikolesterol terbaik ditunjukkan oleh ekstrak etanol dosis 45 mg/200 g BB tikus, yang mempunyai efek antikolesterol dalam serum berkaitan dengan kemampuannya menghambat penyerapan kolesterol di saluran cerna.

Telah diketahui bahwa tumbuhan ceremai ini dilaporkan mengandung senyawa kimia antara lain flavonoid, tanin, dan saponin. Saponin memiliki aktivitas farmakologi seperti antiinflamasi dan hipokolesterolemik. Saponin menunjukkan aktivitas antikolesterol dengan menghambat penyerapan kolesterol dalam usus (Matsui *et al* 2009). Tanin merupakan senyawa polifenol yang mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Flavonoid memiliki kandungan kuersetin, antosianin dan katekin yang berfungsi sebagai pelindung membran lipid terhadap reaksi oksidasi yang merusak serta melindungi struktur sel. Kuersetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degeneratif dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak (Waji & Sugrani 2009).

Dalam penelitian ini pemisahan fraksi-fraksi dari daun ceremai yaitu dengan mengekstraksi daun ceremai dengan cara maserasi dengan pelarut etanol 96%, karena etanol adalah pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan. Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, serta memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, pelarut etanol 96% dapat melarutkan banyak senyawa flavonoid.

Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi dalam penelitian ini adalah *n*-heksana, etil asetat dan air. *n*-heksana akan melarutkan kandungan senyawa tanaman yang bersifat nonpolar seperti minyak atsiri, steroid, dan terpenoid. Pelarut *n*-heksana mudah terbakar, mudah menguap, tidak berbau dan tidak larut dalam air dan alkohol absolut. Etil asetat merupakan pelarut yang semi polar, mudah menguap dan terbakar, maka penyimpanan dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat melarutkan senyawa flavonoid aglikon, alkaloid.

Air merupakan pelarut polar yang akan melarutkan senyawa polar. Senyawa yang dapat larut dalam air seperti saponin dan tanin (Susilowati 2010).

I. Hipotesis

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

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) dapat menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL pada tikus putih jantan galur wistar yang dibuat hiperlipidemia.

Kedua, dari ekstrak etanol dan ketiga fraksi tersebut fraksi yang paling efektif menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL pada tikus putih jantan galur wistar yang dibuat hiperlipidemia adalah fraksi etil asetat.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang diperoleh secara acak dari kecamatan Tembarak, kabupaten Temanggung, provinsi Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang diperoleh dari daun yang berwarna hijau segar, bersih, tidak busuk, tekstur daun halus, mudah dipetik dan tidak terkontaminasi dengan hama.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama yang pertama adalah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels), kadar HDL dan LDL serum darah tikus putih jantan.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi diklasifikasikan menjadi variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi *n*-heksana daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels).

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kondisi fisik hewan uji yang meliputi berat badan lingkungan hidup, jenis kelamin, laboratorium dan penelitian.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar LDL dan HDL serum darah tikus putih jantan setelah diberi perlakuan.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) adalah daun yang hijau dan masih segar tidak terkontaminasi dengan zat pengotor lain, diperoleh dari kecamatan Tembarak, kabupaten Temanggung, provinsi Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun ceremai adalah daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang telah dicuci, dikeringkan, dan digiling menjadi serbuk halus dan diayak dengan pengayak *mesh* no 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun ceremai adalah hasil ekstraksi serbuk daun ceremai dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 5 hari kemudian dipekatkan dengan alat vakum evaporator pada suhu 40⁰ C sampai diperoleh ekstrak kental daun ceremai.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah bagian *n*-heksana hasil dari fraksinasi ekstrak kental daun ceremai menggunakan 75 ml aquadest dan 75 *n*-heksana yang dipekatkan.

Kelima, fraksi etil asetat adalah hasil fraksinasi dari residu *n*-heksana dengan pelarut etil asetat, kemudian dipekatkan dengan vakum evaporator suhu 40°C sampai kental.

Keenam, fraksi air adalah residu dari fraksinasi fraksi etil asetat yang dipekatkan dengan vakum evaporator suhu 40°C sampai kental.

Ketujuh, tikus putih jantan adalah tikus putih berjenis kelamin jantan yang berumur 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 gram.

Kedelapan, penurunan kadar LDL setelah diberi perlakuan yang diukur selisihnya pada hari ke 14 sampai dengan hari ke 28.

Kesembilan, peningkatan kadar HDL setelah diberi perlakuan yang diukur selisihnya pada hari ke 14 sampai dengan hari ke 28.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu corong pisah, blender, ayakan *mesh* no 40, bejana maserasi, kain flannel, vakum evaporator, kaca arloji, beaker glass, kain flannel, beaker gelas, oven, gelas ukur, erlenmeyer, batang pengaduk, tabung reaksi, kertas saring, timbangan analitik, waterbath, injeksi oral, pendingin air balik, pipa kapiler mikrohematokrit, lemari pengering, jarum suntik, tabung reaksi oral, *moistur balance*, sentrifuge T121, tabung

sentrifuge, mikropipet, spektrofotometer, timbangan tikus, kandang tikus, tempat minum tikus, dan jarum oral.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ceremai, etanol 96%, *n*-heksana, aquadest, CMC, simvastatin, PTU, minyak jelantah, telur puyuh, LDL *precipitant* dan HDL *precipitant*, asam klorida, amil alkohol, serbuk magnesium, natrium hidroksida, FeCl₃, butanol, asam asetat, air panas, etil asetat, asam formiat, asam galat, kloroform dan air panas.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel daun ceremai berdasarkan ciri-ciri morfologis tanaman terhadap kepustakaan dan dibuktikan. Determinasi ini bertujuan untuk memastikan bahwa memang benar tanaman yang digunakan adalah daun ceremai.

1.1. Pembuatan serbuk daun ceremai. Daun ceremai dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C. Daun ceremai yang sudah kering kemudian diserbukkan dengan cara digiling kemudian diayak dengan menggunakan ayakan ukuran mesh no 40 lalu ditimbang. Selanjutnya hasil serbukan daun ceremai tersebut disimpan dalam wadah yang kering dan tertutup rapat agar tidak terkena cemaran.

1.2. Penetapan kadar lembab. Penetapan kandungan lembab serbuk daun ceremai menggunakan alat *Moisture Balance* dengan cara menimbang serbuk daun ceremai sebanyak 2 gram dan ditunggu sampai alat menunjukkan hasil. Kadar air memenuhi syarat jika kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

1.3. Pembuatan ekstrak etanol daun ceremai. Pembuatan ekstrak etanolik dilakukan dengan metode maserasi dimana serbuk daun ceremai dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup baik dan terlindung cahaya lalu ditambahkan etanol 96%. Maserasi dilakukan selama 5 hari dalam ruangan yang

terlindung dari cahaya matahari, dengan perbandingan 1:7,5. setelah 5 hari, hasil perendaman tersebut disaring dengan kain flanel dan kertas saring kemudian ekstrak cair dipekatkan dengan evaporator pada suhu 50⁰C sehingga diperoleh hasil ekstrak kental.

1.4. Fraksinasi dari ekstrak daun ceremai. Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 30 gram ekstrak daun ceremai disuspensi dalam pelarut air 75 ml lalu difraksinasi dengan *n*-heksana masing-masing 75 ml. Proses fraksinasi dilakukan dengan corong pisah, fraksi *n*-heksana terletak di atas dan fase air terletak di bawah. Fraksinasi dengan *n*-heksana dilakukan sebanyak 3 kali. Fraksi *n*-heksana yang didapat dipekatkan. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksana dipisahkan di corong pisah dilanjutkan dengan penambahan pelarut sebanyak 3 kali pengulangan dengan pelarut etil asetat 75 ml, sehingga didapat fraksi etil asetat. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat di atas dan fraksi air di bagian bawah kemudian dipekatkan dengan menggunakan oven 40⁰C lalu ditimbang.

2. Identifikasi kandungan kimia daun ceremai

Identifikasi yang dilakukan dengan maksud untuk mengetahui adanya kandungan pada daun ceremai. Identifikasi senyawa-senyawa meliputi senyawa flavonoid, tanin dan saponin.

2.1. Identifikasi flavonoid. Sampel sebanyak 0,5 gram, 1-2 ml air panas, dan sedikit serbuk Mg dimasukkan ke dalam tabung kemudian ditambahkan 4-5 tetes HCl 37% dan etanol 95%, kocok hingga tercampur, apabila timbul warna merah, kuning, atau jingga maka ekstrak daun ceremai positif mengandung flavonoid (Lathifah 2008)

2.2. Identifikasi tanin. Uji tanin dilakukan dengan cara larutan uji dipanaskan selama 30 menit lalu disaring, 0,5 gram ekstrak ditambah 10 ml air panas, lalu diambil dan dimasukkan 5 ml larutan tersebut ke dalam tabung reaksi setelah dingin ditambahkan 3 tetes FeCl₃. Serbuk dan ekstrak yang mengandung polifenol jika terbentuk warna hijau, biru, ungu, hitam atau endapan merah yang kuat (Depkes 1995).

2.3. Identifikasi saponin. Sampel sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung dan ditambahkan air sebanyak 0,5 ml kemudian dikocok selama 1

menit, apabila timbul busa, ditambahkan HCl 1%. Jika busa tetap stabil selama 10 menit maka ekstrak daun ceremai positif mengandung saponin (Lathifah 2008).

3. Pembuatan CMC 0,5%

Pembuatan larutan CMC 0,5% dilakukan dengan cara menimbang 0,5 lalu dimasukkan ke dalam air sampai volume \pm 100 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 0,5%. Kemudian larutan ini akan digunakan sebagai suspensi simvastatin, ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun ceremai yang diberikan secara per oral pada tikus.

4. Pemilihan dan penyiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam percobaan ini adalah tikus putih jantan berumur 3 bulan dengan berat badan 150-200 gram dengan syarat berat badannya tidak mengalami penurunan 5% selama masa adaptasi. Tikus jantan sebanyak 35 ekor dibagi secara acak menjadi 7 kelompok terdiri atas 5 ekor tikus untuk masing-masing kelompok.

Kelompok I sebagai kelompok normal. Kelompok II sebagai kontrol negatif, tikus diberi makanan BR II ditambah CMC 0,5%. Kelompok III sebagai kontrol positif, tikus diberi makanan BR II ditambah suspensi simvastatin dengan dosis 10 mg/kg BB. Kelompok IV tikus diberi makanan BR II ditambah ekstrak etanol dosis 45 mg/kg BB tikus. Kelompok V, tikus diberi makanan BR II ditambah fraksi *n*-heksana daun ceremai dosis 17,38 mg/kg BB. Kelompok VI, tikus diberi makanan BR II ditambah fraksi etil asetat daun ceremai dosis 8,63 mg/kg BB. Kelompok VII, tikus diberi makanan BR II ditambah fraksi air daun ceremai dosis 18,9 mg/kg BB.

5. Penetapan dosis sediaan

Dalam penelitian ini dosis pada CMC sebagai kontrol negatif yang ditentukan berdasarkan volume pemberian 2 ml. CMC yang dipakai adalah CMC 0,5% dengan volume pemberian 2 ml/200 g BB tikus.

Pembanding yang digunakan adalah simvastatin. Dosis oral efektif pada manusia 5-40 mg per hari untuk 1x pemakaian. Tablet simvastatin yang beredar adalah 10 dan 20 mg, yang dipakai yaitu dosis 10 dikonversi ke tikus menjadi 0,18 mg/ 200 g BB tikus.

6. Cara perlakuan hewan uji

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran terhadap kadar LDL dan HDL tikus putih jantan dengan jumlah tikus yang digunakan adalah 35 ekor tikus putih jantan yang terbagi dalam 7 kelompok. Masing-masing kelompok perlakuan berjumlah 5 ekor tikus putih jantan.

Perlakuan hewan pada pengukuran kadar LDL dan HDL dilakukan berdasarkan masing-masing kelompok perlakuan yang telah dibagi secara acak sebagai berikut:

- Kelompok I : kelompok kontrol normal, tikus tanpa diberi perlakuan.
- Kelompok II : kelompok kontrol negatif, tikus diberi makanan BR II, diet tinggi lemak, ditambah CMC 0,5 %.
- Kelompok III : kelompok kontrol positif, tikus diberi makanan BR II, diet tinggi lemak, ditambah suspensi simvastatin dengan dosis 10 mg/kg BB.
- Kelompok IV : tikus diberi makanan BR II, diet tinggi lemak, ditambah ekstrak etanol daun ceremai dosis 45 mg/ kg BB tikus.
- Kelompok V : tikus diberi makanan BR II, diet tinggi lemak, ditambah fraksi *n*-heksana daun ceremai dosis 17,38 mg/kg BB tikus.
- Kelompok VI : tikus diberi makanan BR II, diet tinggi lemak, ditambah fraksi etil asetat daun ceremai dosis 8,63 mg/kg BB tikus.
- Kelompok VII : tikus diberi makanan BR II, diet tinggi lemak, ditambah fraksi air daun ceremai dosis 18,9 mg/kg BB tikus.

Sebelum dilakukan perlakuan terhadap hewan uji, hewan uji diadaptasikan terlebih dahulu dengan diberikan makanan standart BR II dan air minum. Sehari sebelum pengambilan darah T₀, T₁₄, T₂₈ hewan uji ditimbang. Pada tahap pengambilan darah hari ke-0, hari ke-14, hari ke-28 hewan uji sebelum diambil darahnya, hewan tersebut harus dipuaskan terlebih dahulu selama 8 jam tetapi tetap diberi minum dan selanjutnya diambil darah hewan uji untuk diukur kadar awal LDL dan HDL (T₀), pada tahap kedua semua hewan uji kecuali kelompok I diberi diet lemak tinggi sesuai perlakuan masing-masing selama 14 hari dan selanjutnya dibaca kadar LDL dan HDL (T₁₄) untuk mengetahui kondisi

hiperlipidemia. Untuk tahap ketiga semua hewan uji kecuali kelompok I , II dan III diberi dosis fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun ceremai sesuai perlakuan masing-masing selama 14 hari kemudian dibaca kadar LDL dan HDL (T28) untuk mengetahui penurunan kadar LDL dan kenaikan kadar HDL.

Pengukuran kadar LDL dan HDL awal dimaksudkan sebagai pembandingan antara kadar LDL dan HDL awal dengan kadar LDL dan HDL setelah perlakuan, untuk melihat ada atau tidaknya perubahan yang terjadi setelah perlakuan kontrol positif, kontrol negatif, serta pemberian dosis fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun ceremai serta melihat nilai normal pada tikus hiperkolesterolemia dan efektifitas dari penggunaan fraksi daun ceremai dalam menurunkan LDL dan meningkatkan HDL.

7. Pembuatan diet tinggi lemak dan PTU

Diet tinggi lemak yang diberikan pada tikus yang berupa minyak goreng bekas, telur puyuh, dan PTU secara per oral bertujuan untuk menginduksi penurunan kadar HDL dan kenaikan kadar LDL dan berat badan tikus. Formula yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Formula diet tinggi lemak

No	Nama Bahan	jumlah
1	Lemak kambing	1 kg
2	Kuning telur puyuh	20 butir
3	Minyak goreng bekas	100 mL
4	Mentega	250
5	PTU	0,1 %

(Ieda 2015)

Dari tabel di atas, lemak kambing dan mentega tidak dipakai untuk induksi diet tinggi lemak. Minyak goreng bekas tersebut dicampur dengan kuning telur sehingga terbentuk emulsi yang halus dan homogen. Penentuan dosis PTU yaitu dengan melarutkan 100 mg PTU dalam 8 ml aquadest, sehingga tiap ml larutan mengandung 12,5 mg PTU.

8. Pengambilan darah dan pengumpulan serum

Pengambilan darah pada hewan uji dilakukan melalui vena mata menggunakan mikrohematokrit. Darah yang keluar ditampung dalam tabung reaksi untuk dilakukan sentrifugasi.

9. Penentuan kadar LDL dan HDL serum darah tikus

Penentuan kadar LDL dan HDL pada serum darah tikus putih dilakukan dalam tiga periode. Periode 1 (kadar awal pada hari ke-0), periode II (kadar pada hari ke-14), dan periode III (kadar pada hari ke-28). Pengukuran kadar LDL dan HDL dengan cara darah tikus diambil dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disentrifugasi selama 15 menit.

Tabel 2. Prosedur pengukuran kadar LDL

Sampel	100 μL	
Reagen precipitant	1000 μL	
Dicampur dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang, kemudian disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 2500 rpm.		
	Standard	Sampel
supernatant	-	100 μL
standard	100 μL	-
reagen kolesterol	1000 μL	1000 μL
Dicampur dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang, kemudian dibaca kadarnya dengan menggunakan alat fotometer.		

Tabel 3. Prosedur pengukuran kadar HDL

Sampel	200 μL
Reagen precipitant	500 μL
Dicampur dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang, kemudian disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 2500 rpm.	

Hasil pengukuran kadar LDL dan HDL selanjutnya dianalisis menggunakan SPSS dengan metode *two way* ANOVA.

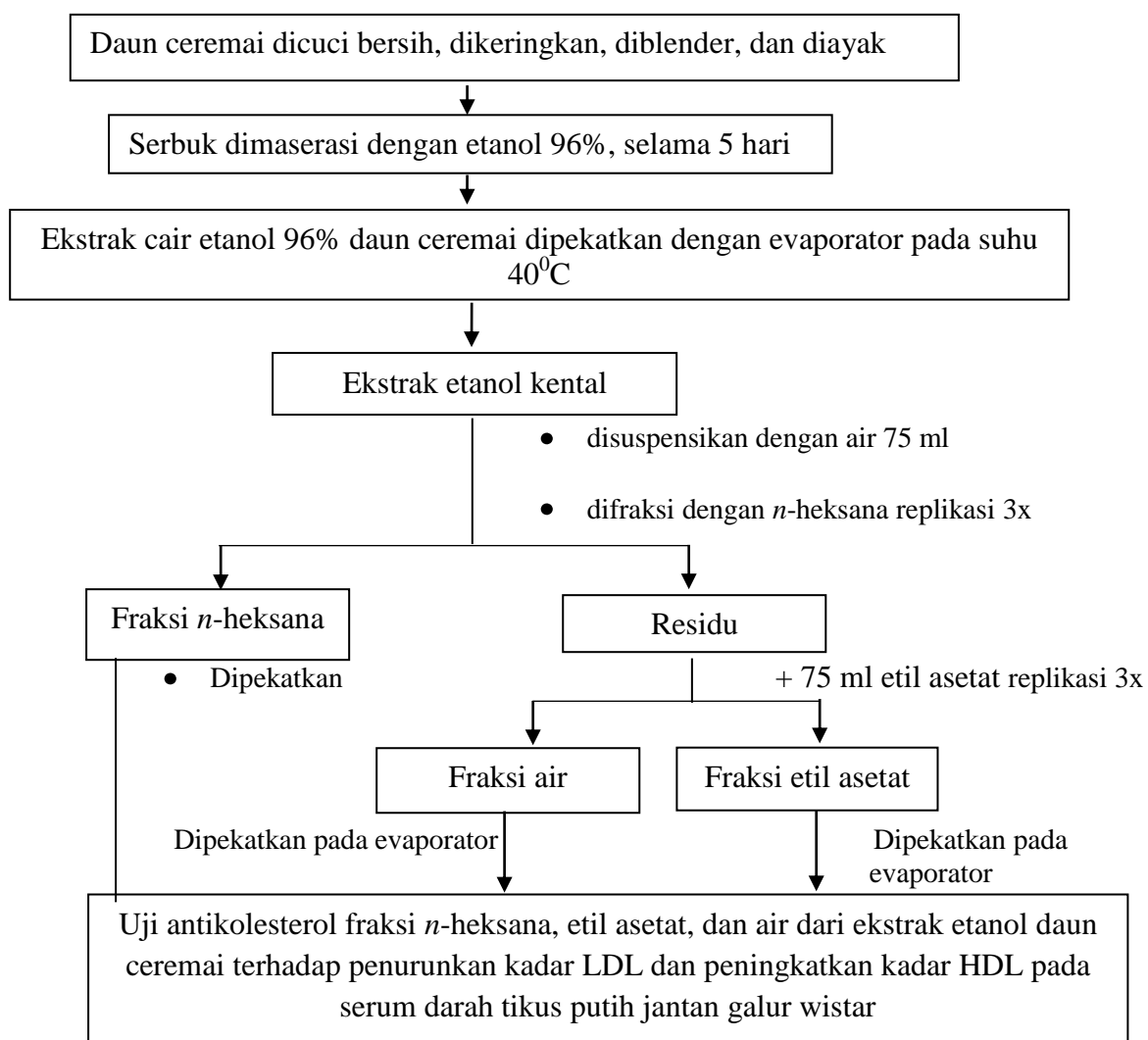
E. Analisis Data

Analisis data yang didapatkan dalam penelitian ini merupakan data yang dianalisis untuk mengetahui adanya fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun ceremai terhadap kadar LDL dan HDL dan untuk mengetahui dosis efektif dari

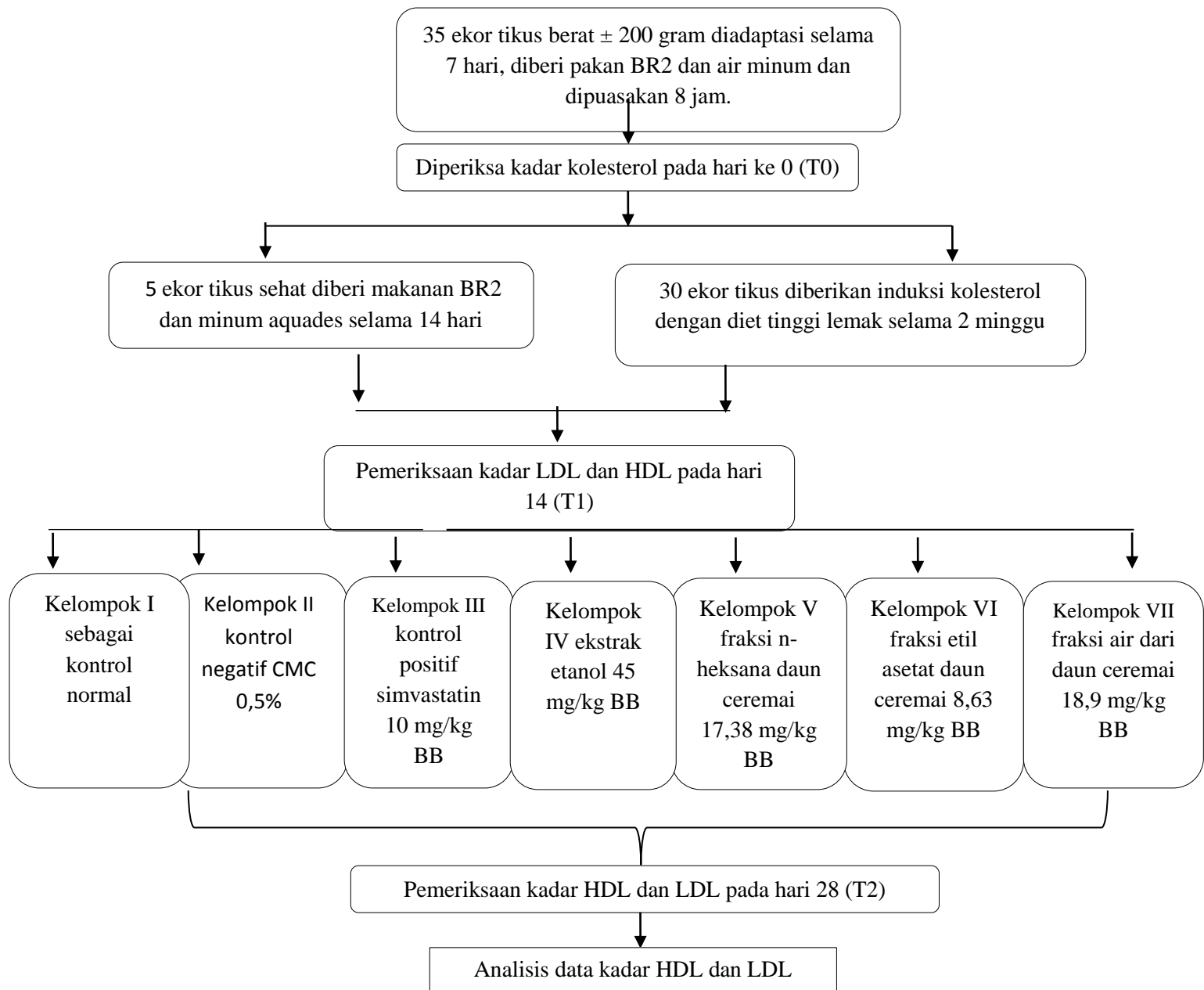
ketiga fraksi daun ceremai yang dapat meningkatkan kadar HDL dan menurunkan kadar LDL serum darah tikus putih.

Data yang diperoleh dianalisis terlebih dahulu dilihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak secara statistik dengan menggunakan uji distribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan uji parametik (ANOVA), dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test* menggunakan Tukey HSD untuk mengetahui perbedaan mean antar kelompok tersebut signifikan atau tidak.

F. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels)



Gambar 3. Rancangan penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Pengumpulan dan Penyiapan daun ceremai

1. Determinasi tanaman ceremai

Determinasi tanaman ceremai bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan untuk penelitian. Determinasi daun ceremai dilakukan di Labolatorium Biologi, Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta. Berdasarkan hasil identifikasi di Labolatorium Biologi, Universitas Sebelas Maret Surakarta dengan surat determinasi No.55/UN27.9.6.4/Lab/2017 menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) dari familia *Euphorbiaceae*.

Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengumpulan bahan daun ceremai

Daun ceremai dikumpulkan dari kecamatan Tembarak, kabupaten Temanggung, provinsi Jawa Tengah pada bulan Februari. Daun ceremai yang digunakan dengan kondisi hijau segar, bersih, tidak busuk, tekstur daun halus, mudah dipetik dan tidak terkontaminasi dengan hama. Berat basah daun ceremai yang diperoleh adalah 6.000 gram.

3. Pengeringan dan pembuatan serbuk daun ceremai

Hasil persentase berat kering terhadap berat basah daun ceremai dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4. Hasil Rendemen bobot kering terhadap bobot basah

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
6000	980	16,33 %

Daun ceremai basah diambil dengan bobot 6000 gram kemudian dikeringkan sehingga diperoleh bobot kering sebesar 980 gram dengan persentase berat kering terhadap basah sebesar 16,33 %. Perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada lampiran 8.

4. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun ceremai

Pengukuran susut pengeringan ini menggunakan alat *moisture balance*. Pengeringan bertujuan untuk mengetahui kadar lembab yang terdapat pada simplisia. Serbuk daun ceremai yang sudah diayak kemudian dimasukkan dalam alat *moisture balance* sebanyak 2 gram kemudian alat ditutup, hasil penetapan susut pengeringan muncul bila alat sudah berbunyi. Pengukuran dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Syarat pembuatan simplisia salah satunya memiliki kadar lembab kurang dari 10% (Voigt 1994). Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun ceremai dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun ceremai

Sampel	Replikasi	Berat serbuk (g)	Kandungan lembab (%)
Daun ceremai	I	2	8,3
	II	2	8,0
	III	2	7,4
Rata-rata \pm SD			7,9 \pm 0,46

Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun ceremai didapatkan rata-rata sebesar 7,9% kurang dari 10%, artinya serbuk daun ceremai sudah memenuhi syarat pengeringan simplisia.

5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun ceremai

Serbuk daun ceremai sebanyak 900 gram dimaserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 6750 ml dalam botol maserasi selama 5 hari, penggojokan dilakukan sebanyak 3 kali sehari. Hasil maserasi disaring menggunakan kain flanel kemudian disaring kembali menggunakan kertas saring. Hasil penyaringan dievaporasi menggunakan alat evaporator sampai terjadi penyusutan. Hasil evaporasi dimasukkan dalam oven sampai terbentuk ekstrak kental. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun ceremai dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 6. Hasil rendemen ekstrak etanol daun ceremai

Berat serbuk (g)	Etanol (ml)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
900	6750	85,40	9,49%

Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun ceremai dapat dilihat pada lampiran 9.

6. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun ceremai

Ekstrak etanol daun ceremai difraksinasi menggunakan 3 macam pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu nonpolar, semipolar, dan polar.

6.1. Fraksi *n*-Heksana. Ekstrak etanol daun ceremai ditimbang sebanyak 30 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 75 ml, kemudian difraksinasi menggunakan *n*-heksana sebanyak 75 ml menggunakan corong pisah. Corong pemisah digoyang-goyangkan dengan posisi mendatar agar kedua pelarut bercampur dan saling menyari sambil sesekali kran dibuka untuk mengeluarkan tekanan uap dalam corong pemisah. Kran corong ditutup kemudian diamkan, gantung pada statif dengan posisi tegak hingga terbentuk 2 fase cairan. Lapisan *n*-heksana berada di atas sedangkan lapisan air berada di bagian bawah. Kran dibuka pelan-pelan untuk mengeluarkan fase air sehingga yang tertinggal dalam corong pemisah hanya fraksi *n*-heksana. Fraksi *n*-heksana ditampung kemudian dimasukkan dalam oven pada suhu 40⁰ C

Tabel 7. Hasil rendemen fraksi *n*-heksana dari ekstrak etanol daun ceremai

Berat ekstrak (g)	Berat fraksi <i>n</i> -heksana(g)	Rendemen (%)
30	9,225	30,85 %

Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana dapat dilihat pada lampiran 10.

6.2. Fraksi etil asetat. Residu dari fraksi *n*-heksana difraksinasi lagi menggunakan pelarut etil asetat menggunakan corong pisah dengan cara yang sama. Lapisan etil asetat berada di bagian atas sedangkan lapisan air berada dibagian bawah. Fraksi etil asetat ditampung kemudian dimasukkan dalam oven pada suhu 40⁰ C. Hasil rendemen fraksi etil asetat dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 8. Hasil rendemen fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun ceremai

Berat ekstrak kental (g)	Berat fraksi etil asetat (g)	Rendemen (%)
30	4,595	15,32 %

Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dapat dilihat pada lampiran 11.

6.3. Fraksi air. Residu dari fraksinasi etil asetat dari corong pisah ditampung menjadi satu wadah. Masing-masing hasil fraksi *n*-heksana, etil asetat dan fraksi air di pekatkan menggunakan oven pada suhu 40⁰ C. sampai terbentuk fraksi kental.

Tabel 9. Hasil rendemen fraksi air dari ekstrak etanol daun ceremai

Berat ekstrak kental (g)	Berat fraksi air (g)	Rendemen (%)
30	10,114	33,71 %

Perhitungan rendemen fraksi air dapat dilihat pada lampiran 13.

7. Identifikasi kandungan kimia dalam serbuk dan ekstrak etanol daun ceremai

Tabel 10. Hasil identifikasi tabung reaksi serbuk dan ekstrak etanol daun ceremai

No	Kandungan Kimia	Identifikasi	Hasil		Pustaka	ket
			Serbuk	Ekstrak		
1	Flavonoid	0,5 gram serbuk + Mg + 4-5 tetes HCL + etanol 95%	Terbentuk warna kuning pada lapisan etanol	Terbentuk warna kuning pada lapisan etanol	Terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan etanol	Flavonoid positif
2	Tanin	0,5 gram serbuk + 1-2 ml air panas + 2 tetes FeCl ₃ 1%	Terbentuk warna hijau kebiruan	Terbentuk warna hijau kebiruan	Terbentuk warna hijau kebiruan	Tanin positif
3	Saponin	0,5 gram serbuk + 0,5 ml air panas + dikocok selama 1 menit + HCL 1%	Terbentuk buih	Terbentuk buih	Terbentuk busa yang stabil	Saponin positif

Berdasarkan identifikasi kandungan kimia dari serbuk dan ekstrak etanol daun ceremai yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun ceremai mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Hasil identifikasi tabung yang telah dilakukan, didapatkan hasil uji dari flavonoid yaitu berwarna kuning pada lapisan etanol, hasil uji tanin didapatkan hasil berwarna biru dan saponin didapatkan busa yang stabil. Hasil dari uji tabung ini telah sesuai dengan pustaka yang ada maka dapat disimpulkan hasil uji tabung pada senyawa flavonoid, tanin, dan saponin adalah positif. Hasil identifikasi kandungan kimia dari serbuk dan ekstrak etanol daun ceremai dapat dilihat pada lampiran 14.

8. Hasil perhitungan dosis sediaan uji

Penetapan dosis ekstrak etanol daun ceremai yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya bahwa ekstrak etanol yang efektif yaitu dengan dosis 45 mg/kg BB tikus. Sedangkan perhitungan dosis dapat dilihat pada lampiran 16, 17, 18, 19.

Tabel 11. Hasil penetapan dosis fraksi dan simvastatin

No	Sediaan	Dosis (mg/200 g BB tikus)
1	n-heksana	17,38
2	etil asetat	8,63
3	air	18,9
4	simvastatin	0,18

Penetapan dosis simvastatin berdasarkan konversi dosis dari manusia 70 kg ke tikus putih 200 g didapatkan dosis sebesar 0,18 mg/200 g BB tikus.

B. Hasil Pemeriksaan kadar HDL dan LDL

Hewan uji yang digunakan dalam uji peningkatan kadar HDL dan penurunan kadar LDL adalah tikus jantan galur wistar. Tikus putih jantan galur wistar dipilih sebagai hewan uji dalam penelitian ini karna lebih cerdas, tenang, dan mudah diatasi sehingga memudahkan dalam pengamatan. Tikus putih jantan galur wistar yang digunakan dalam penelitian ini memiliki berat antara 190 gram sampai dengan 220 gram. Data penimbangan berat badan tikus digunakan untuk menentukan volume sediaan obat yang diberikan secara oral pada masing-masing tikus.

Pemeriksaan kadar HDL dan LDL pada tikus putih jantan dilakukan sebanyak 3 kali pemeriksaan yaitu hari ke-0, hari ke-14, dan hari ke-28. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah CHOD-PAP, kemudian pengukuran kadar HLD dan LDL menggunakan alat fotometer. Pemeriksaan hari ke-0 bertujuan untuk mengetahui kadar HDL dan LDL hewan coba sebelum diinduksi dan sebelum mengalami perlakuan. Pemeriksaan hari ke-14 bertujuan untuk mengetahui penurunan kadar HDL, dan peningkatan kadar LDL setelah diinduksi dengan PTU, kuning telur puyuh, dan minyak jelantah. Pemeriksaan hari ke-28 bertujuan untuk mengetahui peningkatan kadar HDL dan penurunan kadar LDL setelah diberi perlakuan dengan ekstrak dan fraksi-fraksi etanol daun ceremai. Pada pemeriksaan ini akan diketahui seberapa besar peningkatan kadar HDL dan penurunan kadar LDL pada tikus putih setelah diberi ekstrak dan fraksi-fraksi etanol daun ceremai, apakah penurunannya secara signifikan atau tidak.

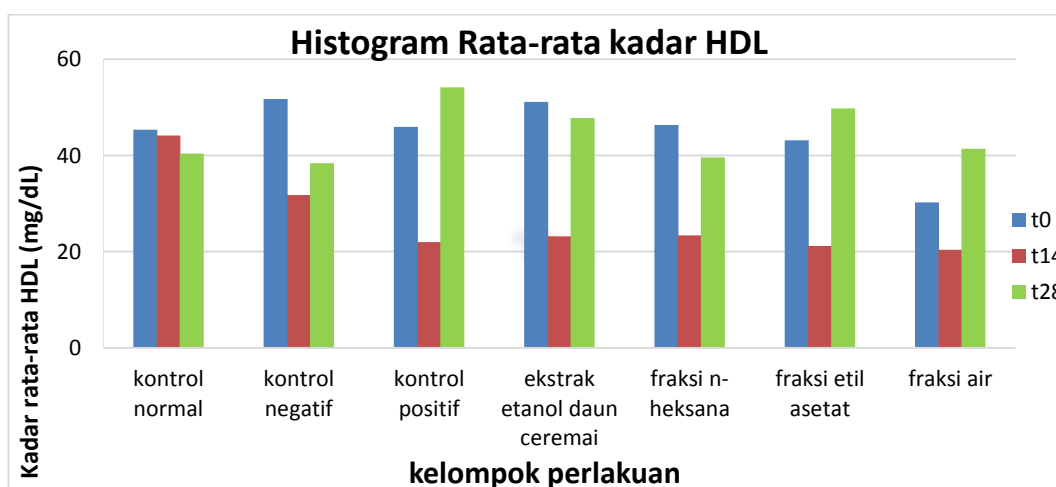
1. Hasil rata-rata peningkatan kadar HDL

Pemeriksaan kadar HDL pada serum darah tikus dilakukan dalam tiga periode. Periode I (kadar awal pada hari ke-0), periode II (kadar hiperkolestroleemia pada hari ke-14), periode III (kadar perlakuan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun ceremai pada hari ke-28). Pengukuran kadar kolesterol HDL dilakukan dengan metode CHOD-PAP. Hasil rata-rata pemeriksaan kadar HDL dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 12. Rata-rata kadar HDL serum darah tikus (mg/dL)

Kel	Rata-rata kadar HDL (mg/dl) hari			Selisih rata-rata kadar HDL (mg/dl)	
	ke-0	ke-14	Ke-28	Δ penurunan kadar T14-T0	Δ peningkatan kadar T28-T14
kontrol normal	45,4 \pm 8,76	44,2 \pm 6,72	40,4 \pm 5,13	-1,2 \pm -2,04	-3,8 -1,59
kontrol negatif	51,8 \pm 13,44	31,8 \pm 8,29	38,4 \pm 9,13	-20 \pm -5,15	6,6 \pm 0,84
kontrol positif	46 \pm 5,83	22 \pm 6,12	54,2 \pm 9,83	-24 \pm 0,29	32,2 \pm 3,71
Ekstrak etanol	51,2 \pm 4,32	23,2 \pm 8,11	47,8 \pm 3,56	-28 \pm 3,79	24,6 \pm -4,55
Fraksi n-heksan	46,4 \pm 8,68	23,4 \pm 4,51	39,6 \pm 4,16	-23 \pm -4,17	16,2 \pm -0,35
Fraksi etil asetat	43,2 \pm 7,33	21,2 \pm 8,29	49,8 \pm 6,72	-22 \pm 0,96	28,6 \pm -1,57
Fraksi air	43,8 \pm 5,54	20,4 \pm 8,47	41,4 \pm 8,53	-23,4 \pm 2,93	21 \pm 0,06

Berdasarkan hasil rata-rata kadar HDL serum darah tikus putih jantan pada hari ke-0 belum menunjukkan perubahan karena merupakan kadar awal dari HDL. Pada hari ke-14 mengalami penurunan kadar HDL karena tikus diberi pakan diet tinggi lemak yaitu telur puyuh, minyak jelantah, serta induksi PTU pada semua kelompok perlakuan kecuali kelompok 1, karena kelompok 1 adalah kelompok normal. Pada hari ke-28 rata-rata kadar HDL mengalami peningkatan Rata-rata HDL dan % peningkatan kadar HDL.



Gambar 4. Rata-rata kadar HDL serum tikus putih (mg/dL)

Histogram di atas menunjukkan penurunan kadar HDL pada hari ke-0 sampai hari ke-14 pada semua kelompok perlakuan kecuali kelompok 2, karena kelompok 1 sebagai kontrol normal. Penurunan kadar HDL disebabkan karena pemberian pakan tinggi lemak selama 2 minggu pada tikus putih. Pakan tinggi lemak yang diberikan adalah telur puyuh, minyak jelantah, serta induksi PTU. Pemberian pakan tinggi lemak secara terus menerus akan meningkatkan kadar kolesterol darah. Jika kadar kolesterol darah meningkat secara otomatis juga akan meningkatkan kadar LDL plasma karena LDL bertugas mengangkut kolesterol ke jaringan. Peningkatan kadar LDL mengakibatkan penurunan kadar HDL plasma karena jumlah HDL plasma tidak mencukupi untuk membersihkan kelebihan kolesterol dalam darah. Peningkatan kadar LDL dan penurunan kadar HDL belum mencapai hiperlipoproteinemia karena waktu pemberian induksi pakan tinggi lemak kurang lama.

Peningkatan kadar HDL pada hari ke-14 sampai hari ke-28 pada kontrol negatif tidak berpengaruh karena hanya diberi suspensi CMC 0,5%. Sedangkan kontrol positif yang diberi suspensi simvastatin menunjukkan adanya peningkatan kadar HDL yang sangat signifikan hingga rata-rata kadarnya 54,2 mg/dl, setelah kontrol positif adalah fraksi etil asetat dengan rata-rata 49,8 mg/dl. Kemudian pada ekstrak etanol, fraksi air, dan fraksi *n*-heksana terjadi peningkatan kadar HDL dengan rata-rata 47,8 mg/dl, 41,4 mg/dl, dan 39,6 mg/dl.

Hasil pengolahan data berdasarkan statistika pada uji *kolmogrov-smirnov* hasil signifikansinya (Asymp.sig) menunjukkan angka $0,970 > 0,05$, sehingga data tersebut terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan menggunakan *One-Way Anova*. Dari uji *One-Way Anova* didapatkan hasil signifikansinya $0,009 < 0,05$, sehingga data tersebut memiliki perbedaan yang bermakna antara setiap kelompok uji.

Tahap selanjutnya adalah uji *Tukey HSD* untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil uji *Tukey HSD* kelompok negatif tidak berbeda nyata dengan kelompok *n*-heksana, kelompok normal, kelompok air, kelompok ekstrak, dan kelompok etil asetat. Sedangkan kelompok negatif berbeda nyata dengan kelompok positif, hal ini dikarenakan kelompok negatif

hanya diberi suspensi CMC 0,5% tidak mengandung zat aktif yang berperan sebagai antikolesterol.

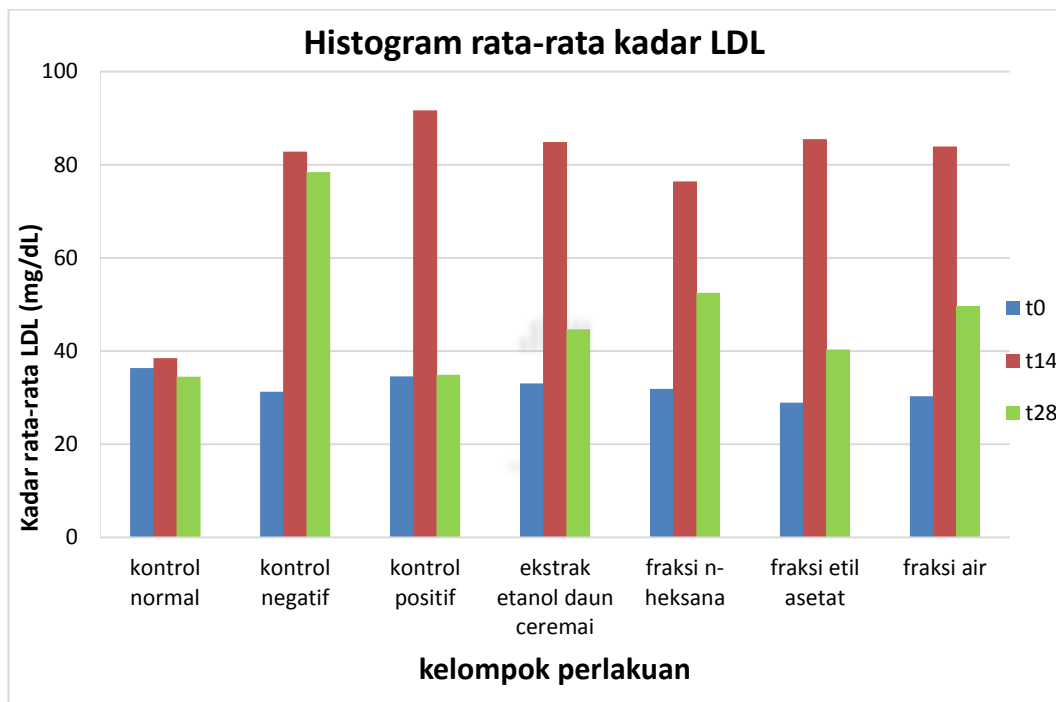
Kadar HDL pada kelompok kontrol positif tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok fraksi etil asetat, kelompok ekstrak etanol, dan kelompok air. Pada ketiga kelompok ini mengalami peningkatan kadar HDL tetapi peningkatan yang paling mendekati dengan kontrol positif adalah kelompok fraksi etil asetat, sehingga dikatakan bahwa kelompok fraksi etil asetat adalah kelompok perlakuan paling baik dalam menurunkan kadar LDL tikus hiperkolestroleemia dengan peningkatan sebesar 54,20%. Data hasil analisis statistika kadar HDL dapat dilihat pada lampiran 22.

2. Hasil rata-rata penurunan kadar LDL

Pemeriksaan kadar LDL pada serum darah tikus dilakukan dalam tiga periode. Periode I adalah kadar awal pada hari ke-0, periode II adalah kadar hiperkolestroleemia pada hari ke-14 dan periode III adalah kadar perlakuan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun ceremai pada hari ke-28. Pengukuran kadar kolesterol LDL dilakukan dengan metode CHOD-PAP. Hasil rata-rata pemeriksaan kadar LDL dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 13. Rata-rata kadar LDL serum darah tikus (mg/dL)

Kel	Rata-rata kadar LDL (mg/dl) hari			Selisih rata-rata kadar LDL (mg/dl)	
	ke-0	ke-14	Ke-28	Δ penurunan kadar T14-T0	Δ peningkatan kadar T14-T28
kontrol normal	36,32 \pm 27,8	38,46 \pm 6,68	34,5 \pm 4,95	2,14 \pm -21,12	3,96 \pm 1,73
kontrol negatif	31,28 \pm 4,95	82,76 \pm 4,21	78,4 \pm 3,93	51,48 \pm -0,74	4,36 \pm 0,28
kontrol positif	34,52 \pm 4,24	91,68 \pm 4,58	34,86 \pm 4,24	57,16 \pm 0,34	56,82 \pm 0,34
Ekstrak etanol	33 \pm 7,78	84,84 \pm 6,29	44,68 \pm 4,04	51,84 \pm -1,49	40,16 \pm 2,25
Fraksi n-heksan	31,84 \pm 3,54	76,38 \pm 7,04	52,48 \pm 4,24	44,54 \pm 3,5	23,9 \pm 2,8
Fraksi etil asetat	28,9 \pm 5,66	85,48 \pm 8,70	40,34 \pm 7,78	56,58 \pm 3,04	45,14 \pm 0,92
Fraksi air	30,26 \pm 6,03	83,88 \pm 5,74	49,68 \pm 3,26	53,62 \pm -0,29	34,2 \pm 2,48



Gambar 5. Rata-rata kadar LDL serum tikus putih (mg/dL)

Histogram di atas menunjukkan adanya peningkatan kadar LDL pada hari ke-0 sampai hari ke-14 pada semua kelompok perlakuan kecuali kelompok 1, karena kelompok 1 sebagai kelompok normal. Peningkatan kadar LDL diakibatkan karena pemberian pakan diet tinggi lemak yaitu telur puyuh dan minyak jelantah serta diberi induksi PTU. Lemak pada makanan akan diabsorpsi tubuh melalui usus masuk ke peredaran darah. Lemak merupakan senyawa yang tidak larut dalam air sehingga lemak tersebut tidak dapat larut dalam plasma darah. LDL bertugas untuk mengantar kolesterol ke seluruh tubuh. LDL akan diambil reseptor LDL di hati untuk mengalami katabolisme. Bila kadar kolesterol dalam darah meningkat, maka kadar LDL dalam darah juga akan meningkat untuk memenuhi kebutuhan pendistribusian kolesterol ke seluruh tubuh.

Setelah pemberian pakan diet tinggi lemak. Pada hari ke-14 hingga hari ke-28 terjadi penurunan yang bervariasi. Pada kelompok negatif penurunan kadar LDL tidak signifikan karena hanya diberi suspensi CMC 0,5% tanpa zat aktif sebagai antikolesterol. Kelompok kontrol positif yang diberi suspensi simvastatin menunjukkan adanya penurunan LDL yang sangat baik hingga rata-rata kadarnya 34,86 mg/dl. Pada kelompok ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat,

dan fraksi air terjadi penurunan kadar LDL hingga rata-rata kadarnya 44,68 mg/dl, 52,48 mg/dl, 40,34 mg/dl, dan 49,68 mg/dl.

Hasil pengolah data berdasarkan statistika pada uji *kolmogrov-smirnov* hasil signifikansinya (Asymp.sig) menunjukkan angka $0,272 > 0,05$, sehingga data tersebut terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan menggunakan *One-Way Anova*. Dari uji *One-Way Anova* didapatkan hasil signifikansinya $0,000 < 0,05$, sehingga data tersebut memiliki perbedaan yang bermakna antara setiap kelompok uji.

Tahap selanjutnya adalah uji *Tukey HSD* untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil uji *Tukey HSD* bahwa kelompok kontrol normal tidak mempunyai perbedaan yang nyata dengan kelompok positif, kelompok fraksi etil asetat, dan kelompok ekstrak etanol. Sedangkan kelompok normal berbeda secara signifikan dengan kelompok fraksi air, kelompok fraksi *n*-heksan, dan kelompok kontrol negatif, karena pada kontrol normal merupakan patokan kadar normal yang akan dibandingkan dengan kadar hiperkolestroleemia dan kadar perlakuan pada hewan uji sehingga ada perbedaan yang signifikan.

Kadar LDL pada kelompok negatif berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol positif, kelompok fraksi etil asetat, kelompok ekstrak etanol, kelompok fraksi air, dan kelompok fraksi *n*-heksana, hal ini disebabkan karena pada kelompok tersebut terkandung zat aktif yang memiliki pengaruh yang cukup besar terhadap kadar LDL tikus hiperkolestroleemia sehingga menunjukkan penurunan yang cukup signifikan.

Kadar LDL pada kelompok kontrol positif tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok fraksi etil asetat, dan kelompok ekstrak etanol. Pada kedua kelompok ini mengalami penurunan kadar LDL tetapi penurunan yang paling mendekati dengan kontrol positif adalah kelompok fraksi etil asetat, sehingga dikatakan bahwa kelompok fraksi etil asetat adalah kelompok perlakuan paling baik dalam menurunkan kadar LDL tikus hiperkolestroleemia. Data hasil analisis statistika kadar HDL dapat dilihat pada lampiran 23.

Peningkatan kadar HDL dan penurunan kadar LDL Pada fraksi etil asetat dimungkinkan karena adanya kandungan senyawa flavonoid, tanin, dan saponin

yang sudah dibuktikan pada uji identifikasi tabung yang mampu menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL pada tikus hiperkolestolemia. Flavonoid mampu memperbaiki fungsi endotel pembuluh darah, dapat mengurangi kepekaan LDL terhadap radikal bebas dan bersifat hipolipidemik.

Flavonoid mampu memperbaiki fungsi endotel pembuluh darah, dapat mengurangi kepekaan LDL terhadap radikal bebas dan bersifat hipolipidemik. Tumbuhan yang mengandung polifenol atau flavonoid telah digunakan abad ini sebagai obat herbal untuk berbagai jenis penyakit dan telah ditemukan berefek terhadap penyakit diabetes dan obesitas (Mary *et al.*, 2003). Mekanisme kerja flavonoid dapat menurunkan kadar kolesterol LDL dengan cara menghambat sekresi Apo-B serta dapat menurunkan aktivitas MTP yang berperan pada pembentukan lipoprotein dengan mengkatalisa perpindahan lipid ke molekul Apo-B. Flavonoid juga dapat menghambat aktivitas enzim HMG-CoA reduktase, yaitu enzim yang berperan dalam pembentukan kolesterol.

Tanin merupakan golongan senyawa polifenol yang berperan sebagai antioksidan menurunkan kolesterol dengan cara diekskresikan melalui feses dan tidak terjadi melalui siklus enterohepatik (Andrian 2004). Polifenol sebagai antioksidan mempunyai efek yang menguntungkan pada fungsi endotel yaitu menurunkan oksidasi LDL dan meningkatkan produksi nitric oxide (NO) (Vita 2005).

Kandungan saponin memiliki mekanisme hipolipidemia melalui penurunan sintesis kolesterol dengan menghambat aktifitas HMG-CoA reductase dan peningkatan ekskresi asam empedu dengan menginterupsi formasi misel, sehingga kolesterol tidak dapat diabsorpsi. Saponin juga berperan dalam meningkatkan pergantian atau pengelupasan sel usus melalui tindakan *membranolytic* sehingga meningkatkan hilangnya kolesterol di membrane sel ke dalam sel yang terkelupas. Saponin juga menunjukkan aktivitas antikolesterol dengan menghambat penyerapan kolesterol dalam usus (Matsui *et al* 2009).

Hasil uji flavonoid pada berbagai ekstrak diperoleh bahwa pada ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air positif mengandung senyawa golongan flavonoid dengan intensitas yang kuat. Sedangkan untuk fraksi *n*-heksan

memberikan hasil negatif adanya flavonoid. Hal ini dikarenakan senyawa golongan flavonoid bersifat polar sehingga lebih larut dalam pelarut polar dan *semipolar*.

Penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi yang paling efektif dalam menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL, karena dapat menurunkan kadar LDL dan menaikkan kadar HDL secara signifikan dan mendekati kontrol positif yaitu simvastatin. Kelompok kontrol pertama yang paling efektif pada penelitian ini adalah kelompok positif yaitu simvastatin, hal ini dikarenakan simvastatin memiliki zat aktif paling besar, sehingga dapat menurunkan LDL dan meningkatkan HDL, kemudian kelompok kontrol kedua yang paling efektif pada penelitian ini untuk menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL adalah kelompok fraksi etil asetat. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin banyak kandungan zat aktif yang terkandung dalam ekstrak mampu memberikan efek terhadap kadar LDL dan HDL serum darah tikus putih jantan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) dapat menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL pada tikus putih jantan galur wistar yang dibuat hiperlipidemia.

Kedua, dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun ceremai pemberian fraksi etil asetat terbukti yang paling efektif mampu menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL pada tikus putih jantan galur wistar yang dibuat hiperlipidemia dengan dosis 8,63 mg/kg BB.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan lebih lanjut untuk mengetahui senyawa yang aktif dari ekstrak etanolik daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels).

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan memperpanjang waktu pemberian ekstrak, dan fraksi-fraksi etanol ceremai terhadap aktivitasnya sebagai antihiperlipidemia

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang toksisitas penggunaan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun ceremai baik dalam penggunaan jangka panjang maupun jangka pendek.

DAFTAR PUSTAKA

- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)* Jilid 2. Jakarta.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia* Jilid 6. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Afifah, B.S., Wahyuningsih, S., Sukandar, E.Y., Riyanti, S., dan Vikasari, S.N., 2013, Parameter Mutu Standar Simplisia Daun Ceremai [*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels] Asal Purwakarta - Jawa Barat, *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia ke-44 : Penggalan, Pelestarian, Pemanfaatan, dan Pengembangan Tumbuhan Obat Indonesia untuk Peningkatan Kesehatan Masyarakat*, 14-16 Maret 2013, STIFI Bhakti Pertiwi Palembang, hal. 667-673.
- Akbar AT. 2013. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanolik Daun Kacang Tanah (Arachis hypogaea L.) terhadap Penurunan Kadar Trigliserida Serum Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Anies. 2015. *Kolesterol & Penyakit Jantung Koroner*. Yogyakarta: Ar-Ruzz Media. Hlm. 5-20.
- Arora, Anjali. 2007. *5 Langkah memahami kolesterol*. BIP, Jakarta Hal. 68
- Astawan M. 2011. *Tekur Puyuh Sembuhkan Asma dan Alergi*. Jakarta. PT Gramedia.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2013.
- Dalimartha S. 2000. *36 Resep Tumbuhan Obat untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 1-5.
- Dalimartha S. 2006. *36 Resep Tumbuhan Obat untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 1-13, 30-31.
- Dalimartha S. 2008. *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Dinamika Media. Hlm 150-151.
- Dipiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, dan Posey. 2008. *Pharmacotherapy Handbook*. Edisi 7. USA: The Mc. Graw Hill Company.
- Farah U. 2008. *Optimisasi ekstraksi flavonoid total daun jati belanda* [skripsi]. Bogor: Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor.

- Gamse T. 2002. *Liquid-Liquid Extraction and Solid-Liquid Extraction*. Graz University of Technology.
- Gilman AG. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*. Volume ke-2. Edisi 10. Jakarta: EGC.
- Go, A.S., Mozaffarian, D., Roger, V.L., Berry, J.D., Blaha, M.J., Dai, S. *et al.*, 2013, 'Heart disease and stroke statistics—2014 update: a report from the American Heart Association', *Circulation Journal of American Heart Association*, pp. e87-e95.
- Hu FB, Manson JE, Willett WC. 2001. *Types of dietary fat and risk of coronary heart disease* J Am Col Nut 20 (1): 5-19.
- Inawati, dkk. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Inay (*Lawsonia inermis* Linn.) Terhadap penurunan Kadar Glukosa, Kolesterol Total dan Trigliserida Darah Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Kimia Indonesia*. Vol. 2 (1), 2007, hal 7-12.
- Irawan R 2009, diacu dalam Anonim 2004. *Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, L) Terhadap Aktifitas Enzim ALT*
- Kementrian Kesehatan RI. 2010. *Suplemen 1 Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Kronenberg, H.M., Melmed, S., Polonsky, K.S. & Larsen, P.R., 2008, '*William textbook of endocrinology*', 11 edn, Elsevier, Inc., Saunders .
- Laily Ieda Q. 2015. *Pengaruh Pemberian kombinasi Ekstrak Etanol daun Murbei (*Morus alba* L.) dengan Simvastatin Terhadap Kolesterol Total tikus putih Hiperkolesterolemia* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Lathifah QA, 2008. *Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan Variasi Pelarut*. [Skripsi]. Tidak dipublikasikan. Malang: Universitas Islam Negeri Malang.
- Lefever Joyce. 2014. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium & Diagnostik*. Edisi 6. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Malloy MJ, Kane JP. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik X*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakart. Hlm 575.
- Mary NK, Babu BH and Padikkala J. 2003. *Antiatherogenic Effect Of Caps HT2, A Herbal Ayurvedic Medicine Formulation*. *Phytomedicine* 10:474-482.

- Matsui Y *et al.* 2009. Quantitative analysis of saponin in a tea-leaf extract and their antihypercholesterolemia activity. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 73970: 1913:9.
- Munaf S. 2009. *Obat-obat Penurun Kadar Lipid Darah*. Staf pengajar departemen Farmakologi dalam buku Kumpulan Kuliah Farmakologi. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm 404-406. 418
- Murray R, Daryl K. Granner. 2003. *Biokimia Harper*, edisi 25. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2003
- Redha A. 2010. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan perannya dalam sistem biologis. *Jurnal belian* 9:2
- Riesanti DG, Padaga MC, Herawati. 2010. Kadar HDL, Kadar LDL, dan gambaran histopatologi aorta pada hewan model tikus hiperkolesterolemia dengan terapi ekstrak air benalu manga (*Dendrophoe pentandra*). Malang: Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.
- Rukmini, A. 2007. *Komparasi efektivitas adsorben komersial dan non komersial dalam proses regenerasi minyak jelantah*. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan. Semarang: 455-459.
- Sa'adah L. 2010. *Isolasi dan Identifikasi senyawa tanin dari daun belimbing wuluh (Averrhoa blimbi L.)* [Skripsi]. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Setiawan. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 4*. Jakarta: Puspa Swara
- Stringer, J.L. 2006. Konsep Dasar Farmakologi : *Panduan untuk Mahasiswa Edisi 3*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. pp.198-9.
- Suyatna. 2009. Hiperlipidemia. Di dalam: Gunawan GS, Setiabudi R, Nafrialdi, editor. *Farmakologi dan terapi dan terapi*. Ed ke-5 (cetak ulang dengan perbaikan, 2011). Jakarta: FKUI. hlm. 377, 383.
- Tan HT, Rahardja K. 2002. *Obat – Obat Penting*. Ed ke-4. Jakarta: PT Elex Media Komputindo. Hlm 411-425.
- Vita JA. 2005. Polyphenol and cardiovascular disease: effect on endothelial and platelet function. *Am J Clin Nutr* 81 (1): 292s-297s.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Noerono S, Penerjemah, Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada. Terjemahan dari : *Lehrbuch der Pharmaceutizehen Technology*.

Waji RA, Sugrani A. 2009. *Flavonoid (Quercetin)*. Kimia Organik Bahan Alam. Program S2 kimia fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam universitas hasanudin.

L

A

M

P

Q

R

A

N

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 55/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Suci Widy Yanti
NIM : 19133975A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels
Familia : Euphorbiaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73a

99. Euphorbiaceae

1b-3b-4b-6b-57a-58b-62b-64a-65b-66a

8. *Phyllanthus*

1b-6b-8a-9a

Phyllanthus acidus (L.) Skeels

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon, menahun, tumbuh tegak, tinggi 3-10 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : bulat, berkayu, bercabang banyak, percabangan monopodial, arah tumbuh cabang condong ke atas, permukaan gundul. Daun : tunggal, berseling, bertangkai pendek, bulat telur tumpul atau bulat telur memanjang, panjang 3.5-9 cm, lebar 1.75-4 cm, pangkal membulat tumpul, tepi rata, ujung runcing atau meruncing, pertulangan menyirip, permukaan berwarna hijau muda, permukaan gundul; tangkai daun pendek, panjang 2-3 mm, bulat, gundul. Bunga : berkelamin satu (unisexual), majemuk bentuk malai, pada cabang yang tidak berdaun, panjang 1.5 – 9 cm, bunga jantan berjumlah banyak, bunga betina 0-2; panjang tangkai bunga 1-1.5 mm; cuping perhiasan bunga berbentuk bulat telur melebar, hijau muda hingga merah, panjang 1-1.5 mm. Bunga jantan : benangsari lebih panjang daripada perhiasan bunga. Bunga betina : 1-3 benangsari kadangkala melekat pada bagian dasar bakal buah, bakal buah berisi 3-4 ruang. Buah : buah batu, bulat, panjang 1.25-1.5 cm, lebar 1.75-2.25 cm, terdiri atas 6-8 belahan, gundul dan licin, hijau ketika muda dan kuning pucat ketika masak, rasanya sangat masam, panjang tangkai buah 3-4 mm. Biji : kecil, pipih, permukaan gundul

Surakarta, 15 Maret 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyanti, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

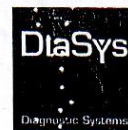
Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 3. Brosur HDL precipitant



HDL Precipitant

Precipitation reagent for in vitro determination of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) according to the CHOD-PAP-method on photometric systems

Order Information

Cat. No.	Kit size
1 3540 99 90 885	250 mL Precipitation reagent
1 1350 99 10 021	5 x 25 mL + 1 x 3 mL Standard
1 1350 99 10 026	6 x 100 mL
1 1350 99 10 023	1 x 1000 mL
1 1300 99 10 030	6 x 3 mL Standard

Principle

Chylomicrons, VLDL and LDL are precipitated by adding phosphotungstic acid and magnesium ions to the sample. Centrifugation leaves only HDL in the supernatant the concentration of which is determined enzymatically by using DiaSys Cholesterol FS.

Reagents

Components and concentrations

Phosphotungstic acid	1.4 mmol/L
Magnesium chloride	8.6 mmol/L

Storage instructions and reagent stability

The reagent is stable up to the end of the indicated month of expiry, if stored at 15 – 25 °C and contamination is avoided.

Warnings and precautions

- In very rare cases, samples of patients with gammopathy might give falsified results [7].
- Please refer to the safety data sheets and take the necessary precautions for the use of laboratory reagents. For diagnostic purposes, the results should always be assessed with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

2. For professional use only!

Waste management

Please refer to local legal requirements.

Reagent Preparation

The precipitant is ready to use.

Material required but not provided

NaCl-Solution 9 g/L
General laboratory equipment

Specimen

Serum, heparin plasma or EDTA plasma

Stability [5]:	2 days	at	20 – 25 °C
	7 days	at	4 – 8 °C
	3 months	at	–20 °C

Freeze only once!

Discard contaminated specimens!

Assay procedure

Precipitation

Sample/Standard	200 µL
Precipitation reagent	500 µL
Mix and incubate for 15 min. at room temperature, then centrifuge for 20 min at 2500 g. Within 2 hours after centrifugation transfer 0.1 mL of the clear supernatant to the reaction solution for the determination of cholesterol.	

After centrifugation, the supernatant should be clear. Serum or plasma with triglyceride contents > 1000 mg/dL tends to produce turbid supernatants or floating precipitates. In this case dilute the sample 1 + 1 with NaCl solution (9 g/L) and then perform the precipitation. Multiply the result by 2.

Cholesterol determination

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

	Standard	Sample
Supernatant	-	100 µL
Standard	100 µL	-
Cholesterol reagent	1000 µL	1000 µL
Mix and incubate for 10 min at room temperature or 5 min at 37 °C. Then measure the absorbance of the sample or the standard against the reagent blank value within 45 min.		

Calculation

With Standard

$$\text{HDL - Cholesterol [mg / dL]} = \frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Standard}} \times \text{Conc. S standard [mg / dL]}$$

The concentration of the standard is the concentration of the total cholesterol in the cholesterol standard solution.

Conversion factor


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

Controls

For internal quality control, DiaSys TruLab L controls should be assayed. Each laboratory should establish corrective action in case of deviations in control recovery.

	Cat. No.	Kit size
TruLab L Level 1	5 9020 99 10 065	3 x 3 mL
TruLab L Level 2	5 9030 99 10 065	3 x 3 mL

Lampiran 4. Brosur LDL precipitant



LDL Precipitant

Precipitation reagent for in vitro determination of LDL-Cholesterol with the CHOD-PAP method by photometric systems

Order Information

Cat. No.	Kit size
1 4330 99 83 885	250 mL Precipitation reagent
1 1350 99 83 021	R 5 x 25 mL + 1 x 3 mL Standard
1 1350 99 83 026	R 6 x 100 mL
1 1350 99 83 023	R 1 x 1000 mL
1 1300 99 83 030	6 x 3 mL Standard

Principle

Low density lipoproteins (LDL) are precipitated by addition of heparin. High density lipoproteins (HDL) and very low density lipoproteins (VLDL) remain in the supernatant after centrifugation and are measured enzymatically by the CHOD-PAP method. The concentration of LDL cholesterol is calculated as the difference of total cholesterol and cholesterol in the supernatant.

Reagents

Concentrations of the reagents

Heparin	100 000 U/L
Sodium citrate	64 mmol/L

Storage instructions and reagent stability

The precipitant is stable up to the end of the indicated month of expiry, if stored at 2 - 8 °C and contamination is avoided. The standard is stable up to the end of the indicated month of expiry, if stored at 2 - 25 °C.

Warnings and precautions

- In very rare cases, samples of patients with gammopathy might give falsified results.
- Please refer to the safety data sheets and take the necessary precautions for the use of laboratory reagents. For diagnostic purposes, the results should always be assessed with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Waste management

Please refer to local legal requirements.

Reagent Preparation

The precipitant is ready to use.

Material required but not provided

NaCl-Solution 9 g/L
General laboratory equipment

Specimen

Serum

Stability [5]:	7 days	at	20 - 25 °C
	7 days	at	4 - 8 °C
	3 months	at	-20 °C

Freeze only once!
Discard contaminated specimens!

Assay procedure

Precipitation

Sample	100 µL
Precipitating reagent	1000 µL

Mix and incubate for 15 min. at room temperature, then centrifuge for 20 min. at 2500 g. Within one hour after centrifugation, transfer 100 µL of the clear supernatant to the reaction solution for the determination of cholesterol.

The cholesterol standard has to be diluted 1 + 10 with NaCl (9 g/L). After dilution the standard is treated like the supernatant.

Cholesterol determination

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

Supernatant	Standard	Sample
Standard	100 µL	100 µL
Cholesterol reagent	1000 µL	1000 µL

Mix and incubate 10 min. at room temperature or 5 min. at 37 °C, read absorbance of the sample for the standard within 45 min. against reagent blank.

Calculation

Cholesterol in supernatant

$$\text{Cholesterol in supernatant (mg/dL)} = \frac{A_{\text{E Sample}}}{A_{\text{E Standard}}} \times \text{Conc-Standard (mg/dL)}$$

The standard concentration is the concentration of the total cholesterol in the cholesterol standard solution.

LDL Cholesterol

$$\text{LDL-Cholesterol (mg/dL)} = \text{total cholesterol (mg/dL)} - \text{Cholesterol in the supernatant (mg/dL)}$$

Conversion factor

$$\text{LDL-Cholesterol (mg/dL)} \times 0.02586 = \text{LDL-Cholesterol (mmol/L)}$$

Controls

For internal quality control TruLab N and P or TruLab L controls should be assayed. Each laboratory should establish corrective action in case of deviations in control recovery.

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

Lampiran 5. Brosur reagen kolesterol kit

Cholesterol FS*

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

Order Information

Cat. No.	Kit size
1 1300 99 83 021	R 5 x 25 mL + 1 x 3 mL Standard
1 1300 99 83 026	R 6 x 100 mL
1 1300 99 83 023	R 1 x 1000 mL
1 1300 99 83 704	R 8 x 50 mL
1 1300 99 83 717	R 6 x 100 mL
1 1300 99 83 917	R 10 x 60 mL
1 1300 99 83 314	R 12 x 25 mL
1 1300 99 83 030	6 x 3 mL Standard

Summary [1, 2]

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

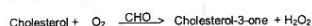
In the last few years several controlled clinical trials using diet, life style changes and/or different drugs (especially HMG CoA reductase inhibitors (statins)) have demonstrated that lowering total cholesterol and LDL-C levels reduce drastically CHD risk [2].

Method

"CHOD-PAP": enzymatic photometric test

Principle

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



Reagents

Components and Concentrations

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

Storage Instructions and Reagent Stability

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

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

Warnings and Precautions

- The reagent contains sodium azide (0.95 g/L) as preservative. Do not swallow! Avoid contact with skin and mucous membranes.
- Standard: Warning. H317 May cause an allergic skin reaction. H319 Causes serious eye irritation. P264 Wash hands and face thoroughly after handling. P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. P302+P352 If on skin: Wash with plenty of soap and water. P337+P313 If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
- In very rare cases, samples of patients with gammopathy might give falsified results [8].
- N-acetylcysteine (NAC), acetaminophen and metamizole medication leads to falsely low results in patient samples.
- Please refer to the safety data sheets and take the necessary precautions for the use of laboratory reagents. For diagnostic purposes, the results should always be assessed with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.
- For professional use only!

Waste Management

Please refer to local legal requirements.

Reagent Preparation

The reagent and the standard are ready to use.

Materials required but not provided

NaCl solution 9 g/L
General laboratory equipment

Specimen

Serum, heparin plasma or EDTA plasma

Stability [6]:	7 days	at	20 - 25 °C
	7 days	at	4 - 8 °C
	3 months	at	-20 °C

Discard contaminated specimens! Freeze only once!

Assay Procedure

Application sheets for automated systems are available on request.

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

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

Lampiran 6. Gambar daun, serbuk, ekstrak dan fraksi daun ceremai



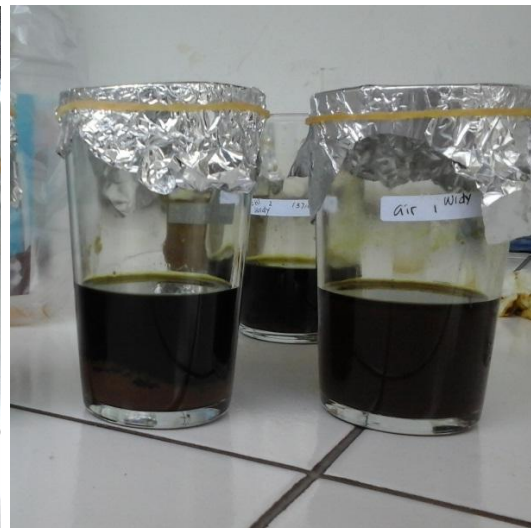
daun ceremai



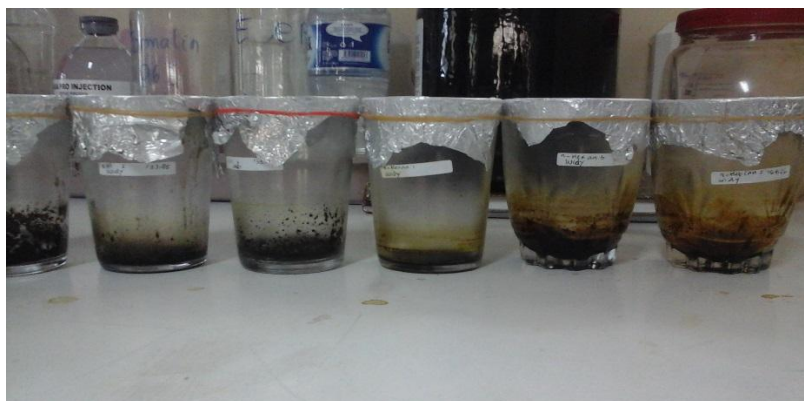
serbuk daun ceremai



Ekstrak etanol



fraksi



Hasil fraksi

Lampiran 7. Gambar alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian



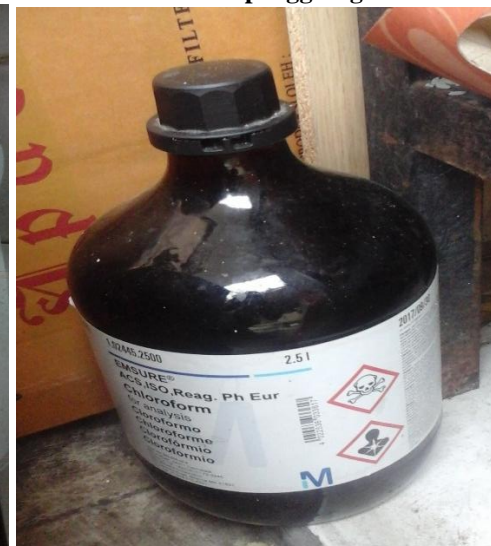
Oven



penggiling



Moisture balance



botol maserasi



Corong pisah



evaporator



Pipa kapiler



timbangan



Mikropipet



Mikropipet



Sortex



sentrifuge



Fotometer



ayakan



Fortex



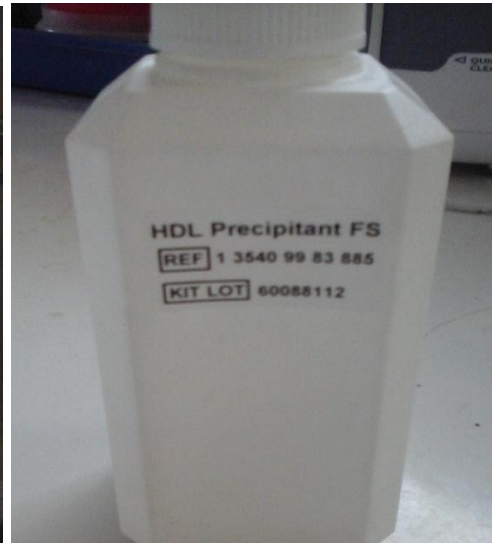
Kandang tikus

pelarut *n*-heksana dan etil asetat

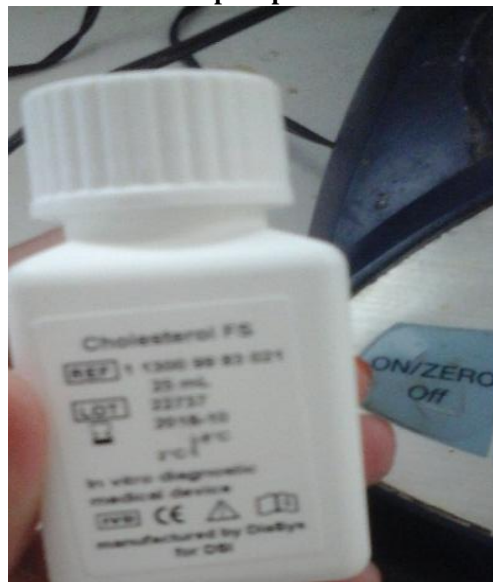
telur puyuh dan minyak jelantah



LDL precipitant



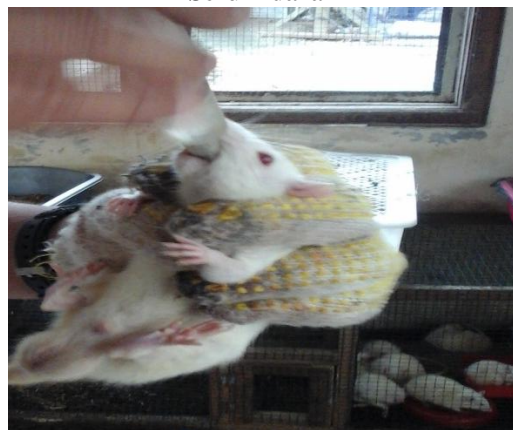
HDL Precipitant



Cholesterol FS



Serum darah



Pengambilan darah

Lampiran 8. Perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah

Dari bobot basah yang didapat sebanyak 6000 gram, kemudian dikeringkan didapatkan bobot kering sebanyak 980 gram. Perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah sebagai berikut :

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
6000	980	16,33 %

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen serbuk daun ceremai} &= \frac{\text{berat kering}}{\text{berat basah}} \times 100\% \\
 &= \frac{980}{6000} \times 100\% = 16,33 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 9. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun ceremai

Berat serbuk yang akan dimaserasi sebanyak 900 gram. Setelah maserasi didapatkan bobot ekstrak kental sebanyak 85,40 gram. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun ceremai adalah:

Berat serbuk (g)	Etanol (ml)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (% b/b)
900	6750	85,40	9,49%

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen ekstrak etanol daun ceremai} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\% \\
 &= \frac{85,40}{900} \times 100\% = 9,49\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 10. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana

Berat ekstrak yang akan difraksi sebanyak 30 gram. Setelah fraksinasi didapatkan bobot fraksi *n*-heksana sebanyak 9,255 gram. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana dari ekstrak etanol daun ceremai adalah:

Berat ekstrak (g)	Berat fraksi <i>n</i> -heksana(g)	Rendemen (%)
30	9,255	30,85 %

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen fraksi } n\text{-heksana daun ceremai} &= \frac{\text{bobot ekstrak fraksi}}{\text{bobot yang akan difraksi}} \times 100\% \\
 &= \frac{9,255}{30} \times 100\% = 30,85 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 11. Perhitungan rendemen fraksi etil asetat

Berat ekstrak yang akan difraksi sebanyak 30 gram. Setelah fraksinasi didapatkan bobot fraksi etil asetat sebanyak 4,595 gram. Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun ceremai adalah:

Berat ekstrak kental (g)	Berat fraksi etil asetat (g)	Rendemen (%)
30	4,595	15,32 %

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen fraksi etil asetat daun ceremai} &= \frac{\text{bobot ekstrak fraksi}}{\text{bobot yang akan difraksi}} \times 100\% \\
 &= \frac{4,595}{30} \times 100\% = 15,32 \%
 \end{aligned}$$

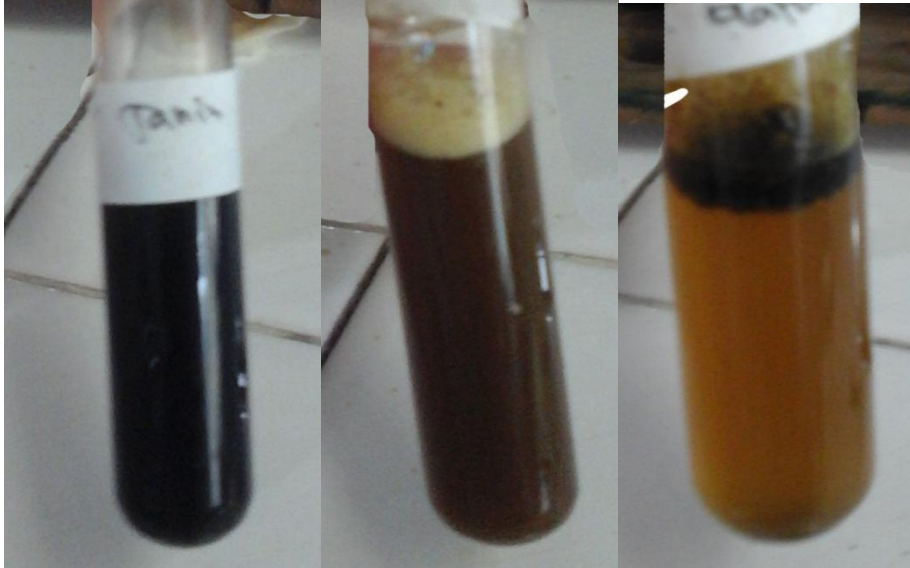
Lampiran 12. Perhitungan rendemen fraksi air

Berat ekstrak yang akan difraksi sebanyak 30 gram. Setelah fraksinasi didapatkan bobot fraksi air sebanyak 10,114 gram. Perhitungan rendemen fraksi air dari ekstrak etanol daun ceremai adalah:

Berat ekstrak kental (g)	Berat fraksi air (g)	Rendemen (%)
30	10,114	33,71 %

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen fraksi air daun ceremai} &= \frac{\text{bobot ekstrak fraksi}}{\text{bobot yang akan difraksi}} \times 100\% \\
 &= \frac{10,114}{30} \times 100\% = 33,71 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 13. Hasil identifikasi kandungan kimia dari serbuk, ekstrak, dan fraksi dari ekstrak etanol daun ceremai



Hasil tanin, saponin, dan flavonoid pada serbuk



Hasil Tanin, saponin, dan flavonoid pada ekstrak



Hasil tanin, saponin, dan flavonoid pada fraksi etil asetat

Lampiran 14. Perhitungan dosis, pembuatan larutan stok, dan penetapan volume pemberian simvastatin dan CMC

Simvastatin 10 mg konversi ke manusia yang beratnya 70 kg terhadap tikus yang beratnya 200 gram = 0,018

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

Dosis tikus 10 mg x 0,018 = 0,18 mg/200 g BB tikus

Larutan stok
$$= \frac{\text{dosis tikus}}{\text{volume pemberian}} \times \text{volume larutan CMC 0,5\%}$$

$$= \frac{0,18}{2} \times 100\%$$

$$= 9 \text{ mg}$$

Membuat konsentrasi simvastatin 9 mg/ 100 ml = 0,09 mg/ml

Volume pemberian untuk tikus yang beratnya 200 gram dengan larutan simvastatin adalah 2 ml. Menimbang simvastatin 9 mg dilarutkan dengan suspensi CMC 0,5% sampai larut kemudian dicukupkan volume sampai 100 ml, dan selanjutnya digunakan sebagai larutan stok.

Volume pemberian
$$= \frac{\text{dosis tikus}}{\text{konsentrasi simvastatin}} \times 1 \text{ ml}$$

$$= \frac{0,18 \text{ mg}}{0,09 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$$

$$= 2 \text{ ml}$$

Berat badan tikus (g)	Volume pemberian
210	$\frac{210 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$
214	$\frac{214 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$
207	$\frac{207 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$
220	$\frac{220 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$
209	$\frac{209 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$

Dosis CMC 0,5% = 0,5 gram/100 ml

$$= 500 \text{ mg}/100 \text{ ml}$$

$$= 5 \text{ mg/ml}$$

Pembuatan larutan stok CMC 0,5% = 5 mg/2 ml (pembuatan 250 mg/100 ml)

CMC sebanyak 250 mg ditimbang kemudian dimasukkan dalam mortir dan dilarutkan dengan air panas ad 100 ml.

$$\text{Volume pemberian} = \frac{5 \text{ mg}}{250 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 2 \text{ ml}/200 \text{ gr BB}$$

Berat badan tikus (g)	Volume pemberian
209	$\frac{209 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$
217	$\frac{217 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$
207	$\frac{207 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$
210	$\frac{210 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$
214	$\frac{214 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$

Lampiran 15. Perhitungan dosis, pembuatan larutan stok, dan penetapan volume pemberian fraksi *n*-Heksana

Fraksi	Berat ekstrak (g)	Berat fraksi (g)	Rendemen (%)
n-heksana	30	9,255	30,85%
etil asetat	30	4,592	15,32%
air	30	10,114	33,71%
			£ = 79,88%

$$\text{Fraksi} = \frac{\% \text{ rendemen fraksi}}{\% \text{ total rendemen}} \times \text{dosis ekstrak}$$

$$\text{Dosis } n\text{-heksana} = \frac{30,85\%}{79,88\%} \times 45 \text{ mg/kg BB tikus}$$

$$= 17,38 \text{ mg/ kg BB tikus}$$

$$17,38 \text{ mg/ kg BB tikus}$$

$$17,38 \text{ mg/ 1000 g BB tikus}$$

$$3,48 \text{ mg/ 200 g BB tikus}$$

$$\text{Pembuatan larutan stok} = 3,48 / 2 \text{ ml (pembuatan 174 mg/100 ml)}$$

Jadi fraksi *n*-heksana ditimbang 174 mg encerkan sedikit demi sedikit dengan CMC 0,5% hingga volume 100 ml

$$\text{Volume pemberian} = \frac{3,48}{174} \times 100 \text{ ml} = 2 \text{ ml/200 g BB tikus}$$

untuk dosis 17,38/2 ml

Berat badan tikus (g)	Volume pemberian
208	$\frac{208 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$
224	$\frac{224 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$
207	$\frac{207 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$
215	$\frac{215 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$
197	$\frac{197 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,0 \text{ ml}$

Lampiran 16. Perhitungan dosis, pembuatan larutan stok, dan penetapan volume pemberian fraksi etil asetat

$$\text{Fraksi} = \frac{\% \text{ rendemen fraksi}}{\% \text{ total rendemen}} \times \text{dosis ekstrak}$$

$$\text{Dosis etil asetat} = \frac{15,32\%}{79,88\%} \times 45 \text{ mg/kg BB tikus}$$

$$= 8,63 \text{ mg/kg BB tikus}$$

$$8,63 \text{ mg/kg BB tikus}$$

$$8,63 \text{ mg/1000 g BB tikus}$$

$$1,73 \text{ mg/200 g BB tikus}$$

$$\text{Pembuatan larutan stok} = 1,73 \text{ mg/2 ml (pembuatan 86,5 mg/100 ml)}$$

Jadi fraksi etil asetat ditimbang 86,5 mg encerkan sedikit demi sedikit dengan CMC 0,5% hingga volume 100 ml

$$\text{Volume pemberian} = \frac{1,73}{86,5} \times 100 \text{ ml} = 2 \text{ ml/200 g BB tikus}$$

untuk dosis 8,63/2 ml

Berat badan tikus (g)	Volume pemberian
219	$\frac{219 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$
221	$\frac{221 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$
202	$\frac{202 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,0 \text{ ml}$
204	$\frac{204 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,0 \text{ ml}$
214	$\frac{214 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$

Lampiran 17. Perhitungan dosis, pembuatan larutan stok, dan penetapan volume pemberian fraksi air

$$\text{Fraksi} = \frac{\% \text{ rendemen fraksi}}{\% \text{ total rendemen}} \times \text{dosis ekstrak}$$

$$\text{Dosis air} = \frac{33,71 \%}{79,88 \%} \times 45 \text{ mg/kg BB tikus}$$

$$= 18,9 \text{ mg/kg BB tikus}$$

18,9 mg/kg BB tikus

18,9 mg/1000 g BB tikus

3,78 mg/200 g BB tikus

Pembuatan larutan stok = 3,78 mg /2 ml (dibuat 189 mg/100 ml)

Jadi fraksi air ditimbang 189 mg encerkan sedikit demi sedikit dengan CMC 0,5% hingga volume 100 ml

$$\text{Volume pemberian} = \frac{3,78}{189} \times 100 \text{ ml} = 2 \text{ ml/200 g BB tikus}$$

untuk dosis 18,9 /2 ml

Berat badan tikus (g)	Volume pemberian
200	$\frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,0 \text{ ml}$
213	$\frac{213 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$
217	$\frac{217 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$
209	$\frac{209 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$
215	$\frac{215 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$

Lampiran 18. Rata-rata kadar HDL serum darah tikus

Kelompok	Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-28
Normal	58	50	47
	31	32	34
	47	44	38
	40	42	44
	51	47	39
	45,4±10,36	44,2±6,86	40,4±5,13
Negatif	38	21	25
	70	43	50
	55	36	42
	39	31	39
	57	28	36
	51,8±13,44	31,8±8,29	38,4±9,13
Positif	53	24	70
	51	26	49
	44	33	57
	39	17	45
	43	20	50
	46±5,83	22±6,12	54,2±9,83
Ekstrak	54	20	49
	49	22	51
	46	13	42
	50	26	50
	57	35	47
	51,2±4,32	23,2±8,11	47,8±3,56
n-heksana	45	21	40
	56	18	39
	35	23	33
	42	25	42
	54	30	44
	46,4±8,68	23,4±4,51	39,6±4,16
Etil	34	10	42
	40	32	58
	43	22	54
	54	17	51
	45	25	44
	43,2±7,33	21,2±8,29	49,8±6,72
Air	45	15	40
	37	13	36
	41	17	32
	44	23	45
	52	34	54
	43,8±5,54	20,4±8,47	41,4±8,53

Lampiran 19. Rata-rata kadar LDL serum darah tikus

kelompok	Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-28
Normal	32,6	34	27,2
	37,4	40,3	35,9
	29	32	34,4
	42,6	47	34
	40	39	41
	36,32±7,78	38,46±6,68	34,5±4,95
Negatif	30,5	89	79
	29	82.8	82.6
	40,7	80	74
	34,2	84	82
	22	78	74,4
	31,28±4,95	82,76±4,21	78,4±3,93
positif	32,4	90,5	32
	36,8	87	38
	45	94	43,5
	39	89.6	40,1
	19,4	97.3	20,7
	34,52±4.24	91,68±4.58	34,86±4.24
Ekstrak	27,5	83.4	29,5
	29	80.6	47
	35,7	88	52
	40	78.2	50,9
	32,8	94	44
	33±7,78	84,84±56,29	44,68±4,04
n-heksana	36,2	77	52
	30,6	75	55,5
	41,4	88	47,3
	28	71.9	58
	23	70	49,6
	31,84±3,54	76,38±7,04	52,48±4,24
Etil	28	86	30,6
	19,5	95.4	49,2
	42,9	92	35
	34,1	80	40,9
	20	74	46
	28,9±5.66	85,48±8.70	40,34±7.78
Air	17,9	82	47
	28	75.7	45.5
	30,4	89	53
	40	78.5	52
	35	94.2	50.9
	30,26±6,03	83,88±5,74	49,68±3,26

Lampiran 20. Hasil analisis statistika kadar HDL

Uji Kolmogorov Kadar HDL pada T0

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kadar_hdl	35	46.83	8.308	31	70

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kadar_hdl
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	46.83
	Std. Deviation	8.308
Most Extreme Differences	Absolute	.101
	Positive	.101
	Negative	-.064
Kolmogorov-Smirnov Z		.600
Asymp. Sig. (2-tailed)		.865

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Kolmogorov kadar HDL pada T0 signifikansinya (Asymp.sig) menunjukkan angka $0,865 > 0,05$, sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Uji Kolmogorov Kadar HDL pada T1

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kadar_hdl t0	35	26.71	10.116	10	50

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kadar_hdl
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	26.71
	Std. Deviation	10.116
Most Extreme Differences	Absolute	.128
	Positive	.128
	Negative	-.077
Kolmogorov-Smirnov Z		.758

Asymp. Sig. (2-tailed)	.614
------------------------	------

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.

Uji Kolmogorov kadar HDL pada T1 signifikansinya (Asymp.sig) menunjukkan angka $0,614 > 0,05$, sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Uji Kadar HDL pada T2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kadar_hdl
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	44.51
	Std. Deviation	8.610
Most Extreme Differences	Absolute	.083
	Positive	.083
	Negative	-.061
Kolmogorov-Smirnov Z		.490
Asymp. Sig. (2-tailed)		.970

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.

Uji Kolmogorov kadar HDL pada T2 signifikansinya (Asymp.sig) menunjukkan angka $0,970 > 0,05$, sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

kadar_hdl

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.157	6	28	.357

Uji homogenitas kadar HDL pada T2 signifikansinya (Asymp.sig) menunjukkan angka $0,357 > 0,05$, sehingga data tersebut homogen.

ANOVA

kadar_hdl

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1103.543	6	183.924	3.634	.009
Within Groups	1417.200	28	50.614		
Total	2520.743	34			

Uji Anova kadar HDL pada T2 signifikansinya (Asymp.sig) menunjukkan angka $0,09 < 0,05$, sehingga data tersebut memiliki perbedaan yang bermakna antar setiap kelompok.

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

kadar_hdl

Tukey HSD

(I) kelompok_perlak uan	(J) kelompok_perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
klompok normal	kelompok negative	2.000	4.500	.999	-12.27	16.27
	kelompok positif	-13.800	4.500	.063	-28.07	.47
	kelompok ekstrak	-7.400	4.500	.656	-21.67	6.87
	kelompok n-heksana	.800	4.500	1.000	-13.47	15.07
	kelompok etil asetat	-9.400	4.500	.386	-23.67	4.87
	kelompok air	-1.000	4.500	1.000	-15.27	13.27
kelompok negatif	klompok normal	-2.000	4.500	.999	-16.27	12.27
	kelompok positif	-15.800 [*]	4.500	.023	-30.07	-1.53
	kelompok ekstrak	-9.400	4.500	.386	-23.67	4.87
	kelompok n-heksana	-1.200	4.500	1.000	-15.47	13.07
	kelompok etil asetat	-11.400	4.500	.186	-25.67	2.87
	kelompok air	-3.000	4.500	.993	-17.27	11.27
kelompok positif	klompok normal	13.800	4.500	.063	-.47	28.07
	kelompok negative	15.800 [*]	4.500	.023	1.53	30.07
	kelompok ekstrak	6.400	4.500	.785	-7.87	20.67
	kelompok n-heksana	14.600 [*]	4.500	.042	.33	28.87
	kelompok etil asetat	4.400	4.500	.955	-9.87	18.67
	kelompok air	12.800	4.500	.101	-1.47	27.07
kelompok ekstrak	klompok normal	7.400	4.500	.656	-6.87	21.67
	kelompok negative	9.400	4.500	.386	-4.87	23.67
	kelompok positif	-6.400	4.500	.785	-20.67	7.87
	kelompok n-heksana	8.200	4.500	.545	-6.07	22.47
	kelompok etil asetat	-2.000	4.500	.999	-16.27	12.27
	kelompok air	6.400	4.500	.785	-7.87	20.67
kelompok n-heksana	klompok normal	-.800	4.500	1.000	-15.07	13.47
	kelompok negatif	1.200	4.500	1.000	-13.07	15.47
	kelompok positif	-14.600 [*]	4.500	.042	-28.87	-.33
	kelompok ekstrak	-8.200	4.500	.545	-22.47	6.07
	kelompok etil asetat	-10.200	4.500	.294	-24.47	4.07
	kelompok air	-1.800	4.500	1.000	-16.07	12.47
kelompok etil asetat	klompok normal	9.400	4.500	.386	-4.87	23.67
	kelompok negatif	11.400	4.500	.186	-2.87	25.67
	kelompok positif	-4.400	4.500	.955	-18.67	9.87
	kelompok ekstrak	2.000	4.500	.999	-12.27	16.27
	kelompok n-heksana	10.200	4.500	.294	-4.07	24.47
	kelompok air	8.400	4.500	.517	-5.87	22.67
kelompok air	klompok normal	1.000	4.500	1.000	-13.27	15.27
	kelompok negatif	3.000	4.500	.993	-11.27	17.27

kelompok positif	-12.800	4.500	.101	-27.07	1.47
kelompok ekstrak	-6.400	4.500	.785	-20.67	7.87
kelompok n-heksana	1.800	4.500	1.000	-12.47	16.07
kelompok etil asetat	-8.400	4.500	.517	-22.67	5.87

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

Kadar_HDL

Tukey HSDa

kelompok_perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kelompok negative	5	38.40	
kelompok n-heksana	5	39.60	
kelompok normal	5	40.40	40.40
kelompok air	5	41.40	41.40
kelompok ekstrak	5	47.80	47.80
kelompok etil asetat	5	49.80	49.80
kelompok positif	5		54.20
Sig.		.186	.063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Uji *Tukey HSD* kadar HDL pada T2 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok negatif, kelompok *n*-heksana, kelompok normal, kelompok air, kelompok ekstrak, dan kelompok etil asetat. Sedangkan kelompok negatif berbeda nyata dengan kelompok etil asetat, dan kelompok positif.

Lampiran 31. Hasil analisis statistika kadar LDL

Uji Kolmogorov Kadar LDL pada T0

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_Idl	35	32.303	7.3680	17.9	45.0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar_Idl
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	32.303
	Std. Deviation	7.3680
Most Extreme Differences	Absolute	.086
	Positive	.068
	Negative	-.086
Kolmogorov-Smirnov Z		.508
Asymp. Sig. (2-tailed)		.959

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Kolmogorov kadar LDL pada T0 signifikansinya (Asymp.sig) menunjukkan angka $0,959 > 0,05$, sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Uji Kolmogorov Kadar LDL pada T1

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ldl	35	77.640	17.7615	32.0	97.3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		ldl
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	77.640
	Std. Deviation	17.7615
Most Extreme Differences	Absolute	.219
	Positive	.134

	Negative	-.219
Kolmogorov-Smirnov Z		1.294
Asymp. Sig. (2-tailed)		.070

- Test distribution is Normal.
- Calculated from data.

Uji Kolmogorov kadar LDL pada T1 signifikansinya (Asymp.sig) menunjukkan angka $0,07 > 0,05$, sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Uji Kadar LDL pada T2

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ldl	35	47.849	15.3609	20.7	82.6

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	ldl
N	35
Normal Parameters ^{a, b}	
Mean	47.849
Std. Deviation	15.3609
Most Extreme Differences	
Absolute	.169
Positive	.169
Negative	-.099
Kolmogorov-Smirnov Z	.998
Asymp. Sig. (2-tailed)	.272

- Test distribution is Normal.
- Calculated from data.

Uji Kolmogorov kadar LDL pada T1 signifikansinya (Asymp.sig) menunjukkan angka $0,272 > 0,05$, sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Ldl

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.235	6	28	.319

Uji Homogenitas kadar LDL pada T2 signifikansinya (Asymp.sig) menunjukkan angka $0,319 > 0,05$, sehingga data tersebut homogen.

ANOVA

Ldl

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6857.499	6	1142.917	27.469	.000
Within Groups	1165.008	28	41.607		
Total	8022.507	34			

Uji Anova kadar LDL pada T2 signifikansinya (Asymp.sig) menunjukkan angka $0,00 < 0,05$, sehingga data tersebut memiliki perbedaan yang bermakna antar setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Ldl

Tukey HSD

(I) klmpok	(J) klmpok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	negatif	-43.9000 [*]	4.0796	.000	-56.841	-30.959
	positif	-.3600	4.0796	1.000	-13.301	12.581
	ekstrak	-10.1800	4.0796	.199	-23.121	2.761
	n heksan	-17.9800 [*]	4.0796	.002	-30.921	-5.039
	Etil	-5.8400	4.0796	.781	-18.781	7.101
	Air	-15.1800 [*]	4.0796	.014	-28.121	-2.239
Negative	normal	43.9000 [*]	4.0796	.000	30.959	56.841
	positif	43.5400 [*]	4.0796	.000	30.599	56.481
	ekstrak	33.7200 [*]	4.0796	.000	20.779	46.661
	n heksan	25.9200 [*]	4.0796	.000	12.979	38.861
	Etil	38.0600 [*]	4.0796	.000	25.119	51.001
	air	28.7200 [*]	4.0796	.000	15.779	41.661
Positif	normal	.3600	4.0796	1.000	-12.581	13.301
	negatif	-43.5400 [*]	4.0796	.000	-56.481	-30.599
	ekstrak	-9.8200	4.0796	.233	-22.761	3.121
	n heksan	-17.6200 [*]	4.0796	.003	-30.561	-4.679
	etil	-5.4800	4.0796	.826	-18.421	7.461
	air	-14.8200 [*]	4.0796	.017	-27.761	-1.879
ekstrak	normal	10.1800	4.0796	.199	-2.761	23.121
	negatif	-33.7200 [*]	4.0796	.000	-46.661	-20.779
	positif	9.8200	4.0796	.233	-3.121	22.761
	n heksan	-7.8000	4.0796	.489	-20.741	5.141
	etil	4.3400	4.0796	.933	-8.601	17.281
	air	-5.0000	4.0796	.878	-17.941	7.941
n heksan	normal	17.9800 [*]	4.0796	.002	5.039	30.921
	negatif	-25.9200 [*]	4.0796	.000	-38.861	-12.979

	positif	17.6200 [*]	4.0796	.003	4.679	30.561
	ekstrak	7.8000	4.0796	.489	-5.141	20.741
	etil	12.1400	4.0796	.077	-.801	25.081
	air	2.8000	4.0796	.992	-10.141	15.741
Etil	normal	5.8400	4.0796	.781	-7.101	18.781
	negatif	-38.0600 [*]	4.0796	.000	-51.001	-25.119
	positif	5.4800	4.0796	.826	-7.461	18.421
	ekstrak	-4.3400	4.0796	.933	-17.281	8.601
	n heksan	-12.1400	4.0796	.077	-25.081	.801
	air	-9.3400	4.0796	.284	-22.281	3.601
Air	normal	15.1800 [*]	4.0796	.014	2.239	28.121
	negatif	-28.7200 [*]	4.0796	.000	-41.661	-15.779
	positif	14.8200 [*]	4.0796	.017	1.879	27.761
	ekstrak	5.0000	4.0796	.878	-7.941	17.941
	n heksan	-2.8000	4.0796	.992	-15.741	10.141
	etil	9.3400	4.0796	.284	-3.601	22.281

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

LDL

Tukey HSD^a

Klmpok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Normal	5	34.500		
Positif	5	34.860		
Etil	5	40.340	40.340	
Ekstrak	5	44.680	44.680	
Air	5		49.680	
n heksana	5		52.480	
Negative	5			78.400
Sig.		.199	.077	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Uji *Tukey HSD* kadar LDL pada T2 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok normal, kelompok positif, kelompok etil asetat, dan kelompok ekstrak etanol. Sedangkan kelompok normal, dan kelompok positif berbeda nyata dengan kelompok air, kelompok *n*-heksana, dan kelompok negative.