

**EFEK JUS BUAH ANGGUR MERAH (*Vitis vinifera* Linn.) TERHADAP
PENGHAMBATAN PENINGKATAN KADAR LDL KOLESTEROL DARAH
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Reza Fauzi

G0006144

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

Surakarta

2009

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi dengan judul : Efek Jus Buah Anggur Merah (*Vitis vinifera* Linn.) Terhadap Penghambatan Peningkatan Kadar LDL Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Reza Fauzi, NIM : G0006144, Tahun 2009

Telah diuji dan sudah disahkan dihadapan Dewan Penguji Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Pada Hari Tanggal 2009

Pembimbing Utama

Nama : Yul Mariyah,Dra.,Apt.,M.Si.

NIP : 19510329 198303 2 001

(.....)

Pembimbing Pendamping

Nama : Suyatmi ,dr.,Mbiomed, Sci

NIP : 19720105 200112 2 001

(.....)

Penguji Utama

Nama : Kusrini,Dra.,Apt.,M.Si.

NIP : 19550804 198303 2 001

(.....)

Anggota Penguji

Nama : Achmad Subakir,dr.

NIP : 19450516 197603 1 001

(.....)

Surakarta,

Ketua Tim Skripsi

Dekan FK UNS

Sri Wahjono, dr., M.Kes

Prof. Dr. A.A. Subiyanto, dr., MS

NIP : 19450824 197310 1 001

NIP : 19481107 197310 1 003

PRAKATA

Penulis mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT atas berkat, kasih, karunia dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “ Efek Jus Buah Anggur Merah (*Vitis vinifera* Linn.) Terhadap Penghambatan Peningkatan Kadar LDL Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) “

Selama proses penyelesaian skripsi ini tentunya tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini perkenankanlah penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. A.A. Subiyanto, dr., MS selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta
2. Sri Wahjono, dr., M.Kes, selaku Ketua Tim Skripsi FK UNS
3. Yul Mariyah, Dra., Apt., M.Si. selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan penyusunan skripsi
4. Suyatmi, dr., Mbiomed, Sci selaku Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan penyusunan skripsi
5. Ksirini, Dra., Apt., M.Si. selaku Penguji Utama yang telah memberikan bimbingan, kritik, dan saran penulisan skripsi
6. Achmad Subakir, dr. Selaku Penguji Pendamping yang telah memberikan bimbingan, kritik, dan saran penulisan skripsi
7. staf Instalasi Farmasi RSUD DR.Moewardi Surakarta yang telah memberikan bantuan dalam penyelesaian skripsi
8. Bagian skripsi FK UNS (Bapak Nardi dan Ibu Enny) yang turut membantu penyusunan skripsi
9. Kedua orang tuaku tercinta dan adikku yang telah memberikan doa dan dukungan baik material maupun spiritual
10. Bapak Samidi dan Sugito, selaku staf LPPT Unit IV UGM yang telah membantu pengambilan data penelitian
11. Seluruh teman-temanku, khususnya Pedia Rachmawati atas kebersamaan, dukungan, dan perhatian yang diberikan kepada penulis dalam penyelesaian skripsi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan dan wawasan ilmiah bagi pembaca, rekan mahasiswa dan para peneliti khususnya di lingkup profesi kedokteran. Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih mempunyai banyak kekurangan sehingga kritik dan saran sangat diharapkan untuk kesempurnaan tulisan ini.

Surakarta, 4 November 2009

Reza Fauzi

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka

Surakarta, 4 November 2009

Reza Fauzi

G0006144

ABSTRAK

Reza Fauzi, G0006144, 2009. Efek Jus Buah Anggur Merah (*Vitis vinifera* Linn.) Terhadap Penghambatan Peningkatan Kadar LDL Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*), Skripsi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Penyakit Jantung Koroner (PJK) dan stroke merupakan penyakit dengan angka kematian tertinggi di dunia. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa terdapat hubungan erat antara kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) dengan PJK dan Stroke. Salah satu penelitian tersebut ialah dengan jus anggur. Buah anggur memiliki kandungan proanthosianidin, resveratrol, dan likopen yang berkaitan erat dengan pencegahan hiperkolesterolemia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek jus buah anggur merah dalam menghambat kenaikan kolestrerol LDL tikus putih.

Penelitian bersifat eksperimental laboratorik dengan *pre and post test controlled group design*. Subjek penelitian berupa 27 ekor tikus putih jantan, Strain Sprague-Dawley. Subjek penelitian dibagi dalam 3 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus putih. Kelompok I (KI) sebagai kontrol, Kelompok II (KII) sebagai kelompok perlakuan, dan Kelompok III (KIII) sebagai pembanding. Semua subjek penelitian mendapatkan pakan standar selama 7 hari (adaptasi). Setelah adaptasi dilakukan *pre test*. Setelah itu perlakuan dilakukan selama 14 hari. Seluruh kelompok mendapatkan pakan hiperkolesterolemik *ad libitu* (campuran pakan standar (pallet) 88,5 %, minyak kelapa 1%, minyak babi 10%, dan kristal kolesterol 0,5%), kuning telur itik per sonde 9,5g/KgBB, dan larutan PTU 0,1% *ad libitum*. KI diberi Aquadest 2 ml, KII diberi jus anggur 18 g/KgBB dalam 2 ml, dan KIII diberi obat Simvastatin 0,9 mg/KgBB dalam 2 ml. Setelah 14 hari, tikus putih dipuasakan selama 12 jam dan diambil darahnya melalui vena orbitalis dengan tabung mikropipiler. Darah tikus putih diukur kadar kolesterol LDL dengan spektrofometri (metoda *Direct homogenous*). Analisis statistik menggunakan program SPSS 15.0 for Windows. Uji Anova digunakan sebagai uji statistik apabila data penelitian terdistribusi normal. Uji *Post hoc Test* digunakan sebagai uji statistik apabila data penelitian terdapat perbedaan yang signifikan.

Rerata kadar LDLKolesterol meningkat setelah pretest pada KI ($22,71 \pm 7,04$), KII ($21,04 \pm 3,87$), dan KIII ($22,37 \pm 9,15$) menjadi KI ($75,31 \pm 47,94$), KII ($51,12 \pm 39,28$), dan KIII ($35,34 \pm 10,53$). Rerata selisih hasil posttest dan pretes ppada KI ($58,26$), KII ($30,32$), dan KIII ($13,87$). Hasil uji anova terhadap rerata selisih posttest dan pretes menunjukkan hasil yang signifikan ($p=0,043$). Selisih dari hasil rerata posttest dan pretest dilakukan uji Post Hoc dan didapatkan pada kelompok I dan kelompok III terdapat perbedaan yang signifikan $p=0,014$ ($p<0,05$), sedangkan hasil yang tidak berbeda secara signifikan didapatkan antara kelompok II dengan kelompok I dengan taraf signifikansi sebesar $0,113$ ($p>0,05$).

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian jua anggur 18 g / KgBB tidak dapat menghambat kenaikan kadar LDL kolesterol selama 14 hari.

Kata kunci : Jus Anggur, LDL Kolesterol, *Rattus norvegicus*

ABSTRACT

Reza Fauzi, G0006144, 2009. The Effect of Red Grape (*Vitis vinifera* Linn.) Juice on the Inhibition of Blood Cholesterol LDL Level Increase of White Mice (*Rattus norvegicus*), Thesis, Medical Faculty, Sebelas Maret University, Surakarta.

Coronary heart attack (PJK) and stroke are the diseases with highest mortality rate in the world. Various studies show that there is a close relationship between *Low Density Lipoprotein* (LDL) cholesterol and both diseases. One of the studies that they include using grape juice. Grape contains pro-anthocyanidine, resveratrol and lycopene related closely to the hypercholesterolemic prevention. This research aims at finding out the effect of red grape juice on inhibition of the increase of white mice LDL cholesterol.

This research was experimental laboratory in nature with pre and post test controlled group design. The subjects of research were 27 white adult male mice from Sprague-Dawley strain. The subject of research was divided into 3 groups, each of which consist of 9 white mice. Group I (KI) as the control, Group II (KII) as the treatment group and Group III (KIII) as comparator. All subjects of research are fed with standard meal for 7 days (adaptation). After adaptation, the pre test was carried out. Then, the treatment was done for 14 days. All groups got hypercholesterolemic food ad libitum (combination of 88.5%, standard feed (pallet), 1% coconut oil, 10% pig oil, and 0.5% cholesterol crystal), duck yolk per dosage 9.5 g/kgBW, and 0.1 PTU ad libitum. KI was administered with 2 ml Aquadest, KII with grape juice 18 g/kgBW in 2 ml, and KIII with Simvastatin medicine 0.9/KgBW in 2 ml. After 14 days, white mice is fasted for 12 hours and the sample of blood were taken through vena orbitalis using microcapillary tube. The white mice' blood was measured for LDL cholesterol level using spectrophotometry (Direct homogenous method). The statistical analysis was done using SPSS 15.0 for Windows. Anova test was used as the statistical test when there was significant difference among the data research.

The mean of cholesterol LDL level increase after pre test from KI (22.71 ± 7.04), KII (21.04 ± 3.87), and KIII (22.37 ± 9.15) into KI (75.31 ± 47.94), KII (51.12 ± 39.28), and KIII (35.34 ± 10.53). The mean of standard deviation between posttest and pretest is KI (58.26), KII (30.32), and KIII (13.87). The result of anova test on the standard deviation between the posttest and pretest indicated the significant result ($p=0.043$). The standard deviation of posttest and pretest is subjects to the Post Hoc test and the result indicated that there was a significant difference between Group I and III of $p = 0.014$ ($p<0.05$), while the insignificant difference result was obtained between groups I and II at p of 0.113 ($p>0.05$).

From the result of research, it can be concluded that red grape juice administration at dosage 18g/kgBW cannot inhibit the increase of cholesterol LDL for 14 days.

Keyword: Grape Juice, LDL cholesterol, *Rattus norvegicus*

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL DAN GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	2
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II LANDASAN TEORI.....	4
A Tinjauan Pustaka.....	4
1. Anggur Merah.....	4
2. Kolesterol.....	9
3. Larutan Propiltiourasil (PTU) 0,1 %.....	10
4. Simvastatin.....	11
B Kerangka Pemikiran.....	12
C Hipotesis.....	12
BAB III METODE PENELITIAN.....	13
A. Jenis Penelitian.....	13
B. Lokasi Penelitian.....	13
C. Subyek Penelitian.....	13
D. Teknik Sampling.....	13
E. Identifikasi variabel Penelitian.....	14
F. Definisi Operasional Variabel.....	14
G. Alur Penelitian.....	19
H. Alat, Bahan dan Cara Kerja.....	20

I. Langkah Penelitian.....	20
J. Teknik Analisis statistik.....	22
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	23
BAB V PEMBAHASAN.....	27
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN.....	30
A. Kesimpulan.....	30
B. Saran.....	30
DAFTAR PUSTAKA.....	31
LAMPIRAN	

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Energi yang digunakan sehari-hari berasal dari makanan. Salah satu sumber makanan yang memberi kontribusi energi terbesar ialah lipid. Lipid terdiri atas trigliserida, fosfolipid, kolesterol, dan lipid lain yang kurang penting (Guyton dan Hall, 1997). Diantara jenis lipid tersebut yang paling banyak berpengaruh terhadap tubuh ialah kolesterol. (Murray *et al* , 2003).

Kolesterol memiliki beberapa manfaat diantaranya sebagai pelapis dinding sel untuk memudahkan nutrisi masuk ke sel tersebut, pertumbuhan jaringan otak dan saraf, pembentukan vitamin D untuk penyerapan kalsium , dan pembentuk hormon seksual (Ganong, 2003). kolesterol juga dapat merugikan kesehatan bila berubah menjadi bentuk *Low Density Lipoprotein (LDL)* / Lipoprotein densitas rendah (Murray *et al* , 2003).

Masyarakat yang memiliki pola makan tinggi kolesterol berimbas pada pola penyakit. Kadar LDL dengan konsentrasi yang tinggi dalam darah bila teroksidasi akan menyebabkan tersumbatnya pembuluh darah. Hal ini merupakan faktor predisposisi pada penyakit jantung koroner dan stroke (Ganong, 2003). Penyakit jantung koroner (PJK) dan stroke merupakan penyebab kematian tertinggi di dunia (Davis *et al* , 2006). Menurut data yang dikeluarkan oleh WHO, 15 juta orang yang meninggal akibat penyakit sirkulasi antara lain 7,2 juta orang meninggal akibat PJK dan 4,6 juta orang akibat stroke (Mangoenprasodjo, 2005).

Pencegahan untuk penyakit PJK dan stroke salah satunya adalah dengan mengatur kadar LDL darah dalam keadaan normal. Banyak tanaman tradisional yang diuji coba untuk dapat mengatasi masalah yang diakibatkan oleh kolesterol LDL ini, salah satunya ialah buah anggur (Simonetti *et al*, 2002). Anggur merah (*Vitis vinifera* Linn.) memiliki beberapa kandungan penting, diantaranya ialah, anthosianin, proanthosianidin, Proisianidin, flavonoid, polifenol, dan resveratrol (Nassiri dan Hosseintadeh, 2009). Anthosianin merupakan senyawa pada kulit anggur (Fine, 2000). Proanthosianidin merupakan golongan tannin struktur hidroksilasi yang bersenyawa kompleks dengan karbohidrat dan protein (Fine, 2000). Senyawa proanthosianidin potensial sebagai antioksidan yang efektif melindungi pembuluh darah, menghambat lipoksigenase, dan siklooksigenase (Terrier *et al*, 2009). Proisianidin (senyawa flavonoid golongan polifenol) terutama terdapat dalam biji anggur. Proanthosianidin mengakibatkan efek hipokolesterol, khususnya Pencegahan dalam mengurangi kolesterol LDL plasma dan meningkatkan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) (Fine, 2000). Senyawa resveratrol terdapat pada kulit anggur yang berfungsi sebagai pertahanan diri dari serangan kondisi lingkungan yang buruk, iklim yang tidak menguntungkan (sangat dingin), serangga, dan fauna patogenik (McElderry, 1999). Pada kulit anggur juga terdapat likopen, yang merupakan pigmen pemberi warna merah pada kulit anggur (Winarsi, 2007).

Anggur dalam masyarakat banyak terdapat dalam bentuk minuman, salah satunya ialah jus. Jus yang dimaksud ialah sari buah yang didapat dengan cara diperas tangan atau dengan menggunakan *juicer* ekstraktor

Berdasarkan kandungan buah anggur merah tersebut, peneliti ingin menguji apakah jus buah anggur merah tersebut benar memiliki potensi dalam menghambat peningkatan kadar LDL kolesterol darah dengan cara mengujicobakan pada tikus putih.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas maka peneliti merumuskan masalah penelitian yaitu apakah jus buah anggur merah dapat memberikan efek penghambatan terhadap peningkatan kadar LDL kolesterol darah tikus putih yang mendapatkan diet hiperkolesterolemik ?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui efek jus anggur merah terhadap penghambatan peningkatan kadar LDL kolesterol darah pada tikus putih yang mendapatkan diet hiperkolesterolemik.

D Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini dapat memberikan informasi tentang efek jus anggur merah terhadap penghambatan peningkatan kadar LDL kolesterol darah pada tikus putih yang mendapatkan diet hiperkolesterolemik

2. Manfaat Praktis

Menggali potensi bahan obat alami Indonesia khususnya untuk buah anggur

BAB II LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Anggur Merah

a. Taksonomi

Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Rhamnales
Suku	: Vitaceae

Genus : *Vitis*
Spesies : *Vitis vinifera* (Greybeard, 2008)

b. Morfologi

Anggur merupakan tanaman perdu yang merambat dari family vitaceae yang memiliki akar tunggang dan batang bulat yang jelas berkayu (Wiryanta, 2007). Batang *Vitis vinifera* dapat tumbuh sampai 15 meter dan tumbuh ke arah cahaya matahari, dimana pertumbuhannya membutuhkan alat penunjang yaitu cabang pembelit (Setiadi, 2008).

Daun *Vitis vinifera* termasuk daun tunggal. Ujung daun runcing dengan pangkal daun tidak bertemu, terpisah oleh pangkal ibu tulang daun dan berbentuk *emarginatus*. Tepi daunnya mempengaruhi bentuk daun yaitu bertepi daun berlekuk menjari. Susunan tulang daun menjari. Daun berwarna hijau dengan permukaan daun berambut (Wiryanta, 2007).

Bunga *Vitis vinifera* termasuk bunga majemuk tidak berbatas yang berbentuk malai, bersifat polisimetris dengan tajuk bunga beraturan membentuk mangkuk. Bunga yang semula berbentuk malai, setelah berbuah menjadi bentuk lonjong atau bulat dengan ukuran 1-2,5 cm (Wiryanta, 2007).

Buah *Vitis vinifera* ialah buah sejati tunggal yang berdaging. Bentuknya hampir bulat dengan permukaan epikarpiumnya dilapisi tepung. Biji buah *Vitis Vinifera* berbentuk lonjong berwarna coklat muda

c. Penyebaran

Anggur berasal dari Armenia, namun budidaya anggur sudah dikembangkan di Timur Tengah sejak 4000 SM. Anggur mulai menyebar ke Mexico, Amerika Selatan, Afrika selatan, Asia termasuk Indonesia dan Australia sejalan dengan perjalanan Columbus (Setiadi, 2008). Penyebaran ini juga menjadikan anggur punya beberapa sebutan seperti grape di Eropa dan Amerika, orang China menyebut pu tao dan di Indonesia disebut anggur (Nassiri dan Hosseintadeh, 2009).

Anggur yang bisa dimakan hanya dua jenis yaitu *Vitis vinifera* dan *Vitis labrusca*. Tanaman anggur jenis *Vitis vinifera* mempunyai ciri :

1. Kulit tipis, rasa manis, segar dan mampu tumbuh dari dataran rendah hingga 300 m dari permukaan laut beriklim kering.

2. Termasuk jenis ini adalah Gros Colman, Probolinggo Biru dan Putih, Situbondo Kuning, Alphonso Lavallo dan Golden Champion.

Sedangkan tanaman anggur jenis *Vitis labrusca* mempunyai ciri :

1. Kulit tebal, rasa masam, kurang segar dan mampu tumbuh dari dataran rendah hingga 900 m dari permukaan laut.

2. Termasuk jenis ini adalah Brilliant, Delaware, Carman, Beacon dan Isabella.

Jenis anggur yang banyak dikembangkan di Indonesia dan direkomendasi oleh Departemen Pertanian sebagai jenis unggul adalah jenis *Vitis vinifera* dari varietas Anggur Probolinggo Biru dan Alphonso Lavallo (Setiadi, 2008).

Pada saat ini daerah penanaman anggur semakin meluas baik di daerah sentra produksi lama maupun daerah pengembangan baru, sehingga diharapkan nilai produksi dapat meningkat. Pada awalnya daerah sentra anggur di dataran rendah seperti Probolinggo menanam varietas anggur Probolinggo Biru dan Probolinggo Putih, tetapi pada tahun 2002 anggur merah varietas Probolinggo Super dan Prabu Bestari mulai menyebar dan berkembang di daerah ini, sebagai tanaman pekarangan maupun ditanam pada skala luas (Setiadi, 2008). Anggur merah ini mempunyai sejumlah keunggulan dibandingkan jenis lain yaitu rasanya manis dengan tekstur yang keras, jumlah biji relatif sedikit, dan tidak mudah busuk dalam penyimpanan.

d. Khasiat dan Penggunaan

Kandungan zat yang terdapat dalam anggur merah sudah diproduksi secara massal di berbagai negara sebagai obat fitofarmaka dan dipakai untuk pengobatan berbagai macam penyakit, antara lain sebagai antioksidan, obat kardiovaskular, hematologi, anti inflamasi, dan anti neoplastik (Xia *et al*, 2007). Penelitian di Jepang mengungkapkan bahwa anggur merah dapat digunakan untuk menurunkan *atherosclerosis* (Yamakoshi *et al*, 1999). Penelitian Di China juga mengungkapkan anggur merah digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol dan digunakan pula melindungi sel dari sinyal proinflamasi melalui mekanisme pengaturan distribusi kolesterol (Xia *et al*, 2007).

Anggur merah dapat digunakan untuk melancarkan aliran darah dan sebagai obat

penderita liver, ginjal, dan sistem pencernaan. Jus anggur bermanfaat bila diberikan pada penderita tukak lambung, radang usus kecil, migrain, radang sendi, rematik, dan keracunan. Anggur juga dapat mencegah kanker karena dapat menghentikan penyebaran dari sel – sel kanker (Astawan dan Andreas, 2008). Manfaat anggur lainnya yaitu mampu membersihkan toksin - toksin didalam hati, membantu memperbaiki fungsi ginjal, pembentukan sel darah, antivirus dan antikanker, serta mampu mencegah kerusakan gigi. Anggur bersifat basa sehingga dapat menetralkan darah yang terlalu asam dan berefek meredakan tubuh (Wiriyanta, 2007)

e. Kandungan

Beberapa kandungan yang terdapat pada anggur, antara lain:

1. Resveratrol

Resveratrol (*trans-3,5,4'-trihydroxystilbene*) merupakan komponen terbesar yang terdapat pada kulit anggur (McElderry, 1999). Resveratrol ini hanya didapatkan pada anggur merah dan tidak pada anggur putih. Zat ini mulai diteliti dan digunakan sebagai obat alami setelah melihat *French Paradox* (Kopp, 1998). Fenomena rendahnya insidens penyakit jantung pada orang Prancis yang makan dengan menu yang mengandung lemak relatif tinggi. Setelah diamati ternyata mereka dalam sehari pasti meminum *wine* (Minuman Anggur merah) (McElderry, 1999). Resveratrol terdapat pula pada tanaman merambat, akar, bibit, dan batang, namun kandungan terbesar terdapat pada kulit (50-100 mg/ g) (Jang, 1997).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa resveratrol merupakan antioksidan yang efektif. Zat ini menghambat peroksidasi lipid dari LDL (Belguendouz *et al*, 1998). Resveratrol juga melindungi sitotoksisitas dari LDL yang teroksidasi dan melindungi sel dari lipid peroksidasi. Resveratrol digunakan untuk *atherosclerosis* melalui mekanisme penghambatan agregasi platelet (Rotondo, 1998). Efek tersebut dapat dijadikan untuk mencegah infark miokard (Penumathsa *et al*, 2006).

2. Anthosianin

Anthosianin merupakan golongan *phytochemical* dari buah anggur merah. Zat ini tidak hanya memberi warna pada kulit anggur, tetapi juga memiliki khasiat tertentu.

Beberapa penelitian menunjukkan efek proteksi dari anthosianin sebagai antioksidan untuk melindungi dari kerusakan oksidatif (Xia *et al*, 2007). Terhadap kolesterol darah, anthosianin memiliki efek yang tidak signifikan terhadap kenaikan LDL kolesterol (Nielsen *et al*, 2005)

3. Proanthosianidin

Proanthosianidin merupakan komponen polifenol terbesar pada buah anggur (Yamakoshi *et al*, 1999). Senyawa ini potensial sebagai antioksidan yang efektif melindungi pembuluh darah, menghambat lipoksigenase, dan siklooksigenase (Kemper *et al*, 2002). Proanthosianidin juga memiliki kemampuan untuk mengikat reaktif oksigen dengan demikian akan menghambat oksidasi dari LDL. Hal ini jelas menggambarkan aktifitas anti *atherosclerosis* (Yamakoshi *et al*, 1999).

4. Likopen

Likopen merupakan pigmen yang disintesis secara alami yang memiliki fungsi untuk melindungi sel dari serangan fotosensitisasi dan mempersiapkan pigmen penyerap sinar selama fotosintesis. Likopen memiliki sifat yang larut dalam lemak komponen ini didapati terkonsentrasi dalam bentuk LDL dan *very low density lipoprotein* (VLDL). Senyawa ini juga dapat menetralkan reaksi oksidasi pada kolesterol LDL. Sifat anti kolesterol likopen ditunjukkan melalui penghambatan terhadap aktifitas HMG-CoA reduktase, namun sifat anti kolesterol ini sangat rendah (Winarsi, 2007).

Selain itu, buah anggur juga memiliki beberapa zat penting seperti air 70-80%, karbohidrat 15-25%, asam organik 0,3-1,5%, tanin 0,01-0,1%, protein 0,0001-0,01%, amino 0,017-0,011%, amoniak 0,001-0,012%, dan mineral 0,3-0,6% (Setiadi, 2008).

Tabel 1. Kandungan Gizi Buah Anggur Setiap 100 Gram (Wiryanta, 2007)

No.	Komponen	Jumlah
1	Energi	75 kal
2	Protein	0,4 gram

3	Lemak	0,36 gram
4	Karbohidrat	19,7 gram
5	Kalsium	6 gram
6	Fosfor	24,4 gram
7	Serat	1,7 gram
8	Besi	0,4 gram
9	Vitamin A	66 SI
10	Vitamin B1	0,05 mg
11	Vitamin B2	0,02 mg
12	Vitamin C	3 mg
13	Niasin	0,2 gram

2. Kolesterol

a. Sintesis

Lebih dari separuh jumlah kolesterol tubuh berasal dari sintesis endogen dan sisanya berasal dari makanan sehari-hari. Pada manusia, hakekatnya semua sel yang mengandung inti mampu mensintesis kolesterol. Fraksi mikrosomal dan sitosol terutama bertanggung jawab atas sintesis kolesterol (Murray *et al*, 2003).

Biosintesis endogen kolesterol dibagi menjadi beberapa tahap. Pertama asetil-koA membentuk HMG-CoA dan mevalonat. Reaksi ini terjadi di luar mitokondria yang dikatalisis oleh enzim tiolase. HMG-CoA dikonversi menjadi mevalonat yang dikatalisis oleh enzim HMG-CoA reduktase. Selanjutnya mevalonat membentuk unit isoprenoid yang aktif. Enam unit Isoprenoid membentuk skualen. Selanjutnya skualen dikonversi menjadi skualen 2,3 epoksida. Proses ini menggunakan enzim oksidase di dalam retikulum endoplasmik (enzim skualen epoksidase). Setelah proses ini, selanjutnya terjadi penutupan cincin skualen menjadi lanosterol. Lanosterol dikonversi menjadi kolesterol. Proses ini berlangsung di dalam membran retikulum endoplasma (Murray *et al*, 2003)

b. Metabolisme

Ester kolesterol dalam makanan akan dihidrolisis menjadi kolesterol bebas. Kolesterol bebas ini akan dikombinasikan dengan garam empedu untuk mendapatkan bentuk negatif polimolekuler yang disebut *micelles* (Shill *et al*, 2006). *micelles* ini akan diabsorpsi dan digabungkan dengan protein. Bentuk ini dikenal sebagai kilomikron. kilomikron akan didegradasi oleh lipoprotein lipase pada jaringan untuk mengambil trigliserida. Sisa dari kilomikron yang "miskin" trigliserida dan "kaya" kolesterol ini disebut kilomikron *remnant* (Shill *et al*, 2006). kilomikron *remnant* ini akan dibawa ke hepar dan diubah menjadi VLDL atau HDL.

VLDL dengan cepat diubah menjadi LDL yang memiliki densitas rendah selanjutnya akan diedarkan melalui pembuluh darah. LDL ini sangat mudah mengendap dan menumpuk pada lumen pembuluh darah (Shill *et al*, 2006). LDL yang menumpuk ini mudah sekali teroksidasi dan menyebabkan sumbatan pembuluh darah (*foam cell*).

HDL yang dibentuk dihepar memiliki fungsi yang berlawanan dengan LDL. Fungsi penting HDL adalah membuang kolesterol yang tidak teresterifikasi dari sel dan lipoprotein lain yang terakumulasi serta mengembalikan kolesterol ke hepar untuk diekskresikan ke empedu (Shill *et al*, 2006).

3. Larutan Propiltiourasil (PTU) 0,1%

Hormon triiodotironin (T_3) meningkatkan ekspresi reseptor kolesterol LDL di hepar sebanyak 25% setelah 4 jam. Larutan PTU 0,1 % dapat menurunkan translasi mRNA yang akan menjadi reseptor kolesterol LDL di hepar. Penurunan translasi menjadi reseptor kolesterol LDL menurunkan ekspresi reseptor kolesterol LDL di permukaan hepar (Salter *et al*, 1991).

4. Simvastatin

Statin merupakan obat hipolipidemik yang paling efektif dan aman. Obat ini terutama digunakan untuk menurunkan kolesterol. Statin bekerja dengan cara menghambat enzim HMG-CoA reduktase (Suyatna, 2007). Akibat penurunan kolesterol tersebut, maka *Sterol Regulatory Element Binding Protein* (SREBP) pada membran sel dipecah oleh protease dan dibawa ke nukleus. Selanjutnya faktor transkripsi akan berikatan dengan gen reseptor LDL, sehingga terjadi peningkatan sintesis reseptor LDL pada membran hepatosit. Peningkatan

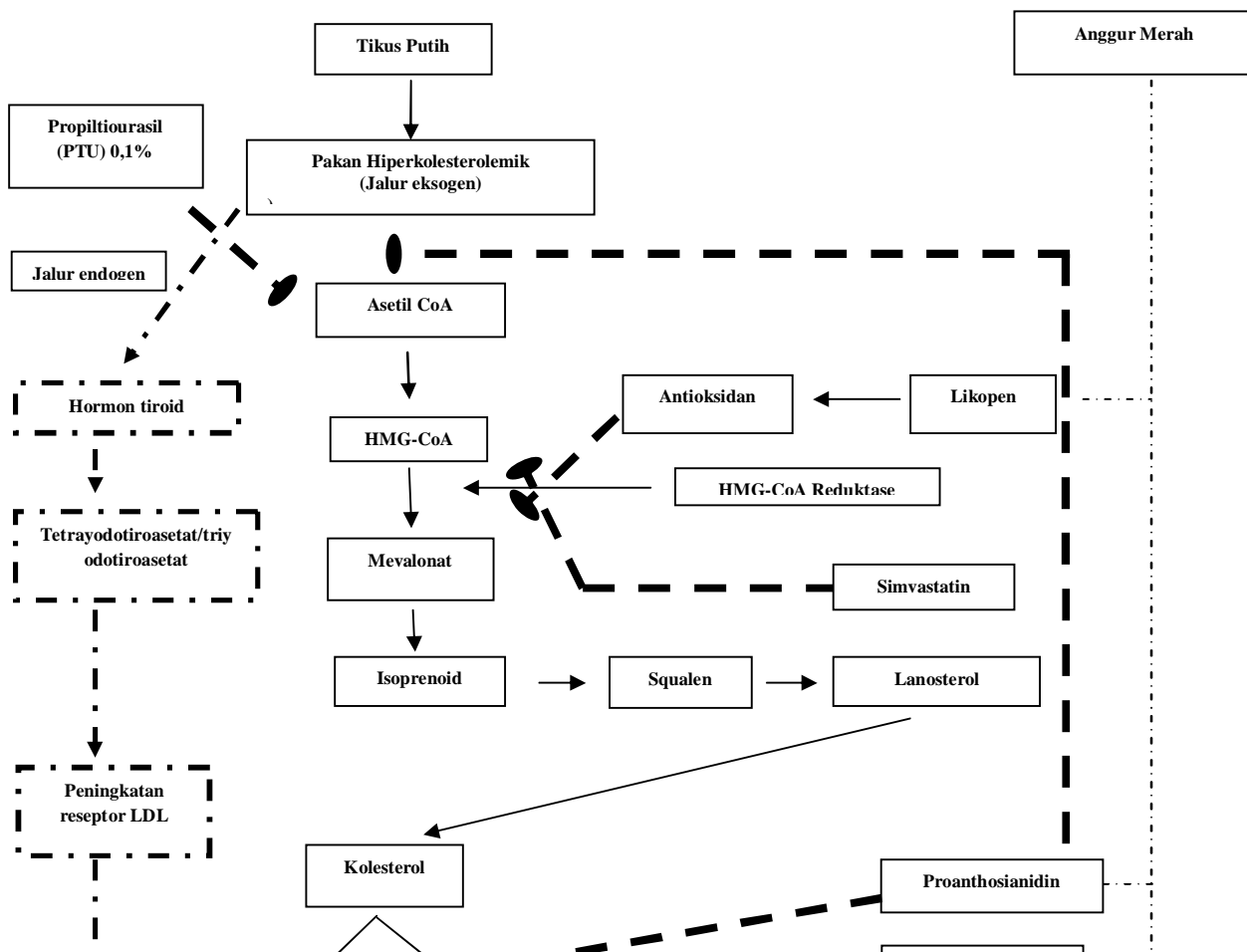
tersebut akan menurunkan kadar LDL lebih besar lagi (Suyatna, 2007).

Simvastatin memiliki waktu paruh sekitar 1-3 jam. Obat ini sebagian besar terikat protein plasma. Sebagian besar diekskresi oleh hati ke dalam cairan empedu dan sebagian kecil lewat ginjal.

Pemberian statin sebaiknya dimulai dengan dosis kecil yang lebih tinggi sampai didapatkan efek yang diinginkan. Dosis simvastatin yang biasa digunakan ialah 10 mg/hari dan maksimal 40 mg/hari pada sore hari (MIMS, 2006).

Efek samping statin yang potensial berbahaya adalah miopati dan rbdomiolisis. Efek samping lain yang dapat terjadi adalah gangguan saluran cerna, sakit kepala, rash, neuropati perifer, dan sindrom lupus (Suyatna, 2007).

B. Kerangka Pemikiran



→ : Memacu
--● : Menghambat

C. Hipotesis

Pemberian jus buah anggur merah (*Vitis vinifera* Linn.) dapat menghambat kenaikan kadar kolesterol LDL tikus putih (*Rattus norvegicus*)

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *pre and posttest controlled group design*.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Unit IV Universitas Gajah Mada Yogyakarta

C. Subyek Penelitian

Subyek penelitian yang digunakan adalah tikus putih jantan, galur Sprague-Dawley sebanyak 27 ekor, berumur antara 3-4 bulan dengan berat antara 200-300 g yang diperoleh dari LPPT Unit IV Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

D. Teknik Sampling

Teknik sampling yang dilakukan adalah insidental sampling. Hewan uji dibagi menjadi 3 kelompok (masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus). Penetapan besar sampel dilakukan dengan menggunakan rumus federer (Maryanto dan Fatimah, 2004).

$$(n-1) \times (t-1) > 15$$

Keterangan n = besar sampel tiap kelompok

t = banyaknya kelompok

$$(n-1) \times (t-1) > 15$$

$$(n-1) \times (3-1) > 15$$

$$(n-1) \times 2 > 15$$

$$(n-1) > 7,5$$

$$n > 8,5$$

Dengan demikian, setiap kelompok minimal harus terdapat 9 sampel. Peneliti memilih menggunakan 9 sampel pada tiap kelompok.

E. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : jus anggur merah (*Vitis vinifera* Linn.), Simvastatin

2. Variabel terikat : kolesterol LDL darah
3. Variabel pengganggu
 - a. Dapat dikendalikan : jenis kelamin, faktor hormonal, minuman, makanan, umur, stres.
 - b. Tidak dapat dikendalikan : penyakit hati, penyakit pankreas

F. Definisi Operasional Variabel

1. Jus Anggur Merah

Jus dibuat oleh peneliti dengan menggunakan juicer buah. Prinsipkerjanya ialah dengan memasukkan bahan kedalam juicer dengan ditambahkan air sesuai dengan perhitungan peneliti dibawah.

Dosis anggur yang disarankan untuk dikonsumsi adalah 100 g per hari (Harry dan Apriadji, 2007). Menurut sumber lain, untuk dibuat jus, dibutuhkan 150-200 g per hari (Astawan dan Andreas, 2008). Peneliti menggunakan dosis 200 g per hari. Dosis tersebut dikonversikan pada tikus putih dengan faktor konversi 0,018, maka dosis anggur yang diberikan :

$$\begin{aligned}
 &= \text{Berat anggur} \times \text{faktor konversi} \\
 &= 200 \text{ g} / 70 \text{ kgBB manusia} \times 0,018 \\
 &= 3,6 \text{ g} / 200 \text{ gBB tikus putih} \\
 &= 18 \text{ g} / \text{KgBB tikus putih}
 \end{aligned}$$

Mengingat kapasitas lambung tikus putih maksimal 5 ml, maka peneliti memberikan dosis 3,6 g/ hari tersebut dalam 4 ml/hari (Ngatidjan, 1991). Maka dilakukan pengenceran dengan menggunakan aquades sebanyak:

$ \frac{200 \text{ g}}{x} = \frac{3,6 \text{ g}}{4 \text{ ml}} \longrightarrow \begin{aligned} x &= 222,22 \text{ ml aquades} \\ x &\approx 222 \text{ ml aquades} \end{aligned} $
--

Peneliti memberikan jus pada tikus per sonde dalam 2 kali sehari, yaitu pagi hari (2 mL) dan sore hari (2 mL)

2. Simvastatin

Peneliti menggunakan dosis simvastatin 10 mg/hari yang diberikan pada sore hari.

Jika dikonversikan pada tikus, maka:

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

$$= 0,18 \text{ mg} / 200 \text{ gBB tikus putih}$$

$$= 0,9 \text{ mg/KgBB tikus putih}$$

Peneliti memberikan simvastatin per sonde pada tikus putih dengan penambahan aquades sebanyak 111 ml dalam 2 ml. Perhitungan pengenceran sebagai berikut :

$\frac{10 \text{ mg}}{x}$	=	$\frac{0,18}{2}$	→	$x = 111,11 \text{ ml}$
				$x \approx 111 \text{ ml}$

3. Pakan Hiperkolesterolemik

Peneliti menggunakan pakan hiperkolesterolemik berupa campuran pakan standar, kuning telur itik, minyak babi, minyak kelapa, dan kristal kolesterol dengan perbandingan:

- Pakan standar 885 g

- Minyak babi 100 g

- Minyak kelapa 10 g

- Kristal kolesterol 5 g

Pakan hiperkolesterolemik ini diberikan secara *ad libitum*.

Pemberian kuning telur itik per sonde sebanyak 5% dari total pangan sehingga didapatkan dosis sebagai berikut:

$$= 5\% \times 1000 \text{ g}$$

$$= 50 \text{ g}$$

Pemberian kuning telur itik diberikan kepada semua subjek penelitian sebanyak 27 ekor tikus putih (200 gBB) sehingga volume per sonde :

- = 50 g/27 ekor/ 200 gBB
- = 1,85 g/200 gBB tikus putih
- ≈ 1,9 g/200 gBB tikus putih
- = 9,5 g/KgBB tikus putih

Pemberian kuning telur itik per sonde dua kali sehari pada pagi hari (jam 08.00) dan sore hari (jam 16.00) (Bartov *et al*, 2008). Kedua pakan hiperkolesterolemik tersebut diberikan selama 2 minggu.

4. Hormon Tiroid

Hormon tiroid adalah hormon yang mengatur metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak (Guyton dan Hall, 1997). Hormon tiroid menurunkan kadar kolesterol darah melalui peningkatan jumlah reseptor kolesterol LDL di hepar terutama triiodotironin (T₃) (Ganong, 2003).

5. Minuman

Minuman tikus putih berupa larutan propiltiourasil (PTU) 0,1 % *ad libitum* (Salter *et al*, 1991). Pemberian PTU ini mempengaruhi sintesis hormon tiroid terutama T₃, sehingga pengaruh penurunan kolesterol LDL yang terjadi bukan disebabkan oleh aktifitas tiroid, melainkan disebabkan oleh jus buah anggur (Salter *et al*, 1991) Dosis PTU didapat dalam sediaan PTU dalam sediaan tablet 100 mg sebanyak 10 tablet, lalu dihaluskan dan dilarutkan dalam 1 L aquades sehingga didapat dosis:

- = 10 tablet x 100 mg/1 L aquades
- = 1000 mg /1000 mL aquades
- = 1 g/1000 mL aquades
- = 0,1g/100 mL
- = 0,1 %

6. Umur

Umur tikus putih sangat mempengaruhi penelitian. Kolesterol tikus putih meningkat pada umur 6 minggu dan mencapai kadar minimum pada usia 11-16 minggu (Uchida *et al*, 2008). Peneliti memilih tikus putih berusia 3 bulan (12minggu) sebab sintesis kolesterol pada usia 12 minggu sudah stabil, sehingga peningkatan kadar kolesterol diduga terjadi karena faktor makanan saja.

7. Jenis Kelamin

Jenis kelamin sangat berpengaruh pada penelitian ini. Peneliti memilih menggunakan tikus putih jantan, strain Spargue-Dawley, usia 3 bulan dengan berat badan 200-300 g. Tikus putih jantan memiliki sedikit hormon estrogen dibandingkan dengan betina. Hormon estrogen dapat meningkatkan katabolisme kolesterol LDL sehingga dikhawatirkan akan menurunkan kadar kolesterol LDL darah (Ganong, 2003)

8. Stres

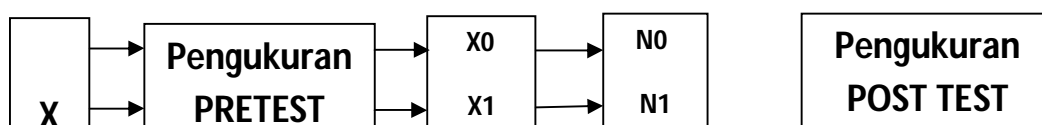
Stres dapat meningkatkan kolesterol LDL darah. Keadaan tersebut merangsang pelepasan epinefrin. Epinefrin akan merangsang insulin. Insulin yang dikeluarkan akan merangsang pengeluaran enzim lipoprotein lipase yang akan meningkatkan kolesterol *remnant*. Kolesterol *remnant* ini akan dibawa ke hati dan menghasilkan VLDL yang secara cepat dikonversi menjadi LDL (Murray *et al*, 2003). Peneliti mengendalikan faktor stres dengan mengisi setiap kandang 1 ekor tikus putih dan menjaga suhu kandang tetap 22-25°C .

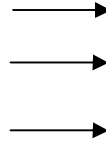
9. Kadar LDL Kolesterol Darah

Pengukuran kadar kolesterol dilakukan 2 kali, yaitu 1 x pengukuran *pretest* (untuk mengetahui keadaan awal LDL kolesterol darah tikus putih) dan 1 x pengukuran *posttest* (setelah 2 minggu). Peneliti memeriksa kadar LDL kolesterol setelah puasa 12 jam. Hal itu dilakukan untuk menghindari kekeruhan plasma akibat trigliserida dan kilomikron yang mengganggu pengukuran kolesterol LDL (Ragland *et al*, 2000). Peneliti menggunakan metode *Direct Homogenous*, yaitu satu ml darah tikus putih dipusingkan dengan kecepatan 1500 rpm selama 15-20 menit untuk memisahkan serum dari darah. Peneliti kemudian mengambil 10 ml serum kemudian ditambah 1000 ul reagen pengukuran LDL (merek *Roche Diagnostic cat no.148923*). Setelah itu, tabung sampel diinkubasi selama 20 menit. Peneliti memasukkan sampel serum ke dalam spektrofometer dan hasil pembacaan spektrofometer dalam satuan mg/dL dengan panjang gelombang 500 nm (Rosari, 2004)

G. Alur Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah *Pre test and post Test Controlled Group Design*.





Keterangan :

X : Subjek Penelitian.

X₀ : Kelompok perlakuan I (kontrol) diberi pakan hiperkolesterolemik 100gr/KgBB *ad libitum* dan pemberian kuning telur 9,5 g/KgBB per sonde. Kuning telur tersebut diberikan dua kali sehari (08.00 dan 16.00) dengan pemberian placebo 2 mL/ 200 gBB per sonde pada pagi dan sore hari selama 2 minggu.

X₁ : Kelompok perlakuan I diberi jus anggur 2 mL/200 gBB per sonde pada pagi hari dan sore hari secara bersamaan selama 2 minggu.

X₂ : Kelompok perlakuan I diberi obat penurun kolesterol darah (simvastatin) 0,9 mg/ KgBB tikus putih pada sore hari.

N₀ : Pengamatan kadar LDL kolesterol pada kelompok kontrol negatif.

N₁ : Pengamatan kadar LDL kolesterol pada kelompok perlakuan II.

N₂ : Pengamatan kadar LDL kolesterol pada kelompok kontrol positif

H. Alat, Bahan dan Cara Kerja

1. Alat dan Bahan

a. Alat-alat yang digunakan:

1. Kandang beserta kelengkapan pemberian makan
2. Sonde lambung

3. Tabung mikro kapiler
 4. *Sput needle feeding*
 5. Timbangan Sartorius
 6. Gelas ukur
 7. Alat dan tabung sentrifugasi
 8. Rak tabung reaksi
 9. Pengaduk
 10. Pipet berskala
 11. Termometer
 12. Spektrofometer
- b. Bahan-bahan yang digunakan
1. Anggur
 2. Aquades
 3. Larutan propiltiourasil
 4. Pakan standar pellet 21
 5. Pakan hiperkolesterolemik (campuran pakan standar, kuning telur itik, kristal kolesterol, minyak babi, dan minyak kelapa
 6. Reagen pemeriksaan kolesterol LDL

I. Langkah Penelitian

Langkah I : Adaptasi tikus putih

Tikus putih jantan diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu di LPPT Unit IV Universitas Gajah Mada (UGM). Masa adaptasi tikus putih diberi makan standar.

Langkah II : Membuat jus anggur.

Anggur sebanyak 200 g dibeli dipasar, kemudian dipilih anggur dalam kondisi baik (tidak busuk), dicuci bersih dan diblender dengan aquades 222 ml. Kemudian diambil 4 ml (dengan kandungan 3,6 g) dan diberikan per sonde.

Langkah III : Membuat pakan hiperkolesterolemik

Peneliti menggunakan pakan hiperkolesterolemik berupa campuran pakan standar, kuning telur itik, minyak babi, minyak kelapa, dan kristal kolesterol dengan komposisi:

1. Pakan pellet standar

2. Minyak babi

Lemak babi diperoleh dari LPPT Unit II UGM Yogyakarta. Lemak babi ini dipanaskan dalam wajan sampai terbentuk minyak babi cair

3. Minyak kelapa

Minyak kelapa diperoleh dari LPPT Unit II UGM Yogyakarta. Minyak kelapa akan menekan reseptor *mediated clearance* kolesterol LDL sehingga katabolisme kolesterol LDL terganggu (Mihardja, 1999)

4. Kristal kolesterol

Kristal kolesterol didapatkan dari Laboratorium Biokimia UNS dalam bentuk padat. Kristal ini dihaluskan menjadi serbuk lalu dicampur dengan pakan standar.

5. Kuning telur itik

Kuning telur itik diperoleh dari LPPT Unit II UGM Yogyakarta.

Langkah IV : Pembagian subyek.

Penelitian dibagi dalam 3 kelompok yaitu :

1. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol negatif

2. Kelompok 2 sebagai kelompok perlakuan I

3. Kelompok 3 sebagai kelompok kontrol positif

Langkah V : Pengambilan darah.

Sebelum pengambilan darah, peneliti memuaskan subjek penelitian selama 12 jam setelah 1 minggu (masa adaptasi). Pengambilan darah dilakukan melalui vena orbitalis dengan tabung mikrokapiler sebanyak 1 mL setiap ekor, lalu sampel dikirim ke UPPT Unit II UGM Yogyakarta untuk mendapatkan hasil kolesterol sebelum perlakuan (*pretest*)

Langkah VI : Perlakuan

Pemberian pakan hiperkolesterolemik pada tikus putih untuk kelompok I, Pemberian pakan hiperkolesterolemik dan jus anggur pada kelompok II, dan pemberian pakan hiperkolesterolemik dan simvastatin pada kelompok III. Selain itu, peneliti juga memberikan

PTU 0,1% *ad libitum* pada tiap kelompok untuk menetralkan fungsi tiroid pada tikus putih. Perlakuan dilakukan selama 14 hari.

Langkah VII: Pengukuran (Pengamatan hasil)

Membandingkan rata-rata aktivitas LDL Kolesterol darah antara kelompok 1, kelompok 2, dan kelompok 3 setelah 14 hari. Pengambilan darah sama seperti awal (dengan puasa 12 jam) untuk dilakukan pengukuran dan mendapatkan hasil kolesterol LDL *post test*. Peneliti menggunakan teknik *Direct homogenous* dalam pengukuran LDL

Langkah VIII: Analisis Data

Peneliti menganalisis hasil data primer yang didapatkan (*pretest* dan *posttest*) secara statistik.

J. Teknik Analisis statistik

Data yang didapat dianalisis secara statistik menggunakan uji parametrik *Anova one way* dan bila ada perbedaan rata-rata yang bermakna dilanjutkan *Post hoc Test* dengan derajat kepercayaan $\alpha = 0,05$.

BAB IV HASIL PENELITIAN

Sampel darah tikus diambil dengan tabung mikropipiler sebanyak 1 mL melalui vena orbitalis untuk dilakukan pengukuran. Pemeriksaan kadar LDL Kolesterol sebelum perlakuan sangat penting agar peneliti mengetahui keseragaman kadar LDL Kolesterol tikus putih dari ketiga kelompok. Rerata kadar LDL Kolesterol sebelum perlakuan dapat dilihat dari hasil sebagai berikut :

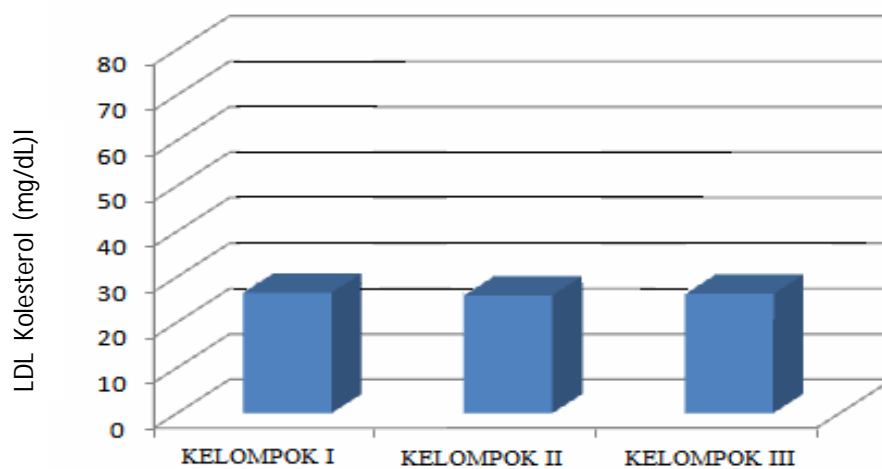
Tabel 2. Data kadar LDL sebelum perlakuan (*pretest*)

Kelompok	Subyek	Kadar LDL Kolesterol
I	9	22,71± 7,04
II	9	21,04±3,87

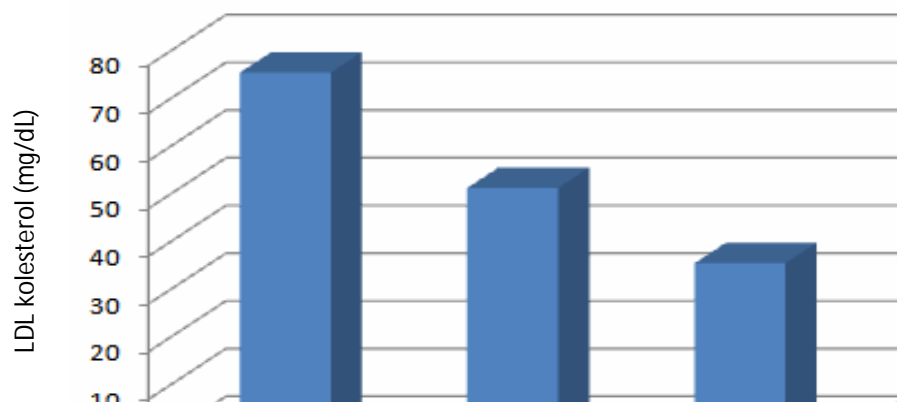
Setelah dilakukan pengukuran *pretest*, peneliti memulai perlakuan selama 14 hari. Hasil yang didapat setelah 14 hari dapat dilihat sebagai berikut :

Tabel 3. Data kadar LDL setelah perlakuan (*posttest*)

Kelompok	Bahan Uji	Subyek	Kadar LDL Kolesterol
I	Aquadest 2 mL/200gBB	9	75,31± 47,95
II	Jus anggur 2mL/200gBB	9	51,12±39,28
III	Simvastatin 0,9mg/KgBB	9	35,34±10,53



Gambar 1. Kadar LDL sebelum perlakuan (*pretest*)

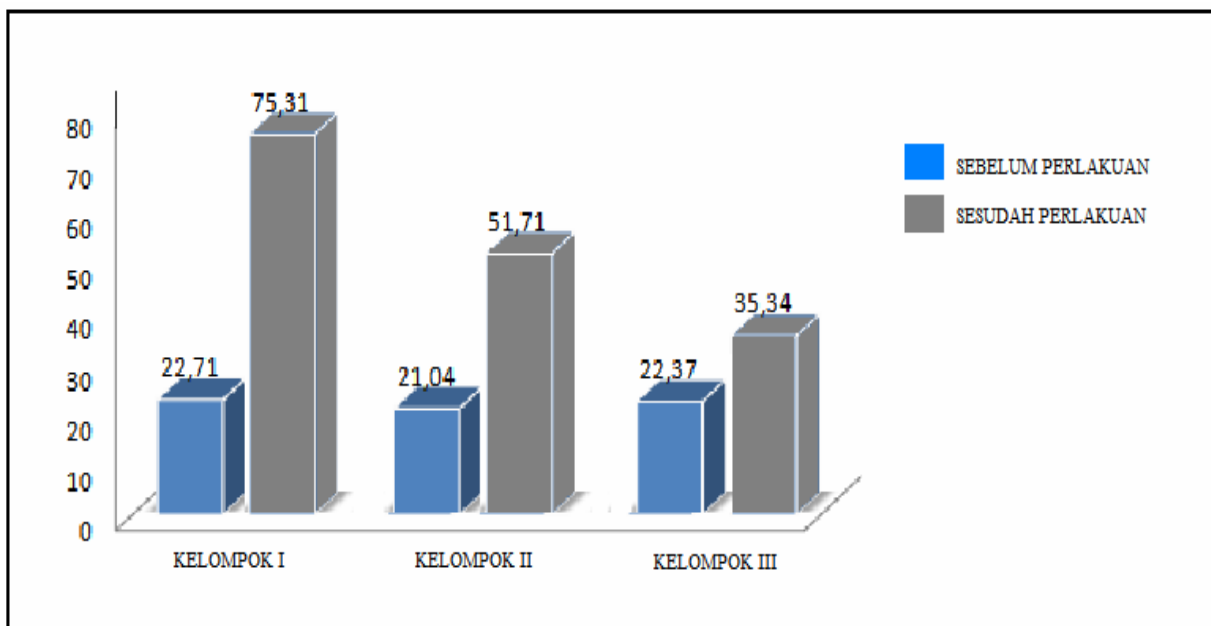


Gambar 2. Kadar LDL setelah perlakuan (*posttest*)

Peneliti menggunakan uji normalitas Kolmogorov-Sminov test untuk melihat sebaran data hasil penelitian. Hasil perhitungan SPSS menyatakan bahwa data tersebar normal (Lampiran 6). Selanjutnya peneliti menganalisa data kelompok I, II, dan III dengan menggunakan uji *oneway anova*. Hasil analisa didapatkan taraf signifikansi sebesar 0,00 ($p < 0,05$) (Lampiran 7). Jadi dapat dikatakan bahwa adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok I, II, dan III.

Karena terdapat perbedaan antara kelompok I, II dan III, maka selanjutnya digunakan uji *Post Hoc test*. Hasil analisa antara kelompok I *pretest* dibandingkan dengan kelompok I *posttest* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan $p=0,00$ ($p<0,05$). Kelompok II *pretest* dibandingkan dengan kelompok II *posttest* juga terdapat perbedaan yang signifikan dengan dengan $p= 0,18$ ($p<0,05$). Sedangkan kelompok III *pretest* yang dibandingkan dengan kelompok III *posttest* menunjukkan tidak adanya hasil yang signifikan, yaitu dengan taraf signifikansi sebesar 0,298 ($p>0,05$)

Selanjutnya peneliti membandingkan rerata kadar LDL Kolesterol sebelum dan setelah perlakuan pada ketiga kelompok, dan didapatkan hasil berikut :



Gambar 3. Perbandingan rerata kadar LDL Kolesterol sebelum dan setelah perlakuan .(kelompok 1 perlakuan dengan aquadest 2 mL/200gBB; kelompok II perlakuan dengan jus anggur 2mL/200gBB; kelompok III perlakuan dengan simvastatin 0,9mg/KgBB).

Peneliti menghitung selisih antara hasil data kelompok I,II, dan III *posttest* dan *pretest* pada masing-masing kelompok kemudian membandingkannya (Lampiran 5). Selanjutnya digunakan uji anova untuk melihat taraf signifikan dari selisih hasil pada masing-masing kelompok. Hasil uji anova menyatakan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara selisih data *posttest* dan *pretest* pada masing-masing kelompok dengan $p=0,43$ ($P<0,05$) (Lampiran 9). Karena hasil yang signifikan, selanjutnya data diolah dengan uji Post Hoc (Lampiran 10). Penghambatan kadar LDL kolesterol pada kelompok II bila dibandingkan dengan kelompok I ternyata tidak signifikan dengan taraf signifikan $p=0,133$ ($P<0,05$). Bila dibandingkan dengan kelompok III yang menggunakan Simvastatin, dihasilkan perbedaan yang signifikan antara kelompok I dengan kelompok III dengan taraf signifikan $p=0,014$ ($P< 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa jus anggur tidak terbukti secara signifikan dapat menghambat kenaikan kadar LDL kolesterol darah pada tikus putih yang mendapat pakan hiperkolesterolemik.

BAB V

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan kadar LDL kolesterol sebelum perlakuan pada kelompok I adalah $22,71 \pm 7,04$, kelompok II adalah $21,04 \pm 3,87$, dan kelompok III adalah $22,37 \pm 9,15$. Setelah pengukuran *pretest*, semua subjek penelitian diberikan pakan hiperkolesterolemik dan larutan PTU 0,1 % selama 14 hari untuk mendapatkan keadaan hiperkolesterolemia. Setelah perlakuan, kembali diukur kadar LDL kolesterol tikus putih dan didapatkan hasil pada kelompok I adalah $75,31 \pm 47,95$, kelompok II adalah $51,12 \pm 39,28$ dan kelompok III adalah $35,34 \pm 10,53$. Adapun peningkatan kadar LDL kolesterol disebabkan oleh :

1. Efek pakan hiperkolesterolemik

Komposisi asam lemak dari pakan hiperkolesterolemik mempengaruhi keadaan hiperkolesterolemia. Asam palmitat, asam miristat, dan asam laurat yang terkandung dalam pakan hiperkolesterolemik merupakan asam lemak jenuh terpenting untuk meningkatkan LDL kolesterol (Mihardja, 1999).

Pakan hiperkolesterolemik dibuat dari pakan standar, minyak kelapa, minyak babi, kristal kolesterol dan kuning telur. Pakan hiperkolesterolemik yang diberikan *ad libitum* adalah campuran pakan standar, minyak kelapa, minyak babi, dan kristal kolesterol. Sedangkan kuning telur itik diberikan per sonde. Pemberian kuning telur itik per sonde bertujuan agar kandungan asam lemak jenuh tidak teroksidasi oleh udara. Apabila kuning telur itik diberikan *ad libitum*, maka asam lemak jenuh yang terkandung di dalamnya akan teroksidasi dan mengganggu efek peningkatan kadar LDL kolesterol (Bartov *et al*, 2008).

2. Larutan PTU 0,1 %

Hormon triiodotoronin (T3) meningkatkan ekspresi reseptor kolesterol LDL di hepar sebanyak 25 % setelah 4 jam dan 30 % setelah 9 jam sehingga peneliti membutuhkan larutan PTU 0,1 % untuk menghambat sintesis hormon T3 yang berakibat akan menurunkan ekspresi reseptor kolesterol LDL di permukaan sel hepar (Salter *et al*, 1991). Larutan PTU 0,1 % menurunkan translasi mRNA menjadi reseptor kolesterol LDL di hepar. Penurunan translasi mRNA menjadi reseptor kolesterol LDL menurunkan ekspresi reseptor kolesterol LDL di permukaan hepar.

Bila dilihat dari data memang terjadi penghambatan kenaikan kadar LDL kolesterol, namun menurut perhitungan statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok I dan kelompok II dengan taraf signifikansi $p=0,113$ ($p>0,05$). Hal tersebut dapat disebabkan oleh :

1. Metode pemberian pakan hiperkolesterol

Pemberian pakan hiperkolesterol pada penelitian ini adalah secara *ad libitum* (tanpa disondekan) yang menyebabkan hewan uji tidak mendapatkan asupan jumlah makanan yang sama. Pemberian makan *ad libitum* diberikan karena sulitnya melakukan sonde bahan yang diujikan. Oleh karena itu peneliti tidak mengetahui pasti apakah setiap hewan makan dalam jumlah yang sama.

2. Dosis Jus Anggur

Pada penelitian ini peneliti menggunakan jus dengan dosis umum yang biasa dikonsumsi masyarakat. Dosis anggur yang disarankan untuk dikonsumsi adalah 100 g per hari (Harry dan Apriadji, 2007). Menurut sumber lain, untuk dibuat jus, dibutuhkan 150-200 g per hari (Astawan dan Andreas, 2008). Pada penelitian ini, digunakan dosis 200 g per hari. Pada penelitian lain tidak menggunakan jus, namun menggunakan ekstrak (proanthocyanin) sebanyak 110 mg (Simonneti, 2002). Dengan digunakannya ekstrak memungkinkan hasil yang lebih baik karena zat aktif dari buah anggur tersebut pasti terpakai bila dibandingkan dengan menggunakan jus.

3. Proses pembuatan jus

Peneliti membuat jus anggur dengan menggunakan *juice extractor* dimana sangat mungkin banyak kandungan dari buah anggur itu sendiri yang terbuang. Pada penelitian Yamakoshi (1999) sebelumnya menggunakan ekstrak sehingga meminimalis kehilangan zat aktif dalam anggur tersebut.

4. Lama waktu pemberian

Pada penelitian ini peneliti hanya mengujicobakan selama 14 hari (Pnumathsa, 2006). Pada penelitian lain, waktu ujicoba lebih lama yaitu 16 minggu (Nielsen *et al*,2005). Waktu yang kurang lama menyebabkan pengaruh jus anggur belum terlihat maksimal.

5. Metode pengukuran kolesterol LDL

Metode pengukuran LDL kolesterol sangat mempengaruhi data kadar LDL kolesterol. Peneliti mengukur LDL kolesterol dengan metode *Direct Homogenous* di LPPT Unit IV UGM. Metode tersebut tidak memperhatikan kadar trigliserida dalam pengukuran LDL kolesterol seperti pada metode *Indirect Friedewald*. Berdasarkan penelitian Widijanti, dkk.(2008), hasil pengukuran LDL kolesterol dengan menggunakan metode *Direct Homogenous* lebih rendah jika dibandingkan dengan metode *Indirect Friedewald* saat kadar trigliserida < 400 mg/dL.

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Pemberian jus anggur (*Vitis vinifera* Linn.) sebanyak 18 g / KgBB tikus putih selama 2 minggu tidak berpengaruh terhadap penghambatan peningkatan kadar LDL kolesterol tikus putih (*Rattus norvegicus*) secara signifikan ($p > 0,05$).

B. Saran

1. Perlu dilakukan pemberian dosis jus anggur yang bervariasi dengan perbandingan dosis yang lebih besar.

2. Perlu diperlama waktu penelitian agar efek jus anggur terlihat lebih nyata
3. Perlu diisolasi zat aktif dari buah anggur agar mendapatkan pengaruh yang lebih baik
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan sampel dan kelompok perlakuan yang lebih banyak agar lebih mewakili populasi penelitian

aDAFTAR PUSTAKA

- Astawan M., Andreas L. 2008. *Khasiat Makanan Mentah*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama, pp: 57-58.
- Bartov I., Reiser R., Hendrson. 2008. Hypercholesterolemic Effect in Female Rat of Egg Tolk Versus Crystalline Cholesterol Dissolved in Lard. *The Journal of Nutrition*
- Belguendouz L., Fremont L., Gozzelino MT. 1998. [Interaction of Transresveratrol with Plasma Lipoproteins](#). *Biochemical Pharmacology*, 55:811-816.
- Davis, Lees, Donnan. 2006, Treating The Acute Stroke Patient as an Emergency: Current Practices and Future Opportunities. *Blackwell Publishing Ltd*. 60, 4, 399–407
- Fine, A.M,. 2000. Oligomeric Proanthocyanidin Complexes: History, Structure, and Phytopharmaceutical Applications. *Altern Med Rev*. 5(2):144-51
- Ganong W.F. 2003. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. 20th ed. Jakarta : EGC, P: 296
- Greybeard M. 2008. Grapevine DNA, The Genetic of Wine. http://reignoftheroir.com/wp-content/uploads/2008/03/vitis_vinifera (3 Maret 2009)
- Guyton A.C., Hall J.E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. 9th ed. Jakarta : EGC, P:1077
- Harry W., Apriadji. 2007. *Jus Sehat Golongan Darah B*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama, p:25
- Jang M. 1997. [Cancer Chemopreventive Activity of Resveratrol, a Natural Product Derived From Grapes](#). *Science*, 275:218-20.

- Kamaluddin M.T. 1993. Farmakologi Obat Anti Hiperlipidemia. *Cermin Dunia Kedokteran*. 85: 26-32
- Kemper M., Bovy A., de Vos R. 2002. High-Flovonol Tomatoes Resulting From the Heterologous Expression of the Maize. *Plant cell*. 14:25092526
- Kopp P. 1998. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'? *European Journal of Endocrinology*, 138:619-20.
- Mangoenprasodjo A.S. 2005. *Stroke Jangan Lagi Jadikan Hantu*. Yogyakarta. Think Fresh, p:13
- Maryanto, Fatimah. 2004. Pengaruh Pemberian Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn.) Pada Lipidemia Serum Tikus (*Sprague dwaley*) hiperkolesterolemia. *Media Medika Indonesia*. 39 : 105-11
- McElderry. 1999. Grape Expetation : The Resveratrol Story. www.resveratrol600mg.com/information_about_resveratrol/ (7 maret 2009)
- Miharja L. 1999. Pengaruh beberapa diet terhadap hiperlipidemia. *Media Litbangkes*. 9:8-12
- MIMS. 2006. *Petunjuk Konsultasi*. 6th ed. Singapore: PT InfoMaster, p:264
- Murray., Granner., Mayes R. 2003. *Biokimia Harper*. 25th ed. Jakarta : EGC, pp: 274-76
- Nassiri., Hosseintadeh. 2009. Review of the Pharmacological Effects of *Vitis vinifera* (Grape) and Its Bioactive Compounds. Iran. Pubmed. 19140172.
- Ngatidjan. 1991. *Petunjuk Laboratorium Metode Laboratorium dalam Kesehatan*. Bandung : ITB, p: 152
- Nielsen I L., Finne, Rasmussen SE., Mortensen A., Ravn-Hraen G., Hai PM., Knuthsen Pia., Hansen BF., Mcpheil D., Freese R., Breinholt V., Frandsen H., Dragsted LO. 2005. Anthocyanins increase low-density lipoprotein and plasma cholesterol and do not reduce atherosclerosis in Watanabe Heritable Hyperlipidemic rabbits. *Molecular nutrition & food research* 49(4), pp: 301-08.
- Penumathsa, Mahesh T., Srikanth K., Bela J., Lijun Z., Rima P., Venugopal P., Menon, Hajime O., Nilanjana M. 2006. Statin And Resveratrol in Combination Induces Cardioprotection Against Myocardial Infarction in Hypercholesterlemic Rat. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 42(3):508-16

- Rangland B.D., Konrad, Chaffin, Robinson CA., Hardy RW. 2000. Evaluation of Homogenous Direct LDL-Cholesterol. Assay in Diabetic Patient : Effect of Glycemic Control. *Chem J.* 46:1848-51.
- Rosari. T.C. 2004. *Pengaruh Pemberian Tempe Terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih (Rattus norvegicus) yang Diberi Minyak Kelapa.* Skripsi FK UNS : Surakarta
- Rotondo S. 1998. [Effect of trans-resveratrol, a natural polyphenolic compound, on human polymorphonuclear leukocyte function.](#) *British Journal of Pharmacology*, 123:1691-99.
- Saap EM., 2007. *Perbedaan Penurunan Kadar LDL Kolesterol tikus putih (Rattus norvegicus) Pada Pemberian Bawang Putih (Allium sativum Linn.) Mentah dan Dimasak.* Skripsi FK UNS: Surakarta
- Salter AM., Hayash, Al-Senni M., Brown NF. 1991. Effect of Hypothyroidism and High-Fat Feeding on mRNA Concentration for the Low Density Lipoprotein receptor and on acyl-coA.: Cholesterol Acyltransferase Activities in Rat Liver. *Biochem J.* 276: 825-32
- Setiadi. 2008. *Bertanam Anggur.* 25th ed. Jakarta : Penebar Swadaya, pp: 1-15
- Shills, Maurice E., Shike, Moshe, Ross A., Catharine, Caballero, Benjamin, Cousins, Robert J. 2006. *Modern Nutrition in Health and Disease.* 10th Ed. Lippincott Williams & Wilkins.
- Simonetti., Salvatore C., Claudio G., Lorenzo B., Piergiorgio P. 2002. Procyanidins From Vitis vinifera Seeds: In Vivo Effects On Oxidative Stress. *American Chemical Society.* 50(2): 6217-21
- Suyatna F.D. 2007. *Farmakologi dan Terapi.* 5th ed. Jakarta: Gaya Baru, pp: 383-84.
- [Terrier N.](#), [Torregrosa L.](#), [Ageorges A.](#), [Violet S.](#), [Verriès C.](#), [Cheynier V.](#), [Romieu C.](#) 2009. Ectopic Expression of VvMybPA2 Promotes Proanthocyanidin Biosynthesis in Grapevine and Suggests Additional Targets in the Pathway. *Plant Physiol.* 149 (2):1028-41
- Uchida K., Nomura Y., Kodowaki, Takase H., Takano K., Takeuchi N. 2008. Age-Related Changes in Cholesterol and Bile Acid Metabolism in Rats. *the Journal of Lipid Research*
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas : Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan.* Yogyakarta : Kanisium, p: 113
- Wiriyanta B.T.W. 2007. *Membuahkan Anggur di Dalam Pot dan Pekarangan.* 5th ed. Jakarta: Agromedia Pustaka, pp: 1-20.

- Xia M., Wenhua L., Huilian Z., Qing W., Jing M., Mengjun H., Zhihong T., Lan L., Qinyuan Y. 2007. Anthocyanin Prevent CD40-Activated Proinflammatory Signaling in Endothelial Cells by Regulating Cholesterol Distribution. *American Heart Association*. 27:519
- Yamakoshi.J., Kataoka S., Ariga. 1999. Proanthocyanidin-rich Extract from Grape Seeds Attenuates the Development of Aortic Atherosclerosis in Cholesterol-fed Rabbits. *Japan Science and Technology Agency*. 43:81-89
- Miharja L. 1999. Pengaruh Beberapa Diet Terhadap Hiprlipidemia. *Media Litbangkes*. 9: 8-12