

TESIS

**PENGARUH SUBSTITUSI BERBAGAI KADAR
MINYAK IKAN LEMURU DALAM DIET TERHADAP PROFIL LIPID SERUM
SERTA PENGARUHNYA TERHADAP PEROKSIDASI LIPID TANPA
MAUPUN DENGAN SUPLEMENTASI VITAMIN E PADA TIKUS**



Oleh:

SRI WAHJUNI

NIM 099512004 M

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
1999**

**PENGARUH SUBSTITUSI BERBAGAI KADAR
MINYAK IKAN LEMURU DALAM DIET TERHADAP PROFIL LIPID SERUM
SERTA PENGARUHNYA TERHADAP PEROKSIDASI LIPID TANPA
MAUPUN DENGAN SUPLEMENTASI VITAMIN E PADA TIKUS**

PENELITIAN EXPERIMENTAL LABORATORIK

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

**Oleh:
Sri Wahjuni, Ir.**

NIM: 099512004 M




**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999**

**Telah Disetujui Untuk Diuji Guna Memperoleh
Gelara Magister Kesehatan Pada Program Studi Ilmu Kedokteran
Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga
Pada Tanggal : 15 April 1999**

Oleh :

Pembimbing Utama

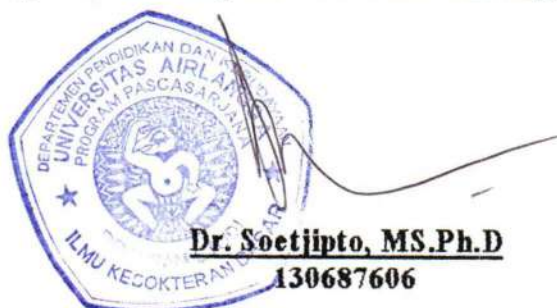


Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr, DSBK

NIP. 130122377

Mengetahui :

**Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya**



Dr. Soetjipto, MS.Ph.D
130687606

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha esa karena berkat rahmat Nya lah tesis ini dapat diselesaikan. Tesis ini disusun untuk memenuhi persyaratan pendidikan pascasarjana pada Program Pendidikan pascasarjana Universitas Airlangga.

Pada kesempatan ini penulis ucapan terimakasih kepada Prof Dr. dr. Soedijono, Direktur Program Pendidikan Pascasarjana Universitas Airlangga, dan Prof. Dr. Juliati Hood A, dr., DSPA, M. S., Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti Program Pascasarjana.

Pada kesempatan ini pula dengan setulus hati penulis juga mengucapkan banyak terimakasih kepada Prof. Dr. Sri Utari Purnomo S, selaku koordinator Minat Studi Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, atas akses ke Lab. Biokimia selama melakukan penelitian.

Terimakasih juga penulis sampaikan kepada para dosen Program Pendidikan Pascasarjana atas bantuan selama penulis menyelesaikan studi. Tidak ketinggalan pula penulis sampaikan terimakasih kepada seluruh staf pengajar Laboratorium Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, teman-teman seangkatan dan para karyawan di lingkungan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga atas bantuan dan kerjasama yang baik sehingga memungkinkan penulis dapat melaksanakan penelitian ini dengan baik.

Kepada suamiku tercinta, Ir. I.B. Putra Manuaba, MPhil serta putra-putri tercinta : I.B. Amertha Manuaba dan I.A. Kemala Wasita Manuaba, terimakasih atas kesabaran dan dukungan yang telah diberikan selama ini, sehingga memungkinkan penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

Penulis menyadari, karena keterbatasan pengetahuan, apa yang disajikan dalam tesis ini tidaklah sempurna seperti putihnya kapas. Akhirnya dengan untaian kata "Tiada Gading Yang Tak Retak" tesis ini penulis persembahkan kepada sidang pembaca semoga dapat bermanfaat.

Surabaya, April 1999

Penulis

RINGKASAN

Kata kunci : Minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*), vitamin E, profil lipid serum, malondialdehid serum.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh substitusi berbagai kadar minyak ikan *Sardinella Longiceps* (minyak ikan lemuru, MIL) terhadap kadar trigliserida serum (TG), kolesterol-total (KT), kolesterol-LDL (K-LDL) dan kolesterol-HDL (K-HDL) diteliti pula pengaruh MIL terhadap kadar malondialdehid serum (MDA) baik tanpa maupun dengan suplementasi vitamin E (vit E).

Penelitian ini menggunakan tikus jantan dewasa dari strain Wistar, berumur 4 minggu dengan berat badan 7 - 7,2 gram, diberikan makanan standar dan air minum (air PDAM tanpa pengolahan) selama 1 bulan, kemudian diberikan pakan tinggi lemak selama 6 minggu.

Secara acak kemudian tikus dibagi menjadi 9 kelompok sebagai berikut :

- A1 = MIL (-), vitamin E (-) (kelompok kontrol)
- A2 = MIL (-), vitamin E 6 mg/Kg
- A3 = MIL (-), vitamin E 8 mg/Kg
- B1 = MIL 10%, vitamin E (-)
- B2 = MIL 10%, vitamin E 6 mg/Kg
- B3 = MIL 10%, vitamin E 8 mg/Kg
- C1 = MIL 15%, vitamin E (-)
- C2 = MIL 15%, vitamin E 6 mg/Kg
- C3 = MIL 15%, vitamin E 8 mg/Kg

Profil lipid serum (TG, KT, K-LDL dan K-HDL) di tentukan secara spektrofotometris ($\lambda=500\text{nm}$) dengan menggunakan kit Boehringer-Mannheim (GPO-PAP untuk TG dan CHOD-PAP untuk KT, K-LDL dan K-HDL) sedangkan kadar MDA ditentukan menggunakan metoda Espinosa-mansella.

Data yang diperoleh diuji dengan anova satu arah untuk profil lipid serum dan anova dua arah untuk MDA dilanjutkan dengan uji LSD bila diperlukan, dengan derajat kemaknaan 5%.

Dari analisis statistik ditemukan kenaikan berat badan yang bermakna pada ke 8 kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol (kelompok A1). Namun data tersebut tidak menunjukkan kecenderungan yang konsisten sehingga sulit untuk menyimpulkan.

Pengaruh MIL terhadap profil lipid serum diteliti dengan membandingkan kelompok A1, B1 dan C1 (kelompok tanpa vitamin E). Secara keseluruhan, MIL menurunkan TG, KT dan K-LDL. MIL 10% menurunkan TG dan KT secara bermakna ($P<0,05$), namun peningkatan MIL dari 10% menjadi 15% tidak menghasilkan penurunan lebih lanjut yang secara statistik bermakna ($P>0,05$). MIL 10% ternyata tidak menurunkan K-LDL secara bermakna, penurunan yang bermakna hanya tercapai pada kadar MIL 15%.

Terhadap K-HDL, MIL meningkatkan K-HDL, namun sama halnya dengan pada K-LDL perbedaan yang bermakna hanya dicapai pada kadar MIL 15%.

Pengaruh MIL dan vitamin E diteliti pada semua kelompok (A1 sampai dengan C3). MIL dan vitamin E baik secara tersendiri maupun bersama menurunkan MDA.

MIL 10% menurunkan MDA secara bermakna. Penurunan lebih lanjut yang secara statistik bermakna terjadi bila kadar MIL ditingkatkan dari 10% menjadi 15%. Pola seperti ini berlaku baik tanpa maupun dengan penambahan vitamin E.

Vitamin E 6mg menurunkan MDA secara bermakna tetapi menghasilkan peningkatan vitamin E dari 6mg menjadi 8mg tidak menghasilkan penurunan lebih lanjut yang secara statistik bermakna. Pola ini tetap berlaku baik tanpa maupun dengan substitusi MIL.

Dari uraian tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa pengaruh MIL dan vitamin E terhadap MDA saling memperkuat vitamin E.

ABSTRACT

Key words : Lemuru fish (*Sardinella Longiceps*) oil, vitamin E, serum lipid profile, serum malondialdehyde.

The aim of the current study was to determine the effects of substituting various concentrations of lemuru fish (*Sardinella Longiceps*) oil (LFO) in the rat's diet on the serum triglyceride (TG), total cholesterol (TC), LDL-cholesterol (LDL-C) and HDL-cholesterol (HDL-C). The effects of LFO on serum malondialdehyde (MDA) in the presence or absence of dietary vitamin E (vitamin E) was also assessed.

For this purpose male Wistar rats (*Rattus norvegicus*), 4 weeks of age, weighing 70-72 g were used. The rats were first fed a standard diet and tap water from the municipal supply for 1 month, followed by a high fat diet for 6 weeks. The rats were then divided into 9 groups each fed a different diet as follows :

- A1 = LFO (-), vitamin E (-) (control group)
- A2 = LFO (-), vitamin E 6 mg/Kg
- A3 = LFO (-), vitamin E 8 mg/Kg
- B1 = LFO 10%, vitamin E (-)
- B2 = LFO 10%, vitamin E 6 mg/Kg
- B3 = LFO 10%, vitamin E 8 mg/Kg
- C1 = LFO 15%, vitamin E (-)
- C2 = LFO 15%, vitamin E 6 mg/Kg
- C3 = LFO 15%, vitamin E 8 mg/Kg

Serum lipid profile (TG, TC, LDL-C, and HDL-C) were determined spectrophotometrically ($\lambda = 500$ nm) using Boehringer-Mannheim Kit (TG : GPO-PAP ; TC, LDL-C, and HDL-C : CHOD-PAP), while MDA were assessed using the method of Epinosa and Mansila

The obtained data were then analyzed statistically at 5% confidence level, using one-way anova for lipid profile and two-way anova for MDA followed by LSD test as necessary.

A significant increase in body weight were observed in all rats belonging to all 8 experimental groups as compared to control (A1 group), however, no further conclusion on the effect of LFO and vitamin E could be drawn because no consistent trend could be detected. The effect on lipid profile was assessed by comparison between groups A1, B1 and C1 (those groups without addition of vitamin E).

LFO decreased serum TG, TC, and LDL-C. 10% LFO decreased TG and TC significantly, but increasing LFO from 10% to 15% did not result in a further significant decrease. On the other hand, 10% LFO did not significantly decrease LDL-C : a significant decrease was only found at 15% LFO.

While LFO decreased TG, TC, and LDL-C, LFO increased HDL-C. Similar to LDL-C, 10% LFO did not significantly increase HDL-C. The significant increase was only found at 15% LFO.

The effect of LFO and vitamin E on serum MDA was assessed on all 9 groups (A1 through C3). LFO and vitamin E, either singly or combined, decreased serum MDA, 10% LFO decreased MDA significantly, and a further significant decrease occurred if LFO was increased from 10% to 15%. This relation held true, irrespective of whether or not vitamin E was present.

Six mg vitamin E decreased serum MDA significantly, but no further significant decrease of serum MDA occurred if vitamin was increased from 6 mg to 8 mg. Again this relation held true irrespective of the presence or absence of LFO. It can thus be concluded that LFO and vitamin E reinforced each other in their effects on serum MDA.

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
PRASYARAT	ii
PERSERUJUAN PEMBIMBING	iii
KATA PENGANTAR	iv
RINGKASAN	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR SKEMA	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
BAB	
I. PENDAHULUAN:	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA:	
2.1. Minyak Ikan Lemuru.....	7
2.2. Kolesterol dan Metabolisme Kolesterol.....	10
2.3. Trigliserol dan Metabolisme Trigliserida.....	15
2.4. Sistem Pengangkutan Lipoprotein.....	16
2.4.1. Kilomikron.....	19
2.4.2. Very Low Density Lipoprotein (VLDL).....	20
2.4.3. Low Density Lipoprotein (LDL).....	21
2.4.4. High Density Lipoprotein (HDL).....	22
2.5. Lipoprotein Plasma dan Ateroskleosis.....	24
2.6. Vitamin E.....	27
2.6.1. Struktur Vitamin E.....	27

2.6.2.	Sumber Vitamin E dan Dosis yang Dianjurkan.....	27
2.6.3.	Vitamin E Sebagai Antioksidan Biologis.....	28
2.7.	Pengaruh Minyak Ikan Terhadap Profil Lipid Serum.....	31
2.8.	Pengaruh Minyak Ikan Terhadap Malondialdehid (MDA).....	33
III.	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1.	Kerangka Konseptual.....	35
3.2.	Hipotesis.....	37
IV.	BAHAN DAN METODE PENELITIAN:	
4.1.	Bahan Penelitian.....	38
4.1.1.	Hewan Percobaan.....	38
4.1.2.	Bahan-bahan untuk Percobaan.....	38
4.1.3.	Makanan Hewan Percobaan.....	39
4.1.4.	Sampel Darah.....	39
4.2.	Metode Penelitian.....	39
4.2.1.	Rancangan Penelitian.....	39
4.2.2.	Variabel Penelitian.....	41
4.2.3.	Sampel dan Besar Penelitian.....	41
4.2.4.	Analisis Statistik.....	42
4.2.5.	Prosedur Penelitian.....	42
4.2.6.	Pemeriksaan Laboratorium.....	42
V.	HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN	
5.1.	Berat Badan.....	45
5.2.	Kadar Trigliserida Serum.....	46
5.3.	Kadar Kolesterol-total Serum.....	48
5.4.	Kadar Kolesterol-LDL Serum.....	49
5.5.	Kadar Kolesterol-HDL.....	51
5.6.	Kadar Malondialdehid (MDA).....	52
VI.	PEMBAHASAN	54
VII.	SIMPULAN DAN SARAN:	
7.1.	Simpulan.....	58

7.2. Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....	60
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	66

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Ikan Lemuru.....	7
Gambar 2.2 Biosintesis Kolesterol.....	11
Gambar 2.3 Mekanisme Pengaturan Sintesis Kolesterol oleh HMG-KoA.....	13
Gambar 2.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi Keseimbangan Kolesterol Pada Tingkat Selular.....	14
Gambar 2.5 Siklus Ester Kolesterol Intraselular.....	14
Gambar 2.6 Sintesis Trigliserida.....	16
Gambar 2.7 Struktur Lipoprotein Plasma.....	17
Gambar 2.8 Metabolisme Kilomikron.....	19
Gambar 2.9 Metabolisme VLDL.....	20
Gambar 2.10 Reverse Cholesterol Transport.....	22
Gambar 2.11 Tahapan Terjadinya Aterosklerosis.....	25
Gambar 2.12 Radikal α -Tokoferil.....	30
Gambar 2.13 Hubungan Timbal-balik antara Vitamin E, Vitamin C dan Glutation dalam melindungi Membran.....	31
Gambar 2.14 Tiga Golongan Eikosanoid dan Jalur Siklooksigenase.....	33
Gambar 2.15 Peroksidasi Lipid yang terjadi pada Asam Arakidonat.....	34
Gambar 5.1 Diagram Batang Pertambahan Berat Badan dengan Pemberian Minyak Ikan Lemuru dan Vitamin E.....	46

Gambar 5.2 Diagram Batang Pemeriksaan Kadar Trigliserida dengan Pemberian Minyak Ikan Lemuru dan Vitamin E.....	47
Gambar 5.3 Diagram Batang Pemeriksaan Kadar Kolesterol-total Serum Dengan Pemberian Minyak Ikan Lemuru dan Vitamin E.....	49
Gambar 5.4 Diagram Batang Pemeriksaan Kadar Kolesterol-LDL dengan Pemberian Minyak Ikan Lemuru dan Vitamin E.....	50
Gambar 5.5 Diagram Batang Pemeriksaan Kadar Kolesterol-HDL dengan Pemberian Minyak Ikan Lemuru dan Vitamin E.....	51
Gambar 5.5 Diagram Batang Penurunan Kadar MDA dengan Substitusi Minyak Ikan Lemuru dan Vitamin E.....	53

DAFTAR SKEMA

Skema 2.1. Reaksi-Reaksi Autooksidasi Dan Antioksidan Yang Melibatkan Vitamin E.....	29
Skema 4.1. Bagan Prosedur Penelitian.....	45

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Komposisi Delapan Anggota Tokoferol dan Tokotrienol.....	28
Tabel 2.2. Intake Vitamin E Perhari yang Dianjurkan WHO.....	28
Tabel 4.4. Dummy Table Rancangan Penelitian 3x3.....	40
Tabel 5.1. Pertambahan Berat Badan Tikus Percobaan (gram) Pada Pemberian MIL dan Vitamin E.....	45
Tabel 5.2. Hasil Pemeriksaan Kadar Trigliserida Serum (mg/dL).....	46
Tabel 5.3. Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol-total Serum (mg/dL).....	48
Tabel 5.4. Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol-LDL Serum (mg/dL).....	49
Tabel 5.5. Hasil Pemeriksaan Kolesterol-HDL Serum (mg/dL)	51
Tabel 5.6. Hasil Pemeriksaan Kadar Malonildialdehid Acid Serum ($\mu\text{m/L}$).....	52

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Di zaman modern ini masyarakat cenderung hidup konsumtif dengan perubahan pola hidup yang menjurus ke arah diterimanya kebiasaan yang kurang menguntungkan seperti misalnya kebiasaan merokok dan mengkonsumsi jenis makanan yang aterogenik. Berbagai kebiasaan ini merupakan faktor utama penyebab terbentuknya aterosklerosis, suatu penyebab utama penyakit kardiovaskuler, penyakit dengan mortalitas tertinggi di negara-negara maju dengan status ekonomi yang baik (Darwin, K., 1990; Herman, S., 1991).

Penyakit jantung koroner adalah salah satu penyebab kematian dini pada manusia. Kedudukan penyakit kardiovaskuler sebagai penyebab kematian meningkat di Indonesia. Pada Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 1972 diketahui penyakit kardiovaskuler secara umum masih menduduki peringkat keempat, tetapi pada tahun 1980 penyakit ini telah naik keperingkat tiga penyebab kematian tanpa mengenal batas usia. Pada tahun 1986 penyakit ini sudah menjadi pembunuh nomor satu pada orang-orang di atas usia 45 tahun di Indonesia (Herman, S., 1991).

Hal ini ditunjang oleh pernyataan Direktur Jendral World Health Organization (WHO) pada tahun 1990 bahwa penyakit kardiovaskuler merupakan penyebab kematian nomor satu di dunia diikuti dengan kanker dan diare (Herman, S., 1991). Peningkatan angka kejadian (*incidence*) penyakit kardiovaskuler terutama berkaitan dengan perubahan pola hidup seperti kurangnya aktivitas gerak dan perubahan pola diet yang cenderung banyak mengkonsumsi asam lemak jenuh (Herman, S., 1991).



Banyak penelitian terdahulu menunjukkan hubungan antara kadar lipid serum yang tinggi dengan angka kejadian penyakit aterosklerosis khususnya penyakit jantung koroner. Di antara berbagai lipid serum, kolesterol adalah lipid yang paling sering dikaitkan dengan penyakit jantung koroner. Akan tetapi lipid lain yaitu trigliserida (TG) juga menunjukkan hubungan yang erat dengan terjadinya aterosklerosis (Apgar, J.L., 1987; Darwin, K., 1990; Herman, S., 1991; Martin, D. W., 1990).

Kolesterol dan trigliserida darah terikat dalam partikel-partikel pengangkut yang disebut lipoprotein. Di antara lipoprotein-lipoprotein tersebut diduga LDL (*Low Density Lipoprotein*) merupakan lipoprotein yang bersifat aterogenik karena memiliki hubungan yang positif dengan aterosklerosis. Di samping itu juga didapatkan bahwa kadar kolesterol-total dalam darah mempunyai korelasi yang kuat dengan kadar kolesterol-LDL dan hubungan antara kenaikan kadar kolesterol-total dengan aterosklerosis terutama disebabkan oleh kolesterol yang terdapat dalam fraksi LDL ini (Darwin, K. *et al.*, 1990; Kitta, T., 1992).

Meskipun kadar kolesterol-total dalam darah mempunyai hubungan yang erat dengan aterosklerosis dan jantung koroner, akan tetapi kadar kolesterol-total bukanlah merupakan peramal yang paling tepat untuk mengetahui kemungkinan terjadinya aterosklerosis karena kolesterol dalam darah dibawa dalam beberapa fraksi lipoprotein dan tiap lipoprotein mempunyai peranan yang berbeda dalam proses terjadinya aterosklerosis (Hurst, J. *et al.*, 1990; Kwiterovich, P. O. *et al.*, 1992). Dalam pengangkutan lipid, HDL (*High Density Lipoprotein*) bertindak sebagai pengambil (*scavenger*) kelebihan kolesterol bebas dari fraksi lipoprotein lain dan jaringan-jaringan tubuh. HDL juga berperan sebagai tempat esterifikasi kolesterol-kolesterol bebas dan pembawa ester kolesterol yang dihasilkan kembali menuju hati (Adiman, J. J., 1989; Kwiterovich, P. O. *et al.*, 1992). Diduga karena peranan tersebut, HDL mempunyai peranan yang sangat penting dalam perlindungan terhadap aterosklerosis (Grundy, S. M., 1978; Miller, 1982).

Aterosklerosis merupakan suatu keadaan patologis yaitu suatu kondisi dengan lumen arteri yang secara perlahan-lahan menyempit disertai perubahan jaringan dinding arteri dan kadang-kadang disertai pula dengan kalsifikasi (Linder, M. C. *et. al.*, 1992). Bagi orang yang mempunyai kadar kolesterol tinggi (hiperkolesterolemia) pengaturan diet sehari-hari merupakan langkah pertama di dalam menanggulangi masalah ini. (Martin, D. W. *et. al.*, 1990; Ney Denise, M. *et. al.*, 1987). Penurunan kadar kolesterol plasma dapat ditingkatkan oleh peningkatan percepatan pergantian (*turn over*) kolesterol atau oleh ekskresinya. Dari upaya-upaya penurunan kolesterol darah, penggunaan asam lemak tak jenuh jamak (*polyunsaturated fatty acids*) dalam diet telah diselidiki dengan amat intensif (Herman, S., 1991; Hehsted, D. M., 1986; Kissli, G. W. *et. al.*, 1997; Kottke, B. A., *et. al.*, 1991). Di antara beberapa bahan pangan yang dapat mempengaruhi kadar kolesterol dalam darah serta menurunkan faktor resiko hiperkolesterolemia antara lain berupa minyak ikan (asam lemak tidak jenuh jamak), buah-buahan dan sayur-sayuran (mengandung vitamin C), makanan yang mengandung vitamin E, makanan yang berwarna (vitamin A), makanan yang mengandung sitosterol (beras, kedelai, tempe), makanan yang mengandung niasin (beras, kedelai dan buncis) dan makanan yang mengandung kalsium (Keteren, S., 1986).

Vitamin E (*α -tokoferol*) adalah suatu vitamin-larut lemak (*fat-soluble vitamin*) yang terdapat dalam berbagai tumbuhan terutama kecambah, gandum, beras dan biji kapas. Vitamin ini diperlukan oleh manusia dan hewan tingkat tinggi seperti unggas dan ternak sapi untuk fertilitasnya. Peranan lain vitamin E dalam metabolisme adalah sebagai bahan anti oksidan. Kebutuhan vitamin E berhubungan erat dengan pemakaian asam-asam lemak tidak jenuh. Di dalam diet yang kaya akan asam lemak tidak jenuh kebutuhan vitamin E sehari-hari meningkat. Ikatan rangkap yang terdapat pada asam lemak tidak jenuh mudah teroksidasi oleh oksidan sehingga menimbulkan akibat yang merugikan antara lain: kerusakan membran sel dan timbulnya zat-zat yang toksik seperti: malondialdehid melalui suatu proses yang disebut peroksidasi lipid. Dengan demikian malondialdehid dapat dipakai sebagai indikator terjadinya proses peroksidasi lipid. Dampak yang merugikan dari oksidan ini dapat diatasi dengan penambahan

vitamin E yang dapat bertindak sebagai antioksidan dan juga dapat memutus reaksi peroksidasi lipid sehingga menghindari kerusakan asam lemak tak jenuh jamak (*polyunsaturated fatty acids, PUFA*). Disebutkan bahwa seseorang yang jaringan lemaknya mengandung asam linoleat $\pm 10\%$ membutuhkan kira-kira 6 mg D- α -tokoferol perhari. Vitamin ini terdapat dalam aneka ragam bahan makanan sehingga jarang terjadi kekurangan dalam memenuhi kebutuhan sehari-hari. Defisiensi vitamin ini kemungkinan disebabkan karena rusaknya vitamin ini dalam lemak yang tengik dan karena gangguan penyerapan vitamin tersebut di dalam pencernaan. Peningkatan penggunaan asam lemak tak jenuh jamak akan meningkatkan kebutuhan vitamin E sehingga diet yang mengandung banyak asam lemak tidak jenuh jamak perlu dilakukan suplementasi vitamin E. Asam lemak tidak jenuh jamak banyak dijumpai pada minyak ikan seperti minyak ikan lemuru. Minyak ikan lemuru banyak mengandung asam lemak ω -3. Beberapa penelitian telah mempelajari pengaruh asam lemak tidak jenuh jamak ω -3 terhadap profil lipid serum. Asam lemak tidak jenuh jamak ω -3 yang terdapat dalam minyak ikan akan menurunkan trigliserida plasma, meningkatkan *bleeding time*, menurunkan jumlah trombosit, memodifikasi pembentukan prostaglandin serta mengubah sintesis lipoprotein hati (Chen Sabel, S., *et. al.*, 1987). Cara kerjanya masih belum diketahui dengan pasti, kemungkinan berkaitan dengan peningkatan kecepatan pembentukan VLDL dan apolipoprotein dalam hati (Martin, D. W. J., 1990). Ini dapat dilihat pada masyarakat di wilayah Eskimo, Greenland dan Jepang. Populasi di daerah tersebut banyak mengkonsumsi ikan yang mengandung asam lemak tidak jenuh jamak ω -3. Mereka menunjukkan bahwa dalam serum mereka mempunyai kadar trigliserida, kolesterol-total, kolesterol-LDL serta kolesterol-VLDL yang lebih rendah dan kolesterol-HDL yang lebih tinggi, yaitu parameter yang dikaitkan dengan menurunnya faktor resiko penyakit jantung koroner, sehingga kejadian penyakit aterosklerosis dan jantung koroner pada masyarakat tersebut relatif lebih rendah (Haglund Olle, *et. al.*, 1991; Heerpld, P. M. M., *et. al.*, 1986). Disamping efek-efek yang disebutkan di atas ternyata asam lemak tidak jenuh jamak ω -3 justru dapat menghambat peroksidasi lipid sehingga menunjukkan efek sinergistik dengan vitamin E, walaupun mekanismenya belum jelas (Jin-Ho Choi and Dae-Soe Byun, 1989).

1.2. Rumusan Masalah

Sehubungan dengan uraian tersebut di atas, maka timbul permasalahan sebagai berikut:

- a). Seberapa jauh pengaruh substitusi berbagai kadar minyak ikan lemuru sebagai pengganti lemak yang mengandung asam lemak jenuh dalam diit terhadap kadar trigliserida, kolesterol-total, kolesterol-LDL, kolesterol-HDL.
- b). Seberapa jauh pengaruh substitusi berbagai kadar minyak ikan lemuru terhadap kadar malondialdehid dalam darah tikus.
- c). Seberapa jauh pengaruh berbagai kadar suplementasi vitamin E pada diit tanpa maupun dengan substitusi minyak ikan lemuru terhadap kadar malondialdehid dalam darah tikus.

1.3. Tujuan Penelitian

- 1.3.1. Mengetahui pengaruh substitusi berbagai kadar minyak ikan lemuru sebagai pengganti lemak yang mengandung asam lemak jenuh dalam diit terhadap kadar trigliserida, kolesterol-total, kolesterol-HDL, kolesterol-LDL dalam darah tikus.
- 1.3.2. Mengetahui pengaruh substitusi berbagai kadar minyak ikan lemuru terhadap kadar malondialdehid dalam darah tikus.
- 1.3.3. Mengetahui pengaruh suplementasi berbagai kadar vitamin E pada diit maupun dengan substitusi minyak ikan lemuru terhadap kadar malondialdehid dalam darah tikus.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan akan sangat bermanfaat dalam mempertimbangkan alternatif diet untuk mencegah hiperkolesterolemia beserta berbagai penyulitnya karena dari hasil penelitian ini akan didapatkan:

- 1.4.1. Pengetahuan tentang efek substitusi minyak ikan lemuru sebagai pengganti lemak yang mengandung asam lemak jenuh dalam diet terhadap kadar trigliserida, kolesterol-total, kolesterol-LDL, kolesterol-HDL dalam darah tikus.
- 1.4.2. Pengetahuan tentang efek substitusi minyak ikan lemuru sebagai pengganti lemak yang mengandung asam lemak jenuh terhadap kadar malondialdehid dalam darah tikus.
- 1.4.3. Pengetahuan tentang efek suplementasi vitamin E terhadap kadar malondialdehid dalam darah tikus.

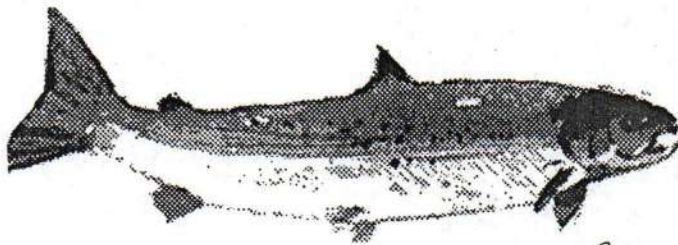
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Minyak Ikan Lemuru

Di Indonesia minyak ikan diproduksi dalam bentuk minyak hati ikan terutama ikan cucut dan minyak badan ikan terutama minyak ikan lemuru (Gambar 2.1). Minyak ikan lemuru termasuk kelas: *pisces*, sub kelas: *malacopterygi*, familia: *chupeida*, genus: *sardinella*, spesies: *longiceps* (Endang, dkk., 1995).



Gambar 2.1 Ikan Lemuru Spesies *Longiceps*
(Explorapedia The World of Nature, 1995, Microsoft Home)

Minyak badan ikan lemuru pada umumnya diekstraksi dengan cara pemasakan dengan pemanasan basah (*wet rendering*). Sebenarnya ekstraksi juga dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti: pemasakan kering (*dry rendering*), pembuatan silasi ikan (*ensiling*). Pemurnian dapat dilakukan dengan berbagai tahapan yaitu: penjernihan baik dengan penyaringan maupun dengan penyabunan menggunakan alkali; pemucatan dengan menggunakan adsorben seperti karbon aktif, bentonit dan dekalit; penghilangan bau dilakukan dengan pemanasan pada kondisi vakum dan winterisasi dengan menggunakan suhu rendah untuk memekatkan asam lemak tidak jenuh. Minyak ikan banyak mengandung vitamin A dan D. Kedua vitamin ini berguna untuk memperbaiki pertumbuhan tulang dan kulit (Endang, dkk. 1995). Selain itu minyak ikan juga mengandung asam eikosapentanoat dan asam dokoheksanoat (Brought, K. S., *et. al.*, 1991). Kedua asam lemak tersebut termasuk asam lemak tidak jenuh jamak dengan

ikatan ganda pada atom Cketiga (dari ujung metil) yang disebut asam lemak ω -3. Ketidakjenuhan minyak ikan ini mampu menurunkan kadar kolesterol di dalam darah (kadar kolesterol plasma) (babiak, J., *et. al.*, 1987; Brown, M. S., *et. al.*, 1981; Gordon, T., *et. al.*, 1977; Kissli, G. W., 1987).

Komposisi asam lemak di dalam minyak ikan lemuru adalah sebagai berikut: asam lemak jenuh (*saturated fatty acids*) \pm 21 %, asam lemak tidak jenuh jamak tunggal (*monounsaturated fatty acids*) 53 % dan 11 % adalah asam-asam lemak lain. Empat puluh prosen dari total asam lemak adalah jenis ω -3, asam eikosapentanoat sejumlah 28,0-31,6 %, asam dokoheksanoat sejumlah 4,9-6,0 % (dari jumlah asam lemak keseluruhan).

Banyak penelitian mengenai efek yang menguntungkan dari minyak ikan terhadap kadar kolesterol tetapi mekanismenya belum diketahui secara pasti. Beberapa peneliti mengemukakan bahwa efek dari minyak ikan ini berkaitan dengan penurunan selisih VLDL dan apolipoprotein di dalam hati (Chen Sabel, S., *et. al.*, 1987).

Ada beberapa laporan yang kontroversial mengenai efek minyak ikan pada kolesterol VLDL, LDL dan HDL serta pada fibrinogen plasma. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh perbedaan kualitas dan dosis dari minyak ikan yang digunakan (Haglund, Olle., *et. al.*, 1991). Pengaruh diet asam lemak tidak jenuh jamak ω -3 dari ikan dan makanan laut untuk mengurangi kemungkinan terjadinya sejumlah penyakit seperti aterosklerosis dan trombosis telah banyak dilakukan (Brought, K. S., *et. al.*, 1991). Grundy mengemukakan bahwa mekanisme asam ω -3 dalam menurunkan kadar kolesterol adalah dengan meningkatkan kecepatan ekskresi kolesterol dan hasil metabolismenya. Sedangkan Blake mengatakan bahwa asam lemak ω -3 bertindak sebagai inhibitor pada sintesis trigliserida di dalam hati yaitu pada enzim asetil KoA-karboksilase. Enzim tersebut merupakan pengendali pada rangkaian lipogenesis (Murray, K., *et. al.*, 1993).

Beberapa penelitian epidemiologi, misalnya yang dilakukan pada orang-orang Eskimo, nelayan Jepang, orang Belanda dan Norwegia mengungkapkan bahwa populasi yang mengkonsumsi ikan dalam jumlah relatif besar mempunyai insiden penyakit jantung koroner yang rendah. Konsumsi minyak ikan biasanya menyebabkan turunnya VLDL, LDL dan trigliserida plasma serta meningkatkan *bleeding time* dan menurunkan jumlah trombosit. Selain itu akan terjadi perubahan pembentukan prostaglandin serta perubahan sintesis lipoprotein hati (Chen Isabel, S., *et. al.*, 1987; Kissli, G. W., *et. al.*, 1987).

Bukti terbaru memberi gambaran bahwa konsumsi minyak ikan juga menurunkan kematian setelah iskemia koroner karena mengubah homeostatis kalsium otot jantung (Tejayadi, S., 1991). Mekanismenya melibatkan pengaturan arus kalsium lintas membran di dalam otot jantung. Mengingat kadar kalsium intrasellular sangat berperan di dalam kemampuan kontraksi dan kelangsungan hidup sel-sel otot jantung. Perubahan-perubahan yang dipengaruhi oleh konsumsi minyak ikan di dalam aktivitas pompa kation ini dapat memodifikasi distribusi ion kalsium di dalam sel dan karenanya mempengaruhi luasnya nekrosis jantung dan aritmia setelah iskimia koroner atau reperfusi (Shepherd, J., 1987). Oleh karena itu efek-efek protektif dari konsumsi minyak ikan terhadap nekrosis dan aritmia jantung mungkin dapat dihubungkan dengan perubahan fisik dan fungsional dari membran otot jantung yang dipengaruhi oleh lemak yang dikonsumsi.

Jin-Ho Choi dan dae-Soek Byun (1989) menemukan bahwa pada tikus yang mengkonsumsi minyak ikan sarden dan asam lemak tidak jenuh jamak ω -3, kadar malondialdehid serumnya menurun. Dalam penelitiannya ini tidak diberikan rincian mekanisme mengapa hal tersebut bisa terjadi.

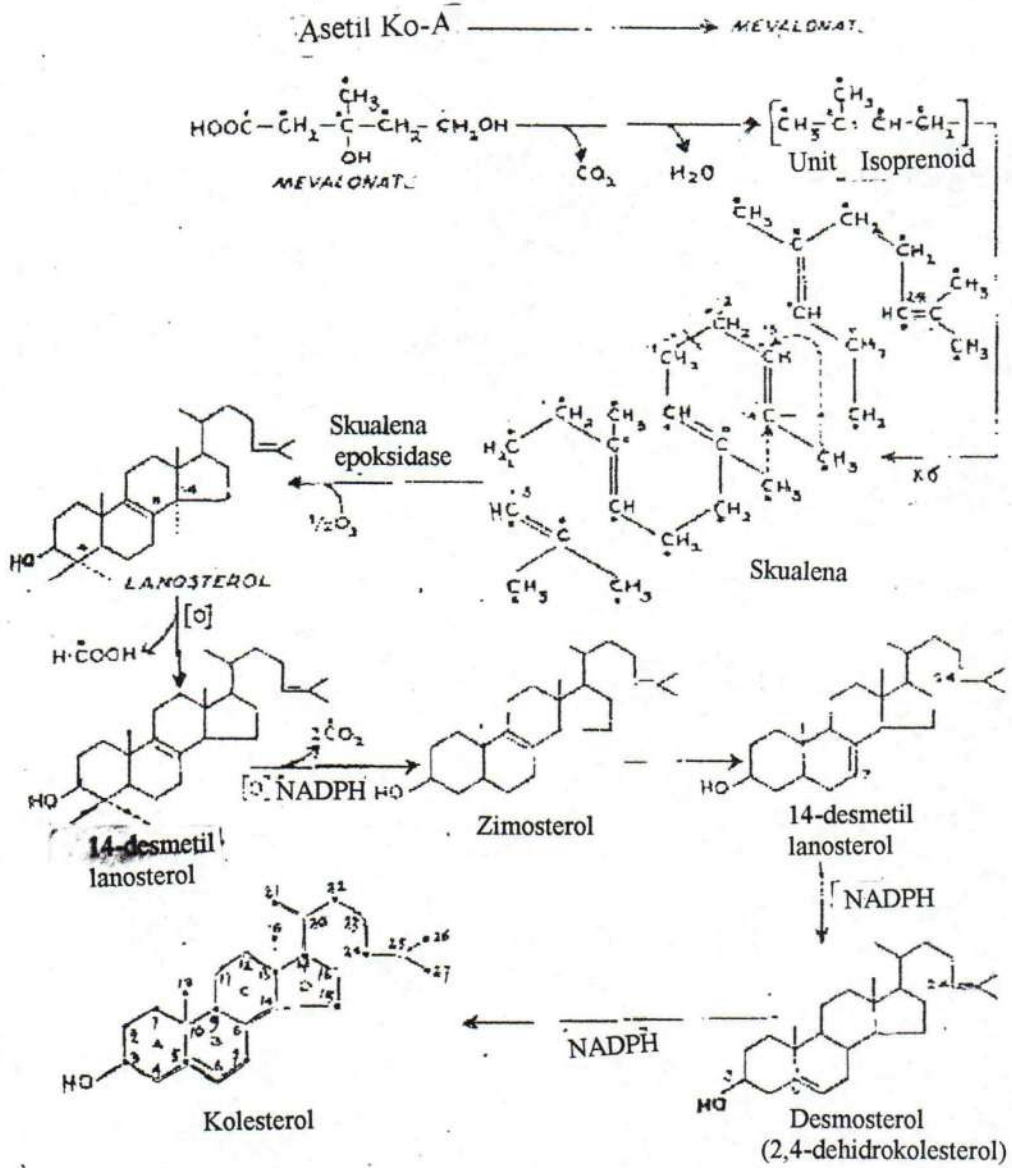
2.2. Kolesterol dan Metabolisme Kolesterol

Kolesterol merupakan suatu senyawa yang sangat vital bagi tubuh karena kolesterol dibutuhkan sebagai salah satu bahan utama penyusun membran sel dan juga penyusun partikel lipoprotein. Di samping itu kolesterol juga merupakan zat bakal pembentuk bermacam-macam senyawa steroid lainnya, seperti: hormon-hormon dan asam-asam empedu. Kolesterol yang terdapat di dalam tubuh berasal dari hasil sintesis *de novo* oleh tubuh sendiri (kolesterol endogen) atau dari makanan (kolesterol eksogen) (Grundy, S. M., 1970, Murray K., 1993).

Kolesterol yang dikonsumsi akan diabsorpsi di usus halus dan selanjutnya masuk ke sistem limfe. Setelah melalui duktus torasikus senyawa ini memasuki sirkulasi darah dalam bentuk kilomikron. Di dalam jaringan tubuh dan di dalam lipoprotein plasma, kolesterol dapat berada dalam bentuk bebas maupun bergabung dengan asam lemak rantai panjang sebagai ester kolesterol. Sekitar 30 % dari jumlah kolesterol darah berada dalam bentuk kolesterol bebas, sedangkan sisanya berupa ester kolesterol. Pada dasarnya semua sel di dalam tubuh dapat mensintesis kolesterol, tetapi tempat sintesis terbesar adalah di hati (50 %) (Murry, K., 1993). Sintesis *de novo* kolesterol terjadi di dalam sitosol dengan membutuhkan asetil Ko-A sebagai zat bakal. Sekitar 15 % terjadi di usus dan 35 % pada kulit.

Biosintesis kolesterol terjadi melalui beberapa tahapan, seperti ditunjukkan dengan Gambar 2.2 berikut (Martin, D. W. Jr., 1990):

- a). Pembentukan mevalonat, suatu senyawa dengan 6 atom karbon dari asetil Ko-A.
- b). Pembentukan unit isoprenoid dari mevalonat dengan melepas gas CO₂.
- c). Pembentukan zat antara squalen dari enam unit isoprenoid.
- d). Siklisasi squalen membentuk lanosterol.
- e). Pembentukan kolesterol dari lanosterol melalui beberapa tahap dengan pelepasan tiga gugus metil.

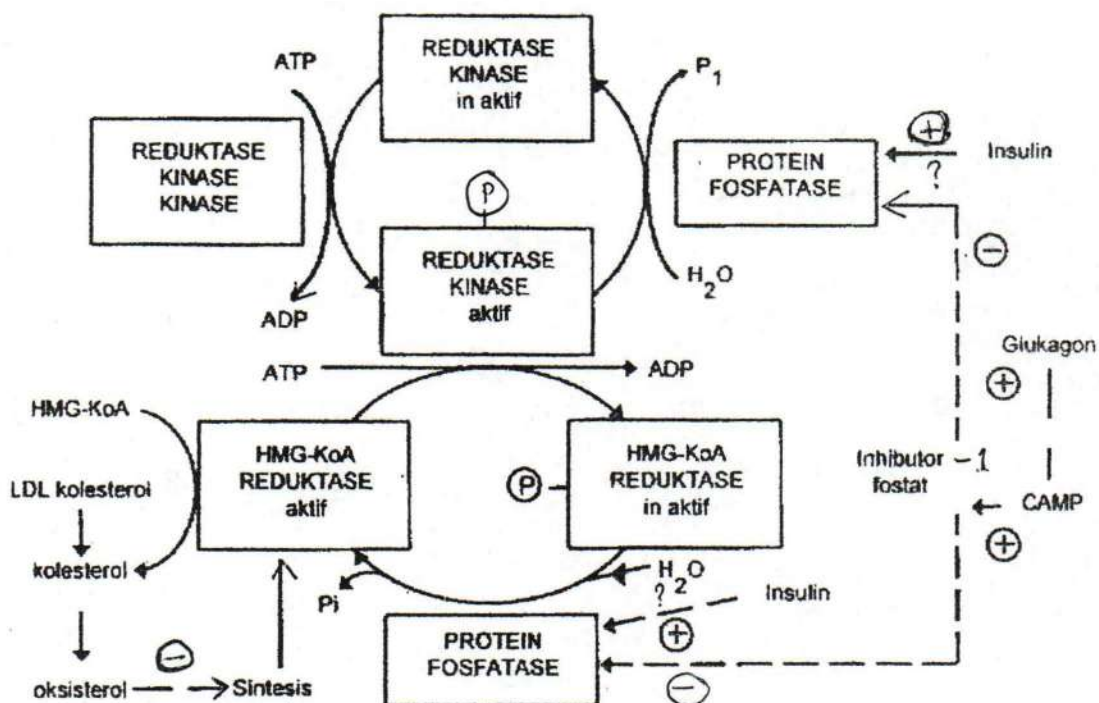


Gambar 2.2 Biosintesis Kolesterol (Martin, D. W. J., 1990, p.306).

Tubuh mempertahankan keseimbangan kolesterol melalui mekanisme sebagai berikut:

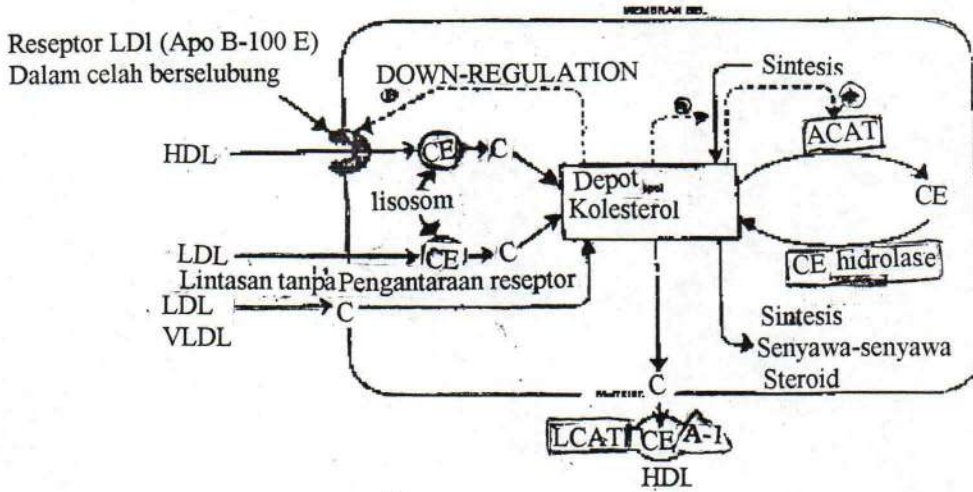
1. Mekanisme penghambatan umpan balik. Melalui mekanisme ini kolesterol di dalam sel akan menghambat biosintesis kolesterol yang baru. Bila kadar kolesterol dalam darah meningkat, kolesterol akan mengadakan penghambatan biosintesisnya sendiri dengan cara menghambat aktivitas enzim β -hidroksil-metil-glutaril-KoA reduktase (HMG-Ko-A reduktase) suatu enzim yang mengkatalisis pembentukan mevalonat dari HMG-Ko-A. Enzim ini adalah merupakan *rate limiting enzyme* dalam keseluruhan rantai biosintesis kolesterol. Mekanisme umpan balik dapat dilihat pada Gambar 2.3 (Murray, K., *et. al.*, 1993, p.307).
2. Mekanisme *Down regulation* terhadap reseptor LDL pada permukaan sel. Dalam hal ini akan terjadi penurunan sintesis reseptor LDL apabila kadar kolesterol di dalam sel meningkat. Sebaliknya bila kadar kolesterol di dalam sel rendah akan terjadi peningkatan sintesis reseptor LDL sehingga akan menangkap LDL dari sirkulasi dalam jumlah yang lebih banyak (Martin, D. W., 1990).
3. Mekanisme melalui pengaturan kecepatan esterifikasi dan pemindahan kolesterol bebas. Di sini enzim ACAT (*Acyl-CoA-Cholesterol-Acytransferase*) berperan dalam esterifikasai intra sel. Aktivitasnya diatur melalui fosforilasi reversibel dan melalui pengaturan kecepatan sintesis dan degradasinya (Martin, D. W., 1990).



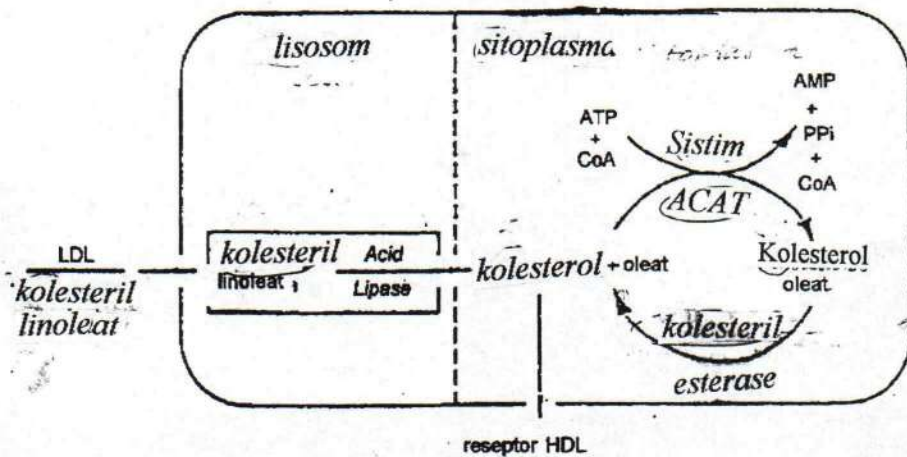


Gambar 2.3. Mekanisme Pengaturan Sintesis Kolesterol oleh HMG-KoA Reduktase
(Murray, K., *et al.*, 1993, p.307).

Kolesterol yang terbentuk sebagian akan disimpan dalam bentuk ester-kolesterol, sedang sebagian lagi akan dikatabolisme menjadi asam empedu, dan diekskresi ke dalam empedu sebagai kolesterol bebas (dalam sel hati). Sebagian disekresi ke sirkulasi di dalam VLDL dari sel hati (Blake, W., Clarke, S. D. 1990). Asam empedu merupakan hasil akhir dari metabolisme kolesterol, dan perubahan kolesterol menjadi asam empedu hanya terdapat di dalam hati. Proses perubahan kolesterol menjadi asam empedu dihambat oleh asam-asam empedu itu sendiri. Asam empedu yang dihasilkan di sini adalah asam kolat dan asam kenodeoksikolat yang disebut sebagai asam-asam empedu primer. Asam-asam empedu primer tersebut bersama kolesterol dalam empedu kemudian dikeluarkan ke dalam usus dan akan digunakan dalam pencernaan makanan. Oleh adanya aktivitas bakteri di dalam usus sebagian asam empedu primer tersebut akan diubah menjadi asam empedu skunder yaitu deoksikolat yang berasal dari asam kolat dan asam litokolat dari asam kenodeoksikolat. (Martin. D. W. Jr. 1990).



Gambar 2.4 Faktor-Faktor yang mempengaruhi keseimbangan kolesterol
 → Pada tingkat seluler (Murray, et al 1993, p. 308).



Gambar 2.5 Siklus Ester Kolesterol Intra Selluler (Martin, D. W. Jr., 1990).

Sebagian asam empedu tersebut (98-99 %) akan direabsorpsi melalui ileum dan selanjutnya akan mengikuti sirkulasi enterohepatik untuk kemudian masuk *pool asam*

empedu atau digunakan lagi dalam pencernaan makanan. Putaran asam-asam empedu dari hati ke usus dan kembali lagi ke hati ini disebut sirkulasi *enterohepatik*. Sebagian kecil asam empedu yang sekitar (1-2 %) tidak mengalami absorpsi kembali, dan keluar dalam bentuk feses. Meskipun jumlah yang dikeluarkan sangat kecil, tetapi ini merupakan mekanisme utama pembuangan asam empedu. Kolesterol yang dikeluarkan ke lumen usus bersama empedu akan bercampur dengan kolesterol dari diet (yang dikonsumsi) dan sebagian akan diabsorpsi kembali, dan sebagian lagi diubah menjadi koprostanol dan koprostanon yang dikeluarkan bersama feses (Martin, D. W. Jr 1990).

2.3. Triasilgliserol dan Metabolisme Triglisierida

Triglisierida adalah lipid utama yang terdapat dalam timbunan lemak dan makanan. Hampir seluruh jaringan tubuh manusia dapat mengubah asam lemak menjadi triglisierida dengan melalui beberapa tahapan reaksi. Tetapi hati dan jaringan lemak (jaringan adiposa) merupakan tempat utama sintesis triglisierida. Dalam jaringan adiposa, triglisierida disimpan untuk dipakai sebagai cadangan energi (Martin, D. W. Jr., Murray, K. *et.al.* 1991).

Triglisierida disimpan dalam sitoplasma. Perputaran triglisierida yang disimpan dan dikeluarkan untuk keperluan tubuh, memiliki waktu paruh hanya beberapa hari. Jadi pada keadaan homeostatik, terdapat sintesis dan pemecahan triglisierida yang sinambung dalam jaringan adiposa (Murray, K. *et.al.* 1993).

Didalam jaringan adiposa triglisierida disintesis dari asil-KoA dan gliserol-3-fosfat. Karena aktifitas enzim gliserolkinase rendah pada jaringan adiposa, gliserol tidak banyak dipakai pada esterifikasi asil-KoA. Untuk penyediaan gliserol-3-fosfat yang diperlukan dalam reaksi ini, jaringan adiposa bergantung pada ketersediaan glukosa (Murray, K. *et.al.* 1993).

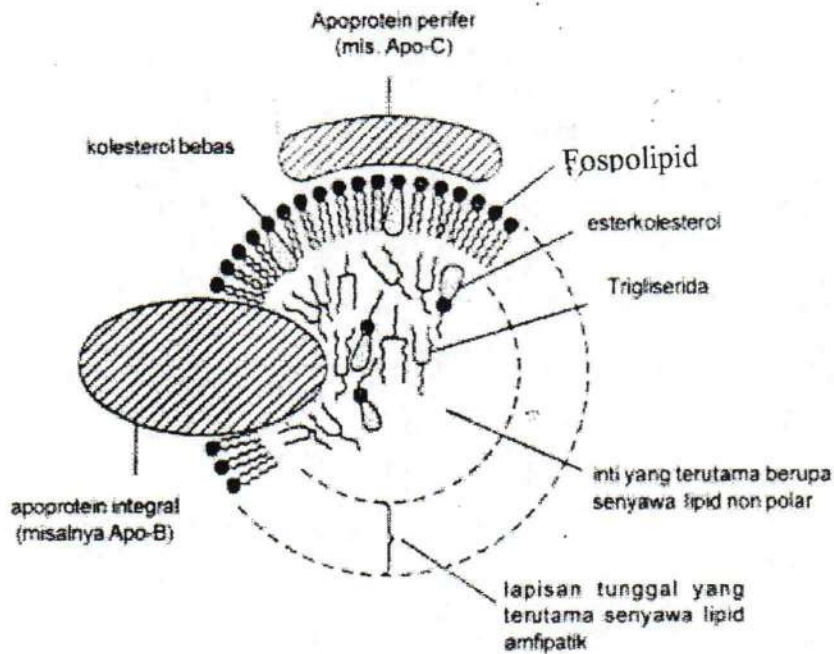
Trigliserida mengalami hidrolisis oleh lipase membentuk asam lemak bebas dan gliserol. Asam lemak bebas yang dibentuk oleh lipolisis dikonversi kembali di dalam jaringan menjadi asil-KoA oleh asil Ko-A sintetase dan diesterifikasi dengan gliserol-3-fosfat untuk membentuk trigliserida. Dengan demikian terdapat siklus lipolisis dan reesterifikasi yang sinambung di dalam jaringan. Tetapi bila kecepatan reesterifikasi tidak cukup mengimbangi kecepatan lipolisis, asam lemak bebas tertimbun dan berdifusi ke dalam plasma (Gambar 2.6) (Murray, K., *et. al.*, 1993).



Gambar 2.6 Sintesis Trigliserida (Murray, K., *et. al.*, 1993, p.275).

2.4. Sistem Pengangkutan Lipoprotein

Lemak yang dikonsumsi dan diabsorpsi dari diet maupun yang disintesis oleh tubuh harus dapat dibawa ke berbagai jaringan dan organ untuk digunakan lebih lanjut atau untuk disimpan sebagai cadangan. Karena lemak tidak larut dalam air maka untuk membawanya melalui plasma darah, lemak non polar (trigliserida dan kolesterol ester) harus bergabung dengan lemak amfipatik yang lebih polar (fosfolipid dan kolesterol bebas) serta protein (apolipoprotein) untuk membentuk lipoprotein yang dapat larut dalam air (Murray, K., *et. al.*, 1993).



Gambar 2.7 Struktur Lipoprotein plasma (Murray, K., *et.al.*, 1993, p.285).

Lipoprotein umumnya merupakan suatu partikel yang berbentuk sferis, yang lapisan luarnya tersusun oleh fosfolipid yang gugus asamnya menghadap ke arah pusat partikel. Molekul-molekul kolesterol serta protein yang di kenal sebagai apolipoprotein terbenam di dalam lapisan permukaan fosfolipid, sedangkan inti partikel lipoprotein terbentuk dari ester kolesterol dan molekul trigliserida (Murray, K, *et al* 1993).

Lipoprotein plasma di klasifikasikan berdasarkan densitasnya, kecepatan gerakannya di dalam elektroforesis, dan kandungan protein serta lemaknya. Diketahui ada 4 jenis lipoprotein dalam plasma yaitu : Kilomikron, yang berasal dari usus, VLDL (Very Low Density Lipoprotein) atau *pre* β -lipoprotein, berasal dari hati dan usus, LDL (Low Density Lipoprotein) atau β -lipoprotein berasal dari VLDL dan HDL (High Density Lipoprotein) atau α -lipoprotein berasal dari hati dan usus.

Kolesterol bebas dan ester kolesterol di dalam sirkulasi darah tidak dapat beredar dalam keadaan bebas, melainkan berada dalam partikel lipoprotein tersebut di atas (Martin, D. W., *et. al.*, 1990; Murray, K., *et. al.*, 1993). Pada penentuan kolesterol-total yang berada dalam darah dihitung jumlah kolesterol yang terdapat dalam berbagai lipoprotein tersebut.

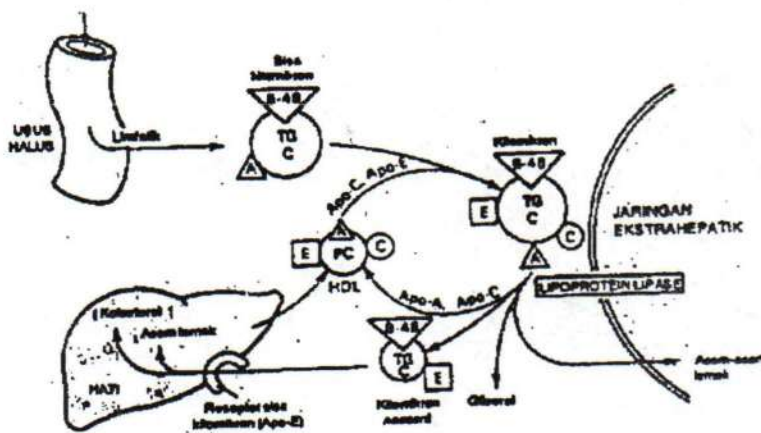
Sistem jalur pengangkutan lipoprotein dapat dibagi menjadi 2 (dua) jalur pengangkutan yaitu:

1. Sistem eksogen yang mengangkut hasil pencernaan dari lipid yang berasal dari diet. Lipid-lipid tersebut seperti: trigliserida, fosfolipid, kolesterol bebas diangkut di dalam partikel lipoprotein khusus yang disebut kilomikron. Kilomikron selanjutnya dikeluarkan dari sel epitel mukosa usus ke *ductus lacteal* usus halus. Dalam sirkulasi darah kilomikron yang kaya akan trigliserida akan berinteraksi dengan enzim lipoprotein lipase yang menghidrolisis sebagian besar trigliserida pada inti kilomikron menjadi asam lemak dan gliserol. Asam lemak ini akan diambil untuk digunakan oleh jaringan-jaringan tubuh. Partikel sisa kilomikron yang sudah kehilangan banyak trigliseridanya akan beredar kembali ke sirkulasi darah dan diambil oleh hati sehingga dengan demikian lipid-lipid eksogen yang berasal dari pencernaan kecuali trigliserida akhirnya masuk ke dalam hati.
2. Sistem endogen yang mengangkut lipid yang berasal dari hepar ke jaringan tubuh melalui sirkulasi darah. Lipid ini bersama dengan lipoprotein dirakit menjadi partikel VLDL di dalam hati dan disekresi ke sirkulasi darah. Sesampainya di pembuluh kapiler berbagai jaringan tubuh VLDL berinteraksi dengan enzim lipoprotein lipase yang menghidrolisis sebagian besar trigliserida dalam intinya dan dikonversi menjadi partikel IDL. Sebagian besar partikel IDL yang terbentuk akan mengalami hidrolisis lebih lanjut membentuk LDL. LDL merupakan lipoprotein yang kaya akan kolesterol dan berperan dalam pengangkutan kolesterol ke jaringan perifer. Sebagian besar LDL diambil oleh hepar dan sebagian lagi diambil jaringan tubuh lain melalui mekanisme endositosis dengan perantaraan reseptor LDL (Brown, M. S., *et. al.*, 1981; Murray, K., *et. al.*, 1993).

2.4.1. Kilomikron

Kilomikron dibentuk oleh sel-sel epitel usus halus dan kemudian masuk kesirkulasi darah melalui sistem limfatik. Lipoprotein ini merupakan pembawa triasilgliserol dan kolesterol yang berasal dari diet dari usus ke hati. Di dalam sirkulasi kilomikron akan mengalami hidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase sehingga akan kehilangan sebagian besar trigliseridanya, sedangkan apoprotein A dan apoprotein C dialihkan ke HDL. Sisa partikel kilomikron yang terbentuk disebut kilomikron sisa yang akan ditangkap oleh hati melalui reseptor apoprotein E dan mengalami metabolisme lebih lanjut (Martin, D. W. Jr., 1990; Murry, K. *et al* 1993).

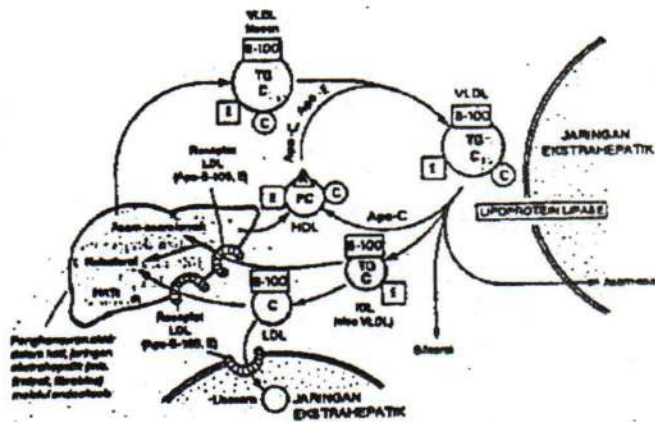
Kilomikron merupakan partikel lipoprotein yang mempunyai diameter lebih dari 1000 Å, yang intinya hampir seluruhnya terdiri dari trigliserida. Apoprotein kilomikron terutama terdiri dari ApoB-48, Apo A-1 dan Apo A-4. Di dalam sirkulasi kilomikron nasen akan mendapatkan tambahan Apo C-1, Apo C-2 dari HDL (Steinberg, D. *et al* 1990).



Gambar 2.8 Metabolisme Kilomikron (Murray, K., *et al.*, 1993, p.288).

2.4.2 Very low density lipoprotein (VLDL)

Partikel ini terbentuk dalam sel-sel parenkim hati, dan berfungsi untuk membawa trigliserida dari hati ke jaringan ekstrahepatik. Mekanisme pembentukan partikel VLDL sama dengan pembentukan kilomikron, namun partikel VLDL tidak mengandung Apo A. VLDL nasen mengandung Apo B100 dan apoprotein C. Dalam sirkulasi partikelnya mendapat tambahan apoprotein-C1, C2, C3 dan apoprotein E dari HDL. Seperti yang terjadi pada kilomikron, pada pembuluh kapiler jaringan ekstrahepatik, trigliserida yang diangkut VLDL dihidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase (Murray, K. *et al* 1993). Akibat dari hidrolisis ini kandungan trigliserida VLDL berkurang dan sebagian Apo-C serta apoprotein dialihkan ke HDL. Ukuran partikel menjadi lebih kecil dan berubah menjadi IDL dan kemudian menjadi LDL.



Gambar 2.9 Metabolisme VLDL (Murray, K., *et. al.*, 1993, p.289).

Selain mengangkut trigliserida, VLDL melalui LDL juga membawa kolesterol dari sirkulasi ke hati. Diit dapat menimbulkan akumulasi partikel VLDL kecil yang kaya akan ester kolesterol, yang dengan cepat berubah menjadi LDL sehingga diduga diit tinggi kolesterol berhubungan dengan kecepatan peningkatan sintesis LDL. (Gb. 2.8).

2.4.3. Low density lipoprotein (LDL)

Partikel LDL yang memiliki diameter 20-25 nm merupakan lipoprotein yang paling kaya kolesterol. Proporsi lipid lain kecuali trigliserida juga tinggi dibandingkan dengan yang terdapat pada fraksi-fraksi lipoprotein lain. Sebagian besar LDL terbentuk dalam sistem sirkulasi darah sebagai hasil degradasi VLDL. Pengambilan LDL oleh hati dari sirkulasi terutama terjadi melalui reseptor LDL di permukaan sel. Hampir semua jaringan dalam tubuh dapat mensintesis reseptor LDL (Murray, K. *et al* 1993).

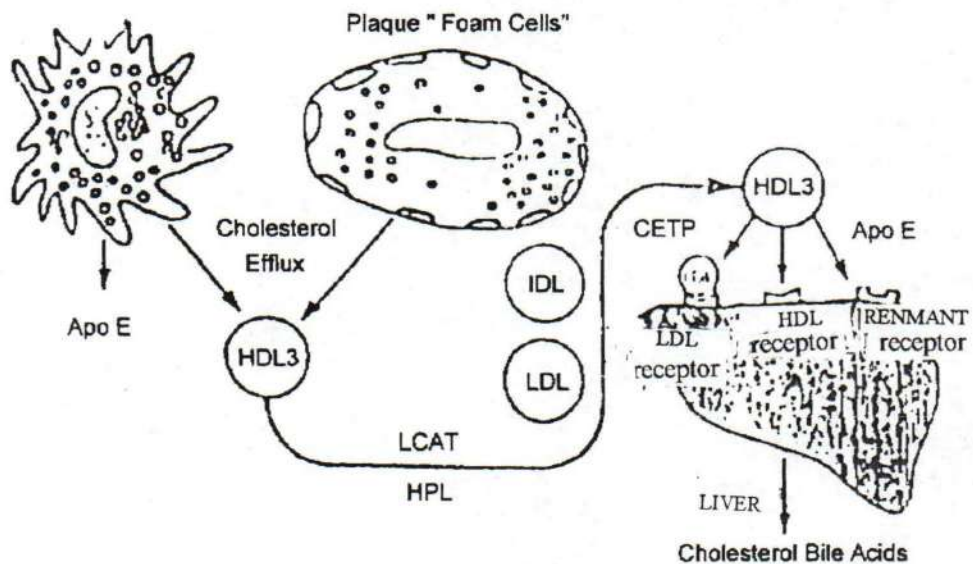
Setiap hari sekitar 75 % LDL diambil dari plasma darah dan 80-90 % di antaranya melalui reseptor LDL. Reseptor yang terletak pada permukaan sel tersebut mempunyai tempat pengikatan yang spesifik untuk Apo B dan Apo E, sehingga memungkinkan LDL yang mengandung Apo B-100 terikat pada reseptor LDL dan mengalami internalisasi membentuk vesikel endositik, untuk kemudian LDL dibawa ke regioperinuklear dan berfusi dengan lisosom. Di dalam lisosom Apo B-100 segera mengalami degradasi menjadi asam-asam amino penyusunnya, ester kolesterol mengalami hidrolisis oleh enzim lipase lisosom dan kolesterol yang dihasilkan dipergunakan oleh sel untuk membentuk membran dan beberapa keperluan lainnya. Bila jumlah kolesterol bebas melebihi kebutuhan, sel akan mengesterifikasi kembali. Kolesterol bebas dengan dikatalisis oleh enzim *acyl-CoA Cholesterol Acyl Transferase* (ACAT), membentuk ester kolesterol yang ditimbun sebagai butir-butir di dalam sitoplasma (Grundy, S. M. 1990; Murray, K. *et al* 1993).

Bila membran sel telah menjadi jenuh terhadap kolesterol karena penerimaan LDL dan biosintesis internal yang berlebih, terjadilah pengambilan kolesterol ke cairan ekstraseluler untuk dibawa kembali ke hati, yang dikenal *reverse cholesterol transport* fungsi ini diduga dilaksanakan oleh HDL (Delvin, T. 1986; Murray, K. *et al* 1993).

Jumlah reseptor pada permukaan sel diatur oleh kebutuhan sel akan kolesterol. Bila sel mengandung kolesterol yang berlebihan karena terlalu banyak LDL yang beredar dalam sirkulasi, pembentukan reseptor akan berkurang.

2.4.4. High Density Lipoprotein

Partikel HDL dibentuk oleh usus dan mengandung Apo A-1 sebagai apolipoprotein utamanya. Pada awalnya HDL nasen disintesis dalam bentuk cakram yang mengandung kolesterol bebas dan fosfolipid (Murray, K., *et. al.*, 1993). Di dalam sirkulasi kolesterol bebas yang terdapat di permukaan partikel HDL akan segera diesterifikasi oleh enzim LCAT (*Lecithin Cholesterol Acyl Transferase*). Ester kolesterol yang terbentuk akan masuk ke bagian dalam lapis ganda HDL nasen yang akhirnya partikel HDL tidak berbentuk cakram lagi, berubah menjadi sferis (Murray, K., *et. al.*, 1993). HDL yang ditemukan di dalam plasma mempunyai densitas antara 1,063-1,210 g/mL. Lipoprotein ini lebih jauh dibagi menjadi HDL2 (densitasnya 1,063-1,125 g/mL) dan HDL3 (densitasnya 1,125-1,210 g/mL). HDL dan enzim LCAT memegang peranan penting dalam pengangkutan dan pembuangan kolesterol dari tubuh (*Reverse Cholesterol Transport*) (Gambar 2.10).



Gambar 2.10 *Reverse Cholesterol Transport* (Gotto, Jr., *et. al.*, 1991).

Kolesterol bebas yang akan diesterifikasi oleh enzim LCAT sebagian besar juga berasal dari sumber yang lain, misalnya dari membran sel atau dari lipoprotein plasma. Esterifikasi terus menerus oleh enzim LCAT menyebabkan aliran kolesterol bebas menuju partikel HDL (Murray, K. *et al* 1993).

Sudah diidentifikasi adanya dua jenis reseptor di membran sitoplasma hati yang dapat mengikat dan memacu terjadinya endositosis dan hidrolisa partikel HDL, yaitu reseptor yang mengenali Apo A-1 dan Apo-E. Apo A-1 mempunyai berat molekul 28.000 dalton, apolipoprotein ini mempunyai struktur α -heliks dengan satu permukaan mengandung residu hidrofilik dan permukaan yang lain mengandung residu hidrofobik yang mengikat lipid.

HDL diduga melaksanakan 2 fungsi penting dalam sirkulasi yaitu: menjadi perantara transport balik kolesterol serta sebagai penyedia apoprotein C dan E yang diperlukan untuk metabolisme lipoprotein yang kaya akan trigliserida yaitu kilomikron dan VLDL.

Tempat utama katabolisme HDL adalah di hati. Di dalam organ ini terdapat reseptor HDL yang spesifik pada permukaan hepatosit (Murray, K. *et al* 1993). Aspek penting dari pembentukan dan metabolisme HDL adalah kemampuannya untuk bertindak sebagai pengambil kolesterol bebas pada fraksi lipoprotein dan jaringan-jaringan lain dan juga sebagai tempat esterifikasi kolesterol-kolesterol bebas serta pembawa ester kolesterol yang dihasilkan kembali ke hati (Murray, K. *et al* 1993; Miller, N. E. 1982).

Transport balik kolesterol tidak terlepas dari adanya Apo A-1, apoprotein utama HDL yang berfungsi sebagai kofaktor enzim LCAT. Reaksi yang dikatalisis oleh enzim LCAT ini akan membantu pemindahan kolesterol bebas dan mempertahankan kadar kolesterol bebas yang rendah di permukaan HDL. Pemindahan ini dapat terjadi melalui mekanisme difusi sederhana atau melalui perantaraan reseptor (Miller, N. E. 1982;

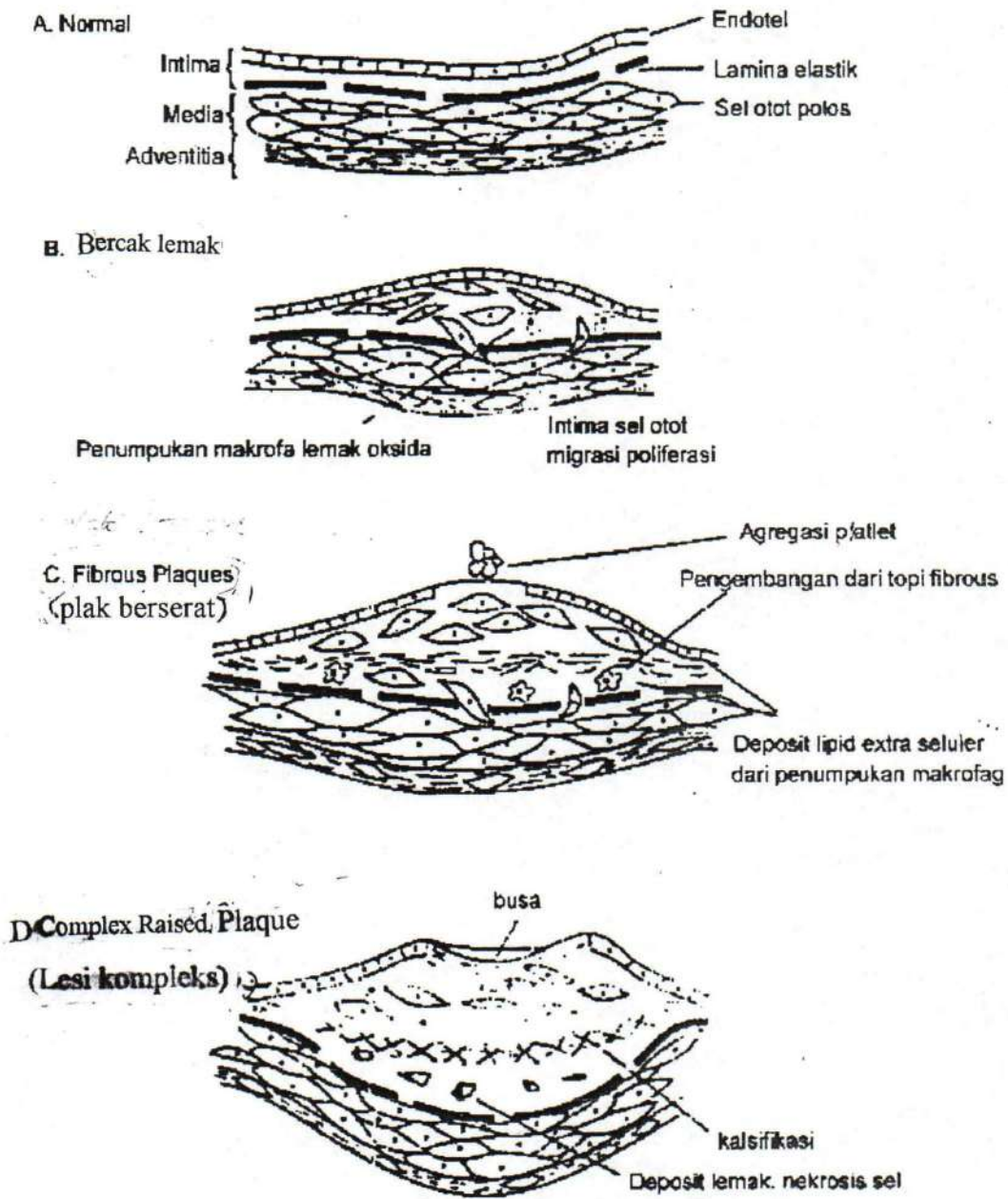


Babiak, J. 1987). Diduga karena kedua fungsi dalam metabolisme dan transport balik kolesterol inilah yang menyebabkan HDL mempunyai sifat anti aterogenik (Miller, G. J. *et al* 1975).

Banyak penelitian yang menunjukkan adanya korelasi negatif antara kadar kolesterol-HDL dengan penyakit jantung koroner dan hubungan tersebut independen, tidak tergantung pada konsentrasi kolesterol VLDL dan LDL plasma serta faktor resiko lain seperti kegemukan, merokok, diabetes melitus (Devlin, T. 1986; Martin, D. W. J. 1993).

2.5. Lipoprotein Plasma dan Aterosklerosis

Walaupun berfungsi penting dalam pertumbuhan dan mempertahankan kelangsungan hidup sel, kolesterol dalam jumlah yang berlebihan dapat menimbulkan masalah, misalnya deposisi kolesterol dalam dinding pembuluh arteri yang berpotensi menimbulkan aterosklerosis (Devlin, T., 1986; Linder, M. C., 1992). Aterosklerosis merupakan suatu keadaan patologis dengan lumen rongga arteri yang secara perlahan-lahan menyempit akibat penimbunan lemak disertai perubahan jaringan dinding arteri yang kadang-kadang disertai pula dengan kalsifikasi (Linder, M. C., 1992; Steiberg, D., *et. al.*, 1987). Tahap awal terjadinya aterosklerosis adalah berupa bercak lemak atau *fatty streak* (Gambar 2.11). Bercak lemak ini timbul apabila LDL yang berlebih menginfiltrasi daerah di bawah endotelium dan kemudian mengalami oksidasi.



Gambar 2.11 Tahapan Terjadinya Aterosklerosis (Linder, M. C., 1992).

Telah diketahui bahwa LDL bersifat aterogenik. Sifat tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu: berat molekul LDL, muatan dipermukaan LDL, keadaan fisik ester

Kolesterol di dalam inti LDL, konformasi dari Apo-B dan ada tidaknya apoprotein lain. Faktor-faktor tersebut bekerja dengan cara mengubah peningkatan LDL pada proteoglikan dinding arteri. Masuknya LDL ke dalam dinding arteri dipacu oleh adanya hipertensi. Infiltrasi lipid menarik monosit berpindah dari lumen ke daerah di bawah endotelium dan pada daerah ini monosit mengambil LDL teroksidasi. Monosit berubah menjadi makrofag yang dimuati lipid yang dikenal sebagai sel-sel busa (*foam cells*). Lipid yang ditimbun di dalam sel busa terutama adalah ester kolesterol. bercak lemak terutama tersusun oleh sel-sel busa yang terkumpul di bawah lapisan sel-sel endotel (Linder, M. C., 1992).

Tahap kedua dari proses aterosklerosis adalah pembentukan plak berserat (*fibrous plaque*). Berhubung makrofag yang telah dimuati lemak di dalam bercak lemak menekan lapisan sel-sel endotel maka lapisan tersebut terkoyak dan mendorong sel-sel otot polos sehingga bersentuhan dengan darah perifer. Platelet secara cepat menempel pada sel otot polos tersebut dan bergerombol serta melepaskan PDGF (*platelet derived growth factor*) yang akan merangsang proliferasi sel-sel otot polos dan fibroblast yang membentuk jaringan ikat fibrous termasuk serat-serat kolagen dan fibril retikulum di dalam substansi dasar plaque. Suatu plak berserat tersusun dari inti nekrotik yang mengandung lemak intrasel di dalam makrofag dan sejumlah lemak ekstrasel, dengan jaringan fibrous di bagian atasnya. Plak berserat dapat tetap dalam keadaan stabil selama beberapa tahun. Derajat keparahan suatu plaque bergantung pada jumlah lemak yang tertimbun di dalam inti nekrotik plaque tersebut serta jumlah proliferasi otot polos yang terlibat dan besarnya pembentukan jaringan ikat (Linder, M. C., 1992).

Tahap akhir dari aterosklerosis adalah pembentukan lesi kompleks (*complex raised plaque*) yang tersusun tidak hanya dari plak berserat saja tetapi juga memiliki daerah-daerah pendarahan, kalsifikasi, ulserasi dan trombosis. Pendarahan sering terjadi bila plak berserat tersebut sangat mendesak susunan dinding pembuluh darah yang menyebabkan robeknya arteriol kecil yang memberi nutrisi dinding pembuluh darah. Darah yang terkumpul di dalam dinding arteri tersebut seringkali mengalami kalsifikasi. Bila sebagian dari plak berserat retak dapat terbentuk fisura (ulkus) dan bila daerah ini cukup besar maka

dapat terjadi agregasi trombosit, suatu permukaan trombogenik yang cukup luas yang dapat memacu terbentuknya trombus atau gumpalan darah (*clot*). Trombus tersebut sering merupakan peristiwa akhir yang mendorong terjadinya penyumbatan arteri.

2.6. Vitamin E

2.6.1. Struktur vitamin E

Vitamin E merupakan salah satu vitamin yang dapat larut dalam lemak. Terdapat beberapa senyawa derivat tokol dan tokotrienol yang mempunyai derajat aktivitas vitamin yang mirip. Senyawa yang paling aktif adalah α -tokoferol (Machlin, L. J. 1991). Istilah vitamin E dapat dipakai sebagai istilah generik untuk semua derivat tokol dan tokotrienol yang secara kuantitatif menunjukkan aktivitas biologis α -tokoferol. Jadi istilah "tokoferol" sebenarnya bukan merupakan sinonim dari "vitamin E". Satu-satunya stereoisomer α -tokoferol yang terdapat secara alamiah, yang mula-mula dikenal sebagai d- α -tokoferol (α -tokoferol), disebut sebagai RRR- α -tokoferol. α -Tokoferol yang murni mula-mula dikenal sebagai dl- α -tokoferol dan disebut sebagai all-rac- α -tokoferol. Ester tokoferol harus disebut sebagai ester tokoferil (misalnya α -tokoferil asetat). Hampir 90 % vitamin E dalam jaringan hewan merupakan d- α -tokoferol (RRR- α -tokoferol).

2.6.2. Sumber Vitamin E dan Dosis yang dianjurkan

Kedelapan isomer tokol dan trienol (Tabel 2.1) terdapat secara meluas di alam; α -tokoferol yang mempunyai aktivitas biologik tertinggi, dalam sumber makanan hewani memegang hampir semua aktivitas vitamin E. Pada minyak kedelai α -tokoferol hanya terdapat sebesar 8-10 % dari tokoferol total tetapi tetap memberikan bagian terbesar dari aktivitas biologis (Machlin, L. J., 1991).

Tabel 2.1 Komposisi Delapan Anggota Tokoferol dan Tokotrienol

POSISI GUGUS METIL	NAMA TRIVIAL (SINGKATAN)	
	Tokoferol	Tokotrienol
5, 7, 8	α -tokoferol (α -T)	α -tokotrienol (α -T-3)
5, 8	β -tokoferol (β -T)	β -tokotrienol (β -T-3)
7, 8	T-tokoferol (T-T)	T-tokotrienol (T-T-3)
8	γ -tokoferol (γ -T)	γ -tokotrienol (γ -T-3)

Masukan vitamin E yang dianjurkan (Tabel 2.2) diberikan sebagai mg (miligram) d- α -tokoferol equivalent (TE). Istilah yang digunakan untuk menyatakan aktivitas vitamin E adalah International Unit (IU), 1 IU= 1 mg dl- α tokoferol asetat atau all-rac- α -tokoferol, bentuk sintesis yang diperdagangkan, atau 0,9 mg d- α -tokoferol bentuk alamiahnya.

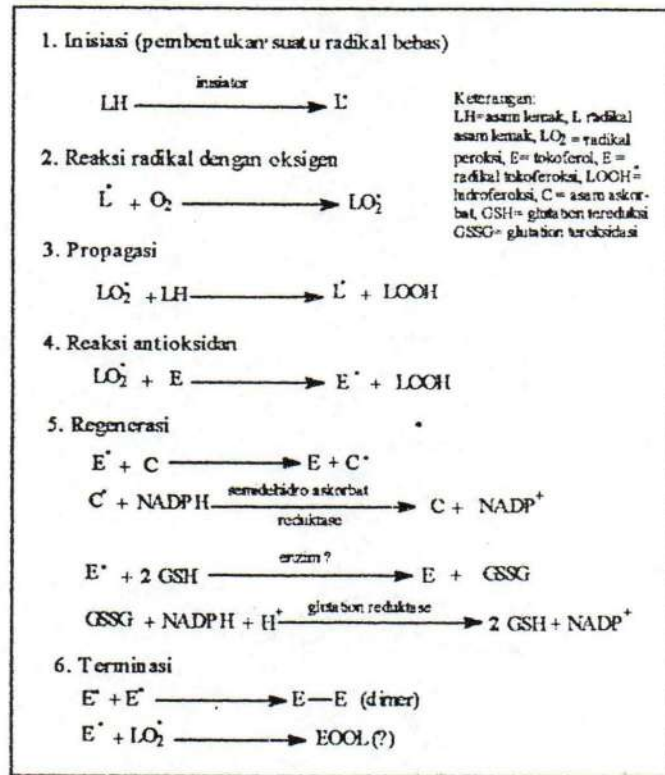
Tabel 2.2 Intake Vitamin E perhari yang dianjurkan WHO

Katagori	Umur (tahun)	Berat		Vitamin E	
		Kg	lb	mg α -TE/h	IU/h
Bayi	0, 0-0, 5	6	13	3	4,5
	0, 5-1, 0	9	20	4	6,0
Anak-anak	1-3	13	29	6	9,0
	4-6	20	44	7	10,5
	7-10	28	62	7	10,6
Pria	11-14	45	99	10	15,0
	15-18	66	145	10	15,0
	18 [†]	70	154	10	15,0
Wanita	11-14	45	101	8	12,0
	15 [†]	55	120	8	12,0
Hamil	-	-	-	10	15,0
Menyusui	-	-	-	12	18,0

2.6.3. Vitamin E Sebagai Antioksidan Biologis

Banyak penelitian yang menyatakan bahwa α -tokoferol dapat berfungsi sebagai antioksidan *in vivo*. Teori yang diterima secara umum untuk inisiasi dan propagasi

oksidasi yang perantaranya radikal bebas dan penghambatannya oleh antioksidan diuraikan dalam 5 tahap (tahap 1-4) (Skhema 2.1).

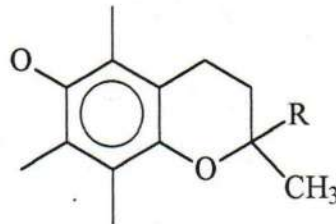


Skema 2.1 Reaksi-Reaksi Autooksidasi dan Antioksidan yang melibatkan Vitamin E (Machlin, L. J., 1991)

Poly unsaturated Fatty Acid (PUFA) sangat peka terhadap autooksidasi. Makin banyak ikatan rangkapnya makin besar kepekaannya terhadap oksidasi. Molenaar, dkk. Mengemukakan bahwa cincin kroman dari tokoferol terletak pada permukaan membran yang polar dan bahwa cincin samping fitil berinteraksi dengan PUFA dari fosfolipid dalam bagian membran yang non-polar.

Meskipun peran vitamin E sebagai antioksidan belum diterima oleh semua peneliti, banyak faktor efek biokimia dan patologis akibat kekurangan vitamin E yang dapat dijelaskan dengan perubahan struktur membran karena serangan radikal bebas. Misalnya hampir semua enzim yang dipengaruhi oleh status vitamin E adalah enzim yang terikat membran atau yang berkaitan dengan sistem glutathion peroksidase.

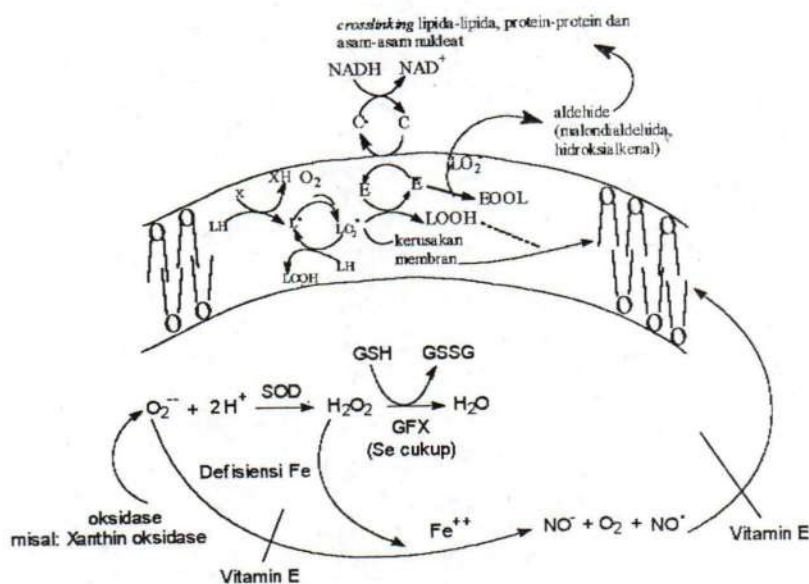
Beberapa produk pemecahan lipid misalnya aldehid-aldehid terdapat dalam jaringan hewan yang kekurangan vitamin E. Contoh lain adalah terjadinya penurunan kadar tokoferol kuinon dalam cairan alveoli perokok berat. Vitamin E (α -TH) bereaksi dengan radikal peroksil dengan pemindahan atom hidrogen untuk membentuk hidroperoksida dan α -Toc (radikal α -tokoferil) (Gambar 2.12).



Gambar 2.12 Radikal α -tokoferil

Vitamin E sebagai antioksidan *in vivo* mempunyai kelebihan dibanding antioksidan sintetis. Vitamin E unik dalam hal letaknya dalam membran dan ketahanannya berada pada sebagian besar jaringan. Agar efektif, sebagian antioksidan sintetis harus diberikan secara terus menerus dalam jumlah yang relatif lebih besar dibanding vitamin E.

Aspek lain yang menyebabkan keunikan tokoferol sebagai antioksidan *in vivo* adalah kemampuannya untuk dibentuk kembali dari radikal tokoferoksi oleh vitamin C dan glutathion yang tereduksi (Skema 2.1 dan Gambar 2.12). Radikal askorbat dapat direduksi kembali secara enzimatik menjadi askorbat oleh suatu sistem yang tergantung NADH. Jadi ada suatu mekanisme untuk membentuk kembali tokoferol secara terus menerus. Askorbat bisa efektif meskipun terdapat di sitosol karena tokoferol terdapat pada permukaan membran sehingga askorbat bekerja pada permukaan antar fase cair dan fase lipid (Gambar 2.13). Glutathion tereduksi juga mereduksi radikal tokoferol, mungkin dengan proses yang dibantu secara enzimatik.



Gambar 2.13 Hubungan Timbal-balik Antara Vitamin E, Selenium, Vitamin C dan Glutathion dalam melindungi Membran (Machlin, 1991, p.117).

Sudah dijelaskan di atas bahwa vitamin E sebagai antioksidan pencegah yang bersifat lipofilik sehingga dapat berperan pada membran sel untuk mencegah peroksidasilipid. Radikal tokoferil mengalami reaksi-reaksi intramolekuler menghasilkan senyawa non radikal.

2.7. Pengaruh Minyak Ikan Terhadap Profil Lipid Serum

Ada beberapa laporan yang kontraporsial mengenai efek minyak ikan pada kolesterol, VLDL, LDL dan HDL serta pada fibrinogen plasma. Beberapa perbedaan ini mungkin disebabkan oleh perbedaan kualitas dan dosis dari minyak ikan yang digunakan (Haglund Olle., *et. al.*, 1991).

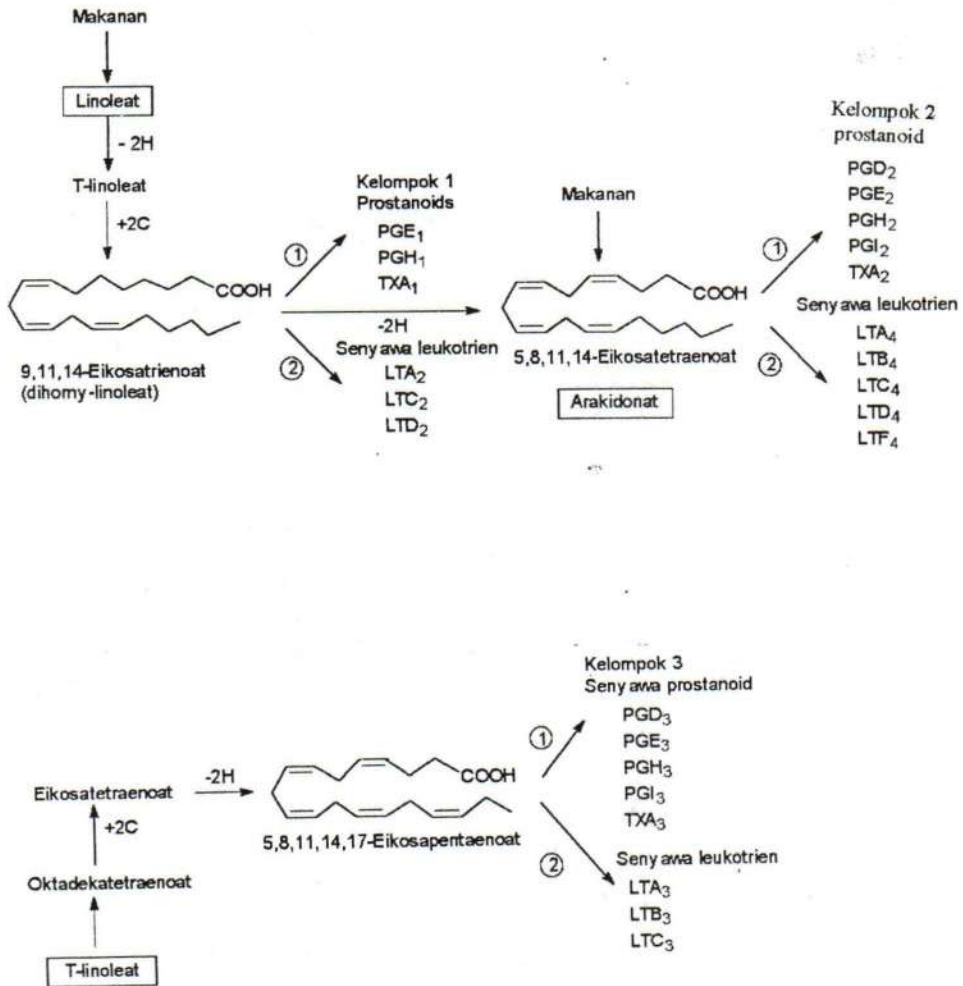
Efek minyak ikan yang lain juga penting di dalam mencegah terjadinya aterosklerosis dan penyakit jantung koroner yaitu dalam kaitannya dengan pembentukan seri-3 prostaglandin dan tromboksan-3 yang menghambat pelepasan asam arakidonat

dari fosfolipid, dan pembentukan prostaglandin seri-2 serta tromboksan seri-2 (Gambar 2.13) (Chen Isabel, *et. al.*, 1987). Ada banyak penemuan tentang pengaruh diit asam lemak tak jenuh ω -3 dari ikan dan makanan laut di dalam memperbaiki sejumlah penyakit, seperti aterosklerosis, penyakit jantung dan trombosis. (Brought, K. S., *et. al.*, 1991). Beberapa efek yang menguntungkan dari asam lemak tak jenuh jamak ω -3 mungkin diakibatkan oleh perubahan-perubahan yang dipacu oleh enzim-enzim yang terikat pada membran atau oleh besar dan jenis eikosanoat yang ditimbulkan oleh asam lemak jenuh jamak ω -6, terutama asam arakidonat (20:4 ω -6), dan bisa juga oleh asam eikosapentaenoat (20:5 ω -3) (Brought, K. S., *et. al.*, 1991).

Diit minyak ikan dapat memodifikasi asam-asam lemak melalui peningkatan asam eikosapentaenoat (20:5 ω -3) dan asam dokosaheksaenoat (22:6 ω -3) dengan mereduksi (18:2 ω -6) dan (20:4 ω -3) dari fosfolipid-fosfolipid jaringan baik pada manusia maupun binatang (Brought, K. S., *et. al.*, 1991). Bukti-bukti yang terkumpul memperlihatkan bahwa perubahan rasio diit asam lemak tak jenuh jamak ω -3 dapat menurunkan prostaglandin E_2 (PGE_2), 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ serta leukotriena E_4 (LTE_4) (Gambar 2.14) (Brought, K. S., *et. al.*, 1991).

Dari uraian hasil penelitian yang telah tercantum di atas maka dapat dilihat mekanisme kerjanya meskipun sebagian masih merupakan perkiraan saja, antara lain: asam eikosapentaenoat (20:5 ω -3) dan asam dokosaheksaenoat (22:6 ω -3) merupakan asam lemak tak jenuh jamak dalam jumlah banyak yang mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar kolesterol dengan cara yang belum diketahui secara pasti tetapi diduga kaitannya dengan penurunan kecepatan pembentukan VLDL dan apolipoprotein di hati (Haglund, *et. al.*, 1991). Efek yang paling menyolok setelah pemberian diit minyak ikan menurut penelitian Haug Anna dan Arnet T (1987) adalah penurunan jumlah VLDL plasma, hal ini diduga dikarenakan meningkatnya degradasi VLDL oleh enzim lipoprotein lipase, namun demikian ada pendapat lain yang menyatakan bahwa aktivitas lipoprotein lipase mungkin tidak terlalu penting dalam mengatur kadar VLDL plasma,

akan tetapi penurunan ini lebih dikarenakan oleh menurunnya produksi VLDL di dalam hati setelah pemberian diit minyak ikan (Haug Anna, *et. al.*, 1987).

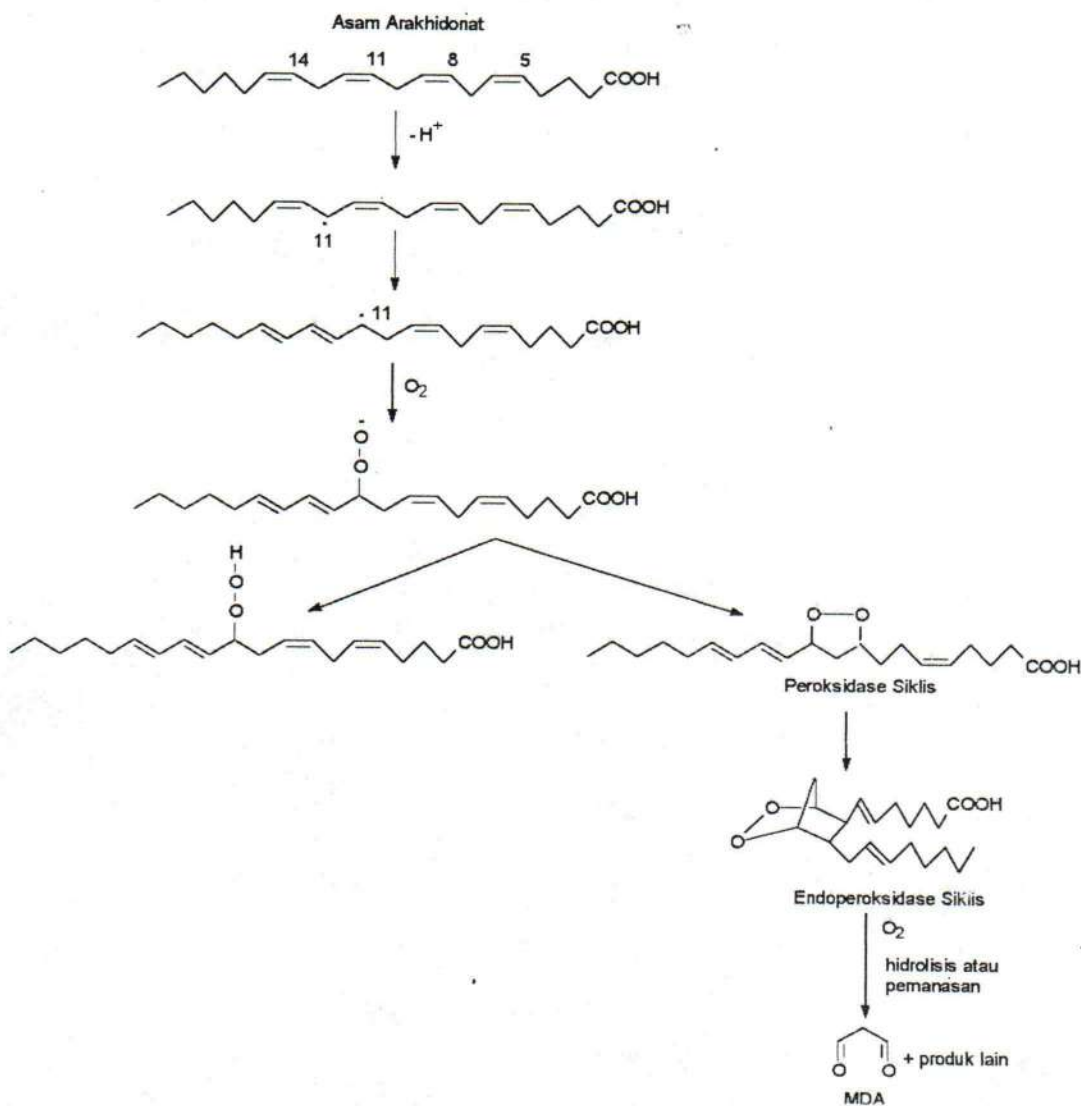


Gambar 2.14 Tiga Golongan Eikosanoid dari jalur Siklooksigenase (Martin, D. W. Jr., 1990, p.269)

2.8. Pengaruh Minyak Ikan Terhadap Malondialdehid

Hasil-hasil penelitian baik pada manusia maupun hewan percobaan menunjukkan bahwa mengkonsumsi asam lemak tak jenuh jamak (minyak ikan) menyebabkan penumpukan rantai asam lemak tak jenuh jamak dalam tubuh yang dapat menyebabkan

peningkatan produk toksik dari sintesis asam lemak tak jenuh jamak (peroksidasi lipid) yaitu malondialdehid (MDA) (Gambar 2.15), yang dapat menyebabkan kerusakan membran sel. Tetapi penelitian Jin-Ho Choi dan Dae-Soek Byun (1989) menyatakan bahwa asam lemak tak jenuh jamak ω -3 justru dapat menghambat peroksidasi lipid walaupun mekanismenya belum jelas. Salah satu kemungkinan penyebabnya adalah; asam lemak tak jenuh jamak ini dapat memacu pembentukan prostaglandin dan tromboksan yang mencegah terjadinya peroksidasi lipid.



Gambar 2.15 Peroksidasi Lipid yang terjadi pada Asam Arakidonat (Halliwell dan Gutteridge, 1991).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

Tingginya konsumsi makanan yang kaya akan asam lemak jenuh, tinggi protein dan karbohidrat tetapi rendah serat mempunyai pengaruh paling kritis untuk terjadinya aterosklerosis. Aterosklerosis dapat dicegah dengan pemberian asam lemak tidak jenuh jamak (*Poly Unsaturated Fatty Acids*, PUFA) ω -6 dan ω -3 yang dapat menurunkan kadar trigliserida, kolesterol-total, kolesterol-LDL, serta meningkatkan kadar kolesterol-HDL.

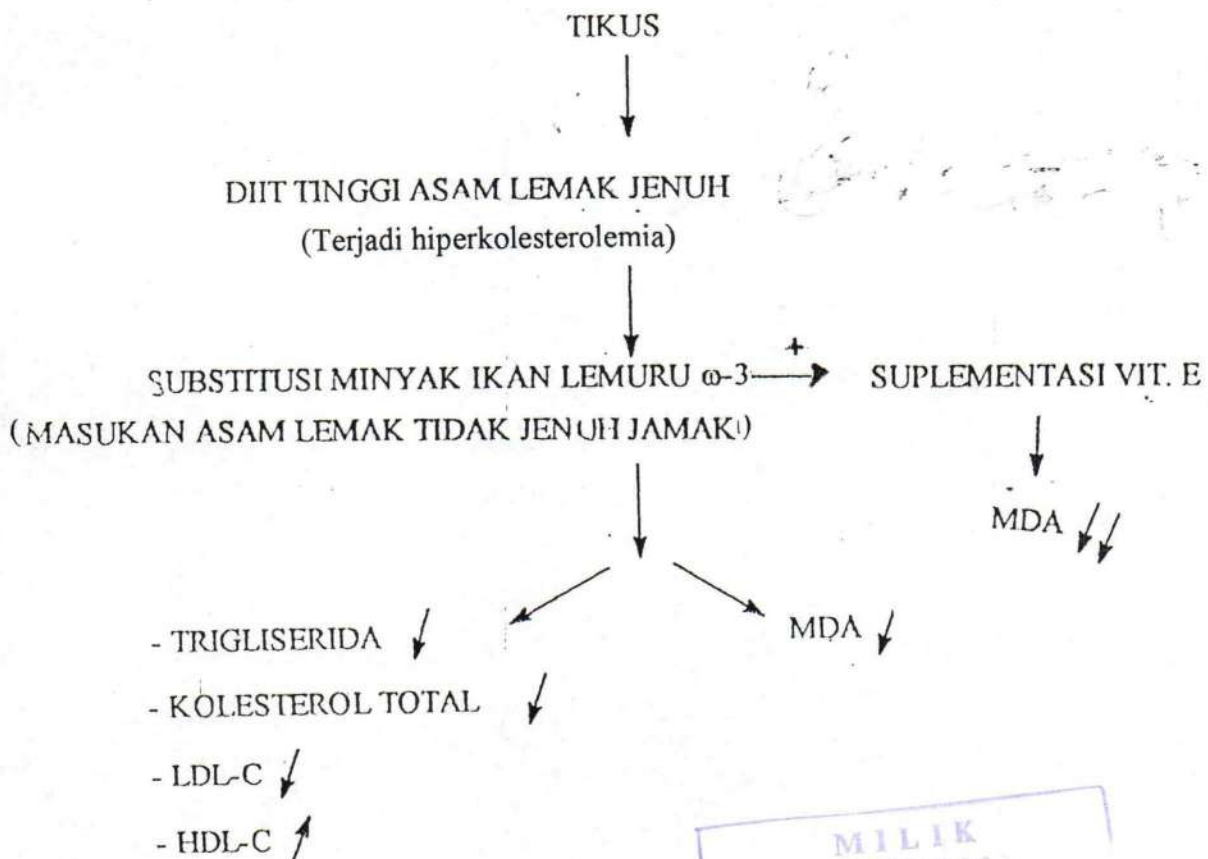
Namun konsumsi asam lemak tidak jenuh jamak secara potensial dapat mengakibatkan peningkatan peroksidasi lipid yang ditandai dengan peningkatan malondialdehid. Peroksidasi lipid ini akan merusak integritas membran sel yang selanjutnya akan berakibat terganggunya fungsi sel. Peroksidasi lipid juga menghasilkan senyawa-senyawa toksik antara lain: malondialdehid. Peroksidasi lipid dapat dicegah dengan pemberian vitamin E, suatu oksidan lipofilik yang dapat berfungsi pada membran sel dan dapat memutus rantai reaksi peroksidasi lipid.

Minyak ikan lemuru mengandung asam lemak tidak jenuh jamak 53 %. Sebanyak 40 % dari asam lemak adalah berupa tidak jenuh jamak jenis ω -3, sekitar 28-32 % adalah asam eikosapentaenoat (EPA) dan 5-6 % adalah asam dokosaheksaenoat (DHA) dan 11 % adalah asam lemak lainnya. Peranan asam lemak tak jenuh jamak ω -3, EPA dan DHA dalam kesehatan telah banyak dipelajari. Peranannya adalah sebagai zat bakal dari tromboksan A_3 dan prostaglandin I_3 , zat yang sangat efektif untuk anti agregasi keping-keping darah yang dapat mengurangi risiko terkena penyakit jantung koroner yang disebabkan oleh aterosklerosis (Devlin, T., 1986).

Penelitian Jin-Ho Choi dan Dae-Soek Byun 1989 memberikan hasil yang berbeda dengan hasil penelitian Devlin tersebut di atas. Hasil yang diperoleh adalah: asam lemak tak jenuh jamak $\omega-3$ menurunkan kadar malondialdehid, sehingga menunjukkan aktivitas sinergistik dengan vitamin E, bagaimana mekanismenya belum jelas. Salah satu kemungkinan penyebabnya adalah asam lemak jenis ini memacu pembentukan prostaglandin dan tromboksan sehingga mencegah terjadinya peroksidasi lipid (Jin-Ho dan Dae-Soek Byun 1989).

Kerangka konseptual dapat dilihat di bawah ini:

KERANGKA KONSEPTUAL



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

3.2. Hipotesis

- 3.2.1 Substitusi berbagai kadar minyak ikan lemuru sebagai pengganti asam lemak jenuh pada pakan tikus dapat menurunkan kadar trigliserida, kolesterol-total, kolesterol-LDL, disertai dengan peningkatan kolesterol-HDL, dalam darah tikus.
- 3.2.2 Substitusi berbagai kadar minyak ikan lemuru akan menurunkan malondialdehid dalam darah tikus
- 3.2.3 Suplementasi berbagai kadar vitamin E pada pakan tikus tanpa maupun dengan substitusi minyak ikan lemuru akan menurunkan kadar malondialdehid dalam darah tikus.

BAB 4

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

BAB 4

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

4.1. Bahan Penelitian

4.1.1. Hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 55 ekor tikus jantan strain Wistar, berumur 1 bulan yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Universitas Airlangga.

4.1.2. Bahan Percobaan

- a. Minyak ikan lemuru diperoleh dari Departemen Perikanan Jalan Ahmad Yani Wonocolo Surabaya.
- b. Vitamin E dengan merk dagang Roche dari PT. Phapros Semarang.
- c. Dietil eter (zat pembius).
- d. Reagen CHOD-PAP kolesterol-HDL.
- e. Reagen CHOD-PAP kolesterol-total.
- f. Reagen PVS kolesterol-LDL.
- g. Reagen GPO-PAP triasilgliserol.
- h. Reagen MDA: disodium EDTA; 1,1,3,3,-tetra-etoksi-propana; HCl (pekat); asam tributirat; akua demineralisasi.

4.1.3. Makanan hewan percobaan

- a. Diit standar formula ITB (lihat Tabel 4.1 pada Lampiran 7).
- b. Diit standar formula UNAIR yang tinggi lemak (Tabel 4.2 pada Lamipran 7).
- c. Diit perlakuan (Tabel 4.3 pada lampiran 7).

4.1.4. Sampel darah

→ Pada akhir masa perlakuan, tikus-tikus yang akan diambil darahnya dipisahkan pada tempat tersendiri, tanpa diberi makan selama 12 jam. Minuman tetap diberikan seperti biasa, selanjutnya masing-masing tikus ditimbang beratnya. Setelah dilakukan pembiusan (*anestesi*) dengan inhalasi dietil eter sampai tercapai irama pernafasan yang teratur. Darah diambil dengan melakukan fungsi pada jantung sampai kira-kira 8 ml. Darah yang dikumpulkan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian dupusingkan pada 1000 rpm selama 20 menit. Serum yang terpisah diambil dan dimasukkan ke dalam botol lalu ditutup. Tiap-tiap sampel kemudian disimpan pada suhu 4 °C, pemeriksaan laboratorium dilakukan paling lambat 24 jam kemudian.

4.2. Metode Penelitian

4.2.1. Rancangan penelitian

Metode penelitian yang dipakai adalah: eksperimental sesungguhnya dengan rancangan *factorial design* (3x3) untuk penentuan kadar malondialdehid (Tabel 4.4). Sedangkan untuk penentuan kadar profil lipid serum digunakan rancangan yang serupa tetapi hanya memperhatikan faktor kadar minyak ikan lemuru (tanpa vitamin E).

Alokasi binatang dari macam perlakuan ke dalam masing-masing kelompok perlakuan dilakukan secara acak. Masing-masing perlakuan dilakukan 5 kali.

Kelompok I (A ₁)	Tanpa substitusi minyak ikan lemuru dan vitamin E.
Kelompok II (A ₂)	Tanpa substitusi minyak ikan lemuru dan vitamin E 6 mg/1 kg. pakan
Kelompok III (A ₃)	Tanpa substitusi minyak ikan lemuru dan vitamin E 8 mg/1 pakan.
Kelompok IV (B ₁)	Dengan substitusi minyak ikan lemuru 10 % berat/berat pakan dan tanpa vitamin E.
Kelompok V (B ₂)	Substitusi minyak ikan lemuru 10 % berat/berat pakan dan vitamin E 6 mg/1 kg pakan.
Kelompok VI (B ₃)	Substitusi minyak ikan lemuru 10 % berat/berat pakan Dan vitamin E 8 mg/1 kg pakan.
Kelompok VII (C ₁)	Substitusi minyak ikan lemuru kadar 15 % berat/berat pakan dan tanpa vitamin E.
Kelompok VIII (C ₂)	Substitusi minyak ikan lemuru 15 % berat/berat pakan dan vitamin E 6 mg/1 kg.
Kelompok IX (C ₃)	Substitusi minyak ikan lemuru kadar 15 % berat/berat pakan dan vitamin E 8 mg/1 kg pakan.

4.2.2. Variabel penelitian

A. Variasi bebas

Dalam penelitian ini digunakan dua kombinasi, dua variabel bebas yaitu variabel kadar minyak ikan lemuru dan vitamin E

B. Variabel kendali : umur tikus, keseragaman makanan standar dan air minum (PDAM) dan jenis kelamin.

- C. Variabel tergantung: kadar trigliserida, kolesterol-total, kolesterol-LDL, kolesterol-HDL dan malondialdehid.

4.2.3. Penentuan Jumlah Sampel Minimal Penelitian

Sampel penelitian ini adalah tikus jantan Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Universitas Airlangga, usia ± 1 bulan dan berat badannya ditimbang. Jumlah sampel (n) minimal yang dipakai sesuai dengan Higgins dan Kinbault dalam Rahmi (1993):

$$n = \frac{1}{1-f} \times \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 Sc^2}{(Xc - Xt)}$$

$\alpha = 5\% \quad \beta = 10\%$

f = Proporsi yang gagal

Xc = Nilai rata-rata kelompok kontrol

Xt = Nilai rata-rata kelompok perlakuan

Sc = Standar deviasi kelompok kontrol

Dari hasil penelitian pendahuluan $Z\alpha = 1,59$; $Z\beta = 1,28$; $f = 0,5$; $Xc = 92$; $Xt = 120,21$
 $Sc = 8,31126$. Dengan menggunakan persamaan di atas diperoleh $n = 5,034$

4.2.4. Analisis Statistik

Data yang diperoleh dari penelitian ini akan diolah dengan cara statistik ANOVA faktorial (3x1) dan analisa ANOVA faktorial (3x3) dan bila ditemukan perbedaan yang bermakna, analisis dilanjutkan dengan uji BNT (beda nyata terkecil) untuk mengetahui:

1. Efek substitusi minyak ikan lemuru terhadap kadar kolesterol-total, kolesterol-LDL, kolesterol-HDL, trigliserida.
2. Substitusi minyak ikan lemuru terhadap malondialdehid
3. Suplementasi vitamin E terhadap kadar malondialdehid tanpa maupun dengan substitusi minyak ikan lemuru.

4.2.5. Prosedur Percobaan

Prosedur penelitian dapat dilihat pada Bagan Prosedur Penelitian (Skema 4.1.) Sebanyak 55 ekor tikus galur Wistar berumur 1 bulan. Diukur berat badannya dan diberi pakan baku formula ITB selama 2 bulan, kemudian diukur lagi berat badannya. Untuk mendapatkan gambaran kadar profil lipid serum dan kadar malondialdehid (MDA) setelah konsumsi pakan formula ITB. Serum sejumlah 5 ekor tikus yang telah dipuasakan selama 12 jam dianalisis menggunakan metode yang tercantum di bawah ini, tersisa (50 ekor tikus selanjutnya diberikan pakan formula Unair selama 6 minggu. Kemudian untuk mengetahui terjadinya hiperkolesterolemia dilakukan analisis yang sama seperti di atas terhadap, 5 ekor tikus. Sisa tikus (45 ekor) secara acak dibagi menjadi 9 kelompok perlakuan (masing-masing 5 ekor tikus).

4.2.6. Perlakuan Laboratorium

- a. Pemeriksaan kadar kolesterol-total; dilakukan dengan metode CHOD-PAP (berupa kit) dari Boehringer Mannheim GmbH Diagnostic yang berisi:

Tris buffer : 100 mmol/L

Magnesium aspartat : 50 mmol/L

4-aminofenazon	:	1 mmol/L
Natrium kolat	:	10 mmol/L
Fenol	:	6 mmol/L
3,4-diklorofenol hidroksi polietoksalkana	:	0,3 %
Kolesterol esterase	:	>0,4 U/mL
Kolesterol oksidase	:	>0,25 U/mL
Peroksidase	:	>0,2 U/mL

- b. Penentuan kadar kolesterol-HDL; ditentukan dengan metode pengendapan selektif yang menggunakan reagen:

Asam wolframat	:	0,55 mmol/L
Magnesium klorida	:	0,25 mmol/L

- c. Pemeriksaan kadar kolesterol-LDL; reagen yang digunakan

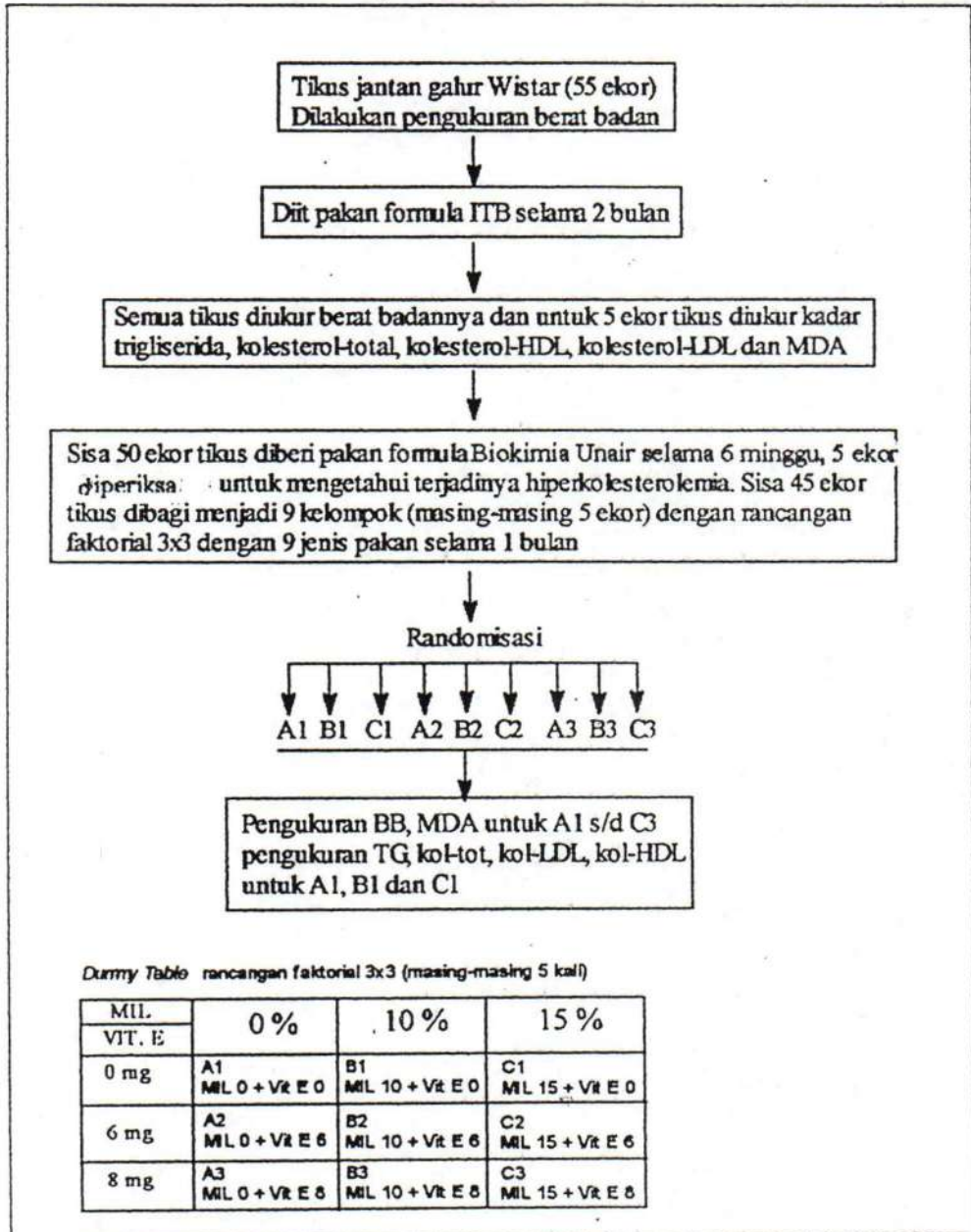
Polivinil sulfat
Aselerator
CHOD-PAP

- d. Pemeriksaan kadar trigliserida dengan metode GPO-PAP berupa kit yang berisi:

Tris buffer	:	0,15 mmol/L
Garam dinatrium EDTA	:	10,00 mmol/L
4-klorofenol	:	2,50 mmol/L
Natrium kolat	:	1,10 %
Kalium heksasianoferrat	:	6 mmol/L
Hidroksi polietoksi alkana	:	0,125 %
ATP	:	0,5 mmol/L
4-aminofenazon	:	0,35 mmol/L
Lipase	:	3 μ L/L
Gliserol fosfat oksidase	:	2,5 μ L/L
Gliserol kinase	:	0,2 μ L/L
Peroksidase	:	0,15 μ L/L

- e. Penentuan kadar malodialdehid dalam darah tikus dilakukan dengan metode Espinosa Mansila (1993). Pengukurannya berdasarkan jumlah malondialdehid yang bereaksi dengan reagen asam tribarbiturat (cara kerja pada Lampiran 12).

Bagan penelitian prosedur penelitian dapat dilihat pada Skema 4.1 dibawah ini:



Skema 4.1 Bagan Prosedur Penelitian

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN

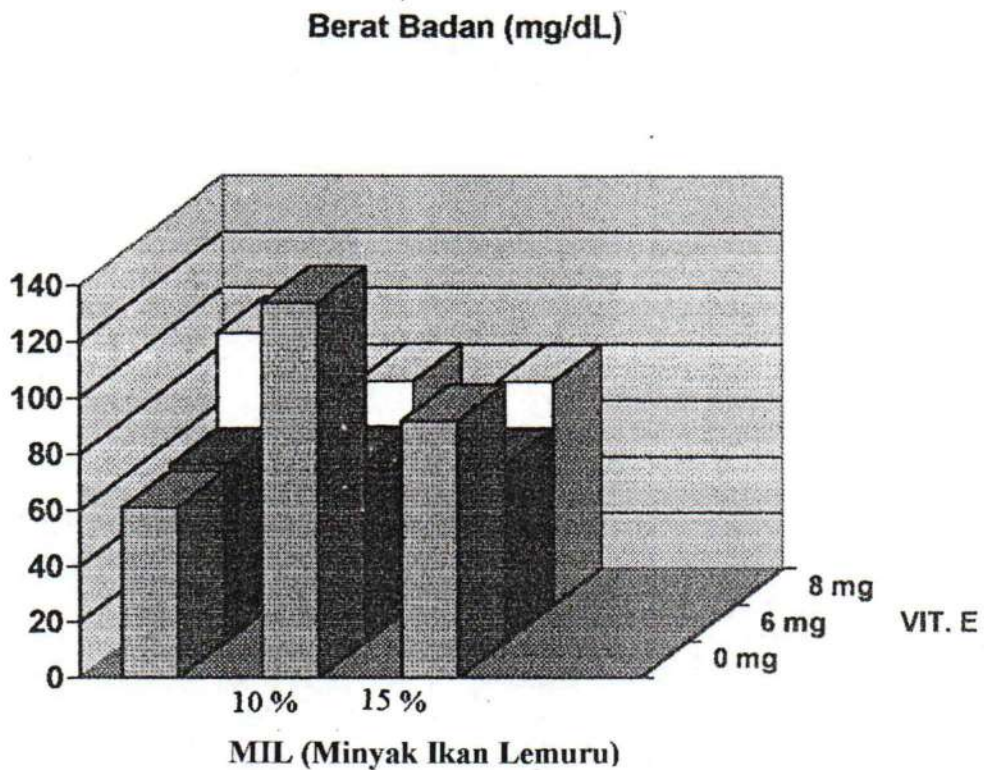
5.1. Berat Badan

Penimbangan berat badan hewan dilakukan tiga kali yaitu: pada awal percobaan (umur tikus 1 bulan), saat terjadi hiperkolesterolemia (umur tikus 3,5 bulan), dan akhir percobaan (umur tikus 4,5 bulan). Ringkasan hasil penambahan berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 5.1 dibawah ini .

Tabel 5.1 Pertambahan Berat Badan Tikus Percobaan (gram) Pada Pemberian MIL dan Vitamin E

MINYAK IKAN LEMURU / VITAMIN E	0 %	10 %	15 %
0 mg/kg	60	100	60
	65	150	95
	65	145	75
	55	165	100
	60	110	130
$\bar{X} \pm SD$	61.0 ± 4.183 Aa	134.0 ± 27.703 Bc	92.0 ± 26.29 Ce
6 mg/kg	60	55	65
	75	50	69
	60	70	69
	66	68	60
	55	80	54
$\bar{X} \pm SD$	63.2 ± 5.930 Da	64.6 ± 12.070 Dd	63.2 ± 6.420 De
8 mg/kg	85	50	85
	90	65	90
	100	86	75
	110	120	72
	100	80	77
$\bar{X} \pm SD$	97.0 ± 9.746 Eb	80.2 ± 26.270 Ed	79.8 ± 7.460 Fe

Keterangan: Nilai dengan huruf berbeda ke arah baris (huruf besar) dan ke arah kolom (huruf kecil) menunjukkan berbeda bermakna ($P < 0,05$). Secara diagram dapat digambarkan sebagai berikut (Gambar 5.1).



Gambar 5.1 Diagram Batang Penambahan Berat Badan dengan Pemberian MIL tanpa maupun dengan Vit. E

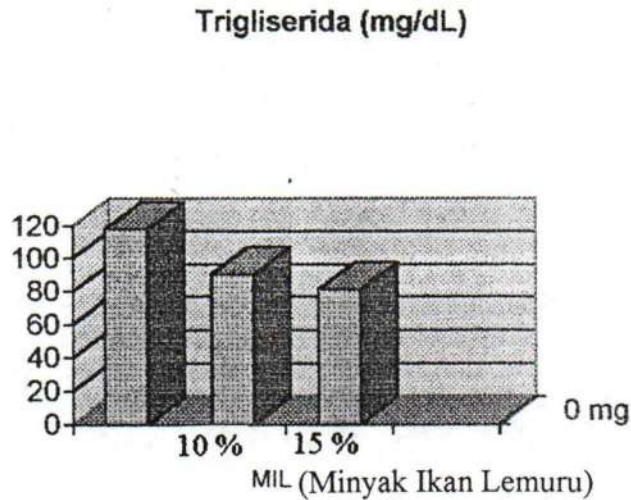
5.2. Kadar Trigliserida Serum.

Hasil pemeriksaan kadar trigliserida serum pada tiga kelompok tikus percobaan yaitu A1,B1,C1, menunjukkan hasil yang dapat dilihat pada Tabel 5.2 berikut:

Tabel 5.2 Hasil Pemeriksaan Kadar Trigliserida Serum (mg/dl) .

MINYAK IKAN LEMURU VITAMIN E	0 %	10 %	15 %
	0 mg	120 140 120 110 100	91 94 92 88 87
$\bar{X} \pm SD$	118 ± 14.800 a	90.4 ± 2.880 b	81.2 ± 8.350 b

Keterangan: Nilai dengan huruf berbeda menunjukkan perbedaan bermakna ($P < 0,05$).
Secara diagram dapat digambarkan sebagai berikut (Gambar 5.2).



Gambar 5.2 Diagram Batang Penurunan Kadar Trigliserida dengan pemberian MIL tanpa vit. E ..

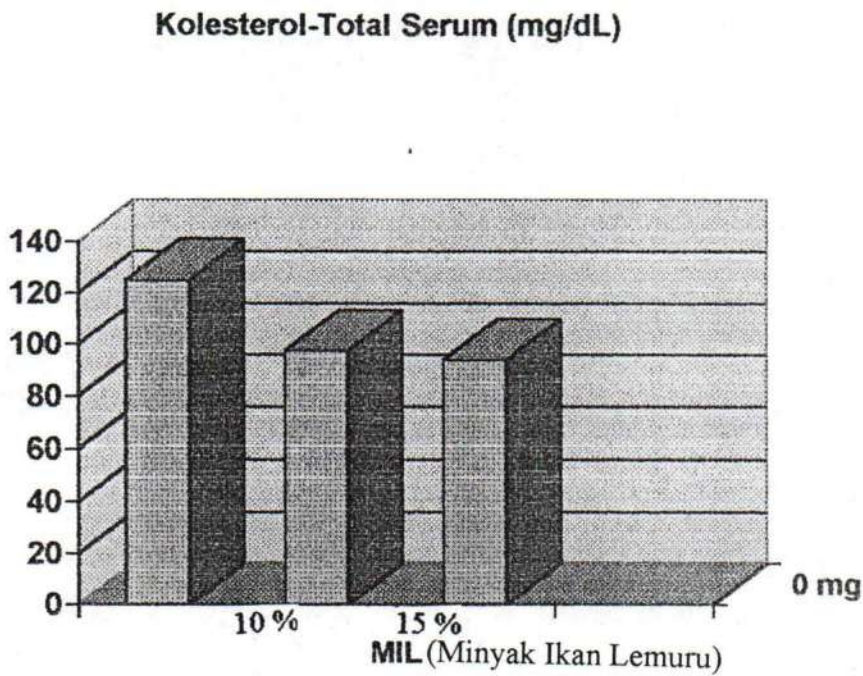
5.3. Kadar Kolesterol-Total Serum

Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total serum pada tiga kelompok hewan percobaan (A1, B1, C1) dapat dilihat pada tabel 5.3 sebagai berikut:

Tabel 5.3 Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol total Serum (mg/dL)

MINYAK IKAN LEMURU VITAMIN E	0 %	10 %	15 %
0 mg	128	98	94
	123	99	96
	120	95	94
	128	100	97
	126	95	98
$\bar{X} \pm SD$	125 ± 3.960 a	97.4 ± 2.380 b	95.8 ± 1.780 b

Keterangan :Nilai dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan bermakna ($P < 0,05$). Secara diagram dapat digambarkan sebagai berikut (Gambar 5.3).



Gambar 5.3 Diagram Batang Pemeriksaan Kolesterol Total Serum dengan pemberian MIL tanpa vitamin E.

5.4. Kadar Kolesterol-LDL Serum (mg/dL)

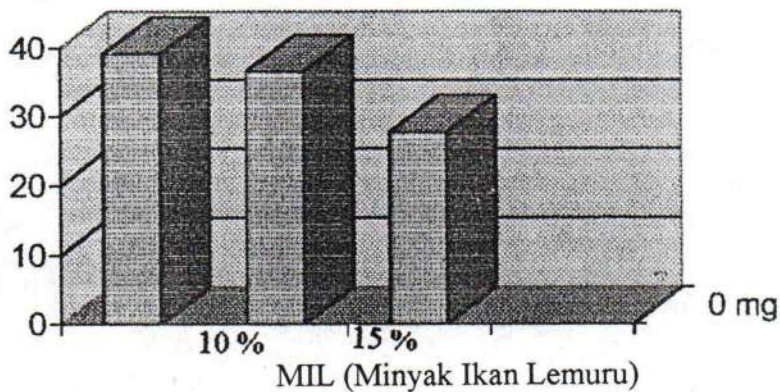
Hasil Pemeriksaan kadar koesterol-LDL serum pada tiga kelompok hewan percobaan (A1, B1, C1), dapat dilihat pada Tabel 5.4 di bawah ini.

Tabel 5.4 Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol-LDL Serum (mg/dL)

MINYAK IKAN LEMURU / VITAMIN E	0 %	10 %	15 %
	0 mg	40 39 40 39 38	36 35 37 37 38
$\bar{x} \pm SD$	39.2 ± 0.830 a	36.6 ± 1.140 a	27.8 ± 1.640 b

Keterangan: Nilai dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan bermakna ($P < 0,05$). Secara diagram dapat digambarkan sebagai berikut (Gambar:5.4).

Kolesterol-LDL Serum (mg/dL)



Gambar 5.4 Diagram Batang Penurunan Kadar Kolesterol-LDL Serum dengan pemberian MIL tanpa Vit. E.

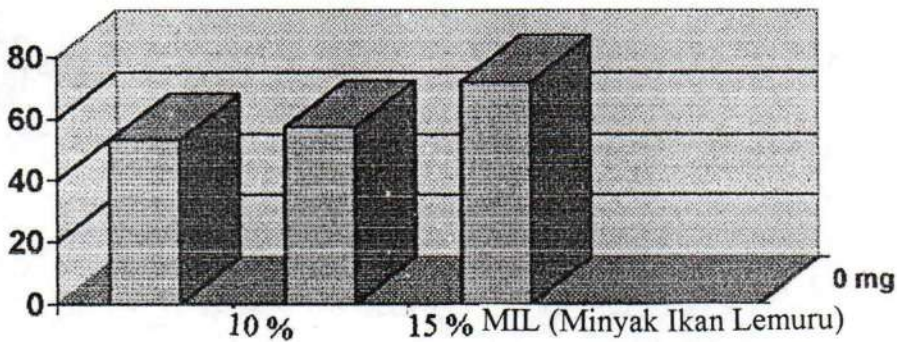
5.5. Kadar Kolesterol-HDL Serum (mg/dL)

Hasil dari pemeriksaan Kadar kolesterol-HDL serum pada tiga kelompok hewans percobaan (A1,B1,C1) dapat dilihat pada tabel 5.5 :

Tabel 5.5 Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol-HDL serum (mg/dL)

MINYAK IKAN LEMURU / VITAMINE	0%	10%	15%
0 mg	57	58	80
	55	54	70
	52	56	73
	50	54	67
	52	65	70
$\bar{x} \pm SD$	53.2 ± 2.770 a	57.4 ± 4.560 a	72.0 ± 4.940 c

Kolesterol-HDL Serum (mg/dL)



Gambar 5.5 Diagram Batang Kenaikan Kadar Kolesterol-HDL Serum dengan pemberian MIL tanpa vitamin E

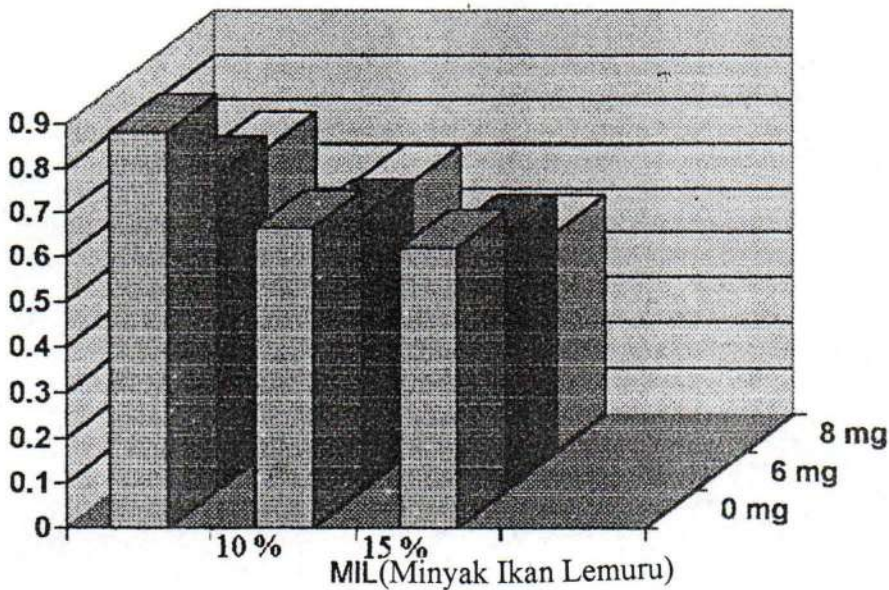
5.6. Kadar Malondialdehid Serum (MDA)

Hasil pemeriksaan kadar MDA serum pada sembilan kelompok hewan percobaan yaitu A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2, C3 dapat dilihat pada tabel 5.6 :

Tabel 5.6 Hasil Pemeriksaan Kadar Malonil Dialdehid Acid serum (μ m/L)

MINYAK IKAN LEMURU VITAMIN E	0 %	10 %	15 %
0 mg	0,778	0,630	0,600
	0,816	0,673	0,629
	0,778	0,671	0,622
	0,846	0,671	0,622
	0,891	0,680	0,625
$\bar{x} \pm SD$	0,882 \pm 0,050 Aa	0,665 \pm 0,004 Bc	0,620 \pm 0,011 Cc
6 mg	0,738	0,660	0,590
	0,736	0,600	0,600
	0,694	0,590	0,588
	0,674	0,589	0,573
	0,674	0,587	0,535
$\bar{x} \pm SD$	0,703 \pm 0,032 Db	0,605 \pm 0,033 Ed	0,570 \pm 0,031 Ef
8 mg	0,677	0,628	0,580
	0,672	0,590	0,495
	0,670	0,590	0,456
	0,678	0,585	0,456
	0,670	0,585	0,440
$\bar{x} \pm SD$	0,673 \pm 0,004 Fb	0,598 \pm 0,019 Gd	0,485 \pm 0,056 Hf

Keterangan: nilai dengan huruf yang berbeda kearah baris (huruf besar) dan kearah kolom (huruf kecil) menunjukkan berbeda ($P < 0,05$). Secara diagram dapat digambarkan sebagai berikut (Gambar 5.6).

Kadar Malondialdehid Serum ($\mu\text{m/L}$)

Gambar 5.6 Diagram Batang Penurunan Kadar MDA dengan pemberian MIL dan Vitamin E

Dari data dalam Tabel 5.6 tersebut diatas dilakukan uji analisis varian dengan rancangan faktorial 3×3 . Hasilnya menunjukkan sangat bermakna baik dengan pemberian substitusi minyak ikan lemuru dan vitamin E dan terjadi interaksi *two-way* ANOVA untuk grafik interaksi dapat lihat grafik MDA Lampiran 5. Uji LSD diperoleh = 0,02388108, sehingga pada kelompok C_3 menunjukkan penurunan MDA yang sangat baik

ANALISIS VARIANSI FAKTOR MIL x Vit E

Two-way ANOVA – Number of missing values: 0

Sumber Variabel	JK	DB	KT	FH	p-value
Vitamin E (A)	0,10520	2	0,05260	50,76	0,0000
Minyak Ikan Lemuru (B)	0,23356	2	0,11678	112,68	0,0000
Interaction (A*B)	0,01610	4	0,00402	3,88	0,0101
Residual (A*B*C)	0,03731	36	0,00104		
Total	0,39217	44			
FK	18,3119	1			



BAB 6

PEMBAHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini semua tikus percobaan terlebih dahulu dibuat dalam keadaan hiperkolesterolemia dengan memberi sejumlah minyak babi kedalam pakan. Hal ini dilakukan agar pengaruh minyak ikan lemuru terhadap profil lipid serum dapat terlihat dengan jelas. Pengukuran berat badan tikus dimaksudkan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pertumbuhan antara 9 kelompok tikus coba dengan diit minyak ikan lemuru dan vitamin E yang komposisinya berbeda-beda. Pengaruh terhadap pertumbuhan tersebut dapat berupa pengaruh langsung ataupun tidak langsung. Pengaruh pakan secara langsung dapat ditunjukkan melalui perbedaan konsumsi pakan dengan penambahan minyak ikan lemuru tanpa vitamin E, sedangkan pengaruh tidak langsung ditunjukkan melalui perbedaan kadar minyak ikan lemuru dan vitamin E sehingga dapat mempengaruhi selera makan tikus.

Data pertambahan berat badan tikus coba menunjukkan bahwa efek minyak ikan lemuru dan vitamin E pada semua kelompok percobaan dibandingkan dengan kelompok A₁ (pemberian pakan tanpa minyak ikan lemuru dan vitamin E) tidak menunjukkan pertambahan yang konsisten sehingga sulit untuk disimpulkan. Hal ini disebabkan oleh perbedaan selera makan dari tikus coba terhadap diit yang diberikan.

Efek minyak ikan lemuru terhadap kadar trigliserida dalam darah tikus dapat dilihat dengan membandingkan kelompok A₁ (pemberian pakan tanpa minyak ikan lemuru dan tanpa vitamin E), B₁ (pemberian pakan dengan minyak ikan lemuru 10 % dan tanpa vitamin E), C₁ (pemberian pakan dengan minyak ikan lemuru 15 % dan tanpa vitamin E). Data yang didapatkan menunjukkan bahwa substitusi minyak ikan lemuru pada pakan dapat menurunkan kadar trigliserida darah, untuk kelompok A₁ ($118 \pm 14,80$ mg/dL), kelompok B₁ ($90,4 \pm 2,88$ mg/dL), kelompok C₁ ($81,2 \pm 8,35$ mg/dL). Pada data tersebut terlihat terjadi penurunan kadar trigliserida darah yang bermakna antara kelompok A₁ dengan kelompok B₁ dan kelompok C₁. Sesuai dengan penelitian

Haglun *et. al.* (1991) yang mendapatkan orang Eskimo yang mengkonsumsi minyak ikan kadar trigliseridanya menurun dikarenakan minyak ikan merupakan PUFA seri ω -3 yang dapat menghambat sintesis trigliserida dihati akibat terjadinya penghambatan pembentukan enzim *acetyl-CoA karboksilase* suatu enzim pengendali rangkaian lipogenesis. Pada penelitian ditemukan perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok B₁ dan C₁. Hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan minyak ikan lemuru yang kurang besar (10 % dan 15 % = selisihnya hanya 5 %). Keadaan tersebut mungkin disebabkan oleh kekuatan penghambatan yang hampir sama antara kadar minyak ikan lemuru 10% dan kadar minyak ikan lemuru 15 % terhadap sintesa enzim *acetyl-CoA karboksilase*.

Efek minyak ikan lemuru terhadap kadar kolesterol total darah tikus dapat dilihat dengan membandingkan kelompok A₁, B₁ dan C₁. Data yang didapat menunjukkan bahwa substitusi minyak ikan lemuru dapat menurunkan kadar kolesterol-total. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelompok-kelompok tersebut terjadi perbedaan yang bermakna antara A₁ ($125 \pm 3,96$ mg/dL), dengan B₁ ($97,4 \pm 2,38$ mg/dL) dan C₁ ($95,8 \pm 1,78$ mg/dL). Hal ini ditunjang oleh pendapat Murray, K. (1993) yang menyatakan bahwa kolesterol endogen terbentuk dari konversi *asetil-KoA* menjadi asam mevalonat, kemudian menjadi squalen dan terbentuk kolesterol. Penghambatan umpan balik pembentukan kolesterol tersebut sebenarnya terjadi pada langkah pembentukan asam mevalonat. Asam mevalonat berasal dari dua atom karbon *asetil-KoA* yang terdapat pada pusat jalur metabolisme lemak, karbohidrat dan asam amino. Kontrol utama sintesis kolesterol tersebut terletak pada enzim *HMG-KoA reduktase* yang mengkatalisis reaksi pembentukan mevalonat. Pembentukan asam mevalonat yang dikatalisis oleh enzim *HMG-KoA reduktase* adalah reaksi enzimatik yang dipengaruhi oleh kontrol makanan (Bartly, 1989). Jika kolesterol yang berasal dari makanan turun, sintesis kolesterol dalam hati dan usus meningkat untuk memenuhi kebutuhan jaringan dan organ. Hambatan umpan balik mempengaruhi sintesis kolesterol dengan menghambat aktivitas *HMG-KoA reduktase* yang terbentuk dan dengan cepat meningkatkan inaktivasi enzim tersebut. Pada kelompok B₁ dan C₁ efek hambatan di hati kurang lebih kekuatannya hampir sama.

Efek minyak ikan lemuru terhadap kadar LDL-kolesterol dapat dilihat dengan membandingkan kelompok A₁, B₁ serta C₁. Data yang didapat menunjukkan bahwa substitusi minyak ikan lemuru menurunkan kadar LDL-kolesterol dapat dilihat dengan membandingkan kelompok A₁ ($39,2 \pm 0,38$ mg/dL) dan kelompok C₁ ($27,8 \pm 1,64$ mg/dL). Hal ini disebabkan oleh penurunan laju pembentukan VLDL di dalam hati (David Bill Heimer, 1988). Antara kelompok A₁ dan B₁ diperoleh perbedaan yang tidak bermakna bermakna kemungkinan dalam hal ini kekuatan menurunkan kadar LDL-kolesterol darah hampir sama.

Efek minyak ikan lemuru terhadap HDL-kolesterol dapat dilihat dengan membandingkan kelompok A₁, B₁ dan C₁. Pada penelitian ini diperoleh bahwa pengaruh substitusi minyak ikan lemuru dapat meningkatkan kadar HDL-kolesterol, namun perbedaan yang bermakna hanya ditemukan antara A₁ ($53,2 \pm 2,77$ mg/dL) dan kelompok C₁ ($72,0 \pm 4,94$ mg/dL). Hal ini sesuai dengan penelitian dari Mori, T. A. (1994) yang mendapatkan bahwa minyak ikan yang mengandung asam lemak ω -3 dapat meningkatkan HDL-kolesterol, dan apoprotein. Rupanya kadar minyak ikan lemuru 10 % belum cukup besar untuk meningkatkan kadar HDL-kolesterol secara bermakna.

Efek minyak ikan lemuru terhadap malondialdehid (MDA) dapat dilihat dengan membandingkan kelompok A₁, B₁ dan C₁. Data yang didapat menunjukkan bahwa substitusi minyak ikan lemuru dapat menurunkan kadar malondialdehid darah. Perubahan yang bermakna ditunjukkan antara kelompok A₁ ($0,882 \pm 0,550$ μ mol/L), dengan kelompok B₁ ($0,665 \pm 0,004$ μ mol/L) serta kelompok C₁ ($0,620 \pm 0,110$ μ mol/L). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya dari Jin-Ho Choi dan Dae-Soek Byun 1989 yang menunjukkan bahwa asam lemak tidak jenuh jamak ω -3 dapat menurunkan kadar malondialdehid darah. Mekanisme kerjanya belum diketahui dengan pasti. Menurut Jin-Ho Choi dan dae-Soek Byun, 1989 kemungkinan kedua konstituen tersebut dapat memacu pembentukan prostaglandin dan tromboksan sehingga dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid.

Efek vitamin E terhadap kadar malondialdehid darah baik pada pakan tikus tanpa maupun dengan substitusi minyak ikan lemuru dapat dilihat dengan membandingkan

kesembilan kelompok tikus percobaan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa vitamin E menurunkan kadar malondialdehid pada tikus coba dengan maupun tanpa substitusi minyak ikan lemuru. Ini menunjukkan bahwa vitamin E maupun minyak ikan lemuru mempunyai aktivitas sinergetik. Data yang diperoleh juga menunjukkan terjadi interaksi ($P < 0,05$) antara kedua substituen tersebut. Namun demikian dari data pengamatan didapatkan bahwa suplementasi vitamin E 6 mg dan 8 mg memberikan penurunan kadar malondialdehid yang tidak bermakna. Hal ini kemungkinan karena selisih suplementasi vitamin E yang digunakan tidak terlalu besar (2 mg). Perbedaan bermakna ditunjukkan antara:

A₁ ($0,882 \pm 0,050 \mu\text{m/L}$) dengan A₂ ($0,703 \pm 0,032 \mu\text{m/L}$) dan A₃ ($0,673 \pm 0,004 \mu\text{m/L}$)
B₁ ($0,665 \pm 0,004 \mu\text{m/L}$) dengan B₂ ($0,605 \pm 0,033 \mu\text{m/L}$) dan B₃ ($0,598 \pm 0,019 \mu\text{m/L}$)
C₁ ($0,620 \pm 0,011 \mu\text{m/L}$) dengan C₂ ($0,570 \pm 0,031 \mu\text{m/L}$) dan C₃ ($0,485 \pm 0,056 \mu\text{m/L}$)

Penurunan yang tidak bermakna ditunjukkan antara kelompok:

A₂ ($0,703 \pm 0,032 \mu\text{m/L}$) dengan A₃ ($0,673 \pm 0,004 \mu\text{m/L}$)
B₂ ($0,605 \pm 0,033 \mu\text{m/L}$) dengan B₃ ($0,598 \pm 0,019 \mu\text{m/L}$)
C₂ ($0,570 \pm 0,031 \mu\text{m/L}$) dengan C₃ ($0,485 \pm 0,056 \mu\text{m/L}$)

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

Dari data pengamatan yang diperoleh dalam penelitian ini setelah dilakukan analisis statistik dapatlah disimpulkan sebagai berikut:

- Ada perbedaan kadar trigliserida serum yang sangat bermakna ditunjukkan kelompok A₁ ($118 \pm 14,80$ mg/dL) dengan kelompok B₁ ($90,4 \pm 2,880$ mg/dL) dan kelompok C₁ ($81,2 \pm 8,350$ mg/dL). Data untuk kelompok B₁ dengan C₁ terlihat tidak terjadi perbedaan yang bermakna.
- Ada perbedaan kadar kolesterol-total yang sangat bermakna ditunjukkan antara kelompok A₁ ($125 \pm 3,960$ mg/dL) dengan kelompok B₁ ($97,4 \pm 2,380$ mg/dL) serta kelompok C₁ ($95,8 \pm 1,780$ mg/dL), namun antara kelompok B₁ dan C₁ tidak bermakna.
- Ada perbedaan kadar kolesterol-LDL yang sangat bermakna ditunjukkan kelompok A₁ ($39,2 \pm 0,830$ mg/dL) dengan kelompok C₁ ($27,8 \pm 1,640$ mg/dL), tetapi antara kelompok A₁ ($39,2 \pm 0,830$ mg/dL) dengan kelompok B₁ ($36,6 \pm 1,140$ mg/dL) perbedaan tersebut tidak bermakna.
- Ada perbedaan kadar kolesterol-HDL yang sangat bermakna ditunjukkan antara kelompok A₁ ($53,2 \pm 2,77$ mg/dL) dengan kelompok C₁ ($72,0 \pm 4,940$ mg/dL), namun antara kelompok A₁ dan B₁ tidak bermakna. Jadi dari uraian tersebut berarti substitusi minyak ikan lemuru sebagai pengganti lemak yang mengandung asam lemak jenuh (lemak babi) dalam pakan tikus dapat menurunkan kadar trigliserida, kolesterol-total, kolesterol-LDL serta menaikkan kolesterol-HDL. Hasil penelitian

($P < 0,05$) antara kedua substituen tersebut. Namun demikian dari data pengamatan didapatkan bahwa suplementasi vitamin E 6 mg dan 8 mg memberikan penurunan kadar malondialdehid yang tidak bermakna. Hal ini kemungkinan karena selisih suplementasi vitamin E yang digunakan tidak terlalu besar (2 mg). Perbedaan bermakna ditunjukkan antara:

$A_1 (0,882 \pm 0,050 \mu\text{m/L})$ dengan $A_2 (0,703 \pm 0,032 \mu\text{m/L})$ dan $A_3 (0,673 \pm 0,004 \mu\text{m/L})$
 $B_1 (0,665 \pm 0,004 \mu\text{m/L})$ dengan $B_2 (0,605 \pm 0,033 \mu\text{m/L})$ dan $B_3 (0,598 \pm 0,019 \mu\text{m/L})$
 $C_1 (0,620 \pm 0,011 \mu\text{m/L})$ dengan $C_2 (0,570 \pm 0,031 \mu\text{m/L})$ dan $C_3 (0,485 \pm 0,056 \mu\text{m/L})$

Penurunan yang tidak bermakna ditunjukkan antara kelompok:

$A_2 (0,703 \pm 0,032 \mu\text{m/L})$ dengan $A_3 (0,673 \pm 0,004 \mu\text{m/L})$
 $B_2 (0,605 \pm 0,033 \mu\text{m/L})$ dengan $B_3 (0,598 \pm 0,019 \mu\text{m/L})$
 $C_2 (0,570 \pm 0,031 \mu\text{m/L})$ dengan $C_3 (0,485 \pm 0,056 \mu\text{m/L})$

ini sejalan dengan penelitian terdahulu (Haglund, *et. al.* 1991) yang menyatakan asam lemak tak jenuh jamak menurunkan profil lipid serum.

- Ada perbedaan kadar malondialdehid (MDA) yang sangat bermakna ditunjukkan antara kelompok A₁ ($0,882 \pm 0,550 \mu\text{mol/L}$) dengan kelompok B₁ ($0,665 \pm 0,04 \mu\text{mol/L}$) serta dengan kelompok C₁ ($0,620 \pm 0,011 \mu\text{mol/L}$). Dari uraian ini berarti minyak ikan lemuru dapat menurunkan kadar malondialdehid (MDA) dalam darah tikus coba. Hasil ini menunjang penemuan Jin-Ho Choi dan Dae-Soek Byun, 1989 yang mengatakan bahwa konsumsi asam lemak tidak jenuh jamak ω -3 maupun konsumsi minyak ikan sardin (*Sardinilla longiceps*) pada tikus jantan menurunkan kadar MDA.
- Ada perbedaan penurunan kadar malondialdehid (MDA) oleh pemberian vitamin E pada substitusi minyak ikan lemuru yang sangat bermakna pada sembilan kelompok tikus coba. Hasil ini sejalan dengan sifat vitamin E yang dapat bertindak sebagai antioksidan lipofilik dan mencegah peroksidasi lipid pada membran sel (Machlin, 1991).

7.2 Saran

1. Perlu diadakan penelitian lanjut mengenai pengaruh konsumsi ikan lemuru pada manusia, apakah hasil pada tikus coba ini juga akan memberikan efek yang sama pada manusia. Sehingga nantinya kalau hasil yang diperoleh mendukung, maka pemasyarakatan konsumsi ikan lemuru perlu digalakkan.
2. Perlu diadakan penelitian lanjut mengenai profil lipid serum dan peroksidasi lipid pada populasi yang mengkonsumsi ikan sebagai sumber utama protein di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Adiman, J. J. 1989, *Inhibitory Effect of High-Density Lipoprotein in Experimental Atherosclerosis*, Proceeding of a Symposium, Linkoping, Sweden. P. 32-37.
- Apger Jean, L., Shively Carel, A., and Tarks, J. R., Stanly, M., 1987, Digestibility of Cocoa and Corn Oil Their Influence on Fatty Acid Distribution in Rat, *J. Nutr.* 177 halaman 660-665
- Bartley, J.C. 1989, *Lipid Metabolism and It's Disease*. In : J.J. Kaneko ed *clinical Biochemistry Fourt Edition Academic Press Inc. New York*. 115-128
- Babiak, J., and Rudel, L. L., 1987, *Lipoprotein and Atherosclerosis on Shepherd, J. Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol I o.3, Bailliere Tindall, London.
- Blake, W., Clarke, S. D., 1990, Suppression of Rat Hepatic Fatty Acid Synthase and S14 Gene Transcription by Dietary Polyunsaturated Fatty Acid, *J. Nutr.* Vol. 1990: 1727-29.
- Bliss, C. I., 1990, The Connecticut Agricultural Expeeriment Stasion Research Associate Yale University.
- Brought, K. S., Whelan Jay, Hardardotir, I., Kinsela, J. E., 1991, Effect of Increasing the Dietary (n-3) to (n-6) Polyunsaturated Fatty Acid Ratio on Murine Liver and Periteneal Cell Fatty Acid and Eicosanoid Formation, *J. Nutr.* 121: 155-164.
- Brown, M. S., Kovanen, P. T., and Goldstain, J. L., 1981, *Regulation of Plasma Cholesterol by Lipoprotein Receptor*, *Science* 212: 628-634.
- Chen Isabel S., Hotta. S. S., 1987, *Digestion Absorbtion and Effect on Cholesterol of Menhanden Oil, Fish Oil Concentrate and Corn Oil by Rat.*, *J. Nutr.* 177: 1676-1680.
- Cavlin, T., 1986, *Textbook of Biochemistry with Clinlcal Correlation*, 2nd ed., Willey Med. Pbl. P 402-411.
- Darwin, K., dan Munihal, *Kecukupan Gizi Yang Dianjurkan*, Penerbit PT. Gramedia Jakarta.
- Dennis, R., Vance and Jean E Vance., 1985, *Biochemistry of Lipids and Membranes*, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. p. 213-469.

- Devlin, T., 1986, *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlation*, 2nd ed., Willey Medical Publication, New York.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, 1981, *Daftar Komposisi Bahan Makanan*, Cetakan keempat Bhatara Karya Aksara, Jakarta.
- Endang, dkk., 1995, *Tehnologi Pemanfaatan Minyak Ikan Sebagai Sumber Omega-3 Untuk Kebutuhan Nutrisi.*, Pusat Penelitian & Pengembangan Perikanan, BPP. Dept. Pertanian Jakarta.
- Fisher, S and Weber, P. D., 1994, *Prostaglandin I₃ is Feemed in vivo in Man after Dietary Eicosepentanoat Acid.*, N. Natur., 307: 165-168.
- Gordon, T., Castelli, W.P., Hjertland, M.C., Kannel, W.B. Dawber, T.R. 1977. High Density Lipoprotein As A Protective Factor Against Coronary heart Disease. *Am. J. Med.* Halaman: 707 -713.
- Gottg, Jr., Antonio M, M. D., *Atherosclerosis A Decade In Propective.* Highlights of a simposium, Houston Texas 1991
- Grundy, S. M., 1990, *Cholesterol and Coronary Heart Disease*, *Jama*, 264: 3053-3059.
- Haglund Olle, Laustatiner, R., Wallin, R., Wibell, L., and Saldeen, T., 1991, *The Effect of Fish Oil on Triglycerides, Cholesterol, Fibrinogen and Malondialdehyde in Human Supplemented with Vitamin E*, *Nutr. J.* 121: 165-169
- Halliwel, E. J., and Gutterince, J. M. C., 1991, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 2nd ed., Clarendon Press, Oxford.
- Haug, A., and Hostmark, A. T., 1987, *Lipoprotein Lipase, Lipoprotein Lipide Tissue Lipid in Rat Fed Fish Oil or Coconut Oil*, *J. Nutr.* 117: 1011-1017.
- Heerold, P. M., Kinsella, J. E., 1986, *Fish Oil Consumption and Decreased Risk of Cardiac Vasculer Disease: A Comparison of Findings from Animal and Human Feeding Trials*, *Am. J. Clin. Nutr.*, 43: 566-598.
- Hegsted, D. M., 1986, *Serum Cholesterol Respons to Dietary Cholesterol: Re-evaluation*, *Am. J. Clin. Nutr.*, 44: 299-305.
- Herman, S., 1991, *Pengaruh Gizi Terhadap Penyakit Kardiovaskular*, *Cermin Dunia Kedokteran* No. 73, halaman 12-16.
- Jin-Ho Choi and Dae-Seok Byun, 1989, *Physiological Activity of ω -3 Polyunsaturated Fatty Acid in Dark Fleshed Fishes*, *Bull. Korean Fish. Soc.*, 22(2), p.109-114.
- Linder, M. C., 1992, *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme*, penterjemahan Parakkasi, A., and Amwila, A. Y., Penerbit UI-Press Jakarta, halaman: 27-32; 51-56; 60-80; 119-219; 248-255 dan 597-619.

- Machlin, L. J., 1991, *Hand Book of Vitamin*, 2nd ed., Marcel Dekker Inc, New York.
- Martin, D. W. J., Rodwell, V. W., Graner, D. K., Mayes, P. A., 1990, *Harper's Review of Biochemistry*, 22nd ed., Lang Medical Publication Maruzen Ltd.
- Mensilk, R. P., and Katan, M. B., 1989, *Effect on Level of Diet Acid on Level of Low-Density and High-density Lipoprotein Cholesterol in Healthy Women and Man*, N. Engl. J. Med. 326: 326-341.
- Murray, K., 1993, *Harper's Biochemistry*, 23rd ed, Prentice-Hall International Inc., USA.
- Miller, N. E., and Miller, G. J., 1975, *High Density Lipoprotein and Atherosclerosis*, Lancet, 3: 10-34.
- Miller, G. J., and Miller, N. E., 1975, *Plasma High Density Lipoprotein Concentration and Development of Ischaemic Heart Disease*, Lancet, 4: 16-19.
- Miller, N. E., 1982, *Coronary Atherosclerosis and Plasma Lipoprotein Epidemiology and Pathology Concideration*, J. Cardiovasc pharmacol, 4 (suppl. 2): 1-6.
- Michel de Lengeril, 1994, *Mediterranean Alpaloneliat Acid Rich Diet in Secondary Preventive of Carenary Heart Disease*, Lancet 343: 1454-1459.
- Naito, H. K., 1988, *The Cholesterol Challenge: From Laboratory to Clinical*, Clin. Chem. 34/2: 144-149.
- Nestel, P., 1986, *Fish Oil Attenuate the Cholesterol Induced Rice in Lipoprotein Cholesterol*, Am. J. Nutr., 43: 752-757.
- Ney, D. M., Ziboch, V. A., and Schneenan, B. O., 1987, *Reduction in Plasma Apolipoprotein E and HDL, Levels in Rats with Essential Fatty Acid Defficiency*, Nutr. 117: 2016-2020.
- Olsen, J. A., 1992, *Antioxidants in Health Disease; An Overview*, Proceeding of Social and Experimental Biology and Medicine, 200 (2): 245-247.
- Palozza, P., 1992, *Antioxidants Effects of Carotenoid in vivo and in vitro: An Overview*, Method in Enzymology, 213: 402-420.
- Palozza, P., 1992, *Effect of Beta-Carotene and Alpha-Tocopherol on Initiated Peroxidation of Microsome Free Radical in Biology and Medicine*, 13 (2): 127-136.
- Palozza, P., 1992, *Beta-Carotene and Alpha-Tocopherol are Biophysics*, 15, 297 (1): 184-187.

- Pranawa, P. B. S., 1993, Naskah lengkap Simposium "*Dyslipidemia in Diabetic Pasients: Urrent Concepts in the Management and Treatment*", hal 1-35.
- Prawirakusuma, S., 1991, Biokimia Nutrisi Vitamin, edisi pertama, BPPE., Jogjakarta, halaman 37-45; 92-105.
- Rahmi, F. L., 1993, Pengaruh Diit Apel (*Malus Sylvestris*) Kering Terhadap Kolesterol-Total, Kolesterol-HDL, Kolesterol-LDL Pada Serum Tikus, Thesis Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Surabaya.
- Shepherd, J., 1987, *Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1st ed., Baillere Tidal, USA, p. 510-550.
- Soejarwo, 1995, Penentuan kondisi yang sesuai pada penentuan kadar Malondialdehida (MDA) dengan metoda Spektrofotometer, Lembaga Penelitian UNAIR Surabaya.
- Steel, R. G. D., and Torre, J. H., 1981, Principle and Procedure of Statistic, A Biometrical Approach, 2nd ed., Mc Graw-Hill, International Book Company, Singapore, p. 137-142, 172-173.
- Steinberg, D., Witzum, J. L., 1990, *Lipoprotein and Atherosclerosis* < JAMA., 264: 3047-3052.
- Swansen, J., Lokesh, B. R., and Kinsella, J. E., 1989, *Ca²⁺, Mg²⁺ ATPase of Mouse Cardiac Sarcoplasmic Reticulum is Affected by Membrane n-6 and n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Content*, J. Nutr., 119: 364-372.
- Takahashi, R. Y., Manku, M. S., and Herrobin, D. F., 1987, *Impaired Platelet Agregation and Thromboxane Generation in Essential Fatty Acid-Defficient Rats*, J. Nutr., 117: 1520-1526.
- Tall, A. R., and Small, D. M., 1978, *Plasma High-Density Lipoprotein*, N. Engl. J. Med., 299: 1232-1236.
- Tejayadi, S., 1991, *Kolesterol dan Hubungannya dengan Penyakit Kardiovaskuler*, Cermin Dunia Kedokteran, 73: 34-35.
- Thorngam, M., Gustafson, A., 1981, *Effect of 1-week Increase in Dietary Eicosapentanoic acid on Bleeding time, Lipid and Platelet Agregations*, The Lancet, Nov. 28: 1190-1193.
- Tietz, N M., 1982, *Fundamental of Clinical Chemistry*, WB. Saunders Co., Philadelphia, London, p.497-510.

- Triscari, J., Hamilton, J. G., and Sullivan, A. C., 1978, *Comparative Effect of Saturated and Unsaturated Lipids on Hepatic Lipogenesis and Cholesterogenesis in vivo in the mealfed rat*, J. Nutr. 108: 815-825.
- Waatts GF, B.Lewis, JNH Brunt . ES, Lewis, DJ Coltart , LDR Smith, Ji Mann, AV, Swan, 1992. *Effect on Coronary Artery Disease of Lipid -Loweeing diet or diet plus chlorestyramine, in the st Thomas artherosclerosis Regression Study (STARS) .Lancet 339 : March : 53 – 568.*
- Witzum ED, Fisher KH , & Garcia P, 1978. *High Density Lipoprotein Diabetes*, 28: 326 – 336
- Wilson RB, CC Midleton and GY Sun, 1978. *Vitamin E, Antioxidans and Lipid Peroxidation Experimental Atherosclerosis of Rabbitt*, J. Nutr: 108 – 1858.
- Zainudin M., 1990, *Metodologi Penelitian*, Universitas Airlangga.

LAMPIRAN

**Lampiran 1 Data penambahan bobot badan
selama 4,5 bulan**

Data Kasus	Berat badan (gram)			
	1 bulan	2 bulan	3,5 bulan	4,5 bulan
1	70	150	185	210
2	72	155	180	220
3	75	140	177	205
4	78	130	175	185
5	80	140	176	200
6	71	151	-	-
7	72	155	-	-
8	79	150	-	-
9	70	150	-	-
10	80	155	-	-
11	79	150	170	210
12	71	150	172	225
13	73	140	175	200
14	70	120	180	186
15	74	140	177	195
16	70	150	170	235
17	80	150	169	240
18	72	140	167	240
19	73	120	168	230
20	71	120	170	220
21	71	120	165	220
22	74	115	167	265
23	73	120	168	265
24	74	130	166	240
25	75	125	167	235
26	76	155	160	-
27	79	150	160	-
28	70	135	159	-
29	71	160	155	-
30	72	155	165	-
31	70	145	155	200
32	80	155	145	205
33	72	150	148	220
34	76	148	155	216
35	75	146	156	226
36	76	145	157	195
37	72	144	159	209
38	73	143	158	161
39	74	141	157	220
40	74	140	155	210
41	70	150	156	250
42	72	155	160	215
43	76	140	150	240
44	77	141	155	270
45	78	140	152	215
46	71	150	165	219
47	75	150	162	209

48	73	140	154	209
49	72	139	150	210
50	74	140	150	195
51	75	141	155	226
52	70	135	149	225
53	72	140	150	215
54	76	138	150	210
55	77	140	155	217

Berat awal (g)	Berat saat hiperkolesterolemia (g)
71	151
77	155
79	150
70	150
80	155

Uji-t berat badan tikus		
	Variable 1	Variable 2
Mean	75.4	152.2
Variance	21.3	6.7
Observations	5	5
df	4	
t Stat	-44.79066	
P(T<=t) one-tail	7.42898E	
t Critical one-tail	2.131846	
P(T<=t) two-tail	1.48580E	
t Critical two-tail	2.776450	

Table anova untuk pertambahan berat badan

SOURCE	DF	SS	MS	FH	P
Vitamin E (A)	2	8004,04	4002,03	13,96	0,0000
MIL (B)	2	3008,18	1504,09	5,25	0,0100
A*B	4	11384,60	2846,16	9,93	0,0000
Ulangan (C)	36	10316,8	286,578		
A*B*C					
Total	44	32713,6			
Grand Average	1	3,003E+05			
Grand Mean	81,689	SE	2,5236		

Vitamin E	MIL	Mean	SS (Mean)
0	0	61,000	70,000
0	10	134,000	3070,000
0	15	92,000	2830,000
6	0	63,000	234,800
6	10	64,000	583,200
8	0	97,000	165,200
8	10	80,200	2760,800
8	15	79,800	222,500

Observations per cell 5
 Std error of an evarage 7.5707
 Std error (diff of 2 ave's) 10.707
 Error term used: MIL*Vit E* ulangan 36 DF

LSD (T) PAIRWISE COMPARISONS OF MEANS OF PBB BY MIL.

MIL	MEAN	HOMOGENEOUS GROUP
10	92,933	I
15	76,400	. . I
0	73,733	. . I

THERE ARE 2 GROUP IN WHICH THE MEANS ARE NOT SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

CRITICAL T VALUE 2,028 REJECTION LEVEL
 CRITICAL VALUE FOR COMPARISON 12,537 0,005
 STANDART ERROR FOR COMPARISON 6,1615

Lampiran 2 Trigliserida Serum

Kadar trigliserida standar	Kadar hipertigliserida
100	110
87	91
91	102
111	120
113	128

Uji-t trigliserida		
	Variable 1	Variable 2
Mean	100.4	110.2
Variance	134.8	212.2
Observations	5	5
df	4	
t Stat	-5.530459	
P(T<=t) one-tail	0.002611	

t Critical one-tail	2.131846
P(T<=t) two-tail	0.005222
t Critical two-tail	2.776450

Anova-Trigliserida

Groups	Count	Sum	Average	Variance
0%	5	590	118	220
10%	5	452	90.4	8.3
15%	5	406	81.2	69.7

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	3667.733	2	1833.866	18.46174	2.17762E	3.885290
Within Groups	1192	12	99.33333			
Total	4859.733	14				

Lampiran 3 Koleseterol-total

Kadar Kol-total standar	Kadar Kol-Tot hiperkolesterolemia
98	110
96	111
94	104
97	119
97	123

Uji-t Kolesterol-total		
	Variable 1	Variable 2
Mean	96.4	113.4
Variance	2.3	57.3
Observations	5	5
df	4	
t Stat	-5.604734	
P(T<=t) one-tail	0.002488	
t Critical one-tail	2.131846	
P(T<=t) two-tail	0.004976	
t Critical two-tail	2.776450	

Anova:Kol-total

Groups	Count	Sum	Average	Variance
0%	5	625	125	12
10%	5	487	97.4	5.3
15%	5	479	95.8	3.2

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	2694.933	2	1347.466	197.1902	6.62965E	3.885290
Within Groups	82	12	6.833333			
Total	2776.933	14				

Lampiran 4 Kolesterol-LDL

Kadar Kol-LDL standar	Kadar Kol-LDL hiperkolesterolemia
31	39
27	38
25	37
25	29
22	29

Uji-t kolesterol-LDL

	Variable 1	Variable 2
Mean	26	34.4
Variance	11	24.8
Observations	5	5
df	4	
t Stat	-3.279649	
P(T<=t) one-tail	0.015255	
t Critical one-tail	2.131846	
P(T<=t) two-tail	0.030510	
t Critical two-tail	2.776450	

Anova kol-LDL

Groups	Count	Sum	Average	Variance
0%	5	196	39.2	0.7
10%	5	183	36.6	1.3
15%	5	139	27.8	2.7

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	356.9333	2	178.4666	113.9148	1.56917E	3.885290
Within Groups	18.8	12	1.566666			
Total	375.7333	14				

Lampiran 5 Kolesterol-HDL

Kadar Kol-HDL standar	Kadar Kol-HDL hiperkolesterolemia
39	60
43	62
44	63
45	67
40	70

Uji-t Kolesterol-HDL		
	Variable 1	Variable 2
Mean	42.2	64.4
Variance	6.7	16.3
Observations	5	5
df	4	
t Stat	-10.91070	
P(T<=t) one-tail	2.00342E	
t Critical one-tail	2.131846	
P(T<=t) two-tail	4.00684E	
t Critical two-tail	2.776450	

Anova:Kol-HDL

Groups	Count	Sum	Average	Variance
0%	5	266	53.2	7.7
10%	5	287	57.4	20.8
15%	5	360	72	24.5

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	973.7333	2	486.8666	27.55849	3.26658E	3.885290
Within Groups	212	12	17.66666			
Total	1185.733	14				

Lampiran 6 Malondialdehid

Kadar MDA standar	Kadar MDA hiperkolesterolemia
0.456	0.58
0.288	0.416
0.415	0.632
0.533	0.668
0.14	0.544

uji-t kadar MDA		
	Variable 1	Variable 2
Mean	0.3664	0.568
Variance	0.023887	0.00948
Observations	5	5
df	4	
t Stat	-3.773759	
P(T<=t) one-tail	0.009770	
t Critical one-tail	2.131846	
P(T<=t) two-tail	0.019540	
t Critical two-tail	2.776450	

Means of MDA for vit E and MIL.

Vit.E	Mil.	Mean	SS (Mean)
0	0	0,8218	9,24E-03
0	10	0,6650	1,59E-03
0	15	0,6196	5,13E-04
6	0	0,7032	4,08E-03
6	10	0,6032	3,85E-03
6	15	0,5700	3,94E-03
8	0	0,6734	5,92E-05
8	10	0,5976	1,21E-03
8	15	0,4854	0,0128

Observation per cell 5
 STD Error of an everage 0,0144
 STD Error (Diff. of 2 ave's) 0,0204
 Error Term used : Vit.E and Mil. Ulangan 36.

LSD (T) Pairwise Comparison of Mean of MDA.by Vit.E.

MIL	Mean	Homogeneous Group
0	0,7021	I
6	0,6261	I
8	0,5855	I

All 3 Means are significance different from one another.

Critical T value	2,0280	Rejection Level	0,050
Critical value for comporasion	0,0238		
Standard error for comparison	0,0118		

LSD (T) Pairwise Comparison of Mean of MDA by MIL.

MIL	Mean	Homogeneous Group
0	0,7328	I
10	0,6226	. . . I
15	0.5583 I

NILAI BNT FAKTOR MIL = 0,02388108

NILAI BNT FAKTOR Vit.E= 0,02386108

Polynomial contrasts of MDA by Vit.E

DEGREE	SS	F	P
1	0,1040	106,33	0,0000
2	1,221E-03	1,18	0,2850

Polynomial contrasts of MDA by MIL.

DEGREE	SS	F	P
1	0,2332	225,05	0,0000
2	3,601E-04	0,35	0,5592

Polynomial contrasts of MDA by Vit E and Mil

DEGREE		SS	F	P
Vit.E	MIL			
1	1	2,817E-03	2,72	0,1079
1	2	6,053E-03	5,84	0,0209

2	1	3,924E-03	3,79	0,0595
2	2	3,301E-03	3,18	0,0827

Unweight Least Squares Linear Regresion of MDA

Predictor Variable	Coefficient	STD Error	Student's T	P
Constant	0,81462	0,01507	54,04	0,0000
A	-0,01725	0,00261	-6,61	0,0000
B	-0,01329	0,00145	-9,17	0,0000
AB	3,732E-04	2,508E-04	1,49	0,1444

R-Squared	0,8670	Resid, Mean Square (MSE)	0,00127
Adjusted R-Squared	0,8572	Standard Deviation	0,03567

Square	DF	SS	MS	F	P
Regresion	3	0,34001	0,011334	89,07	0,0000
Residual	41	0,05217	0,00127		
Total	44	0,3927			

Cases included 45 Missing cases 0

Lampiran 7 Susunan diit formula ITB, UNAIR dan perlakuan.

Tabel 4.1 Susunan pakan standar ITB (per 10 kg)

Bahan Pakan	Jumlah (kg)
Tepung jagung	2,50
Tepung terigu	3,40
Tepung kacang hijau	1,40
Tepung ikan	1,60
Lemak babi	0,80
Vitamin B1	0,48 g
Vitamin B2	1,20 g
Nikotinamid	12,00 g
Kalsium panthotenat	2,40 g
Vitamin B6	0,40 g
Kolin Bitartrat	45,60 g
Multi vitamin (Roche)**	40,00 g
Karboksimetil selulosa	0,20 g

* Makanan dibuat dalam bentuk pelet, kalorinya 463,90/100 g

**Tiap gram multi vitamin Roche mengandung: 100.000 IU vitamin A, 1000 IU vitamin D, 50 mcg vitamin B₁₂, 80 IU multi vitamin.

Tabel 4.2. Susunan pakan tinggi lemak (per 10 kg)

Bahan Pakan	Jumlah
Tepung jagung	2,27 kg
Tepung terigu	3,09 kg
Tepung kacang hijau	1,27 kg
Tepung ikan	1,45 kg
Lemak babi	1,83 kg
Vitamin B1	0,44 g
Vitamin B2	1,09 g
Nikotinamid	10,91 g
Kalsium panthotenat	2,18 g
Vitamin B ₆	0,36 g
Kolin Bitartat	41,45 g
Multi vitamin	36,36 g

*Makanan dibuat dalam bentuk pelet, kalorinya 463,90/100 g

Tabel 4.3 Susunan diit perlakuan per 10 kg

BAHAN MAKANAN	DIIT								
	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
Tepung jagung	2,27 kg	2,27 kg	2,27 kg	2,27 kg	2,27 kg	2,27 kg	2,27 kg	2,27 kg	2,27 kg
Tepung terigu	3,02 kg	3,09 kg	3,09 kg	2,08 kg	3,09 kg	3,09 kg	3,09 kg	3,09 kg	3,09 kg
Tepung kacang hijau	1,27 kg	1,27 kg	1,27 kg	1,16 kg	1,27 kg	1,27 kg	1,27 kg	1,27 kg	1,27 kg
Tepung ikan	1,45 kg	1,45 kg	1,45 kg	1,33 kg	1,45 kg	1,45 kg	1,45 kg	1,45 kg	1,45 kg
Lemak babi	1,83 kg	1,83 kg	1,83 kg	0,83 kg	0,83 kg	0,83 kg	0,33 kg	0,33 kg	0,33 kg
Vitamin B1	0,44 kg	0,44 g	0,44 g	0,44 g	0,44 g	0,44 g	0,44 g	0,44 g	0,44 g
Nikotinamid	10,91 kg	8,91 kg	10,91 kg	10,91 kg	10,91 kg	10,91 kg	10,91 kg	10,91 kg	10,91 kg
Vitamin B6	0,36 g	0,36 kg	0,36 g	0,36 g	0,36 g	0,36 g	0,36 g	,36 g	0,36 g
Kalsium phanthotenat	2,18 kg	0,18 kg	0,18 kg	2,18 kg	2,18 kg	2,18 kg	2,18 kg	2,18 kg	2,18 kg
Kolin bitartrat	41,45 g	21,45 g	21,45 g	41,45 g	41,45 g	41,45 g	41,45 g	41,45 g	41,45 g
Multi vitamin	36,36 g	36,36 g	36,36 g	36,36 g	36,36 g	36,36 g	36,36 g	36,36 g	36,36 g
Minyak ikan lemuru	-	-	-	1,00 kg	1,00 kg	1,00 kg	1,5 kg	1,5kg	1,5 kg
Vitamin E	-	60 mg	80 mg	-	60 mg	80,00 mg	-	60 mg	80 mg

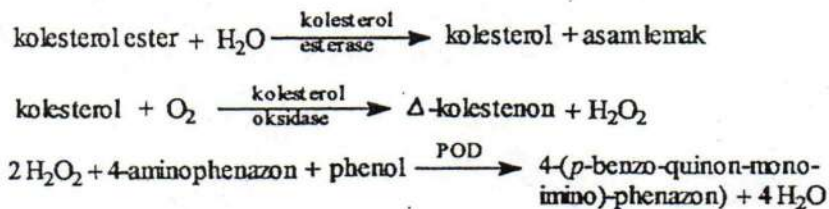
Lampiran 8. Penentuan kadar kolesterol-total

Metode: CHOD-PAP

Cara kerja :

Semua reagen untuk penentuan kolesterol-total ditambah akuades sampai volume 500 mL, kemudian masukkan 2 mL reagen tersebut ke dalam tabung reaksi dan dicampur dengan 20 μ L serum (sampel). Sebagai blanko adalah reagen yang sama tanpa serum. Kedua tabung diinkubasikan selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian dibaca serapannya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm.

Prinsip Test



Lampiran 9 Penentuan Kadar Kolesterol-HDL

Metode: CHOD-PAP

Cara Kerja:

Ambil 500 μL reagen campur dengan 200 μL sampel kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar dan dipusingkan pada 4000 rpm selama 10 menit. Sejumlah 100 μL supernatan diambil dan ditambah 1000 μL reagen CHOD-PAP. Blanko dalam penentuan ini dipakai 100 μL akuades ditambahkan 1000 μL reagen CHOD-PAP. Kedua tabung diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar dan kemudian serapannya dibaca dengan spektrofotometer pada λ 500 nm.

Lampiran 10 Penentuan Kadar Kolesterol-LDL

Metode: CHOD-PAP.

Cara kerja:

Sebanyak 200 μL reagen presipitasi dicampur dengan 100 μL sampel diinkubasikan selama 15 menit pada suhu kamar kemudian dipusingkan 1500 g selama 15 menit. Sebanyak 50 μL supernatan ditambah 2000 μL reagen CHOD-PAP, blanko dipakai 50 μL akuades ditambah 2000 μL reagen CHOD-PAP. Kedua tabung reaksi yang berisi sampel dan blanko diinkubasikan selama 10 menit pada suhu kamar, selanjutnya serapannya dibaca dengan spektrofotometer pada λ 500 nm.

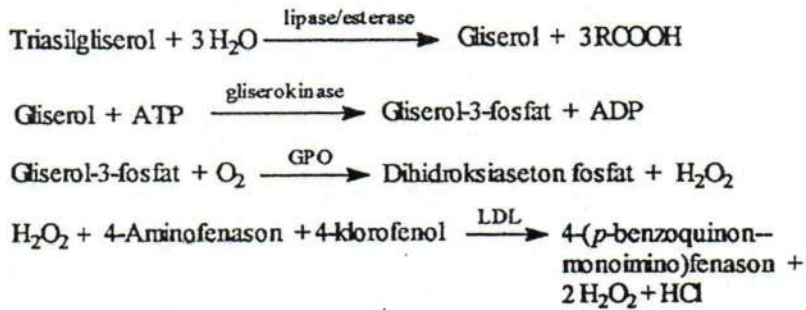
Lampiran 11. Penentuan Kadar Trigliserida.

Metode: GPO-PAP.

Cara Kerja:

Sampel : 20 mikroliter serum dicampur dengan 2000 μ l reagen. Blanko : 2000 μ l reagen
 Kedua tabung yang masing-masing berisi sampel dan blanko diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian dibaca dengan menggunakan spektrofotometer dengan λ 500 nm.

Prinsip tes:



Lampiran 12. Penentuan kadar Malondialdehid.

Metode: Espinosa Mansilla.

Cara kerja: kadar yang diperoleh dianggap sama dengan konsentrasi peroksidasi plasma dengan cara:

(i). Pembuatan kurva baku

Dibuat larutan baku malondialdehida dengan cara mereaksikan larutan TEP (1,1,3,3-tetraetoksi propana) dengan HCl 12 mol/l. Dimasukkan alikuot larutan 1,1,3,3-tetraetoksi propana yang setara dengan 1,25 μg malonaldehida, 1 ml HCl (12 mol/l), 12 ml larutan asam tiobarbiturat (0,03 mol/l) ke dalam labu ukur 25 ml dan diencerkan sampai garis batas dengan air demineralisasi. Sampel dipanaskan pada suhu 60 $^{\circ}\text{C}$ selama 60 menit pada penangas air yang dilengkapi dengan thermostat, kemudian diamati serapannya pada λ 530 nm. Dihitung persamaan garis regresi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi malonaldehida dengan serapannya.

(ii). Deproteinasi

Sebanyak 2,5 ml TCA dicampur baik-baik dengan 0,5 ml plasma dan dipusingkan selama 10 menit. Supernatannya disaring dengan kertas saring (0,4 μl). Filtrat dibuang cuci dengan H_2SO_4 0,05 N dipusingkan lagi selama 10 menit filtrat dibuang + 2,50 ml H_2SO_4 0,05 M + 3 ml TBA 200mg % di pusingkan lalu di panaskan lagi selama 30 menit pada suhu 100 $^{\circ}$ C kemudian didinginkan + 4 ml butanol dipusingkan baca dengan spektrofotometer pada λ 530 nm