

TESIS

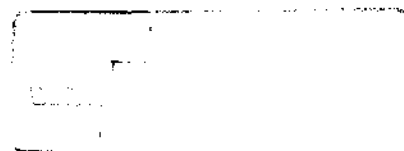
**PENGARUH SUPLEMENTASI AGAR-AGAR TERHADAP KADAR  
KOLESTEROL TOTAL, KOLESTEROL *LDL*, KOLESTEROL *HDL* DAN  
TRIASILGLISEROL PADA SERUM TIKUS (*Rattus norvegicus*) DENGAN  
DIET TINGGI LEMAK**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK



ARINA SETYANINGTYAS

PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2003



TESIS

**PENGARUH SUPLEMENTASI AGAR-AGAR TERHADAP KADAR  
KOLESTEROL TOTAL, KOLESTEROL *LDL*, KOLESTEROL *HDL* DAN  
TRIASILGLISEROL PADA SERUM TIKUS (*Rattus norvegicus*) DENGAN  
DIET TINGGI LEMAK**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK



**ARINA SETYANINGTYAS**

**NIM 090114593 M**

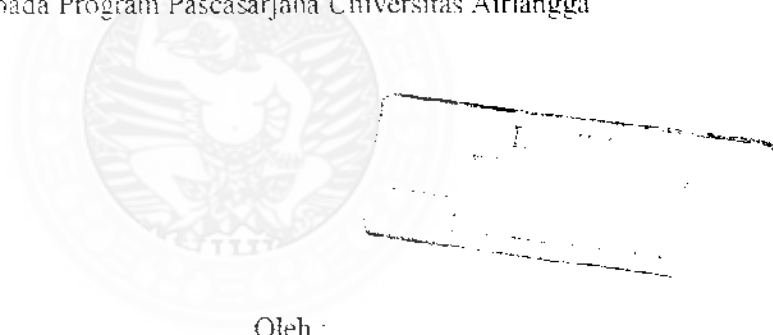
**PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2003**

**PENGARUH SUPLEMENTASI AGAR-AGAR TERHADAP KADAR  
KOLESTEROL TOTAL, KOLESTEROL *LDL*, KOLESTEROL *HDL* DAN  
TRIASILGLISEROL PADA SERUM TIKUS (*Rattus norvegicus*) DENGAN  
DIET TINGGI LEMAK**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Oleh :

ARINA SETYANINGTYAS  
NIM 090114593 M

PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2003

Tanggal 9 September 2003

**Lembar Pengesahan**

**TESIS INI TELAH DISETUJUI  
TANGGAL 9 SEPTEMBER 2003**

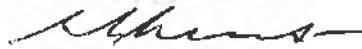
Oleh

Pembimbing Ketua,



Dr. Harianto Notopuro, dr., M.S.  
NIP 130 532 940

Pembimbing I,



Edhi Rianto, dr., M.S.  
NIP 130 676 010

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Prof. Sutjipto, dr., M.S., Ph.D.  
NIP 130 687 606

**Telah diuji pada**  
**Tanggal 9 September 2003**  
**Panitia Penguji Tesis**

Ketua : Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr. Sp. BK.

Anggota : 1. Dr. Harianto Notopuro, dr, M.S.  
2. Edhi Rianto. dr., M.S.  
3. Prof. Sri Utari, dr, Sp. BK.  
4. Muhammad Cholil Munif, dr., AIF.



## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Penyelesaian tesis ini, tidak lepas dari bantuan berbagai pihak yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada saya, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu perkenankan saya menyampaikan terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr. Harianto Notopuro, dr., M.S. sebagai Pembimbing Ketua dan Bapak Edhi Rianto, dr., M.S. sebagai Pembimbing I yang dengan penuh perhatian telah memberikan petunjuk, bimbingan dan arahan sejak dari perencanaan penelitian sampai pada penulisan tesis ini.

Pada kesempatan ini pula perkenankanlah saya menyampaikan ucapan terima kasih kepada yang terhormat :

Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Med Puruhito, dr., Sp.BTKV. dan mantan Rektor Universitas Airlangga Prof. H. Soedarto, dr., DTMH, Ph.D. yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr.,Sp.P(K) yang telah menerima dan memberikan kesempatan kepada saya menjadi mahasiswa Program Magister Program Pascasarjana Universitas Airlangga Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar.

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Prof. Soetjipto, dr., M.S., Ph.D. yang telah banyak memberikan motivasi sehubungan dengan penyelesaian studi.

Ketua Peminatan Studi Ilmu Biokimia Prof. Sri Utari Purnomo, dr., Sp. BK. yang selalu memberikan bimbingan dan motivasi sejak saya diterima sebagai mahasiswa Program Pascasarjana Universitas Airlangga sampai tahap penyelesaian studi.

Panitia Penguji Tesis, Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr., Sp.BK., Prof. Sri Utari, dr., Sp.BK., Dr. Harianto Notopuro, dr., M.S., Bapak Edhi Rianto, dr., M.S., dan Bapak Muh. Cholil Munif, dr., AIF., atas kesediaannya menjadi tim penguji dan penilai tesis yang telah banyak memberi masukan, kritik, saran untuk penyempurnaan mulai dari usulan proposal penelitian hingga perbaikan tesis ini.

Seluruh staf pengajar Program Pascasarjana Universitas Airlangga, yang telah banyak memberikan bekal ilmu yang sangat berguna.

Seluruh staf dan karyawan Laboratorium Ilmu Biokimia FK UNAIR cq. Bapak Suheri yang telah banyak memberikan bantuan sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Kedua orangtua saya (Bapak Harijono, SE dan Ibu Prof. Retno Handayani, dr., M.S., Ph.D.) yang tercinta yang dengan susah payah mengasuh, membesarkan memberikan landasan hidup yang kokoh bagi saya serta bantuan moril maupun materiil untuk keberhasilan saya dalam menyelesaikan studi. Papa dan Mama, kalian adalah yang terbaik

Kedua Mertua saya (Bapak Nuril Anwar, drs., AMD. dan Ibu Nuryati) yang dengan kasih sayang memberikan dorongan moril dan materiil sampai selesainya pendidikan.

Suami tercinta mas Bambang Pujo Semedi, dr dan putra tersayang Haidar Mahdian yang telah memberikan segalanya dan dengan penuh ketabahan dan kesabaran, serta pengorbanannya membantu kelancaran saya menyelesaikan studi.

Adik-adik tercinta yang telah memberikan motivasi untuk keberhasilan saya dalam studi.

Rekan peminatan Ilmu Biokimia angkatan 2001/2002 Hittah Wahid Sudrajat, drs., Tajudin Abdullah, Ir., Nur Adi, Ssi., yang telah banyak memberikan bantuan selama pendidikan.

Rekan sekaligus sahabatku Juliet Tangka, S.Pd. yang telah banyak membantu dan memberikan sumbangan pikiran serta semangat untuk belajar sehingga saya dapat menyelesaikan studi dengan baik.

Kepada seluruh keluarga dan handai tolan yang telah memberikan bantuan kepada saya sejak awal hingga akhir studi di Pascasarjana Universitas Airlangga.

Semua bantuan yang saya peroleh tidak dapat dibalas dengan apapun jua, selain mengharapkan imbalan dari Yang Maha Kuasa, semoga apa yang telah diberikan merupakan ibadah. Saya menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan. Semoga tesis ini bermanfaat. Amin Yarabba Alamiin

Surabaya, 9 September 2003

Arina Setyaningtyas



## RINGKASAN

### PENGARUH SUPLEMENTASI AGAR-AGAR TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL, KOLESTEROL *LDL*, KOLESTEROL *HDL* DAN TRIASILGLISEROL PADA SERUM TIKUS (*Rattus norvegicus*) DENGAN DIET TINGGI LEMAK

Agar-agar merupakan makanan yang kaya serat yang belum banyak diteliti peranannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian suplementasi agar-agar terhadap kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* serta triasil gliserol di dalam serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak

Pada penelitian ini digunakan 36 tikus jantan, *strain Wistar*, umur sekitar 3 bulan dan berat badan berkisar 200 gram, yang secara acak dikelompokkan menjadi 3, yaitu: kelompok kontrol (K1) dan 2 kelompok perlakuan (P1 dan P2). Masing-masing kelompok terdiri dari 12 ekor tikus. Semua dibuat hiperkolesterolemia dengan diberikan pakan tinggi lemak selama 6 minggu. Kelompok K1 mendapat diet tinggi lemak tanpa suplementasi larutan agar-agar, kelompok P1 mendapat diet tinggi lemak dengan suplementasi larutan agar-agar 0,6 ml/hari (serat 80 mg/hr), kelompok P2 mendapat diet tinggi lemak dengan suplementasi larutan agar-agar 3 ml/hari (serat 350 mg/hr). Makanan perlakuan dan minuman (air PDAM tanpa pengolahan) diberikan *ad libitum* selama 4 minggu.

Pada akhir perlakuan dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan triasilgliserol diperiksa dengan menggunakan metoda *CHOD-PAP*, *PVS*, *CHOD-PAP*, dan *GPO-PAP*, yang selanjutnya dibaca dengan spektrofotometer (panjang gelombang 500 nm).

Dari analisis statistik tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara rata-rata hitung berat badan awal, berat badan akhir, dan selisih berat badan antar ketiga kelompok. Penurunan yang bermakna didapatkan pada kadar kolesterol total dan kolesterol *LDL* dalam serum pada kelompok P1 dan P2, dan antara P1 dan P2 dengan penurunan pada P2 lebih besar. Penurunan yang bermakna juga didapatkan pada kadar kolesterol *HDL* pada kelompok P1 dan P2, serta tidak didapatkan penurunan yang bermakna pada kadar triasilgliserol.

Disimpulkan bahwa komponen serat dalam agar-agar berperan menurunkan kadar kolesterol total, kolesterol *LDL* dan kolesterol *HDL* dalam serum, namun tidak didapatkan penurunan kadar triasilgliserol walaupun mekanisme penurunan kolesterol *HDL* dalam penelitian ini belum dapat dijelaskan sepenuhnya.



## SUMMARY

### THE EFFECT OF AGAR-AGAR SUPPLEMENTATION IN TOTAL CHOLESTEROL, *LDL* CHOLESTEROL, *HDL* CHOLESTEROL AND TRIACYLGLYCEROL LEVELS IN RATS (*Rattus Norvegicus*) SERA ON HIGH LIPID DIET

The effect of Agar-agar as dietary fibers are uncertain. The aim of this study was to observe the changes in serum total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and triacylglycerol levels in rats (*Rattus norvegicus*) sera on high lipid diet where agar-agar was supplemented on diet.

Thirty-six Wistar rats, aged about 3 months and 200 gram weights were separated into 3 groups, each consisted of 12 rats, i.e. : one control Group (group K) and 2 treatment groups (P1 and P2). To make hypercholesterolemic state, the animals were given high lipid diet in 6 weeks. During the treatment period, group K were given high lipid diet without agar-agar supplementation, group P1 and P2 were given high lipid diet with agar-agar supplementation 80 mg/day and 350 mg/day respectively. Agar-agar solution were sonded directly into rats stomach using baby sonde no. 10. Food and water were given freely (ad libitum) for 4 weeks.

The total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and triacylglycerol levels were assayed using CHOD-PAP, PVS, CHOD-PAP, and GPO-PAP methods respectively, read by single beam spectrophotometer using 500 nm wave length.

In statistical analysis, no significant differences in the body weights before and after the treatment were observed between the groups. However significant decreases of total cholesterol, LDL cholesterol and HDL cholesterol levels in rat sera were observed in both treatment groups as compared to those in control group and between P1 and P2 groups ( $p < 0,01$ ) but no significant differences in triacylglycerol serum level was found.

In conclusion, fiber in agar solution can act to reduce total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol in serum and has no effect in triacylglycerol serum, although the mechanism of reducing of HDL cholesterol is unclear.

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF AGAR-AGAR SUPPLEMENTATION TO THE TOTAL OF CHOLESTEROL LEVELS, *LDL* CHOLESTEROL, *HDL* CHOLESTEROL AND TRIACYLGLYCEROL LEVELS IN RATS (*Rattus Norvegicus*) SERA ON HIGH LIPID DIET

ARINA SETYANINGTYAS

The effect of agar-agar on total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and triacylglycerol levels in hypercholesterolemic rats (*Rattus norvegicus*) sera with high lipid diet are unwell known.

The study of the influence of agar-agar supplementation with different dose in hypercholesterolemic rats was performed to know the effect in serum total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and triacylglycerol levels, respectively. Thirty-six hypercholesterolemic rats were divided into 3 groups, i.e. control group (K), treatment group 1 (P1) and treatment group 2 (P2).

Multivariate Analysis of Variance (Manova) and Least Significance Difference (LSD) were used to test the data on the effect of agar-agar solution on serum total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and triacylglycerol levels.

In conclusion, this study reveals that supplementation with agar-agar 80 mg/day (0,6 ml) and 350 mg/day (3 ml) were associated with significant decreases of total cholesterol, LDL cholesterol serum levels and HDL cholesterol levels but not on weight gain and triacylglycerol serum levels. Triacylglycerol serum levels were not significantly influenced by agar-agar.

**Key word : Agar-agar, Total cholesterol serum levels, LDL cholesterol serum levels, HDL Cholesterol serum levels, Triacylglycerol serum levels.**

## DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Persetujuan.....	iv
Penetapan Panitia.....	v
Ucapan terima kasih.....	vi
Ringkasan.....	ix
Summary.....	xi
Abstract.....	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN.....	xix
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Serat dalam Makanan.....	5
2.2. Agar-agar.....	6
2.3. Lipoprotein Darah.....	10
2.5. Kolesterol dan Triasilgliserol.....	21
2.5.1. Kolesterol.....	21
2.5.2. Triasilgliserol.....	31
2.6. Peran Agar-agar terhadap Diet Tinggi Lemak.....	34
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	36

3.1. Dasar Teori.....	36
3.2. Kerangka Konseptual Penelitian.....	39
3.3. Hipotesis Penelitian.....	40
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>41</b>
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian.....	41
4.1.1. Jenis Penelitian.....	41
4.1.2. Rancangan Penelitian.....	41
4.2. Populasi, Sampel, Besar sampel dan Tehnik Pengambilan Sampel.....	43
4.2.1. Populasi sampel.....	43
4.2.2. Besar sampel.....	43
4.2.3. Teknik pengambilan sampel dan data.....	44
4.2.4 Teknik Suplementasi Agar-agar.....	45
4.3. Variabel Penelitian.....	45
4.3.1. Klasifikasi Variabel.....	45
4.3.2. Definisi Operasional.....	46
4.4. Bahan Penelitian.....	47
4.4.1. Hewan Coba.....	47
4.4.2. Pakan untuk membuat hiperkolesterolemia.....	48
4.4.3. Agar-agar.....	48
4.5. Peralatan yang Diperlukan.....	49
4.5.1. Peralatan untuk kandang.....	49
4.5.2. Peralatan untuk perlakuan.....	49
4.5.3. Peralatan untuk Pengambilan Sampel Serum.....	49
4.5.4. Sampel Darah.....	50
4.6. Prosedur Penelitian.....	50
4.6.1. Tahap Pra Perlakuan.....	50
4.6.2. Tahap Perlakuan.....	51
4.6.3. Tahap Analisis Sampel.....	52
4.6.3.1. Penimbangan Berat Badan.....	52
4.6.3.2. Pemeriksaan Laboratorium.....	52
4.7. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	56
4.7.1. Lokasi Penelitian.....	57
4.7.2. Waktu Penelitian.....	57
4.8. Cara Analisis Data.....	57

<b>BAB 5. ANALISIS HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>59</b>
5.1. Berat Badan.....	59
5.2. Pemeriksaan Laboratorium.....	62
5.2.1. Kadar Kolesterol Total, Kolesterol <i>LDL</i> , Kolesterol <i>HDL</i> dan Triasilgliserol (mg/dl) kelompok Standar dan Diet Tinggi Lemak.....	62
5.2.2. Hasil Analisis Statistik Deskriptif dan Uji <i>Pairwise Comparison</i> Kadar Kolesterol Total, Kolesterol <i>LDL</i> , Kolesterol <i>HDL</i> dan Triasilgliserol (mg/dl) kelompok Sesudah Perlakuan.....	64
<b>BAB 6. PEMBAHASAN.....</b>	<b>67</b>
6.1. Berat Badan.....	67
6.2. Kadar Kolesterol Total, Kolesterol <i>LDL</i> , Kolesterol <i>HDL</i> dan Triasilgliserol (mg/dl) kelompok Standard dan Diet Tinggi Lemak.....	68
6.3. Kadar Kolesterol Total, Kolesterol <i>LDL</i> , Kolesterol <i>HDL</i> dan Triasilgliserol (mg/dl) Sesudah Perlakuan.....	68
6.3.1. Kadar Kolesterol Total.....	68
6.3.2. Kadar Kolesterol <i>LDL</i> .....	71
6.3.3. Kadar Kolesterol <i>HDL</i> .....	72
6.3.4. Kadar Triasilgliserol.....	72
<b>BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>75</b>
7.1. Kesimpulan.....	75
7.2. Saran.....	75
<b>KEPUSTAKAAN.....</b>	<b>77</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Apoprotein lipoprotein plasma manusia.....	12
Tabel 2.2. Komposisi lipoprotein dalam plasma manusia.....	21
Tabel 5.1. Hasil Analisis Statistik Pertambahan Berat Badan Akhir Hewan Coba (gram) dengan Diet Standar dan Diet Tinggi Lemak .....	60
Tabel 5.2. Hasil Analisis Berat Badan Hewan Coba (gram) pada Awal dan Akhir Perlakuan.....	61
Tabel 5.3. Hasil Uji <i>Manova, Multiple Comparison</i> Berat Badan Kelompok Perlakuan dengan Kelompok Kontrol.....	62
Tabel 5.4 Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total Serum Sebelum Perlakuan.....	63
Tabel 5.5. Hasil Analisis Deskriptif Kadar Kolesterol Total, Kolesterol <i>LDL</i> , Kolesterol <i>HDL</i> dan Triasilgliserol Kelompok Perlakuan.....	64
Tabel 5.6. Hasil Uji <i>Pairwise Comparison</i> Kadar Kolesterol Total, Kolesterol <i>LDL</i> , Kolesterol <i>HDL</i> dan Triasilgliserol Kelompok Perlakuan.....	65



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Struktur Agar-agar.....	8
Gambar 2.2 Struktur Umum Suatu <i>Lipoprotein</i> Plasma.....	10
Gambar 2.3. Pembentukan dan Sekresi Kilomikron dan <i>VLDL</i> .....	14
Gambar 2.4. Perjalanan Metabolik Kilomikron.....	15
Gambar 2.5. Perjalanan Metabolik <i>VLDL</i> /.....	16
Gambar 2.6. Metabolisme <i>HDL</i> .....	20
Gambar 2.7. Biosintesis <i>mevalonat</i> .....	24
Gambar 2.8. Pembentukan <i>Squalene</i> dari <i>Mevalonat</i> .....	26
Gambar 2.9. Biosintesis Kolesterol.....	27
Gambar 2.10. Jalur Reaksi Pembentukan Asam Empedu.....	30
Gambar 2.11. Biosintesis Triasilgliserol dan Fosfolipid.....	33
Gambar 5,1, Rerata Berat Badan Akhir Kelompok Hewan Coba dengan Diet Standar dan Diet Tinggi Lemak.....	60
Gambar 5.2. Rerata Berat Badan Tikus pada Awal dan Akhir Perlakuan.....	61
Gambar 5.3. Rerata Kadar Kolesterol Total, Kolesterol <i>LDL</i> , Kolesterol <i>HDL</i> dan Triasilgliserol Kelompok Awal Perlakuan.....	63
Gambar 5.4. Kadar Kolesterol Total, Kolesterol <i>LDL</i> , Kolesterol <i>HDL</i> dan Triasilgliserol Tikus yang diberi Diet Kontrol, P1 (0,6 ml agar-agar) dan P2 (3 ml agar-agar).....	65

## DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

LAMPIRAN 1 Data Dasar Kolesterol Total, Kolesterol <i>LDL</i> , Kolesterol <i>HDL</i> dan Triasilgliserol Uji Pendahuluan.....	81
LAMPIRAN 2 Perhitungan Jumlah Sampel .....	82
LAMPIRAN 3. Komposisi Diet Standar (Formula Lab. I.Biokimia FK Unair).....	86
LAMPIRAN 4. Komposisi Diet Tinggi Lemak (Formula Lab. I.Biokimia FK Unair ).....	87
LAMPIRAN 5. Komposisi makanan tinggi lemak untuk kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.....	88
LAMPIRAN 6 Tabel Konversi Tikus.....	89
LAMPIRAN 7 Perhitungan Dosis Penggunaan Agar-agar.....	90
LAMPIRAN 8 Penentuan kadar TDF ( <i>Total Dietary Fiber</i> ) AOAC.....	93
LAMPIRAN 9 Data Berat Badan Tikus Dengan Diet Standar.....	95
LAMPIRAN 10 Data Berat Badan Tikus Dengan Diet Tinggi lemak selama 6 minggu.....	96
LAMPIRAN 11 Data Berat Badan Tikus Dengan Diet Tinggi lemak selama 6 minggu pada Awal dan Akhir Perlakuan.....	97
LAMPIRAN 12 Hasil Pemeriksaan Kolesterol Total, Kolesterol <i>LDL</i> , Kolesterol <i>HDL</i> dan Triasilgliserol.....	98
LAMPIRAN 13 Analisis Statistik.....	100

## DAFTAR SINGKATAN

AOAC	: Association of Official Analytical Chemistry
Asetil KoA	: Asetil Koenzim A
CHOD PAP	: Cholesterol Oxidase Paraamino Phenazone
GPO PAP	: Glycerol Phospate Oxidase Paraamino Phenazone
HMG KoA Reduktase:	Hidroksimetil glutaril Koenzim A reduktase
K--LDL	: Kolesterol <i>Low Density Lipoprotein</i>
K-HDL	: Kolesterol <i>High Density Lipoprotein</i>
LCAT	: Lecithin-cholesterol acyl transferase
LP	: <i>Lipoprotein</i> lipase
PVS	: Polyvinil Sulfat
TG	: Triasilgliserol
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Di Indonesia, peringkat penyakit kardiovaskuler sebagai penyebab kematian semakin meningkat. Secara umum faktor risiko penyakit kardiovaskuler meliputi : faktor resiko primer, yang mencakup hipertensi, merokok dan hiperkolesterolemia serta faktor resiko sekunder yang meliputi : obesitas, diabetes melitus, stres, kurangnya aktivitas fisik, ras, genetik, jenis kelamin, hipertrigliseridemia dan meningkatnya usia. Faktor resiko seperti ras, genetik, jenis kelamin dan bertambahnya usia tidak dapat dikendalikan, sedang sebagian besar faktor resiko lain yang berkaitan dengan diet masih dapat dikendalikan (Linder, 1992; Binsar TB, 2001).

Peningkatan insiden penyakit kardiovaskuler terutama berhubungan dengan meningkatnya kesejahteraan penduduk dan ketersediaan makanan yang mengakibatkan terjadinya perubahan pola konsumsi yang mengarah ke jenis-jenis makanan kaya lemak tetapi rendah karbohidrat kompleks, khususnya serat makanan. Studi epidemiologis menunjukkan adanya hubungan antara konsumsi serat makanan yang kurang dengan resiko penyakit kardiovaskuler dan hiperkolesterolemia (Linder, 1992).

Hiperkolesterolemia adalah peningkatan kadar kolesterol dalam darah dari keadaan normal. Dalam keadaan puasa, kolesterol darah diangkut didalam *LDL*, *VLDL* dan *HDL*. Sementara itu kadar triasilgliserol erat kaitannya dengan kadar kolesterol *HDL*,

Pengaturan konsumsi zat gizi merupakan hal termurah dan dapat dilaksanakan oleh semua individu. Oleh karena itu upaya pencegahan penyakit ini lewat pengaturan konsumsi zat gizi menjadi sangat penting untuk dipertimbangkan. Salah satu pengaturan konsumsi zat gizi adalah peningkatan asupan serat makanan.

Kenaikan asupan serat makanan dapat diperoleh dengan menaikkan konsumsi kadar serat makanan dalam produk makanan. Berbagai penelitian, baik penelitian epidemiologis maupun eksperimental membuktikan bahwa penambahan serat tertentu dalam dosis tertentu ke dalam diet mempunyai efek menurunkan kadar kolesterol serum (efek hipokolesterolemik) (Rahmi, 1993). Serat makanan dari agar-agar tampaknya merupakan alternatif yang patut dipertimbangkan, karena mempunyai kadar serat yang cukup tinggi dibandingkan dengan serat makanan yang lain, seperti jamur kuping, mlinjo dan lain-lain. Serat dari agar-agar diharapkan dapat menurunkan absorpsi kolesterol maupun asam empedu dan meningkatkan ekskresi kolesterol sehingga mengakibatkan penurunan kadar kolesterol serum (Rosanne, 1978; Linder, 1992; Shen H, *dkk.* 1998). Akhir-akhir ini di pasaran banyak dijumpai makanan / minuman yang berserat tinggi. Agar-agar merupakan salah satu makanan kaya serat yang banyak dijumpai di pasaran dan belum banyak diteliti secara ilmiah peranannya terhadap penyakit kardiovaskuler. Selain kaya serat, agar-agar merupakan makanan yang mudah didapatkan di pasaran dan mudah diolah menjadi bentuk makanan-makanan yang menarik.

Dengan mempertimbangkan hal-hal tersebut diatas maka dirasakan perlu untuk melakukan penelitian tentang pengaruh agar-agar tersebut terhadap kondisi diet tinggi lemak khususnya maupun profil lipid darah pada umumnya yaitu kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan triasilgliserol. Dalam penelitian ini akan diteliti pengaruh suplementasi agar-agar terhadap profil lipid pada serum

tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak, dengan memeriksa kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan triasilgliserol.

Pada penelitian ini digunakan tikus sebagai hewan percobaan karena tikus termasuk golongan omnivora yang mempunyai sistem pencernaan menyerupai sistem pencernaan pada manusia dan menunjukkan kebutuhan gizi seperti pada manusia pula (Pariasa, 1983).

## 1.2. Rumusan Masalah

Hiperkolesterolemia adalah peningkatan kadar kolesterol dalam darah dari keadaan normal. Dalam keadaan puasa, kolesterol darah diangkut didalam *LDL*, *VLDL* dan *HDL*. Sementara itu kadar triasilgliserol erat kaitannya dengan kadar kolesterol *HDL*.

Agar-agar diketahui mempunyai kandungan serat yang cukup tinggi. Dengan kemampuannya menurunkan absorpsi kolesterol maupun asam empedu dan meningkatkan ekskresi kolesterol, diharapkan serat dari agar-agar mempunyai efek hipokolesterolemik. Berdasarkan hal tersebut, maka masalah dapat dirumuskan sebagai berikut :

“Apakah pemberian suplementasi agar-agar dapat menurunkan kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, dan triasilgliserol serta meningkatkan kadar kolesterol *HDL* di dalam serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak”

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

Untuk mengetahui efek pemberian suplementasi agar-agar pada kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, dan triasilgliserol serta kadar kolesterol *HDL* di dalam serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Membuktikan apakah pemberian agar-agar menurunkan kadar kolesterol total pada tikus percobaan (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak
2. Membuktikan apakah pemberian agar-agar menurunkan kadar kolesterol *LDL* pada tikus percobaan (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak
3. Membuktikan apakah pemberian agar-agar meningkatkan kadar kolesterol *HDL* pada tikus percobaan (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak
4. Membuktikan apakah pemberian agar-agar menurunkan kadar triasil gliserol pada tikus percobaan (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak

### **1.4. Manfaat Penelitian**

Bila hasil penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh positif akibat suplementasi agar-agar, yaitu menurunkan kadar kolesterol total dan kolesterol *LDL* pada kondisi hiperkolesterolemia, maka agar-agar dapat dipertimbangkan untuk dimanfaatkan sebagai terapi dietetik dalam menghadapi hiperkolesterolemia maupun untuk mencegah terjadinya penyakit kardio vaskular.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Serat dalam Makanan

Serat merupakan bagian dari makanan yang tidak dapat tercerna secara enzimatis (enzim yang diproduksi oleh manusia) sehingga tidak dipandang sebagai sumber zat makanan (Burton B, 2000). Yang termasuk dalam kategori serat adalah selulosa dan hemiselulosa dari dinding sel tanaman, pektin (bagian dari buah-buahan), dan *gum gummy*, yang merupakan komponen non struktural sel tanaman (banyak didapatkan pada apel dan bagian putih dari jeruk). *Lignin* juga bagian dari serat bahan makanan tetapi bukan karbohidrat, melainkan polimer fenilpropane (Rosanne, 1978; Linder, 1992; Doyle, 1995; Ramberg, Glycoscience-2003; Jahari 2001).

Serat adalah istilah / pemberian nama yang sebenarnya salah, karena serat tersebut sebenarnya tidak berbentuk serat, yang panjang berupa benang dan sebenarnya sebagian dapat larut. Serat yang kaya selulosa dapat merangsang perpindahan bahan makanan melalui saluran pencernaan. Pektin yang berbentuk gel banyak mengandung air, dan *gum* dapat menghambat pengosongan lambung, serta membentuk gel dalam usus kecil, sehingga akan menghambat penyerapan disakarida dan monosakarida. Ada korelasi langsung antara kadar serat diet (selulosa dan hemiselulosa) dan laju zat-zat makanan yang dimakan di dalam saluran pencernaan. Diet yang banyak mengandung selulosa / serat akan berjalan lebih cepat dalam saluran cerna karena meningkatnya volume feses (Gaman, *dkk*, 1981; Broen 1999; Jahari, 2001).

Meningkatnya kolesterol dalam darah, merupakan salah satu faktor resiko aterosklerosis (Setiawan, 2000). Pengikatan asam empedu oleh serat bahan makanan



tertentu terutama pektin dan *carageenan* (salah satu jenis rumput laut), dapat menurunkan kadar kolesterol plasma dan asam-asam empedu yang merupakan metabolit degradatif dari kolesterol. Serat yang dapat larut juga memperlambat pengosongan lambung, sehingga menunda atau mengurangi kenaikan kadar glukosa sesudah makan. Efek ini sangat menguntungkan bagi para penyandang diabetes dan bagi mereka yang menjalankan diet karena akan menyebabkan penurunan gula darah dan selera makan (Rosanne 1978; Linder, 1992; Schneeman 1999; Broen, *dkk*, 1999; Hilario, 2003; Tony, *Nutriweb-2003*).

## 2.2. Agar-agar

Agar-agar adalah salah satu hasil produksi rumput laut, diekstraksi dari sejenis *Algae* yang diketahui sebagai sumber nutrisi. *Algae* dikemukakan dapat meningkatkan kekebalan tubuh dan menambah jumlah sel darah putih. Ditinjau dari segi kandungan protein, *beta-carotene* dan klorofil, maka *algae* cocok dijadikan suplemen untuk menjaga kesehatan.

Saat ini ada empat jenis *Algae* yang diketahui sebagai sumber nutrisi, yaitu : *blue green algae (BGA)*, *spirulina*, *chlorella*, dan *red marine algae (RMA)*. Agar-agar yang lazim konsumsi umumnya berasal dari RMA (Hoppe, *dkk*, 1979).

Agar-agar umumnya diproduksi dari rumput laut yang tergolong dalam kelas *Rhodophyceae* (RMA/ganggang merah), namun sebaliknya tidak semua ganggang merah dapat diolah menjadi agar-agar. Atas dasar kemampuannya menghasilkan agar-agar, Tseng (1944) mengelompokkan ganggang merah menjadi dua kelompok, yaitu *Agarophyte* dan *Agaroidophyte* (Winarno, 1996).

*Agarophyte* adalah kelompok ganggang merah yang dapat digunakan sebagai bahan-bahan baku pembuatan agar-agar yang biasa dikonsumsi. Sedangkan

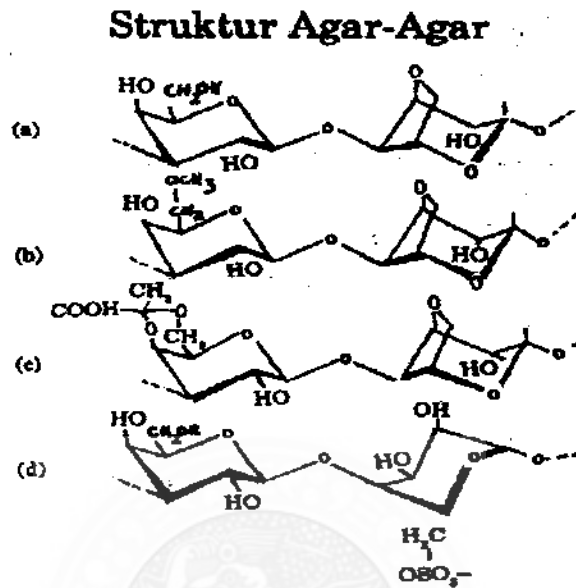
*Agaroidophyte* merupakan kelompok ganggang merah yang memproduksi senyawa yang mempunyai sifat seperti agar-agar tetapi dengan daya gelasi dan viskositas yang berbeda. Dari kelompok *Agarophyte*, yang terkenal adalah spesies dari genus *Gelidium*, beberapa spesies dari genus *Gracilaria*, spesies *Pterocladia*, spesies *Acanthopeltis japonica*, dan *Ahnfeltia plicata*. Spesies dari genus *Eucheuma* juga termasuk dalam kelompok ini, akan tetapi produknya yang berupa *Eucheuma* memiliki sifat di tengah antara agar-agar dan *carageenan*. Sedangkan *Gigartina* dan *Hypnea*, walaupun termasuk kelas *Rhodophyceae* seperti *Eucheuma*, namun produknya mempunyai sifat yang lebih mirip *carageenan* (Winarno, 1996; Tim Penulis PS, dkk, 2003).

Agar-agar umumnya dipasarkan dalam bentuk produk kering, tak berbentuk (*amorphous*) mempunyai sifat seperti *gelatin* dan merupakan hasil ekstraksi non-nitrogen dari ganggang *Gelidium* dan kelompok *Agarophyte* lainnya. Molekul agar-agar terdiri dari rantai *linear* galaktan. Galaktan adalah polimer dari galaktosa. Di dalam agar-agar, galaktan dapat berupa rantai *linear* yang netral atau sudah teresterifikasi dengan metil atau asam sulfat. Galaktan yang sebagian monomer galaktosanya membentuk ester dengan metil, disebut *agarosa*, sedangkan galaktan yang mempunyai bagian yang teresterifikasi dengan asam sulfat, dikenal sebagai *agaropectin*. Struktur kedua jenis galaktan penyusun agar-agar ini ditunjukkan pada gambar 2.1.

Berdasarkan kandungan ester inilah, agar-agar dibedakan dengan *carageenan*. Agar-agar memiliki kandungan ester yang lebih rendah (5 %), sedangkan *carageenan* mempunyai kandungan ester 20% sampai 50 %.

Perbedaan agar-agar dengan *carageenan* dapat diamati secara visual, namun secara spesifik dapat dibedakan dengan *enzim agarase* yang diperoleh dari bakteri

*Pseudomonas atlanticum*, yang mempunyai kemampuan menghidrolisis agar-agar, tetapi tidak dapat menghidrolisis *carageenan* (Winarno, 1996).



Gambar 2.1. Struktur Agar-agar (Sumber: Winarno, 1996)

- (a) *Neutral agarosa*; (1→3) D-galaktosa dan (1→4) anhydrous-L-galaktosa
- (b) *Methylated agarosa*; (1→3) 6-0-methyl-D-galaktosa dan (1→4) anhydrous-L-galaktosa
- (c) *Pyruvated agarosa*; (1→3) 4,6 (0-1 carboxyethylene) D-galaktosa dan (1→4) anhydrous-L-galaktosa
- (d) *Sulphated galactan*; (1→3) D-galaktosa dan (1→4) L-galaktosa-6-sulphate

Karbohidrat agar-agar terdiri dari galaktosa dengan proporsi yang berbeda-beda, yang dihubungkan satu dengan lainnya melalui ikatan (1-4) membentuk *agarosa* dan *agaropectin*. *Agaropectin* mempunyai struktur seperti *agarosa* dengan residu asam serta D-asam glukuronat dan asam piruvat. Penelitian terakhir menyatakan bahwa agaropektin merupakan campuran dari (1-3) dengan (1-4) galaktosa dan (3-6) anhidrousgalaktosa, serta sebagian asam sulfat dan asam D-glukuronat (Winarno, 1996).

*Agaropectin* dapat dipisahkan dari *agarosa* dengan cara pengendapan *agaropectin* menggunakan garam *ammonium kuartener* atau *propilen glicol*. *Agarosa* merupakan komponen agar-agar yang mendasari proses gelasi agar-agar. Disamping itu, viskositas dan daya gelasi agar-agar tergantung pada cara produksi dan jenis ganggang yang digunakan, serta kandungan sulfat yang terdapat pada agar-agar tersebut. Kenaikan kandungan sulfat akan menurunkan kapasitas gelasi agar-agar (Winarno, 1996).

Agar-agar pada suhu 25<sup>0</sup> C tidak larut dalam air dingin tetapi larut dalam air panas, etanol amida dan formida. Pada suhu 32-39<sup>0</sup>C agar-agar berbentuk padat yang tidak mencair lagi pada suhu dibawah 80<sup>0</sup>C (Winarno, 1996; Tim Penulis PS, 2003).

Larutan 1 % agar-agar pada suhu 35<sup>0</sup>C -50<sup>0</sup>C sudah cukup untuk membuat gel yang kuat dengan titik cair 80<sup>0</sup>C -100<sup>0</sup>C. Larutan 1 % dan 1,5 % agar-agar pada suhu 45<sup>0</sup>C, serta pH 4,5-9,0 mempunyai viskositas 2-10 *centipoices*. Dalam keadaan kering, agar-agar sangat stabil, tetapi pada suhu tinggi dan pH rendah agar-agar akan mengalami degradasi (Winarno, 1996; Tim Penulis, 2003).

Kandungan serat dalam suatu bahan makanan dapat diketahui dengan melakukan analisis pada bahan makanan tersebut. Metode analisis yang dapat digunakan dalam menganalisis kandungan serat adalah metode AOAC. Metode ini dapat dilihat pada lampiran 8 halaman 93 (Cunniff 1995).

Agar-agar yang diperoleh dari sari rumput laut diketahui mengandung serat yang cukup tinggi. Dari hasil analisis dapat diketahui, bahwa agar-agar Jepang mengandung 16 % - 20 % air, 2,3 % - 5,9 % protein; 0,3 % - 0,55 % lemak; 67,85 % - 76,15 % karbohidrat; serta 3,4 % - 3,6 % abu (Winarno, 1996).

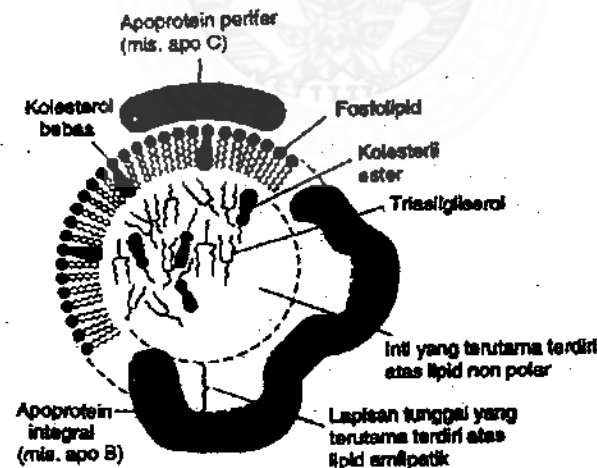
Salah satu agar-agar yang dijual di pasaran Indonesia dengan merek tertentu yang telah terdaftar pada Direktorat Gizi, Balai Pengawasan Obat dan Makanan

mengandung 0,03 g lemak, 5,92 g karbohidrat dimana didalamnya mengandung 5,88 g serat (*dietary fiber*), 0,01 g protein, 0,05 mg *calcium*, dan 0,02 mg *iodine* dalam setiap 7 gram agar-agar bubuk. Dari petunjuk kemasan, untuk memasak setiap 7 gram agar-agar bubuk, diperlukan air sebanyak 900 cc.

### 2.3. Lipoprotein Darah

Kolesterol dan triasilgliserol dalam cairan tubuh diangkut dalam bentuk partikel-partikel lipoprotein (Stryer, 2000)

*Lipoprotein* terdiri atas senyawa lipid non polar (triasilgliserol dan kolesterol ester) dan diatasnya dilapisi lipid amfipatik (kolesterol dan fosfolipid) serta protein sehingga *lipoprotein* ini dapat bercampur dengan air. Semua ini tersusun sehingga gugus polarnya menghadap ke luar media akuoas, seperti dalam membran sel (Gambar 2.2) (Mayes, 1999b).



Gambar 2.2. Struktur umum suatu *lipoprotein* plasma (Sbr : Mayes, 1999b)

Dengan tehnik ultrasentrifugasi, *lipoprotein* plasma dapat dipisahkan berdasarkan densitasnya menjadi beberapa fraksi: Kilomikron, *Very Low Density*

*Lipoprotein (VLDL), Intermediate Density Lipoprotein (IDL), Low Density Lipoprotein (LDL) dan High Density Lipoprotein (HDL)*. Perbedaan densitas tersebut diakibatkan oleh perbedaan proporsi lipid terhadap protein dalam lipoprotein. Berdasarkan penggolongan diatas, maka berturut-turut dari kilomikron, *VLDL, IDL, LDL, HDL* densitasnya bertambah besar. Bila kandungan proteinnya meningkat, kandungan lipidnya dan juga diameter partikel-partikel akan semakin berkurang (Mayes, 1999b; Rianto, 2000; Seriawan, 2000). Selain penggunaan teknik yang bergantung pada densitasnya, lipoprotein dapat pula dipisahkan menurut sifat-sifat elektroforesisnya menjadi  *$\beta$ -lipoprotein, pre  $\beta$ -lipoprotein,  $\alpha$ -lipoprotein* dan kilomikron. Ternyata  *$\alpha$ -lipoprotein* yang didapatkan dengan metode elektroforesis ini sesuai dengan fraksi *HDL*. Sedangkan *pre- $\beta$ -lipoprotein* sesuai dengan *VLDL* dan  *$\beta$ -lipoprotein* sesuai dengan *LDL* (Mayes, 1999b).

### 2.3.1. *Apolipoprotein (Apoprotein)*

*Lipoprotein* ditandai oleh adanya satu atau lebih protein atau polipeptida yang dikenal sebagai apoprotein. Menurut tata nama *ABC*, *apoprotein* utama pada *HDL* ( *$\alpha$ -lipoprotein*) diberi simbol *A*. Apoprotein utama dari *LDL* ( *$\beta$ -lipoprotein*) adalah *apoprotein B*, yang juga ditemukan pada *VLDL* dan kilomikron. Akan tetapi *Apo-B* dari kilomikron (*apoprotein B-48*) lebih kecil daripada *apo-B* pada *LDL* atau *VLDL* (*apoprotein B-100*). *Apoprotein B-48* disintesis di usus dan *apoprotein B-100* di hati (pada hati tikus, membentuk *apoprotein B-100* dan *apoprotein B-48* ini). *Apoprotein B-100* merupakan salah satu polipeptida tunggal terpanjang yang diketahui memiliki 4536 asam amino. *Apo B-48* (besarnya 48 % dari besar *B100*) di bentuk dari mRNA yang sama seperti halnya *apoB-100*. *Apoprotein C-I, C-II, C-III* merupakan polipeptida yang berukuran lebih kecil yang ditemukan dalam *VLDL, HDL* dan

kilomikron dan dapat dipindahkan secara bebas di antara beberapa lipoprotein yang berlainan(Tabel-2.1).

Tabel 2.1. Apoprotein lipoprotein plasma manusia (Sbr : Mayes, 1999b)

Apoprotein	Lipoprotein	Asam Asam C-Terminal	Jumlah Residu Asam Asam	Berat Molekul	Adanya Residu Karbohidrat	Keterangan Tambahan
A-I	HDL, chylomicron	Glutamin	245	28.300	+	Aktivator lesitin: kolesterol asil-transferase (LCAT)
A-II	HDL, chylomicron	Glutamin	57 X 2	17.000	-	Strukturanya adalah 2 monomer yang identik yang dihubungkan oleh jembatan disulfida.
A-IV	HDL, chylomicron	?	?	46.000	?	?
B-100	LDL, VLDL, IDL	?	?	?	+	Ditrasns dalam hati.
B-48	Chylomicron, sisa chylomicron	?	?	?	+	Ditrasns dalam usus.
D-I	VLDL, HDL, chylomicron	Serin	57	8631	-	Menghimpun aktivator LCAT.
C-II	VLDL, HDL, chylomicron	Asam glutamat	?	8827	-	Aktivator lipoprotein lipase ekstraseluler.
C-III	VLDL, HDL, chylomicron	Alanin	78	8784	+	Beberapa bentuk polimerik tergantung pada kadar asam esigat.
D	Subfraksi HDL	?	?	20.000	+	Mungkin identik dengan kolesterol ester transfer protein.
E (kaya protein)	VLDL, HDL, chylomicron, sisa chylomicron	Metionin	?	34.000	+	Terdapat berlebihan pada $\beta$ -VLDL dan hiperlipoproteinemia tipe III.

Karbohidrat membentuk sekitar 5 % *apo-B* dan mencakup manosa, galaktosa, fruktosa, glukosa, glukosamin dan asam sialat. Dengan demikian, sebagian *apoprotein* juga merupakan glikoprotein (Tabel 2.1). Apoprotein mempunyai beberapa peranan : (1) merupakan kofaktor enzim, misalnya *apoprotein C-II* untuk lipoprotein lipase, *apoprotein AI* untuk lesitin:cholesterol asil transferase; (2) bertindak sebagai protein pemindah lipid; dan (3) bertindak sebagai ligan untuk interaksi dengan reseptor lipoprotein dalam jaringan, misalnya apo B-100 serta apo E untuk reseptor *LDL*, apo E untuk reseptor lainnya, dan apo A-I untuk reseptor *LDL* (Mayes, 1999b).

### 2.3.2. Kilomikron dan *VLDL*

Kilomikron hanya ditemukan dalam cairan limfe (kilus) yang dibentuk oleh sistem limfatik yang mengalirkan cairan limfe dari usus halus. Kilomikron ini bertanggungjawab atas pengangkutan semua lipid dari makanan ke dalam sirkulasi

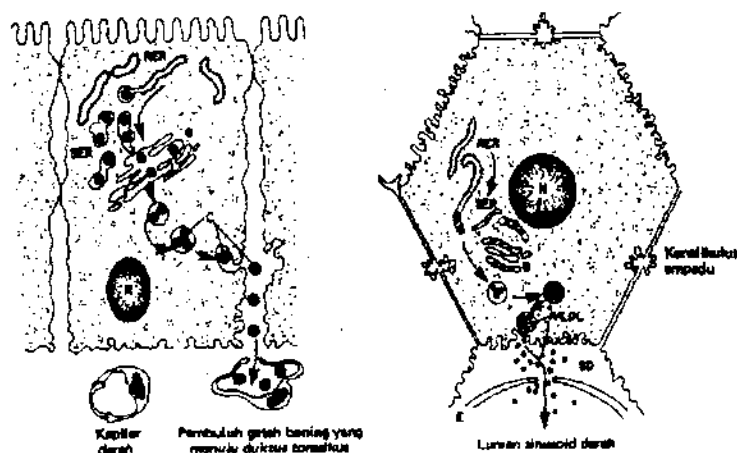
darah. Di lain pihak, pembentukan kilomikron meningkat bersamaan dengan semakin besarnya jumlah triasilgliserol yang diserap. (Mayes, 1999b)

*VLDL* dibentuk di dalam sel-sel parenkim hati. Seperti kilomikron, *VLDL* merupakan alat pengangkut triasilgliserol dari ke hati ke jaringan ekstrahepatik. Terdapat persamaan pembentukan kilomikron oleh sel usus dengan pembentukan *VLDL* (gambar 2.3) (oleh sel parenkim hati). *Apoprotein B* disintesis oleh *ribosom* dalam retikulum endoplasma kasar dan digabungkan ke dalam retikulum endoplasma halus, yang merupakan tempat utama sintesis triasilgliserol, fosfolipid dan kolesterol. *Lipoprotein* juga ada dalam perangkat *Golgi*, dimana diperkirakan terjadi penambahan residu karbohidrat pada lipoprotein. Kilomikron dan *VLDL* dilepas dari sel hati maupun sel usus melalui penyatuan vakuola sekresi dengan membran sel (*reverse pinocytosis*) (Mayes, 1999b).

Kilomikron mengalir ke dalam ruang antar sel-sel usus, dan akhirnya berjalan ke dalam sistim limpatik (*lacteal*) usus yang mengalirkan isinya ke dalam intestinum. *VLDL* disekresi oleh sel parenkim hati menuju ruang *Disse* dan kemudian ke dalam sinusoid hepatica lewat fenestra dalam lapisan endotel. selanjutnya ke dalam sinusoid hati. (Mayes 1999b).

Ketidak mampuan partikel lipid yang berukuran sebesar kilomikron dan *VLDL* untuk melintasi sel endotel kapiler tanpa proses hidrolisis terlebih dahulu mungkin menjadi penyebab mengapa lemak dari makanan memasuki sirkulasi darah melalui pembuluh getah bening (*ductus thoracicus*) dan bukan melalui sistem portal hepar (Mayes 1999b).



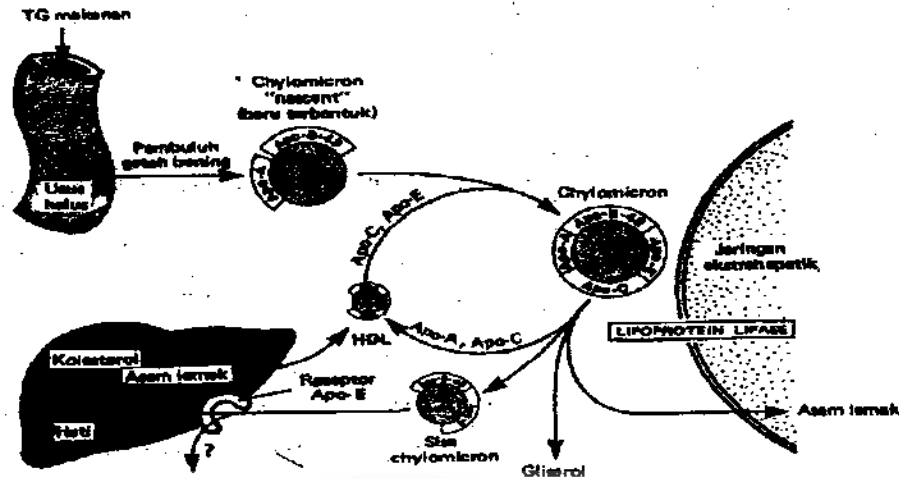


Gambar 2.3. Pembentukan dan sekresi (A) Kilomikron oleh sel usus dan (B) *Very Low Density Lipoprotein* oleh sel hati (RER : *Rough reticulum endoplasmic*, SER : *Smooth reticulum endoplasmic*; G : Kompleks Golgi; N : *Nucleus*; C : *Chylomicron*; VLDL : *Very low density lipoprotein*; E : *Endotelium*; SD : *Space of Disse* yang mengandung plasma darah (Sbr : Mayes, 1999b)

*Apoprotein B* merupakan unsur esensial untuk pembentukan kilomikron dan VLDL. Meskipun kilomikron dan VLDL yang diisolasi dari darah sama-sama mengandung *apoprotein C* dan *E*, lipoprotein yang baru disekresi hanya berisi *apoprotein C* dan *E* sedikit atau tidak mengandungnya sama sekali. *Apoprotein C* dan polipeptida *E* diambil dari HDL dan dipindahkan ke kilomikron dan VLDL, segera setelah kilomikron dan VLDL memasuki sirkulasi (Gambar 2.4 dan 2.5)

Enzim *Lipoprotein lipase* terletak pada dinding kapiler pembuluh darah, diikat oleh rantai proteoglikan dari heparin sulfat dan ditemukan dalam ekstrak jantung, jaringan adiposa, limpa, paru, medula adrenal, aorta, diafragma dan kelenjar mamma yang sedang laktasi serta hati neonatus. Darah normal tidak mengandung enzim LPL, akan tetapi setelah disuntik heparin, LPL dilepas dari ikatan heparin sulfatnya masuk ke dalam sirkulasi dengan disertai hilangnya lemak dalam darah (*lipemia*). Suatu enzim lipase, yaitu lipase hepatic juga dibebaskan dari hati oleh sejumlah besar

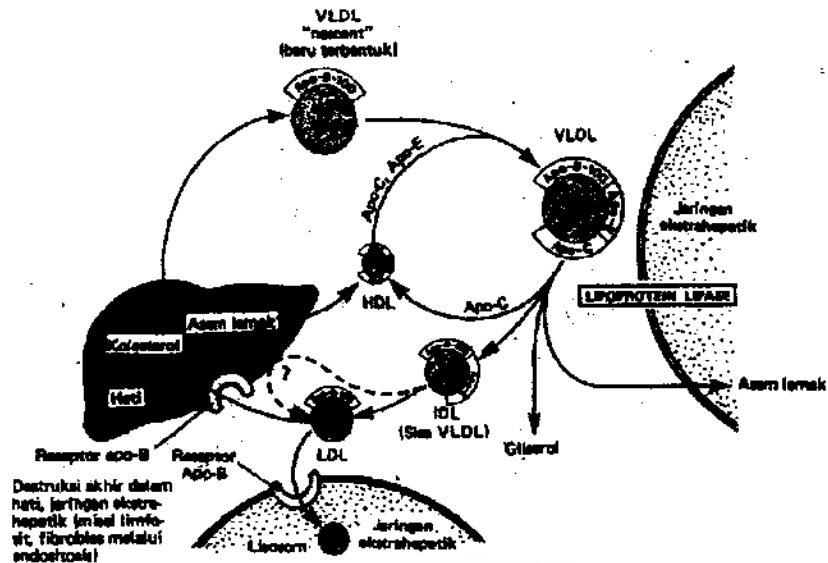
heparin (*heparin-releasable hepatic lipase*), tetapi enzim ini mempunyai sifat berbeda dari *LPL* dan tidak mudah bereaksi dengan kilomikron (Mayes, 1999b).



Gambar 2.4. Perjalanan metabolik Kilomikron (Sbr :Mayes, 1999b)

Baik fosfolipid maupun *apoprotein C-II* diperlukan sebagai kofaktor untuk aktivitas *LPL*. *Apoprotein C-II* mengandung tempat ikatan fosfolipid yang spesifik (Mayes, 1999b).

Hidrolisis berlangsung ketika lipoprotein melekat ke enzim pada endotelium. Triasilgliserol dihidrolisis secara progresif menjadi diasilgliserol kemudian menjadi monoasilgliserol, dan senyawa terakhir ini dihidrolisis menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Sebagian dari asam lemak bebas yang dilepas kembali ke sirkulasi, diangkut oleh albumin, sebagian besar dibawa ke dalam jaringan (Gambar 2.4 dan 2.5).



Gambar 2.5. Perjalanan metabolik *Very Low Density Lipoprotein* (Sbr :Mayes, 1999b)

Reaksi dengan *LPL* akan menyebabkan hilangnya 90 % triasilgliserol pada kilomikron dan hilangnya *apoprotein C* (yang kembali kepada HDL) tetapi bukan apo E (yang tetap bertahan). *Lipoprotein* yang dihasilkan atau sisa kilomikron mempunyai diameter kira-kira separuh diameter kilomikron induk. Ditinjau dari komposisi persentase komponen, sisa kilomikron ini relatif menjadi kaya akan kolesterol dan kolesterol ester karena kehilangan triasilgliserol (Mayes, 1999b).

### 2.3.3. IDL

*Lipoprotein* ini adalah *lipoprotein* sisa *VLDL* yang tertinggal, kaya akan kolesterol ester. Separuh dari *lipoprotein* ini diambil langsung oleh hati melalui reseptor *LDL* dan separuhnya diubah menjadi *LDL* (Mayes, 1999b, Stryer, 2000).

#### 2.3.4. LDL

Sebagian besar *LDL* tidak disintesis pada usus atau hati, tetapi dibentuk dari *VLDL* di dalam sirkulasi darah sebagai hasil akhir katabolisme *VLDL*. Dalam proses katabolisme ini sebagian besar *apoprotein* yang terdapat pada *VLDL* akan terlepas, sehingga *LDL* praktis hanya mengandung *apoprotein B*. Walaupun demikian, akibat banyaknya triasil gliserol yang dihidrolisis dari partikel *VLDL* semula, secara relatif jumlah protein dalam *LDL* menjadi lebih besar. Dibandingkan fraksi-fraksi *lipoprotein* yang lain, *LDL* adalah *lipoprotein* yang paling kaya akan kolesterol (Rianto, 2000).

Pada sel normal, ester kolesterol akan dihidrolisis dari *LDL*, *apoprotein* dipecah di dalam lisosom, kolesterol di translokasi ke dalam sel dan diesterifikasi kembali, aktivitas *HMG-KoA* reduktase ditekan, sehingga sintesis kolesterol di dalam sel akan di hambat. Jumlah tempat pengikatan *VLDL* pada permukaan sel diatur oleh kebutuhan seluler terhadap kolesterol. Kolesterol ini digunakan untuk membran dan sintesis hormon steroid. Sekitar 50 % *LDL* di degradasi di jaringan ekstrahepatik dan 50 % di degradasi di hati (Mayes, 1999b).

*LDL* akhirnya sampai di jaringan-jaringan perifer dan berikatan dengan reseptor-reseptor spesifik yang terdapat pada permukaan sel dari jaringan-jaringan tersebut, kemudian *LDL* masuk ke dalam sel. Kolesterol ester yang terdapat dalam *LDL* ini di dalam sel dihidrolisis menjadi kolesterol bebas, untuk digunakan bagi berbagai keperluan, a.l: untuk menyusun membran sel. Dengan cara inilah jaringan-jaringan tubuh memperoleh sebagian dari kolesterol yang dibutuhkannya (Rianto, 2000).

*LDL* diserap oleh hati melalui proses endositosis yang dibantu oleh reseptor. Endositosis dan pencernaan *LDL* di lisosom juga berlangsung di jaringan luar hati yang memiliki reseptor *LDL* (Marks, 2000).

### 2.3.5. *HDL*

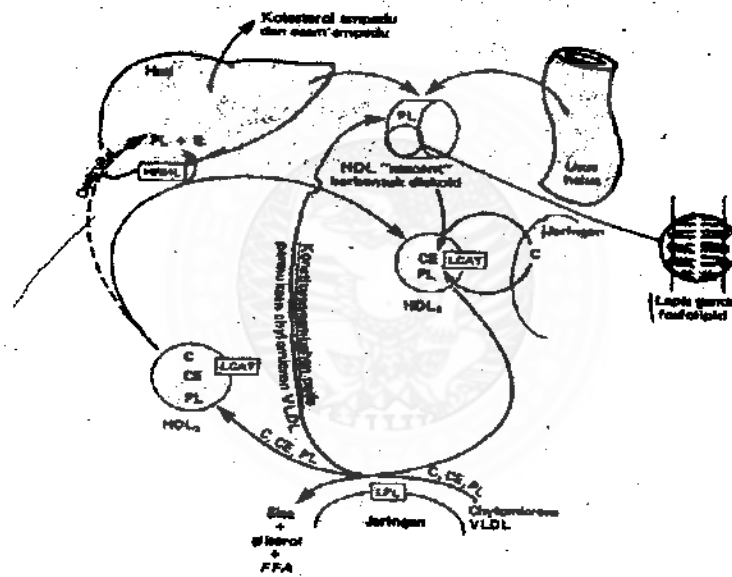
Fraksi *lipoprotein* ini dibentuk pada hati dan usus. Dibandingkan dengan fraksi-fraksi *lipoprotein* yang lain, kandungan protein dalam *HDL* adalah yang terbesar, yaitu berupa *apoprotein-A* dan *apoprotein-C*. Akan tetapi *HDL* yang baru terbentuk (*nascent*) dari usus tidak mengandung *apoprotein-C* ataupun *-E* melainkan hanya *apoprotein-A*. *Apo-C* dan *apo-E* disintesis dalam hati dan dipindahkan kepada *HDL* intestinum ketika *HDL* ini memasuki plasma darah. Komponen lipidnya terutama terdiri dari kolesterol dan fosfolipid, serta hanya sedikit mengandung triasil gliserol. Fungsi utama *HDL* adalah bertindak sebagai tempat penyimpanan *apo-C* dan *apo-E* yang dibutuhkan dalam metabolisme kilomikron dan *VLDL*. *HDL* yang baru dibentuk terdiri atas 2 lapisan fosfolipid diskoid yang mengandung *apoprotein* dan kolesterol bebas. Hamilton dan kawan-kawan mengemukakan bahwa *Lecithin cholesteryl acyl transferase* (*LCAT*) dan aktivator *LCAT apoprotein A-I* berikatan dengan bentuk diskoid *HDL* yang baru dibentuk. Proses katalisis oleh *LCAT* akan mengkonversi kolesterol bebas menjadi ester kolesterol yang ada dipermukaan fosfolipid dan isolesitin. Kemudian ester kolesterol yang merupakan senyawa non polar bergerak ke dalam yang merupakan bagian yang hidrofobik, sedangkan isolesitin dipindahkan ke albumin plasma. Reaksi yang terus menerus akan menghasilkan inti (*core*) non polar yang mendorong lapis ganda (*bilateral*) sampai *HDL* berbentuk sferis dan terbentuk *pseudomisel*, diselimuti lapisan permukaan lipid polar dan *apoprotein* (Mayes, 1999b).

Kolesterol yang teresterifikasi dapat dipindahkan dari *HDL* ke lipoprotein lain yang mempunyai densitas kurang padat, misalnya kilomikron, *VLDL* dan *LDL* oleh protein pemindah ester kolesterol. Hal ini memungkinkan ester kolesterol dari *HDL* diangkut ke hati melalui sisa kilomikron dan *VLDL* atau melalui pengambilan *LDL* oleh hati. Hati dan mungkin usus nampaknya merupakan tempat akhir degradasi *apoprotein HDL* (Marks, 2000; Mayes, 1999b; Rianto, 2000).

*HDL* berperan penting dalam metabolisme kilomikron dan *VLDL* karena memasok *apoprotein C-II* yang diperlukan sebagai kofaktor untuk hidrolisis triasil gliserol yang terdapat di dalam partikel kedua fraksi lipoprotein tersebut. Pada waktu baru disintesis, kilomikron dan *VLDL* tidak mengandung *apoprotein C-II* dan baru mendapat *apoprotein C-II* dari *HDL*, dalam sirkulasi. Setelah proses hidrolisis kilomikron dan *VLDL* oleh *LPL*, *apoprotein C-II* terlepas dan ditangkap kembali oleh *HDL*. Dengan demikian *HDL*, bertindak sebagai *reservoir apoprotein C-II* (Rianto, 2000).

*HDL* diduga juga berfungsi mengangkut kelebihan kolesterol dari jaringan-jaringan perifer dan membawanya ke hati untuk diekskresi. Nikilla dan kawan-kawan mengemukakan tentang siklus *HDL*, dalam kaitannya dengan transport kolesterol dari jaringan ke hati (gambar 2.6). Siklus tersebut melibatkan pengambilan dan esterifikasi kolesterol oleh *HDL<sub>3</sub>* yang menjadi kurang padat dengan membentuk *HDL<sub>2</sub>*. Enzim lipase hepatik menghidrolisis fosfolipid *HDL* dan triasilgliserol yang memungkinkan partikel senyawa ini melepaskan ester kolesterolnya ke dalam hati, dimana partikel tersebut menjadi lebih padat lagi dengan membentuk kembali *HDL<sub>3</sub>* yang memasuki kembali siklus *HDL*. Siklus *HDL* ini dapat menjelaskan mengapa konsentrasi *HDL<sub>2</sub>* (Tabel 2.2) dalam plasma bervariasi secara timbal balik dengan konsentrasi kilomikron dan *VLDL* dan berbanding lurus dengan aktivitas *LPL*.

Konsentrasi *HDL* ( $HDL_2$ ) yang berbanding terbalik dengan insiden aterosklerosis koroner, mencerminkan efisiensi pembersihan kolesterol (*cholesterol scavenging*) oleh jaringan.  $HDL_c$  ditemukan dalam darah hewan yang hiperkolesterolemik yang diinduksi makanan.  $HDL_2$  kaya akan kolesterol dan *apoprotein* satu-satunya dalam  $HDL_2$  adalah *apo-E*.  $HDL_2$  ini diambil oleh hati melalui reseptor sisa *apo-B*. *Atherosclerosis plaque* mengandung sel-sel “*scavenger*” yang memakan sedikit banyak kolesterol sehingga sel-sel ini berubah menjadi sel busa (*foam cells*) yang dilapisi ester kolesterol (Mayes, 1999b).



Gambar 2.6. Metabolisme HDL (Sumber : Mayes, 1999b).

*Apo-E* ini setelah diolah dengan adanya *LCAT*, dapat menjadi sumber  $HDL_c$  yang kaya akan kolesterol. Jadi  $HDL_c$  merupakan komponen penting dalam pergerakan kolesterol dari jaringan ke hati (*reverse cholesterol transport*). Jelaslah bahwa *lipoprotein* plasma merupakan komponen-komponen yang bertanggung jawab untuk proses transport lipid (Mayes, 1999b).

Tabel 2.2 Komposisi lipoprotein dalam plasma manusia (Sumber : Mayes, 1999b)

Partikel	Sumber	Diameter (nm)	Densitas	Sf	Komposisi						
					Protein (%)	Lipid Total (%)	Triasil-gliseral	Fosfatidil-kolin	Kolesterol	Kolesterol ester	Asam Lemak Bebas
Chylomicrons	Usus	100-1000	< 0,95	> 400	1-2	99-99	98	0	2	1	
VLDL (very low density lipoprotein)	Hati dan usus	30-80	0,95-1,008	20-400	7-10	90-93	88	20	15	0	1
LDL (low density lipoprotein)											
LDL <sub>1</sub> atau IDL	VLDL dan chylomicrons	25-30	1,008-1,019	12-20	11	89	39	28	34	9	1
LDL <sub>2</sub>		20-25	1,019-1,063	2-12	21	79	13	28	48	10	1
HDL (high density lipoprotein)											
HDL <sub>1</sub> *	Hati dan usus VLDL? Chylomicrons?	25	1,063	0-2							
HDL <sub>2</sub>		10-20	1,063-1,126		33	67	16	43	31	10	...
HDL <sub>3</sub>		7,5-10	1,126-1,210		57	43	13	46	29	6	0
Albumin	Jaringan adiposa		> 1,2810		58	1	0	0	0	0	100

(DL, intermediate density lipoprotein; FFA, free fatty acid (asam lemak bebas).

\*Partikel ini tidak mempunyai jumlah bermakna.

## 2.4. Kolesterol dan Triasil Gliserol

### 2.4.1. Kolesterol

Kolesterol terdapat dalam jaringan dan dalam lipoprotein plasma, dapat dalam bentuk kolesterol bebas atau gabungan dengan asam lemak rantai panjang sebagai kolesterol ester. Unsur ini disintesis dalam banyak jaringan dari *asetil-KoA* dan akhirnya dikeluarkan dari tubuh lewat empedu sebagai garam kolesterol atau empedu. Kolesterol merupakan prekursor semua senyawa steroid dalam tubuh dan vitamin D. Kolesterol adalah produk khas hasil metabolisme hewan dan terdapat dalam segala makanan yang berasal dari kuning telur, daging, hati dan otak (Mayes, 1999c).

Kolesterol merupakan lipid amfipatik dan merupakan komponen struktural penting yang membentuk membran sel serta lapisan luar lipoprotein plasma. Kolesterol ester dalam makanan akan dihidrolisis menjadi kolesterol bebas, yang kemudian bercampur dengan kolesterol bebas dari makanan dan kolesterol empedu



sebelum diserap dari dalam usus bersama dengan unsur lipid lainnya. Senyawa ini bercampur dengan kolesterol yang disintesis dalam usus dan kemudian disatukan ke dalam kilomikron. Dari kolesterol yang diserap, 80-90 % akan mengalami esterifikasi dengan asam lemak rantai panjang di dalam mukosa usus (Mayes, 1999c).

Kolesterol ester merupakan bentuk simpanan kolesterol yang ditemukan dalam sebagian besar jaringan tubuh. Senyawa ini diangkut sebagai muatan di dalam inti lipoprotein *LDL*, yang merupakan perantara pengambilan kolesterol dan kolesterol ester oleh banyak jaringan. Kolesterol bebas dikeluarkan dari jaringan oleh *HDL* dan kemudian diangkut ke dalam hati untuk diubah menjadi asam empedu dalam proses yang dikenal sebagai pengangkutan balik kolesterol (*reverse cholesterol transport*). Kolesterol merupakan unsur utama pembentuk batu empedu. Namun demikian, peranan utamanya dalam proses patologis adalah dapat menimbulkan aterosklerosis pada pembuluh darah arteri sehingga mengakibatkan penyakit serebrovaskuler, vaskuler, perifer dan koroner. Aterosklerosis koroner berkaitan dengan rasio kolesterol *LDL: HDL*, plasma yang tinggi (Mayes 1999c)

#### 2.4.1.1. Sintesis Kolesterol

Kurang lebih separuh jumlah kolesterol tubuh berasal dari sintesis endogen (sekitar 700 mg/hari), dan sisanya berasal dari makanan sehari-hari / sintesis eksogen. Pada manusia, hati menghasilkan kurang lebih 10 % dari sintesis total, sementara usus, 10 % lainnya (Mayes, 1999c).

Semua jaringan yang mengandung sel-sel berinti mampu mensintesis kolesterol. Fraksi mikrosomal (retikulum endoplasma) dan sitosol sel bertanggungjawab dalam sintesis kolesterol (Mayes, 1999c).

Zat bakal untuk sintesis kolesterol adalah *asetil-KoA* di sitosol. *Asetil-KoA* dihasilkan dari zat bakal utamanya glukosa dan asam lemak, terutama di mitokondria. Jalur untuk pembentukan kolesterol berlangsung dalam tiga tahap yaitu :

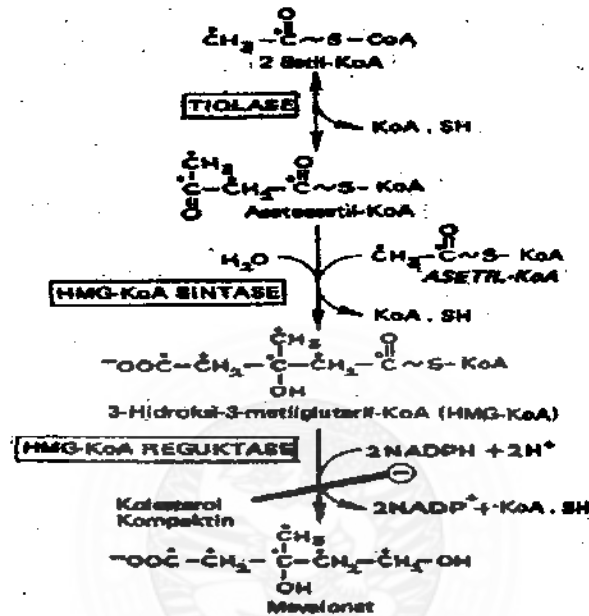
Tahap I. Pembentukan *mevalonat* dari *asetil-KoA* (gambar 2.7)

Pada tahap pertama, unit-unit *asetil-KoA* berkondensasi membentuk mevalonat. Pembentukan mevalonat ini berasal dari dua molekul *asetil KoA* sitosol berkondensasi membentuk *asetoasetil KoA*. Molekul *asetil KoA* lainnya akan berikatan dengan *asetoasetil KoA* membentuk *HMG KoA*. Urutan reaksi ini mirip dengan reaksi yang berlangsung dalam pembentukan badan keton, kecuali bahwa pembentukan badan keton berlangsung dalam mitokondria (Marks, 1996).

Dengan adanya enzim HMG KoA reduktase, akan mengubah *HMG KoA* menjadi mevalonat (gambar 2.7), dengan menggunakan ekivalen pereduksi yang disediakan oleh NADPH, dan terletak dalam retikulum endoplasma dengan tempat aktifnya menonjol ke dalam sitosol. Enzim HMG KoA reduktase adalah *rate limiting enzyme*, enzim penentu kecepatan utama yang diatur pada jalur biosintesis ini (Mark, 1996).

Dalam hati, terdapat mekanisme umpan balik dimana *HMG KoA* reduktase dihambat oleh mevalonat yang merupakan produk antara dan oleh kolesterol yang merupakan produk utama. Karena penghambatan langsung enzim tersebut oleh kolesterol tidak dapat ditunjukkan, kolesterol (atau metabolitnya, misalnya sterol teroksigenasi) dapat bekerja melalui represi sintesis enzim reduktase yang baru atau dengan memicu sintesis enzim yang menguraikan enzim reduktase yang ada. Sintesis kolesterol juga dihambat oleh kolesterol *LDL* yang diambil lewat reseptor *LDL* (reseptor E. apo B100). Pemberian hormon insulin atau hormon tiroid meningkatkan aktivitas *HMG KoA* reduktase, sedangkan hormon glukagon atau glukokortikoid

menurunkannya. Enzim tersebut terdapat dalam bentuk aktif maupun inaktif yang secara reversibel dapat dimodifikasi oleh mekanisme fosforilasi-defosforilasi, sebagian di antaranya tergantung *cAMP* (Mayes, 1999c).



Gambar 2.7 Biosintesis mevalonat ( Sbr : Mayes, 1999)

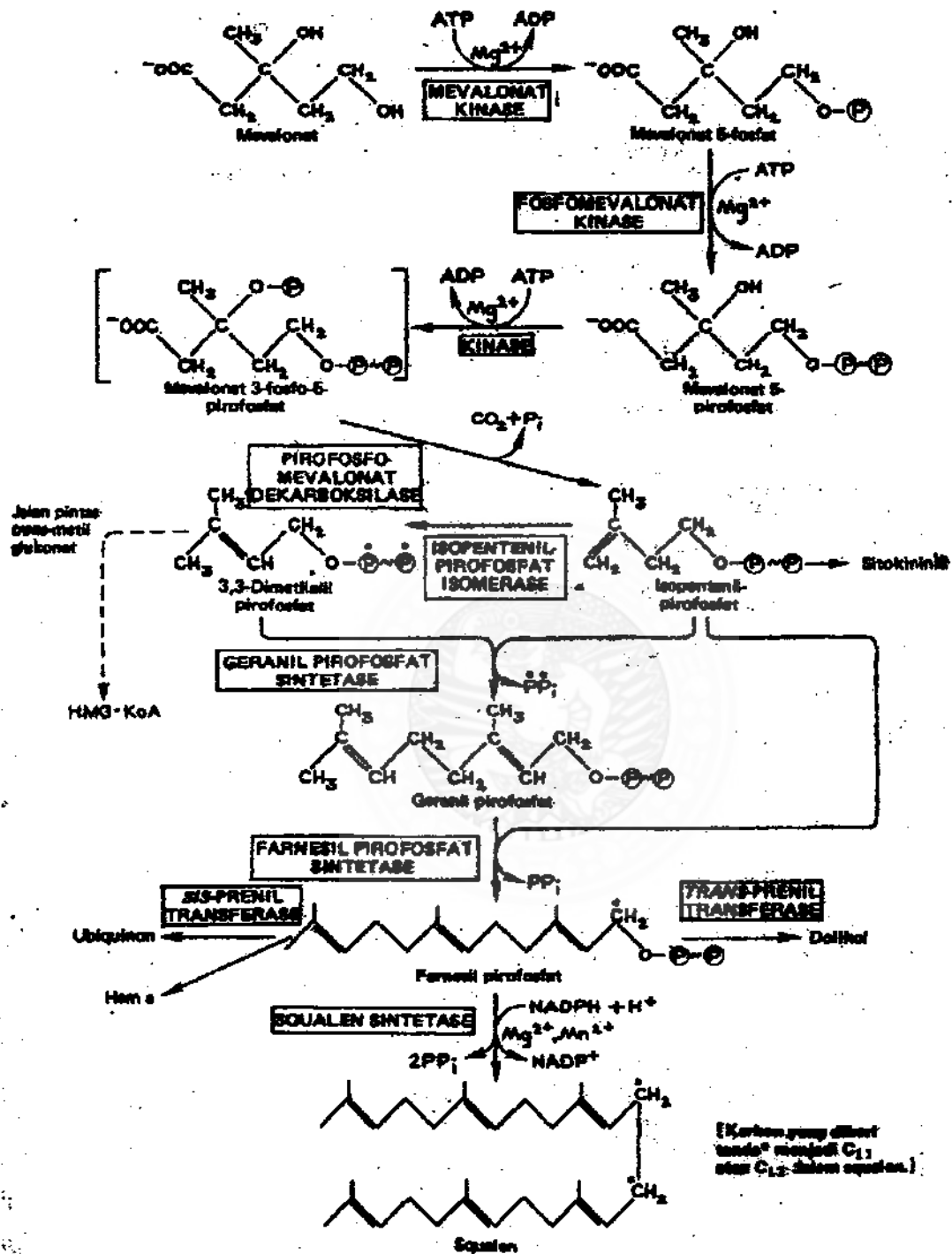
Tahap II. Pembentukan *squalene* dari mevalonat (gambar 2.8)

Mevalonat yang telah terbentuk akan mengalami fosforilasi oleh *ATP* dan selanjutnya mengalami dekarboksilasi untuk membentuk isopentenil pirofosfat (Marks, 1996). Tiga molekul isopentenil pirofosfat akan berkondensasi membentuk farnesil pirofosfat. Proses ini terjadi lewat isomerisasi senyawa isopentenil pirofosfat yaitu pergeseran ikatan rangkap membentuk dimetil alil pirofosfat, kemudian diikuri oleh kondensasi dengan isopentenil pirofosfat lainnya hingga terbentuk senyawa antara dengan sepuluh karbon, yaitu geranyl pirofosfat. (Gambar 2.8). Kondensasi selanjutnya dengan isopentenil pirofosfat membentuk farnesil pirofosfat. Dua molekul

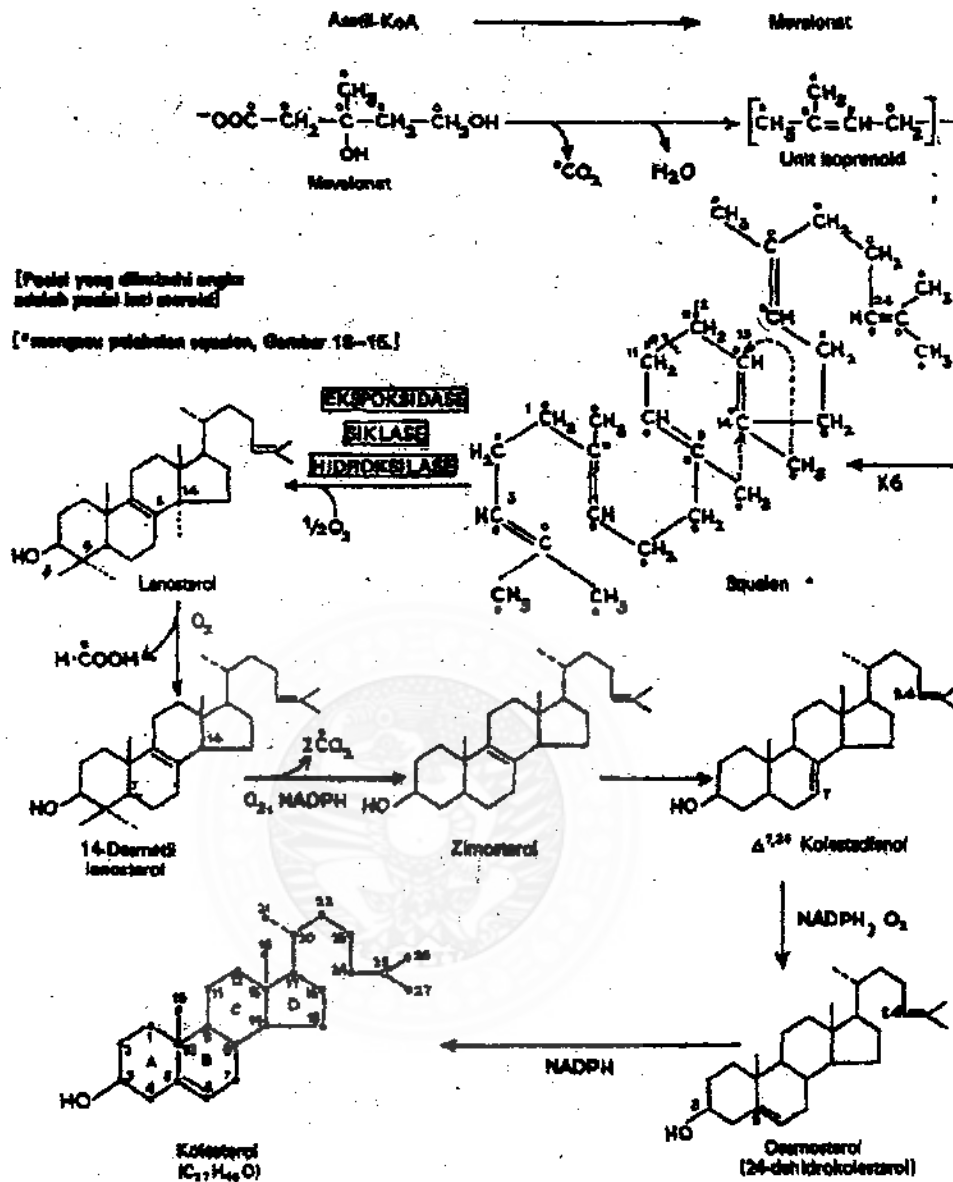
farnesil pirofosfat berkondensasi pada ujung pirofosfat dalam sebuah reaksi yang meliputi eliminasi pirofosfat hingga terbentuk praskualena pirofosfat dan kemudian diikuti oleh reduksi dengan *NADPH* yang disertai eliminasi radikal pirofosfat sisanya. Senyawa yang dihasilkan adalah *squalene* (Mayes, 1999c)

#### Tahap III. Pembentukan kolesterol dari *squalene* (gambar 2.9)

*Squalene* mempunyai struktur yang sangat mirip dengan inti steroid (Gambar 2.9). Sebelum terjadi penutupan cincin, *squalene* diubah menjadi *squalene* 2,3-dioksida oleh enzim oksidase yaitu *squalene epoksidase* di dalam retikulum endoplasma. Gugus metil pada C<sub>14</sub> dipindahkan kepada C<sub>13</sub>, dan pada C<sub>8</sub> kepada C<sub>14</sub> yang dikatalisis oleh enzim *oksidosqualena : lanosterol siklase* membentuk *lanosterol*. Gugus metil pada C<sub>14</sub> dioksidasi menjadi CO<sub>2</sub> untuk membentuk *14-desmetil lanosterol*. Demikian pula, dua gugus metil pada C<sub>4</sub> dikeluarkan untuk membentuk *zimosterol*.  $\Delta^{7,14}$ -*kolestadienol* dibentuk dari *zimosterol* melalui pergeseran ikatan rangkap antara C<sub>5</sub>-C<sub>9</sub> berpindah pada posisi C<sub>5</sub> dan C<sub>7</sub>. *Desmosterol* dibentuk dengan pergeseran ikatan rangkap antara C<sub>8</sub> dan C<sub>7</sub> ke posisi antara C<sub>5</sub> dan C<sub>6</sub> seperti halnya pada kolesterol. Akhirnya, *kolesterol* dihasilkan ketika ikatan rangkap rantai samping *desmosterol* direduksi (Mayes, 1999c).



Gambar 2.8 Pembentukan Squalene dari Mevalonat (Sbr : Mayes, 1999c)



Gambar 2.9. Biosintesis Kolesterol (Sbr : Mayes, 1999c)

### 2.4.1.2. Pengangkutan Kolesterol

Pada manusia dengan pola diet Barat, kadar kolesterol total dalam plasma adalah sekitar 5,2 mmpl/L, dan kadar ini meningkat bersamaan dengan penambahan

umur sekalipun antar individu terdapat variasi yang luas. Sebagian besar kolesterol ditemukan dalam bentuk teresterifikasi. Kolesterol diangkut dalam *lipoprotein* pada plasma, dan proporsi terbesar kolesterol terdapat dalam *LDL*. Akan tetapi, dalam keadaan dimana secara kuantitatif *VLDL* lebih dominan, peningkatan proporsi kolesterol plasma akan terjadi dalam fraksi ini (Mayes, 1999c).

Kolesterol makanan (*dietary cholesterol*) membutuhkan waktu beberapa hari untuk mengadakan keseimbangan kolesterol dalam plasma dan beberapa minggu untuk mengadakan keseimbangan kolesterol dalam jaringan. Pergantian kolesterol dalam hati berlangsung relatif cepat bila dibandingkan waktu paruh total kolesterol tubuh yang lamanya beberapa minggu. Kolesterol bebas dalam plasma dan hati akan seimbang dalam waktu beberapa jam saja (Mayes, 1999c).

#### 2.4.1.3. Degradasi dan Sekresi Kolesterol

Sekitar 1 gram kolesterol dikeluarkan dari dalam tubuh setiap harinya. Kurang lebih separuhnya diekskresikan ke dalam feses setelah sebelumnya diubah menjadi asam empedu. Sisanya akan diekskresikan sebagai kolesterol. Sebagian besar kolesterol yang diekskresikan ke dalam empedu akan diserap kembali, dan sebagian kolesterol yang merupakan zat bakal senyawa sterol feses berasal dari mukosa intestinal. *Koprostanol* merupakan sterol utama di dalam feses, senyawa ini dibentuk dari kolesterol oleh flora bakteri yang ada di dalam usus besar. Sejumlah besar ekskresi garam empedu akan diserap kembali ke dalam sirkulasi porta, diambil oleh hati, dan diekskresikan kembali ke dalam empedu. Peristiwa ini dikenal sebagai *sirkulasi enterohepatik*. Garam empedu yang tidak diserap kembali, ataupun derivatnya, diekskresikan ke dalam feses (Mayes 1999c)

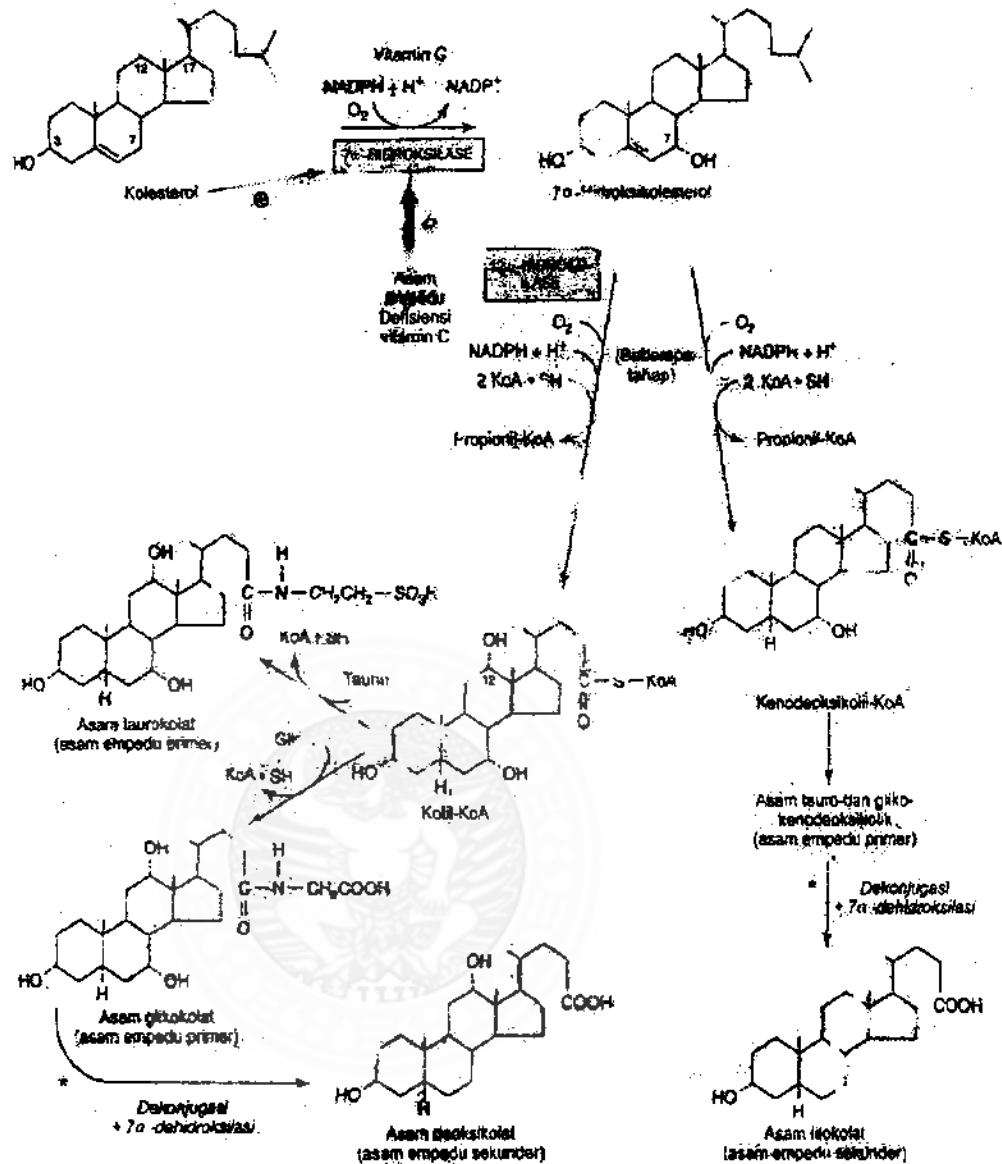
Di dalam hati, asam-asam empedu primer disintesis dari kolesterol. Asam empedu primer ini adalah *asam kolat* (ditemukan dalam jumlah terbesar) dan *asam kenodeoksikolat*.

Reaksi  $7\alpha$ -hidroksilasi pada kolesterol merupakan tahap pertama dalam biosintesis asam empedu, dan reaksi ini membatasi kecepatan dalam jalur sintesis asam empedu tersebut (gambar 2.10). Reaksi tersebut dikatalisis oleh *enzim  $7\alpha$ -hidroksilase*, yaitu suatu enzim mikrosomal. Reaksi  $7\alpha$ -hidroksilasi memerlukan oksigen, NADPH serta sitokrom P<sub>450</sub>, dan merupakan reaksi monooksigenase yang khas. Tahap hidroksilasi berikutnya juga dikatalisis oleh enzim monooksigenase. Defisiensi vitamin C akan mengganggu pembentukan asam empedu pada tahap  $7\alpha$ -hidroksilasi.

*Kolikol-KoA* yang ditandai oleh gugus ekstra  $\alpha$ -OH pada posisi 12, dihasilkan pada satu jalur metabolisme sedangkan satu jalur metabolisme lain menghasilkan *kenodeoksikolikol-KoA*. Kedua jalur metabolisme ini meliputi reaksi hidroksilasi dan pemendekan rantai samping yang serupa untuk menghasilkan asam empedu yang khas dengan gugus  $\alpha$ -OH pada posisi 3 serta 7 dan saturasi penuh pada inti steroid. Asam empedu primer ini memasuki empedu sebagai konjugat *glisin* dan *taurin*. Mengingat getah empedu mengandung kalium serta natrium dengan jumlah yang bermakna dan pHnya alkalis maka asam empedu dan konjugatnya berbentuk garam, karena itu, getah empedu dinamakan garam empedu (Mayes, 1999c)

Sebagian dari asam empedu primer yang ada dalam usus mengalami perubahan oleh aktivitas bakteri intestinal. Reaksi ini mencakup dekonjugasi dari  $7\alpha$ -hidroksilasi, yang menghasilkan asam empedu sekunder, yaitu *asam deoksikolat* dari asam kolat, dan *asam litokolat* dari asam kenodeoksikolat.





Gambar 2.10. Jalur Reaksi Pembentukan Asam Empedu ( Sbr: Mayes, 1999c)

Lebih dari 95 % garam empedu diserap kembali di ileum dan dikembalikan ke hati melalui sirkulasi enterohepatik. Garam empedu sekunder dapat mengalami rekonjugasi di hati tetapi tidak mengalami rehidroksilasi. Garam empedu di daur ulang di hati, yang kemudian mensekresikan ke dalam empedu. Resirkulasi enterohepatik garam empedu ini sangat efisien. Setiap hari, kurang lebih 5 % garam empedu yang masuk ke usus keluar melalui feses. Karena inti steroid tidak dapat

diuraikan di dalam tubuh, garam empedu berfungsi sebagai jalur utama membuang inti steroid (juga kolesterol) dari dalam tubuh (Marks, 1996).

#### 2.4.2 Triasilgliserol (TG)

Triasilgliserol adalah lipid utama yang terdapat dalam jaringan adiposa dan makanan. Hampir seluruh jaringan tubuh manusia dapat mengubah asam lemak menjadi triasil gliserol dengan melalui beberapa tahapan reaksi. Tetapi hati dan jaringan lemak (jaringan adiposa) merupakan tempat utama sintesis triasilgliserol. Dalam jaringan adiposa, triasilgliserol disimpan untuk dipakai sebagai cadangan energi (Mayes 1999a).

##### 2.4.2.1. Sintesis Triasilgliserol

Di hati dan jaringan adiposa, triasilgliserol dibentuk melalui jalur yang memiliki zat antara *asam fosfatidat* (Gambar 2.11). Asam fosfatidat adalah juga zat bakal gliserolipid yang dijumpai pada membran sel dan lipoprotein darah (Marks, 1996).

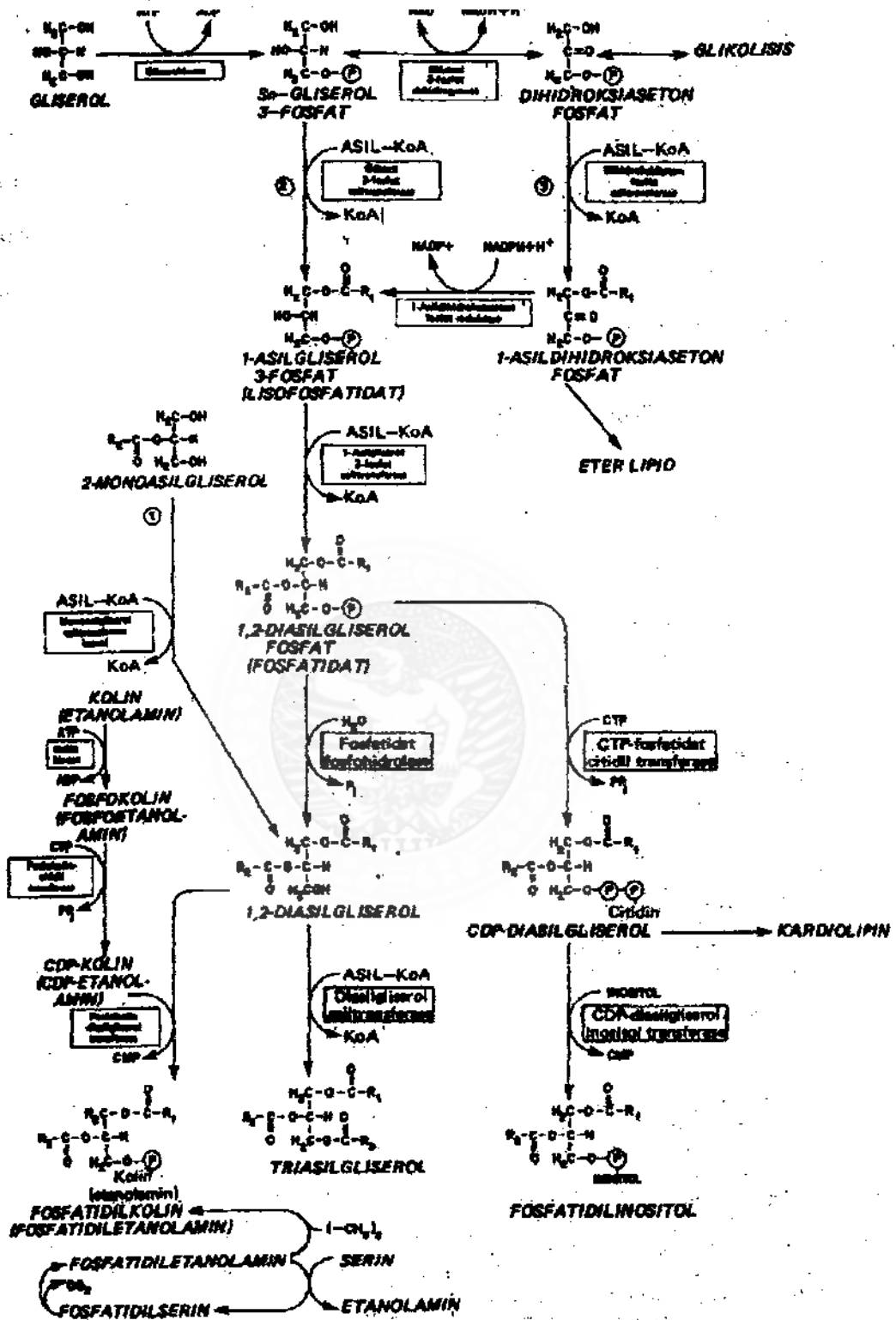
Sumber gliserol 3-fosfat, yang menyediakan gugus gliserol untuk sintesis triasilgliserol, berbeda di hati dan jaringan adiposa. Di hati, gliserol 3-fosfat dihasilkan dari fosforilasi gliserol oleh gliserol kinase atau dari reduksi dihidroksiaseton fosfat yang berasal dari glikolisis. Jaringan adiposa tidak memiliki gliserol kinase dan dapat menghasilkan gliserol 3-fosfat hanya dari glukosa melalui dihidroksiaseton fosfat. Dengan demikian, jaringan adiposa hanya dapat menyimpan asam lemak apabila terjadi pengaktifan glikolisis, yaitu dalam keadaan kenyang (Marks, 1996).

Pada hati dan jaringan adiposa, pembentukan triasilgliserol dimulai dari suatu jalur dimana gliserol 3-fosfat bereaksi dengan asil KoA untuk membentuk asam fosfatidat. Defosforilasi asam fosfatidat menghasilkan *diasil gliserol*. Asil KoA lainnya bereaksi dengan *diasilgliserol* untuk membentuk *triasilgliserol* (Marks, 1996).

Pada sel epitel usus, selain sintesis dari gliserol-3-fosfat (yang berasal dari gliserol dan glikolisis), triasil gliserol juga disintesis langsung dari *2-monoasil gliserol*. Bahkan jalur ini memegang peran utama dalam absorpsi triasil gliserol dari traktus digestivus. Dengan adanya enzim *monoasil gliserol asil transferase*, *2-monoasil gliserol* yang diabsorpsi dari lumen usus diasilasi menjadi *1,2 diasil gliserol*. Satu kali asilasi lagi pada senyawa ini akhirnya menghasilkan *triasil gliserol* (Mayes, 1999a).

#### 2.4.2.2. Degradasi Triasilgliserol

Triasilgliserol yang berasal dari diet dalam traktus digestivus akan dihidrolisis oleh enzim lipase pankreas menghasilkan asam-asam lemak yang selanjutnya akan diabsorpsi oleh sel epitel mukosa usus halus dan diaktifkan menjadi asil KoA serta diesterifikasi kembali membentuk triasilgliserol. Triasilgliserol yang terbentuk dalam sel epitel usus ini bersama-sama dengan kolesterol, kolesterol ester, fosfolipid dan apoprotein akan membentuk kilomikron. Kilomikron ini selanjutnya akan diangkut melalui saluran limfatik usus (Mayes, 1999a).



Gambar 2.11. Biosintesis Triasilgliserol dan Fosfolipid (Sbr : Mayes , 1999a)

Degradasi triasilgliserol lebih lanjut mengikuti jalur degradasi kilomikron. Triasilgliserol di dalam kilomikron akan didegradasi oleh enzim *lipoprotein lipase* (*LPL*), menjadi asam lemak dan gliserol. Asam lemak diambil jaringan lain dan digunakan sebagai sumber tenaga atau untuk sintesis senyawa lain. Gliserol tetap beredar dalam sirkulasi dan akhirnya diambil oleh hati untuk dimetabolisir lebih lanjut (Mayes, 1999a).

## 2.5. Peran Agar-agar terhadap Diet Tinggi Lemak

Efek fisiologis serat makanan disebabkan oleh sifat-sifat fisiknya antara lain kapasitas pengikatan air yang tinggi, viskous, mampu mengabsorpsi molekul organik dan kapasitasnya sebagai penukar ion (Doyle, 1995).

Seperti juga serat dari sumber lainnya, serat dari agar-agar diharapkan juga akan meningkatkan ekskresi kolesterol dan menurunkan absorpsi kolesterol maupun asam empedu. Mekanisme kerja serat dalam agar-agar terhadap penurunan kadar kolesterol dengan pemberian diet hiperkolesterolemia dapat dijelaskan dalam uraian berikut :

- a. Dengan mempengaruhi absorpsi dan ekskresi kolesterol.
  - Kolesterol dapat mengalami interaksi spesifik dengan komponen tertentu dalam diet (serat) sehingga kolesterol akan terikat pada serat-serat dan absorpsinya oleh usus akan terhambat / menurun.
  - Terikatnya lemak pada residu bahan makanan yang tak tercerna (*undigestible food residu*) juga mengakibatkan meningkatnya ekskresi lemak melalui feses (Rosanne, 1978; Linder, 1992; Shen H, *dkk*, 1998).
- b. Dengan mempengaruhi absorpsi dan metabolisme empedu.

- Empedu juga dapat berikatan dengan komponen serat di dalam diet sehingga akan menurunkan jumlah empedu yang direabsorpsi. Pengikatan empedu oleh serat juga akan menyebabkan meningkatnya ekskresi asam empedu melalui feses (Freedland & Nishina, 1990). Banyaknya asam empedu yang terikat pada serat sangat bervariasi, tergantung jenis serat dan asam empedunya. Pengaruh serat terhadap absorpsi dan ekskresi empedu menyebabkan penurunan dan perubahan komposisi empedu dalam usus. Hal ini akan diikuti dengan meningkatnya *turnover* kolesterol karena akan makin banyak dan makin cepat kolesterol dioksidasi menjadi asam empedu, akibatnya kolesterol yang dilepas ke sirkulasi juga berkurang (Linder, 1992; Schneeman, 1999).
  - Asam-asam / garam-garam empedu dapat tertarik (*sequestered*) ke dalam gel yang dibentuk oleh golongan-golongan serat tertentu (seperti pektin, gum) (Ebihara & Schneeman 1989)
- c. Dengan mempengaruhi saluran pencernaan
- Adanya serat dalam diet menyebabkan *transit time* memendek dan kolesterol (terutama yang berasal dari diet) berada di dalam usus dalam waktu yang relatif pendek sehingga kemungkinan terabsorpsi lebih sedikit. Selain itu serat menimbulkan rasa kenyang lebih lama sehingga akan mengurangi intake kalori dan mengubah komposisi diet (Linder, 1992).

Sekalipun dari berbagai penelitian telah dapat diketahui adanya pengaruh serat terhadap kadar kolesterol, pada kenyataannya tidak mudah untuk menganalisis hasil-hasil yang telah didapatkan tersebut. Hal ini disebabkan karena penelitian-penelitian tersebut menggunakan sumber serat yang berbeda-beda; sedang komponen dan sifat serat sangat bervariasi tergantung pada berbagai hal sebagaimana dikemukakan didepan (Doyle, 1995; Linder, 1992).

## BAB 3

### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1. Dasar Teori

Dalam diet tinggi lemak, akan didapatkan kadar kolesterol dan TG yang tinggi. Tingginya kadar kolesterol dan TG dalam diet ini akan menyebabkan absorpsi hasil pencernaan lemak, kolesterol dan TG dalam usus yang tinggi pula, dan akan terjadi peningkatan pembentukan kembali kolesterol dan TG dalam sel dinding usus. Kolesterol dan TG yang terbentuk ini diangkut dalam bentuk kilomikron melalui saluran limfe ke *ductus thorasicus* yang akhirnya masuk ke dalam pembuluh darah, sehingga kadar kolesterol dan TG di dalam darah akan meningkat .

Dalam pembuluh darah, kilomikron akan bersentuhan dengan enzim *LPL* yang melekat pada permukaan endotel pembuluh-pembuluh darah tersebut. Enzim *LPL* ini kemudian akan menghidrolisis TG yang terdapat di dalam partikel kilomikron menjadi asam lemak dan gliserol. Asam lemak akan diambil jaringan lain dan digunakan sebagai sumber tenaga atau untuk sintesis endogen senyawa lain. Gliserol tetap beredar dalam sirkulasi dan akhirnya diambil oleh hati untuk dimetabolisir lebih lanjut. Akibat hidrolisis oleh *LPL* tersebut, kilomikron akan menyusut ukurannya dan partikel sisa kilomikron ini (*kilomikron remnant*) menjadi relatif kaya akan kolesterol, fosfolipid dan protein. Partikel sisa ini akhirnya diambil oleh hati (Mayes, 1999b).

*LDL* berasal dari *VLDL* dan *VLDL* dibentuk di dalam sel-sel parenkim hati. Fraksi lemak yang terdapat dalam *VLDL* adalah TG (terutama), kolesterol, dan fosfolipid. *VLDL* yang membawa lemak dari hati ke sirkulasi akan mengalami katabolisme lebih lanjut dengan kehilangan *Apo-C*, gliserol dan asam lemak, sehingga

akhirnya terbentuklah *LDL* (Mayes, 1999b). Pada diet tinggi lemak, dapat dimengerti bahwa *LDL* akan meningkat kadarnya di dalam darah.

*HDL* dibentuk di hati, usus dan dari *VLDL*. *HDL* berfungsi mengangkut kelebihan kolesterol dari jaringan-jaringan perifer dan membawanya ke hati untuk diekskresi (Mayes, 1999b).

Kolesterol dalam hati akan disintesis menjadi asam empedu dan *VLDL*. Kelebihan dari kolesterol akan dibuang dalam bentuk terlarut pada cairan empedu (Mayes, 1999c).

Agar-agar adalah makanan kaya serat yang sudah sangat dikenal masyarakat dan mudah didapat. Serat merupakan komponen penting dalam diet yang dapat menghambat absorpsi lemak dan empedu serta mempercepat pembuangan feces (Rosanne, 1978; Mayes, 1999c).

Serat makanan yang terkandung dalam agar-agar dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan cara :

- a. Mempengaruhi absorpsi dan ekskresi kolesterol dan triasilgliserol.
  - Kolesterol dapat mengalami interaksi spesifik dengan komponen tertentu dalam diet (serat) sehingga kolesterol akan terikat pada serat-serat, dan jumlah yang diabsorpsi oleh usus akan menurun.
  - Terikatnya lemak (TG) / kolesterol pada residu bahan makanan yang tak tercerna (*undigestible food residu*) juga mengakibatkan meningkatnya ekskresi TG / kolesterol melalui feces (Rosanne, 1978; Linder, 1992; Shen, *dkk*, 1998)
- b. Mempengaruhi reabsorpsi / metabolisme empedu.
  - Empedu juga dapat berikatan dengan komponen serat di dalam diet sehingga akan menurunkan jumlah empedu yang direabsorpsi. Pengikatan empedu oleh



serat juga akan menyebabkan meningkatnya ekskresi asam empedu dan kolesterol yang terlarut di dalamnya melalui feses. Pengaruh serat dalam agar-agar terhadap absorpsi dan ekskresi asam empedu menyebabkan penurunan dan perubahan komposisi empedu. Hal ini akan diikuti dengan meningkatnya oksidasi kolesterol menjadi asam empedu sehingga kolesterol yang dilepas ke sirkulasi juga berkurang (Linder, 1992; Broen, 1999).

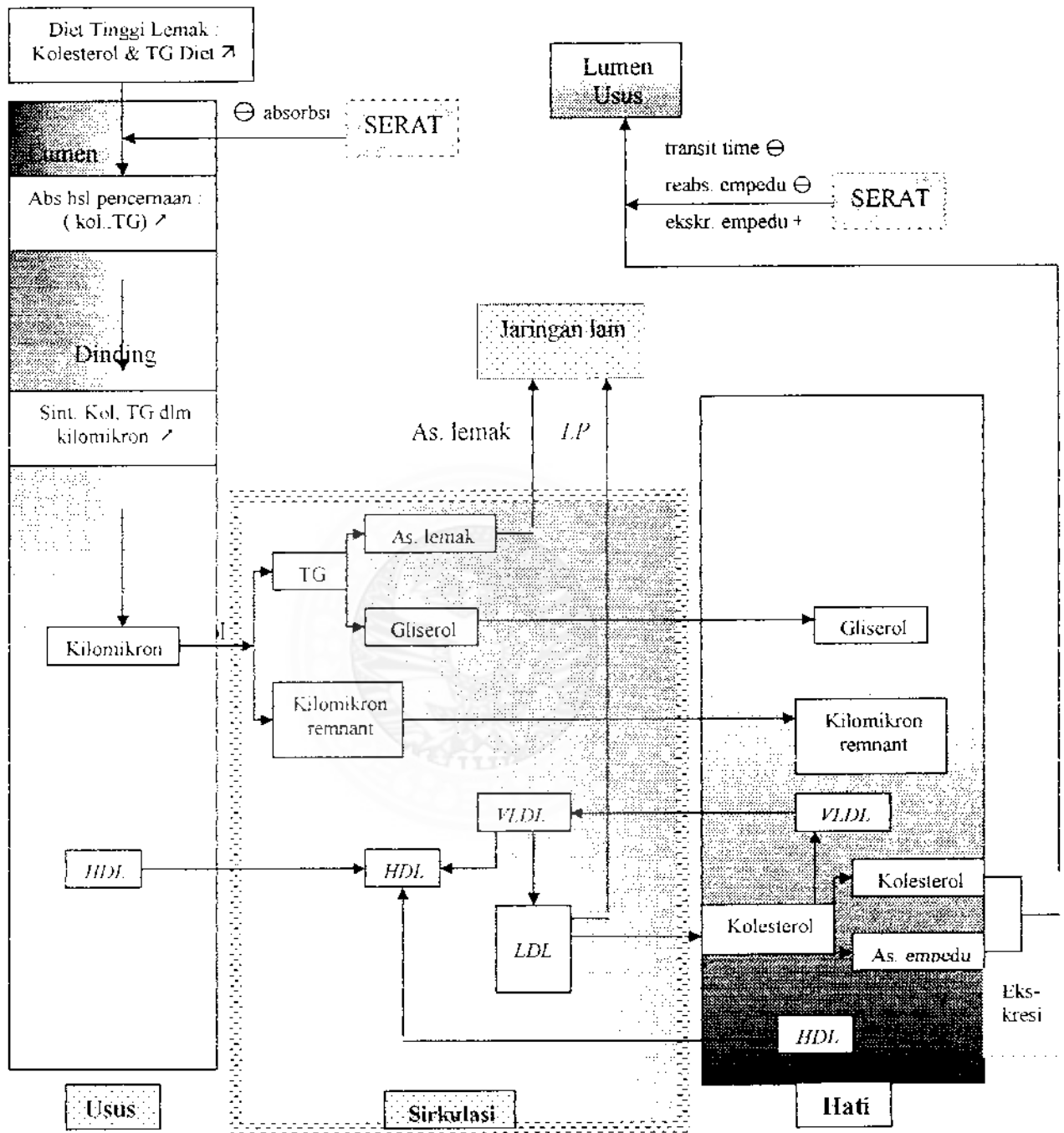
c. Mempengaruhi saluran pencernaan

- Adanya serat dalam diet menyebabkan *transit time* makanan dalam usus memendek sehingga lemak (terutama yang berasal dari diet) hanya sebentar berada di dalam usus yang akan berakibat absorpsi TG/kolesterol lebih sedikit.

Serat juga menimbulkan rasa kenyang lebih lama (Linder, 1992)

Dengan adanya peningkatan ekskresi empedu, TG dan kolesterol yang meningkat, absorpsi TG dan kolesterol yang menurun, sintesis empedu dari kolesterol yang meningkat serta masukan kolesterol yang turun maka dapat terjadi penurunan kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*.

3.2. Kerangka Konseptual Penelitian



Catatan : Kandungan agar-agar yang dapat menurunkan kadar kolesterol adalah serat

### 3.3. Hipotesis Penelitian

1. Suplementasi agar-agar menurunkan kadar kolesterol total pada serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak
2. Suplementasi agar-agar menurunkan kadar kolesterol-*LDL* pada serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak
3. Suplementasi agar-agar meningkatkan kadar kolesterol-*HDL* pada serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak
4. Suplementasi agar-agar menurunkan kadar triasil gliserol pada serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak



## BAB 4

### METODE PENELITIAN

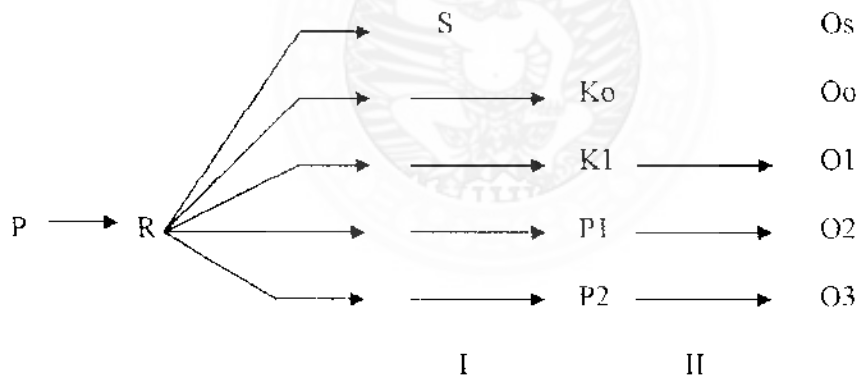
#### 4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

##### 4.1.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini tergolong jenis penelitian eksperimental laboratoris yaitu *true experiment* sehingga sampel maupun perlakuan lebih terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan dapat lebih dipercaya (Notoatmodjo, 1996).

##### 4.1.2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian *Separate Sample Pre Test Post Test Control Group Design* (Campbell & Stanley 1966). Secara skematis rancangan penelitian tersebut dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 4.1. Rancangan penelitian *the separate sample pretest posttest control group design* (Sumber : Campbell & Stanley, 1966)

Keterangan :

P = Populasi Tikus (*Rattus norvegicus*)

R = Randomisasi

S = Kelompok dengan diet Standar dengan kadar kolesterol normal

- Ko = Kelompok kontrol pada keadaan awal hiperkolesterolemia, yaitu setelah pemberian diet tinggi lemak 6 minggu
- K1 = Kelompok kontrol, yaitu diberikan diet tinggi lemak (6 + 4) minggu dan perlakuan sonde aquadest selama 4 minggu
- P1 = Kelompok Perlakuan 1, yaitu diberikan diet tinggi lemak selama (6 + 4) minggu dan perlakuan sonde larutan agar-agar 1 selama 4 minggu.
- P2 = Kelompok Perlakuan 2, yaitu diberikan diet tinggi lemak selama (6 + 4) minggu dan perlakuan sonde larutan agar-agar 2 selama 4 minggu.
- I = Pemberian diet tinggi lemak selama 6 minggu
- II = Pemberian diet tinggi lemak lanjutan 4 minggu bersama perlakuan (pemberian aquadest untuk kelompok K1 dan larutan agar-agar 0,6 ml dan 3 ml untuk kelompok P1 dan P2, personde)
- Os = Penimbangan BB dan pemeriksaan kadar kolesterol total, kolesterol-*LDL*, kolesterol-*HDL* dan *TG* serum kelompok kontrol (Ko) dengan diet standar sebelum pemberian diet tinggi lemak
- Oo = Penimbangan BB dan pemeriksaan kadar kolesterol total, kolesterol-*LDL*, kolesterol-*HDL* dan *TG* serum kelompok kontrol *pra- perlakuan* (Ko), yaitu setelah pemberian diet tinggi lemak 6 minggu, sebelum perlakuan.
- OI = Penimbangan BB dan pemeriksaan kadar kolesterol total, kolesterol-*LDL*, kolesterol-*HDL* dan *TG* serum kelompok kontrol *post- perlakuan*, yaitu setelah pemberian diet tinggi lemak 6 minggu dan perlakuan selama 4 minggu.

- O2 = Penimbangan BB dan pemeriksaan kadar kolesterol total, kolesterol-*LDL*, kolesterol-*HDL* dan TG serum kelompok kontrol *post- perlakuan*, yaitu setelah pemberian diet tinggi lemak 6 minggu dan perlakuan 1 selama 4 minggu.
- O3 = Penimbangan BB dan pemeriksaan kadar kolesterol total, kolesterol-*LDL*, kolesterol-*HDL* dan TG serum kelompok kontrol *post- perlakuan*, yaitu setelah pemberian diet tinggi lemak 6 minggu dan perlakuan 2 selama 4 minggu.

## 4.2. Populasi, sampel, besar sampel serta tehnik pengambilan sampel dan data

### 4.2.1. Populasi sampel

Hewan sampel menggunakan *Rattus norvegicus strain Wistar* jenis kelamin jantan, dewasa, umur sekitar 3 bulan, berat berkisar 200 gram dengan kondisi sehat fisik dari Laboratorium Ilmu Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga di Surabaya.

### 4.2.2. Besar sampel

Besar sampel minimal sementara pada kelompok eksperimen yang diberi perlakuan (K1, P1, P2) ditentukan berdasarkan rumus Higgins dan Kinbaut, 1985 :

$$n = \frac{1}{(1-f)} \frac{2 (Z\alpha + Z\beta)^2 S_c^2}{(\bar{x}_c - \bar{x}_t)^2}$$

$\alpha = 5 \%$

f: proporsi yang gagal

$\bar{x}_c$ : nilai rata-rata kelompok kontrol

$\bar{x}_t$ : nilai rata-rata kelompok perlakuan

sc : standar deviasi kelompok kontrol

Data-data yang digunakan untuk perhitungan didapatkan dari penelitian pendahuluan. Jumlah sampel minimal yang dipilih untuk penelitian ini, didapat dari data laboratorium pada penelitian pendahuluan menggunakan 15 ekor tikus, yang dibagi menjadi 3 kelompok, diberi perlakuan seperti penelitian yang direncanakan. (Lampiran 1, halaman 81) dan diperhitungkan dengan rumus Higgins dan Kinbaut. Dari jumlah sampel minimal hasil perhitungan, angka tertinggi yang diperoleh adalah 10,3 (dibulatkan menjadi 11). Perhitungan jumlah sampel secara lengkap dapat dilihat pada lampiran 2. halaman 82.

Dengan memperhitungkan adanya faktor resiko kematian maka jumlah sampel ditambah, sehingga pada akhir perlakuan, jumlah sampel sebesar 12 ekor tikus untuk setiap kelompok.

#### 4.2.3. Tehnik pengambilan sampel dan data.

Sampel diambil secara *random sampling*, sebanyak 60 ekor tikus.

Pengambilan data dilakukan 3 kali. Pengambilan data pertama yang merupakan data dasar dilakukan sebelum pemberian diet tinggi lemak, dimana data diambil dari 12 ekor tikus (Os) dengan diet standar.

Data kedua yang merupakan data awal keadaan awal hiperkolesterol, diambil dari 12 ekor tikus dengan diet tinggi lemak selama 6 minggu, sebelum diberikan perlakuan (Oo). Setelah pemberian tinggi lemak selama 6 minggu dan tikus mencapai

kondisi hiperkolesterolemia, 36 ekor tikus yang digunakan sebagai sampel dibagi menjadi 3 kelompok secara *random sampling* dengan undian.

Data ketiga yang merupakan data akhir perlakuan, diambil dari tiga kelompok tikus, masing-masing 12 ekor, yang diberikan lanjutan diet tinggi lemak bersama suplementasi perlakuan yang disondekan selama 4 minggu (O1, O2 dan O3).

#### 4.2.4. Teknik Suplementasi Agar-Agar

Pemberian *placebo* (air) pada kelompok K1 dan larutan agar-agar pada kelompok P1 dan P2 dilakukan setiap hari secara perorangan langsung ke dalam lambung dengan sonde bayi nomer 10.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1. Klasifikasi Variabel

##### a. Variabel bebas (independen)

Suplementasi agar-agar :

- Kelompok K1 = Perlakuan dengan sonde aqua
- Kelompok P1 = Perlakuan agar-agar 80 mg serat/hari dalam 0,6 ml air
- Kelompok P2 = Perlakuan agar-agar 350 mg serat/hari dalam 3 ml air

##### b. Variabel tergantung (dependen)

- Kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan triasilgliserol

##### c. Variabel Kendali

- Jenis hewan coba
- Jenis kelamin hewan coba
- Kesehatan fisik hewan coba
- Faktor lingkungan laboratorium untuk pemeriksaan



- Paparan diet tinggi lemak sebelum masa perlakuan selama 6 minggu dilanjutkan masa perlakuan selama 4 minggu

d. Variabel Moderator

- Umur hewan coba
- Berat badan hewan coba

4.3.2. *Definisi Operasional Variabel*

1. Diet standar adalah istilah yang dipakai untuk diet hewan coba sesuai dengan formula di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga (Lampiran 3, hal 86).
2. Diet tinggi lemak adalah istilah yang dipakai untuk diet yang sesuai dengan formula di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga (lampiran 4, hal 87) dengan modifikasi penambahan jumlah lemak babi sampai 2 kg per 10 kg bahan dan diet ini diberikan ad libitum (Diyatri, 1993; Tantiana, 1994).
3. Kondisi hiperkolesterolemia adalah keadaan dengan tikus *Rattus norvegicus* yang sudah mempunyai kadar kolesterol yang meningkat bermakna dibandingkan kadar kolesterol pada keadaan dasar.
4. Suplementasi agar-agar adalah pemberian larutan agar-agar bubuk merek tertentu yang mudah didapat di pasaran (7 gram agar-agar dilarutkan dalam 50 ml air) dengan cara diberikan melalui sonde bayi no 10 pada hewan coba, diberikan pada periode waktu yang sama dengan diet tinggi lemak, yaitu selama 4 minggu, dengan jumlah 0,6 ml larutan agar-agar untuk kelompok perlakuan 1 (P1) dan 3 ml larutan agar-agar untuk kelompok perlakuan 2 (P2).

5. Kadar kolesterol total adalah kadar kolesterol total dalam plasma dengan satuan mg/dl, yang diukur dengan metoda *CHOD-PAP*.
6. Kadar kolesterol *LDL* adalah kadar kolesterol *LDL* dalam plasma dengan satuan mg/dl, yang diukur dengan metoda *PVS*.
7. Kadar kolesterol *HDL* adalah kadar kolesterol *HDL* dalam plasma dengan satuan mg/dl, yang diukur dengan metoda *CHOD-PAP*.
8. Kadar triasilgliserol adalah kadar triasilgliserol dalam plasma dengan satuan mg/dl, yang diukur dengan metoda *GPO-PAP*.
9. Berat badan tikus yaitu berat badan tikus dalam satuan gram yang diukur dengan neraca.
10. Kondisi sehat fisik hewan coba yaitu kondisi hewan coba berbadan sehat yang ditandai dengan ciri-ciri : bermata jernih, bulu mengkilap, gerakan aktif/ lincah dan feses baik / tidak lembek.

#### **4.4. Bahan Penelitian**

##### **4.4.1. Hewan coba**

Hewan coba adalah *Rattus norvegicus strain Wistar* dari laboratorium Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, jenis kelamin jantan, umur sekitar 3 bulan berat berkisar 200 gram, dalam kondisi sehat fisik, dengan jumlah tiap kelompok 12 ekor.

Kelompok dasar (S) 12 ekor dan kelompok awal dengan diet tinggi lemak (Ko) 12 ekor serta 3 kelompok eksperimen yang jumlah masing-masing kelompok 12 ekor. Jumlah sampel untuk kelompok perlakuan ditentukan dengan penelitian pendahuluan.

#### 4.4.2. Pakan untuk membuat hiperkolesterolemia

Makanan hewan coba diberikan dalam bentuk pelet. Untuk membuat diet tinggi lemak digunakan minyak babi yang dicampurkan ke dalam pakan dan diberikan ad libitum dengan komposisi seperti pada Lampiran 5, halaman 88.

#### 4.4.3. Agar-agar

Untuk suplementasi agar-agar pada kelompok perlakuan, dipakai agar-agar bubuk merek tertentu yang dibeli di pasaran. Untuk melarutkan agar-agar digunakan aquadest. Agar-agar ini diberikan sekali setiap hari pada tikus selama 4 minggu. Agar-agar dilarutkan dalam aquadest (7 gram/50 ml air), kemudian larutan agar-agar disondekan langsung masuk ke lambung, dengan volume 0,6 ml untuk kelompok P1 dan 3 ml untuk kelompok P2. Kadar agar-agar dalam larutan dapat dilihat pada lampiran 7, halaman 90.

Perhitungan agar-agar yang diberikan pada tikus dengan memperhitungkan faktor konversi pada tikus (lampiran 6, hal 89) dan memperhitungkan dosis serat mengacu pada pemberian serat yang dapat menurunkan kadar kolesterol pada manusia (lampiran 7, halaman 90), serta mempertimbangkan volume larutan agar-agar yang dapat disondekan pada tikus. Dari perhitungan tersebut, jumlah serat agar-agar yang akan diberikan sudah dikurangi dengan perhitungan serat dalam makanan yang dikonsumsi tikus, yaitu :

- 80 mg serat per hari dalam 0,6 ml air untuk tikus P1 dan
- 350 mg serat per hari dalam 3 ml air untuk tikus P2

Pertimbangan volume air (sebagai pelarut) yang diberikan adalah berdasarkan jumlah volume yang masih memungkinkan disondekan pada tikus (3 ml) dan jumlah minimal air sebagai pelarut agar-agar, yaitu 7 gram agar-agar dalam 50 ml air.

Jumlah serat dalam agar-agar yang digunakan dalam penelitian ini telah diperiksa ulang dengan metoda AOAC (lampiran 8, halaman 93).

#### **4.5. Peralatan yang diperlukan :**

##### **4.5.1. Peralatan kandang**

Tikus uji maupun kontrol dikelompokkan maksimal 5 ekor/kandang dengan satu botol minum. Pakan berbentuk pelet dengan komposisi yang tercatat pada lampiran 2, hal 85 dan lampiran 3, hal 86 dan minum dalam botol diberikan ad libitum.

##### **4.5.2. Peralatan untuk perlakuan**

Peralatan untuk perlakuan meliputi neraca analitis untuk menimbang agar-agar dan neraca kasar untuk menimbang tikus. Sonde untuk bayi ukuran 10, Spuit 5 ml, dan *beaker glass* 250 ml.

##### **4.5.3. Peralatan untuk pengambilan sampel serum**

Diperlukan spuit 5 ml dan 1 tabung reaksi untuk masing-masing tikus, dilengkapi dengan rak tabung reaksi. Diperlukan pula alat pemusing untuk memisahkan serum darah serta pipet untuk mengambil serum. Serum yang telah dipisahkan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 ml untuk diperiksa kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan TG.

#### 4.5.4. Sampel Darah

Sebelum dan setelah masa perlakuan selesai, dilakukan pengukuran kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan TG pada sampel darah tikus percobaan kelompok yang berbeda. Setiap pengambilan data laboratorium, tikus dikorbankan dengan diambil darahnya sekitar 4 ml dengan cara melakukan punksi intrakardial dengan spuit 26 gauge, ¼ inchi, 5 ml, dibawah anestesi inhalasi menggunakan dietil eter (*aether anaesthetics*, Kimia Farma). Sebelum di ambil darahnya, tikus dipuasakan selama 18 jam, sedang minum tetap diberikan ad libitum seperti biasa.

Darah yang diperoleh didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian dipusingkan selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Serum yang terpisah dimasukkan ke dalam botol dan disimpan pada suhu -30<sup>0</sup>C sampai saat dilakukan pemeriksaan laboratorium. agar sampel tidak rusak.

#### 4.6. Prosedur Penelitian

##### 4.6.1. Tahap Pra Perlakuan

Aklimatisasi hewan selama tujuh hari dalam kondisi laboratorium yaitu : selama penelitian hewan coba ditempatkan pada kandang dengan ukuran 40 cm X 30 cm dan 20 cm, tiap kandang maksimal berisi 5 hewan coba, penyinaran cukup dan udara keluar masuk bebas.

Setelah tikus disapih, diberi diet standar berupa pelet dengan komposisi standar (Lampiran 3, halaman 86) selama 8 minggu. Selanjutnya dilakukan penimbangan berat badan dan pemeriksaan kadar kolesterol total dalam darah pada 12 ekor tikus sebagai data dasar (Lampiran 9, halaman 95). Kemudian untuk mencapai

keadaan hiperkolesterolemia, maka semua tikus diberi diet tinggi lemak selama 6 (enam) minggu. Sesudah itu dilakukan penimbangan berat badan dan pemeriksaan kadar kolesterol total, kolesterol-*LDL* kolesterol-*HDL*, dan TG dalam darah, secara random pada 12 ekor tikus, sebagai data awal dengan diet tinggi lemak (Lampiran 10 & 12, halaman 96 & 98).

#### 4.6.2 Tahap Perlakuan

Sesudah keadaan hiperkolesterolemia tercapai, hewan percobaan dibagi secara acak menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol (K1), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2).

Kelompok kontrol (K1):

Kelompok kontrol adalah kelompok tikus dengan diteruskan diet tinggi lemak dan mendapat perlakuan pemberian aquadest per sonde setiap hari selama 4 minggu.

Kelompok perlakuan 1 (P1) :

Kelompok P1 adalah kelompok tikus dengan diteruskan diet tinggi lemak dan mendapat perlakuan suplementasi larutan agar-agar dalam aquadest 0,6 ml/hr (mengandung serat 80 mg) per sonde setiap hari selama 4 minggu

Kelompok perlakuan 2 (P2) :

Kelompok P2 adalah kelompok tikus dengan diteruskan diet tinggi lemak dan mendapat perlakuan suplementasi larutan agar-agar dalam aquadest 3 ml/hr (mengandung serat 350 mg) per sonde setiap hari selama 4 minggu.

Pada akhir perlakuan (akhir minggu ke 4), hewan coba kelompok perlakuan (K1, P1 dan P2) ditimbang berat badannya (Lampiran 11, halaman 97), diambil darahnya untuk diperiksa kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL*, dan TG (Lampiran 12, halaman 98).

#### 4.6.3. Tahap analisis sampel

##### 4.6.3.1. Penimbangan Berat Badan

Penimbangan berat badan tikus dilakukan tiga kali, yaitu ;

- Pada keadaan dasar sebelum diberikan diet tinggi lemak (12 ekor tikus) (Lampiran 9, halaman 95)
- Pada keadaan awal hiperkolesterolemia, sesudah pemberian diet tinggi lemak 6 minggu sebelum perlakuan (12 ekor tikus) (Lampiran 10, halaman 96)
- Pada keadaan akhir perlakuan, sesudah suplementasi agar-agar bersama dengan lanjutan diet tinggi lemak 4 minggu (Lampiran 11, halaman 97).

##### 4.6.3.2. Pemeriksaan Laboratorium.

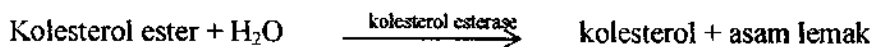
Pemeriksaan laboratorium juga dilakukan tiga kali sama dengan penimbangan berat badan.

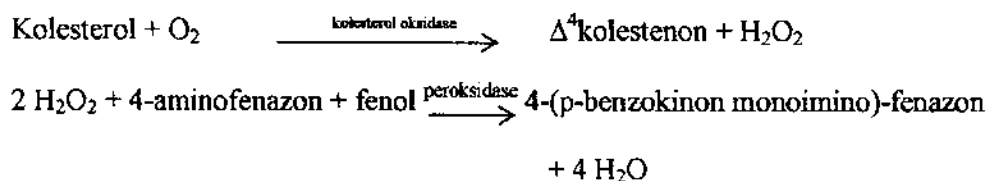
Pada akhir perlakuan (akhir minggu ke 4), hewan coba kelompok perlakuan (K1, P1 dan P2) ditimbang berat badannya, diambil darahnya untuk diperiksa kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL*, dan TG (Lampiran 12, halaman 98).

##### Pemeriksaan kadar kolesterol total

Dilakukan dengan Metode *CHOD-PAP* menggunakan kit dari Boehringer Mannheim

Prinsip :





Bahan :

- Reagen MPR 1 no. 1 442 341
- Reagen MPR 2 no. 1 442 350
- Reagen MPR 3 no. 236 691

Penamaan MPR untuk reagen 1, 2 dan 3 dan nomor katalog tersebut diatas seperti tercantum pada petunjuk kit. Reagen MPR 1 no.1 442 341 merupakan larutan dalam 32 ml aquabidest. Reagen MPR 2 no. 1 442 350 merupakan larutan dalam 100 ml aquabidest dan reagen MPR 3 no. 236 691 merupakan larutan dalam 500 ml aquabidest. Setelah dicampur, reagen ini digunakan dalam pemeriksaan kadar kolesterol dan stabil selama 4 minggu pada suhu 2 sampai 8° C.

Cara kerja :

Tabung I (blanko reagen) berisi 2 ml reagen yang telah dilarutkan dalam air suling / aquades digunakan sebagai titik nol. Tabung II berisi 2 ml reagen yang telah dilarutkan dalam air suling / aquades, kemudian dicampur dengan larutan sampel 0,02 ml (serum). Tabung I dan II diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar atau selama 5 menit pada suhu 37<sup>0</sup>C, selanjutnya kadar kolesterol sampel dibaca absorbansinya (dalam waktu 1 jam) dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 500 nm.

Kadar kolesterol total dapat dihitung dengan formula :

$$\text{Kadar (mg/dl)} = 575 \times \text{absorbansi sampel}$$



### **Pemeriksaan kadar kolesterol LDL**

Dilakukan dengan metode *PVS*

Prinsip :

*LDL* serum diendapkan dengan penambahan polivinil sulfat pada serum. Konsentrasi dihitung dari pengurangan antara total kolesterol dalam serum dengan kolesterol dalam supernatan setelah sentrifugasi.

Bahan :

- Reagen MPR 1 no. 726290 berisi *PVS (Polyvinyl sulphate)* dan akselerator
- Reagen pelengkap untuk pemeriksaan kolesterol dengan metode *CHOD-PAP* yaitu MPR 1, MPR 2, MPR 3

Cara kerja :

Tabung I diisi (blanko) dengan 50  $\mu$ l aquades dan reagen CHOD-PAP sebanyak 2000  $\mu$ l reagen. Tabung II diisi dengan 100  $\mu$ l reagen presipitasi yang sudah diencerkan dicampur dengan 200  $\mu$ l sampel, selanjutnya diinkubasi selama 15 menit pada suhu kamar kemudian dipusingkan selama 15 menit pada 1500 g atau 2 menit pada 10000. g. Setelah itu supernatan dipisahkan untuk diukur kadar kolesterolnya dengan metode CHOD-PAP. Kedua tabung diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar atau selama 5 menit pada suhu 37°C. Kadar kolesterol LDL dibaca absorbansinya pada spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm (dalam waktu 1 jam).

Kadar kolesterol dapat dihitung dengan formula :

$$\text{Kadar (mg.dl)} = 350,1 \times \text{absorbansi sampel}$$

Kadar kolesterol LDL dapat dihitung dengan formula :

$$\text{Kolesterol LDL} = \text{Kolesterol total} - \text{kolesterol supernatan.}$$

### **Pemeriksaan kadar kolesterol *HDL***

Dilakukan dengan metode *CHOD-PAP*

Prinsip :

Dengan pemberian asam *phosphotungstat* dan ion *magnesium* ke dalam serum, maka kilomikron, *VLDL* dan *LDL* akan mengalami presipitasi (mengendap). Setelah dilakukan pemusingan, di dalam supernatannya terdapat *HDL*, dimana kadar kolesterolnya ditentukan dengan metoda enzimatik.

Bahan :

- Reagen presipitan MPR 2 no.543004
- Reagen pelengkap untuk pemeriksaan kolesterol dengan metode *CHOD-PAP* yaitu MPR 1, MPR 2, MPR 3

Cara kerja :

Larutan reagen presipitasi dalam aquades 500  $\mu$ l dicampurkan dengan 200  $\mu$ l sampel (serum). Diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar dan kemudian dipusingkan selama 10 menit (4000 putaran / menit) atau 2 menit (12000 putaran/menit). Selanjutnya supernatan yang jernih dipisahkan (dalam waktu 2 jam) setelah pemusingan dan digunakan untuk menentukan kadar kolesterol dengan metode *CHOD-PAP*. Supernatan dapat disimpan selama 5 hari pada suhu 4-25<sup>0</sup>C. Tabung II berisi campuran 100  $\mu$ l supernatan dan 1000  $\mu$ l reagen. Tabung I dan II diinkubasi selama 10 menit dalam suhu kamar atau selama 5 menit pada suhu 37<sup>0</sup>C. Kemudian kadar kolesterol dari reagen sampel dan blanko dibaca absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 500 nm (dalam waktu 1 jam).

Kadar kolesterol *HDL* dapat dihitung dengan formula

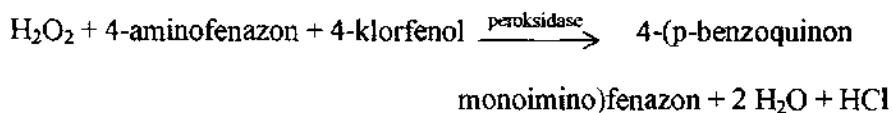
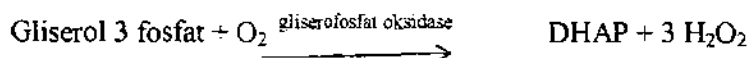
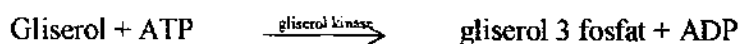
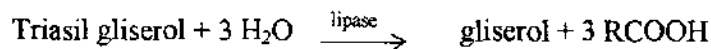
Kadar (mg/dl) = 219,2 X absorbansi sampel.

### Pemeriksaan kadar triasil gliserol

Dilakukan dengan metode *GPO-PAP*

Prinsip :

Triasil gliserol dihidrolisis secara enzimatik dengan reaksi seperti di bawah ini :



Bahan : Reagen I no. 701912

Cara kerja :

Tabung I berisi : 2 ml larutan reagen (no.701912) yang sudah dilarutkan. Tabung II berisi 2 ml larutan reagen (no. 701912) yang sudah dilarutkan dan 0,02 ml sampel (serum). Tabung I dan tabung II diinkubasikan selama 10 menit pada suhu kamar. Selanjutnya kadar triasil gliserol sampel dibaca terhadap reagen blanko dengan menggunakan spektrofotometer otomatis dengan panjang gelombang 500 nm.

#### 4.7. Lokasi dan waktu penelitian

##### 4.7.1. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di kandang hewan coba, Laboratorium Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya,

#### 4.7.2. Waktu Penelitian

Seluruh penelitian dilaksanakan dalam waktu kurang lebih 6 bulan ( Pebruari 2003 sampai dengan Juli 2003)

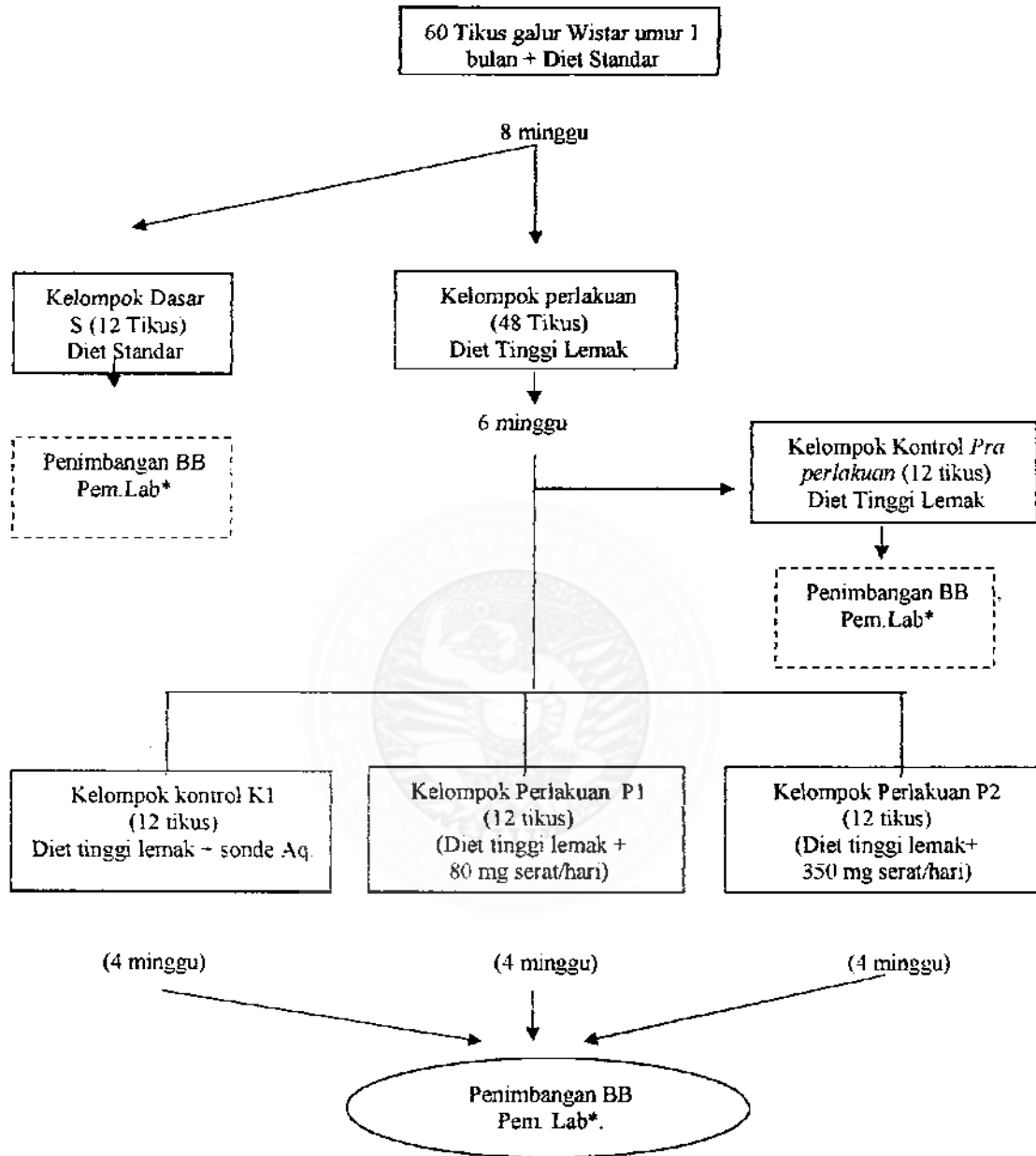
#### 4.8. Cara analisis data

Data kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan TG dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan diuji statistik dengan deskriptif, normalitas dan *Multi variate Analisis of Variance (Manova)*, yang apabila didapatkan perbedaan yang bermakna, dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significant Difference)* dengan tingkat kemaknaan  $p < 0,05$ .



## Alur Penelitian

## BAGAN RANCANGAN PENELITIAN



## Keterangan :

## Pemeriksaan Laboratorium\* :

- Pemeriksaan kadar kolesterol Total
- Pemeriksaan kadar kolesterol *LDL*
- Pemeriksaan kadar kolesterol *HDL*
- Pemeriksaan kadar TG

**BAB 5****ANALISIS HASIL PENELITIAN**

Dalam penelitian pengaruh suplementasi agar-agar pada kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan triasilgliserol pada serum darah tikus (*Rattus Norvegicus*) dengan diet tinggi lemak, data diambil dari penimbangan berat badan (BB) dan pemeriksaan laboratorium (Kol.T), kolesterol *LDL* (Kol.*LDL*), Kolesterol *HDL* (Kol.*HDL*) dan triasilgliserol (TG).

Data yang didapat dari hasil penelitian selanjutnya dideskripsikan dan diuji statistik dengan *Manova* dengan taraf signifikansi 5 % dilanjutkan dengan analisis *ISD*.

Sebelum melakukan analisis data hasil penelitian yaitu berat badan, kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan kadar triasilgliserol kelompok hewan coba dilakukan uji persyaratan, yaitu uji normalitas distribusi (uji *Kolmogorov – Smirnov*) lampiran 13. Dari hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan berat badan, kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan kadar triasilgliserol berdistribusi normal pada semua kelompok ( $p > 0,05$ )

**5.1. Berat Badan**

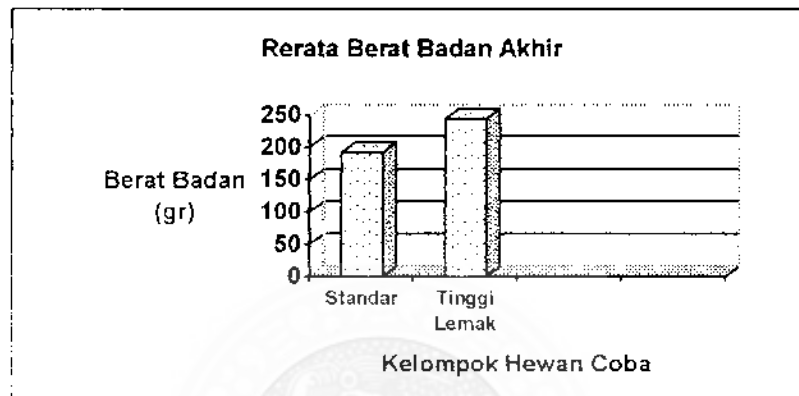
Selama masa penelitian ini, berat badan (BB) hewan coba ditimbang 3 kali, yaitu pada keadaan dasar sebelum diberikan diet tinggi lemak (12 ekor tikus), pada keadaan awal hiperkolesterolemia sebelum perlakuan, sesudah pemberian diet tinggi lemak selama 6 minggu dan pada keadaan akhir perlakuan, sesudah suplementasi agar-agar bersama dengan lanjutan diet tinggi lemak selama 4 minggu.

Tabel 5.1. Hasil Analisis Statistik Berat Badan Akhir Hewan Coba (gram) dengan Diet Standar dan Diet Tinggi Lemak

Berat Badan Kelompok Dasar	N	X	SD	p
Diet Standar	12	191,50	4,64	0,000**
Diet Tinggi Lemak	12	243,33	12,48	

Ket : Signifikan untuk taraf kepercayaan  $p < 0,01$

Secara diagram dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 5.1. Rerata Berat Badan Akhir Kelompok Hewan Coba dengan Diet Standar dan Diet Tinggi Lemak

Pada masa perlakuan, hewan coba dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, dimana masing-masing kelompok terdiri dari 12 ekor tikus. Angka 12 ekor tikus ini ditentukan setelah penelitian pendahuluan. Untuk mendapat gambaran tentang pertambahan pada masing-masing kelompok tikus selama masa perlakuan, maka dilakukan penimbangan berat badan awal dan berat badan kelompok perlakuan.

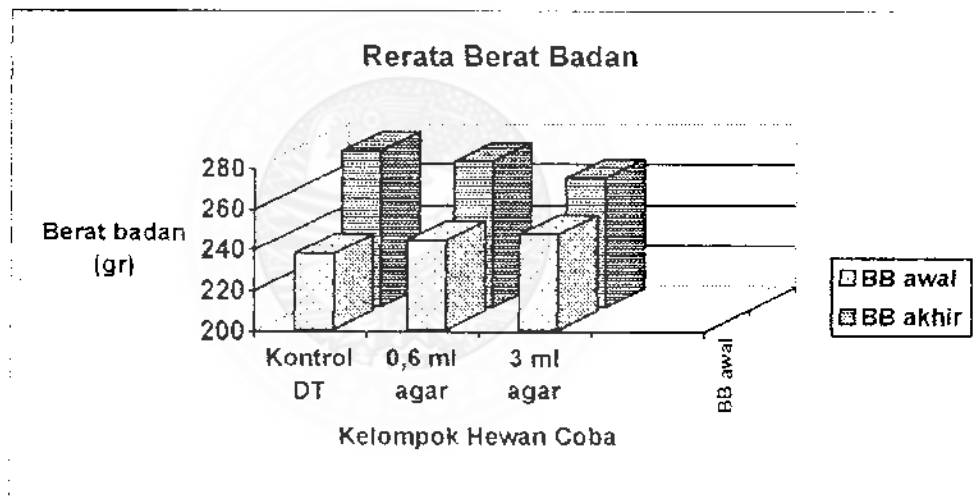
Ringkasan hasil penimbangan berat badan dapat dilihat pada tabel 5.2 di bawah ini :

Tabel 5.2. Hasil Analisis Berat Badan Hewan Coba (gram) pada Awal dan Akhir Perlakuan

Berat Badan Kel. Perlakuan		N	X	SD	p
K1	Awal Perlakuan	12	237,50	18,65	0,000**
	Akhir Perlakuan	12	276,75	20,98	
P1	Awal Perlakuan	12	244,17	13,46	0,000**
	Akhir Perlakuan	12	271,67	11,55	
P2	Awal Perlakuan	12	247,08	12,87	0,000**
	Akhir Perlakuan	12	263,75	13,67	

Ket : \*\* signifikan pada taraf kepercayaan  $p < 0,01$

Secara diagram dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 5.2. Rerata Berat Badan Tikus pada Awal dan Akhir Perlakuan



Tabel 5.3. Hasil Uji *Manova*, *Multiple Comparison* Berat badan Kelompok Perlakuan dengan kelompok Kontrol

Variabel	Kelompok	p
Berat Badan Awal	K1 vs P1	0,291
	K1 vs P2	0,132
	P1 vs P2	0,642
Berat Badan Akhir	K1 vs P1	0,440
	K1 vs P2	0,054
	P1 vs P2	0,232

Dari hasil perhitungan statistik, pada berat badan awal tidak terdapat perbedaan berat badan yang bermakna antara kelompok P1 dengan kelompok kontrol (K1) dan antara kelompok P2 dengan kelompok kontrol K1 ( $p > 0,05$ ). Pada berat badan akhir, antara kelompok K1 dengan P1 dan kelompok P1 dengan P2 juga tidak terdapat perbedaan berat badan yang bermakna sedangkan antara kelompok K1 dan P2 tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

## 5.2. Data Pemeriksaan Laboratorium

### 5.2.1. Kadar Kolesterol Total, Kolesterol *LDL*, Kolesterol *HDL* dan

#### Kadar Triasilgliserol (mg/dl) kelompok Standar dan Diet

#### Tinggi Lemak

Kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan kadar triasilgliserol setelah tercapai kondisi hiperkolesterolemia (awal perlakuan) dapat dilihat pada tabel 5.4 di bawah ini :

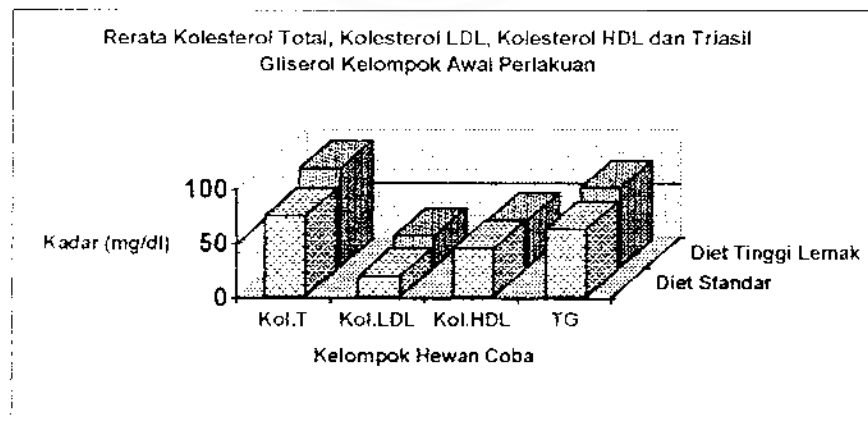
Tabel 5.4. Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total Serum Sebelum Perlakuan (mg/dl)

Kelompok Dasar	Diet	N	X	SD	P
Kolesterol Total	Diet Standar	12	74,67	8,25	0,000**
	Diet Tinggi Lemak	12	90,67	7,67	
Kolesterol <i>LDL</i>	Diet Standar	12	19,33	7,41	0,005**
	Diet Tinggi Lemak	12	28,17	6,62	
Kolesterol <i>HDL</i>	Diet Standar	12	44,75	14,82	0,725
	Diet Tinggi Lemak	12	42,92	9,88	
Triasilgliserol	Diet Standar	12	62,75	10,52	0,080
	Diet Tinggi Lemak	12	72,92	16,04	

Ket : \*\* Signifikan pada taraf kepercayaan  $p < 0,01$

Dari hasil perhitungan statistik dapat ditunjukkan adanya perbedaan kadar kolesterol total dan kadar kolesterol *LDL* yang bermakna antara kelompok tikus sebelum dan sesudah pemberian diet tinggi lemak ( $p < 0,01$ ), serta adanya perbedaan yang tidak bermakna antara kadar kolesterol *HDL* dan kadar triasilgliserol sebelum dan sesudah pemberian diet tinggi lemak ( $p > 0,05$ )

Secara diagram dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 5.3. Rerata Kadar Kolesterol Total, Kolesterol *LDL*, Kolesterol *HDL* dan Triasilgliserol (mg/dl) Kelompok Awal Perlakuan

### 5.2.2. Hasil Analisis Statistik Deskriptif dan Uji *Pairwise Comparison*

#### Kadar kolesterol Total, Kolesterol *LDL*, Kolesterol *HDL* dan Kadar Triasilgliserol (mg/dl) Kelompok Sesudah Perlakuan

Hasil analisis statistik deskriptif dan uji *Pairwise Comparison* kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan kadar triasilgliserol setelah pemberian suplementasi larutan agar-agar dapat dilihat pada tabel 5.5 dan tabel 5.6. di bawah ini

Tabel 5.5. Hasil Analisis Statistik Deskriptif Kadar Kolesterol Total, Kolesterol *LDL*, Kolesterol *HDL* dan Triasilgliserol Kelompok Sesudah Perlakuan

Variabel	Kelompok Perlakuan	N	X	SD
Kolesterol Total	K1 (Kontrol)	12	95,67	9,75
	P1 (0,6 ml agar)	12	74,75	8,51
	P2 (3 ml agar)	12	67,17	9,05
Kolesterol <i>LDL</i>	K1 (Kontrol)	12	29,00	4,02
	P1 (0,6 ml agar)	12	20,25	4,99
	P2 (3 ml agar)	12	15,67	5,07
Kolesterol <i>HDL</i>	K1 (Kontrol)	12	56,17	8,78
	P1 (0,6 ml agar)	12	47,25	9,65
	P2 (3 ml agar)	12	43,75	5,88
Triasilgliserol	K1 (Kontrol)	12	88,33	30,13
	P1 (0,6 ml agar)	12	106,58	40,48
	P2 (3 ml agar)	12	80,33	21,52

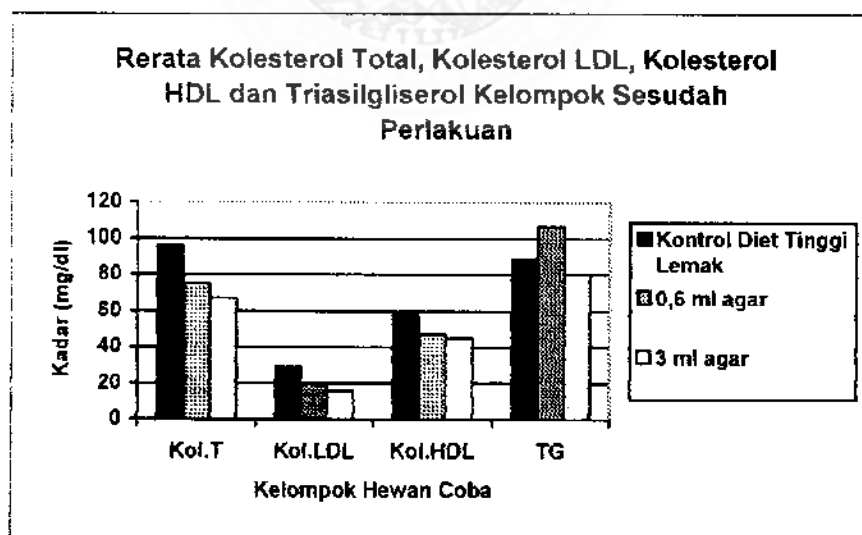
Tabel 5.6. Hasil Uji *Pairwise Comparison* Kadar kolesterol Total, Kolesterol *LDL*, Kolesterol *HDL* dan Triasilgliserol Kelompok Sesudah Perlakuan

Variabel	Kelompok	P
Kolesterol Total	K1 vs P1	0,000**
	K1 vs P2	0,000**
	P1 vs P2	0,001**
Kolesterol <i>LDL</i>	K1 vs P1	0,000**
	K1 vs P2	0,000**
	P1 vs P2	0,033*
Kolesterol <i>HDL</i>	K1 vs P1	0,005**
	K1 vs P2	0,002**
	P1 vs P2	0,122
Triasilgliserol	K1 vs P1	0,316
	K1 vs P2	0,456
	P1 vs P2	0,059

Ket : \* Signifikan pada taraf kepercayaan  $p < 0,05$

\*\* Signifikan pada taraf kepercayaan  $p < 0,01$

Secara diagram dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 5.4. Kadar kolesterol Total, *LDL*, *HDL* dan Triasilgliserol Tikus yang diberi Diet Kontrol, P1 (0,6 ml agar-agar) dan P2(3 ml agar-agar)

Berdasarkan hasil perhitungan statistik dari hasil pemeriksaan laboratorium yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa :

1. Kadar Kolesterol Total

Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 dengan P1 dan antara kelompok K1 dengan P2 dengan  $p < 0,01$ , serta terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok P1 dengan kelompok P2 dengan  $p < 0,01$

2. Kadar Kolesterol *LDL*

Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 dengan P1 dan antara kelompok K1 dengan P2 dengan  $p < 0,01$ , serta terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok P1 dengan kelompok P2 dengan  $p < 0,05$

3. Kadar Kolesterol *HDL*

Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 dengan P1 dan antara kelompok K1 dengan P2 dengan  $p < 0,01$ , serta tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok P1 dengan kelompok P2 dengan  $p > 0,05$

4. Kadar Triasilgliserol

Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 dengan P1 dan antara kelompok K1 dengan P2 dengan  $p > 0,05$ , serta tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok P1 dengan kelompok P2 dengan  $p > 0,05$

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini hewan coba dibuat hiperkolesterolemia dengan cara menambah jumlah lemak babi dalam diet. Hal ini merujuk pada beberapa penelitian yang telah dilakukan pada hewan bahwa efek hipokolesterolemia dari serat akan lebih jelas terlihat bila sebelumnya hewan coba dibuat hiperkolesterolemia (Rahmi, 1993).

#### **6.1. Berat Badan**

Dalam penelitian ini hasil penimbangan berat badan menunjukkan bahwa berat badan awal, berat badan akhir maupun penambahan berat badan pada masing-masing kelompok hewan coba bervariasi, tetapi dari analisis statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada BB awal dan akhir perlakuan maupun penambahan BB antar ketiga kelompok. Hal ini memberikan gambaran bahwa tidak terdapat perbedaan dalam jumlah masukan kalori pada ketiga kelompok penelitian. Dengan demikian, pada penelitian ini jumlah masukan kalori bukan merupakan faktor yang ikut berperan dalam terjadinya perbedaan kadar kolesterol total serum. Jumlah kalori yang berlebihan dapat meningkatkan kadar kolesterol (Rahmi, 1993). Juga dapat dikemukakan bahwa penambahan serat pada kelompok perlakuan P1 dan P2 tidak mempengaruhi nafsu makan ataupun absorpsi zat-zat gizi, sehingga pada akhir perlakuan masih didapatkan berat badan yang tidak berbeda secara bermakna.

## **6.2. Kadar Kolesterol Total, Kolesterol *LDL*, Kolesterol *HDL* dan Kadar Triasilgliserol (mg/dl) kelompok Standar dan Diet Tinggi Lemak**

Untuk mengetahui tercapainya kondisi hiperkolesterolemik dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan triasilgliserol setelah pemberian diet tinggi lemak selama 6 minggu. Hasil perhitungan statistik terhadap pengukuran kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan triasilgliserol menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada kadar kolesterol total dan kolesterol *HDL* di dalam serum tikus yang meningkat dibandingkan dengan kadar kolesterol total dan kolesterol *LDL* serum tikus dengan diet standard ( $p < 0,01$ ). Peningkatan kadar kolesterol total dan kolesterol *LDL* yang bermakna menunjukkan bahwa tikus sudah mencapai keadaan hiperkolesterolemik.

## **6.3. Kadar kolesterol Total, Kolesterol *LDL*, Kolesterol *HDL* dan Kadar Triasilgliserol (mg/dl) Kelompok Sesudah Perlakuan**

### **6.3.1. Kadar Kolesterol Total**

Suplementasi larutan agar-agar sebanyak 0,6 ml (mengandung 80 mg serat) ke dalam diet hewan coba menyebabkan rata-rata hitung kadar kolesterol serum pada kelompok P1 sebesar 74,75 mg/dl menjadi lebih rendah secara bermakna ( $p < 0,01$ ) dibandingkan kadar kolesterol total serum kelompok kontrol yaitu sebesar 92,67 mg/dl, sedang suplementasi larutan agar-agar sebanyak 3 ml (mengandung 350 mg serat) dalam diet menurunkan kadar kolesterol total serum kelompok P2 sebesar 67,83 secara bermakna ( $p < 0,01$ ) dibandingkan kadar kolesterol total serum kelompok kontrol. Disamping itu juga didapatkan perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok P1 dengan kelompok P2 ( $p < 0,01$ ), dimana kadar kolesterol serum

kelompok P2 lebih rendah dari kadar kolesterol serum kelompok P1. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian terdahulu yang telah dipublikasikan yang menunjukkan penambahan masukan serat yang tinggi akan menurunkan kadar kolesterol total secara bermakna pada 60% -70% percobaan (Broen, *dkk*, 1999).

Serat merupakan salah satu senyawa yang stabil terhadap pemanasan (Rahmi, 1993). Mengacu berbagai hasil penelitian (Rahmi, 1993) yang mengungkapkan bahwa penambahan serat tertentu ke dalam diet dapat menyebabkan perubahan kolesterol total serum, baik pada manusia maupun hewan coba, maka komponen serat yang terdapat di dalam agar-agar yang berperan dalam menurunkan kadar kolesterol total serum pada penelitian ini. Telah banyak dilaporkan bagaimana mekanisme penurunan kadar kolesterol serum oleh serat, sekalipun sebagian diantaranya masih bersifat dugaan. Mekanisme tersebut berdasarkan pada sifat fisika-kimia dari serat seperti : kapasitas hidrasi, kemampuan mengikat bahan-bahan organik, sifat sebagai residu makanan yang tak tercerna dsb. Adanya sifat-sifat tersebut menyebabkan serat mempunyai kemampuan mempengaruhi absorpsi dan ekskresi kolesterol, dan mempengaruhi metabolisme asam-asam empedu (Linder, 1992)

Dari studi kepustakaan telah dikemukakan bahwa serat berperan meningkatkan ekskresi kolesterol dan menurunkan absorpsi kolesterol maupun asam empedu dengan cara mengikat kolesterol dan asam empedu yang ada di usus. Pengikatan serat dengan asam empedu ini mengakibatkan penurunan reabsorpsi asam empedu yang akan berakibat pada meningkatnya sintesis asam empedu dari kolesterol (Rianto, 2000). Hal ini akan menyebabkan penurunan kolesterol pada sel hati yang kemudian akan memicu *up regulation* sintesis reseptor-reseptor *LDL* dan peningkatan pembersihan (*clearance*) kolesterol *LDL* (Broen, *dkk*, 1999). Seperti diketahui bahwa



*LDL* merupakan lipoprotein utama pembawa kolesterol dari hati ke jaringan ekstrahepatik. Selain itu serat juga menyebabkan *transit time* yang memendek, sehingga absorpsi kolesterol lebih sedikit (Doyle, 1995; Rahmi, 1993; Linder, 1992; Shen, 1998; Schneenam, 1999). Penurunan absorpsi maupun reabsorpsi kolesterol pada akhirnya akan menurunkan kandungan kolesterol dalam hepatosit yang akan diikuti *up regulation* sintesis reseptor *LDL*.

Penelitian-penelitian yang telah dilakukan selama ini pada umumnya menggunakan serat dalam bentuk murni, tidak dalam bentuk makanan, sehingga sulit untuk membandingkan hasil penelitian ini dengan hasil-hasil penelitian sebelumnya. sekalipun mungkin jenis serat yang digunakan berasal dari bahan makanan yang sama. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Rahmi (1993) dengan menggunakan pektin yang berasal dari buah apel (pektin apel) mendapatkan bahwa penambahan 2,5 % pektin apel ke dalam diet hewan coba tikus menyebabkan kadar kolesterol total serum kelompok perlakuan menjadi 86,26 % dari kadar kelompok kontrol. Sedangkan penambahan 5 % pektin apel ke dalam diet menyebabkan kadar kolesterol total serum kelompok perlakuan menjadi 79,39 % dari kadar kelompok kontrol. Penelitian lain dilakukan oleh Jenkins dkk (1975) pada orang dewasa muda yang sehat, menggunakan pektin apel dengan dosis 36 gr/hr yang menurunkan kadar kolesterol total serum secara bermakna ( $p < 0.05$ ). Penelitian yang dilakukan oleh Keys dkk (1960) dengan menggunakan bermacam-macam buah dan sayuran sebagai sumber serat yang diberikan dalam bentuk alami menurunkan secara bermakna kadar kolesterol total serum. Dalam penelitiannya Keys membandingkan 2 kelompok diet yaitu kelompok diet Italia (DI) dan kelompok diet Amerika (DA). DI mengandung banyak serat dimana di dalamnya antara lain terdapat 300 g apel segar dan 50 g apel *vacu-dry*, sedang pada DA terdapat 65 g apel segar dan 24 g apel *vacu-dry*. Hasil

penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelompok dengan diet tinggi serat (kelompok DI) mempunyai kadar kolesterol total serum lebih rendah daripada kelompok dengan diet rendah serat (kelompok DA)

Mengingat kandungan serat dalam makanan pada penelitian-penelitian tersebut tersebut diatas dirasakan kurang besar maka dalam penelitian ini digunakan agar-agar yang kandungan seratnya lebih besar (84 %) sehingga jumlah yang diberikan kepada hewan coba dapat lebih sedikit.

### 6.3.2. Kadar Kolesterol *LDL*

Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa penambahan serat ke dalam diet hewan coba menurunkan kadar kolesterol total dan kolesterol *LDL* serum yang bermakna antar ketiga kelompok.

Tampak bahwa semakin besar dosis yang diberikan, penurunan kadar kolesterol total dan kolesterol *LDL* serum yang terjadi akan semakin nyata. Hal ini sesuai dengan pendapat Illich dan Albrink (1982) yang menyatakan bahwa efek serat dipengaruhi oleh jumlah / dosis yang diberikan.

Pada akhir perlakuan, didapatkan pula bahwa kadar kolesterol *LDL* serum kelompok kontrol 27,08 mg/dl, kolesterol *LDL* serum kelompok P1 sebesar 19,42 mg/dl dan kadar kolesterol *LDL* serum kelompok P2 sebesar 14,83 mg/dl. Kadar kolesterol *LDL* serum pada kelompok P1 lebih rendah dari kelompok kontrol ( $p < 0,01$ ), dan kadar kolesterol *LDL* serum kelompok P2 lebih rendah dari kadar kelompok kontrol ( $p < 0,01$ ). Apabila diperbandingkan maka juga terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar kolesterol *LDL* antara kelompok P1 dan P2 ( $p < 0,01$ ). Penurunan kadar kolesterol *LDL* serum inilah yang menyebabkan penurunan kolesterol total di dalam serum.

### 6.3.3. Kadar Kolesterol HDL

Uji statistik terhadap hasil pemeriksaan kolesterol HDL serum juga menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol kadar kolesterol HDL serum kelompok kontrol sebesar 60,50 mg/dl, pada pemberian larutan agar-agar 0,6 ml akan menurunkan kadar kolesterol HDL serum kelompok P1 pada akhir perlakuan adalah 45,17 mg/dl, lebih rendah secara bermakna ( $p < 0,05$ ) daripada kelompok kontrol. Sedang pada pemberian larutan agar-agar 3 ml, kadar kolesterol HDL kelompok P2 pada akhir perlakuan 45,50 mg/dl, lebih rendah daripada kelompok kontrol. Didapatkan pula adanya perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok P1 dengan kelompok P2 dimana kadar kolesterol HDL serum kelompok P2 0,33 mg/dl lebih tinggi daripada kelompok P1. Sejauh ini penelitian-penelitian yang ada belum dapat mengungkapkan mekanisme yang mendasari perubahan metabolisme HDL pada tikus. Dari salah satu penelitian yang menggunakan *pectin*, *guar gum* dan *konjac* menyebutkan bahwa pemberian serat dapat menyebabkan penurunan kolesterol HDL yang hanya sedikit bermakna (*borderline of statistical significance*) (Broen, 1999; Jingfan 1996).

Diduga bahwa metabolisme HDL pada tikus dan manusia berbeda. Perlu diteliti lebih lanjut kandungan kolesterol pada HDL maupun LDL pada tikus.

### 6.3.4. Kadar Triasilgliserol

Uji statistik terhadap hasil pemeriksaan triasilgliserol serum juga menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Pada akhir perlakuan, kadar triasilgliserol serum kelompok kontrol sebesar 94,17 mg/dl dan kelompok P1 (pemberian larutan agar-agar

0,6 ml) sebesar 106,58 mg/dl. Pada kelompok P2 (pemberian larutan agar-agar 3 ml), kadar triasilgliserol 80,33 mg/dl, tidak berbeda bermakna dengan kadar triasilgliserol kelompok kontrol. Didapatkan pula adanya perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok P1 dengan kelompok P2. Apabila dicermati pada tikus kelompok P1, ada seekor tikus yang mempunyai kadar triasilgliserol sebesar 213 mg/dl. Kadar ini sangat menyolok lebih tinggi dari pada kadar triasilgliserol yang lain dari ketiga kelompok. Dengan adanya seekor tikus dengan kadar triasilgliserol yang tinggi ini, maka kadar rata-rata triasilgliserol pada tikus kelompok P1 menjadi lebih tinggi. Perlu dicurigai bahwa seekor tikus ini mempunyai kelainan / gangguan yang mendasari peningkatan kadar triasilgliserol ini. Apabila satu tikus dihilangkan, maka uji statistik terhadap kadar triasilgliserol tetap menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna (lampiran 13, hal 115). Sejauh ini penelitian-penelitian yang ada belum dapat mengungkapkan mekanisme yang mendasari hubungan antara modifikasi diet dengan perubahan metabolisme triasilgliserol. Masih diperlukan penelitian-penelitian yang dapat mengungkapkan perubahan metabolisme triasilgliserol dengan pemberian agar. Dari salah satu penelitian yang menggunakan *pectin*, *guar gum* dan *konjac* juga menyebutkan bahwa pemberian serat tidak mempengaruhi kadar triasilgliserol (Broen, 1999; Jingfan 1996)

#### 6.4. Aplikasi pada Manusia

Pada tikus, suplementasi serat dalam agar-agar 80 mg/hari yang merupakan bagian dari konsumsi serat sehari, sudah cukup menurunkan kadar kolesterol total dan kolesterol *LDL* dalam serum pada keadaan hiperkolesterolemia. Apabila hasil penelitian ini akan diaplikasikan / diterapkan pada manusia maka dengan memperhitungkan faktor konversi, maka jumlah konsumsi serat total dalam diet

sebesar 15 gr/hr sudah cukup untuk menurunkan kadar kolesterol total maupun kadar kolesterol *LDL* dalam serum pada kondisi hiperkolesterolemia dengan diet tinggi kolesterol. Apabila diperhitungkan lebih lanjut dengan memperhitungkan faktor konversi, suplementasi agar-agar pada manusia adalah sebesar  $80/270 \times 15 \text{ gram} = 4,4 \text{ gram}$  sudah cukup untuk menurunkan kadar kolesterol total maupun kadar kolesterol *LDL* dalam serum pada kondisi hiperkolesterolemia dengan diet tinggi kolesterol (kurang lebih  $3/5$  pak agar-agar). Jumlah ini nampaknya masih merupakan jumlah yang dapat di aplikasikan pada manusia, namun untuk membuktikan hal ini diperlukan penelitian lebih lanjut.

Jadi dari hasil penelitian ini sekali lagi dapat dikemukakan bahwa suplementasi larutan agar-agar (yang mengandung 80 mg serat) sudah cukup untuk menyebabkan terjadinya penurunan yang bermakna terhadap kadar kolesterol total dan kolesterol *LDL* pada dan antara kelompok perlakuan (apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol).

## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian “ Pengaruh suplementasi agar-agar terhadap kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan triasilgliserol pada serum tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak yang terdiri dari kelompok kontrol (K1), kelompok perlakuan 1 (P1, dengan suplementasi 0,6 ml larutan agar-agar), dan kelompok perlakuan 2 (P2, dengan suplementasi 3 ml larutan agar-agar) pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian suplementasi agar-agar dapat menurunkan kadar kolesterol total darah tikus *Rattus norvegicus* dengan diet tinggi lemak pada kelompok P1 dan P2
2. Pemberian suplementasi agar-agar dapat menurunkan kadar kolesterol *LDL* tikus *Rattus norvegicus* dengan diet tinggi lemak pada kelompok P1-dan P2
3. Pemberian suplementasi agar-agar dapat menurunkan kadar kolesterol *HDL* tikus *Rattus norvegicus* dengan diet tinggi lemak pada kelompok P1 dan P2
4. Pemberian suplementasi agar-agar tidak dapat menurunkan kadar triasilgliserol tikus *Rattus norvegicus* dengan diet tinggi lemak pada kelompok P1 dan P2

#### 7.2. SARAN

Berdasar hasil penelitian “ Pengaruh suplementasi agar-agar terhadap kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan triasilgliserol pada serum tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi lemak “, maka dapat disarankan :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh suplementasi agar-agar terhadap kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan triasilgliserol pada serum manusia, sehingga dapat diketahui lebih jelas pengaruh suplementasi agar-agar terhadap kadar kolesterol *HDL* dan triasilgliserol.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jumlah serat yang lebih sedikit dalam usaha menurunkan kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, dan triasilgliserol serta meningkatkan kadar kolesterol *HDL* agar lebih mudah diaplikasikan pada manusia.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh berbagai serat dalam diet yang biasa dikonsumsi terhadap kadar kolesterol total, kolesterol *LDL*, kolesterol *HDL* dan triasilgliserol sehingga dapat diketahui jenis serat yang paling efektif mempengaruhi profil lemak darah.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh serat dalam diet pada kondisi hipertrigliseridemia mengingat pemberian suplementasi agar-agar pada penelitian ini hanya bermanfaat pada penderita dengan hiperkolesterolemia dan tidak pada penderita hipertrigliseridemia

## KEPUSTAKAAN

- Bachorik PS and Ross JW, 1995. National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of Low Density Lipoprotein Cholesterol : Executive Summary. *Clin Chem*, 41/10:1414-20
- Binsar TB, 2001. Pengaruh rumput laut terhadap kadar lipida darah dan daging ayam petelur. *Gizi Indonesia*, 25:57-65.
- Broen L, Rosner B, Willett WW and Sacks FM, 1999. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*. January. Vol 69, No. 1., 30-42.
- Burton B-Freeman, 2000. Dietary Fiber and Energy Regulation. *Journal of Nutrition* 130:272S-275S.
- Cunniff P, 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC International Suite 400. 16th Ed. 45:72-73
- Diyatri I. 1993. Pengaruh diet wortel (*daucus carota*) kering terhadap kadar kolesterol total, kolesterol HDL dan kolesterol LDL serum tikus dengan hiperkolesterolemia. Tesis Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya
- Doyle W, 1995. *Nutrition an Introduction*. Hodder & Stoughton.
- Ebihara K and Schneeman B. 1989. Interaction of Bile Acids, Phospholipids, Cholesterol and Triglyceride with Dietary Fibers in The Small Intestine of Rats. *J. Nutr.* 119. p1100-1106.
- Gaman PM, Sherrington KB. 1981. Ilmu Pangan, Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikroorganisme. Gajah Mada University Press.
- Hilario A, 2003. Local seaweed extract lowers lipid and cholesterol levels-study. *Philippine Health Research*. Vol.2, No.1., Jan-Feb.
- Hoppe H.A, Levring T, Tanaka Y, 1979. *Marine Algae in Pharmaceutical Science*. Walter de Gruyter Berlin.
- Horie Y, Sugase K and Horie K, 1995. Physiological differences of soluble and insoluble dietary fibre fractions of brown algae and mushrooms in pepsin activity in vitro and protein digestibility. *Asia Pacific J Clin Nutr* 4 : 251-255.
- Jahari AB & Sumarno I, 2001. Epidemiologi Konsumsi Serat di Indonesia. *Gizi Indonesia*, 25:37-56.
- Jenkins CWC, Kendall & Vaksan V, 2000. Viscous fibers, health claims, and strategies to reduce cardiovascular disease risk. *American Journal of*



Clinical Nutrition, February, Vol. 71, No.2, 401-402.

- Jingfan, 1996. Hypolipidaemic Food in China. Asia Pasific J Clin. Nutr (4):249-253
- Koolman J, Klaus-Heinrich Rohm, 2000. Biokimia, Atlas Berwarna & Teks. Cet. 1, Hipokrates.
- Linder CM, 1992. Nutritional Biochemistry and Metabolism. Elsevier Science Publishing, Company, Inc.
- Marks Dawn B, 1996. Biokimia Kedokteran Dasar. EGC,hal 513-532
- Mayes PA, 1999a. Metabolisme Asilgliserol dan Sfingolipid. In (Murray RK, Ganner DK, Mayes PA, Rodwell VW). Biokimia Harper, Edisi 24. Lange EGC. hal 251-259
- Mayes PA, 1999b. Pengangkutan dan Penyimpanan Lipid. In (Murray RK, Ganner DK, Mayes PA, Rodwell VW). Biokimia Harper, Edisi 24. Lange EGC, hal 260-276
- Mayes PA, 1999c. Sintesis, Pengangkutan dan Ekskresi Kolesterol.. In (Murray RK, Ganner DK, Mayes PA, Rodwell VW). Biokimia Harper, Edisi 24. Lange EGC, hal 277-289
- Nakamura M, Taniguti Y, Yamamoto M, Hino K, and Manabe M, 1997. Homogenous assay of serum LDL-cholesterol on an automotic analyzer. Clin Chem. 43'6 :S260-261
- Nishina, P.M.& Freedland, RA, 1990. Effects of Dietary Fiber Feeding in Cholesterol Metabolism in Rat. J.Nutr. 110, p800-805
- Pirac, 2002. Hasil Survei Produk Berserat.
- Pariassa WN, 1983. Pengaruh Vitamin A terhadap status Hb pada tikus. Tesis Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya
- Parks Elizabeth , 2000. Carbohydrate-induced hypertriacylglycerolemia; historical perspective and review of biological mechanism. Am J Clin Nutr; 71 : 412-33
- Pudjirahardjo WJ, Poernomo H., Machfoed MH., 1993. Metode Penelitian dan Statistik Terapan. Cet. 1., Airlangga University Press.
- Rahmi FL, 1993. Pengaruh Diet Apel (*Malus sylvestris*) Kering terhadap kadar kolesterol total, kolesterol *HDL* dan kolesterol *LDL* serum tikus. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya
- Ranberg J, Gardiner T, 1999. Fiber. The Nutrition Science Site. [http://www.glvoscience.com/glycoscience/document\\_viewer.wm?FILENAME=H267A](http://www.glvoscience.com/glycoscience/document_viewer.wm?FILENAME=H267A), 21 Maret 2003.

- Rianto Edhi, 2000. *Metabolisme Lipid*. Diktat Kuliah Biokimia Kedokteran FK UNAIR.
- Rifai N, Ianotti E, DeAngelis K, and Law T, 1998. Analytical and clinical performance of a homogenous enzymatic LDL-cholesterol assay compared with the ultracentrifugation-dextran sulfate-Mg<sup>2+</sup> method. *Clin Chem*, 44/6 : 1242-50
- Rosanne B.H., Nancie Harvey H, 1978. *Nutrition in Clinical Care*. Mc. Graw Hill Book Company.
- Schneeman AO, 1999. *Fiber, Inulin and Oligofructosa : Similarities and Differences*. *Journal of Nutrition*, 129:1424S-1427S.
- Setiawan D, 2000. *36 Resep tumbuhan obat untuk menurunkan kolesterol*. Swadaya.
- Shen H, Lin He, Ralph L, Price and Fernandez ML, 1998. Dietary Soluble Fiber Lowers Plasma LDL Cholesterol Concentrations by Altering Lipoprotein Metabolism in Female Guinea Pigs. *The Journal of Nutrition* September Vol. 128 No. 9, pp. 1434-1441.
- Smith JBBV, Soesanto M, 1981. *Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. UI Press.
- Stryer L, 1995. *Biosintesis Lipid Membran dan Steroid*. *Biochemistry*, ed.4, New York .W.H. Freeman and Company; 27: p 691-710
- Suzuki T, Wang W and Yosie Y, 1999. Binding of cholate, chenodeoxycholate, and deoxycholate to dietary fibers of seaweed foods. *Food Science and Technology*. Tokyo.  
<http://www.confex.com/ift/99annual/abstracts/4655.htm>. 24 Maret 2003.
- Tantiana, 1994. *Studi perbandingan pengaruh minyak jagung dan minyak ikan terhadap profil lemak darah tikus dengan diet tinggi lemak*. Tesis Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Tim Penulis PS, Indriani H, Suminarsih E, 2003. *Budidaya, Pengolahan dan Pemasaran Rumpun Laut*. Cet. 9., Penebar Swadaya, Jakarta.
- Tony Ng. Kock Wai. *What Does Scientific Research Say About Raised Blood Lipids And The "Lipid-Lowering Diet"*. Division of Human Nutrition Institute for Medical Research.  
<http://nutriweb.org.my/profesional/articles/lipidloweringdiet.Pdf>. 21 Maret 2003
- Trautwein EA, Rieckhoff D and Helmut F, 1998. Dietary Inulin Lowers Plasma Cholesterol and Triacylglycerol and Alters Biliary Bile Acid Profile in Hamsters. *The Journal of Nutrition* Vol 128 No.11 November, pp.1937-1947.

Winarno FG, 1996. Teknologi Pengolahan Rumput Laut. Cet. 2., Pustaka Sinar Harapan.

Wirahadikusumah M, 1995. Metabolisme Energi, karbohidrat dan Lipid. Biokimia, ITB Bandung :6 : 164-171

Zainudin M, 2000, Metodologi Penelitian. Program Pascasarjana Universitas Airlangga.



**LAMPIRAN 1****Data Dasar Kolesterol Total, Kolesterol *LDL*, Kolesterol *HDL* dan Triasil Gliserol (mg/dl) Uji Pendahuluan**

Kelompok	Kol.T	Kol.LDL	Kol.HDL	TG
K <sub>1.1</sub>	85	22	59	107
K <sub>1.2</sub>	96	32	55	94
K <sub>1.3</sub>	88	37	44	133
K <sub>1.4</sub>	101	31	59	151
K <sub>1.5</sub>	90	27	58	105
P <sub>1.1</sub>	81	17	58	89
P <sub>1.2</sub>	68	22	39	58
P <sub>1.3</sub>	67	30	31	127
P <sub>1.4</sub>	84	22	41	74
P <sub>1.5</sub>	83	18	56	83
P <sub>2.1</sub>	62	12	41	65
P <sub>2.2</sub>	76	14	52	113
P <sub>2.3</sub>	65	13	48	73
P <sub>2.4</sub>	60	15	37	56
P <sub>2.5</sub>	77	14	56	63

**LAMPIRAN 2****PERHITUNGAN JUMLAH SAMPEL**

Besar sampel ditentukan berdasarkan data-data yang diperoleh dari penelitian pendahuluan, dengan ketentuan sebagai berikut :

Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor tikus

Prosedur penelitian pendahuluan sesuai dengan bagan rancangan pendahuluan

Rumus untuk mengitung besar sampel (Higgins, 1985)

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

$\alpha = 5 \%$

f : proporsi yang gagal

xc : nilai rata-rata kelompok kontrol

xt : nilai rata-rata kelompok perlakuan

Sc : standard deviasi kelompok kontrol

I. Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar kolesterol total serum

1.1. Antara Kelompok K1 dengan kelompok P1

$$\alpha = 0,05 \qquad \beta = 0,10$$

$$Z\alpha = 1,65 \qquad Z\beta = 1,28$$

$$Xc = 92 \qquad Sc = 6,44$$

$$Xt = 76,6 \qquad f = 0,1$$

$$n = \frac{1}{1-0,1} \times \frac{2 (1,65 + 1,28)^2 \cdot 6,44^2}{(92-76,6)^2}$$

$$n = 3,3$$

### 1.2. Antara kelompok K1 dengan kelompok P2

$$X_t = 68$$

$$n = \frac{1}{1-0,1} \times \frac{2(1,65 + 1,28)^2 \cdot 6,44^2}{(92-68)^2}$$

$$n = 1,36$$

## 2. Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar kolesterol *LDL* dalam serum

### 2.1. Antara Kelompok K1 dengan kelompok P1

$$X_c = 29,8 \quad S_c = 5,63$$

$$X_t = 21,8$$

$$n = \frac{1}{1-0,1} \times \frac{2(1,65 + 1,28)^2 \cdot 5,63^2}{(29,8-21,8)^2}$$

$$n = 8,5$$

### 2.2. Antara kelompok K1 dengan kelompok P2

$$X_t = 13,6$$

$$n = \frac{1}{1-0,1} \times \frac{2(1,65 + 1,28)^2 \cdot 5,63^2}{(29,8-13,6)^2}$$

$$n = 2,3$$

## 3. Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar kolesterol *HDL* serum

### 3.1. Antara Kelompok K1 dengan kelompok P1

$$X_c = 55,0 \quad S_c = 6,36$$

$$X_t = 45$$

$$n = \frac{1}{1-0,1} \times \frac{2(1,65 + 1,28)^2 \cdot 6,36^2}{(55,0-45)^2}$$

$$n = 7,6$$

3.2. Antara kelompok K1 dengan kelompok P2

$$X_t = 46,8$$

$$n = \frac{1}{1-0,1} \times \frac{2(1,65 + 1,28)^2 \cdot 6,36^2}{(55-46,8)^2}$$

$$n = 10,3$$

4. Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar triasilgliserol dalam serum

4.1. Antara Kelompok K1 dengan kelompok P1

$$X_c = 118 \quad S_c = 23,35$$

$$X_t = 86,2$$

$$n = \frac{1}{1-0,1} \times \frac{2(1,65 + 1,28)^2 \cdot 23,35^2}{(118-86,2)^2}$$

$$n = 9,2$$

4.2. Antara kelompok K1 dengan kelompok P2

$$X_t = 74$$

$$n = \frac{1}{1-0,1} \times \frac{2(1,65 + 1,28)^2 \cdot 23,35^2}{(118-74)^2}$$

$$n = 5,3$$

Jumlah sampel (n) minimal yang digunakan dipilih yang terbesar yaitu 10,3. Oleh karena adanya resiko kematian maka jumlah sampel yang digunakan untuk setiap kelompok adalah 12 ekor sehingga total keseluruhan jumlah sampel adalah 60





**LAMPIRAN 3****Komposisi Diet Standar (Formula Lab. I. Biokimia FK UNAIR)  
per 10 kg\***

Bahan Makanan	Jumlah
Tepung jagung	2,5 kg
Tepung terigu	3,6 kg
Tepung kacang ijo	1,4 kg
Tepung ikan	1,6 kg
Lemak babi	0,8 kg
Multivitamin ("Rodovit")	40,0 g

\* Makanan dibuat dalam bentuk pelet

\*\* Tiap gram multivitamin Rhodovit mengandung :

- 60.000 IU vitamin A
- 12.000 IU vitamin D<sub>3</sub>
- 120 mg vitamin E
- 24 mg vitamin B<sub>2</sub>
- 2,1 mg vitamin B<sub>1</sub>
- 4,2 mg vitamin B<sub>6</sub>
- 0,042 mg vitamin B<sub>12</sub>
- 6 mg vitamin K<sub>3</sub>
- 150 mg vitamin C

**LAMPIRAN 4****Komposisi Diet Tinggi Lemak (Formula Lab. I. Biokimia FK UNAIR)  
per 10 kg\***

Bahan Makanan	Jumlah
Tepung jagung	2,23 kg
Tepung terigu	3,1 kg
Tepung kacang ijo	1,25 kg
Tepung ikan	1,4 kg
Lemak babi	2,0 kg
Multivitamin ("Rodovit")	35,7 g

\* : Makanan dibuat dalam bentuk pelet



**LAMPIRAN 5****Komposisi Makanan Tinggi Lemak untuk Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan**

Bahan Makanan	Diet Kontrol	Diet P-1	Diet P-2
Tepung jagung	2,23 kg	2,23 kg	2,23 kg
Tepung terigu	3,1 kg	3,1 kg	3,1 kg
Kacang hijau	1,25 kg	1,25 kg	1,25 kg
Tepung ikan	1,4 kg	1,4 kg	1,4 kg
Lemak babi	2,0 kg	2,0 kg	2,0 kg
Vitamin	0,42 g	0,42 g	0,42 g
Agar-agar	-	0,095 g	0,42 g
Glukosa	-	-	-

Perhitungan Isokalori

Kalori yang ada pada 0.309 gram agar-agar yang diberikan perhari =  $0,4177 \times 23,59$

= 1,4 kalori =  $1,4 \div 1 \times 1$  gr glukosa = 0,34 gr glukosa → karena terlalu kecil

jumlahnya maka diabaikan.

## LAMPIRAN 6

Tabel Konversi Tikus

Dosis agar-agar untuk tikus berat 200 g dari berat badan manusia 70 kg dihitung berdasarkan tabel konversi dosis obat dari Laurence dan Bacharach (1964 cit Hariyanti, 1995). Adapun tabel konversi dosis obat tersebut adalah sebagai berikut :

Konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis hewan coba dan manusia

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmot 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,3
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Sumber : Abdul, 2000

## LAMPIRAN 7

## Perhitungan Dosis Penggunaan Agar-Agar

## Perhitungan konsumsi serat :

Bahan Makanan	Per 10 kg	Per 20 gr (estimasi kons/hr untuk tikus 200 gr)	Kadar serat blm makanan	Serat dalam 20 gr pakan
Tepung jagung	2,23 kg	4,46 gr	9,93 %	41,56 mg
Tepung terigu	3 kg	6,00 gr	0,37 %	22,2 mg
Kacang ijo	1,25 kg	2,50 gr	3,30 %	82,5 mg
Tepung ikan	1,4 kg	2,80 gr	18,56 %	51,96 mg
Lemak babi	2,0 kg	4,00 gr	0, 0 %	0,0 mg
Jumlah Dibulatkan				192, 22 mg 190 mg

Kebutuhan serat pada hiperkolesterolemia :

- Pada manusia : Shen, 1998 : 15 gr / hari

Jenkins, 2000 : 25 – 35 gr / hari

Faktor konversi tikus – manusia : 0,018

- Konversi serat pada tikus yang sesuai dengan 15 gr/hr pada manusia  
:  $0,018 \times 15.000 \text{ mg/ hari} = 270 \text{ mg/ hari}$
- Konversi serat pada tikus yang sesuai dengan 25 gr/hr pada manusia  
 $0,018 \times 25.000 \text{ mg/ hari} = 450 \text{ mg/ hari}$
- Konversi serat pada tikus yang sesuai dengan 35 gr/hr pada manusia  
 $0,018 \times 35.000 \text{ mg/ hari} = 630 \text{ mg/ hari}$

Konversi suplementasi serat pada tikus :

$$( 270 - 190 ) \text{ mg} = 80 \text{ mg}$$

$$( 450 - 190 ) \text{ mg} = 260 \text{ mg}$$

$$(630 - 190) \text{ mg} = 440 \text{ mg}$$

Mengingat kadar serat pada agar-agar yang digunakan adalah 84 % maka konversi suplementasi agar-agar yang digunakan pada tikus adalah :

$$100/84 \times 80 \text{ mg} = 95 \text{ mg}$$

$$100/84 \times 260 \text{ mg} = 309 \text{ mg}$$

$$100/84 \times 440 \text{ mg} = 523 \text{ mg}$$

Konversi suplementasi larutan agar pada tikus :

$$95/140 \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$$

$$309/140 \times 1 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$$

$$523/140 \times 1 \text{ ml} = 3,7 \text{ ml} \rightarrow \text{volume ini terlalu banyak sehingga tidak mungkin disondekan pada tikus}$$

Dalam penelitian ini direncanakan dosis serat total yang akan diberikan pada tikus :

1. 270 gr perhari
2. 540 gr per hari (diperoleh dari 2 X 270 mg)

Suplementasi serat pada tikus :

1.  $(270-190) \text{ mg} = 80 \text{ mg}$
2.  $(540-190) \text{ mg} = 350 \text{ mg}$

Suplementasi agar pada tikus :

1.  $100/84 \times 80 \text{ mg} = 95 \text{ mg}$
2.  $100/84 \times 350 \text{ mg} = 417 \text{ mg}$

Suplementasi larutan agar pada tikus :

1.  $95/140 \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$
2.  $417/140 \times 1 \text{ ml} = 3 \text{ ml}$

Jadi suplementasi larutan agar pada tikus yang dipakai adalah

- 0,6 ml  $\rightarrow$  95 mg / hr

- 3 ml → 417 mg / hr → merupakan batas maksimal disondekan.

Dengan pertimbangan :

1. Sudah memenuhi kriteria jumlah serat yang dapat menurunkan kadar kolesterol darah
2. Volume yang memungkinkan disondekan pada tikus.



**LAMPIRAN 8****Penentuan Kadar TDF (Total Dietary Fiber) AOAC**

Prosedure :

1. Timbang sampel ( $\pm 2$  gram)
2. Tambahkan  $H_2O \pm 100$  ml
3. Inkubasi selama 90 menit pada suhu  $37^0$  C, untuk melarutkan bahan-bahan yang larut dalam air
4. Kemudian air pelarut dibuang dan diganti dengan 100 ml  $H_2SO_4$  encer ( $\pm 0,2$  N), aduk-aduk
5. Biarkan beberapa saat supaya residu mengendap
6. Buang larutan  $H_2SO_4$ , dan residu dicuci dengan  $H_2O$  sampai netral (pH 7)
7. Residu ditambah etanol 95 % sebanyak 100 ml
8. Diamkan 1 jam pada suhu kamar
9. Saring residu dengan kertas saring bebeas abu (diketahui beratnya)
10. Cuci residu 2 kali dengan etanol 78 %, 2 kali dengan etanol 95 % dan sekali dengan aseton (masing-masing 20 ml, 20 ml, 10 ml)
11. Residu ditambah kertas saring dimasukkan ke dalam oven pada suhu  $105^0$ C selama 2 jam
12. Dinginkan dalam eksikator (2 jam)
13. Timbang berat residu + kertas saring
14. Tentukan berat residu  $\Rightarrow$  berat (residu + kertas saring)-(kertas saring kosong)
15. Residu + kertas saring dimasukkan ke dalam furnace selama 5 jam pada suhu  $\pm 25^0$ C dalam wadah krus porselen yang diketahui beratnya.
16. Dinginkan krus porselen + abu dalam eksikator selama 2 jam



17. Timbang krus porselen + abu
18. Tentukan berat abu  $\Rightarrow$  (berat krus + abu – berat krus kosong)
19. Hitung kadar serat.

$$\text{Kadar serat} = \frac{\text{Berat residu-berat abu}}{\text{berat sampel}} \times 100 \%$$

Berat sampel	(residu)	Abu	(serat)	%serat
2,0350 g	1,77110 g	0,0030 g	1,7080 g	83,9312%
2,0400 g	1,7161 g	0,0040 G	1,7121 G	83,9265 %
Rata-Rata				83,9288 %

**LAMPIRAN 9****Data Berat Badan Tikus Dengan Diet Standar**

<b>Tikus</b>	<b>BB</b>
1	195
2	187
3	185
4	199
5	187
6	195
7	198
8	188
9	189
10	192
11	194
12	189
Mean	191,50
SD	4,64

**LAMPIRAN 10****Data Berat Badan Tikus Dengan Diet Tinggi Lemak selama 6 minggu**

<b>Tikus</b>	<b>BB</b>
1	220
2	230
3	235
4	240
5	240
6	250
7	250
8	255
9	245
10	235
11	265
12	255
Mean	243,33
SD	23,49

**LAMPIRAN 11****Data Berat Badan Tikus dengan perlakuan dan Diet Tinggi Lemak selama 6 minggu pada Awal dan Akhir Perlakuan****Kel. K1 (gr)**

No	BB Awal	BB Akhir	BBD
1	220	285	65
2	230	270	40
3	265	320	55
4	240	270	30
5	260	290	30
6	250	285	35
7	250	282	32
8	235	290	55
9	215	250	35
10	220	245	25
11	210	252	42
12	255	282	27
Mean	237,50	276,75	39,25
SD	18,65	20,977	12,72

**Kel. P1 (gr)**

No	BB Awal	BB Akhir	BBD
1	225	260	35
2	260	285	25
3	235	265	30
4	240	265	25
5	255	285	30
6	270	295	25
7	235	265	25
8	235	260	20
9	230	260	30
10	245	275	30
11	255	275	20
12	245	270	25
Mean	244,17	271,67	28,75
SD	13,46	11,55	4,83

**Kel. P2 (gr)**

No	BB Awal	BB Akhir	BBD
1	235	245	10
2	235	250	15
3	235	255	20
4	255	275	20
5	255	265	10
6	240	260	20
7	275	295	20
8	235	265	30
9	240	255	15
10	245	255	10
11	255	270	25
12	260	275	15
Mean	247,08	263,75	16,67
SD	12,87	13,67	5,77

**LAMPIRAN 12****Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total, Kolesterol LDL, Kolesterol HDL dan Triasil Gliserol****DEPARTEMEN KESEHATAN RI****BALAI LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA**

Jl. Karang Menjangan No. 18 Surabaya 60285

Telp. Kepala Lab. (031) 50207 – T.U. (031) 5021451 – Fax. (031) 5021452 – P.O.

Box. 6269 SBGB 60062

Nama Pengirim : Arina Setyaningtyas

S = Kontrol Diet Standar

Bahan : Sampel Darah

K0 = Kontrol Diet Tinggi Kolesterol

K1 = Kontrol Perlakuan Diet Tinggi Kol.

P1 = 0,6 ml lar agar-agar

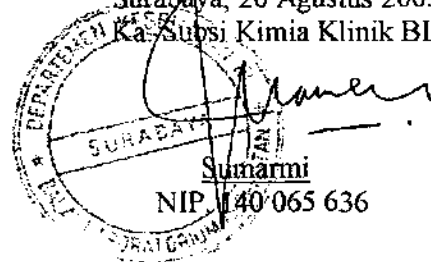
P2 = 3 ml lar agar-agar

No. Sampel	Kadar Kol. Total (mg/dl)	Kadar Kol.LDL (mg/dl)	Kadar Kol. HDL (mg/dl)	Kadar TG (mg/dl)
S.1	62	11	48	64
S.2	81	16	60	55
S.3	64	14	45	81
S.4	84	18	61	55
S.5	86	20	58	77
S.6	82	10	68	55
S.7	67	20	32	65
S.8	77	12	46	44
S.9	75	30	32	62
S.10	76	33	25	65
S.11	77	26	24	57
S.12	65	22	38	73
K <sub>0</sub> .1	91	20	56	53
K <sub>0</sub> .2	105	20	46	71
K <sub>0</sub> .3	96	32	55	94
K <sub>0</sub> .4	92	25	36	72
K <sub>0</sub> .5	82	23	30	58
K <sub>0</sub> .6	92	40	38	78
K <sub>0</sub> .7	103	23	61	57

K <sub>0.8</sub>	89	37	42	51
K <sub>0.9</sub>	81	28	34	101
K <sub>0.10</sub>	84	29	42	85
K <sub>0.11</sub>	85	26	33	81
K <sub>0.12</sub>	88	35	42	74
K <sub>1.1</sub>	86	26	54	60
K <sub>1.2</sub>	96	32	55	94
K <sub>1.3</sub>	88	37	44	133
K <sub>1.4</sub>	101	31	59	151
K <sub>1.5</sub>	108	32	67	75
K <sub>1.6</sub>	84	26	43	65
K <sub>1.7</sub>	108	31	68	68
K <sub>1.8</sub>	90	30	52	59
K <sub>1.9</sub>	85	22	59	107
K <sub>1.10</sub>	102	29	47	76
K <sub>1.11</sub>	90	27	58	105
K <sub>1.12</sub>	110	25	68	67
P <sub>1.1</sub>	81	17	58	89
P <sub>1.2</sub>	71	16	51	125
P <sub>1.3</sub>	87	26	52	97
P <sub>1.4</sub>	84	22	41	74
P <sub>1.5</sub>	60	19	33	213
P <sub>1.6</sub>	66	18	44	135
P <sub>1.7</sub>	67	30	31	127
P <sub>1.8</sub>	68	22	39	58
P <sub>1.9</sub>	75	14	58	85
P <sub>1.10</sub>	74	15	57	90
P <sub>1.11</sub>	81	26	47	103
P <sub>1.12</sub>	83	18	56	83
P <sub>2.1</sub>	62	12	41	65
P <sub>2.2</sub>	76	14	52	113
P <sub>2.3</sub>	65	13	48	73
P <sub>2.4</sub>	60	15	37	56
P <sub>2.5</sub>	77	14	56	63
P <sub>2.6</sub>	55	12	38	56
P <sub>2.7</sub>	58	10	45	68
P <sub>2.8</sub>	57	10	41	65
P <sub>2.9</sub>	80	20	40	97
P <sub>2.10</sub>	75	25	45	108
P <sub>2.11</sub>	76	23	44	95
P <sub>2.12</sub>	65	20	38	105

Surabaya, 20 Agustus 2003

Ka. Subsi Kimia Klinik BLKS



Sumarni  
NIP. 140 065 636

**LAMPIRAN 13****ANALISIS STATISTIK****a. BERAT BADAN****Report**

GRUP		BB	KOLT
kontrol diet standar	Mean	191.50	74.67
	Std. Deviation	4.642	8.250
	Std. Error of Mean	1.340	2.382
kontrol diet tinggi lemak	Mean	243.33	90.67
	Std. Deviation	12.492	7.655
	Std. Error of Mean	3.606	2.210

**T TEST****Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
BB	Equal variances assumed	8.461	.008	-13,473	22	.000
	Equal variances not assumed			-13,473	13,980	.000

**Means****Report**

GRUP		BBAWAL	BBAKHIR	BBD
Kontr Diet Tinggi Lemak	Mean	237,50	276,75	39,25
	N	12	12	12
	Std. Deviation	18,647	20,977	12,722
0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Mean	244,17	271,67	28,75
	N	12	12	12
	Std. Deviation	13,456	11,547	4,827
3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Mean	247,08	263,75	16,67
	N	12	12	12
	Std. Deviation	12,873	13,672	5,774

## NPar Tests

### GRUP = KONTR DIET TINGGI LEMAK

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BBAWAL	BBAKHIR
N		12	12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	237,50	276,75
	Std. Deviation	18,647	20,977
Most Extreme Differences	Absolute	,165	,182
	Positive	,159	,180
	Negative	-,165	-,182
Kolmogorov-Smirnov Z		,573	,631
Asymp. Sig. (2-tailed)		,898	,821

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

### GRUP = 0.6 ML AGR + DIET TINGGI LEMAK

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BBAWAL	BBAKHIR	BBD
N		12	12	12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	244,17	271,67	28,75
	Std. Deviation	13,456	11,547	4,827
Most Extreme Differences	Absolute	,169	,218	,198
	Positive	,169	,218	,198
	Negative	-,123	-,156	-,186
Kolmogorov-Smirnov Z		,585	,756	,686
Asymp. Sig. (2-tailed)		,884	,618	,734

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

### GRUP = 3 ML AGR + DIET TINGGI LEMAK

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BBAWAL	BBAKHIR	BBD
N		12	12	12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	247,08	263,75	16,67
	Std. Deviation	12,873	13,672	5,774
Most Extreme Differences	Absolute	,209	,156	,199
	Positive	,209	,156	,199
	Negative	-,174	-,094	-,136
Kolmogorov-Smirnov Z		,724	,539	,688
Asymp. Sig. (2-tailed)		,671	,934	,732

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.



**T-Test**  
**GRUP = KONTR DIET TINGGI LEMAK**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	BBAWAL	237,50	12	18,647	5,383
	BBAKHIR	276,75	12	20,977	6,055

**Paired Samples Correlations**

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	BBAWAL & BBAKHIR	12	,800	,002

**Paired Samples Test**

		Paired Differences		t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation			
Pair 1	BBAWAL - BBAKHIR	-39,25	12,722	-10,688	11	,000

**GRUP = 0.6 ML AGR + DIET TINGGI LEMAK**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	BBAWAL	244,17	12	13,456	3,884
	BBAKHIR	271,67	12	11,547	3,333

**Paired Samples Correlations**

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	BBAWAL & BBAKHIR	12	,961	,000

**Paired Samples Test**

		Paired Differences		t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation			
Pair 1	BBAWAL - BBAKHIR	-27,50	3,989	-23,884	11	,000

**GRUP = 3 ML AGR + DIET TINGGI LEMAK****Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 BBAWAL	247,08	12	12,873	3,716
BBAKHIR	263,75	12	13,672	3,947

**Paired Samples Correlations**

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 BBAWAL & BBAKHIR	12	,907	,000

**Paired Samples Test**

	Paired Differences		t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation			
Pair 1 BBAWAL - BBAKHIR	-16,67	5,774	-10,000	11	,000

**Oneway****ANOVA**

BBD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3065,056	2	1532,528	21,044	,000
Within Groups	2403,167	33	72,823		
Total	5468,222	35			

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Dependent Variable: BBD

LSD

(I) GRUP	(J) GRUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Kontr Diet Tinggi Lemak	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	10,50*	3,484	,005
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	22,58*	3,484	,000
0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-10,50*	3,484	,005
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	12,08*	3,484	,001
3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-22,58*	3,484	,000
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-12,08*	3,484	,001

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

## Oneway

## Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
BBAWAL	Kontr Diet Tinggi Lemak	12	237,50	18,647	5,383
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	12	244,17	13,456	3,884
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	12	247,08	12,873	3,716
	Total	36	242,92	15,324	2,554
BBAKHIR	Kontr Diet Tinggi Lemak	12	276,75	20,977	6,055
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	12	271,67	11,547	3,333
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	12	263,75	13,672	3,947
	Total	36	270,72	16,382	2,730

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
BBAWAL	Between Groups	579,167	2	289,583	1,251	,299
	Within Groups	7639,583	33	231,503		
	Total	8218,750	35			
BBAKHIR	Between Groups	1030,056	2	515,028	2,032	,147
	Within Groups	8363,167	33	253,429		
	Total	9393,222	35			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) GRUP	(J) GRUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
BBAWAL	Kontr Diet Tinggi Lemak	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-6,67	6,212	,291
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-9,58	6,212	,132
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	6,67	6,212	,291
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-2,92	6,212	,642
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	9,58	6,212	,132
		0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	2,92	6,212	,642
BBAKHIR	Kontr Diet Tinggi Lemak	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	5,08	6,499	,440
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	13,00	6,499	,054
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-5,88	6,499	,440
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	7,92	6,499	,232
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-13,00	6,499	,054
		0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-7,92	6,499	,232

## II. KADAR KOLESTEROL TOTAL, KOLESTEROL LDL, KOLESTEROL HDL DAN TRIASILGLISEROL KELOMPOK AWAL PERLAKUAN

### Report

GRUP		KOL.T	KOL.LDL	KOL.HDL	TG
kontrol diet standar	Mean	74,67	19,33	44,75	62,75
	N	12	12	12	12
	Std. Deviation	8,250	7,414	14,821	10,524
kontrol diet tinggi lemak	Mean	90,67	28,17	42,92	72,92
	N	12	12	12	12
	Std. Deviation	7,655	6,617	9,876	16,037

### NPAR TESTS KELOMPOK DIET STANDAR

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KOL.T	KOL.LDL	KOL.HDL	TG
N		12	12	12	12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	74,67	19,33	44,75	62,75
	Std. Deviation	8,250	7,414	14,821	10,524
Most Extreme Differences	Absolute	,183	,131	,148	,165
	Positive	,157	,131	,139	,165
	Negative	-,183	-,104	-,148	-,147
Kolmogorov-Smirnov Z		,633	,453	,512	,573
Asymp. Sig. (2-tailed)		,818	,986	,956	,898

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

### NPAR TESTS KELOMPOK DIET TINGGI LEMAK

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KOL.T	KOL.LDL	KOL.HDL	TG
N		12	12	12	12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	90,67	28,17	42,92	72,92
	Std. Deviation	7,655	6,617	9,876	16,037
Most Extreme Differences	Absolute	,181	,128	,204	,157
	Positive	,181	,128	,204	,157
	Negative	-,113	-,109	-,139	-,119
Kolmogorov-Smirnov Z		,627	,445	,705	,545
Asymp. Sig. (2-tailed)		,827	,989	,702	,928

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## T TEST

## Group Statistics

GRUP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOL.T	kontrol diet standar	12	74,67	8,250	2,382
	kontrol diet tinggi lemak	12	90,67	7,655	2,210
KOL.LDL	kontrol diet standar	12	19,33	7,414	2,140
	kontrol diet tinggi lemak	12	28,17	6,617	1,910
KOL.HDL	kontrol diet standar	12	44,75	14,821	4,278
	kontrol diet tinggi lemak	12	42,92	9,876	2,851
TG	kontrol diet standar	12	62,75	10,524	3,038
	kontrol diet tinggi lemak	12	72,92	16,037	4,629

## Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
KOL.T	Equal variances assumed	,271	,608	-4,925	22	,000
	Equal variances not assumed			-4,925	21,878	,000
KOL.LDL	Equal variances assumed	,088	,769	-3,079	22	,005
	Equal variances not assumed			-3,079	21,722	,006
KOL.HDL	Equal variances assumed	2,535	,126	,357	22	,725
	Equal variances not assumed			,357	19,160	,725
TG	Equal variances assumed	1,961	,175	-1,836	22	,080
	Equal variances not assumed			-1,836	18,992	,082

### III. KADAR KOLESTEROL TOTAL, KOLESTEROL LDL, KOLESTEROL HDL DAN TRIASILGLISEROL KELOMPOK AKHIR PERLAKUAN

#### MEANS

#### Report

GRUP		KOLT	LDL	HDL	TG
Kontr Diet Tinggi Lemak	Mean	95,67	29,00	56,17	88,33
	N	12	12	12	12
	Std. Deviation	9,745	4,023	8,768	30,131
0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Mean	74,75	20,25	47,25	106,58
	N	12	12	12	12
	Std. Deviation	8,508	4,993	9,650	40,475
3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Mean	67,17	15,67	43,75	80,33
	N	12	12	12	12
	Std. Deviation	9,054	5,069	5,879	21,521

#### NPar Tests

#### GRUP = KONTR DIET TINGGI LEMAK

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KOLT	KOLLDL	KOL.HDL	TG
N		12	12	12	12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	95,67	29,00	56,17	88,33
	Std. Deviation	9,745	4,023	8,768	30,131
Most Extreme Differences	Absolute	,220	,145	,142	,242
	Positive	,220	,145	,123	,242
	Negative	-,147	-,107	-,142	-,165
Kolmogorov-Smirnov Z		,761	,501	,491	,839
Asymp. Sig. (2-tailed)		,609	,963	,970	,482

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

#### GRUP = 0.6 ML AGR + DIET TINGGI LEMAK

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KOLT	KOLLDL	KOL.HDL	TG
N		12	12	12	12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	74,75	20,25	47,25	106,58
	Std. Deviation	8,508	4,993	9,650	40,475
Most Extreme Differences	Absolute	,185	,182	,151	,202
	Positive	,120	,182	,133	,202
	Negative	-,185	-,125	-,151	-,127
Kolmogorov-Smirnov Z		,642	,631	,524	,700
Asymp. Sig. (2-tailed)		,804	,821	,947	,712

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**GRUP = 3 ML AGR + DIET TINGGI LEMAK****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		KOL.T	KOL.LDL	KOL.HDL	TG
N		12	12	12	12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	67,17	15,67	43,75	80,33
	Std. Deviation	9,054	5,069	5,879	21,521
Most Extreme Differences	Absolute	,223	,219	,180	,217
	Positive	,178	,219	,180	,217
	Negative	-,223	-,137	-,125	-,169
Kolmogorov-Smirnov Z		,773	,759	,624	,751
Asymp. Sig. (2-tailed)		,588	,613	,832	,626

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**General Linear Model****Between-Subjects Factors**

GRUP	Value Label	N
1	Kontr Diet Tinggi Lemak	12
2	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	12
3	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	12

**Descriptive Statistics**

GRUP		Mean	Std. Deviation	N
KOL.T	Kontr Diet Tinggi Lemak	95,67	9,745	12
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	74,75	8,508	12
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	67,17	9,054	12
LDL	Kontr Diet Tinggi Lemak	29,00	4,023	12
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	20,25	4,993	12
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	15,67	5,069	12
HDL	Kontr Diet Tinggi Lemak	56,17	8,768	12
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	47,25	9,650	12
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	43,75	5,879	12
TG	Kontr Diet Tinggi Lemak	88,33	30,131	12
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	106,58	40,475	12
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	80,33	21,521	12



Multivariate Tests<sup>d</sup>

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	,936	106,905 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,000
	Wilks' Lambda	,064	106,905 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,000
	Hotelling's Trace	14,746	106,905 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,000
	Roy's Largest Root	14,746	106,905 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,000
BBD	Pillai's Trace	,340	3,727 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,014
	Wilks' Lambda	,660	3,727 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,014
	Hotelling's Trace	,514	3,727 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,014
	Roy's Largest Root	,514	3,727 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,014
GRUP	Pillai's Trace	,845	5,482	8,000	60,000	,000
	Wilks' Lambda	,252	7,191 <sup>b</sup>	8,000	58,000	,000
	Hotelling's Trace	2,584	9,046	8,000	56,000	,000
	Roy's Largest Root	2,426	18,199 <sup>c</sup>	4,000	30,000	,000

a. Computed using alpha = ,05

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

d. Design: Intercept+BBD+GRUP



Multivariate Tests<sup>d</sup>

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	,936	106,905 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,000
	Wilks' Lambda	,064	106,905 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,000
	Hotelling's Trace	14,746	106,905 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,000
	Roy's Largest Root	14,746	106,905 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,000
BBD	Pillai's Trace	,340	3,727 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,014
	Wilks' Lambda	,660	3,727 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,014
	Hotelling's Trace	,514	3,727 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,014
	Roy's Largest Root	,514	3,727 <sup>b</sup>	4,000	29,000	,014
GRUP	Pillai's Trace	,845	5,482	8,000	60,000	,000
	Wilks' Lambda	,252	7,191 <sup>b</sup>	8,000	58,000	,000
	Hotelling's Trace	2,584	9,046	8,000	56,000	,000
	Roy's Largest Root	2,426	18,199 <sup>c</sup>	4,000	30,000	,000

a. Computed using alpha = ,05

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

d. Design: Intercept+BBD+GRUP



## Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	KOL.T	5874,135 <sup>b</sup>	3	1958,045	29,872	,000
	LDL	1105,351 <sup>c</sup>	3	368,450	16,130	,000
	HDL	1101,826 <sup>d</sup>	3	367,275	5,512	,004
	TG	4568,025 <sup>e</sup>	3	1522,675	1,482	,238
Intercept	KOL.T	24502,235	1	24502,235	373,812	,000
	LDL	1445,246	1	1445,246	63,271	,000
	HDL	8517,017	1	8517,017	127,831	,000
	TG	28037,879	1	28037,879	27,289	,000
BBD	KOL.T	645,079	1	645,079	9,841	,004
	LDL	3,962	1	3,962	,173	,680
	HDL	118,104	1	118,104	1,773	,192
	TG	223,525	1	223,525	,218	,644
GRUP	KOL.T	4662,084	2	2331,042	35,563	,000
	LDL	579,396	2	289,698	12,683	,000
	HDL	867,256	2	433,628	6,508	,004
	TG	4523,757	2	2261,879	2,201	,127
Error	KOL.T	2097,504	32	65,547		
	LDL	730,954	32	22,842		
	HDL	2132,063	32	66,627		
	TG	32878,725	32	1027,460		
Total	KOL.T	233755,000	36			
	LDL	18693,000	36			
	HDL	89866,000	36			
	TG	340497,000	36			
Corrected Total	KOL.T	7971,639	35			
	LDL	1836,306	35			
	HDL	3233,889	35			
	TG	37446,750	35			

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = ,737 (Adjusted R Squared = ,712)

c. R Squared = ,602 (Adjusted R Squared = ,565)

d. R Squared = ,341 (Adjusted R Squared = ,279)

e. R Squared = ,122 (Adjusted R Squared = ,040)

## Estimated Marginal Means GRUP

### Pairwise Comparisons

Dependent Variable	(I) GRUP	(J) GRUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. <sup>a</sup>
KOLESTROL	Kontr Diet Tinggi Lemak	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	26,357*	3,733	,000
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	40,200*	4,983	,000
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-26,357*	3,733	,000
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	13,844*	3,861	,001
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-40,200*	4,983	,000
		0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-13,844*	3,861	,001
LDL	Kontr Diet Tinggi Lemak	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	9,176*	2,203	,000
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	14,250*	2,942	,000
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-9,176*	2,203	,000
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	5,074*	2,279	,033
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-14,250*	2,942	,000
		0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-5,074*	2,279	,033
HDL	Kontr Diet Tinggi Lemak	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	11,244*	3,763	,005
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	17,423*	5,024	,002
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-11,244*	3,763	,005
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	6,179	3,893	,122
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-17,423*	5,024	,002
		0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-6,179	3,893	,122
TG	Kontr Diet Tinggi Lemak	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-15,048	14,778	,316
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	14,887	19,731	,456
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	15,048	14,778	,316
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	29,935	15,286	,059
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-14,887	19,731	,456
		0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-29,935	15,286	,059

Based on estimated marginal means

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

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

## Multivariate Tests

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Pillai's trace	,845	5,482	8,000	60,000	,000
Wilks' lambda	,252	7,191 <sup>b</sup>	8,000	58,000	,000
Hotelling's trace	2,584	9,046	8,000	56,000	,000
Roy's largest root	2,426	18,199 <sup>c</sup>	4,000	30,000	,000

Each F tests the multivariate effect of GRUP. These tests are based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

- Computed using alpha = ,05
- Exact statistic
- The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

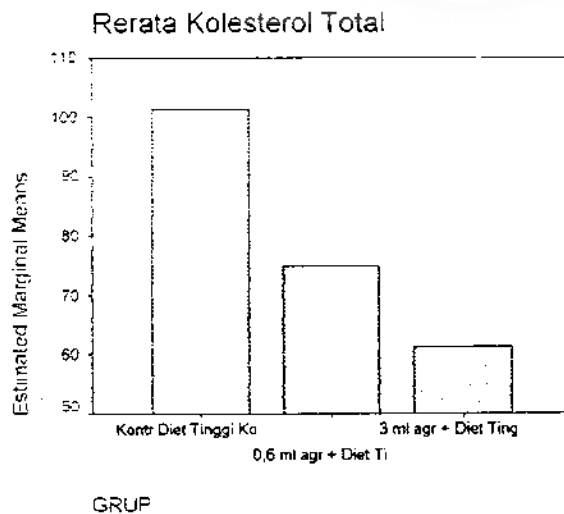
## Univariate Tests

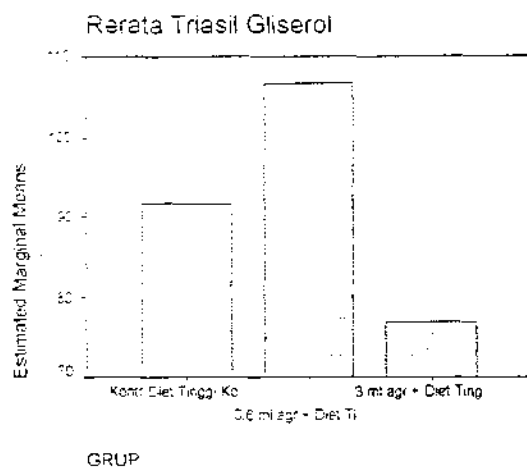
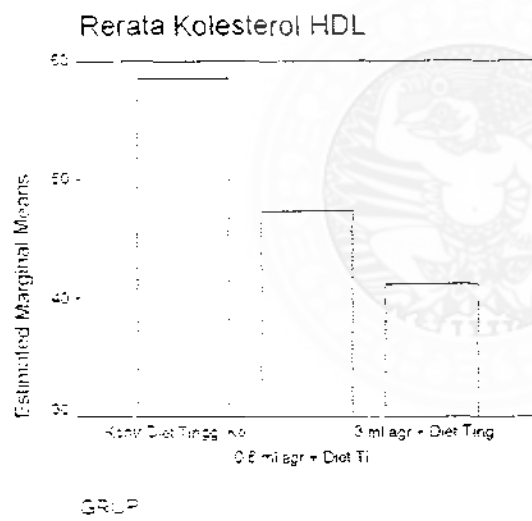
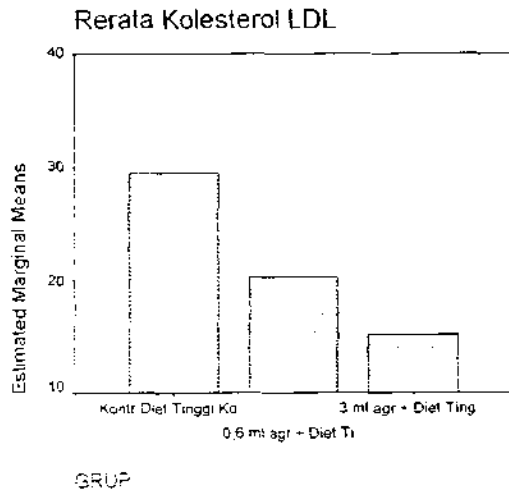
Dependent Variable		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
KOLT	Contrast	4662,084	2	2331,042	35,563	,000
	Error	2097,504	32	65,547		
LDL	Contrast	579,395	2	289,698	12,683	,000
	Error	730,954	32	22,842		
HDL	Contrast	867,256	2	433,628	6,508	,004
	Error	2132,063	32	66,627		
TG	Contrast	4523,757	2	2261,879	2,201	,127
	Error	32878,73	32	1027,460		

The F tests the effect of GRUP. This test is based on the linearly independent pairwise comparison among the estimated marginal means.

- Computed using alpha = ,05

## Profile Plots





**IV. KADAR KOLESTEROL TOTAL, KOLESTEROL *LDL*, KOLESTEROL *HDL* DAN TRIASILGLISEROL KELOMPOK AKHIR PERLAKUAN DENGAN PENGELUARAN 1 SAMPEL (TG = 213 Mg/Dl)**

Descriptive Statistics

GRUP		Mean	Std. Deviation	N
KOL.T	Kontr Diet Tinggi Lemak	95.67	9.745	12
	0.6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	76.09	7.476	11
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	67.17	9.054	12
	Total	79.74	14.944	35
LDL	Kontr Diet Tinggi Lemak	29.00	4.023	12
	0.6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	20.35	5.221	11
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	15.67	5.069	12
	Total	21.71	7.335	35
HDL	Kontr Diet Tinggi Lemak	56.17	8.768	12
	0.6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	48.55	8.960	11
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	43.75	5.879	12
	Total	49.51	9.344	35
TG	Kontr Diet Tinggi Lemak	88.33	30.131	12
	0.6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	96.91	23.805	11
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	80.33	21.521	12
	Total	88.29	25.625	35

## Pairwise Comparisons

Dependent Variable	(I) GRUP	(J) GRUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. <sup>a</sup>
KOLT	Kontr Diet Tinggi Lemak	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	24.990*	3.663	.000
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	40.020*	4.795	.000
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-24.990*	3.663	.000
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	15.030*	3.767	.000
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-40.020*	4.795	.000
		0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-15.030*	3.767	.000
LDL	Kontr Diet Tinggi Lemak	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	9.060*	2.281	.000
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	14.235*	2.986	.000
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-9.060*	2.281	.000
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	5.175*	2.346	.035
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-14.235*	2.986	.000
		0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-5.175*	2.346	.035
HDL	Kontr Diet Tinggi Lemak	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	9.890*	3.700	.012
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	17.244*	4.844	.001
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-9.890*	3.700	.012
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	7.354	3.805	.062
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-17.244*	4.844	.001
		0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-7.354	3.805	.062
TG	Kontr Diet Tinggi Lemak	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-4.695	12.072	.700
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	16.257	15.804	.312
	0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	4.695	12.072	.700
		3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	20.952	12.415	.102
	3 ml agr + Diet Tinggi Lemak	Kontr Diet Tinggi Lemak	-16.257	15.804	.312
		0,6 ml agr + Diet Tinggi Lemak	-20.952	12.415	.102

Based on estimated marginal means

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

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).



**Multivariate Tests**

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Pillai's trace	.805	4.883	8.000	58.000	.000
Wilks' lambda	.259	6.743 <sup>a</sup>	8.000	56.000	.000
Hotelling's trace	2.606	8.796	8.000	54.000	.000
Roy's largest root	2.507	18.179 <sup>b</sup>	4.000	29.000	.000

Each F tests the multivariate effect of GRUP. These tests are based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

- a. Exact statistic
- b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

