

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KEDELAI TERHADAP
KOLESTEROL TOTAL, LDL, HDL DAN RASIO LDL/HDL
DARAH TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)
YANG MENGALAMI HIPERKOLESTEROLEMIA**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



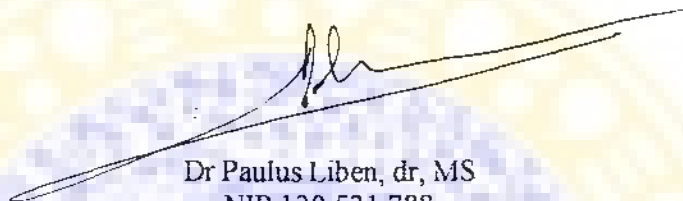
**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2004**

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 12 JANUARI 2004

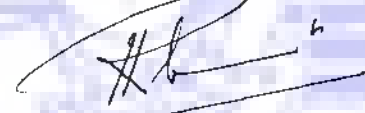
Oleh

Pembimbing Ketua



Dr Paulus Liben, dr, MS
NIP 130 531 788

Pembimbing



Harlina Soetjipto, dr, MS
NIP 130 687 605

Telah diuji pada
Tanggal 29 Januari 2004
PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr Sunarko Setyawan, dr, MS
Anggota :
1. Dr. Didi M. Zaki, dr, MS
3. Tjitra Wardani, dr, MS
4. Dr Hari Basuki, dr, MS
5. Prof Dr Hj Kusriningrum Rohiman, Ir, MS



UCAPAN TERIMA KASIH

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

Terimakasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr Paulus Liben, dr, MS, Pembimbing Ketua yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan, saran dan pengetahuan kepada saya sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Harlina Soetjipto, dr, MS, Pembimbing yang penuh perhatian, kesabaran dan ketelitian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Saya ucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Pemerintah Republik Indonesia cq Menteri Kesehatan melalui Program Beasiswa GUDOSIN (Guru, Dosen dan Instruktur Klinik) yang telah memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankanlah saya mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

Rektor Universitas Airlangga Prof H Dr Med Puruhito, dr, SpBTKV atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang dijabat oleh Prof Dr H Muhammad Amin, dr, SpP atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Mantan Direktur Akademi keperawatan Soetomo Surabaya H Moh. Yasir, SKM, M.Kes; Mantan Kepala Tata Operasional Hj. Rabiah Marhabang, SKM, M.Kes yang hingga pertengahan pendidikan, diganti dengan Direktur Politeknik Kesehatan Surabaya Moh. Muchson, MSc atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program Magister.

Para Dosen Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar terutama Minat Fisiologi dan teman-temanku Eric dan Yusni atas ilmu pengetahuan yang telah diberikan kepada saya.

Teman-teman di Program Studi Keperawatan Soetomo Surabaya atas kerjasamanya selama ini.

Istriku Anis, anakku Ikilil dan Althaf atas dukungan dan kesabarannya sehingga pendidikan saya dapat terselesaikan.

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai Terhadap Kadar Kolesterol, LDL, HDL dan Rasio LDL/HDL Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Mengalami Hiperkolesterolemia

SUPRIYANTO

Sekresi hormon estrogen turun pada wanita menopause akibat atrofi ovarium yang terjadi secara alami. Setelah menopause atau pasca ovarektomi cenderung terjadi peningkatan kadar kolesterol total, kolesterol LDL sementara reseptor untuk LDL menjadi berkurang. Estrogen berperan dalam keseimbangan kolesterol LDL dan kolesterol HDL dengan sifat meningkatkan kolesterol HDL dan menurunkan kolesterol LDL. Pemberian estrogen per oral juga dapat menurunkan kolesterol total dan melindungi LDL dari oksidasi. Peningkatan kolesterol total dan kolesterol LDL dan penurunan kolesterol HDL serta peningkatan rasio LDL/HDL merupakan faktor risiko terjadinya atherosklerosis dengan segala akibatnya.

Isoflavone yang banyak terdapat pada protein kedelai dan produk kedelai seperti tofu, tempe, minuman sari kedelai, tepung kedelai dan makanan konsentrat protein kedelai termasuk fitoestrogen yang secara struktural dan fungsional mirip dengan estrogen sehingga kedelai memiliki sifat estrogenik. Telah banyak dilakukan kajian efek estrogen maupun fitoestrogen terhadap wanita premenopause dan *postmenopause* maka kajian terhadap laki-laki juga diperlukan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak kedelai dapat meningkatkan kolesterol HDL, menurunkan kolesterol LDL, kolesterol total dan rasio LDL/HDL pada laki-laki hiperkolesterolemia.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratories dengan menggunakan rancangan acak lengkap. 40 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar yang dibuat hiperkolesterolemia dengan pemberian makanan tinggi lemak dibagi menjadi empat kelompok yang masing-masing terdiri dari 10 ekor. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol *pretest*, kelompok 2 merupakan kelompok kontrol *posttest* diberikan larutan CMC Na 0,5 % 2 ml/200 g BB tikus/hari sebagai plasebo. Kelompok 3 (kelompok ekstrak kedelai) diberikan perlakuan ekstrak kedelai varietas Wilis dengan dosis 2,60 mg/2 ml larutan CMC Na⁺ 0,5%/200 g BB tikus/hari, Kelompok 4 (kelompok estrogen konjugat) diberikan perlakuan *natural conjugated estrogen* (Esthero[®]), dengan dosis 0,011 mg/2 ml larutan CMC Na⁺ 0,5%/200 g BB tikus/hari. Pemberian perlakuan melalui sonde dan selama perlakuan diberikan makan tinggi lemak. Perlakuan dilakukan selama 6 minggu. Penyesuaian dosis dilakukan setiap 2 minggu berdasarkan berat badan tikus. Unit analisis adalah darah dari jantung tikus yang diperiksa kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan rasio LDL/HDL. Pengambilan data kelompok *pretest* dilakukan pada awal perlakuan dan kelompok kontrol *posttest* pada akhir perlakuan.

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa rerata masing-masing variabel kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan rasio LDL/HDL adalah kelompok kontrol *pretest* (86,11 ± 5,01 mg/dl; 24,67 ± 2,87 mg/dl; 51,33 ± 6,52

mg/dl; $0,4881 \pm 0,0862$), kelompok kontrol *posttest* ($83,10 \pm 3,84$ mg/dl; $20,00 \pm 2,93$; $49,90 \pm 7,50$ mg/dl; $0,4101 \pm 0,0981$), kelompok ekstrak kedelai ($70,00 \pm 7,69$ mg/dl; $16,00 \pm 3,40$ mg/dl; $48,00 \pm 6,29$ mg/dl; $0,3416 \pm 0,0975$), kelompok estrogen konjugat ($73,10 \pm 9,83$ mg/dl; $16,80 \pm 3,16$ mg/dl; $49,40 \pm 7,99$ mg/dl; $0,3476 \pm 0,0854$). Hasil uji beda dengan anova variabel tergantung pada kelompok kontrol *posttest*, ekstrak kedelai dan estrogen konjugat untuk variabel kolesterol total ($p = 0,002$), HDL ($p = 0,834$), LDL ($p = 0,022$) dan rasio LDL/HDL ($p = 0,214$), sehingga kolesterol total dan LDL berbeda secara bermakna serta HDL dan rasio LDL/HDL tidak berbeda secara bermakna antar kelompok kontrol *posttest*, ekstrak kedelai dan estrogen konjugat. Hasil uji beda dengan LSD pada variabel tergantung untuk kolesterol total kelompok kontrol *posttest*, berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak kedelai ($p = 0,001$) dan estrogen konjugat ($p = 0,006$) serta kelompok ekstrak kedelai tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok estrogen konjugat ($p = 0,366$). Variabel kolesterol HDL kelompok kontrol *posttest* tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak kedelai ($p = 0,565$) dan estrogen konjugat ($p = 0,879$) serta kelompok ekstrak kedelai tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok estrogen konjugat ($p = 0,671$). Variabel kolesterol LDL kelompok kontrol *posttest*, berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak kedelai ($p = 0,009$) dan estrogen konjugat ($p = 0,033$) serta kelompok ekstrak kedelai tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok estrogen konjugat ($p = 0,579$). Variabel rasio LDL/HDL kelompok kontrol *posttest* tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak kedelai ($p = 0,114$) dan estrogen konjugat ($p = 0,148$) serta kelompok ekstrak kedelai tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok estrogen konjugat ($p = 0,887$).

Dengan demikian ekstrak kedelai dapat menurunkan kadar kolesterol total dan kolesterol LDL dan tidak berpengaruh terhadap peningkatan kolesterol HDL dan penurunan rasio LDL/HDL.

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KEDELAI TERHADAP
KOLESTEROL TOTAL, LDL, HDL DAN RASIO LDL/HDL
DARAH TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)
YANG MENGALAMI HIPERKOLESTEROLEMIA**

TESIS

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

**MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

Oleh :

SUPRIYANTO
090114228M

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
Tanggal 29 Januari 2004

SUMMARY

THE EFFECT OF SOYBEAN EXTRACT ADMINISTRATION ON BLOOD CHOLESTEROL, LDL, HDL LEVELS, AND LDL/HDL RATIO IN HYPERCHOLESTEROLEMIC MALE WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)

Supriyanto

Estrogen secretion in menopausal women is reducing due to the naturally-occurring ovarian atrophy. After menopause and ovariectomy, there is a trend towards the increase of total cholesterol and LDL cholesterol levels, and receptor for LDL is decreasing. Estrogen plays a role in the balance between LDL and HDL cholesterol levels by increasing HDL cholesterol level and reducing LDL cholesterol level. The administration of per oral estrogen may reduce total cholesterol level and protect LDL from oxidation. The increase of total cholesterol and LDL cholesterol level and the reduction of HDL cholesterol as well as the increase of LDL/HDL ratio are the risk factors of atherosclerosis occurrence with all its sequelae.

Isoflavone, commonly found in the protein of soybean and soybean products, such as tofu, *tempe*, soybean extract, soybean flour, and soybean protein concentrate diet, belongs to phytoestrogen, which is structurally and functionally similar to estrogen, so that it has estrogenic characteristic. Studies on the effect of estrogen and phytoestrogen on premenopausal and postmenopausal females have been intensely studied, but the studies on males remain rare. The objective of this study was to determine whether soybean extract may increase HDL cholesterol, LDL cholesterol, total cholesterol and LDL/HDL ratio in hypercholesterolemic male.

This was a laboratory experimental study using complete randomized design. A number of 40 male Wistar-strain white rats (*Rattus norvegicus*), rendered to be hypercholesterolemic by given with high lipid diet, were divided into four groups, each comprising 10 rats. Group 1 served as pretest control group, group 2 was posttest control groups receiving CMC Na 0.5% solution 2 ml/200 g BW rats/day as placebo. Group 3 (soybean extract group) was given with soybean extract, Wilis variety, with the dose of dosis 2,60 mg/2 ml and CMC Na+ 0.5% solution per 200 g BW rat/day. Group 4 (conjugate estrogen group) received treatment with natural conjugated estrogen (Esthero®) with the dose of 0.011 mg/2 ml and CMC Na+ 0.5% per 200 g BW rats/day. Treatment was given by using sonde, and high lipid diet was also given during the treatment. Treatment was carried out for 6 weeks. Dose adjustment was undertaken each 21 weeks based on the rats body weight. The analysis unit was blood from rats heart examined for total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, and LDL/HDL

ratio. Data from pretest group were taken at the beginning of the treatment, and those from posttest control group at the end of the treatment.

Results showed that the average value of the variables of total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, and LDL/HDL ratio at pretest control group was respectively 86.11 ± 5.01 mg/dl; 24.67 ± 2.87 mg/dl; 51.33 ± 6.52 mg/dl; 0.4881 ± 0.0862 , posttest control group 83.10 ± 3.84 mg/dl; 20.00 ± 2.93 ; 49.90 ± 7.50 mg/dl, 0.4101 ± 0.0981 , soybean extract group 70.00 ± 7.69 mg/dl; 16.00 ± 3.40 mg/dl; 48.00 ± 6.29 mg/dl; 0.3416 ± 0.0975 , and conjugate estrogen group 73.10 ± 9.83 mg/dl; 16.80 ± 3.16 mg/dl; 49.40 ± 7.99 mg/dl; 0.3476 ± 0.0854 . Results of discriminant test using Anova on the dependent variable in posttest control, soybean extract, and conjugate estrogen groups for total cholesterol were $p = 0.002$, HDL $p = 0.834$, LDL $p = 0.022$, and LDL/HDL ratio $p = 0.214$, so that total cholesterol and LDL were significantly different, while HDL and LDL/HDL ratio were not significantly different in posttest control group, soybean extract group, and conjugate estrogen group. Results of discriminant test using LSD in dependent variable for total cholesterol in posttest control group was significantly different from that in soybean extract group ($p = 0.001$) and conjugate estrogen group ($p = 0.006$), and soybean extract group was not significantly different from that in conjugate estrogen group ($p = 0.366$). The variable of HDL cholesterol in posttest control group was not significantly different from that of soybean extract group ($p = 0.565$) and conjugate estrogen group ($p = 0.879$), and that in soybean extract group was not significantly different from that of conjugate estrogen group ($p = 0.671$). The variable of LDL cholesterol in posttest control group was not significantly different from that of soybean extract group ($p = 0.009$) and conjugate estrogen group ($p = 0.033$), and that in soybean extract group was not significantly different from that in conjugate estrogen group ($p = 0.579$). The variable of LDL/HDL ratio in posttest control group was not significantly different from that in soybean extract group ($p = 0.114$) and conjugate estrogen group ($p = 0.148$), and that in soybean extract group was not significantly different from that in conjugate estrogen group ($p = 0.887$).

In conclusion, soybean extract can be used to reduce total cholesterol and LDL cholesterol and has no effect on the increase of HDL cholesterol and the reduction of LDL/HDL ratio.

ABSTRACT

THE EFFECT OF SOYBEAN EXTRACT ADMINISTRATION ON BLOOD CHOLESTEROL, LDL, HDL LEVELS, AND LDL/HDL RATIO IN HYPERCHOLESTEROLEMIC MALE WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)

Supriyanto

Estrogen may reduce the level of total cholesterol, LDL cholesterol, LDL/HDL ratio, and increase HDL cholesterol. Soybean phytoestrogen is structurally and functionally similar to estrogen.

The objective of this study was to determine whether soybean extract may increase HDL cholesterol, LDL cholesterol, total cholesterol and LDL/HDL ratio in hypercholesterolemic male. This was a laboratory experimental study using complete randomized design. A number of 40 male Wistar-strain white rats (*Rattus norvegicus*), rendered to be hypercholesterolemic, were divided into four groups. Group 1 served as pretest control group, and other groups were given with CMC Na 0.5% 2 ml per 200 g BW rats/day as posttest control group, Wilis variety soybean extract 2.60 mg/2 ml CMC Na+ 0.5% solution per 200 g BW rats/day, natural conjugated estrogen (Esthero®) 0.011 mg/2 ml solution CMC Na+ 0.5% per 200 g BW rats/day. Treatment was carried out for 6 weeks.

Results showed that total cholesterol in posttest control group was significantly different from that in soybean extract group ($p = 0.001$) and conjugate estrogen group ($p = 0.006$), and soybean extract group was not significantly different from that in conjugate estrogen group ($p = 0.366$). The variable of HDL cholesterol in posttest control group was not significantly different from that of soybean extract group ($p = 0.565$) and conjugate estrogen group ($p = 0.879$), and that in soybean extract group was not significantly different from that of conjugate estrogen group ($p = 0.671$). The variable of LDL cholesterol in posttest control group was not significantly different from that of soybean extract group ($p = 0.009$) and conjugate estrogen group ($p = 0.033$), and that in soybean extract group was not significantly different from that in conjugate estrogen group ($p = 0.579$). The variable of LDL/HDL ratio in posttest control group was not significantly different from that in soybean extract group ($p = 0.114$) and conjugate estrogen group ($p = 0.148$), and that in soybean extract group was not significantly different from that in conjugate estrogen group ($p = 0.887$).

In conclusion, soybean extract can be used to reduce total cholesterol and LDL cholesterol and has no effect on the increase of HDL cholesterol and the reduction of LDL/HDL ratio.

Keywords: *soybean, phytoestrogen, estrogen, total cholesterol, LDL, HDL, LDL/HDL ratio*

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia	v
Ucapan Terimakasih	vi
Ringkasan	vii
Summary	ix
Abstrak	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pencernaan Lemak	5
2.1.1 Pencernaan lemak di saluran pencernaan	6
2.1.2 Mekanisme absorpsi lemak	8
2.2 Transportasi Lemak	11
2.2.1 Transport lemak dari usus ke hati dan jaringan	13
2.2.2 Transport lemak dari hati ke jaringan	16
2.2.3 Transport kolesterol antar jaringan	18
2.2.4 Ekskresi kolesterol dan pembentukan asam empedu	21
2.3 Pathogenesis Aterosklerosis	23
2.4 Hormon Estrogen	29
2.5 Hubungan Estrogen Terhadap Kolesterol	32
2.6 Kedelai Sebagai Sumber Fitoestrogen	38
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	46
3.1 Dasar Teori	46
3.2 Kerangka Konseptual	47
3.3 Hipotesis	48
BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN	49
4.1 Rancangan Penelitian	49
4.2 Populasi, Sampel, Teknik Pengambilan sample Dan Besar Sampel	51
4.3 Variabel Penelitian	52
4.3.1 Klasifikasi variabel	52
4.3.2 Definisi operasional variabel	53

4.4	Bahan dan Instrumen Penelitian	55
4.4.1	Bahan penelitian	55
4.4.2	Instrumen untuk penelitian	56
4.5	Prosedur Penelitian	56
4.6	Lokasi Dan Waktu Penelitian	60
4.7	Analisa Data	61
BAB 5	ANALISIS HASIL PENELITIAN	62
5.1	Data Hasil Penelitian Tahap I	62
5.1.1	Hasil analisis deskriptif penelitian tahap I	62
5.1.2	Uji normalitas kelompok standar dan hiperkolesterolemia	62
5.1.3	Hasil uji beda variabel tergantung pada kelompok standar (O_a) dan hiperkolesterolemia	63
5.2	Data Hasil Penelitian Tahap II	64
5.2.1	Hasil analisis deskriptif penelitian tahap II	64
5.2.2	Efek Maturasi	64
5.2.3	Uji normalitas kelompok kontrol <i>posttest</i> (O_1), ekstrak kedelai (O_2) dan estrogen konjugat (O_3)	65
5.2.4	Hasil uji homogenitas	65
5.2.5	Hasil analisis varians	65
5.2.6	Respon perubahan akibat perlakuan	69
BAB 6	PEMBAHASAN	70
6.1	Materi dan Metode Penelitian	70
6.2	Hasil Penelitian Tahap I	71
6.2.1	Uji normalitas	71
6.2.2	Pengaruh pemberian makanan standar dan makanan tinggi lemak	72
6.3	Hasil Penelitian Tahap II	74
6.3.1	Pengaruh pemberian ekstrak kedelai dan estrogen konjugasi terhadap kadarkolestol HDL	74
6.3.2	Pengaruh pemberian ekstrak kedelai dan estrogen konjugasi terhadap kadarkolestol LDL	75
6.3.3	Pengaruh pemberian ekstrak kedelai dan estrogen konjugasi terhadap kadarkolestol total darah	76
6.3.4	Pengaruh pemberian ekstrak kedelai dan estrogen konjugasi terhadap rasio LDL/HDL	79
BAB 7	PENUTUP	81
7.1	Kesimpulan	81
7.2	Saran	81
	DAFTAR PUSTAKA	82
	LAMPIRAN	87

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 : Komposisi lipoprotein dalam plasma manusia	22
Tabel 2.2 : Kadar isoflavones pada bahan makanan	42
Tabel 5.1 : Nilai rerata dan simpang baku berat badan awal, berat badan akhir dan variable tergantung pada tiap kelompok ...	62
Tabel 5.2 : Hasil uji beda antar variable tergantung pada kelompok standar (O_a) dan kelompok hiperkolesterolemia (O_b)	63
Tabel 5.3 : Nilai rerata dan simpang baku berat badan awal, berat badan akhir dan variable tergantung pada tiap kelompok ...	64
Tabel 5.4 : Hasil uji beda dengan anova variable tergantung pada kelompok kontrol <i>posttest</i> (O_1), ekstrak kedelai (O_2) dan estrogen konjugat	66
Tabel 5.5 : Hasil uji beda dengan LSD pada variable dependen	66
Tabel 5.6 : Nilai rerata dan perbedaan antara kelompok kontrol <i>posttest</i> dengan kelompok ekstrak kedelai dan estrogen konjugat	68
Tabel 5.7 : Respon perubahan variabel dependen pada kelompok ekstrak kedelai dan estrogen konjugat	69

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Pencernaan dan absorpsi triasilgliserol	10
Gambar 2.2 : Struktur umum dari lipoprotein plasma	13
Gambar 2.3 : Peristiwa metabolik yang dialami kilomikron	14
Gambar 2.4 : Peristiwa metabolik yang dialami VLDL dan proses produksi LDL	17
Gambar 2.5 : Pengangkutan kolesterol antar jaringan dalam tubuh manusia	20
Gambar 2.6 : Biosintesis dan degradasi asam empedu	22
Gambar 2.7 : Struktur dasar estrogen	29
Gambar 2.8 : Biosintesis dan metabolisme estrogen	30
Gambar 2.9 : Diagram yang menggambarkan distribusi reseptor estrogen	31
Gambar 2.10 : Persentase perubahan lipid dan lipoprotein dengan pemakaian estrogen oral	33
Gambar 2.11 : Diagram yang menggambarkan struktur LDL dan reseptor LDL dan ikatan LDL dan reseptor melalui APO B-100	34
Gambar 2.12 : Ambilan sel dan metabolisme kolesterol	35
Gambar 2.13 : Metabolisme HDL	36
Gambar 2.14 : Perbandingan struktur equol sebagai metabolit isoflavones dengan estradiol yang tampak sangat mirip	43
Gambar 2.15 : Skema yang menunjukkan biotransformasi utama dari metabolisme isoflavones pada manusia dan binatang	43
Gambar 2.16 : Hipotesis hubungan antara mekanisme kerja flavonoid dan efeknya terhadap penyakit	45

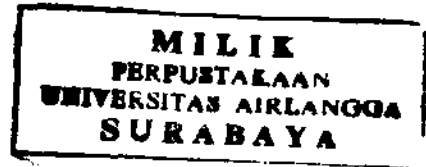
DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	: Komposisi kedelai menurut USDA 1999	87
Lampiran 2	: Susunan diet standar (formula ITB) per 10 Kg dan diet tinggi lemak (formula ITB) per 10 Kg	89
Lampiran 3	: Perhitungan dosis obat hewan coba menggunakan tabel konversi Laurence & Bacharah (1964)	90
Lampiran 4	: Konversi perhitungan dosis ekstrak kedelai untuk hewan coba	91
Lampiran 5	: Pemberian maksimal volume larutan obat pada perlakuan hewan coba berdasar table Ritchel (1974)	92
Lampiran 6	: Cara membuat larutan untuk perlakuan	93
Lampiran 7	: Daftar berat badan tikus	94
Lampiran 8	: Daftar berat badan tikus selama periode penelitian tahap II	95
Lampiran 9	: Daftar dosis pemberian perlakuan selama penelitian tahap 2	97
Lampiran 10	: Data hasil pemeriksaan variabel dependen kelompok standar dan kelompok hiperkolesterolemia penelitian tahap I	99
Lampiran 11	: Hasil pemeriksaan kadar kolesterol, HDL, LDL darah tikus putih tahap II	100
Lampiran 12	: Hasil analisis deskriptif	101
Lampiran 13	: Uji normalitas distribusi	102
Lampiran 14	: Hasil uji beda dengan <i>T-test</i> dua sample bebas satu ekor kelompok standart dan kelompok hiperkolesterolemia	105
Lampiran 15	: Nilai maturasi pada masing-masing variabel	107
Lampiran 16	: Analisis multivariat	109
Lampiran 17	: Respon akibat perubahan	117

DAFTAR SINGKATAN

ACAT	: Asil-KoA : kolesterol asiltransferase
Apo B	: Apoprotein B
CHD	: Coronary Heart Disease
CHOD-PAP	: Cholesterol Oksidase-Phenol Aminoantipyrin
ERT	: Estrogens Replacement Therapy
FFA	: Free Fatty Acid
HDL	: High-Density Lipoprotein
HMG-KoA reduktase	: 3'-Hidroksi-3-metilglutaril-KoA reduktase
IDL	: Intermediate Density Lipoprotein
LDL	: Low-Density Lipoprotein
LCAT	: Lesitin kolesterol asiltransferase
TSH	: Thyroid Stimulating Hormone
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein





BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Estrogen merupakan hormon steroid yang diproduksi dalam tubuh manusia sebagai hormon seks. Sekresi hormon ini turun pada wanita menopause akibat atropi ovarium yang terjadi secara alami (Guyton & Hall, 1996; Greenspan & Baxter, 2000; Ganong, 2001). Setelah menopause atau pasca ovarektomi cenderung terjadi peningkatan kolesterol *Low-Density Lipoprotein* (LDL), sementara reseptor untuk LDL menjadi berkurang (Greenspan & Baxter, 2000) dan percobaan pada tikus yang dilakukan ovarektomi meningkatkan kadar kolesterol total sampai 35,1 % (Liu & Bachmann, 1998).

Peningkatan kadar kolesterol total dan kolesterol LDL dalam jangka panjang merupakan faktor risiko primer terjadinya *coronary heart disease* (CHD). Kolesterol LDL merupakan lipoprotein pembawa kolesterol utama menuju jaringan dan penyumbang terbesar pembentukan lesi atherosklerotik sebagai penyebab CHD (Linder, 1992; Berliner, et.al., 1995). Konsentrasi kolesterol HDL berhubungan secara terbalik dengan insiden atherosklerosis, dan keadaan ini mungkin terjadi karena konsentrasi HDL mencerminkan efisiensi pembersihan kolesterol dari jaringan (Murray et.al, 1997). *Coronary Heart Disease* (CHD) akibat atherosklerotik arteri koroner sebagai penyebab kematian utama dan penyebab kecacatan terbesar wanita setelah menopause pada masyarakat Eropa (Adam's, et.al., 1997).

Telah diketahui bahwa estrogen berperan dalam keseimbangan kolesterol LDL dan kolesterol HDL (*High-Density Lipoprotein*) dengan sifat meningkatkan kolesterol HDL dan menurunkan LDL (Nowak & Handford, 1999; Greenspan &

Baxter, 2000). Pada wanita premenopause estrogen sejak lama telah diakui bermanfaat dalam pencegahan penyakit kardiovaskuler dengan menurunkan kadar kolesterol total plasma (Liu & Bachmann, 1998). Pemberian estrogen per oral dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL, menurunkan kolesterol LDL dan melindungi LDL dari oksidasi (Koh, 1999; Greenspan & Baxter, 2000). Estrogen memiliki efek yang bermakna dalam metabolisme HDL dengan meningkatkan kolesterol HDL pada wanita *postmenopause* lebih dari 15 % (Wilson et.al, 1998). Pemberian terapi pengganti estrogen (*Estrogen Replacement Therapi* = ERT) pada wanita *postmenopause* dapat menurunkan risiko CHD sampai 50 %, namun pemberian estrogen diduga juga mengakibatkan efek samping yang merugikan seperti kanker mammae dan endometrium (Greaves, et.al., 2000).

Fitoestrogen merupakan sterol tumbuhan yang terjadi secara alami, secara struktural dan fungsional mirip estrogen sehingga memiliki efek mirip estrogen (Setchell & Cassidy, 1999; Taylor, 2002). Terdapat tiga kelompok fitoestrogen yaitu isoflavon, lignans dan coumestans (Klein KO, 1998; Taylor, 2002). Kedelai termasuk produknya seperti tofu, tempe, minuman sari kedelai dan tepung kedelai dinilai memiliki kandungan isoflavon tertinggi dibandingkan tanaman bahan pangan lainnya (Adie, 2002).

Isoflavon sebagai fitoestrogen mirip dengan estrogen yang telah diyakini dapat memperbaiki kadar kolesterol terutama pada wanita *postmenopause*. Prevalensi hiperkolesterolemia pada laki-laki usia kurang dari 49 tahun lebih banyak dibanding wanita pada umur yang sama, namun setelah usia lebih dari 50 tahun wanita lebih banyak mengalami hiperkolesterolemia dibanding laki-laki pada usia yang sama (Newton KM & Froelicher ES, 2000). Dengan demikian

isoflavon kedelai sebagai fitoestrogen dapat memperbaiki kadar kolesterol pada laki-laki hiperkolesterolemia.

Kedelai dan produknya merupakan makanan rakyat yang mudah didapat dan harganya relatif murah, terdapat kandungan senyawa fitoestrogen yaitu senyawa yang memiliki sifat estrogenik serta berdasar latar belakang di atas maka untuk mengetahui efek fitoestrogen dari kedelai untuk memperbaiki kadar kolesterol darah pada laki-laki hiperkolesterolemia perlu dilakukan penelitian. Penelitian eksperimen ini dilaksanakan dengan model tikus jantan yang dibuat hiperkolesterolemia, agar memudahkan untuk melakukan kontrol terhadap makanan, aktivitas dan sebagainya.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak kedelai dapat meningkatkan kolesterol HDL, menurunkan kolesterol LDL, kolesterol total dan rasio LDL/HDL pada keadaan hiperkolesterolemia ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mempelajari apakah pemberian ekstrak kedelai dapat memperbaiki kadar kolesterol darah pada keadaan hiperkolesterolemia.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mempelajari apakah pemberian ekstrak kedelai dapat meningkatkan kolesterol HDL darah pada keadaan hiperkolesterolemia.
2. Mempelajari apakah pemberian ekstrak kedelai dapat menurunkan kolesterol LDL darah pada keadaan hiperkolesterolemia.

3. Mempelajari apakah pemberian ekstrak kedelai dapat menurunkan kolesterol total darah pada keadaan hiperkolesterolemia.
4. Mempelajari apakah pemberian ekstrak kedelai dapat menurunkan rasio LDL/HDL pada keadaan hiperkolesterolemia.

1.4 Manfaat Penelitian

Mengembangkan fitoterapi dengan memanfaatkan sumber daya alam yang ada untuk memperbaiki kadar kolesterol darah pada keadaan hiperkolesterolemia.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencernaan Lemak

Terdapat 3 bentuk utama lemak yang didapatkan dalam diet manusia dan mamalia lainnya yaitu trigliserida (triasilgliserol), fosfolipid dan sterol terutama kolesterol dan ester kolesterol (Linder, 1992). Namun lemak yang paling banyak dalam diet adalah trigliserida, yang merupakan 95 % - 98 % dari seluruh bentuk lemak dikonsumsi pada semua bentuk makanan (Linder, 1992; Guyton & Hall, 1996).

Trigliserida merupakan lemak netral, yang setiap molekulnya tersusun dari sebuah inti gliserol dan 3 asam lemak yang terikat melalui ikatan ester (Amstrong, 1995; Guyton & Hall, 1996). Trigliserida yang merupakan unsur utama lemak dan cadangan sumber energi, berasal dari hewan dan lebih sedikit dalam makanan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan (Guyton & Hall, 1996).

Fosfolipid dan kolesterol dikonsumsi dalam jumlah sedikit, dan merupakan komponen utama dinding sel dan myelin syaraf. Kolesterol tidak didapatkan dalam bahan makanan nabati dan dinding sel tanaman tidak mengandung kolesterol maupun lipid yang serupa (phytosterol) dalam jumlah yang banyak (Linder, 1992). Fosfolipid dan ester kolesterol terdiri atas asam lemak dan oleh karena itu dapat dianggap sebagai lemak. Sebaliknya kolesterol merupakan suatu senyawa sterol yang tidak mengandung asam lemak, tetapi kolesterol memperlihatkan beberapa sifat fisik dan kimia dari lemak; merupakan turunan lemak, dan metabolisme seperti lemak (Guyton & Hall, 1996).

2.1.1 Pencernaan Lemak di Saluran Pencernaan

Pencernaan lemak dimulai hanya dengan cara mekanik melalui kerja gigi dan otot pengunyah. Walaupun pada mulut telah disekresi enzim lipase lingual oleh kelenjar Ebner pada permukaan dorsal lidah, namun kerjanya belum aktif (Guyton & Hall, 1996; Ganong, 2001). Lambung juga mensekresi lipase, namun lipase lambung tidak begitu penting kecuali pada insufisiensi pankreas, namun demikian lipase lingual aktif dalam lambung dan dapat mencerna sebanyak 30 % trigliserida makanan (Ganong, 2001).

Pada dasarnya semua pencernaan lemak terjadi di dalam usus halus yang dimulai dari duodenum dengan melibatkan enzim terpenting yaitu lipase pankreas (Guyton & Hall, 1996; Ganong, 2001). Tahap pertama pencernaan lemak adalah **emulsifikasi lemak** yaitu memecahkan gelembung lemak menjadi ukuran yang lebih kecil, sehingga enzim pencernaan yang larut dalam air dapat bekerja pada permukaan gelembung lemak. Emulsifikasi lemak dicapai sebagian melalui percampuran di dalam lambung bersama produk pencernaan lambung tetapi terutama di bawah pengaruh **empedu**, yaitu sekresi hati yang tidak mengandung enzim pencernaan apapun. Empedu mengandung sejumlah besar **garam empedu** juga **fosfolipid lesitin** yang keduanya, tetapi terutama lesitin sangat penting untuk emulsifikasi lemak.

Gugus polar dari garam empedu dan molekul-molekul lesitin sangat larut dalam air, sedangkan sebagian besar gugus-gugus molekul keduanya sangat larut dalam lemak. Sehingga gugus yang larut dalam lemak terlarut dalam lapisan permukaan gelembung lemak sedangkan gugus polar menonjol keluar dan larut dalam cairan sekitarnya; efek ini sangat menurunkan tekanan antar permukaan dari lemak. Sehingga dapat dimengerti bahwa fungsi utama garam empedu dan

lesitin terutama lesitin dalam empedu adalah untuk membuat gelembung lemak siap untuk dipecah oleh pengadukan didalam usus halus

Lipase merupakan senyawa yang larut air dan dapat menyerang gelembung lemak hanya pada permukaannya. Enzim terpenting dalam pencernaan lemak adalah lipase pancreas yang dihasilkan oleh pankreas. Enzim ini terdapat dalam jumlah yang cukup untuk mencernakan semua trigliserida yang dapat dilakukan dalam beberapa menit. Enterosit usus halus mengandung sejumlah kecil lipase yang dikenal dengan lipase usus tetapi enzim ini biasanya tidak penting (Guyton & Hall, 1996).

Lipase pankreas menghidrolisis ikatan -1 dan -3 trigliserida (triasilgliserol) dengan relatif mudah tetapi bekerja pada ikatan -2 dengan kecepatan sangat rendah, sehingga hasil utama kerjanya adalah asam lemak bebas dan 2-monogliserida (2-monoasilgliserol) (Stryer,2000).

Garam empedu bersifat amfipatik yaitu memiliki domain hidrofilik dan hidrofobik. Salah satu permukaan bersifat hidrofilik dan ekornya (permukaan bagian dalam) bersifat hidrofobik. Dengan demikian, garam-garam empedu cenderung membentuk lempeng-lempeng silindris yang disebut misel (*micelle*). Misel mengikat lipid, meskipun konsentrasinya berbeda-beda, umumnya mengandung asam lemak, monogliserida dan kolesterol pada pusat hidrofobiknya. Misel berperan penting dalam mempertahankan lemak dalam larutan dan membawanya ke *brush border* sel epitel usus untuk diabsorpsi.

Sebagian besar kolesterol dalam makanan berada dalam bentuk ester kolesterol yang mengandung asam lemak seperti juga fosfolipid. Ester kolesterol maupun fosfolipid dihidrolisis oleh dua lipase lain dalam pankreas untuk membebaskan asam lemak yaitu enzim **ester kolesterol hidrolase** untuk

menghidrolisis ester kolesterol dan **fosfolipase A₂** untuk menghidrolisis fosfolipid.

Miselius garam empedu mempunyai peran yang sama pada pengangkutan kolesterol bebas dan sisa bagian pencernaan molekul fosfolipid seperti pada pengangkutan monogliserida dan asam lemak bebas. Tentu saja, peran miselius ini sangat penting untuk absorpsi kolesterol karena pada dasarnya tidak ada satupun kolesterol yang diabsorpsi tanpa fungsi dari miselius ini. Sebaliknya, sebanyak 60% trigliserida dapat dicerna dan diabsorpsi walaupun tanpa garam empedu (Guyton & Hall, 1996).

2.1.2 Mekanisme Absorpsi Lemak

Ketika lemak dicerna akan membentuk 2-monoasilgliserol dan asam lemak bebas, kedua produk akhir pencernaan lemak ini larut dalam gugus pusat lipid dari misel asam empedu. Dalam bentuk ini, monogliserida dan asam lemak ditranspor ke permukaan *mikrovilli* di dalam *brush border* (Guyton & Hall, 1996). Karena bersifat larut dalam air, misel memungkinkan pengangkutan produk pencernaan lewat lingkungan berair pada lumen intestinum ke *brush border* tempat terjadinya absorpsi (Murray, et.al, 1997). Absorpsi lemak terbesar adalah di usus halus bagian atas, sejumlah tertentu juga diabsorpsi dalam ileum (Ganong, 2001). Garam empedu akan mengalir ke dalam ileum dan disana sebagian besar akan diserap ke dalam sirkulasi enterohepatik dan sebagian akan keluar bersama tinja (Murray, et.al, 1997; Ganong, 2001).

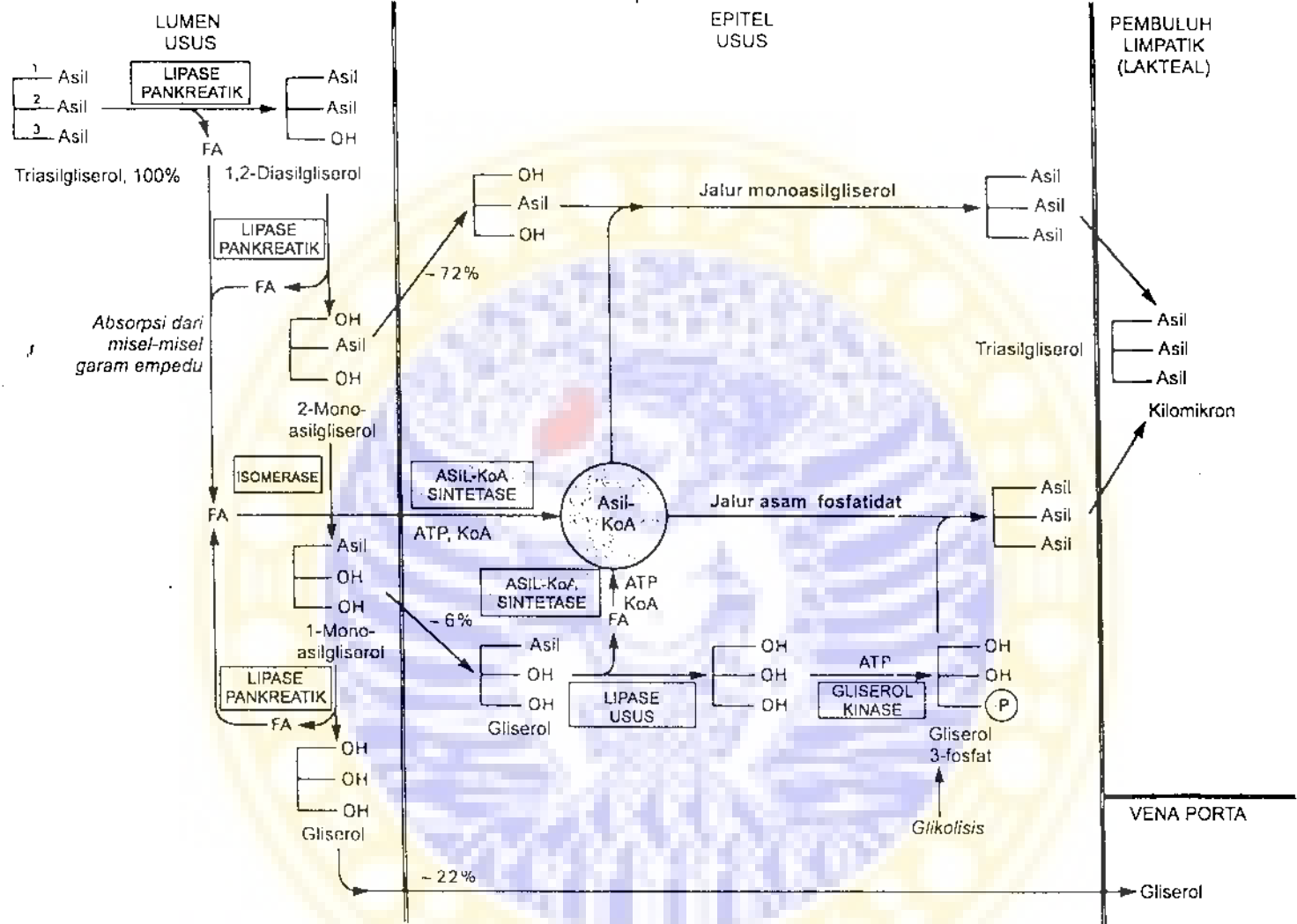
Kolesterol bebas yang berasal dari makanan bersama-sama dengan kolesterol yang berasal dari system biliaris akan diabsorpsi lewat *brush border* setelah pengangkutan dalam misel.

Hampir semua kolesterol yang diabsorpsi bergabung dalam kilomikron yang masuk ke sirkulasi melalui limfatik. Sterol tumbuh-tumbuhan yang tidak diabsorpsi seperti yang ditemukan dalam kedelai mengurangi penyerapan kolesterol, mungkin melalui kompetisi dengan kolesterol untuk esterifikasi dengan asam lemak (Ganong, 2001).

Di dalam dinding usus, senyawa 1-monoasilgliserol lebih lanjut dihidrolisis hingga menghasilkan gliserol bebas dan asam lemak; proses hidrolisis ini dilaksanakan oleh lipase yang berbeda dengan lipase pankreas. Senyawa 2-monoasilgliserol akan diubah kembali menjadi triasilgliserol lewat lintasan monoasilgliserol seperti gambar 2.1. Penggunaan asam lemak untuk resintesis triasilgliserol pertama-tama memerlukan konversi asam lemak menjadi asil-KoA oleh enzim asil-KoA sintetase. Kemungkinan besar sintesis triasilgliserol berlangsung dalam mukosa usus.

Gliserol bebas yang dilepaskan dalam lumen intestinal tidak dimanfaatkan kembali tetapi melintas langsung ke dalam vena porta. Namun demikian, gliserol yang dilepaskan di dalam sel intestinal dapat digunakan kembali untuk sintesis triasilgliserol setelah terjadi aktivasi oleh ATP menjadi gliserol 3-fosfat. Dengan demikian, semua asam lemak rantai panjang yang diabsorpsi dalam sel mukosa dinding intestinum akan digunakan dalam pembentukan kembali asilgliserol, khususnya triasilgliserol.

Triasilgliserol yang sudah disintesis bersama lipid lain seperti fosfolipid, ester kolesterol, kolesterol dan enzim yang larut dalam lemak akan menghasilkan kilomikron yang membentuk suatu cairan seperti susu, yang disebut kilus (*chyle*), yaitu cairan yang dikumpulkan oleh pembuluh limfe daerah abdomen dan berjalan ke dalam darah sistemik lewat duktus thorasikus.



Gambar 2.1 : Pencernaan dan absorpsi triasilgliserol. Persentase nilai yang diberikan untuk asupan bisa bervariasi luas tetapi menunjukkan kepentingan relatif dari ketiga jalur yang diperlihatkan (Murray, 1997).

Mayoritas asam lemak yang diserap dengan panjang n atom karbon lebih dari 10, tanpa tergantung dari bentuknya ketika diabsorpsi, akan ditemukan sebagai asam lemak teresterifikasi ke dalam cairan limfe pada duktus thorasikus. Asam lemak dengan rantai karbon yang lebih pendek dari 10 – 12 atom karbon diangkut dalam darah vena porta sebagai asam lemak tak teresterifikasi (asam lemak bebas). Salah satu penyebab mengapa hal ini terjadi adalah bahwa enzim asil-KoA sintetase bersifat spesifik bagi asam lemak dengan 12 atom karbon atau lebih. Sebagian asam lemak rantai pendek atau panjang yang terdapat dalam campuran triasilgliserol dapat diabsorpsi sebagai senyawa 2-monoasilgliserol dan memasuki duktus thorasikus lewat lintasan monoasilgliserol (Murray, et.al, 1997; Ganong, 2001).

2.2 Transportasi Lemak

Lipid tidak larut air sehingga transport lipid dalam cairan tubuh yang mengandung air (plasma darah) harus melalui ikatan senyawa lipid non polar (triasilgliserol dan ester kolesterol) dengan lipid amfipatik (fosfolipid dan kolesterol) serta protein untuk membentuk lipoprotein yang bisa bercampur dengan air. Lipoprotein mengangkut lipid dari intestinum sebagai khilomikron dan dari hati sebagai VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) ke berbagai jaringan tubuh untuk dioksidasi dan ke jaringan adipose untuk disimpan. Lipid diangkut dari jaringan adipose sebagai asam lemak bebas (*Free Fatty Acid* = FFA) yang melekat pada albumin serum. Sehingga dapat dikatakan lipid diangkut dalam plasma sebagai lipoprotein.

Lemak murni mempunyai densitas yang lebih rendah dari pada air; karena itu, semakin tinggi proporsi lipid terhadap protein dalam lipoprotein,

semakin rendah densitasnya seperti pada tabel 2.1. Disamping asam lemak bebas (FFA) ada empat kelompok lipoprotein yang telah diketahui yang memiliki makna penting secara fisiologis dan dalam diagnosis klinik. Keempat kelompok tersebut adalah : (1) **Kilomikron**, (2) **VLDL** (*Very Low Density Lipoprotein*), (3) **LDL** (*Low Density Lipoprotein*) atau β -lipoprotein dan (4) **HDL** (*High Density Lipoprotein*) atau α -lipoprotein.

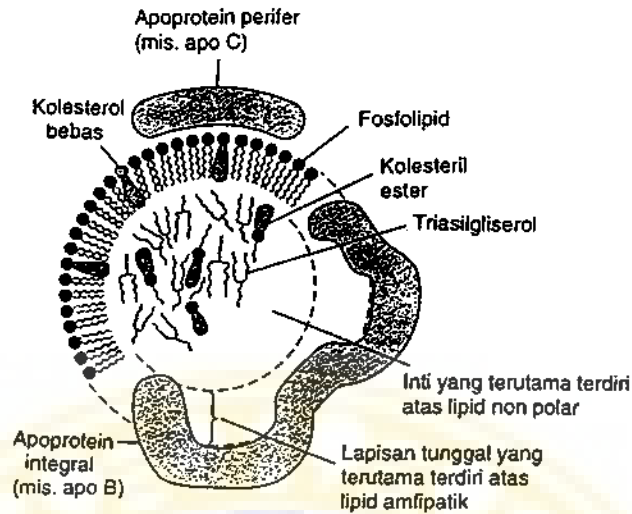
Tabel 2.1. Komposisi lipoprotein dalam plasma manusia (Murray, et.al, 1997)

FRAKSI	SUMBER	DIAMETER (nm)	DENSITAS	KOMPOSISI						
				PROTEIN (%)	TOTAL LIPID	PROSENTASE TOTAL LIPID				FFA
						TRIASIL-GLISEROL	FOSFO-LIPID	KOLESTERIL ESTER	KOLESTEROL BEBAS	
Kilomikron	Usus	90-1000	< 0,95	1-2	98-99	88	8	3	1	...
VLDL	Hati (usus)	30-90	0,95-1,006	11	89	29	26	34	9	1
IDL	VLDL	25-30	1,006-1,019	11	89	29	26	34	9	1
LDL	VLDL	20-25	1,019-1,063	21	79	13	28	48	10	1
HDL	Hati & Usus	10-20	1,063-1,125	33	67	16	43	31	10	...
HDL ₂	VLDL, Kilomikron									
HDL ₃		7,5-10	1,125-1,210	57	43	13	46	29	6	6
Albumin-FFA	Jaringan Adiposa		>1,281	99	1	0	0	0	0	100

Keterangan :

- VLDL : *Very Low Density Lipoprotein*
- IDL : *Intermediate Density Lipoprotein*
- LDL : *Low Density Lipoprotein*
- HDL : *High Density Lipoprotein*
- FFA : *Free Fatty Acid*

Moieties protein pada lipoprotein dikenal sebagai **apolipoprotein** atau **apoprotein** seperti pada gambar 2.2. Sebagian apoprotein bersifat menyatu (integral) dan tidak bisa dilepaskan, sementara sebagian lainnya dapat berpindah dengan bebas ke lipoprotein lainnya. Apoprotein mempunyai beberapa peranan yaitu : (1) merupakan kofaktor enzim misalnya C-II untuk lipoprotein lipase, A-I untuk LCAT (*lesitin-cholesterol asiltransferase*); (2) dapat bertindak sebagai protein pemindah lipid; dan (3) bertindak sebagai "ligan" untuk interaksi dengan reseptor lipoprotein dalam jaringan.



Gambar 2.2 : Struktur umum dari lipoprotein plasma (Murray et.al, 1997)

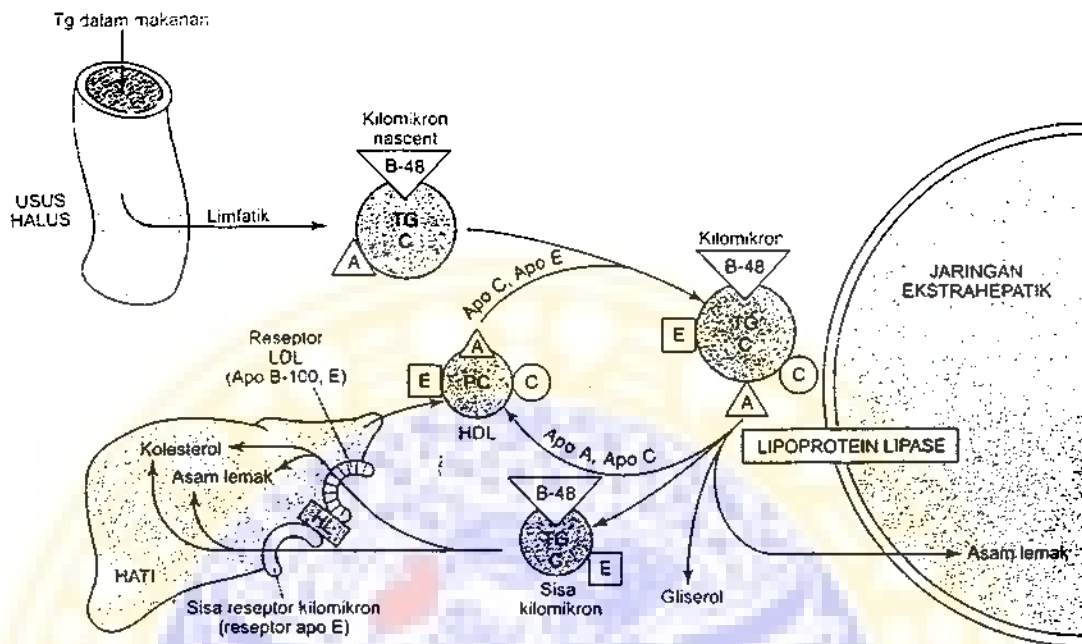
2.2.1 Transport Lemak dari Usus ke Hati dan Jaringan

Kilomikron banyak ditemukan dalam cairan limfe yang dibentuk oleh sistem limfatik yang mengalirkan cairan limfe dari usus halus. Kilomikron bertanggung jawab atas pengangkutan semua lipid dari makanan ke dalam sirkulasi darah. Pembentukan kilomikron oleh sel usus meningkat bersamaan dengan semakin besarnya jumlah triasilgliserol yang diabsorpsi.

Kilomikron "*nasceni*" atau lipoprotein yang baru dihasilkan mengandung apoprotein A dan B-48 serta hanya mengandung sedikit apoprotein C dan A atau bahkan tidak mengandungnya sama sekali. Apoprotein C dan A akan diekstraksi melalui pemindahan dari HDL begitu kilomikron memasuki sirkulasi darah seperti tampak pada gambar 2.3.

Kilomikron yang telah memiliki apo B-48, A, C dan E akan dibawa ke jaringan. Adanya fosfolipid dan apo C-II pada kilomikron diperlukan sebagai kofaktor untuk aktivitas enzim **lipoprotein lipase**. Lipoprotein lipase berada pada dinding pembuluh darah kapiler yang terikat lewat rantai proteoglikan heparan sulfat, dan lipoprotein lipase juga ditemukan pada jaringan adipose, jantung, lien, paru, medulla renalis, aorta, diafragma, glandula mammae yang dalam keadaan

laktasi serta hati neonatus. Lipoprotein lipase tidak bekerja aktif dalam hati orang dewasa.




Gambar 2.3. Peristiwa metabolik yang dialami kilomikron (Murray et.al, 1997)

Keterangan :

 : apolipoprotein A

 : apolipoprotein B-48

 : apolipoprotein C

 : apolipoprotein E

HDL : High Density Lipoprotein

TG : triasilgliserol

C : kolesterol dan ester kolesterol

P : posfolipid

HL : lipase hepatic

Apo C-II mengandung suatu tempat pengikatan fosfolipid spesifik yang lewat tempat pengikatan ini, apo C-II akan melekat pada lipoprotein.

Jadi kilomikron menghasilkan enzim untuk proses metabolismenya sendiri bersama substrat dan kofaktornya.

Hidrolisis berlangsung sementara lipoprotein terikat dengan enzim tersebut pada endothelium. Triasilgliserol dihidrolisis terus lewat diasilgliserol menjadi monoasilgliserol, dan senyawa terakhir ini lalu dihidrolisis menjadi asam lemak bebas dan gliserol.

Sebagian asam lemak bebas yang dilepaskan ini akan kembali ke dalam sirkulasi darah dan melekat pada albumin, namun jumlahnya yang terbesar akan diangkut ke dalam jaringan. Sementara gliserol dilepaskan ke dalam sirkulasi.

Reaksi dengan lipoprotein lipase mengakibatkan hilangnya $\pm 90\%$ triasilgliserol pada kilomikron dan hilangnya apo C (yang kembali kepada HDL) tetapi bukan apo E (yang tetap bertahan). Lipoprotein yang dihasilkan atau sisa kilomikron mempunyai diameter yang besarnya sekitar separuh dari diameter kilomikron induk, dan ditinjau dari prosentase komposisinya, menjadi relatif lebih kaya dengan kolesterol dan ester kolesterol karena hilangnya triasilgliserol.

Kilomikron sisa akan diambil oleh hati melalui endositosis yang diperantarai reseptor, sedangkan senyawa ester kolesterol dan triasilgliserol akan dihidrolisis serta dimetabolisasi. Pengambilan (*uptake*) ini tampaknya diperantarai oleh reseptor yang spesifik untuk apo E. Bukti yang ada sekarang ini menunjukkan bahwa reseptor LDL (apo B-100, E) maupun reseptor yang spesifik untuk apo E mengambil bagian untuk pengambilan kilomikron sisa. Enzim lipase hepatic memiliki peranan ganda dalam : (1) bekerja sebagai *ligand* pada lipoprotein dan (2) hidrolisis triasilgliserol serta fosfolipid.

2.2.2 Transport Lemak dari Hati ke Jaringan

VLDL merupakan alat pengangkut lipid dari hati ke jaringan diluar hati (ekstrahepatik). Sebagian besar VLDL plasma berasal dari hati. VLDL “nascent” atau lipoprotein yang baru disekresikan oleh hati mengandung apo B-100 dan sedikit apo C dan E. Apo C dan E akan ekstraksi melalui pemindahan dari HDL saat memasuki pembuluh darah seperti pada kilomikron.

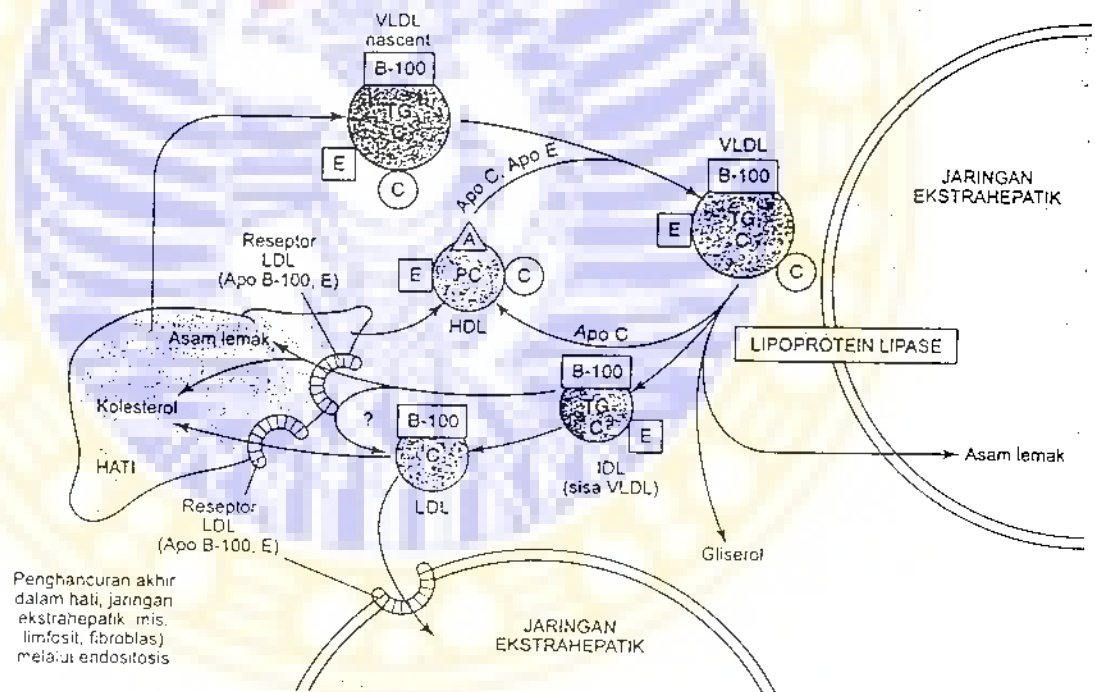
Seperti pada kilomikron fosfolipid dan apo C-II VLDL diperlukan sebagai kofaktor untuk aktivitas enzim **lipoprotein lipase** seperti pada gambar 2.4. Apo C-II mengandung suatu tempat pengikatan fosfolipid spesifik yang lewat tempat pengikatan ini, apo C-II akan melekat pada lipoprotein. Jadi VLDL menghasilkan enzim untuk proses metabolismenya sendiri bersama substrat dan kofaktornya. Hidrolisis berlangsung sementara lipoprotein terikat dengan enzim tersebut pada endothelium. Triasilgliserol dihidrolisis terus lewat diasilgliserol menjadi monoasilgliserol, dan senyawa terakhir ini lalu dihidrolisis menjadi asam lemak bebas dan gliserol.

Sebagian asam lemak bebas yang dilepaskan ini akan kembali ke dalam sirkulasi darah dan melekat pada albumin, namun jumlahnya yang terbesar akan diangkut ke dalam jaringan. Sementara gliserol dilepaskan ke dalam sirkulasi.

Reaksi dengan lipoprotein lipase mengakibatkan hilangnya $\pm 90\%$ triasilgliserol pada VLDL seperti pada kilomikron dan hilangnya apo C (yang kembali kepada HDL) tetapi bukan apo E (yang tetap bertahan). Lipoprotein yang dihasilkan atau sisa VLDL atau IDL (*Intermediate Density Lipoprotein*) mempunyai diameter yang besarnya sekitar separuh dari diameter VLDL induk, dan ditinjau dari prosentase komposisinya, menjadi relatif lebih kaya dengan kolesterol dan ester kolesterol karena hilangnya triasilgliserol.


VLDL merupakan precursor IDL, dan IDL precursor LDL. Hanya satu molekul apo B-100 yang terdapat dalam setiap partikel lipoprotein ini, dan akan dipertahankan selama berlangsungnya proses transformasi. Dua peristiwa mungkin akan dialami oleh IDL.

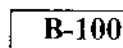
IDL dapat diambil langsung oleh hati lewat reseptor LDL (Apo B-100, E), atau IDL dikonversikan menjadi LDL. Pada tikus sebagian besar IDL akan diambil oleh hati sementara pada manusia, IDL dengan proporsi yang jauh lebih besar akan membentuk LDL sehingga konsentrasi LDL pada manusia lebih tinggi dibandingkan dengan tikus dan banyak mamalia lainnya. Sebagian besar LDL dibentuk oleh VLDL, namun terdapat bukti bahwa sebagian produksi LDL dilaksanakan langsung oleh hati.




Gambar 2.4 : Peristiwa metabolik yang dialami VLDL dan proses produksi LDL (Murray et.al, 1997)

Keterangan :

 : apolipoprotein A, E : apolipoprotein E

 B-100 : apolipoprotein B-48, TG : triasilgliserol

 C : apolipoprotein C, P : fosfolipid, C : kolesterol & ester kolesterol

2.2.3 Transport Kolesterol Antar Jaringan

Pada manusia, kadar kolesterol total dalam plasma adalah sekitar 5,2 mmol/L, dan kadar ini meningkat sebanding dengan peningkatan usia, serta memiliki variasi yang besar diantara masing-masing individu. Sebagian besar kolesterol plasma adalah dalam bentuk ester, dan ditransport dalam lipoprotein dalam plasma. Proporsi terbesar adalah dalam LDL.

Kolesterol dalam diet (*dietary cholesterol*) memerlukan waktu beberapa hari untuk bisa berada dalam keseimbangan dengan kolesterol dalam plasma, dan memerlukan waktu beberapa minggu untuk dapat seimbang dengan kolesterol 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.

Keseimbangan kolesterol dalam sel jaringan dipengaruhi beberapa macam faktor. Peningkatan kolesterol terjadi karena :

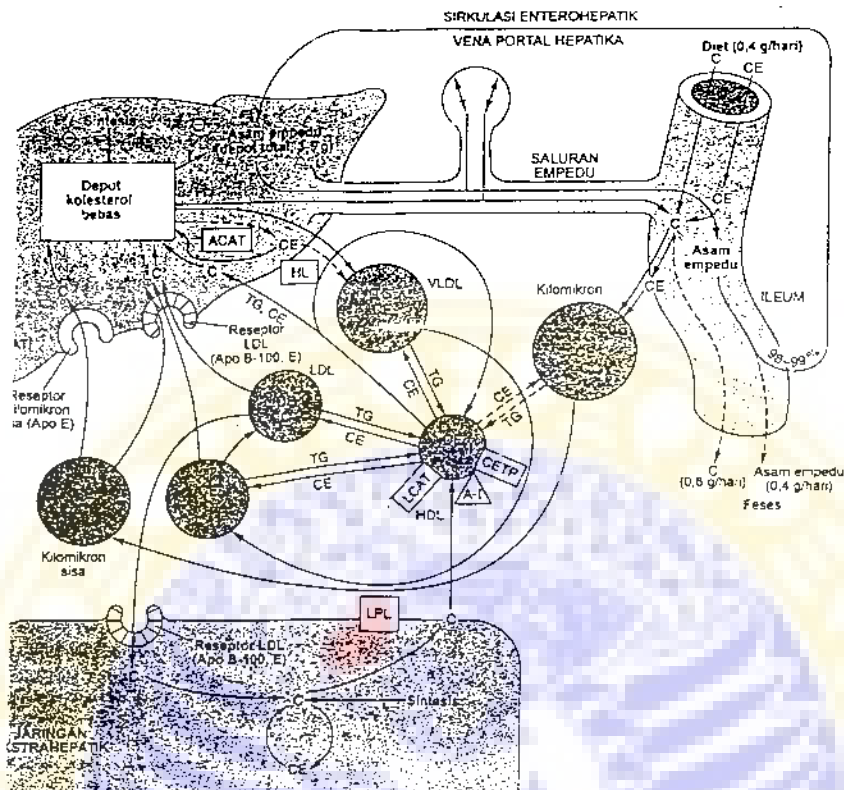
1. pengambilan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh reseptor, misalnya reseptor LDL atau reseptor *scavenger*.
2. pengambilan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh lintasan yang tidak diperantarai reseptor
3. pengambilan kolesterol bebas dari lipoprotein yang kaya akan kolesterol oleh membran sel.
4. sintesis kolesterol
5. hidrolisis ester kolesteril oleh enzim ester kolesteril hidrolase.

Sedangkan penurunan kolesterol pada sel jaringan terjadi karena :

1. aliran-kolesterol dari membran sel ke lipoprotein dengan potensial kolesterol yang rendah, khususnya HDL₃ atau HDL nascent, yang digalakkan oleh enzim LCAT (lesitin kolesterol asiltransferase).
2. esterifikasi kolesterol oleh enzim ACAT (asil-KoA: kolesterol asiltransferase)
3. penggunaan kolesterol untuk sintesis senyawa steroid lainnya, seperti hormon atau asam empedu dalam hati.

Kolesterol dalam makanan terdiri dari campuran kolesterol bebas dan ester kolesterol, yang merupakan bagian terbesar kolesterol dalam makanan. Ester kolesterol yang berasal dari diet terlebih dahulu akan dihidrolisis oleh enzim kolesterol esterase didalam lumen usus menjadi kolesterol bebas. Kemudian kolesterol bebas ini akan bergabung menjadi satu dengan kolesterol bebas yang berasal dari diet dan dengan yang berasal dari saluran empedu sebelum diabsorpsi oleh epitel usus bersama-sama lipid yang lain. Supaya dapat diabsorpsi dari lumen usus, kolesterol bergabung dengan asam-asam empedu, fosfolipid dan hasil pencernaan lipid di dalam lumen usus, membentuk partikel missel.

Kolesterol yang telah diabsorpsi, 80 – 90 % akan mengalami esterifikasi kembali dengan asam-asam lemak rantai panjang di dalam epitel mukosa usus. Ester kolesterol, kolesterol bebas, triasilgliserol dan fosfolipid akan bergabung bersama-sama dengan apoprotein, menjadi partikel kilomikron. Kilomikron yang bereaksi dengan lipoprotein lipase akan membentuk sisa kilomikron (chylomicron remnant), dan kehilangan sekitar 5 % dari kolesterol ester. Sisa ester kolesterol diambil oleh hati dan dihidrolisis menjadi kolesterol bebas, seperti pada gambar 2.5.



Gambar 2.5 : Pengangkutan kolesterol antar jaringan dalam tubuh mamusia (Murray et.al, 1997) (C: Kolesterol bebas; CE : Ester kolesterol; VLDL : *Very Low Density Lipoprotein*; IDL : *Intermediate Density Lipoprotein*; LDL : *Low Density Lipoprotein*; ACAT : asil-KoA:kolesterol asiltransferase; LCAT : lesitin:kolesterol asiltransferase; A-1 : Apoprotein A-1; D : apoprotein D; HL : lipase hepatic)

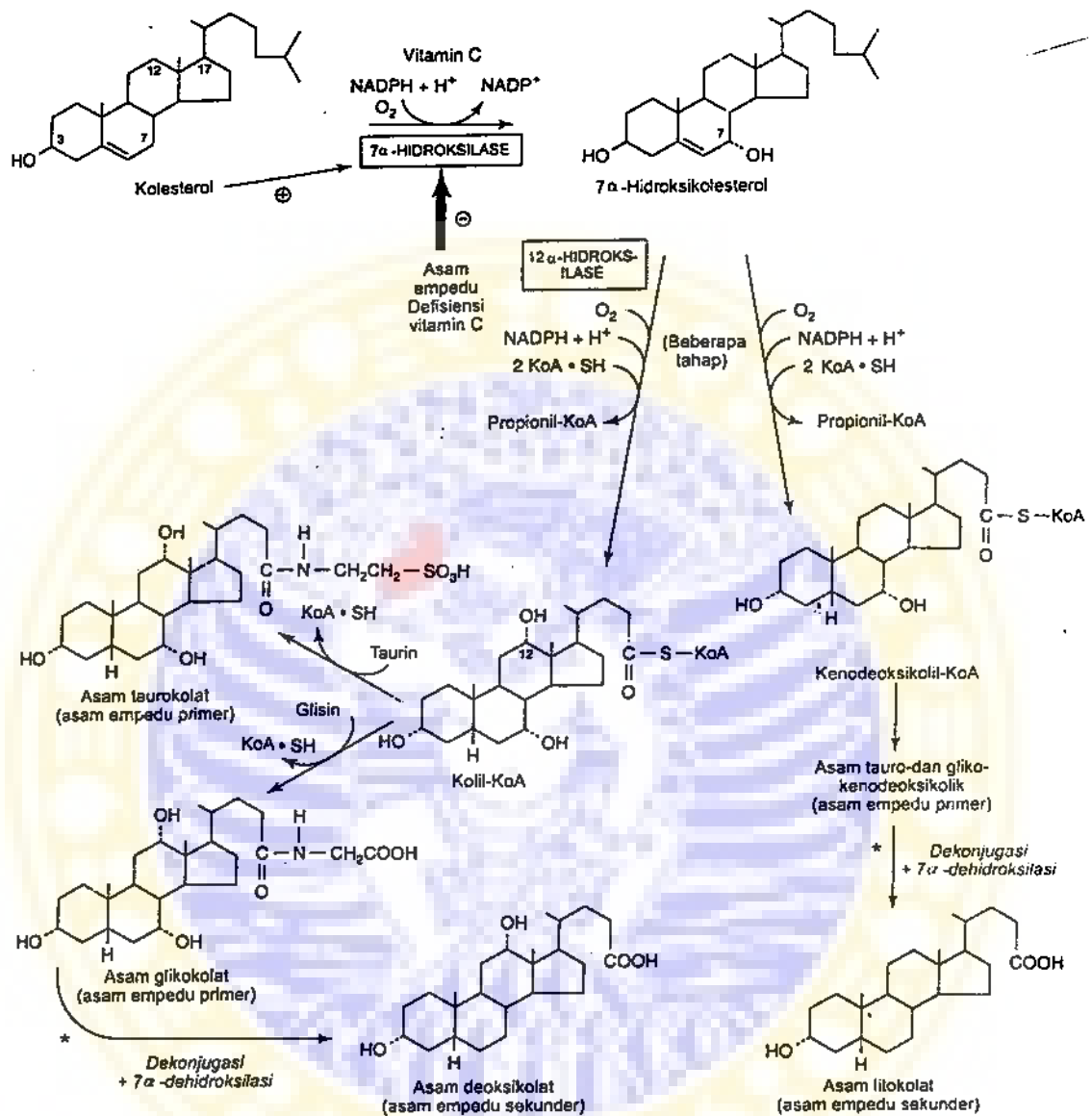
VLDL dibentuk dalam hati dan akan membawa kolesterol ke plasma darah. Sebagian besar kolesterol dalam VLDL tetap berada di dalam sisa VLDL yang diambil oleh hati, atau diubah menjadi LDL. LDL selanjutnya akan diambil oleh reseptor LDL yang berada di hati atau jaringan ekstrahepatik. HDL disintesis dan disekresi oleh hati dan usus. Aktivitas enzim LCAT akan menyebabkan ditariknya kolesterol dari jaringan dan dari lipoprotein lain untuk dibawa ke hati seperti pada gambar 2.5 (Murray et.al, 1997).

2.2.4 Ekskresi Kolesterol dan Pembentukan Asam Empedu

Sekitar 1 gram kolesterol dibuang dari tubuh setiap hari. Sekitar separohnya, diekskresikan melalui feses setelah diubah menjadi asam empedu. Sisanya akan diekskresi sebagai sterol netral. Sebagian besar kolesterol yang diekskresi dalam empedu akan diabsorpsi kembali.

Asam empedu merupakan hasil akhir dari metabolisme kolesterol. Perubahan kolesterol menjadi asam empedu hanya terjadi di dalam hati, dan proses perubahan ini berlangsung melalui beberapa langkah seperti gambar 2.6. Reaksi ini dihambat oleh adanya asam-asam empedu sendiri. Proses penghambatan terjadi pada reaksi yang dikatalis oleh enzim yang mengatur kecepatan reaksi, yaitu enzim 7 α -hidroksilase. Asam empedu yang dihasilkan adalah asam kholat (*cholic acid*) dan asam khenodeoksikholat (*chenodeoxycholic acid*), yang disebut sebagai asam-asam empedu primer. Kedua asam empedu ini didalam hati dan empedu berada dalam bentuk terkonjugasi dengan glisin dan taurin. Asam-asam empedu primer tersebut bersama-sama dengan kolesterol dalam empedu kemudian akan dikeluarkan kedalam usus, dan di dalam lumen usus akan dimodifikasi oleh bakteri usus menjadi asam empedu sekunder, yaitu asam deoksilat yang berasal dari kholat, dan asam lithokholat yang berasal dari asam khenodeoksikholat.

Sekitar 98 – 99% dari asam empedu yang diekskresi ke dalam usus akan diabsorpsi kembali, dan melalui vena porta, asam empedu ini akan masuk kembali ke hati untuk diekskresi lagi. Perputaran asam-asam empedu dari hati ke usus dan kembali lagi ke hati ini disebut sirkulasi enterohepatik.



Gambar 2.6 : Biosintesis dan degradasi asam empedu (Murray et.al, 1997)

Sebagian kecil asam empedu, yaitu sekitar 500 mg per hari, tidak mengalami absorpsi kembali, dan dikeluarkan bersama feses. Meskipun jumlah yang dikeluarkan bersama feses sangat kecil, tetapi jumlah tersebut menggambarkan jalur utama pembuangan kolesterol. Setiap hari, hati mensintesis

asam empedu dari kolesterol dalam jumlah yang setara dengan asam empedu yang dikeluarkan melalui feses, sehingga jumlah asam empedu dalam sirkulasi enterohepatik dapat dipertahankan selalu dalam jumlah yang konstan. Jumlah yang konstan ini dipertahankan oleh mekanisme penghambatan umpan balik oleh asam-asam empedu yang mengalami reabsorpsi di usus terhadap perubahan kolesterol menjadi asam empedu.

Kolesterol yang dikeluarkan ke lumen usus bersama empedu, akan bercampur dengan kolesterol dari diet dan sebagian diabsorpsi kembali. Sebagian lagi diubah menjadi koprostanol dan koprostanon oleh bakteri-bakteri usus. Sisa kolesterol bersama koprostanol dan koprostanon dikeluarkan bersama feses (Murray et.al, 1997).

2.3 Pathogenesis Aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan penyakit vaskuler yang ditandai dengan timbulnya **ateroma**, yaitu suatu tungkulan pada dinding arteri. Timbulnya ateroma ini menimbulkan penyempitan lumen arteri, dan apabila tungkulan tersebut pecah, akan menimbulkan trombosis yang selanjutnya mengakibatkan pembuntuan lumen. Gangguan aliran darah ini dapat menimbulkan iskhemia dan kematian jaringan di daerah aliran arteri, khususnya pada organ-organ yang miskin kolateral seperti jantung dan otak.

Penyebab aterosklerosis bersifat multifaktorial, sebagian penyebabnya bersifat genetik, sebagian lainnya karena faktor lingkungan, misalnya karena kebiasaan makan (Suryohudoyo, 2000). Beberapa keadaan merupakan faktor risiko untuk timbulnya aterosklerosis yaitu (1) Jenis kelamin laki-laki dan wanita *postmenopause*;

(2) Terdapat riwayat keluarga penyakit jantung koroner premature (sebelum usia 55 tahun); (3) Hiperlipidemia; (4) Merokok; (6) Hipertensi; (7) HDL kolesterol yang rendah ($< 0,9$ mmol/L); (8) Diabetes mellitus; (9) Hiperinsulinemia (10) Obesitas abdominal; (11) Riwayat adanya penyakit serebrovaskuler (Isselbacher, 2000).

Faktor lain yang memicu timbulnya aterosklerosis adalah hiperkolesterolemia yang disebabkan peningkatan kadar LDL (Suryohudoyo, 2000). Penderita aterosklerosis juga dapat mengalami salah satu dari tiga hal berikut ini : (1) kenaikan kadar VLDL dengan kadar LDL normal; (2) kenaikan LDL dengan VLDL yang normal; (3) kenaikan kedua fraksi lipoprotein tersebut. Konsentrasi HDL dan penyakit jantung akibat aterosklerosis memiliki hubungan yang terbalik, sehingga beberapa ahli beranggapan bahwa hubungan yang paling prediktif adalah rasio LDL : HDL kolesterol. Peran HDL dalam hal ini adalah HDL mengangkut kolesterol ke jaringan dan sebagai pemangsa (*scavenger*) kolesterol dalam pengangkutan balik kolesterol (Murray et.al, 1997).

Sel darah putih yaitu granulosit, monosit dan limfosit serta sebagian sel yang berasal dari dinding arteri yaitu sel endothelium, sel otot polos dan fibroblas berperan juga dalam patogenesis aterosklerosis. Sel-sel darah putih dapat meninggalkan aliran darah menembus dinding pembuluh darah. Untuk itu sel-sel tersebut harus terlebih dahulu menempel pada lapisan endothelium. Penempelan terjadi dengan bantuan *cell-adhesion molecule* (CAM). Molekul tersebut terdapat baik pada sel darah maupun pada sel endothelium, yang selanjutnya akan saling mengikat.

Terdapat berbagai jenis CAM, antara lain pada sel darah : **selektin** dan **integrin**, sedang pada endothelium : **adhresin**, **VCAM** (*vascular endothelium*

cell-adhesion molecule) dan **ICAM** (*intercellular cell-adhesion molecule*). Yang diperkirakan memegang peranan penting pada aterosklerosis terutama adalah L-selektin dan dua jenis integrin yaitu : **LFA-1** (*leucocyte function associated integrin*) dan **MAC-1** (**macrophage associated integrin**) yang terdapat pada monosit. LFA-1 akan mengikat ICAM, sedangkan MAC-1 pada VCAM. Setelah menempel, sel-sel tersebut akhirnya akan menembus lapisan endothelium memasuki jaringan subintima melalui suatu proses yang disebut diapedesis.

Diapedesis terjadi dengan bantuan senyawa-senyawa khusus yang disebut **kemokin** (*chemokines*) atau **kemoatraktan** (*chemoattractants*). Dua kemokin yang diketahui berperan dalam patogenesis aterosklerosis adalah MCP-1 (*macrophage chemotactic protein*) dan PAF (*platelet-activating factor*).

Walaupun aterosklerosis digolongkan sebagai penyakit sistemik, namun atheroma tidak timbul disembarang tempat, melainkan pada tempat-tempat predileksi khusus dimana lingkungan mikro (*micro environmen*) memang sangat mendukung. Tempat tersebut misalnya merupakan tempat percabangan atau kelokan arteri, di mana terjadi hambatan aliran darah yang menyebabkan masa tinggal (*residence time*) sel-sel darah menjadi lebih lama sehingga memungkinkan penempelan pada endothelium (Suryohudoyo, 2000).

Dalam keadaan normal, tempat-tempat predileksi sudah ada, namun apabila kadar LDL normal, pembentukan atheroma tidak terjadi. LDL yang ada dalam peredaran darah ditangkap dan diendositosis oleh sel endothelium, sedangkan LDL yang berhasil menerobos subintima, akan ditangkap dan diendositosis oleh monosit yang telah menjadi makrofag. Baik sel-sel endothelium maupun makrofag memiliki reseptor LDL.

Apabila terjadi peningkatan LDL, endositosis oleh endothelium dan makrofag terhenti karena sel-sel tersebut telah jenuh dengan kolesterol. Hal ini terjadi karena bila sel-sel jenuh dengan kolesterol, maka sel tersebut akan berhenti memaparkan reseptor LDL yang disebut sebagai *down regulation*. *Down regulation* reseptor LDL pada permukaan sel menyebabkan penumpukan LDL pada ruang sub intima. LDL yang menumpuk akan mengalami oksidasi oleh senyawa-senyawa oksidan seperti ion superoksida (O_2^-), yang disekresi oleh makrofag dan juga oleh sel-sel otot polos.

LDL teroksidasi (*oxidized LDL*), berbeda dengan LDL, memiliki sifat yang merugikan yaitu :

- a. *Oxidized LDL* tidak dapat diikat oleh reseptor LDL tetapi diikat oleh reseptor lain yang terdapat pada permukaan makrofag yaitu *scavenger-receptor* (Sc-R). *Scavenger-receptor* (Sc-R) tidak mengalami *down regulation*, sehingga berakibat makrofag terus menerus menumpuk ester kolesterol dan akhirnya berubah menjadi sel busa.
- b. *Oxidized LDL* bersifat sitotoksik, sehingga menyebabkan nekrosis sel busa dan akhirnya juga merusak sel endothelium.
- c. *Oxidized LDL* bersifat antigenic sehingga menimbulkan antibody terhadap *Oxidized LDL*. Pembentukan antibody ini dimungkinkan karena banyak limfosit menerobos masuk ke ruang subintima karena adanya peningkatan ICAM dan PAF. Antibodi tersebut akhirnya mengikat *Oxidized LDL* membentuk kompleks imun (*Oxidized LDL immune complex = ox-LDL-IC*). *ox-LDL-IC* selanjutnya akan difagositosis oleh makrofag, karena makrofag memiliki reseptor Fc (FcR) yang akan mengikat *ox-LDL-IC*, sehingga mempermudah fagositosis dan makin memicu terjadinya sel busa.

d. LDL dalam keadaan teroksidasi ringan (*mildly oxidized LDL = mo-LDL*) belum bersifat sitotoksik terhadap sel endothelium, tetapi justru memicu gen-gen tertentu, yaitu gen untuk CAM (VCAM dan ICAM), gen-gen kimokin (MCP-1 dan PAF), serta gen-gen untuk faktor pertumbuhan : PDGF (*platelet growth factor*), FGF (*fibroblast growth factor*) dan M-CSF (*monocyte colony stimulating factor*).

Ekspresi gen-gen sel endothelium tersebut memperparah keadaan : peningkatan pemaparan VCAM menyebabkan lebih banyak monosit menempel pada endothelium, sedangkan M-CSF memicu diferensiasi monosit menjadi makrofag. Akibat keseluruhannya adalah lebih banyak makrofag hadir dalam ruang subintima sehingga pembentukan sel busa bertambah pesat. Selanjutnya PDGF akan memicu migrasi sel otot polos memasuki ruang subintima sedangkan FGF memicu proliferasi sel otot polos. Disamping itu FGF memicu proliferasi fibroblas dan juga memicu sekresi kolagen oleh fibroblas.

Sel busa merupakan tanda patognomonis aterosklerosis. Di bawah mikroskop, sel busa terlihat sebagai sel besar yang berisi gelembung-gelembung mirip busa sabun. Sel busa sebenarnya berasal dari makrofag yang dipenuhi butiran-butiran yang berisi ester kolesterol.

Nekrosis endothelium karena pengaruh *Oxidized LDL* memicu terjadinya thrombus, dan bila thrombus ini terlepas, maka setelah mengikuti aliran darah thrombus akan menyumbat cabang arteri kecil, menimbulkan iskemia pada jaringan yang dilayani oleh cabang arteri tersebut.

Aterosklerosis tidak terjadi secara mendadak, melainkan terjadi melalui sejumlah tahapan, masing-masing tahap memerlukan waktu untuk mencapai tahap berikutnya. Tahap-tahap tersebut adalah :

1. Tahap dini

Pada tahap paling awal ini, secara makroskopik belum terlihat perubahan pada dinding sel arteri, tapi secara mikroskopik pada subintima ditemukan sekelompok sel yang dalam sitoplasmanya terlihat gelembung-gelembung mirip busa sabun, karenanya disebut sel busa (*foam cell*).

2. Tahap pembentukan garis lemak (*fatty streak*)

Pada tahap ini terjadi penumpukan se-sel busa sehingga mendesak endothelium. Secara makroskopik terlihat dinding arteri sedikit menonjol ke dalam lumen membentuk geligir.

3. Tahap pembentukan ateroma

Pada tahap ini, disamping sel busa terlihat pula tumpukan lemak ekstra sel yang terjadi karena nekrosis sel busa. Di dalam subintima juga dijumpai limfosit, sel-sel otot polos dan serat kolagen. Keberadaan serat kolagen ini menimbulkan fibrous plaque. Walaupun dalam keadaan terdesak, sel-sel endothelium masih terlihat utuh. Secara makroskopis terlihat sebagai dungkul yang menonjol ke dalam lumen.

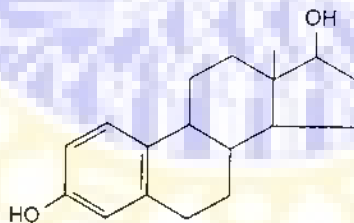
4. Tahap lesi lanjut

Pada tahap ini terjadi nekrosis endothelium yang memicu terjadinya thrombus (Suryohudoyo, 2000).

2.4 Hormon Estrogen

Estrogen merupakan hormon seks yang menyebabkan feminimisasi. Estrogen pada laki didapatkan dari perubahan androgen pada jaringan lemak dan jaringan lain namun jumlahnya sangat sedikit (Ganong, 2001). Pada wanita normal yang tidak hamil, estrogen disekresikan dalam jumlah besar oleh teka interna, sel granulose folikel ovarium dan korpus luteum, walaupun juga disekresi dalam jumlah kecil oleh korteks adrenal. Saat kehamilan, estrogen dalam jumlah sangat besar juga disekresi oleh plasenta (Guyton & Hall, 1997; Ganong, 2001).

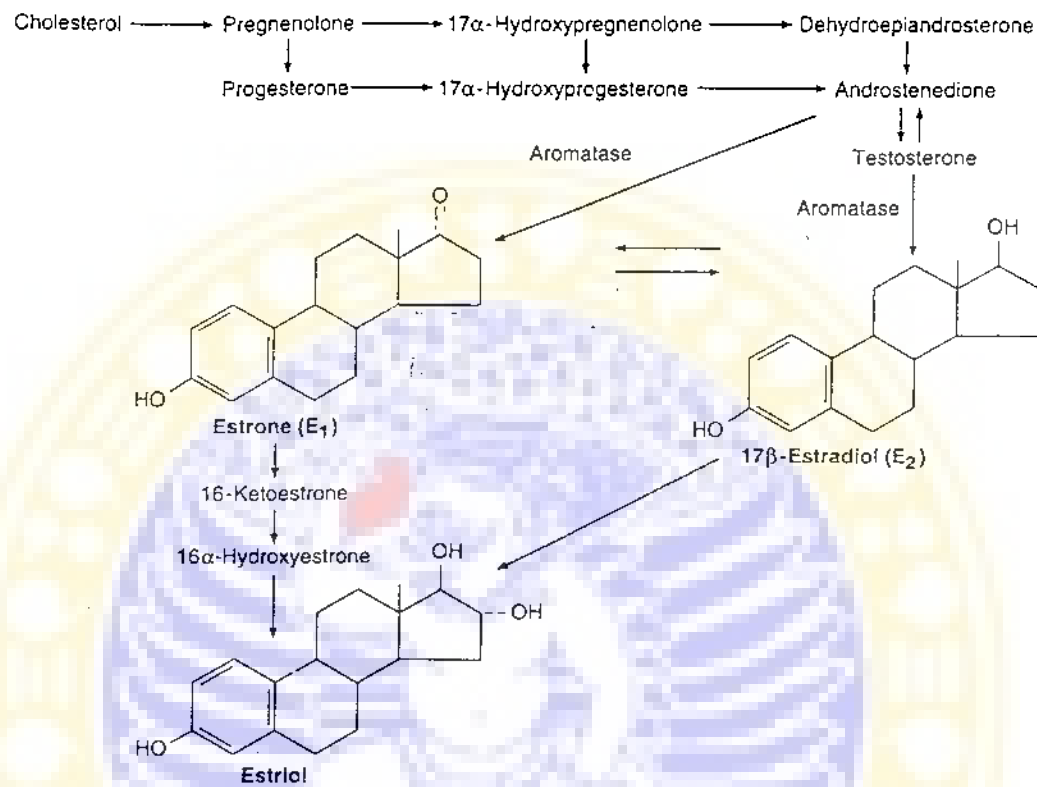
Estrogen yang terdapat secara alamiah adalah 17β -estradiol, estrone dan estriol. Zat ini adalah steroid C_{18} seperti tampak pada gambar 2.7. Estrogen utama yang disekresi oleh ovarium adalah 17β -estradiol. Estron juga disekresi dalam jumlah kecil oleh ovarium, tetapi sebagian besar estron dibentuk di jaringan perifer dari androgen yang disekresi oleh korteks adrenal dan sel teka ovarium. Estriol merupakan produk oksidasi yang berasal dari estradiol maupun estron, yang terjadi di hati (Guyton & Hall, 1997).



Gambar 2.7 : Struktur Dasar Estrogen (Ganong, 2001)

Potensi estrogenik dari 17β -estradiol adalah 12 kali lebih besar dari estron dan 80 kali lebih besar dari pada estriol. Oleh karena itu, 17β -estradiol dianggap sebagai estrogen utama, walaupun efek estrogenik dari estron juga tidak dapat diabaikan (Guyton & Hall, 1997).

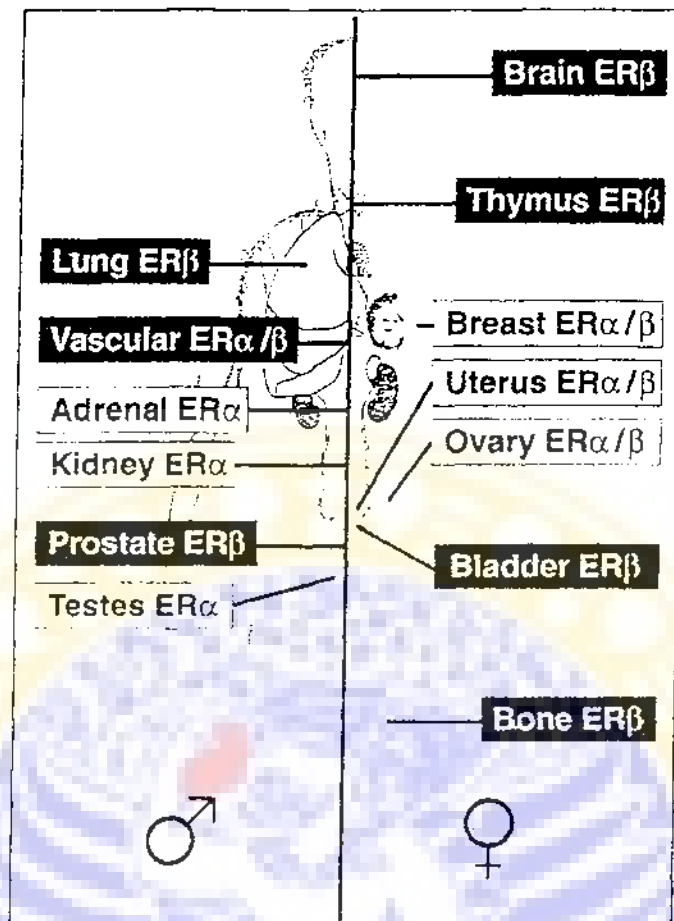
Jalur biosintesis estrogen melibatkan pembentukan dari androgen. Juga dibentuk melalui aromatisasi androstenedion didalam sirkulasi yang dikatalis oleh enzim aromatase seperti pada gambar 2.8.



Gambar 2.8 : Biosintesis dan Metabolisme Estrogen (Ganong, 2001)

Dua persen 17 β -estradiol dalam sirkulasi berada dalam keadaan bebas, dan sisanya terikat ke protein albumin (68 %), dan 38 % terikat ke *gonadal steroid-binding globulin* (GBG) yang serupa dengan yang mengikat testosteron (Gayton & Hall, 1997).

Seperti steroid lainnya, estrogen berikatan dengan reseptor protein yang terdapat pada nukleus sel. Terdapat 2 macam reseptor estrogen yaitu reseptor estrogen α (ER α) dan reseptor estrogen β (ER β), yang masing-masing organ memiliki reseptor estrogen yang berbeda seperti pada gambar 2.9 (Setchell & Cassidy, 1999; Ganong, 2001).



Gambar 2.9 : Diagram yang Menggambarkan Distribusi Reseptor Estrogen (Setchell & Cassidy, 1999)

Sebagian besar kerja estrogen adalah genomik yaitu melalui $ER\alpha$ dan $ER\beta$. Ikatan estrogen dan reseptor estrogen terjadi di dalam inti dan kompleks ini kemudian berikatan dengan DNA, mendorong pembentukan mRNA yang kemudian menyebabkan sintesa protein baru sehingga akan memodifikasi fungsi sel (Ganong, 2001).

Turunan etinil estradiol, adalah suatu estrogen yang kuat dan -tidak seperti estrogen alami- relatif aktif bila diberikan per oral, karena resisten terhadap metabolisme hati. Aktivitas hormon-hormon alami rendah bila diberikan per oral karena dari peredaran usus melalui vena porta membawa hormon ini ke hati, dan disana dibuat tidak aktif sebelum mencapai sirkulasi umum. Beberapa bahan

nonsteroid dan senyawa yang terdapat pada tumbuhan memiliki aktivitas estrogenic. Estrogen tumbuhan jarang menimbulkan masalah pada nutrisi manusia. Dietilstilbestrol dan sejumlah senyawa terkait bersifat estrogenic, mungkin karena mereka diubah menjadi struktur cincin mirip steroid dalam tubuh (Ganong, 2001).

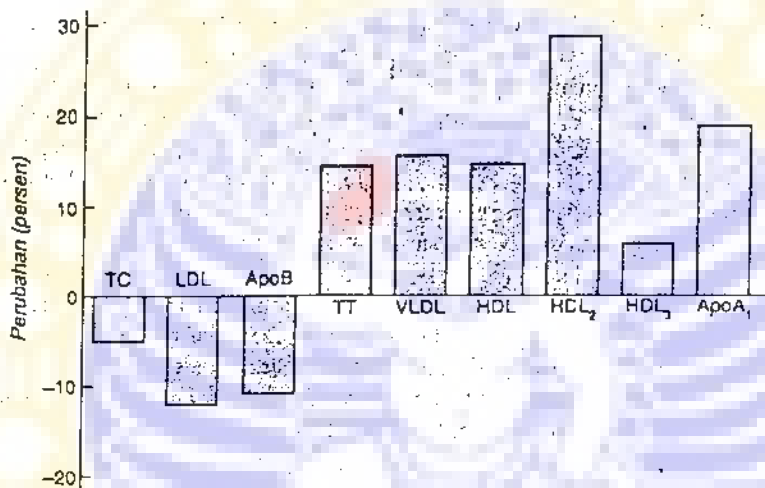
2.5 Hubungan Estrogen terhadap Kolesterol

Wanita premenopause memiliki kolesterol LDL lebih rendah dan kolesterol HDL lebih tinggi dibanding laki-laki (Gerhand & Gonz, 1995). Jika fungsi ovarium normal berangsur-angsur menghilang dan kadar estrogen turun setelah menopause atau paska ovariectomi, maka terjadi peningkatan dipercepat dari kolesterol total dan kolesterol LDL, sementara reseptor LDL menjadi berkurang (Greenspan & Baxter, 2000). Pada *postmenopause*, wanita memiliki resiko lebih tinggi untuk terjadi atherosclerosis dibanding *premenopause* akibat dari peningkatan kolesterol LDL dan menurunnya kolesterol HDL (Gerhand & Gonz, 1995). Perubahan kadar kolesterol tersebut disebabkan karena sekresi estrogen berkurang.

Estrogen memiliki efek penurunan kolesterol plasma secara bermakna dan menyebabkan vasodilatasi oleh peningkatan produksi lokal dari NO (*Nitride oxid*). Kerja tersebut akan menghambat aterogenesis dan berperan menurunkan insiden infark miokardial dan komplikasi lain akibat atherosclerosis pada wanita premenopause (Ganong, 2001).

Pemberian 0,625 mg/hari estrogen konjugasi pada wanita *postmenopause* yang mengalami hiperkolesterolemia selama 6 minggu dapat menurunkan

kolesterol total, meningkatkan kolesterol HDL, menurunkan kolesterol LDL dan menurunkan rasio LDL/HDL secara bermakna (Koh et.al, 1999). Penelitian lain pada tikus yang dilakukan ovariectomi menunjukkan bahwa estrogen dapat menurunkan total kolesterol 65,2% dengan dosis 1 mg/kg BB (Liu & Bachman, 1998). Sumber lain menyebutkan bahwa dampak dari terapi pengganti estrogen (*estrogens replacement therapy*) dapat memperbaiki lipid dan lipoprotein dalam sirkulasi seperti gambar 2.10 (Greenspan & Baxter, 2000).



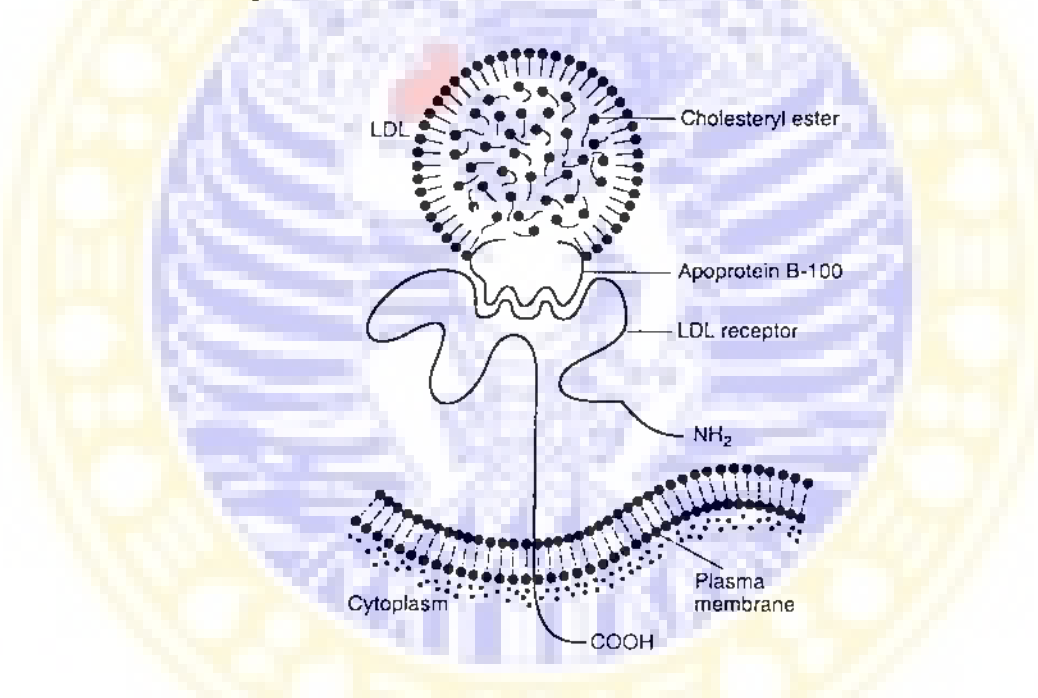
Gambar 2.10 : Persentase perubahan lipid dan lipoprotein dengan pemakaian estrogen oral (ekivalen dengan 0,625 mg/hari selama 3 bulan) (TC : kolesterol total, TT : trigliserida total) (Greenspan & Baxter, 2000).

Estrogen memiliki efek yang bermakna dalam metabolisme HDL yaitu peningkatan kolesterol HDL pada wanita postmenopause lebih dari 15 % terutama oleh peningkatan subfraksi HDL₂ (Wilson et.al, 1998). Konsentrasi HDL (HDL₂) berhubungan secara terbalik dengan insiden atherosklerosis, dan keadaan ini mungkin terjadi karena konsentrasi HDL mencerminkan efisiensi pembersihan kolesterol dari jaringan (Murray et.al, 1997).

Peran terapi estrogen dalam menurunkan kolesterol LDL adalah meningkatkan bersihan LDL (*LDL clearance*) dari sirkulasi sehingga menurunkan

kolesterol LDL plasma. Peningkatan bersih LDL akibat dari peningkatan ekspresi reseptor LDL di hepar (Wilson et.al, 1998; Ganong, 2001). Penelitian yang dilakukan Kovanen, Brown, Goldstein (1979) telah menunjukkan bahwa pemberian estrogen mengindikasikan terjadinya *up regulation* reseptor LDL hepar yang bertanggung jawab terhadap penurunan lipid darah (Laundeen, 1997).

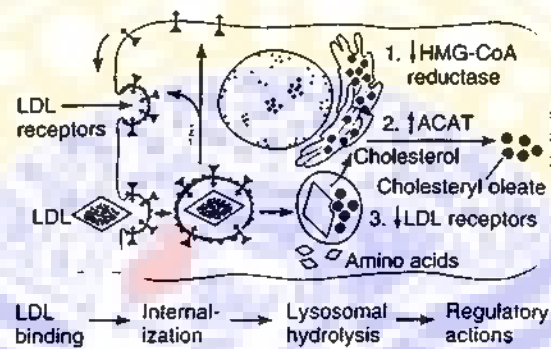
Reseptor LDL manusia pada hati dan jaringan ekstrahepatik merupakan anggota dari keluarga reseptor yang khusus untuk transport makromolekul ke dalam sel melalui endositosis dalam lubang-lubang yang terbungkus klatrin (*clathrin-coated pits*) seperti pada gambar 2.11 (Guyton, 2001).



Gambar 2.11 : Diagram yang menggambarkan struktur LDL dan reseptor LDL dan ikatan LDL dan reseptor melalui APO B-100.

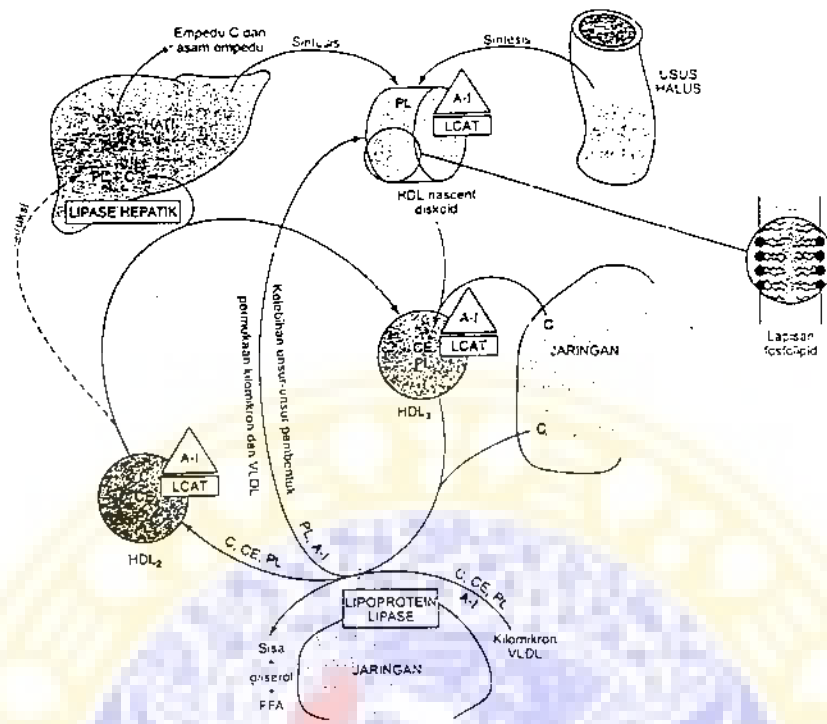
Setelah terikat dengan reseptor, LDL diambil dalam keadaan utuh melalui endositosis. Kemudian LDL dipecah dalam lisosom, yang meliputi hidrolisis apoprotein dan ester kolesterol yang diikuti oleh translokasi kolesterol ke dalam sel. Reseptor tersebut tidak dihancurkan tetapi kembali ke permukaan sel. Aliran masuk kolesterol ini menghambat kerja HMG-KoA reduktase serta sintesis

kolesterol, dan merangsang aktivitas ACAT (asil-KoA :kolesterol asiltransferase). Reseptor E, apo B-100, merupakan reseptor LDL dengan afinitas tinggi. Reseptor LDL lainnya dengan afinitas rendah juga ditemukan disamping lintasan yang tidak diperantarai reseptor atau pemangsa (*scavenger*) seperti gambar 2.12 (Murray et.al, 1997).



Gambar 2.12 : Ambilan sel dan metabolisme kolesterol. LDL mengikat reseptor dan diinternalisasi dengan endositosis bermediator reseptor. Reseptor-reseptor dibebaskan dan didaur ulang ke membran. Ester-ester kolesteril memasuki lisosom, tempat kolesterol bebas dilepaskan dan digunakan untuk proses-proses seluler. Kolesterol juga (1) menghambat HMG-KoA reduktase, (2) sebagian diproses menjadi ester-ester kolesteril oleh ACAT dan (3) menghambat pembentukan reseptor LDL (Ganong, 2001).

Kolesterol HDL disintesis dan disekresikan oleh hati maupun intestinum. Namun HDL *nascent* (HDL yang baru disintesis) dari intestinum tidak mengandung apolipoprotein C dan E, tetapi hanya mengandung Apo A. Apo C dan E HDL disintesis dalam hati dan dipindahkan kepada HDL intestinum ketika HDL memasuki plasma darah seperti gambar 2.13 (Murray et.al, 1997).



Gambar 2.13. Metabolisme *high density lipoprotein* (HDL). (LCAT : lesitin-cholesterol asiltransferase; C : kolesterol; CE : ester kolesterol; PL : fosfolipid; FFA : *free fatty acid*, A-1 : Apoprotein A-1). Gambar tersebut melukiskan peranan 3 enzim, yaitu lipase hepatic, LCAT dan lipoprotein lipase, dalam siklus HDL yang dipostulasikan untuk pengangkutan kolesterol dari jaringan ke hati. Disamping triasilgliserol, lipase hepatic menghidrolisis fosfolipid pada permukaan HDL₂, dengan melepaskan kolesterol untuk pengambilannya ke dalam hati, dengan memungkinkan pembentukan HDL₃ yang lebih kecil dan lebih tinggi densitasnya. Aktivitas lipase hepatic ditingkatkan oleh hormon androgen dan diturunkan oleh hormon estrogen, yang menerangkan alasan konsentrasi HDL₂ plasma lebih tinggi pada wanita (Murray et.al, 1997).

Estrogen dapat meningkatkan kadar dan produksi apolipoprotein A-1 (Brinton, 1996) dan menurunkan aktivitas enzim lipase hepatic (Brinton, 1996; Murray et.al, 1997) dengan menekan transkripsi gen untuk lipase hepatic (Jones, 2002). Lipase hepatic merupakan enzim lipolitik, disintesis oleh hepatosit dan ditemukan pada permukaan kapiler sinusoid hepar (Perret, 2002). Peningkatan produksi apolipoprotein A-1 memberikan kontribusi pada peningkatan HDL *nascent* dimana dalam perjalanannya akan berubah menjadi HDL₂ (Murray et.al, 1997).

Penurunan aktivitas enzim lipase hepatic akan menurunkan hidrolisis fosfolipid dan triasilgliserol HDL₂. Hidrolisis fosfolipid HDL dan triasilgliserol memungkinkan HDL₂ melepaskan muatan ester kolesterilnya ke dalam hati di mana partikel tersebut menjadi lebih padat dengan membentuk kembali HDL₃ yang memasuki kembali siklus HDL seperti gambar 2.13. Sehingga penurunan aktivitas lipase hepatic dapat meningkatkan HDL₂ (Murray et.al, 1997).

Penelitian pada tikus betina, estrogen menghambat *Neuromedin B* yang merupakan *bombeesin-like peptide*. *Neuromedin B* berperan pada penghambatan sekresi TSH (Thyrotropin) oleh hipofise anterior dan peningkatan sekresi PRL (prolaktin) (Moreira et.al, 2003). Sehingga estrogen dapat meningkatkan sekresi TSH. Penelitian lain yang dilakukan sapi muda yang masih dalam proses pertumbuhan pemberian estrogen implan pada telinga (*estrogen ear implant* = Synovex-S®) juga meningkatkan pelepasan TSH dari adenohipofisis (Rumsey et.al, 1997). Pemberian estrogen pada wanita euthyroid secara signifikan juga meningkatkan TSH. Namun pemberian estrogen menghambat sekresi thyroid pada pasien hiperthyroidesme (Yen & Jaffe, 1986).

Fungsi thyroid diatur terutama oleh TSH hipofisis dalam darah. Dalam beberapa menit setelah penyuntikan TSH, terjadi peningkatan pengikatan Iodida; sintesis T₃ dan T₄; dan sekresi tiroglobulin ke dalam koloid. Sehingga TSH dapat meningkatkan sintesis hormon thyroid. Dan peningkatan kadar hormon thyroid (T₃ dan T₄) darah akan menghambat sekresi TSH (Ganong, 2001).

Salah satu efek hormon thyroid pada metabolisme kolesterol adalah menurunkan kadar kolesterol darah, melalui peningkatan reseptor LDL hepar. Kadar kolesterol plasma turun sebelum kecepatan metabolisme meningkat, yang

mengisyaratkan bahwa efek ini tidak tergantung stimulasi konsumsi oksigen. Walaupun telah banyak usaha dilakukan, analog hormon thyroid belum dapat secara klinis digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol plasma tanpa menyebabkan peningkatan metabolisme (Ganong, 2001). Dari keterangan tersebut dapat disimpulkan bahwa estrogen dapat menurunkan kolesterol melalui peningkatan TSH yang akan menyebabkan peningkatan hormon thyroid dan peningkatan hormon thyroid meningkatkan reseptor LDL hepar.

Peningkatan kolesterol HDL menyebabkan penurunan kolesterol jaringan. Hal ini dapat dimengerti karena HDL berperan dalam proses transportasi kolesterol dari jaringan ke hati yang dikenal sebagai pengangkutan balik kolesterol seperti gambar 2.13. HDL nascent dan HDL₃ akan mengambil dan esterifikasi kolesterol dari jaringan dengan membentuk HDL₂. HDL₂ melepaskan kolesterolnya ke dalam hati, dengan memungkinkan pembentukan HDL₃ yang lebih kecil dan lebih tinggi densitasnya (Murray et.al, 1997). Hal ini sesuai dengan Grennspar & Baxter (2000) yang menyatakan bahwa estrogen dapat menurunkan total kolesterol sampai 5 % dan peneliti lain menyatakan estrogen juga menurunkan total kolesterol (Koh et.al, 1999).

2.6 Kedelai Sebagai Sumber Fitoestrogen

Menurut para ahli botani, kedelai adalah tanaman berasal dari Manchuria dan sebagaia dari Cina, dan terdapat beberapa jenis kedelai liar yang tergolong dalam spesies *Glycine ussuriensis*. Kemudian menyebar ke daerah tropika dan subtropika serta dilakukan pemuliaan sehingga dihasilkan berbagai jenis kedelai unggul yang dibudidayakan (Koswara, 1992).

Kedelai yang dikenal sekarang termasuk dalam famili *Leguminosa*, subfamily *Papilionidae*, genus *Glycine* dan spesies *max*, sehingga nama latinnya dikenal sebagai *Glycine max*. Dilihat dari segi pangan dan gizi, kedelai merupakan sumber protein paling murah, mudah dan banyak ditemukan di Indonesia. Daerah pertumbuhannya tidak lebih dari 500 meter di atas permukaan laut dengan iklim panas dan curah hujan rata-rata 200 mm/bulan. Umur tanaman kedelai berbeda tergantung varietasnya, tetapi umumnya berkisar antara 75 sampai 105 hari (Thomas, 1992).

Di antara jenis kacang-kacangan, kedelai merupakan sumber protein yang paling baik. Di samping itu kedelai juga dapat digunakan sebagai sumber lemak, vitamin, mineral dan serat (Koswara, 1992).

Komposisi kedelai (Koswara, 1992) adalah :

1. Protein

Kedelai mengandung protein rata-rata 35 %, bahkan dalam varietas unggul kandungan proteinnya dapat mencapai 40 – 44%. Protein kedelai sebagian besar (85 – 95 %) terdiri dari globulin. Dibandingkan dengan kacang-kacangan yang lain, susunan asam amino pada kedelai lebih lengkap dan seimbang.

2. Lemak

Kedelai mengandung sekitar 18 – 20 % lemak dan 85 % dari jumlah tersebut terdiri dari asam lemak tak jenuh yang bebas kolesterol. Disamping itu di dalam lemak kedelai terkandung beberapa fosfolipida yang penting yaitu lesitin, sepalin dan lipositol.

3. Karbohidrat

Kedelai mengandung karbohidrat sekitar 35 %, dimana hanya 12 – 14 %-nya saja yang dapat dipergunakan tubuh secara biologis. Karbohidrat pada kedelai terdiri atas golongan oligosakarida dan golongan polisakarida. Golongan oligosakarida terdiri dari sukrosa, stakiosa dan raffinosa yang larut dalam air. Sedangkan golongan polisakarida terdiri dari arabinogalaktan dan bahan-bahan selulosa yang tidak larut dalam air dan alkohol.

4. Vitamin dan mineral

Secara umum kedelai merupakan sumber vitamin B, karena kandungan vitamin B₁, B₂, niasin, piridoksin dan golongan vitamin B lainnya banyak terdapat di dalamnya. Vitamin lain yang terkandung dalam jumlah cukup banyak adalah vitamin E dan K. Sedangkan vitamin A dan D terkandung dalam jumlah yang sangat sedikit. Dalam kedelai muda terdapat vitamin C dengan kadar yang sangat rendah. Kedelai banyak mengandung kalsium dan fosfor, sedangkan zat besi terdapat dalam jumlah yang relatif sedikit. Mineral lain terdapat dalam jumlah yang sangat sedikit yaitu boron, magnesium, berilium dan seng.

5. Serat kedelai

Kulit kedelai mengandung 87 % serat makanan (*dietary fiber*), 40 – 53 % selulosa kasar, 14 – 33 % hemiselulosa kasar dan 1 – 3 % serat kasar. Serat makanan adalah bagian sel nabati yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan pada manusia sehingga tidak dapat diserap oleh usus. Serat makanan ini dapat dikelompokkan menjadi 2 golongan, yaitu polisakarida pembentuk dinding sel seperti selulosa dan polisakarida bukan pembentuk

dinding sel yaitu lignin, pectin dan gum. Serat kedelai bukan kulit atau sekam kedelai, tetapi produk kedelai yang tidak berbau, tawar dan bentuknya dapat disesuaikan dengan tujuan penggunaannya, terutama sebagai sumber serat makanan.

United State Dietary Allowances (1999), mengelompokkan komposisi kedelai (*Glycine max*) seperti tercantum dalam lampiran 1.

Adapun cara untuk memperoleh ekstrak kedelai antara lain melalui proses ekstraksi, dalam uraian ini hanya dibatasi pada ekstraksi maserasi. Ekstraksi merupakan peristiwa perpindahan massa. Zat aktif yang semula berada di dalam sel tertarik oleh cairan penyari (pengekstraksi) sehingga terbentuk larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut. Ekstraksi maserasi adalah proses ekstraksi cara dingin yang dilakukan apabila simplisia memiliki zat kandungan atau zat aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan. Adapun cara pembuatan ekstrak kedelai dengan cara ekstraksi maserasi adalah kedelai direndam dengan pelarut alcohol 96 % selama 24 jam, kemudian disaring. Setelah terpisah, ampas direndam lagi dengan pelarut dan waktu yang sama. Perendaman dan penyaringan ini dilakukan sebanyak 3 kali 24 jam hingga diperoleh ekstrak kedelai encer. Ekstrak kedelai encer dipekatkan dengan *Rotary Evaporator* melalui penurunan tekanan pada suhu 40 – 45°C, hingga diperoleh ekstrak kedelai (List, 1989).

Fitoestrogen merupakan sterol yang terdapat pada tumbuhan yang memiliki efek mirip estrogen. Terdiri dari 3 kelompok **isoflavones**, **lignans** dan **coumestans**. Kelompok isoflavones terutama **genistein** dan **daidzein** merupakan molekul sterol yang didapatkan pada kedelai, buncis garbanzo (*garbanzo beans*) dan kacang-kacangan yang lain. Produk kedelai yang lebih sering dikonsumsi

seperti tempeh, *tofu*, kedelai dan *miso*. Lignans merupakan unsur dari dinding sel tanaman dan *bioavailable* terjadi karena aktivitas bakteri intestinal. Jumlah terbesar didapatkan pada minyak biji (*seed oils*) khususnya pada *flaxseed*. Coumestans memiliki aktivitas seperti steroid, tetapi tidak penting sebagai sumber fitoestrogen manusia, terdapat pada semanggi merah (*red clover*), biji bunga matahari dan kecambah dan diketahui memiliki efek estrogenic ketika dimakan oleh binatang (Taylor, 2002).

Fitoestrogen kedelai banyak dikonsumsi pada orang-orang Asia. Wanita Asia mengkonsumsi rata-rata 40 – 80 mg isoflavones setiap hari, dan orang Amerika kurang dari 3 mg/hari. Beberapa produk kedelai mengandung fitoestrogen seperti tabel 2.1 di bawah (Taylor, 2001).

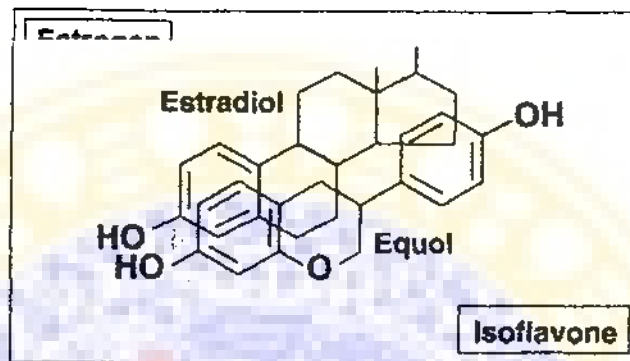
Tabel 2.2 : Kadar isoflavones pada bahan makanan (Taylor, 2002).

Bahan Makanan	Ukuran penyajian (g)	Isoflavones (mg)
Tofu, Tempeh	100	62 – 112
Miso	120	40
Susu kedelai	250	40
Protein kedelai	100	138
<i>Soy beans</i> panggang	100	162
Kedelai hijau	100	135

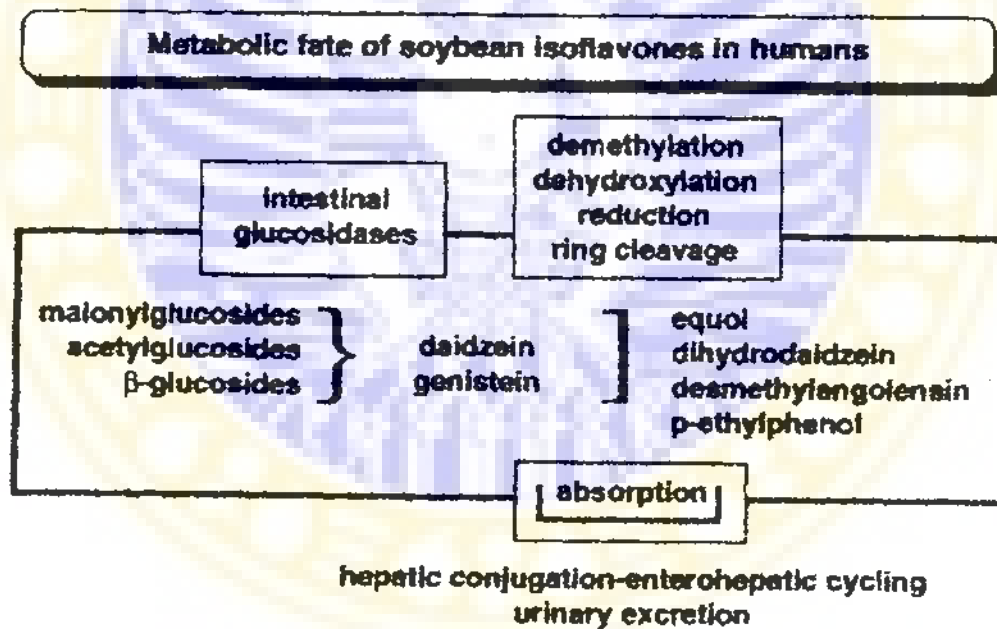
Isoflavones memiliki struktur kimia seperti pada gambar 2.14 dan fungsi mirip estrogen mamalia. Cincin phenol merupakan elemen struktur kunci dari senyawa isoflavones yang berikatan dengan reseptor estrogen. Ikatan fitoestrogen tampak lebih tinggi pada reseptor estrogen β (ER β) dari pada reseptor estrogen α (ER α) (Setchell & Cassidy, 1999).

Setelah dicerna, isoflavones kedelai dihidrolisis oleh enzim glukosidase intestinal, dengan melepaskan aglycones, daidzein, genestein dan glycitein seperti gambar 2.15. Ini mungkin akan diabsorpsi atau dimetabolisme lebih lanjut

menghasilkan metabolit spesifik seperti equol dan p-ethylphenol. Tingkat metabolisme ini tampak sebagai variable yang individual dan dipengaruhi oleh komponen lain pada diet. Lingkungan tinggi karbohidrat, yang menyebabkan peningkatan fermentasi intestinal, mengakibatkan lebih banyak biotransformasi



Gambar 2.14 : Perbandingan struktur equol sebagai metabolit isoflavones dengan estradiol yang tampak sangat mirip (Setchell & Cassidy, 1999).



Gambar 2.15 : Skema yang menunjukkan biotransformasi utama dari metabolisme isoflavones pada manusia dan binatang

Respon klinik isoflavone kedelai yang berkenaan dengan efek pada lemak plasma tergantung dari variable dan tingginya kadar kolesterol awal (Setchell & Cassidy, 1999). Pemberian 60 gr/hari isoflavones kedelai pada laki-laki dengan

kolesterol normal didapatkan hasil : tidak ada perubahan signifikan pada lemak plasma sekalipun konsentrasi isoflavone darah meningkat (Gooderham et.al, 1996). Namun penelitian Meta-analysis pada 38 sampel penelitian klinis disimpulkan bahwa rata-rata asupan isoflavone kedelai 47 gr/hari akan memperbaiki kadar kolesterol darah dengan penurunan kolesterol total 23,2 mg/dl (9,3 %), LDL menurun rata-rata 21,7 mg/dl (12,9 %). Namun efek pada HDL tidak terjadi perubahan yang signifikan dan hanya meningkatkan 2,4 % (Anderson et.al, 1995). Namun peneliti lain menyatakan pemberian 55 mg/hari fitoestrogen isoflavon selama 8 hari tidak terbukti dapat memperbaiki lipid serum pada wanita *postmenopause* (Hodgson et.al, 1998). Peneliti lain menyatakan pemberian isoflavon kedelai sebesar $128,7 \pm 15,7$ mg/hari pada wanita premenopause dengan normokolesterolemia selama tiga kali siklus menstruasi didapatkan hasil : penurunan LDL sebesar 7,6 – 10 %, penurunan rasio kolesterol total/HDL 10,2 % dan terjadi penurunan rasio LDL/HDL 13,8 % (Demlow, et.al., 2000).

Seperti pada estrogen, fitoestrogen juga berikatan dengan reseptor estrogen α dan β . Urutan potensi estrogenic dari fitoestrogen diantara 2 subtype reseptor estrogen adalah sebagai berikut :

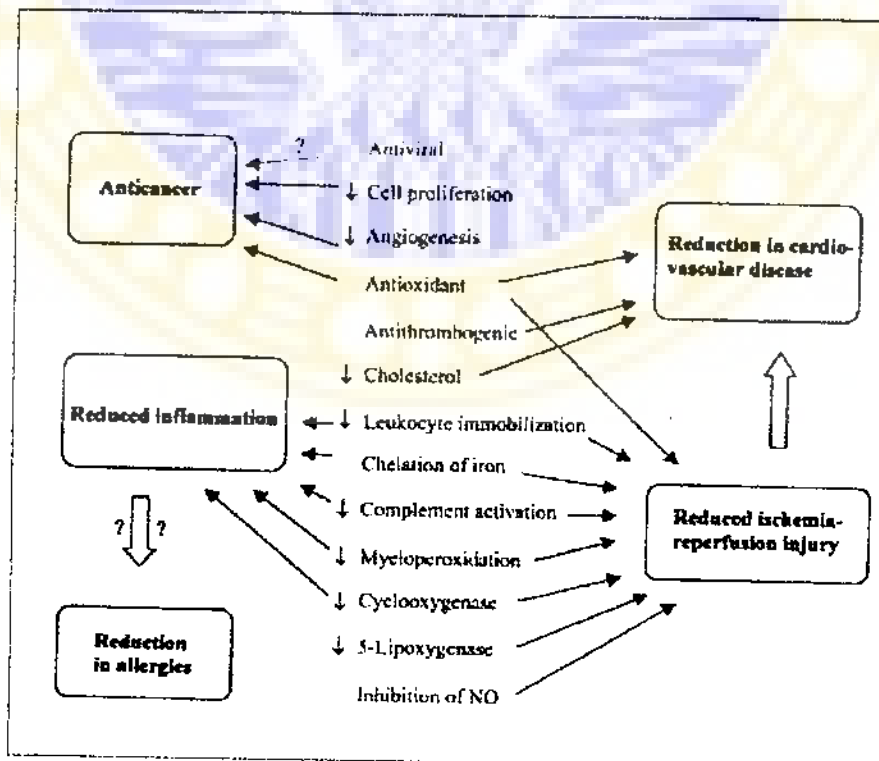
untuk reseptor estrogen α : 17β -estradiol \gg coumestrol > genistein > daidzein dan untuk reseptor β : 17β -estradiol \gg genestein = coumestrol > deidzein (Knifer et.al, 1998).

Mekanisme nyata efek hipokolesterolemia dari isoflavone kedelai tetap sukar dipahami dan hampir pasti multifaktorial (Setchell & Cassidy, 1999). Ganong (2001) menyatakan bahwa kedelai mengandung sterol yang mengurangi absorpsi kolesterol, mungkin melalui kompetisi dengan kolesterol untuk esterifikasi dengan asam lemak. Protein yang terdapat pada kedelai meningkatkan

sekresi dan sintesis asam empedu, dan diketahui ekskresi kolesterol melalui asam empedu yang tidak diabsorpsi kembali melalui sirkulasi enterohepatik dan keluar bersama feses yang merupakan satu dari mekanisme utama yang bertanggung jawab terhadap pengaturan homeostasis kolesterol (Duane, 1999). Namun peneliti lain menyatakan bahwa kedelai tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap ekskresi asam empedu (Greaves, 2000).

Isoflavon kedelai juga memiliki efek terhadap reseptor LDL. Isoflavon memberikan efek peningkatan aktivitas *up regulating* reseptor LDL (Kirk et.al, 1998). Hal ini seperti pada estrogen yang juga memiliki efek peningkatan aktivitas *up regulating* reseptor LDL (Laundeen, 1997). Peningkatan reseptor LDL tersebut akan meningkatkan bersihan (*clearence*) kolesterol LDL dari peredaran darah (Wilson et.al, 1998).

Isoflavon kedelai selain memiliki efek hipokolesterolemia, juga memiliki efek klinik lain seperti antiaterosklerosis, anti inflamasi, anti tumor, anti thrombogenik, anti osteoporosis dan anti virus (Nijveldt et.al, 2001) dengan hipotesa seperti pada gambar 2.16.

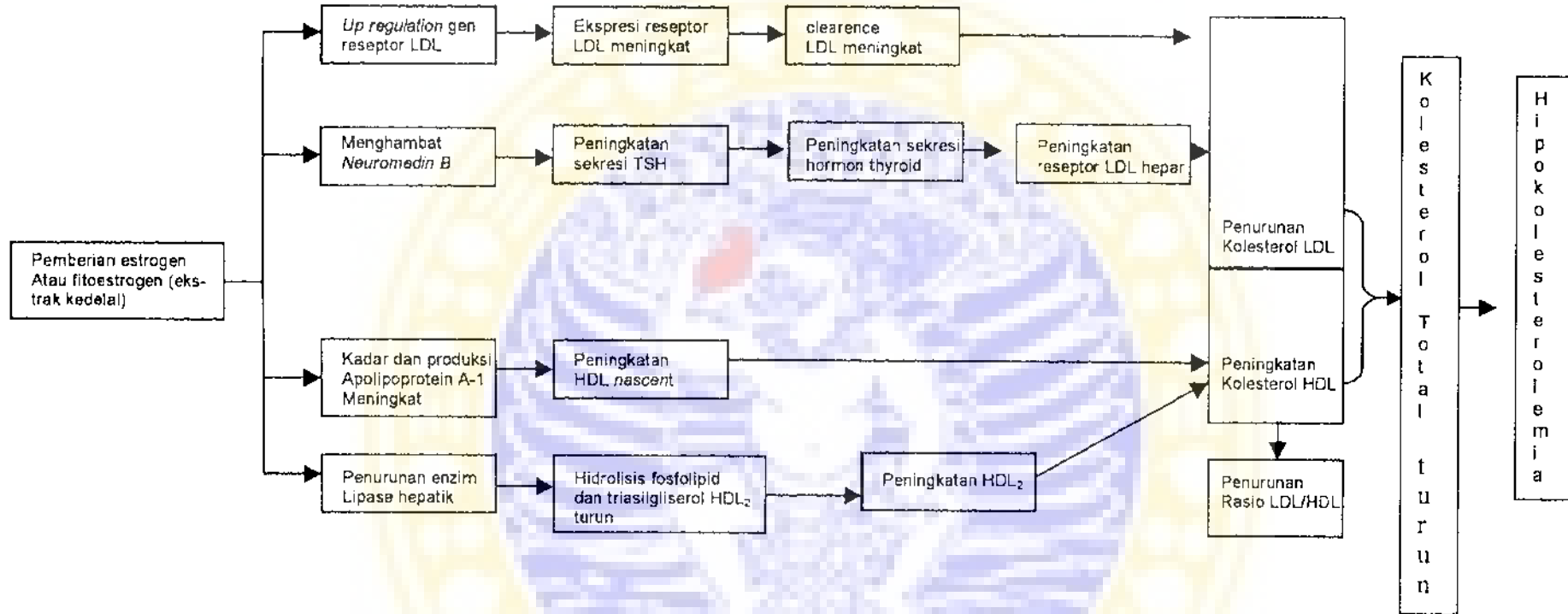


Gambar 2.16 : Hipotesis hubungan antara mekanisme kerja flavonoid dan efeknya terhadap penyakit (Nijveldt et.al, 2001).

BAB 3**KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN****3.1 Dasar Teori**

1. Sekresi hormon estrogen menurun pada wanita *postmenopause*.
2. Wanita *postmenopause* mengalami peningkatan kolesterol total, peningkatan kolesterol LDL, penurunan reseptor LDL dan penurunan kolesterol HDL.
3. Pemberian estrogen pada wanita *postmenopause* dapat menurunkan kolesterol total, kolesterol LDL dan meningkatkan kolesterol HDL
4. Estrogen meningkatkan (*up regulation*) reseptor LDL hepar sehingga terjadi peningkatan ekspresi reseptor LDL hepar akhirnya akan meningkatkan bersihan (*clearance*) LDL.
5. Estrogen dapat meningkatkan kadar dan produksi apolipoprotein A-1 yang berkontribusi terhadap peningkatan HDL *nascent* dan dalam perjalanannya akan berubah menjadi HDL.
6. Estrogen menurunkan enzim lipase hepatic sehingga menurunkan hidrolisis fosfolipid dan triasilgliserol HDL yang akhirnya akan terjadi peningkatan HDL.
7. Estrogen dapat meningkatkan sekresi TSH yang akhirnya diikuti peningkatan sekresi hormon thyroid, dan peningkatan hormon thyroid menyebabkan peningkatan reseptor LDL hepar sehingga menurunkan LDL.
8. Ekstrak kedelai sebagai sumber fitoestrogen mengandung isoflavone yang memiliki fungsi dan struktur mirip estrogen (bersifat estrogenik)
9. Ekstrak kedelai dapat menurunkan kolesterol total, kolesterol LDL dan meningkatkan kolesterol HDL

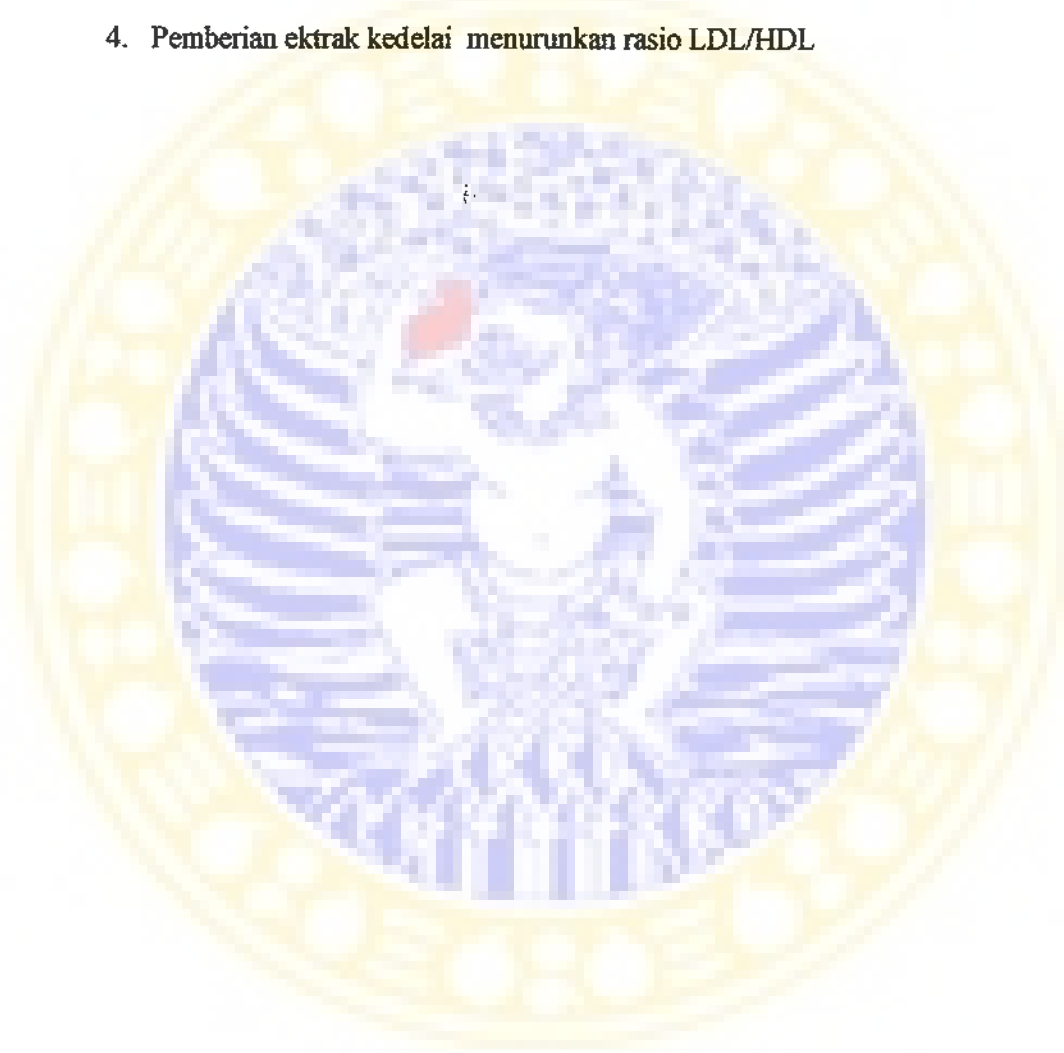
3.2 Kerangka Konseptual



3.3 Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka dan kerangka konseptual yang telah diuraikan sebelumnya, maka diajukan rumusan hipotesis sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak kedelai meningkatkan kadar kolesterol HDL
2. Pemberian ekstrak kedelai menurunkan kadar kolesterol LDL
3. Pemberian ekstrak kedelai menurunkan kolesterol total darah
4. Pemberian ekstrak kedelai menurunkan rasio LDL/HDL

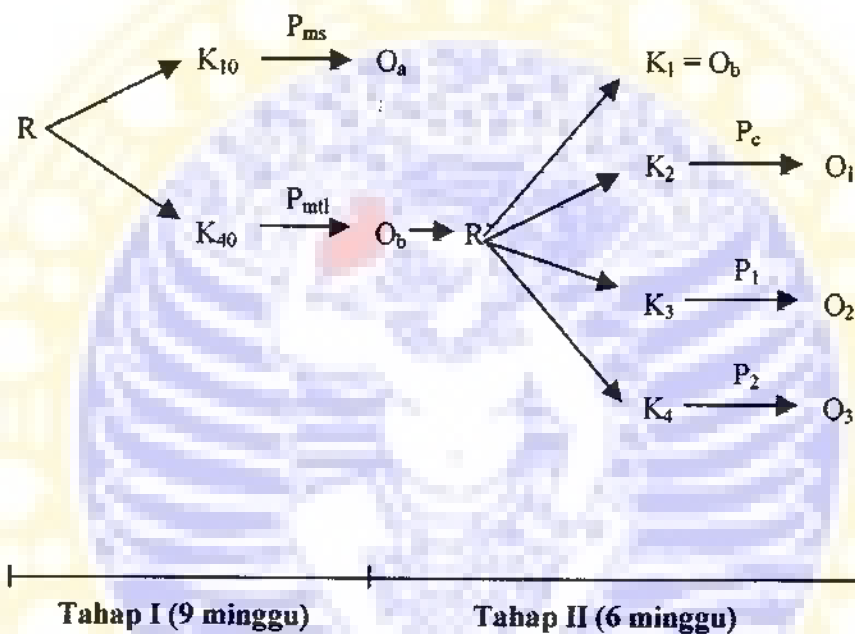


BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini tergolong jenis penelitian **eksperimental laboratoris** dengan menggunakan **rancangan acak lengkap**, secara skematis rancangan penelitian tersebut dapat digambarkan sebagai berikut :



Keterangan :

- R : Randomisasi dari 50 subjek penelitian
- K₁₀ : Kelompok standar sejumlah 10 subjek penelitian
- K₄₀ : Kelompok hiperkolesterolemia dengan jumlah 40 subjek penelitian
- P_{ms} : Perlakuan dengan memberikan makanan standar
- P_{mtl} : Perlakuan dengan memberikan makanan tinggi lemak
- R' : Randomisasi dari 30 subjek penelitian yang berasal dari K₄₀ yang telah mengalami hiperkolesterolemia

- K₁ : Kelompok kontrol *pretest* (data diambil dari O_b)
- K₂ : Kelompok kontrol *posttest*
- K₃ : Kelompok perlakuan ekstrak kedelai varietas Wilis
- K₄ : Kelompok perlakuan estrogen konjugat
- P_c : Pemberian larutan CMC Na⁺ 0,5% 2 ml/200 gram BB/hari sebagai kontrol
- P₁ : Perlakuan pemberian ekstrak kedelai varietas Wilis 2,60 mg/200 gram BB /hari
- P₂ : Perlakuan pemberian estrogen konjugat 0,011 mg/200 gram BB /hari
- O_a : Data observasi untuk kelompok K₁₀
- O_b : Data observasi untuk kelompok kontrol *pretest*
- O₁ : Data observasi kelompok kontrol *posttest*
- O₂ : Data observasi *posttest* kelompok K₃ (Kelompok perlakuan ekstrak kedelai varietas Wilis)
- O₃ : Data observasi *posttest* kelompok K₄ (Kelompok perlakuan estrogen konjugat)

Penelitian dilakukan dalam 2 tahap. Tahap I bertujuan untuk membuat hiperkolesterolemia pada subjek penelitian, dengan memberikan makanan standar pada kelompok K₁₀ dan makanan tinggi lemak standar ITB (seperti pada lampiran 2) pada kelompok K₄₀ selama 9 minggu (Rahmi FL, 1993; Widodo, 1994). Setelah 9 minggu 10 ekor tikus diambil secara random dari K₄₀ (Kelompok hiperkolesterolemia) untuk diambil darahnya guna pemeriksaan LDL, HDL, Kolesterol total dan dikorbankan, serta dibandingkan dengan kelompok K₁₀ (kelompok standar) yang diambil darahnya untuk pemeriksaan kadar LDL, HDL, kolesterol total dan dikorbankan guna mengetahui terjadinya hiperkolesterolemia.

Setelah tikus mengalami hiperkolesterolemia, maka 30 ekor tikus dibagi dalam 3 kelompok secara random untuk penelitian pada tahap II. Untuk K_1 sebagai kelompok *pretest* datanya diambilkan dari O_b . Pada tahap II perlakuan dilakukan dalam waktu 6 minggu (Koh et.al, 1999) dan pada tahap II semua kelompok tikus diberikan makanan tinggi lemak.

4.2 Populasi, Sampel, Tehnik Pengambilan sampel dan Besar sampel

Populasi sampel penelitian adalah tikus putih yang berasal dari UPHP (Unit Penangkaran Hewan Penelitian) Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Tikus yang dipilih memenuhi persyaratan sebagai berikut :

1. *Rattus norvegicus* strain Wistar
2. Umur 1,5 – 2 bulan
3. Berat badan sekitar 115 – 200 gram
4. Jenis kelamin jantan
5. Sehat ditandai dengan gerakan yang aktif

Besar sampel yang digunakan minimal 8 ekor tikus untuk setiap kelompok perlakuan berdasar rumus Lameschow S et.al (1990) sebagai berikut :

$$(t - 1)(r - 1) \geq 20$$

$$(4 - 1)(r - 1) \geq 20$$

$$r \geq 7,7$$

Keterangan :

r : replikasi

t : Jumlah kelompok

Kemungkinan hewan coba mati adalah $f = 3\%$, sehingga :

$$1/1-f \times 7,7 = 7,94$$

Jadi besar sampel minimal = 7,94 dibulatkan menjadi : 8 ekor

Karena penelitian ini dilakukan dengan perlakuan yang cukup lama yaitu 9 minggu untuk membuat hiperkolesterolemia (Rahmi FL, 1993; Widodo, 1994) dan 6 minggu untuk perlakuan (Koh et.al, 1999) dengan total waktu 15 minggu, untuk menjaga kemungkinan adanya *drop out*, maka jumlah replikasi ditambah menjadi minimal 10 ekor per kelompok perlakuan.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi Variabel

- a. Variabel bebas (independen)
Pemberian ekstrak kedelai (*Glycine max*) varietas Wilis atau *Natural conjugated estrogen* (Esthero[®])
- b. Variabel tergantung (dependen) :
 1. Kolesterol HDL
 2. Kolesterol LDL
 3. Kolesterol total
 4. Rasio LDL/HDL
- c. Variabel Kendali :
 1. Jenis hewan coba
 2. Jenis kelamin hewan coba
 3. Kesehatan fisik hewan coba
 4. Waktu perlakuan
 5. Pemeliharaan dan perawatan hewan coba
 6. Berat badan
 7. Umur hewan coba

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

1. Ekstrak kedelai (*Glycine max*) varietas Wilis; pemberian ekstrak kedelai varietas Wilis pada hewan coba, kelompok 3 (K₃) dengan dosis 2,60 mg /2 ml larutan CMC Na⁺ 0,5%/200 g BB tikus/hari; diberikan melalui sonde, selama 6 minggu. Dosis tersebut berdasar pada penelitian Demlov, et.al. (2000). Perhitungan dosis berdasar hasil konvensi Laurence dan Bacharach (1964) *cit* Sari (2001), tabel seperti lampiran 3, hasil perhitungan seperti pada lampiran 4.
2. *Natural conjugated estrogen* (Esthero[®]) adalah pemberian estrogen konjugat kepada hewan coba kelompok 4 (K₄) dengan *natural conjugated estrogen* (Esthero[®]), melalui sonde selama 6 minggu, dengan dosis 0,011 mg/2 ml larutan CMC Na⁺ 0,5%/200 g BB tikus/hari. Dosis tersebut berdasar dosis pada manusia yaitu 0,625 mg/hari (Taylor, 2003; Koh, et.al, 1999) Perhitungan dosis berdasar hasil konvensi Laurence dan Bacharach (1964) *cit* Sari (2001), hasil perhitungan seperti pada lampiran 4. Volume larutan obat yang diberikan untuk setiap hewan coba per perlakuan adalah 2 ml, sesuai dengan aturan larutan obat menurut Ritchel (1974) *cit*. Sari (2001), seperti pada lampiran 5. Cara membuat larutan obat terlampir pada lampiran 6.
3. Kolesterol HDL adalah kadar lipoprotein yang mengangkut kolesterol dalam darah dengan densitas lebih dari 1,063 g/cm³ dan kurang dari 1,21 g/cm³ (Striyer,2000) ditentukan dengan metode enzimatik menggunakan alat spektrofotometer dengan satuan mg/dl.
4. Kolesterol LDL adalah kadar lipoprotein pengangkut kolesterol utama dalam darah dengan densitas lebih dari 1,019 g/cm³ dan kurang dari 1,063

g/cm^3 (Striyer,2000) ditentukan dengan metode enzimatik menggunakan alat spektrofotometer dengan satuan mg/dl.

5. Kolesterol total adalah penjumlahan semua lipoprotein darah meliputi kilomikron, VLDL, LDL dan HDL (Baron, 1995) ditentukan dengan metode CHOD-PAP menggunakan alat spektrofotometer dengan satuan mg/dl.
6. Rasio LDL/HDL adalah perbandingan kadar LDL dengan kadar HDL
7. Jenis hewan coba adalah *Rattus norvegicus* strain Wistar berasal dari UPHP (Unit Penangkaran Hewan Penelitian) Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
8. Jenis kelamin hewan coba adalah *Rattus norvegicus* strain Wistar jantan.
9. Kesehatan fisik hewan coba ditandai dengan gerakan aktif hewan coba, bulu tidak kusam, berat badan tidak turun lebih dari 10 % atau naik 10 % selama aklimatisasi dan berespon terhadap rangsangan di sekeliling.
10. Pemeliharaan dan perawatan hewan coba di sebuah kandang ukuran 30 X 40 cm dan setiap kandang diisi 5 ekor hewan coba dengan pemberian makan standar untuk kelompok K_{10} dan makanan tinggi lemak untuk kelompok K_{40} pada penelitian tahap I dan diberikan makanan tinggi lemak standar ITB selama perlakuan dan semua kelompok untuk penelitian tahap II seperti pada lampiran 2 dan minuman aqua.
11. Berat badan hewan coba adalah berat badan hewan coba yang ditimbang dengan timbangan Torbal (*Torsion balance*) dalam satuan gram dengan ketelitian 1 angka di belakang koma.
12. Umur hewan coba adalah 1,5 – 2 bulan

13. Tikus hiperkolesterolemia adalah tikus yang dibuat hiperkolesterolemia dengan diberikan makanan tinggi lemak formula ITB (seperti pada lampiran 2) selama 9 minggu (Rahmi FL, 1993; Widodo, 1994) dan penentuan hiperkolesterolemia dengan membandingkan dengan kelompok kontrol.

4.4 Bahan dan Instrumen Penelitian

4.4.1 Bahan Penelitian

1. Hewan Coba

Hewan coba adalah *Rattus norvegicus* strain Wistar, jenis kelamin jantan, umur 1,5 – 2 bulan dengan berat badan 115 – 200 gram.

2. Bahan untuk Perlakuan

- a. Kedelai (*Glycine max*) varietas Wilis kering diekstraksi dengan cara Ekstraksi Maserasi, menggunakan pelarut Alkohol 96 % dengan cara : Kedelai digiling hingga lembut kemudian direndam dengan pelarut alkohol 96 % selama 24 jam dan disaring dan diulangi sampai 7 kali hingga diperoleh ekstrak kedelai encer. Ekstrak kedelai encer tersebut dipekatkan dengan alat *Rotary Evaporator* melalui penurunan tekanan pada suhu 40 – 45°C sehingga diperoleh ekstrak kedelai (List, 1989 cit. Sari, 2001). Pembuatan ekstrak kedelai dikerjakan di Laboratorium Farmasi Fakultas Farmasi Unair Surabaya. Bahan kedelai varietas Wilis didapatkan dari Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi) Malang, diharapkan kedelai tersebut merupakan satu varietas yang tidak tercampur dengan varietas lain. Alasan

penggunaan varietas Wilis karena varietas tersebut banyak di tanam di Indonesia.

- b. Preparat tablet Esthero[®] 0,625 mg, dengan kandungan *natural conjugated estrogen*.

3. Bahan untuk Pemeriksaan

- a. Ether anaestheticus untuk pembiusan
- b. Kapas
- c. Kertas label

4.4.2 Instrumen untuk Penelitian

1. Kandang ukuran 30 X 40 cm
2. Spektrofotometer
3. Kit untuk pemeriksaan kolesterol LDL, kolesterol HDL dan Kolesterol total.
4. Timbangan Torbal (*Torsion balance*)
5. Timbangan analitik Librar-Shimadzu
6. Spuit 5 ml untuk mengambil darah
7. Stoples untuk pembiusan
8. Gunting dan pisau bedah

4.5 Prosedur Penelitian

1. Aklimatisasi

Aklimatisasi hewan coba selama 1 minggu dalam kondisi laboratorium dan hewan coba yang mengalami perubahan berat badan $\pm 10\%$ dari berat badan awal aklimatisasi dikeluarkan dari penelitian.

2. Pembagian kelompok hewan coba

- a. Membuat hewan coba menjadi hiperkolesterolemia (penelitian tahap I)
Dilakukan randomisasi 50 ekor tikus, dibagi menjadi 2 kelompok dengan kelompok K_{10} sebanyak 10 ekor tikus yang diberikan makanan standar Formula ITB dan kelompok K_{40} terdiri dari 40 ekor tikus yang diberikan makanan tinggi lemak formula ITB selama 9 minggu. K_{10} diambil darahnya dan dikorbankan guna pemeriksaan kolesterol LDL, kolesterol HDL dan total kolesterol. Kelompok K_{40} diambil 10 ekor tikus secara random dan diambil darah dan dikorbankan guna pemeriksaan kolesterol LDL, kolesterol HDL dan total kolesterol. Hasil pemeriksaan dibandingkan dengan K_{10} guna menentukan terjadinya hiperkolesterolemia.
- b. Hewan coba hiperkolesterolemia untuk perlakuan (tahap II)
Sebanyak 30 ekor tikus yang sudah mengalami hiperkolesterolemia dilakukan randomisasi menjadi 3 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor tikus.
Kelompok 1 : kelompok kontrol *pretest* : tikus kelompok ini diambil datanya dari O_b sebagai data kontrol *pretest*.
Kelompok 2 : kelompok kontrol *posttest* : tikus diberi perlakuan dengan sonde larutan CMC Na^+ 0,5 % sebanyak 2 ml/200 g BB tikus/hari
Kelompok 3 : kelompok diberi perlakuan dengan sonde ekstrak kedelai varietas Wilis 2,60 mg/2 ml dalam larutan CMC Na^+ 0.5% / 200 g BB tikus/hari

Kelompok 4 : kelompok diberi perlakuan dengan sonde estrogen konjugasi 0,011 mg/2 ml dalam larutan CMC Na⁺ 0.5% / 200 g BB tikus/hari.

3. Penimbangan berat badan sebelum dan selama perlakuan tahap II

Penimbangan dilakukan pada pagi hari sebelum perlakuan yang pertama kali dan setiap 2 minggu sekali selama perlakuan tahap II untuk penyesuaian dosis perlakuan dengan menggunakan timbangan Torbal (*Torsion Balance*) dalam satuan gram.

4. Pengambilan data *pretest* tahap II

Pengambilan data kadar kolesterol sebagai data *pretest* diambil dari O_b pada kelompok K₄₀.

5. Pelaksanaan Perlakuan tahap II

Pemberian larutan CMC Na⁺ 0,5% (plasebo), per sonde, 2 ml/200 g BB tikus/hari pada hewan coba kelompok 2 (Kelompok kontrol *posttest*)

Pemberian ekstrak kedelai (*Glycine max*) varietas Wilis, peroral/sonde, dosis 2,60 mg/2 ml larutan CMC Na⁺ 0,5%/200 g BB tikus/hari pada hewan coba kelompok 3 (Kelompok perlakuan ekstrak kedelai varietas Wilis).

Pemberian *natural conjugated estrogen* (Esthero[®]), per oral (sonde) dosis 0,011 mg/2 ml larutan CMC Na⁺ 0,5%/200 g BB tikus/hari pada hewan coba kelompok 4 (Kelompok perlakuan estrogen konjugat).

Perlakuan dilakukan setiap hari pada jam yang sama selama 6 minggu. Perhitungan dosis berdasarkan pada hasil Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai jenis Hewan dan Manusia dari Laurence dan

Bacharach (1964) *cit.* Sari (2001) seperti pada lampiran 3. Setiap dua minggu dilakukan penimbangan berat badan untuk menyesuaikan besar dosis berdasarkan berat badan.

Selama perlakuan pada tahap II ini semua kelompok tikus diberikan makanan tinggi lemak formula ITB.

6. Penimbangan berat badan akhir perlakuan tahap II

Pada akhir perlakuan juga dilakukan penimbangan berat badan hewan coba dengan menggunakan timbangan Torbal untuk observasi akhir penelitian.

7. Pengambilan sampel darah

Pengambilan sampel darah berasal dari jantung tikus. Sebelumnya tikus dipuasakan sejak malam hari (puasa 8 jam) minum tetap diberikan dan pagi hari dilakukan penimbangan terakhir. Setelah ditimbang tikus dilakukan pembiusan dengan ether di dalam stoples pembiusan. Kurang lebih 2 menit tikus tidak bergerak yang ditandai mata meredup dan badan tidak bergerak. Selanjutnya kulit perut diinsisi dengan pisau bedah dan setelah terlihat jantungnya maka dengan spuit 5 ml darah diambil dari jantung sebanyak 3 ml.

Setelah darah diambil tikus dikorbankan dengan pembiusan dalam sampai tikus mati.

8. Pengukuran kolesterol HDL

Kadar kolesterol HDL diukur dengan metode CHOD-PAP, dimana prinsipnya dengan pemberian *phosphotungstic acid* dan ion magnesium ke dalam sampel, maka khilomikron, VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) dan LDL mengendap (prisipitasi). Setelah sentrifugasi dalam supernatan,

hanya terdapat HDL, dimana kolesterolnya ditentukan dengan metode enzimatik. Pengukuran dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya.

9. Pengukuran kolesterol LDL

Kolesterol LDL diukur dengan metode **Presipitasi polyvinyl sulphate** dengan prinsip test : LDL diendapkan dengan penambahan polyvinyl sulphate pada sampel. Konsentrasi LDL dikalkulasikan dari pengurangan antara kolesterol total dalam serum dengan kolesterol dalam supernatan setelah sentrifugasi. Pengukuran dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya.

10. Pengukuran kolesterol total

Untuk menentukan kadar kolesterol total dalam darah memakai metode CHOD-PAP. Kolesterol ester dihidrolisis oleh enzim kolesterol esterase menjadi kolesterol bebas dan asam lemak. Selanjutnya kolesterol dioksidasi oleh enzim kolesterol oksidase, menghasilkan Δ^4 cholestenon dan H_2O_2 . H_2O_2 ini akan bereaksi dengan 4-aminophenazone dan phenol dalam suatu reaksi yang dikatalisis oleh peroksidase, menghasilkan 4-(p-benzoquinone-monoimino)-phenazone yang mempunyai warna dan H_2O . Pengukuran dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya.

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Pebruari 2003 sampai dengan Desember 2003. Perlakuan dilaksanakan dalam waktu 9 minggu untuk tahap I guna membuat hewan coba menjadi hiperkolesterolemia mulai tanggal 10 Juni s.d. 12 Agustus 2003 dan 6 minggu pada tahap II untuk perlakuan mulai tanggal 15 Agustus 2003 s.d. 24 September 2003.

4.7 Analisis Data

1. Analisis Data untuk penentuan hiperkolesterolemia dengan :

- a. Uji statistik deskriptif
- b. Uji normalitas distribusi
- c. Uji T-Test dua sampel bebas satu ekor.

Dilakukan uji beda rata-rata kelompok standar dan kelompok hiperkolesterolemia.

2. Analisis data untuk perlakuan

- a. Uji statistik deskriptif
- b. Uji normalitas distribusi

Dilakukan pada kelompok pretest dan kelompok kontrol posttest.

c. Uji homogenitas

Dilakukan pada kelompok kontrol posttest (O1), kelompok ekstrak kedelai (O2) dan kelompok estrogen konjugat (O3).

d. Uji Anova

Dilakukan uji beda respon pada masing-masing variabel.

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Data Hasil Penelitian Tahap I

Penelitian tahap I bertujuan untuk menentukan keadaan hiperkolesterolemia, pada binatang percobaan dengan diberikan makanan standart dan makanan tinggi lemak yang dilaksanakan selama 9 minggu dengan hasil sebagai berikut :

5.1.1 Hasil Analisis Deskriptif Penelitian Tahap I

Hasil analisis deskriptif untuk berat badan awal dan berat badan akhir serta kadar kolesterol, HDL, LDL, dan rasio LDL : HDL seperti tabel 5.1 di bawah ini :

Tabel 5.1 Nilai rerata dan simpang baku berat badan awal, berat badan akhir dan variabel tergantung pada tiap kelompok

Kelompok		BB Awal (gram)	BB Akhir (gram)	Kolest. (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	Rasio LDL/HDL
Standar (O _a) N : 9	Rerata	100,11	187,56	75,89	46,67	21,67	0,4645
	Simpang baku	8,84	14,96	14,21	7,28	6,93	0,1229
Hiperkolesterol (O _b) N : 9	Rerata	115,22	195,33	86,11	51,33	24,67	0,4881
	Simpang baku	5,85	14,57	5,01	6,52	2,87	0,0862

Hasil analisis deskriptif penelitian tahap I selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 12.

5.1.2 Uji Normalitas Kelompok Standar dan Hiperkolesterolemia

Hasil uji normalitas *Kosmogorov-Smirnov satu sampel* dilakukan untuk berat badan awal dan berat badan akhir serta kadar kolesterol, HDL, LDL dan Rasio LDL/HDL pada kelompok standar dan kelompok hiperkolesterolemia.

Besar signifikansi (probabilitas = p) hasil uji normalitas berat badan awal, berat badan akhir serta variabel tergantung pada kelompok standar dan kelompok hiperkolesterolemia adalah $p > 0,05$, sehingga data tersebut berdistribusi normal. Hasil uji normalitas penelitian tahap I selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 13.

5.1.3 Hasil Uji Beda Variabel Tergantung pada Kelompok Standar (O_a) dan Hiperkolesterolemia (O_b)

Uji beda antar variabel dependen kelompok standar (O_a) dan hiperkolesterolemia (O_b) dengan menggunakan *T-Test* dua sampel bebas satu ekor seperti tabel 5.2 berikut :

Tabel 5.2 Hasil uji beda antar variabel tergantung pada kelompok standar (O_a) dan kelompok hiperkolesterolemia (O_b)

Variabel Dependen	Kelompok		Sig. (p)
	Standar (O_a) N : 9	Hiperkolesterol (O_b) N : 9	
Kolesterol (mg/dl)	75,89 ± 14,21	86,11 ± 5,01	0,035
HDL (mg/dl)	46,67 ± 7,28	51,33 ± 6,52	0,086
LDL (mg/dl)	21,67 ± 6,93	24,67 ± 2,87	0,124
Rasio LDL/HDL	0,4645 ± 0,1229	0,4881 ± 0,0862	0,322

Hasil uji beda dengan T-test dua sampel bebas satu ekor penelitian tahap I selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 14.

Dari tabel tersebut di atas tampak bahwa kadar kolesterol kelompok standar (O_a) berbeda secara bermakna dengan kelompok hiperkolesterolemia (O_b) ($p < 0,05$), dengan rata-rata kadar kolesterol kelompok hiperkolesterolemia lebih besar 10,22 mg/dl (13,47 %) demikian juga untuk kadar HDL, LDL dan rasio LDL/HDL tidak berbeda secara bermakna atau sama pada kelompok standar dan kelompok hiperkolesterolemia ($p > 0,05$).

5.2 Data Hasil Penelitian Tahap II

Penelitian tahap II bertujuan untuk mengetahui pengaruh variabel bebas yaitu ekstrak kedelai varitas Wilis dan estrogen konjugat terhadap variabel tergantung yaitu kadar kolesterol, HDL, LDL dan rasio LDL/HDL pada keadaan hiperkolesterolemia yang sudah ditentukan pada tahap I.

5.2.1 Hasil Analisis Deskriptif Penelitian Tahap II

Hasil analisis deskriptif untuk berat badan awal dan berat badan akhir serta kadar kolesterol, HDL, LDL, dan rasio LDL/HDL seperti tabel 5.3 di bawah ini :

Tabel 5.3 Nilai rerata dan simpang baku berat badan awal, berat badan akhir dan variabel tergantung pada tiap kelompok

Kelompok		BB Awal (gram)	BB Akhir (gram)	Kolest. (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	Rasio LDL/HDL
Kontrol <i>Pretest</i> (O ₀) N : 9	Rerata	115,22	195,33	86,11	51,33	24,67	0,4881
	Simpang baku	5,85	14,57	5,01	6,52	2,87	0,0862
Kontrol <i>Posttest</i> (O ₁) N : 10	Rerata	239,80	245,40	83,10	49,90	20,00	0,4101
	Simpang baku	16,84	21,33	3,84	7,50	2,93	0,0981
Ekstrak Kedelai (O ₂) N : 10	Rerata	218,00	215,40	70,00	48,00	16,00	0,3416
	Simpang baku	11,96	17,70	7,69	6,29	3,40	0,0975
Estrogen konjugat (O ₃) N : 10	Rerata	235,80	243,30	73,10	49,40	16,80	0,3476
	Simpang baku	25,64	21,79	9,83	7,99	3,16	0,0854

Hasil analisis deskriptif penelitian tahap II selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 12.

5.2.2 Efek Maturasi

Nilai maturasi pada masing-masing variabel didapatkan dari selisih rerata kelompok kontrol *pretest* (O₀) dengan kelompok kontrol *posttest* (O₁). Dari hasil analisis efek maturasi didapatkan tidak terdapat perubahan pertumbuhan

(maturasi) ($p > 0,05$) pada variabel kolesterol HDL, kolesterol total, LDL dan rasio LDL/HDL Hasil selengkapnya lihat pada lampiran 15.

5.2.3 Uji Normalitas Kelompok Kontrol *Posttest* (O_1) , Ekstrak Kedelai (O_2) dan Estrogen konjugat (O_3)

Uji normalitas *Kosmogorov-Smirnov satu sampel* dilakukan untuk berat badan awal dan berat badan akhir serta kadar kolesterol, HDL, LDL dan Rasio LDL/HDL pada kelompok kontrol *posttest*, ekstrak kedelai, dan estrogen konjugat.

Signifikansi untuk semua data tersebut adalah $p > 0,05$ sehingga berat badan awal sebelum diberikan perlakuan dan berat badan akhir setelah perlakuan berdistribusi normal ($p > 0,05$) demikian juga untuk variabel tergantung kelompok kontrol *posttest*, kelompok ekstrak kedelai dan kelompok estrogen konjugat berdistribusi normal ($p > 0,05$). Hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 13.

5.2.4 Hasil Uji Homogenitas

Untuk mengetahui homogenitas data dilakukan uji *Laven's Test* pada variabel dependen kelompok kontrol *posttest*, kelompok ekstrak kedelai dan kelompok estrogen konjugat. Signifikansi (p) pada masing-masing data tersebut adalah $p > 0,05$ sehingga data-data tersebut homogen. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 16.

5.2.5 Hasil Analisis Varians

Untuk mengetahui variabel tergantung apa saja yang berbeda pada seluruh anggota kelompok yaitu kelompok kontrol *posttest* (O_1), ekstrak kedelai (O_2) dan estrogen konjugat (O_3), menggunakan uji statistik analisis varians (*Anova*).

Hasil uji Anova untuk seluruh kelompok terhadap variabel dependen seperti pada tabel 5.4 berikut :

Tabel 5.4 Hasil uji beda dengan anova variabel tergantung pada kelompok kontrol *posttest* (O_1), ekstrak kedelai (O_2) dan estrogen konjugat (O_3)

Variabel Tergantung	F_{hitung}	Sig.
Kolesterol total	8,251	0,002
HDL	0,182	0,834
LDL	4,421	0,022
Rasio LDL/HDL	1,636	0,214

Dari tabel 5.4 tersebut tampak bahwa kadar HDL dan rasio LDL/HDL tidak berbeda secara bermakna atau sama yaitu $p > 0,05$ antar kelompok kontrol *posttest* (O_1), ekstrak kedelai (O_2) dan estrogen konjugat (O_3). Sedangkan kadar kolesterol total, LDL adalah berbeda bermakna ($p < 0,05$) antar kelompok kontrol *posttest* (O_1), ekstrak kedelai (O_2) dan estrogen konjugat (O_3). Hasil selengkapnya lihat pada lampiran 16.

Untuk mengetahui antar kelompok mana yang berbeda, dilanjutkan dengan uji LSD dengan hasil seperti pada tabel 5.5 halaman berikut :

Tabel 5.5 Hasil uji beda dengan LSD pada variabel dependen

Variabel Dependen	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Rerata Perbedaan (I - J)	Standart Error	Sig.
Kolesterol	Kontrol <i>Post</i> (O_1) N : 10	Eks. Kedelai	13,10	3,37	0,001
		Estrogen Kon.	10,00	3,37	0,006
	Eks. Kedelai (O_2) N : 10	Estrogen Kon.	-3,10	3,37	0,366
HDL	Kontrol <i>Post</i> (O_1) N : 10	Eks. Kedelai	1,90	3,26	0,565
		Estrogen Kon.	0,50	3,26	0,879
	Eks. Kedelai (O_2) N : 10	Estrogen Kon.	-1,40	3,26	0,671

Lanjutan tabel 5.5 :

Variabel Dependen	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Rerata Perbedaan (I - J)	Standart Error	Sig.
LDL	Kontrol <i>Posttest</i> (O ₁) N : 10	Eks. Kedelai Estrogen Kon.	4,00 3,20	1,42 1,42	0,009 0,033
	Ekstrak Kedelai (O ₂) N : 10	Estrogen Kon.	-0,80	1,42	0,579
Rasio LDL/HDL	Kontrol <i>Posttest</i> (O ₁) N : 10	Eks. Kedelai Estrogen Kon.	0,07 0,06	0,04 0,04	0,114 0,148
	Ekstrak Kedelai (O ₂) N : 10	Estrogen Kon.	-0,06	0,04	0,887

Berdasar tabel 5.5 diatas, terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) untuk kadar kolesterol antara kelompok kontrol *posttest* dengan kelompok ekstrak kedelai ($p = 0,001$) dan berbeda sangat bermakna antara kelompok kontrol *posttest* dengan kelompok estrogen konjugat ($p = 0,006$). Kadar kolesterol kelompok ekstrak kedelai tidak berbeda secara bermakna atau sama dengan kelompok estrogen konjugat ($p = 0,366$).

Kadar HDL tidak ada perbedaan secara bermakna atau sama ($p > 0,05$) antar anggota kelompok pada seluruh kelompok.

Kadar LDL berbeda sangat bermakna ($p < 0,01$) antara kelompok kontrol *posttest* dengan kelompok ekstrak kedelai ($p = 0,009$) dan berbeda bermakna dengan kelompok estrogen konjugat ($p = 0,033$). Kadar LDL kelompok ekstrak kedelai tidak berbeda secara bermakna atau sama dengan kelompok estrogen konjugat ($p = 0,579$).

Rasio LDL/HDL tidak berbeda secara bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok kontrol *posttest* dengan kelompok ekstrak kedelai ($p = 0,114$) dan dengan kelompok estrogen konjugat ($p = 0,148$). Rasio LDL/HDL kelompok ekstrak kedelai tidak berbeda secara bermakna atau sama dengan kelompok estrogen konjugat ($p = 0,887$). Hasil selengkapnya Uji LSD dapat dilihat pada lampiran 16.

Tabel 5.6 Nilai rerata dan perbedaan antara kelompok kontrol *posttest* dengan kelompok ekstrak kedelai dan estrogen konjugat

Kelompok	Kolesterol (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	Rasio LDL/HDL
Kontrol <i>Posttest</i>	83,10 ^a	49,90 ^a	20,00 ^a	0,4102 ^a
Ekstrak Kedelai	70,00 ^b	48,00 ^a	16,00 ^b	0,3416 ^a
Estrogen Konjugat	73,10 ^b	49,40 ^a	16,80 ^b	0,3476 ^a

Keterangan : Pada kolom dengan notasi yang sama (a-a; b-b) berarti sama atau tidak ada perbedaan dan notasi yang berbeda berarti berbeda.

Berdasar tabel 5.6 di atas, bahwa rerata kolesterol kelompok kontrol *posttest* adalah 83,10 mg/dl; kelompok kedelai 70,00 mg/dl dan kelompok estrogen adalah 73,10 mg/dl. Kolesterol kelompok kontrol *posttest* berbeda dengan kelompok ekstrak kedelai dan berbeda dengan kelompok estrogen konjugat. Kolesterol kelompok ekstrak kedelai sama dengan kelompok estrogen Konjugat.

Rerata HDL kelompok kontrol *posttest* sama atau tidak berbeda dengan kelompok ekstrak kedelai dan kelompok estrogen konjugat.

Rerata LDL kelompok kontrol *posttest* berbeda dengan kelompok ekstrak kedelai, berbeda dengan kelompok estrogen konjugat. LDL kelompok ekstrak kedelai sama dengan kelompok estrogen konjugat.

Rerata rasio LDL/HDL adalah sama untuk masing-masing kelompok.

5.2.7 Respon Perubahan Akibat Perlakuan

Hasil Uji *Hotelling T* terhadap respon perubahan akibat perlakuan pada kelompok ekstrak kedelai (O_2) dan kelompok estrogen konjugat (O_3) seperti tabel 5.7 berikut :

Tabel 5.7 Respon perubahan variabel dependen pada kelompok ekstrak kedelai dan estrogen konjugat

Variabel (mg/dl)	Kelompok	n	Rerata	SD	F	Sig.
Kolesterol	Eks. Kedelai	10	-13,1000	7,6884	0,617	0,442
	Estrogen Kon.	10	-10,0000	9,8257		
HDL	Eks. Kedelai	10	-1,9000	6,2893	0,190	0,668
	Estrogen Kon.	10	-0,5000	7,9889		
LDL	Eks. Kedelai	10	-4,0000	3,3993	3,200	0,592
	Estrogen Kon.	10	-3,2000	3,1552		

Berdasar tabel 5.7 tersebut tampak tidak ada perbedaan pengaruh yang bermakna ($p > 0,05$) untuk variabel kolesterol , HDL dan LDL pada kelompok ekstrak kedelai dan estrogen konjugat. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 18.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Materi dan Metode Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak kedelai dapat menurunkan kadar kolesterol total, LDL dan rasio LDL/HDL darah serta peningkatan kadar HDL darah pada keadaan hiperkolesterolemia. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang memenuhi kriteria sebagai penelitian eksperimen murni (*true experiment*) yaitu adanya kriteria perlakuan, kelompok perlakuan, kelompok kontrol, replikasi dan randomisasi (Zainuddin, 1955).

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Acak Lengkap, karena penelitian dilakukan dengan membagi hewan coba yang sudah mengalami hiperkolesterolemia menjadi tiga kelompok dengan jumlah yang sama secara acak. Pengukuran kadar kolesterol, HDL, LDL dan rasio LDL/HDL dilakukan dengan mengambil darah dari jantung tikus putih (*Rattus Norvegicus*) jantan yang dapat menimbulkan kematian.

Seperti telah diutarakan pada kajian pustaka, kajian tentang pengaruh estrogen lebih sering dilakukan pada wanita premenopause maupun *postmenopause* (Brinton EA, 1996; Liu & Bachmann, 1998; Koh, 1999; Setchell & Cassidy, 1999; Demlow BEM, Duncan AM, Wangen KE, Xu X, Carr TP et.al, 2000; Taylor, 2002), serta untuk mendapatkan gambaran yang lebih nyata tentang pengaruh estrogen dan fitoestrogen yang dikandung kedelai terhadap kadar kolesterol, HDL, LDL dan rasio LDL/HDL maka pada penelitian ini digunakan tikus jantan.

Kelompok kontrol *posttest* diberikan larutan CMC Na 0,5 % (Kibbe AH, 2000), hal tersebut dilakukan untuk menghindari adanya pengaruh CMC Na, karena baik estrogen maupun kedelai dilarutkan dengan CMC Na 0,5 %. CMC Na digunakan karena CMC Na merupakan *emulsifying agent* sehingga baik ekstrak kedelai maupun estrogen dapat terlarut secara homogen dan tidak mengalami pengendapan sehingga tidak mempengaruhi dosis yang diberikan.

6.2 Hasil Penelitian Tahap I

6.2.1 Uji Normalitas

Uji normalitas bertujuan untuk mengetahui apakah distribusi sebuah data mengikuti atau mendekati distribusi normal, yakni distribusi data dengan bentuk lonceng (*bell shaped*) (Santoso S, 2002). Uji normalitas ini dilakukan pada kelompok standar maupun kelompok hiperkolesterolemia untuk variabel tergantung dan variabel moderator yaitu variabel kadar kolesterol, HDL, LDL dan rasio LDL/HDL, variabel berat badan awal sebelum mendapatkan perlakuan makanan standar dan makanan hiperkolesterolemia dan variabel berat badan akhir setelah perlakuan selesai. Pengukuran berat badan dimaksudkan untuk mengetahui perkembangan hewan coba dan karena adanya ketidakteraturan dalam mengkonsumsi jumlah makanan sehari-hari yang telah disediakan sehingga dapat mempengaruhi berat badan.

Uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* satu sampel. Hasil penghitungan menunjukkan bahwa variabel kadar kolesterol, HDL, LDL dan rasio LDL /HDL, variabel berat badan awal dan berat badan akhir baik untuk kelompok standar maupun kelompok hiperkolesterolemia berdistribusi normal ($p > 0,05$).

Hasil selengkapnya pada lampiran 13. Karena data memiliki distribusi normal analisis statistik dapat dilanjutkan.

6.2.2 Pengaruh Pemberian Makanan Standar dan Makanan Tinggi Lemak

Komposisi makanan standar dan makanan tinggi lemak adalah sama, hanya berbeda pada jumlah lemak babi yang diberikan. Untuk makanan standar ditambahkan lemak babi 0,2 kg tiap 10 kg makanan, dan makanan tinggi lemak ditambahkan lemak babi 2 kg tiap 10 kg makanan seperti pada lampiran 2.

Setelah diberikan makanan standar dan tinggi lemak pada tikus putih selama 9 minggu memberikan hasil sebagai berikut :

Rata-rata kadar kolesterol kelompok yang diberikan makanan standar adalah 75,89 mg/dl dan kelompok yang diberikan makanan tinggi lemak adalah 86,11 mg/dl. Terdapat perbedaan 10,22 mg/dl. Uji beda dengan *T-Test* dua sampel bebas satu ekor didapatkan kadar kolesterol kelompok standar dengan kelompok hiperkolesterolemia berbeda secara bermakna ($p = 0,035$). Dengan hasil tersebut peneliti mengasumsikan bahwa binatang coba yang diberikan makanan tinggi lemak telah mengalami hiperkolesterolemia.

Asumsi tersebut didasarkan pada rerata kadar kolesterol kelompok yang diberikan makanan tinggi lemak lebih tinggi dari pada kelompok yang diberikan makanan standar dan berbeda secara statistik serta kadar kolesterol normal tikus putih adalah 10 s.d 54 mg/dl (Smith JB dan Mangkoewidjojo S, 1988), dan didasarkan pada penelitian terdahulu dengan metode pemberian makanan yang sama, hanya waktu pemberian selama 4 minggu didapatkan rerata kadar kolesterol tikus putih pada kelompok yang diberikan makanan tinggi lemak adalah 78,20 mg/dl dan sudah dinyatakan hiperkolesterolemia (Tajjudin, 2003).

Hiperkolesterolemia pada binatang dapat dibuat dengan pemberian kolesterol pada dietnya. Pemberian kolesterol (1%), cholic acid (*fats and bile acids*) (1%) dan propyl thiouracil 0,01% pada tikus putih yang dilakukan Fillios et.al (1956) selama 28 hari didapatkan rerata kadar kolesterol adalah 1100 mg%. Penelitian yang dilakukan Hulf and Gilfillan (1960) dan Nakamura et.al. (1969) dengan menambahkan *saturated fatty acids* dan *saturated triglycerides* pada diet tikus putih dewasa selama 2 bulan rerata kadar kolesterolnya adalah 150 mg% (Turner RA & Hebborn P, 1971), sehingga untuk mendapatkan keadaan yang benar-benar hiperkolesterolemia pada binatang coba perlu diberikan kolesterol murni.

Kelemahan dalam penelitian ini adalah binatang coba diberikan makanan tinggi lemak yang tidak diketahui berapa kadar kolesterol pada makanan tersebut, sehingga rerata nilai kolesterol hanya berbeda 10,22 mg/dl antara tikus yang dinyatakan hiperkolesterolemia dengan tikus sebagai standarnya. Untuk membuat hiperkolesterolemia sebaiknya diberikan penambahan kolesterol murni, asam empedu dan *prophyl tiurasil* (PTU) pada dietnya sehingga dapat diperoleh keadaan hiperkolesterolemia dengan nilai kolesterol yang benar-benar tinggi.

Rerata kadar LDL darah pada kelompok tikus yang diberikan makanan standar adalah 21,67 mg/dl dan kelompok yang diberikan makanan tinggi lemak adalah 24,67 mg/dl. Terjadi perbedaan dengan rerata 3 mg/dl, namun tidak memiliki perbedaan yang bermakna ($p = 0,124$). Rerata kadar HDL darah kelompok makanan standar adalah 46,67 mg/dl dan rerata kelompok makanan tinggi lemak (hiperkolesterolemia) 51,33 mg/dl, yang justru kadar HDL kelompok hiperkolesterolemia lebih tinggi dengan rerata 4,667 mg/dl, namun tidak berbeda

secara bermakna ($p = 0,086$). Kadar HDL pada kelompok hiperkolesterolemia memang mengalami kenaikan, tetapi rasio LDL/HDL kelompok standar lebih baik yaitu 0,4645 dibandingkan rasio LDL/HDL kelompok hiperkolesterolemia yaitu 0,4881 dan tidak berbeda secara bermakna ($p = 0,322$). Mc Namara (1990) dikutip dari Nurachmah E, 2001 menyatakan bahwa rasio LDL/HDL merupakan faktor risiko yang lebih penting dari pada kolesterol total dalam darah maupun LDL dan HDL secara terpisah. Semakin kecil rasio tersebut semakin baik dalam arti risiko untuk mengalami penyakit akibat kolesterol semakin kecil.

6.3 Hasil Penelitian Tahap II

6.3.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai dan Estrogen Konjugasi Terhadap kadar Kolesterol HDL

Uji statistik analisis varians antar kelompok (seperti tabel 5.4) terhadap kadar kolesterol HDL darah menunjukkan tidak berbeda secara bermakna ($p = 0,834$). Uji dengan LSD (seperti tabel 5.5) juga menunjukkan kelompok *posttest* tidak berbeda dengan kelompok ekstrak kedelai dan estrogen konjugat.

Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kedelai dan estrogen konjugat tidak berpengaruh terhadap peningkatan kolesterol HDL.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Duanne WC tahun 1999 bahwa pemberian protein kedelai selama 6 – 7 minggu tidak mempengaruhi kolesterol HDL dan trigliserida darah. Penelitian meta analisis efek asupan protein kedelai terhadap lipid darah oleh Anderson JW et.al tahun 1995 juga menunjukkan tidak ada pengaruh yang signifikan terhadap kolesterol HDL, hanya terdapat peningkatan 2,4 %.

6.3.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai dan Estrogen Konjugasi Terhadap Kadar Kolesterol LDL

Dari hasil uji satatistik univariat terhadap kadar kolesterol LDL (tabel 5.4) terdapat perbedaan sangat bermakna antar kelompok, kontrol *posttest*, kelompok ekstrak kedelai dan estrogen konjugasi dengan $p = 0,022$. Hasil uji LSD ternyata kelompok kontrol *posttest* berbeda sangat bermakna dengan kelompok ekstrak kedelai dengan $p = 0,009$. Perbedaan tersebut akibat rata-rata kadar kolesterol LDL kelompok ekstrak kedelai lebih rendah 4 mg/dl dengan kelompok kontrol *posttest*.

Ekstrak kedelai dan estrogen konjugat berpengaruh terhadap kadar kolesterol LDL, dan antara kelompok ekstrak kedelai dan estrogen konjugat tidak ada perbedaan pengaruh yang bermakna dengan $p = 0,579$ (seperti tabel 5.5) dan perubahan akibat perlakuan pada kelompok ekstrak kedelai dan estrogen konjugat adalah sama atau tidak berbeda secara bermakna seperti pada tabel 5.7 dengan $p = 0,592$. Ini menunjukkan dosis ekstrak kedelai 2,60 mg/200 gr BB tikus/hari memberikan efek yang sama terhadap penurunan kadar LDL dengan estrogen konjugat dengan dosis 0,011 mg/200 gr BB tikus/hari.

Hal ini sesuai dengan penelitian Greaves KA et.al., 1999 bahwa protein kedelai menurunkan kadar kolesterol LDL dan VLDL serta menurunkan absorpsi kolesterol. Penelitian Koh KK, et.al., 1999 juga menyatakan bahwa estrogen dapat menurunkan kolesterol LDL pada wanita *postmenopause* yang mengalami hiperkolesterolemia.

Peran estrogen dalam menurunkan kolesterol LDL adalah dengan meningkatkan bersihan LDL (*LDL clearance*) dari sirkulasi sehingga menurunkan kolesterol LDL plasma. Peningkatan bersihan LDL akibat dari peningkatan ekspresi reseptor LDL di hepar (Wilson et.al, 1998). Penelitian yang dilakukan Kovanen, Brown, Goldstein (1979) telah menunjukkan bahwa pemberian estrogen mengindikasikan terjadinya *up regulation* reseptor LDL hepar yang bertanggung jawab terhadap penurunan lipid darah (Laundeen, 1997).

Setelah terikat dengan reseptor, LDL diambil dalam keadaan utuh melalui endositosis. Kemudian LDL dipecah dalam lisosom, yang meliputi hidrolisis apoprotein dan ester kolesterol yang diikuti oleh translokasi kolesterol ke dalam sel. Reseptor tersebut tidak dihancurkan tetapi kembali ke permukaan sel. Aliran masuk kolesterol ini menghambat kerja HMG-KoA reduktase serta sintesis kolesterol, dan merangsang aktivitas ACAT (asil-KoA :kolesterol asiltransferase).

Akhirnya kolesterol yang memasuki hati sebagian akan diekskresikan ke dalam empedu sebagai kolesterol atau asam empedu. Sekitar 1 gram kolesterol dikeluarkan dari tubuh setiap harinya. Separuhnya diekskresikan kedalam feses yang sebelumnya diubah menjadi asam empedu dan sisanya diekskresikan sebagai kolesterol (Murray et.al, 1997).

6.3.3 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai dan Estrogen Konjugasi Terhadap Kadar Kolesterol Total Darah

Uji Statistik analisis varians antar kelompok pada kadar kolesterol total (seperti tabel 5.4) menunjukkan adanya perbedaan yang sangat bermakna $p = 0,002$ ($p < 0,01$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak

kedelai dan estrogen konjugasi sangat berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol total darah.

Uji dilanjutkan dengan LSD (seperti tabel 5.5) untuk mengetahui kelompok apa saja yang berbeda. Hasilnya bahwa kadar kolesterol total kelompok kontrol *posttest* sangat berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak kedelai ($p = 0,001$) dan berbeda secara sangat bermakna dengan kelompok estrogen konjugat ($p = 0,006$). Hasil ini menunjukkan ekstrak kedelai dan estrogen konjugat berpengaruh terhadap penurunan kolesterol darah. Rerata kolesterol total darah kelompok ekstrak kedelai adalah lebih rendah 16,11 mg/dl dibandingkan kelompok kontrol *posttest* dan rerata kolesterol total darah kelompok estrogen konjugat adalah lebih rendah 13,01 mg/dl dibandingkan kelompok kontrol *posttest*. Kolesterol total darah kelompok ekstrak kedelai dan estrogen konjugat tidak berbeda secara bermakna ($p = 0,366$). Hasil ini menunjukkan pengaruh ekstrak kedelai dan estrogen konjugat terhadap kadar kolesterol darah adalah sama.

Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Koh, et.al., 1999 bahwa pemberian 0,625 mg/hari estrogen pada wanita *postmenopause* yang mengalami hiperkolesterolemia selama 6 minggu dapat menurunkan kadar kolesterol darah. Penelitian lain menyatakan bahwa estrogen dapat menurunkan kadar kolesterol darah tikus yang dilakukan ovariektomi sebesar 65,2 % dengan dosis 1 mg/kg berat badan (Liu & Bachman, 1998).

Penelitian Meta-Analisis pengaruh asupan protein kedelai terhadap lipid serum yang dilakukan Anderson J., et.al., (1995) rata-rata asupan protein kedelai 47 g/hari dapat menurunkan kadar kolesterol darah sebesar 23,2 mg/dl, sedangkan

penelitian yang dilakukan peneliti terjadi penurunan kolesterol rata-rata 16,11 mg/dl. Hal ini disebabkan bahwa respon klinik efek kedelai pada lipid darah tergantung pada kadar kolesterol darah awal (Setchell K and Cassidy A, 1999).

Estrogen dapat meningkatkan sekresi TSH (*Thyroid Stimulating Hormone*) (Yen & Jaffe, 1986; Rumsey et.al, 1997) melalui jalur penghambatan *neuromedin B* yang merupakan *bombeesin-like peptide* sebagai penghambat TSH (Moreira et.al, 2003). Peningkatan TSH akan meningkatkan stimulasi kepada kelenjar tiroid sehingga kelenjar thyroid akan meningkatkan hormonnya yaitu T₃ dan T₄ (Ganong WF, 2001; Guyton AL & Hall JE, 1995).

Salah satu efek hormon thyroid pada metabolisme kolesterol adalah menurunkan kadar kolesterol darah (Haznam MW, 1991; Ganong, 2001) dengan meningkatkan reseptor LDL hepar (Ganong, 2001). Walaupun telah banyak usaha dilakukan, analog hormon thyroid belum dapat secara klinis digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol plasma tanpa menyebabkan peningkatan metabolisme (Ganong, 2001).

Fitoestrogen adalah suatu senyawa yang terjadi secara alami yang ditemukan di dalam banyak tumbuhan, didefinisikan sebagai zat tumbuhan yang secara struktural dan fungsional mirip dengan estradiol (E₂), dan mempunyai salah satu kelas yaitu isoflavone. Isoflavone mempunyai konsentrasi tinggi didalam banyak makanan, diantaranya terdapat didalam kedele (Setchell K and Cassidy A, 1999).

Isoflavone merupakan senyawa flavonoid aktif yang terdapat pada biji kedelai, dan terdapat dalam dua bentuk yaitu glukosida (*glucoside*) dan aglikon (*aglycone*). Konsumsi 60 gram protein kedelai per hari, setara dengan kandungan

45 gram isoflavone dan berpengaruh baik terhadap kesehatan (Adie M.M, 2002), serta 100 gram tofu dan tempe mengandung 62 – 112 mg isoflavon (Taylor, 2002).

Berdasarkan uraian di atas dan hasil penelitian yang telah dilakukan, ternyata ekstrak kedelai dan estrogen konjugat dapat menurunkan kadar kolesterol darah pada keadaan hiperkolesterolemia.

6.3.4 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai dan Estrogen Konjugasi Terhadap Rasio LDL/HDL

Hasil uji statistik analisis varians antar kelompok pada rasio LDL/HDL adalah tidak berbeda secara bermakna dengan $p = 0,214$ (lihat tabel 5.4). Uji LSD menunjukkan bahwa kelompok kontrol *posttest* tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak kedelai ($p = 0,114$) dan kelompok estrogen konjugat ($p = 0,148$).

Kelompok kontrol *posttest* tidak berbeda dengan kelompok ekstrak kedelai maupun estrogen. Dengan kata lain tidak ada pengaruh yang signifikan ekstrak kedelai dan estrogen konjugasi terhadap rasio LDL/HDL. Tetapi rata-rata rasio LDL/HDL lebih rendah untuk kelompok ekstrak kedelai sebesar 0,0685 dan kelompok estrogen konjugasi sebesar 0,0625 dibandingkan kelompok kontrol *posttest* namun penurunan tersebut tidak signifikan.

Hal ini tidak sejalan dengan penelitian Demlov BEM., et.al., 2000 bahwa pemberian isoflavone kedelai pada wanita premenopause selama 3 kali siklus menstruasi dapat menurunkan rasio LDL/HDL sebesar 13,8 % ($p < 0,002$). Juga tidak sejalan dengan penelitian Koh KK., et.al., 1999 bahwa pemberian estrogen

konjugasi 0,625 mg pada wanita postmenopause yang mengalami hiperkolesterolemia dapat menurunkan rasio LDL/HDL ($p < 0,001$).

Rasio LDL/HDL merupakan faktor risiko yang lebih penting dari pada kolesterol total dalam darah maupun LDL dan HDL secara terpisah (Nurachmah E, 2001), dan rasio LDL/HDL merupakan nilai yang paling prediktif untuk insiden atherosklerosis dan *coronary heart disease* (CHD), hal ini karena peranan LDL dalam pengangkutan kolesterol ke jaringan dan peranan HDL yang bertindak sebagai pemangsa (*scavenger*) kolesterol dalam pengangkutan balik kolesterol (Murray et.al, 1997). Sehingga semakin kecil rasio tersebut semakin baik dalam arti risiko untuk mengalami penyakit akibat kolesterol semakin kecil.

Walaupun ekstrak kedelai dan estrogen konjugasi pada penelitian ini tidak berpengaruh pada rasio LDL/HDL namun dapat menurunkan rasio LDL/HDL sehingga pemberian tambahan diet kedelai masih dapat dianggap menguntungkan kesehatan terutama dapat memperbaiki profil lipid.

Tidak adanya pengaruh tersebut dimungkinkan waktu penelitian pemberian perlakuan kurang lama, seperti pada penelitian Demlov BEM., et.al., (2000) yang memberikan perlakuan kedelai selama 3 X siklus menstruasi atau ± 3 bulan, sedangkan yang dilakukan peneliti hanya 6 minggu. Juga hiperkolesterolemia pada binatang penelitian perlu dibuat dengan penambahan kolesterol murni pada dietnya.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak kedelai tidak meningkatkan kadar kolesterol HDL darah pada keadaan hiperkolesterolemia.
2. Pemberian ekstrak kedelai menurunkan kolesterol LDL darah pada keadaan hiperkolesterolemia.
3. Pemberian ekstrak kedelai menurunkan kolesterol total pada keadaan hiperkolesterolemia.
4. Pemberian ekstrak kedelai tidak menurunkan rasio LDL/HDL pada keadaan hiperkolesterolemia.

7.2 Saran

1. Perlu kajian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak kedelai terhadap kolesterol HDL, LDL, kolesterol total dan rasio LDL/HDL pada keadaan hiperkolesterolemia dengan pembuatan hiperkolesterolemia dengan pemberian kolesterol murni, asam empedu dan prophyll thiurasil (PTU).
2. Perlu kajian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak kedelai terhadap kolesterol HDL, LDL, kolesterol total dan rasio LDL/HDL pada keadaan hiperkolesterolemia dengan :
 - a. periode waktu lebih lama yaitu selama 3 bulan
 - b. berbagai dosis dan berbagai waktu
 - c. jumlah sampel yang lebih besar

DAFTAR PUSTAKA

- Adams MR, Register TC, Golden DL, Wagner JD, Williar WJK, 1997. Medroxyprogesteron Acetate Antagonizes Inhibitory Effects of Conjugated Equine Estrogens on Coronary Artery Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 17 : 217-221
- Adie M.M, 2002. **Peluang Peningkatan Kandungan Isoflavone pada Kedelai**. Seminar Nasional PATPI Malang. Juli 2002
- Amstrong, 1995. **Buku Ajar Biokimia**, Edisi III. Diterjemahkan : Maulany. Jakarta : EGC. pp. 167 – 172
- Anderson J, Johnstone BM and Newell MEC, 1995. Meta-Analysis of the Effects of Soy Protein Intake on Serum Lipids. *N.Engl.J.Med* 1995; 333 : 276 - 282.
- Baron DN, 1984. **Kapita Selekt Patologi Klinik**. Diterjemahkan : Andrianto & Gunawan. Jakarta : EGC. pp. 86 – 100
- Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer L et.al, 1995. Atherosclerosis : Basic Mechanisms, Oxidation, Inflammation, and Genetics. *Circulation*. 91: 2488-2496
- Brinton EA, 1996. Oral Estrogen Replacement Therapy in Postmenopausal Woman Selectively Raises Levels and Production Rates of Lipoprotein A-1 and Lowers Hepatic Lipase Activaty without Lowering the functional catabolic rate. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16 : 431 – 440
- Demlow BEM, Duncan AM, Wangen KE, Xu X, Carr TP et.al, 2000. Soy Isoflavones Improve Plasma Lipids in Normocholesterolemic Postmenopausal Women. *Americans Journal of Clinical Nutrition*, Vol 71, No. 6, 1462 – 1469, June 2000.
- Duane WC, 1999. Effects of Soybean Protein and Very Low Dietary Cholesterol on Serum Lipids, Biliary Lipids and Fecal Sterols in Humans. *Metabolism* April 1999; 48(4) : 489 – 494.
- Ganong WF, 2001. **Review of Medical Physiology**, 11th edition. New York : McGraw-Hill. pp. 290 – 302, 425 – 430, 458 – 460
- Gerhand M & Ganz P, 1995. How on We Explain the Clinical Benefits of Estrogen ?. *Circulation*, 1995;92: 5 – 8.

- Ghozali I, 2002. **Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS**. Semarang : Badan Penerbit Universitas Diponegoro. pp 26 - 40
- Greaves KA, Wilson MD, Rudel LL, Williams JK and Wagner JD, 2000. Consumption of Soy Protein Reduces Cholesterol Absorption Compared to casein Protein Alone or Supplemented with an Isoflavones Extract or Conjugated Equine Estrogen in Ovariectomized Cynomolgus Monkeys. *J.Nutr.* 130: 820 – 826, 2000.
- Greenspan FS & Baxter JD, 2000. **Endokrinologi Dasar dan Klinik**. Jakarta : Penerbit EGC. pp 545-554, 595 – 601
- Gooderham, Adlercreutz, Ojala, Wahala & Holub, 1996. A Soy Protein Isolate Rich in Genistein and daidzein and its effects on Plasma Isoflavone concentrations, Platelet Aggregation Blood Lipids and Fatty Acid Composition of Plasma Phospholipids in Normal Man. *J.Nutr.* 126 : 2000 – 2006.
- Guyton AL & Hall JE, 1995. **Buku Ajar Fisiologi Kedokteran**, Edisi Bahasa Indonesia. Jakarta : Penerbit EGC. pp. 1289 – 1299
- Haznam MW, 1991. **Endokrinologi**. Bandung : Percetakan Angkasa Offset. pp. 113-139
- Hodgson JM, Puddey IB, Beilin LJ, Mori TA & Craft KD, 1998. Supplementation with Isoflavonoid Phytoestrogen does not Alter Serum Lipid Concentration : A Randomized Controlled Trial in Humans. *The Journal of Nutrition* Vol. 128 No. 4. April 1998. pp. 728 – 732.
- Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci A et.al, 2000. **Harrison Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam (Harrison's Principles of Internal Medicine)** Volume III. Edisi Bahasa Indonesia oleh : Asdie. Jakarta : EGC. pp : 1244 – 1256.
- Jones DR, Schmidt RJ, Pickard RT, Foxworthy PS & Eacho PI, 2002. Estrogen Receptor-Mediated Repression of Human Hepatic Lipase Gene Transcription. *Journal of Lipid Research* , vol 43, 383 – 391.
- Kibbe AH, 2000. **Handbook of Pharmaceutical Excipients** 3rd edition. Washington : American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press. pp. 87 – 90.
- Kirk, Sutherland, Wang, Chait & Le Boeuf, 1998. Dietary Isoflavone Reduce Plasma Cholesterol and Atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL Receptor-deficient mice. *J.Nutr.* 128 : 954 – 959.

- Klein KO, 1998. Isoflavones, Soy-based Infant Formulas, and Relevance to Endocrine Function. **Nutrition Reviews**, Vol. 56, No. 7 July. pp : 193-204
- Koh KK, Cardillo C, Bui MN, Hathaway L, Csako G et.al, 1999. Vascular effects of Estrogen and Cholesterol-Lowering Therapies in Hypercholesterolemic Postmenopausal Woman. **Circulation**. 1999; 99 : 354 – 360.
- Koswara, 1992. **Teknologi Pengolahan Kedelai**. Jakarta : Pustaka Sinar Harapan
- Kuiper GGJM, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH et.al, 1998. Interaction of Estrogenic Chemicals and Phytoestrogens with Estrogen Receptor β . **Endocrinology** vol. 139. No. 10 pp. 4252 – 4263
- Laneschow S, Hosmer DW, Klar J and Lwanga Ks, 1990. **Adequacy of sample Size in Health Studies**, New York. John Willey & Sons
- Linder E, 1992. **Biokimia Nutrisi dan Metabolisme**. Diterjemahkan oleh : Parakhasi. Jakarta : Penerbit UI Press. pp. 59 – 87
- Liu D & Bachman KA, 1998. An Investigation of the Relationship Between Estrogen, Estrogen Metabolites and Blood Cholesterol Levels in Ovariectomized Rats. **The Journals of Pharmacology & Experimental Therapeutics**, Vol. 286, No. 1. March 31, 1998. pp. 561 – 286.
- Lundeen SG, Carver JM, McKean ML and Winneker RL, 1997. Characterization of the Ovariectomized Rats Model for the Evaluation of Estrogen Effects on Plasma Cholesterol Levels. **Endocrinology** 138 : 1552 – 1558, 1997.
- Moreira RM, Curty FH, Lisboa PC, Amaral D, Carvalho TMD et.al, 2003. Estrogen Modulates Neuromedin B Effects on Thyrotropin and Prolactin Release in Vitro. **Life Sciences**, Vol : 17 Issue 8, 10 January 2003. pp. 917 - 923
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, 1997. **Biokimia Harper**, Edisi 24. Diterjemahkan oleh : Hartono. Jakarta : EGC. pp. 260 – 289.
- Newton KM & Froelicher ES, 2000. Coronary Heart Disease Risk Factor in Woods SL, Froelicher ES, Motzer SA : **Cardiac Nursing** 4th Edition. Philadelphia : Lippincott. pp. 739 – 756.
- Nijveldt, Nood, Hoom, Boelens, Norren et.al, 2001. Flavonoids : a review of Probable Mechanisms of Action and Potential Applications. **Americans Journal of Clinical Nutrition**. Vol 74. No. 4, 418 - 425

- Nowak TJ & Handford AG, 1999. **Essentials of Pathophysiology, Concepts and Applications for Health Care Professionals**. New York : McGraw-Hill. pp. 210 - 220.
- Nurachmah E, 2001. **Nutrisi dalam Keperawatan**. Jakarta : CV Sagung Seto. pp. 8 – 11
- Perret B, Mabile L, Martinez L, Terce' F, Barbara R et.al, 2002. Hepatic Lipase : Struktur/Function Relationship, Synthesis and Regulation. **Journal of Lipid Research**, Vol. 43, August 2002. pp. 1162 – 1169
- Rahmi F.L, 1993. Pengaruh Diet Apel (*Malus Sylvestris*) Kering terhadap Kadar Kolesterol Total, Kolesterol HDL dan Kolesterol LDL Serum Tikus. Surabaya : Unair Surabaya, **Thesis** tidak diterbitkan. pp. 56-58, 61-87.
- Rumsey TS, Elsasser TH, Kahl S, 1997. Roasted soybeans and an Estrogenic Growth Promoter Affect the Thyroid Status of Beef Steers. **The Journal of Nutrition**. Vol. 127 No. 2, February 1997. pp. 352 – 358
- Santoso S, 2002. **Buku Latihan SPSS Statistik Multivariat**. Jakarta : Penerbit PT Elex Media Komputindo, Kelompok Gramedia. pp. 34 – 38, 199 – 220
- Sari GM, 2001. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) Dibanding Estrogen Konjugasi terhadap Kepadatan Tulang Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). Surabaya : Unair Surabaya, **Thesis** tidak diterbitkan.
- Setchell KDR and Cassidy A, 1999. Dietary Isoflavones : Biological Effects and Relevance to Human Health. **J.Nutr.**129: 758S-767S
- Stryer R, 2000. **Biokimia** Vol. 2 Edisi 4. Diterjemahkan oleh : Tim Penerjemah Bagian Biokimia FKUI. Jakarta : Penerbit EGC. pp. 691-702
- Suryohudoyo P, 2000. **Kapita Selektta Ilmu Kedokteran Molekuler**. Jakarta : CV Sagung Seto. pp. 58 – 65.
- Tajjudin, 2003. Pengaruh Pemberian Biji Jambu Mentha terhadap Kadar Kolesterol, HDL, LDL Tikus Putih yang Mengalami Hiperkolesterolemia. Surabaya : Unair. **Thesis** Tidak Dipublikasikan
- Taylor M, 2002. **Phyto-Estrogens**. On line di <http://www.hctx.org/> tanggal akses 29 April 2002
- Thomas A, 1992. **Tanaman Obat tradisional**. Yogyakarta : Kanisius. pp. 63 – 65
- Turner RA. And Hebborn P, 1971. **Screening Methods in Pharmacology**. New York : Academic Press. pp 121 - 141

Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PRL, 1998. **Williams Text Book of Endocrinology**, 9th Edition. Philadelphia : W.B. Saunders Company. pp. 801 – 806, 1099 – 1144.

Yen & Jaffe, 1986. **Reproductive Endocrinology, Physiology, Pathophysiology and Clinical Management** 2nd Edition. Philadelphia : W.B. Saunders Company. pp. 424 – 438

Zainuddin M, 1995. **Metodologi Penelitian**. Universitas Airlangga Surabaya, pp.38 - 57



Lampiran 1.

Komposisi kedelai menurut USDA (*United States Dietary Allowances*) 1999 :

Soybeans, green, raw

Scientific name : Glycine max

NDB No : 11450

<i>Nutrient</i>	<i>Units</i>	<i>Value per 100 Grams of edible portion</i>	<i>Sample Count</i>	<i>Std. Error</i>
Proximates				
Water	g	67,500	2	0,699
Energy	kcal	147,000	0	
Energy	kj	615,000	0	
Protein	g	12,950	2	5,312
Total lipid (fat)	g	6,800	1	
Carbohydrate difference	by g	11,050	0	
Fiber, total dietary	g	4,200	0	
Ash	g	1,700	2	0,100
Mineral				
Calcium, Ca	mg	197,000	2	18,000
Iron, Fe	mg	3,550	2	0,350
Magnesium, Mg	mg	65,000	1	
Phosphorus, P	mg	194,000	2	67,499
Potassium, K	mg	620,000	1	
Sodium, Na	mg	15,000	1	
Zinc, Zn	mg	0,990	1	
Copper, Cu	mg	0,128	1	
Manganese, Mn	mg	0,547	1	
Selenium, Se	mcg	1,500	0	
Vitamins				
Vitamin C, Ascorbic Acid	mg	29,000	1	
Thiamin	mg	0,435	2	0,015
Riboflavin	mg	0,175	2	0,025
Niacin	mg	1,650	2	0,050
Panthothenic acid	mg	0,147	1	
Vitamin B-6	mg	0,065	1	
Folate	mcg	165,000	1	
Vitamin B-12	mcg	0,000	0	
Vitamin A, IU	IU	180,000	2	10,000
Vitamin A, RE	mcg, RE	18,000	0	

Lanjutan Lampiran 1.

Komposisi kedelai menurut USDA (*United States Dietary Allowances*) 1999 :*Soybeans, green, raw**Scientific name : Glycine max*

NDB No : 11450

<i>Nutrient</i>	<i>Units</i>	<i>Value per 100 Grams of edible portion</i>	<i>Sample Count</i>	<i>Std. Error</i>
Lipids				
Fatty acids, saturated	g	0,786	0	
14 : 0	g	0,006	1	
16 : 0	g	0,570	1	
18 : 0	g	0,210	1	
Fatty acids monounsaturated	g	1,284	1	
16 : 1	g	0,011	1	
18 : 1	g	1,262	1	
20 : 1	g	0,011	1	
Fatty acids, polyunsaturated	g	3,200	0	
18 : 2	g	2,823	1	
18 : 3	g	0,376	1	
Cholesterol	mg	0,000	0	
Phytosterol	mg	50,000	1	
Amino acids	g			
Tryptophan	g	0,157	0	
Threonin	g	0,516	0	
Isoleucine	g	0,570	0	
Leucine	g	0,926	0	
Lysine	g	0,775	0	
Methionin	g	0,157	0	
Cystine	g	0,118	0	
Phenylalanine	g	0,586	0	
Tyrosine	g	0,464	0	
Valine	g	0,576	0	
Arginine	g	1,042	0	
Histidine	g	0,348	0	
Alanine	g	0,582	0	
Aspartic acid	g	1,508	0	
Glutamic acid	g	2,433	0	
Glycine	g	0,539	0	
Proline	g	0,607	0	
Serine	g	0,721	0	

Lampiran 2 :**1.1 Susunan Diet Standar (Formula ITB) per 10 Kg* (Widodo, 1994)**

Bahan Makanan	Jumlah
Tepung jagung	2,5 kg
Tepung terigu	3,4 kg
Tepung kacang hijau	1,4 kg
Tepung ikan	1,6 kg
Lemak babi	0,8 kg
Vitamin B1	0,48 g
Vitamin B2	1,2 g
Nikotinamid	12,0 g
Kalsium pantotenat	2,4 g
Vitamin B6	0,4 g
Kolin bitartrat	45,6 g
Multivitamin ("Roche")**	40,0 g

1.2 Susunan Diet Perlakuan Standar per 10 kg* (makanan tinggi lemak)

Bahan Makanan	Jumlah
Tepung jagung	2,5 kg
Tepung terigu	3,4 kg
Tepung kacang hijau	1,4 kg
Tepung ikan	1,6 kg
Lemak babi	2,0 kg
Vitamin B1	0,48 g
Vitamin B2	1,2 g
Nikotinamid	12,0 g
Kalsium pantotenat	2,4 g
Vitamin B6	0,4 g
Kolin bitartrat	45,6 g
Multivitamin ("Roche")**	40,0 g
Karboksil Metil Selulosa	1 %

- Makanan dibuat dalam bentuk pellet

** Tiap gram multivitamin Roche mengandung :

- 100.000 UI vitamin A
- 1000 UI Vitamin D
- 50 mg vitamin B2
- 80 UI vitamin E

Lampiran 3

Perhitungan dosis obat hewan coba menggunakan table Konversi Laurence &

Bacharah (1964) sebagai berikut :

Tabel 1. Konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis hewan dan manusia (Laurence dan Bacharach, 1964 *cit* Donatus dan Nurlaila, 1986 *cit*. Sari ,2001)

	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	3,1
Manusia 70 Kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Lampiran 4 :

Konversi perhitungan dosis ekstrak kedelai untuk hewan coba adalah sebagai berikut :

Berat Badan Standart seperti tabel (Laurence & Bacharach) : 70 Kg

Faktor konversi sesuai tabel : 0,018

Dosis *Soy isoflavones 2* (Demlow, 2000) : 144,4 mg/hari

1. Dosis ekstrak kedelai untuk menurunkan kolesterol LDL, meningkatkan kolesterol HDL dan menurunkan kolesterol total pada hewan coba kelompok 3 adalah :

$$144,4 \text{ mg/hari} \times 0,018 = 2,60 \text{ mg/hari}$$

maka dosis ekstrak kedelai untuk hewan coba kelompok 3 adalah :

$$2,60 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus/hari}$$

2. Konversi perhitungan dosis estrogen konjugat untuk hewan coba adalah sebagai berikut :

Berat Badan Standart seperti tabel (Laurence & Bacharach) : 70 Kg

Faktor konversi sesuai tabel : 0,018

Dosis estrogen (Koh et.al, 1999; Taylor, 2003) : 0,625 mg/hari

Dosis estrogen konjugat untuk menurunkan kolesterol LDL, meningkatkan kolesterol HDL dan menurunkan kolesterol total pada hewan coba kelompok 4 :

$$0,625 \text{ mg/hari} \times 0,018 = 0,011 \text{ mg/hari}$$

maka dosis estrogen konjugat untuk hewan coba kelompok 5 adalah :

$$0,011 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus/hari}$$

Lampiran 5 :

Pemberian maksimal volume larutan obat pada perlakuan hewan coba berdasar tabel Ritchel (1974) sebagai berikut :

Tabel 2 : Volume maksimum larutan obat yang dapat diberikan pada hewan (Ritchel, 1974 *cit.* Donatus dan Nurlaila, 1986 *cit.* Sari, 2001)

Hewan	Volume maksimum sesuai jalur pemberian (ml)				
	i.v	i.m	i.p	s.c	p.o
Mencit (20 – 30 gram)	0,5	0,05	1,0	0,5-1,0	1,0
Tikus (100 gram)	1,0	0,1	2,0-5,0	2,0-5,0	5,0
Hamster (50 gram)	-	0,1	1,0-2,0	2,5	2,5
Marmot (250 gram)	-	0,25	2,0-5,0	5,0	10,0
Merpati (300 gram)	2,0	0,5	2,0	2,0	10,0
Kelinci (2500 gram)	5,0 – 10,0	0,5	10,0-20,0	5,0-10,0	20,0
Kucing (3000 gram)	5,0 – 10,0	1,0	10,0-20,0	5,0-10,0	50,0
Anjing (5000 gram)	10,0 – 20,0	5,0	10,0-50,0	10,0	100,0

Lampiran 6 :

Cara membuat larutan untuk perlakuan :

1. Larutan ekstrak kedelai dosis 2,60 mg

Akan dibuat larutan sebanyak 200 ml

Larutan *emulsifying agent* adalah *Carboxymethylcellulose natrium* (CMC Na⁺) dengan konsentrasi 0,5 % (Kibbe, 2000).

Emulsifying agent : CMC Na = 1,0 g

Volume yang akan diberikan per tikus 2 ml/hari.

$$\text{Jumlah ekstrak kedelai yang ditimbang} = \frac{200}{2} \times 2,60 \text{ mg} = 260 \text{ mg}$$

Cara : 1,0 gram CMC Na⁺ dilarutkan dengan air panas sebanyak 20 cc.

Ekstrak kedelai 260 mg dilarutkan ke dalam CMC Na⁺ yang telah dilarutkan dengan air panas tersebut di atas sampai terlarut benar.

Kemudian ditambahkan *aquabidest* hingga volume menjadi 200 ml.

2. Larutan estrogen konjugasi dosis 0,02 mg

1 tablet Esthero[®] mengandung 0,625 mg estrogen konjugasi.

Dosis obat untuk 1 ekor tikus (BB 200 g) = 0,011 mg

Volume yang akan diberikan setiap ekor tikus 2 ml.

$$\text{Volume aquabidest untuk melarutkan 1 tablet obat} = \frac{0,625}{0,011} \times 2 \text{ ml} = 113,64 \text{ ml}$$

$$\text{Suspended agent : CMCNa} = 0,5\% \text{ volume pelarut} = \frac{0,5}{100} \times 113,64 = 0,57 \text{ mg}$$

Cara : 0,57 mg CMC Na dilarutkan dengan 22,8 ml air panas.

Kemudian 1 tablet Premarin[®] yang telah digerus dilarutkan ke dalam CMC Na yang sudah dilarutkan dengan air panas tersebut di atas.

Kemudian ditambahkan *aquabidest* hingga volume menjadi 113,64 ml.

Lampiran 7 :**Daftar : Berat Badan Tikus (dalam gram) penelitian tahap I
Kelompok Standar (K₁₀)**

No.	Kandang	Identitas	BB Awal (gram)	BB Akhir (gram)
1.	1 (satu)	Kepala	105	190
2.		Punggung	114	200
3.		Ekor	95	180
4.		Kaki depan kanan	105	185
5.		Tanpa tanda	100	203
6.	2 (dua)	Kepala	85	165
7.		Punggung	102	200
8.		Ekor	90	165
9.		Kaki depan kanan	105	200

**Daftar : Berat Badan Tikus (dalam gram) penelitian tahap I
Kelompok Hiperkolesterolemia (K₄₀)**

No.	Kandang	Identitas	BB Awal (gram)	BB Akhir (gram)
1.	1 (satu)	Kepala	120	210
2.		Punggung	120	210
3.		Ekor	122	213
4.		Kaki depan kanan	115	200
5.		Tanpa tanda	120	190
6.	2 (dua)	Kepala	110	200
7.		Punggung	115	180
8.		Ekor	105	180
9.		Kaki depan kanan	110	175

LAMPIRAN : 8

DAFTAR : BERAT BADAN TIKUS SELAMA PERIODE PENELITIAN TAHAP II

KANDANG	KELOMPOK	IDENTITAS	BERAT BADAN (DALAM GRAM)			
			15-08-2003	29-08-2003	12-09-2003	24-09-2003
1	Estrogen Konjugasi	Kepala	225	210	225	235
		Punggung	228	220	227	242
		Ekor	240	235	245	260
		Kaki Depan	200	200	210	215
		Tanpa Tanda	225	220	215	231
2	Estrogen Konjugasi	Kepala	260	255	255	257
		Punggung	265	265	265	270
		Ekor	195	200	202	204
		Kaki Depan	265	250	255	260
		Tanpa Tanda	255	250	255	259
1	Kontrol <i>Posttest</i>	Kepala	230	245	240	230
		Punggung	220	230	230	230
		Ekor	220	225	225	224
		Kaki Depan	235	240	235	232
		Tanpa Tanda	245	265	267	271
2	Kontrol <i>Posttest</i>	Kepala	255	260	260	264
		Punggung	240	240	245	254
		Ekor	265	265	264	262
		Kaki Depan	225	220	217	215
		Tanpa Tanda	263	260	265	272

Lanjutan : Lampiran 8

KANDANG	KELOMPOK	IDENTITAS	BERAT BADAN (DALAM GRAM)			
			15-08-2003	29-08-2003	12-09-2003	24-09-2003
1	Ekstrak Kedelai	Kepala	215	210	215	220
		Punggung	220	220	222	225
		Ekor	205	202	200	200
		Kaki Depan	248	245	250	255
		Tanpa Tanda	207	205	203	202
2		Kepala	210	200	210	213
		Punggung	215	200	210	212
		Ekor	220	198	205	214
		Kaki Depan	220	180	185	190
		Tanpa Tanda	220	215	220	223

Lampiran : 9

Daftar : Dosis Pemberian Perlakuan Selama Penelitian Tahap II

KANDANG	KELOMPOK	IDENTITAS	15 s.d 28 Agustus 2003		29 Agustus 2003 s.d 11 Sept. 2003		12 s.d 23 Sept. 2003	
			BB (g)	Dosis (ml)	BB (g)	Dosis (ml)	BB (g)	Dosis (ml)
1	Estrogen Konjugasi	Kepala	225	2,3	210	2,1	225	2,3
		Punggung	228	2,3	220	2,2	227	2,3
		Ekor	240	2,4	235	2,4	245	2,5
		Kaki Depan	200	2,0	200	2,0	210	2,1
		Tanpa Tanda	225	2,3	220	2,2	215	2,2
2	Estrogen Konjugasi	Kepala	260	2,6	255	2,6	255	2,6
		Punggung	265	2,7	265	2,7	265	2,7
		Ekor	195	2,0	200	2,0	202	2,0
		Kaki Depan	265	2,7	250	2,5	255	2,6
		Tanpa Tanda	255	2,6	250	2,5	255	2,6
1	Kontrol <i>Posttest</i>	Kepala	230	2,3	245	2,5	240	2,4
		Punggung	220	2,2	230	2,3	230	2,3
		Ekor	220	2,2	225	2,3	225	2,3
		Kaki Depan	235	2,4	240	2,4	235	2,4
		Tanpa Tanda	245	2,5	265	2,7	267	2,7
2	Kontrol <i>Posttest</i>	Kepala	255	2,6	260	2,6	260	2,6
		Punggung	240	2,4	240	2,4	245	2,5
		Ekor	265	2,7	265	2,7	264	2,6
		Kaki Depan	225	2,3	220	2,2	217	2,2
		Tanpa Tanda	263	2,6	260	2,6	265	2,7

Lanjutan Lampiran : 9

KANDANG	KELOMPOK	IDENTITAS	15 s.d 28 Agustus 2003		29 Agustus 2003 s.d 11 Sept. 2003		12 s.d 23 Sept. 2003	
			BB (g)	Dosis (ml)	BB (g)	Dosis (ml)	BB (g)	Dosis (ml)
1	Ekstrak Kedelai	Kepala	215	2,2	210	2,1	215	2,2
		Punggung	220	2,2	220	2,2	222	2,2
		Ekor	205	2,1	202	2,0	200	2,0
		Kaki Depan	248	2,5	245	2,5	250	2,5
		Tanpa Tanda	207	2,1	205	2,1	203	2,0
2		Kepala	210	2,1	200	2,0	210	2,1
		Punggung	215	2,2	200	2,0	210	2,1
		Ekor	220	2,2	198	2,0	205	2,1
		Kaki Depan	220	2,2	180	1,8	185	1,9
		Tanpa Tanda	220	2,2	215	2,2	220	2,2

Keterangan :

$$\text{Dosis} = \frac{BB}{200} \times 2 \text{ ml}$$

Lampiran : 10

Data hasil Pemeriksaan Variabel Dependen Kelompok Standar dan Kelompok
Hiperkolesterolemia Penelitian Tahap I



DEPARTEMEN KESEHATAN R.I.
BALAI LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya 60285

Telp. Kepala Lab. (031) 5020708 · T.U. (031) 5021451 · Fax. (031) 5021452 · P.O.Box. 6269 SBGB 60062

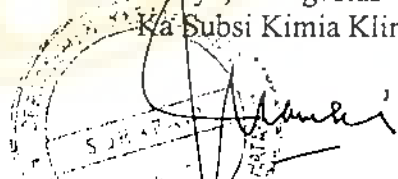


Hasil pemeriksaan kadar kolesterol, HDL, LDL darah tikus
atas nama : Supriyanto, SKp

NO.	Kode	Kolesterol (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
1.	STD.pg	60	43	14
2.	STD.pg2	84	44	23
3.	STD.kep	62	34	20
4.	STD.kep2	97	55	31
5.	STD.kd	68	47	17
6.	STD.kd2	90	57	29
7.	STD.td	65	40	18
8.	STD.ek	67	50	13
9.	STD.ek2	90	50	30
10.	HYPER.1	94	47	23
11.	HYPER.2	85	54	25
12.	HYPER.3	83	54	23
13.	HYPER.4	84	58	21
14.	HYPER.5	79	41	25
15.	HYPER.6	81	54	22
16.	HYPER.7	92	59	28
17.	HYPER.8	89	42	25
18.	HYPER.9	88	53	30

Surabaya, 13 Agustus 2003

Ka Subsi Kimia Klinik


Sumarni, AMdk., Ssi
NIP. 140 065 636



DEPARTEMEN KESEHATAN R.I.
BALAI LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

100



Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya 60285

Telp. Kepala Lab. (031) 5020708 - T.U. (031) 5021451 - Fax. (031) 5021452 - P.O.Box. 6269 SBGB 60062

Hasil pemeriksaan kadar kolesterol, HDL, LDL darah tikus
atas nama : Supriyanto, SKp

NO.	Kode	Kolesterol (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
1.	K.1.C.Kep	88	37	24
2.	K.1.C.Pung	80	53	20
3.	K.1.C.KD	89	60	22
4.	K.1.C.Ek	84	54	16
5.	K.1.C.Tan	77	48	19
6.	K.2.C.Kep	82	48	22
7.	K.2.C.Pung	79	56	18
8.	K.2.C.KD	85	50	23
9.	K.2.C.Ek	85	38	15
10.	K.2.C.Tan	82	55	21
11.	K.1.K.Kep	82	52	22
12.	K.1.K.Pung	70	47	16
13.	K.1.K.KD	81	56	18
14.	K.1.K.Ek	68	52	11
15.	K.1.K.Tan	75	52	15
16.	K.2.K.Kep	66	47	14
17.	K.2.K.Pung	58	34	18
18.	K.2.K.KD	65	51	11
19.	K.2.K.Ek	63	42	17
20.	K.2.K.Tan	72	47	18
21.	K.1.E.Kep	78	45	20
22.	K.1.E.Pung	63	47	12
23.	K.1.E.KD	70	53	13
24.	K.1.E.Ek	68	40	19
25.	K.1.E.Tan	75	52	16
26.	K.2.E.Kep	93	65	20
27.	K.2.E.Pung	72	50	16
28.	K.2.E.KD	83	56	21
29.	K.2.E.Ek	70	49	14
30.	K.2.E.Tan	59	37	17

Surabaya, 25 September 2003

Ka Subsi Kimia Klinik

(Signature)
Sumarmi, AMdk., Ssi
NIP. 140 065 636

Lampiran : 12

Hasil Analisis Deskriptif Berat Badan

Descriptive Statistics

	Kelompok	Mean	Std. Deviation	N
BBAWAL	standar	100.111	8.838	9
	hiperkolesteroi	115.222	5.848	9
	kontrol posttest	239.800	16.844	10
	ekstrak kedelai	218.000	11.963	10
	estrogen	235.800	25.642	10
	Total	184.875	62.918	48
BBAKHIR	standar	187.556	14.959	9
	hiperkolesteroi	195.333	14.569	9
	kontrol posttest	245.400	21.329	10
	ekstrak kedelai	215.400	17.702	10
	estrogen	243.300	21.787	10
	Total	218.479	29.753	48

Hasil Analisis Deskriptif Variabel Tergantung

Means

Report

KELOMPOK		KOLESTE ROL	HDL	LDL	RATIO LDL/HDL
STANDAR	RERATA	75,89	46,67	21,67	,4645
	SIM. BAKU	14,21	7,28	6,93	,1229
	N	9	9	9	9
HIPERKOLES	RERATA	86,11	51,33	24,67	,4881
	SIM. BAKU	5,01	6,52	2,87	8,619E-02
	N	9	9	9	9
KONTROL POS	RERATA	83,10	49,90	20,00	,4101
	SIM. BAKU	3,84	7,50	2,98	9,817E-02
	N	10	10	10	10
KEDELAI	RERATA	70,00	48,00	16,00	,3416
	SIM. BAKU	7,69	6,29	3,40	9,748E-02
	N	10	10	10	10
ESTROGEN	RERATA	73,10	49,40	16,80	,3476
	SIM. BAKU	9,83	7,99	3,16	8,540E-02
	N	10	10	10	10
Total	RERATA	77,50	49,06	19,69	,4076
	SIM. BAKU	10,43	7,02	5,06	,1116
	N	48	48	48	48

Lampiran : 13

Uji Normalitas Distribusi

NPar Tests Untuk Uji Normalitas Distribusi
KELOMPOK = STANDAR

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KOLESTE ROL	HDL	LDL	RATIO LDL/HDL
N		9	9	9	9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	75,89	46,67	21,67	,4645
	Std. Deviation	14,21	7,28	6,93	,1229
	Most Extreme Differences	Absolute	,266	,121	,188
	Positive	,266	,101	,151	,135
	Negative	-,173	-,121	-,188	-,196
Kolmogorov-Smirnov Z		,799	,363	,565	,589
Asymp. Sig. (2-tailed)		,546	,999	,907	,879

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = STANDAR

KELOMPOK = HIPERKOLES

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KOLESTE ROL	HDL	LDL	RATIO LDL/HDL
N		9	9	9	9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	86,11	51,33	24,67	,4881
	Std. Deviation	5,01	6,52	2,87	8,619E-02
	Most Extreme Differences	Absolute	,143	,268	,232
	Positive	,143	,146	,232	,161
	Negative	-,102	-,268	-,102	-,150
Kolmogorov-Smirnov Z		,430	,803	,695	,483
Asymp. Sig. (2-tailed)		,993	,540	,720	,974

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = HIPERKOLES

Lanjutan : Lampiran 13

KELOMPOK = KONTROL POS**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		KOLESTE ROL	HDL	LDL	RATIO LDL/HDL
N		10	10	10	10
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	83,10	49,90	20,00	,4101
	Std. Deviation	3,84	7,50	2,98	9,817E-02
Most Extreme Differences	Absolute	,113	,200	,149	,258
	Positive	,113	,144	,110	,258
	Negative	-,099	-,200	-,149	-,129
Kolmogorov-Smirnov Z		,356	,633	,471	,815
Asymp. Sig. (2-tailed)		1,000	,818	,980	,519

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = KONTROL POS

KELOMPOK = KEDELAI**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		KOLESTE ROL	HDL	LDL	RATIO LDL/HDL
N		10	10	10	10
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	70,00	48,00	16,00	,3416
	Std. Deviation	7,69	6,29	3,40	9,748E-02
Most Extreme Differences	Absolute	,124	,237	,178	,105
	Positive	,103	,162	,178	,105
	Negative	-,124	-,237	-,122	-,093
Kolmogorov-Smirnov Z		,391	,749	,563	,331
Asymp. Sig. (2-tailed)		,998	,629	,909	1,000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = KEDELAI

Lanjutan : Lampiran 13

KELOMPOK = ESTROGEN**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		KOLESTE ROL	HDL	LDL	RATIO LDL/HDL
N		10	10	10	10
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	73,10	49,40	16,80	,3476
	Std. Deviation	9,83	7,99	3,16	8,540E-02
Most Extreme Differences	Absolute	,145	,126	,157	,227
	Positive	,145	,126	,113	,227
	Negative	-,102	-,091	-,157	-,172
Kolmogorov-Smirnov Z		,457	,399	,497	,716
Asymp. Sig. (2-tailed)		,985	,997	,966	,684

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = ESTROGEN

Lampiran : 14

Hasil Uji Beda dengan *T-test* Dua Sampel Bebas Satu Ekor Kelompok Standart dan Kelompok Hiperkolesterolemia

T-Test**Group Statistics**

kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLES standar	9	75.89	14.21	4.74
hiperkoles	9	86.11	5.01	1.67
HDL standar	9	46.67	7.28	2.43
hiperkoles	9	51.33	6.52	2.17
LDL standar	9	21.67	6.93	2.31
hiperkoles	9	24.67	2.87	.96
LDLHDL standar	9	.464511	.122843	4.09E-02
hiperkoles	9	.488156	8.618E-02	2.87E-02

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
KOLES	Equal variances assumed	27.415	.000	-2.036	16	.059
	Equal variances not assumed			-2.036	9.960	.069
HDL	Equal variances assumed	.046	.833	-1.433	16	.171
	Equal variances not assumed			-1.433	15.809	.171
LDL	Equal variances assumed	9.850	.006	-1.200	16	.248
	Equal variances not assumed			-1.200	10.671	.256
LDLHDL	Equal variances assumed	1.904	.187	-.473	16	.643
	Equal variances not assumed			-.473	14.339	.644

Penelitian ini menggunakan uji beda dengan T-test dua sample bebas satu ekor dan out put tersebut di atas menggunakan T-test dua sample bebas dua ekor (2-tailed Independent-sample T-test) maka hasil signifikansi dibagi 2.



Lampiran 15

Nilai maturasi pada masing-masing variabel

T-Test

Group Statistics

	kelomp	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
MATKQLES	kontrol pretest	9	1,11E-03	5,011099	1,670366
	kontrol posttest	10	1,78E-16	3,842742	1,215182
MATHDL	kontrol pretest	9	3,33E-03	6,519202	2,173067
	kontrol posttest	10	-2,7E-16	7,504813	2,373230
MATLDL	kontrol pretest	9	-3,3E-03	2,872281	,957427
	kontrol posttest	10	,000000	2,981424	,942809
MATLDLHD	kontrol pretest	9	5,56E-06	8,61836E-02	2,87E-02
	kontrol posttest	10	-1,0E-05	9,81547E-02	3,10E-02



Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
MATKOLES	Equal variances assumed	,996	,332	,001	17	1,000	1,11E-03	2,035950	-4,2944	4,29659
	Equal variances not assumed			,001	14,979	1,000	1,11E-03	2,065621	-4,4022	4,40441
MATHDL	Equal variances assumed	,046	,833	,001	17	,999	3,33E-03	3,243002	-6,8388	6,84547
	Equal variances not assumed			,001	16,986	,999	3,33E-03	3,217832	-6,7861	6,79280
MATLDL	Equal variances assumed	,109	,745	-,002	17	,998	-3,3E-03	1,346504	-2,8442	2,83754
	Equal variances not assumed			-,002	16,907	,998	-3,3E-03	1,343710	-2,8395	2,83284
MATLDLHD	Equal variances assumed	,002	,969	,000	17	1,000	1,56E-05	4,26E-02	-9,E-02	9,0E-02
	Equal variances not assumed			,000	16,994	1,000	1,56E-05	4,23E-02	-9,E-02	8,9E-02

Lampiran 16

.Analisis univariat

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

Keiompok	Value Label	N
3	Kontrol Pos	10
4	Kedele	10
5	Estrogen	10

Descriptive Statistics

Dependent Variable: KOLESTER

Keiompok	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol Pos	63,10	3,84	10
Kedele	70,00	7,69	10
Estrogen	73,10	9,63	10
Total	75,40	9,23	30

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: KOLESTER

F	df1	df2	Sig.
2,322	2	27	,117

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KELOMPOK

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: KOLESTER

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	937,400 ^a	2	468,700	8,251	,002
Intercept	170554,800	1	170554,800	3002,334	,000
KELOMPOK	937,400	2	468,700	8,251	,002
Error	1533,800	27	56,807		
Total	173026,000	30			
Corrected Total	2471,200	29			

a. R Squared = ,379 (Adjusted R Squared = ,333)

Lanjutan lampiran 16

Estimated Marginal Means

Kelompok

Dependent Variable: KOLESTER

Kelompok	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Pos	83,100	2,383	78,210	87,990
Kedele	70,000	2,383	65,110	74,890
Estrogen	73,100	2,383	68,210	77,990

Post Hoc Tests
Kelompok

Multiple Comparisons

Dependent Variable: KOLESTER

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Pos	Kedele	13,10*	3,37	,001	6,18	20,02
	Estrogen	10,00*	3,37	,006	3,08	16,92
Kedele	Kontrol Pos	-13,10*	3,37	,001	-20,02	-6,18
	Estrogen	-3,10	3,37	,366	-10,02	3,82
Estrogen	Kontrol Pos	-10,00*	3,37	,006	-16,92	-3,08
	Kedele	3,10	3,37	,366	-3,82	10,02

Based on observed means.

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

Lanjutan lampiran 16

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

Kelompok	Value Label	N
3	Kontrol Pos	10
4	Kedele	10
5	Estrogen	10

Descriptive Statistics

Dependent Variable: HDL

Kelompok	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol Pos	49,90	7,50	10
Kedele	48,00	6,29	10
Estrogen	49,40	7,99	10
Total	49,10	7,09	30

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: HDL

F	df1	df2	Sig.
,216	2	27	,807

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KELOMPOK

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HDL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	19,400 ^a	2	9,700	,182	,834
Intercept	72324,300	1	72324,300	1358,628	,000
KELOMPOK	19,400	2	9,700	,182	,834
Error	1437,300	27	53,233		
Total	73781,000	30			
Corrected Total	1456,700	29			

a. R Squared = ,013 (Adjusted R Squared = -,060)

Lanjutan lampiran 16

Estimated Marginal Means

Kelompok

Dependent Variable: HDL

Kelompok	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Pos	49,900	2,307	45,166	54,634
Kedele	48,000	2,307	43,266	52,734
Estrogen	49,400	2,307	44,666	54,134

Post Hoc Tests
Kelompok

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HDL

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Pos	Kedele	1,90	3,26	,565	-4,79	8,59
	Estrogen	,50	3,26	,879	-6,19	7,19
Kedele	Kontrol Pos	-1,90	3,26	,565	-8,59	4,79
	Estrogen	-1,40	3,26	,671	-8,09	5,29
Estrogen	Kontrol Pos	-,50	3,26	,879	-7,19	6,19
	Kedele	1,40	3,26	,671	-5,29	8,09

Based on observed means.

Lanjutan lampiran 16

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Kelompok	3	Kontrol Pos	10
	4	Kedele	10
	5	Estrogen	10

Descriptive Statistics

Dependent Variable: LDL

Kelompok	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol Pos	20,00	2,98	10
Kedele	16,00	3,40	10
Estrogen	16,80	3,16	10
Total	17,60	3,54	30

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: LDL

F	df1	df2	Sig.
,045	2	27	,956

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KELOMPOK

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: LDL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	89,600 ^a	2	44,800	4,421	,022
Intercept	9292,800	1	9292,800	917,053	,000
KELOMPOK	89,600	2	44,800	4,421	,022
Error	273,600	27	10,133		
Total	9656,000	30			
Corrected Total	363,200	29			

a. R Squared = ,247 (Adjusted R Squared = ,191)

Lanjutan lampiran 16

Estimated Marginal Means

Kelompok

Dependent Variable: LDL

Kelompok	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Pos	20,000	1,007	17,935	22,065
Kedele	16,000	1,007	13,935	18,065
Estrogen	16,800	1,007	14,735	18,865

Post Hoc Tests
Kelompok

Multiple Comparisons

Dependent Variable: LDL

LSD

(i) Kelompok	(j) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Pos	Kedele	4,00*	1,42	,009	1,08	6,92
	Estrogen	3,20*	1,42	,033	,28	6,12
Kedele	Kontrol Pos	-4,00*	1,42	,009	-6,92	-1,08
	Estrogen	-,80	1,42	,579	-3,72	2,12
Estrogen	Kontrol Pos	-3,20*	1,42	,033	-6,12	-,28
	Kedele	,80	1,42	,579	-2,12	3,72

Based on observed means.

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

Lanjutan lampiran 16

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Kelompok	3	Kontrol Pos	10
	4	Kedele	10
	5	Estrogen	10

Descriptive Statistics

Dependent Variable: LDLHDL

Kelompok	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol Pos	,410100	9,81547E-02	10
Kedele	,341570	9,74878E-02	10
Estrogen	,347560	8,53980E-02	10
Total	,366410	9,58970E-02	30

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: LDLHDL

F	df1	df2	Sig.
,048	2	27	,953

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KELOMPOK

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: LDLHDL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2,881E-02 ^a	2	1,441E-02	1,635	,214
Intercept	4,028	1	4,028	457,155	,000
KELOMPOK	2,881E-02	2	1,441E-02	1,635	,214
Error	,238	27	8,810E-03		
Total	4,294	30			
Corrected Total	,267	29			

a. R Squared = ,108 (Adjusted R Squared = ,042)

Lanjutan lampiran 16

Estimated Marginal Means

Kelompok

Dependent Variable: LDLHDL

Kelompok	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Pos	,410	,030	,349	,471
Kedele	,342	,030	,281	,402
Estrogen	,348	,030	,287	,408

Post Hoc Tests
Kelompok

Multiple Comparisons

Dependent Variable: LDLHDL

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Pos	Kedele	6,853E-02	4,20E-02	,114	-1,7600E-02	,154660
	Estrogen	6,254E-02	4,20E-02	,148	-2,3590E-02	,148670
Kedele	Kontrol Pos	-6,853E-02	4,20E-02	,114	-,154660	1,75997E-02
	Estrogen	-5,990E-03	4,20E-02	,888	-9,2120E-02	8,01397E-02
Estrogen	Kontrol Pos	-6,254E-02	4,20E-02	,148	-,148670	2,35897E-02
	Kedele	5,990E-03	4,20E-02	,888	-8,0140E-02	9,21197E-02

Based on observed means.

Lampiran : 17

Respon Perubahan Akibat Perlakuan

General Linear Model

Between-Subjects Factors

KELOMPOK	Value Label	N
4	KEDELAI	10
5	ESTROGEN	10

Descriptive Statistics

	KELOMPOK	Mean	Std. Deviation	N
PERUBAHAN KOLES	KEDELAI	-13,1000	7,6884	10
	ESTROGEN	-10,0000	9,8257	10
	Total	-11,5500	8,7327	20
PERUBAHAN HDL	KEDELAI	-1,9000	6,2893	10
	ESTROGEN	-,5000	7,9889	10
	Total	-1,2000	7,0345	20
PERUBAHAN LDL	KEDELAI	-4,0000	3,3993	10
	ESTROGEN	-3,2000	3,1552	10
	Total	-3,6000	3,2184	20

Multivariate Tests^b

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	,918	59,381 ^a	3,000	16,000	,000
	Wilks' Lambda	,082	59,381 ^a	3,000	16,000	,000
	Hotelling's Trace	11,134	59,381 ^a	3,000	16,000	,000
	Roy's Largest Root	11,134	59,381 ^a	3,000	16,000	,000
KEL	Pillai's Trace	,051	,289 ^a	3,000	16,000	,833
	Wilks' Lambda	,949	,289 ^a	3,000	16,000	,833
	Hotelling's Trace	,054	,289 ^a	3,000	16,000	,833
	Roy's Largest Root	,054	,289 ^a	3,000	16,000	,833

a. Exact statistic

b. Design: Intercept+KEL

Lanjutan Lampiran : 17

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	PERUBAHAN KOLES	48,050 ^a	1	48,050	,617	,442
	PERUBAHAN HDL	9,800 ^b	1	9,800	,190	,668
	PERUBAHAN LDL	3,200 ^c	1	3,200	,298	,592
Intercept	PERUBAHAN KOLES	2668,050	1	2668,050	34,281	,000
	PERUBAHAN HDL	28,800	1	28,800	,557	,465
	PERUBAHAN LDL	259,200	1	259,200	24,099	,000
KEL	PERUBAHAN KOLES	48,050	1	48,050	,617	,442
	PERUBAHAN HDL	9,800	1	9,800	,190	,668
	PERUBAHAN LDL	3,200	1	3,200	,298	,592
Error	PERUBAHAN KOLES	1400,900	18	77,828		
	PERUBAHAN HDL	930,400	18	51,689		
	PERUBAHAN LDL	193,600	18	10,756		
Total	PERUBAHAN KOLES	4117,000	20			
	PERUBAHAN HDL	989,000	20			
	PERUBAHAN LDL	456,000	20			
Corrected Total	PERUBAHAN KOLES	1448,950	19			
	PERUBAHAN HDL	940,200	19			
	PERUBAHAN LDL	196,800	19			

a. R Squared = ,033 (Adjusted R Squared = -,021)

b. R Squared = ,010 (Adjusted R Squared = -,045)

c. R Squared = ,016 (Adjusted R Squared = -,038)

Pairwise Comparisons

Dependent Variable	(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
PERUBAHAN KOLE: KEDELAI	ESTROGEN		-3,100	3,945	,442
PERUBAHAN HDL	KEDELAI	ESTROGEN	-1,400	3,215	,668
PERUBAHAN LDL	KEDELAI	ESTROGEN	-,800	1,467	,592

Based on estimated marginal means

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

Lanjutan Lampiran : 17

Multivariate Tests

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Pillai's trace	,051	,289 ^a	3,000	16,000	,833
Wilks' lambda	,949	,289 ^a	3,000	16,000	,833
Hotelling's trace	,054	,289 ^a	3,000	16,000	,833
Roy's largest root	,054	,289 ^a	3,000	16,000	,833

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

a. Exact statistic

Univariate Tests

Dependent Variable		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PERUBAHAN KOLES	Contrast	48,050	1	48,050	,617	,442
	Error	1400,900	18	77,828		
PERUBAHAN HDL	Contrast	9,800	1	9,800	,190	,668
	Error	930,400	18	51,689		
PERUBAHAN LDL	Contrast	3,200	1	3,200	,298	,592
	Error	193,600	18	10,756		

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