

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PARE (*Momordica charantia*) TERHADAP KADAR KOLESTEROL, IL-6, DAN MDA
(Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar Jantan Hiperkolesterolemia)**

Tesis



Magister Ilmu Biomedik

Novia Aprilia Rahma

MBK 21.17.01.0237

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG SEMARANG**

2023

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PARE (*Momordica charantia*) TERHADAP KADAR KOLESTEROL, IL-6, DAN MDA
(Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar Jantan Hiperkolesterolemia)**

Disusun oleh :

Novia Aprilia Rahma
MBK 21.17.01.0237



Telah disetujui oleh,
Menyetujui,

Pembimbing I,


Pembimbing II

Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes
NIK 210101059

Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes
NIK 210198046

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas
Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung


Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med
NIP. 210199050

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.



Semarang, 11 September 2023

Novia Aprilia Rahma

RIWAYAT HIDUP

1. Identitas Diri

Nama : Novia Aprilia Rahma
Tempat/ tanggal lahir : Normark, 08 April 1997
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

2. Riwayat Pendidikan Formal

1. SD Negeri 008 Pekanbaru, Riau : Lulus tahun 2010
2. SMP Negeri 20 Pekanbaru, Riau : Lulus tahun 2012
3. MA Negeri 2 Model Pekanbaru, Riau : Lulus tahun 2015
4. S1 FK Universitas Muhammadiyah Malang : Lulus tahun 2019
5. Profesi Dokter FK Universitas Muhammadiyah Malang : Lulus tahun 2021
6. Magister Ilmu Biomedik FK UNISSULA : Lulus tahun 2023

3. Riwayat Keluarga

Nama Orang Tua
Ibu : Siti Zubaidah
Ayah : Agus Sudarmadi
Nama Saudara Kandung
Kakak 1 : Putri Aida Novance
Kakak 2 : Tari Febri Sari
Adik : Jihan Rosikha

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu Wata'ala, atas segala karunia dan ridho-Nya, sehingga tesis dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia*) terhadap Kadar Kolesterol, IL-6, dan MDA (Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar Jantan Hiperkolesterolemia)” ini dapat diselesaikan.

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik di program studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada :

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. Gunarto, SH., M.Hum
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med.
4. Bapak Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing pertama.
5. Bapak Dr. dr. H. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
6. Bapak Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med. selaku penguji pertama yang telah menyempatkan waktu kesibukannya untuk menguji dan membimbing tesis
7. Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek Sumarawati, M.Kes selaku penguji kedua yang telah menyempatkan waktu kesibukannya untuk menguji dan membimbing tesis.

8. Ibu Dr. dr. Chodidjah, M.Kes selaku penguji ketiga yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya untuk menguji dan membimbing tesis.
9. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
10. Keluarga yang selalu ada untuk membantu dan mendukung dalam segala kondisi, diantaranya ibu Siti Zubaidah, kakak Putri Aida Novance, kakak Tari Febri Sari, dan adik Jihan Rosikha.
11. Teman yang selalu ada dan sebagai penyemangat saya terima kasih atas segala motivasi, perhatian, dan dukungan yang telah diberikan selama ini.
12. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.


Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar benar bermanfaat.

Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

Akhir kata, penulis berharap tesis ini memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang ramah lingkungan.

Wassalammua'laikum warohmatullahi wabarakatuh

Semarang, 15 Agustus 2023



Novia Aprilia Rahma

DAFTAR ISI

PENELITIAN	i
SURAT PERNYATAAN	i
RIWAYAT HIDUP	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	1
DAFTAR GAMBAR.....	3
DAFTAR TABEL.....	4
DAFTAR LAMPIRAN.....	5
DAFTAR SINGKATAN	5
ABSTRAK.....	7
BAB 1_PENDAHULUAN.....	9
1.1 Latar Belakang.....	9
1.2 Rumusan Masalah.....	11
1.3 Tujuan Penelitian	12
1.4 Manfaat Penelitian	13
1.5 Originalitas Penelitian.....	13
BAB 2_TINJAUAN PUSTAKA.....	18
2.1 Kolesterol.....	18
2.2 Interleukin-6 (IL-6).....	31
2.3 <i>Malondialdehyde</i> (MDA).....	34
2.4 Pare (<i>Momordica charantia</i> L.).....	37
2.5 Pengaruh Ekstrak Pare terhadap kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA pada Hiperkolesterolemia	40
BAB 3_KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	46
3.1 Kerangka Teori	46
3.2 Kerangka Konsep.....	50
3.3 Hipotesis	50
BAB 4_METODE PENELITIAN	51
4.1 Rancangan Penelitian.....	51

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	51
4.3 Populasi dan Sampel	51
4.4 Instrumen dan Bahan Penelitian	56
4.5 Prosedur Penelitian	57
4.6 Analisis Data	62
4.7 Alur Penelitian	63
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	64
5.1 Hasil Pembahasan	64
5.2 Pembahasan	71
5.3 Keterbatasan Penelitian	76
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	77
6.1 Kesimpulan	77
6.2 Saran	78
DAFTAR PUSTAKA	79
LAMPIRAN	86



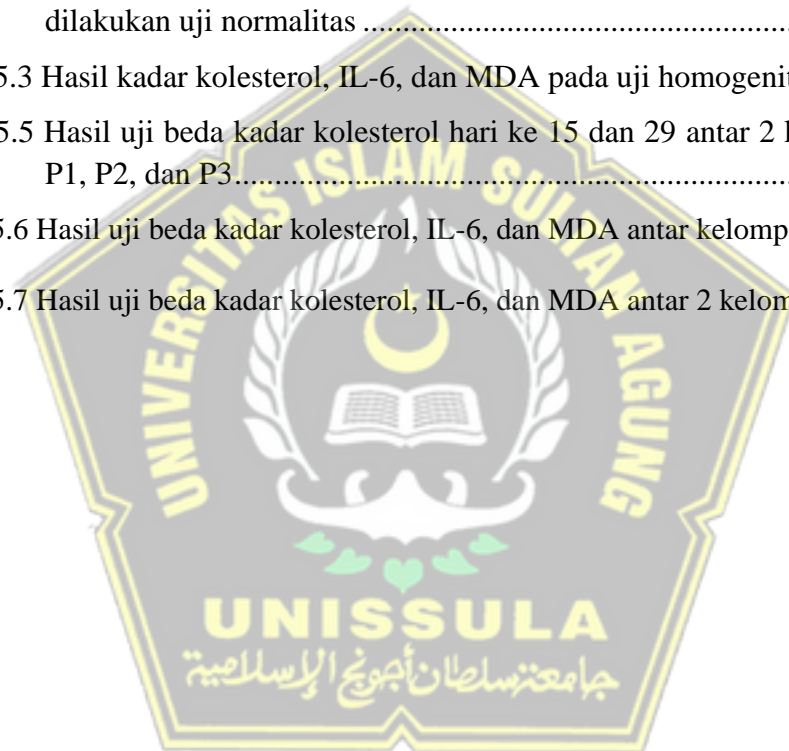
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Bentuk molekul lipoprotein.....	20
Gambar 2.2 Jalur metabolisme kilomikron.....	22
Gambar 2.3 Jalur metabolisme eksogen dan endogen.	23
Gambar 2.4 Sintesis Kolesterol.....	26
Gambar 2.5 Pengaruh Statin.	27
Gambar 2.6 Proses peroksidasi lipid.....	35
Gambar 2.7 Buah Pare	37
Gambar 3.1 Kerangka Teori.....	49
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	50
Gambar 4.1 Diagram Alur Penelitian.....	63
Gambar 5.1 Grafik rata-rata kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA.....	65



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	15
Tabel 2.1 Kadar Kolesterol	28
Tabel 5.1 Hasil kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada berbagai kelompok	65
Tabel 5.2 Kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada berbagai kelompok yang dilakukan uji normalitas	66
Tabel 5.3 Hasil kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada uji homogenitas	66
Tabel 5.5 Hasil uji beda kadar kolesterol hari ke 15 dan 29 antar 2 kelompok K+, P1, P2, dan P3.....	68
Tabel 5.6 Hasil uji beda kadar kolesterol, IL-6, dan MDA antar kelompok	68
Tabel 5.7 Hasil uji beda kadar kolesterol, IL-6, dan MDA antar 2 kelompok	68



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Tabel konversi dosis hewan dan manusia	86
Lampiran 2 : Tabel kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada berbagai kelompok.	87
Lampiran 3 : Tabel berat badan tikus (gram) pada berbagai kelompok	88
Lampiran 4 : Tabel Kadar kolesterol, IL-6, MDA pada berbagai kelompok yang dilakukan uji normalitas	89
Lampiran 5 : Tabel Hasil kadar kolesterol, IL-6, dan MDA uji homogenitas	89
Lampiran 6 : Tabel hasil uji beda kadar kolesterol hari ke 15 dan 29 pada kelompok K+, P1, P2, P3.....	90
Lampiran 7 : Tabel hasil uji beda kadar kolesterol pada hari ke 15 dan 29 antar 2 kelompok pada kelompok K+, P1, P2, dan P3	90
Lampiran 8 : Hasil uji beda kadar kolesterol, IL-6, dan MDA antar kelompok	91
Lampiran 9 : hasil uji beda kadar kolesterol, IL-6, dan MDA antar 2 kelompok	91
Lampiran 10 : uji fitokimia ekstrak pare	92
Lampiran 11 : Formolir pemakaian fasilitas laboratorium PSPG UGM	94
Lampiran 12 : Ethical Clearance	95
Lampiran 13 : Hasil absorbansi kadar IL-6 pada berbagai kelompok.....	95
Lampiran 14 : Hasil absorbansi kadar MDA pada berbagai kelompok.....	97
Lampiran 15 : Hasil absorbansi kadar kolesterol pada berbagai kelompok	98
Lampiran 16 : Hasil absorbansi kadar Kolesterol berbagai kelompok.....	99
Lampiran 17 : Kurva kalibrasi <i>Tetra Metoksi Propan</i> (TMP) kadar MDA.....	100
Lampiran 18 : Kurva kalibrasi kadar IL-6	100
Lampiran 19 : Dokumentasi Penelitian	101

DAFTAR SINGKATAN

ABCA-1	: Adenosine Triphosphate-binding Cassette A-1
AMPK	: AMP-activated protein kinase
Apo A-1	: Apolipoprotein A-1
CRP	: C-Reactive Protein
CYP7A1	: Cholesterol 7 alpha-hydroxylase
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay
FFA	: Free Fatty Acids
G-CSF	: Granulocyte Colony Stimulating Factor
GMCSF	: Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor
HDL	: High Density Lipoprotein
HMG-CoA	: β -Hydroxy β -methylglutaryl-CoA
HNE	: Hidroksinonenal
IDL	: Intermediate Density Lipoprotein
IL-17	: Interleukin 17
IL-6	: Interleukin-6
IPP	: Isopentenyl Pyrophosphate
LDL	: Low Density Lipoprotein
LPL	: Lipoprotein Lipase
MCP-1	: Monocyte Chemoattractant Protein-1
MDA	: Malondialdehyde
NF- κ B	: Nuclear Factor Kappa B
NK	: Natural Killer
NO	: Nitric Oxide
PPAR- α	: Peroxisome proliferator activated receptor
PPAR γ	: Peroxisome Proliferator Activator Receptor
PUFA	: Polyunsaturated Fatty Acid
RANKL	: Receptor Activator of Nuclear Factor κ B-Ligand
R-LDL	: Reseptor LDL
ROS	: Reactive Oxygen Species
SCFA	: Short Chain Fatty Acids
SR-A	: Reseptor scavenger-A
SREBP1c	: Sterol Regulatory Element Binding Protein-1c
TBA	: Thiobarbiturat Acid
TBARS	: Thiobarbituric Acid-Reacting Substances
TCA	: Trikloroasetat
TGF- β	: Transforming Growth Factor- β
Th1	: T helper-1
TMP	: Tetrametoksipropana
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor- α
VCAM	: Vascular Cell Adhesion Molecule
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein
WHO	: World Health Organization

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PARE (*Momordica charantia*) TERHADAP KADAR KOLESTEROL, IL-6, DAN MDA (Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar Jantan Hiperkolesterolemia)

ABSTRAK

Latar Belakang : Hiperkolesterolemia adalah kondisi peningkatan kolesterol total dan peningkatan *Low Density Lipoprotein* (LDL) kolesterol yang dapat mensekresi sitokin proinflamasi Interleukin-6 (IL-6) melalui aktivasi jalur NF-kB serta stres oksidatif yang mengakibatkan peningkatan kadar *Malondialdehyde* (MDA). Studi menunjukkan ekstrak buah pare mengandung flavonoid yang bersifat antioksidan dan dapat menurunkan kadar kolesterol.

Tujuan : Mengetahui pengaruh ekstrak buah pare terhadap kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA pada tikus yang hiperkolesterolemia.

Metode : Penelitian eksperimental *Post Test Only Control Group Design*. Subyek penelitian 25 ekor tikus wistar dibagi dalam 5 kelompok. Tikus kelompok K (N) hanya diberikan pakan standar, K(-) hanya diberi diet hiperkolesterol selama 28 hari, kelompok K(+), P1, dan P2 diberi diet hiperkolesterol 14 hari, dan 14 hari selanjutnya diberi diet hiperkolesterol dan simvastatin 0,09 mg/kgBB, ekstrak pare dengan dosis 150 mg/kgBB, serta kombinasi ekstrak pare 75 mg/kgBB dan simvastatin 0.045 mg/kgBB. Hari ke 29 tikus dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total, IL-6 dan MDA.

Hasil : Hasil uji *Shapiro Wilk* dan uji *Levene* menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen. Pada uji *One Way Anova* kelompok P1, P2, dan P3 tikus hiperkolesterolemia didapatkan kadar kolesterol, IL-6, dan MDA mengalami perubahan lebih rendah yang signifikan ($p < 0,05$) dibanding kelompok kontrol. Hasil uji *Tukey* menunjukkan kadar kolesterol, IL-6, dan MDA antar kelompok memiliki perbedaan yang signifikan pada semua kelompoknya ($p < 0,05$).

Kesimpulan : Ekstrak pare, simvastatin, serta kombinasi simvastatin dan ekstrak pare berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada tikus yang hiperkolesterolemia.

Kata Kunci : buah pare, IL-6, kolesterol total, MDA

**THE EFFECT OF GIVING PARE FRUIT EXTRACT (*Momordica charantia*) ON CHOLESTEROL, IL-6, AND MDA LEVELS
(Experimental Study on Hypercholesterolemic Male Wistar Rats)**

ABSTRACT

Background : Hypercholesterolemia is a condition by an increase total cholesterol and Low Density Lipoprotein (LDL) cholesterol levels, which can lead the secretion of proinflammatory cytokines Interleukin-6 (IL-6) through the activation of the NF- κ B pathway oxidative stress, and increase in Malondialdehyde (MDA) levels. Studies showed that the extract of bitter melon contains flavonoids as antioxidants can reduce cholesterol levels.

Objective : To determine the effect of bitter melon extract on total cholesterol levels, IL-6, and MDA in hypercholesterolemic rats.

Method : Experimental research with Post Test Only Group Design. The research subjects were 25 wistar rats divided into 5 groups. Group K(N) normal rats, K(-) were only given a hypercholesterol diet for 28 days, groups K(+), P1, and P2 were given a hypercholesterol diet for 14 days followed by 14 days of hypercholesterol diet along with simvastatin at 0.09 mg/kgBW, bitter melon extract at 150 mg/kgBW, and combination of bitter melon extract at 75 mg/kgBW and simvastatin at 0.045 mg/kgBW. On the 29th day the rats were examined.

Result : The results of the Shapiro-Wilk and Levene tests showed that the data were normally distributed and homogenous. One-Way ANOVA and Tukey test was found that the levels of cholesterol, IL-6, and MDA in the P1, P2, and P3 hypercholesterolemic rat groups underwent significantly ($p < 0.05$) compared to the control group

Conclusion : The extract of bitter melon, simvastatin, and the combination of simvastatin and bitter melon extract have effect on reducing cholesterol levels, IL-6, and MDA in hypercholesterolemic rats.

Keywords : Bitter Melon, Interleukin-6, Malondialdehyde, Total Cholesterol

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperkolesterolemia merupakan kondisi peningkatan kadar kolesterol total dan *Low Density Lipoprotein* (LDL) kolesterol.¹ Kadar lemak yang meningkat dalam darah dapat mengaktifkan jalur pensinyalan NF- κ B yang dapat memicu makrofag untuk mensekresi sitokin proinflamasi Interleukin-6 (IL-6) sehingga mengakibatkan proses inflamasi sistemik. IL-6 dapat menghambat aktivitas lipoprotein dan meningkatkan aktivitas lipolitik endotel lipase.^{2,3} Hiperkolesterolemia dapat mengakibatkan perubahan sifat fisik membran sel yang memfasilitasi kebocoran radikal bebas *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid sehingga terjadi kerusakan membran lipid. Peroksidasi akibat asam lemak tak jenuh bersifat toksik dan akan menghasilkan Malondialdehyde (MDA) yang berperan sebagai penanda peroksidasi lipid dan terjadinya stres oksidatif.¹

Ekstrak pare yang mengandung *polisakarida*, *flavonoid*, dan *saponin* berperan sebagai antilipidemik, antioksidan, hepatoprotektor, dan antiinflamasi yang bekerja melalui mekanisme jalur *Peroxisome proliferator activated receptor* (PPAR- α), β -Hydroxy β -methylglutaryl-CoA (HMG-CoA reduktase), *AMP-activated protein kinase* (AMPK), dan menghambat jalur pensinyalan *Nuclear Factor Kappa B* (NF- κ B). Buah pare mengandung vitamin B3 yang dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL melalui sekresi *Apolipoprotein A-1* (Apo A-

1). Penelitian terdahulu telah banyak meneliti tentang penurunan hiperkolesterol dengan kombinasi ekstrak pare dan ekstrak lainnya, efek pare terhadap penurunan kadar trigliserida dan Anti Inflamasi, serta efek jus pare pada MDA.^{2,4-7} Masih sedikit penelitian yang meneliti efek ekstrak pare terhadap kadar kolesterol total, inflamasi serta peningkatan ROS yang dilihat melalui kadar IL-6, dan kadar MDA serta dibandingkan dengan terapi simvastatin pada kondisi tikus hiperkolesterolemia secara bersamaan.

Kadar kolesterol yang tidak terkontrol merupakan faktor risiko stroke, aterosklerosis, dan aterogenik.^{8,9} Stroke adalah salah satu penyakit tertinggi yang menyebabkan kematian di Indonesia, stroke dapat menurunkan kualitas hidup bagi penderitanya.^{8,9,10} Hiperkolesterolemia di Amerika Serikat dalam *American Heart Association and American Stroke Association*¹¹ memperoleh data hiperkolesterol pada usia 20 tahun dengan kadar kolesterol >200 mg/dL yaitu 98,9 juta orang, dan 31,9 juta orang yang menunjukkan kadar >240 mg/dL.^{9,11} Hasil Riset Kesehatan Dasar Indonesia¹² menyebutkan prevalensi masyarakat yang mengalami hiperkolesterol dengan usia 25-34 tahun mencapai 9,3%, meningkat 15,5% pada masyarakat dengan usia 55-64 tahun.¹² Tahun 2018 masyarakat Indonesia dengan usia 65-74 tahun mencapai 38,2% dan sebanyak 32,9% pada usia lebih dari 75 tahun yang memperoleh kadar kolesterol > 200mg/dL.¹³

Peningkatan massa jaringan adiposa menyebabkan proses inflamasi yang memicu pembentukan ROS dan mensekresi sitokin proinflamasi seperti IL-6. Efek hiperkolesterolemia terutama menyebabkan oksidasi lipid bilayer, kerusakan mitokondria, dan peningkatan sebagian besar regulasi enzim penghasil ROS,

penipisan antioksidan, dan aktivasi peradangan.¹⁴ MDA terbentuk dari asam lemak dari tiga atau lebih ikatan rangkap yang selanjutnya digunakan dalam ukuran peroksidasi lemak. Peroksidasi lipid terjadi apabila radikal peroksida menyerang ikatan rangkap pada lipid. Peroksidasi lipid melalui proses yang kompleks yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Kolesterol total, MDA, dan IL-6 berperan penting dalam proses inflamasi.³

Buah pare (*Momordica charantia L.*) telah banyak dipilih, dikonsumsi, dan dipercaya masyarakat Indonesia sebagai terapi penyakit tertentu. Pengujian fitokimia pada buah pare telah mengungkapkan terdapat kandungan flavonoid, saponin, polisakarida, lutein, dan vitamin B3, berperan dalam memperbaiki kerusakan yang diakibatkan ROS serta inflamasi akibat hiperkolesterolemia melalui berbagai mekanisme dibandingkan penggunaan farmakologi yang telah ada.^{15,16} Pengobatan farmakologis simvastatin dapat menurunkan kadar kolesterol melalui jalur mekanisme yang sama dengan ekstrak pare.^{17,18} Penelitian ini meneliti tentang pengaruh pemberian ekstrak pare dengan dosis 150mg/kgBB pada kondisi tikus hiperkolesterolemia terhadap kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA dan dibandingkan dengan terapi simvastatin.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak pare berpengaruh terhadap kadar kolesterol total, kadar MDA, dan IL-6 pada tikus putih *Rattus norvegicus strain Wistar* jantan yang hiperkolesterolemia?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan pengaruh ekstrak pare terhadap kadar kolesterol total, kadar MDA, dan IL-6 pada tikus putih *Rattus novergicus strain Wistar* jantan diet tinggi kolesterol.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui rerata kadar kolesterol total, kadar MDA, dan IL-6 pada tikus putih *Rattus novergicus strain Wistar* jantan yang hanya mendapat pakan standar.
2. Mengetahui rerata kadar kolesterol total, kadar MDA, dan IL-6 pada tikus putih *Rattus novergicus strain Wistar* jantan yang hanya mendapat pakan hiperkolesterol.
3. Mengetahui rerata kadar kolesterol total, kadar MDA, dan IL-6 pada tikus putih *Rattus novergicus strain Wistar* jantan yang mendapat pakan hiperkolesterol dan ekstrak pare.
4. Mengetahui rerata kadar kolesterol total, kadar MDA, dan IL-6 pada tikus putih *Rattus novergicus strain Wistar* jantan yang mendapat pakan hiperkolesterol dan simvastatin.
5. Mengetahui rerata kadar kolesterol total, kadar MDA, dan IL-6 pada tikus putih *Rattus novergicus strain Wistar* jantan yang mendapat pakan hiperkolesterol, simvastatin, dan ekstrak pare.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak pare pada dosis 150 mg/kgBB terhadap kadar kolesterol total, MDA, dan IL-6 pada tikus putih *Rattus novergicus strain Wistar* jantan diet tinggi kolesterol.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi yang berguna sebagai dasar penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak pare terhadap kadar kolesterol total, MDA, dan IL-6 pada tikus putih *Rattus novergicus strain Wistar* jantan hiperkolesterolemia.

1.5 Originalitas Penelitian

Originalitas penelitian menyajikan persamaan dan perbedaan penelitian yang diteliti dari penelitian terdahulu. Berdasarkan penelitian sebelumnya telah banyak meneliti tentang pare terhadap kadar MDA, SOD, kolesterol, trigliserida, inflamasi terhadap hiperkolesterolemia. Penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa ekstrak buah pare, variabel kontrol yaitu pemberian terapi simvastatin, dan variabel tergantung yaitu kadar kolesterol total, MDA, dan IL-6 yang di berikan pakan hiperkolesterol. Penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan fokus penelitian tikus hiperkolesterolemia.

Saad et al¹⁹ pada penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak pare sebagai variabel bebas yang juga sama dengan penelitian ini, dengan variabel tergantungnya adalah MDA, SOD, dan GSH. Penelitian ini terdapat perbedaan yaitu variabel tergantung menggunakan kadar kolesterol, MDA, dan IL-6 tikus

hiperkolesterolemia yang dibandingkan dengan pemberian simvastatin. Penelitian Isnawati *et al*⁶ melakukan penelitian dengan variabel bebas yaitu jus pare dan jus jeruk nipis, sedangkan penelitian ini menggunakan ekstrak buah pare. Tikus yang digunakan adalah tikus *Sprague* dengan variabel tergantung berupa kadar kolesterol total, namun hewan coba pada penelitian ini adalah tikus wistar jantan. Penelitian Zeng Yan Me *et al*⁴ melakukan penelitian dengan kadar trigliserida dan inflamasi pada tikus ApoE -/-. Sedangkan tikus pada penelitian ini yaitu tikus jantan wistar dan variabel terikat berupa kadar kolesterol, IL-6, serta MDA. Putri Erlyn *et al*²⁰ melakukan penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak daun teh hijau dan daun pare sebagai variabel bebas, berbeda dengan penelitian ini yang menggunakan ekstrak buah pare. Terdapat kesamaan penelitian kadar kolesterol sebagai variabel terikat, namun penelitian ini dilakukan perbandingan kelompok dengan terapi simvastatin. Andiani dan Harsa I MS⁷ melakukan penelitian dengan variabel bebas berupa ekstrak pare yang sama dengan penelitian ini. Variabel terikat pada penelitian sebelumnya yaitu kadar MDA namun pada penelitian ini variabel terikat juga meneliti inflamasi melalui kadar IL-6 dan kemudian dibandingkan dengan terapi simvastatin.

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

Penelitan	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian
Saad, Dalia Yossri et al, 2017¹⁹	Efek Karela (Pare ; <i>Momordica Charantia</i>) Pada Gen Lipid dan Metabolisme Karbohidrat dalam Hiperkolesterolemia Eksperimental : Biokima, Studi Molekuler, Dan Histopatologi	Penelitian eksperimental dengan <i>post-test only control group design</i>	Tikus hiperkolesterolemia diinduksi karela dapat menurunkan kadar MDA, peningkatan SOD, glutathione, tereduksi (GSH), serta memperbaiki konversi kolesterol menjadi asam empedu melalui aktivitas CYP7A1, pengaturan naik dan turun PPAR FAS, SREBP1c dan HMG-CoAR di hepar dan jaringan adiposa. Temuan histopatologis dan imunohistokimia mengungkapkan tikus hiperkolesterolemia menginduksi perubahan jaringan hati dibanding kelompok kontrol. Karela dapat menurunkan hiperkolesterolemia dan gangguan terkait lainnya.
Isnawati Muflidah, Purnamasari A W, 2014⁶	Pengaruh Pemberian Jus Pare (<i>Momordica Charantia L.</i>) dan Jus Jeruk Nipis (<i>Citrus Aurantifolia</i>) terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus <i>Sprague dawley</i> Hiperkolesterolemia	Penelitian <i>true experimental</i> dengan rancangan <i>pre-post test randomized control group design..</i>	Terjadinya penurunan kadar kolesterol total secara signifikan setelah diberikan jus jeruk nipis (28,93%), jus pare (22,51%), serta kombinasi jus pare dan jus jeruk nipis (24,04%) ($p < 0,05$). Akan tetapi tidak didapatkan perbedaan signifikan antara kadar kolesterol total perlakuan dan kelompok kontrol $p = 0,105$ ($p > 0,05$)

Penelitian	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian
Zeng Yan Mei, et al 2018 ⁴	<i>Bitter Melon (Momordica charantia) Attenuates Atherosclerosis In Apo-E Knock-Out Mice Possibly Through Reducing Triglyceride and Anti-Inflammation</i>	Penelitian eksperimental dengan <i>post-test only control group design</i>	Pertambahan berat badan dan trigliserida serum mengalami penurunan secara signifikan pada kelompok pare. Pare mengurangi area plak dan meningkatkan serat kolagen dalam plak aterosklerosis, molekul adesi sel vaskular terlarut (VCAM)-1 dan tingkat P-selektin, serta ekspresi protein kemoatraktan monosit (MCP)-1 serta interleukin (IL)-6 di aorta. Pemberian pare dapat melemahkan proses perkembangan aterosklerosis pada tikus ApoE ^{-/-} melalui mekanisme pengurangan trigliserida dan mekanisme anti inflamasi.
Putri Erlyn, et al, 2020. ²⁰	Perbandingan Daun Teh Hijau Dan Daun Pare Terhadap Penurunan Kolesterol	Penelitian eksperimental dengan <i>post-test only control group</i>	Ekstrak daun pare serta ekstrak daun teh hijau menurunkan kadar kolesterol. Ekstrak daun teh hijau dosis 100 mg/kgBB menunjukkan penurunan kadar kolesterol lebih tinggi dari kelompok lainnya, akan tetapi melalui uji statistik setiap kelompok ekstrak terdapat pengaruh penurunan kadar kolesterol yang sama. Tidak terdapat perbedaan antara ekstrak ekstrak daun pare serta daun teh hijau untuk menurunkan kadar kolesterol pada penelitian ini.

Penelitian	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian
Andiani dan Harsa I MS, 2018. ⁷	Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Pare (<i>Momordica charantia L.</i>) Terhadap Penurunan Kadar MDA (Malondialdehid) Serum pada Tikus yang Diberi Diet Tinggi Lemak	Penelitian eksperimental dengan <i>post-test only control group design</i>	Pemberian ekstrak etanol buah pare berpengaruh dalam penurunan kadar MDA pada tikus wistar jantan dengan pemberian diet tinggi lemak. Terbukti pada uji statistik yang menunjukkan $p\text{-value} = 0.000$ ($p < 0.05$).



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kolesterol

Kolesterol adalah lemak dalam tubuh yang berbentuk ester serta asam lemak bebas, yang menjadi komponen utama pada sel saraf dan otak. Kolesterol dibutuhkan untuk metabolisme dalam tubuh manusia, akan tetapi kolesterol juga menjadi salah satu penyebab penyakit jantung dengan kasusnya yang terus meningkat di negara Indonesia. Kolesterol dibagi menjadi kolesterol eksogen dan endogen. Kolesterol eksogen diserap dari saluran pencernaan melalui makanan yang dikonsumsi, kolesterol endogen merupakan kolesterol yang terbentuk pada sel tubuh.²¹ Tubuh manusia memiliki dua jenis kolesterol yaitu LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan HDL (*High Density Lipoprotein*). HDL merupakan lemak bermanfaat yang larut dan dapat membersihkan kandungan LDL dan membawa LDL kembali menuju hepar, LDL adalah kolesterol yang dapat melekat pada pembuluh darah serta memberikan efek merugikan pada tubuh. Jumlah dari seluruh kolesterol pada tubuh dikenal dengan kolesterol total.²²

Kolesterol adalah komponen lemak ataupun zat lipid yang diperlukan bagi tubuh sebagai sumber energi dan pembentukan berbagai hormon. 70% kolesterol diproduksi serta disintesis dalam hepar, dan 35% merupakan kolesterol yang diperoleh dari diet. Kolesterol akan bermanfaat bagi tubuh jika dalam kadar yang normal. Apabila kadar kolesterol mengalami peningkatan, maka akan beresiko terjadinya berbagai penyakit.²² Manusia akan menghasilkan 2000-3000 mg

kolesterol per harinya, dimana 80% kolesterol melalui proses pembentukan di hepar dan 20% lainnya berasal dari luar tubuh berupa diet lemak. Kolesterol adalah produk khusus yang dihasilkan dari metabolisme hewan serta produk olahan diantaranya daging, otak, kuning telur, hati, susu, mentega, keju, dan lainnya. Kolesterol yang terkandung dalam makanan pada umumnya berbentuk kolesterol asam lemak atau ester kolesterol. Hal ini menyatakan bahwa kolesterol tidak didapatkan pada sel tumbuhan dan hanya terdapat pada sel hewani dan manusia.²³

Tubuh manusia membutuhkan kolesterol pada sel dan jaringannya untuk proses tumbuh dan berkembang. Peran kolesterol dalam tubuh diantaranya sebagai komponen struktural membran sel, sebagai prekursor dari sejumlah senyawa, seperti hormon seks (androgen dan estrogen), asam empedu, korteks adrenal (kortisol, kortikosteron, aldosteron, dan lainnya), dan vitamin D (mengkonversi sinar matahari menjadi vitamin D).²¹ Makanan menyumbangkan 15% kolesterol dan 85% kolesterol berasal dari asetil KoA di hepar. Kolesterol selanjutnya akan melalui proses katabolisme dan disekresikan dalam garam empedu, selanjutnya kolesterol akan dieksresi melalui feses.²⁴

Lipoprotein merupakan kompleks makromolekul berfungsi dalam mengantar lemak hidrofobik (trigliserida dan kolesterol) dari dan menuju jaringan. Lipoprotein berbentuk sferis dan permukaannya dikelilingi oleh fosfolipid amfipatik serta sedikit kolesterol bebas bersama apoprotein, memiliki inti trigliserida serta kolesterol ester.²⁵ Manusia memiliki 6 jenis lipoprotein, diantaranya *very low density lipoprotein* (VLDL) yang juga disebut pre β -lipoprotein bersumber dari hepar akan memicu keluarnya trigliserida, HDL (α -

lipoprotein) berperan dalam mengangkut kolesterol, *intermediate density lipoprotein* (IDL) berperan jika sebagian besar jumlah trigliserida telah dikeluarkan, LDL atau disebut juga dengan β -lipoprotein adalah bagian akhir dari katabolisme VLDL dengan hampir seluruh jumlah trigliserida telah dikeluarkan, serta kilomikron berasal dari trigliserida yang diserap melalui lipoprotein kecil dan usus.²⁶ Apabila LDL meningkat dan melebihi kadar normal, maka tubuh akan mengendap kolesteol pada dinding pembuluh darah arteri. Apabila berlangsung lama akan memicu terjadinya aterosklerosis (penyempitan pembuluh darah) dan dapat menyebabkan kematian.²⁷



Gambar 2.1 Bentuk molekul lipoprotein.²⁸

2.1.1 Metabolisme Kolesterol

Kolesterol akan diserap dalam usus kemudian dibawa menuju hepar menjadi kilomikron. VLDL membawa kolesterol untuk membentuk LDL dari peprantara IDL. IDL membawa kolesterol menuju seluruh jaringan. Kolesterol yang tersisa pada perifer akan terikat dengan HDL kemudian dibawa kembali menuju hepar sehingga tidak menumpuk di dalam jaringan. Kolesterol yang terdapat pada hepar akan dieksresikan sehingga menjadi asam empedu. Kolesterol akan dieksresikan melalui feses, asam empedu yang diserap dari vena porta hepatic oleh usus (siklus enterohepatik).²⁹

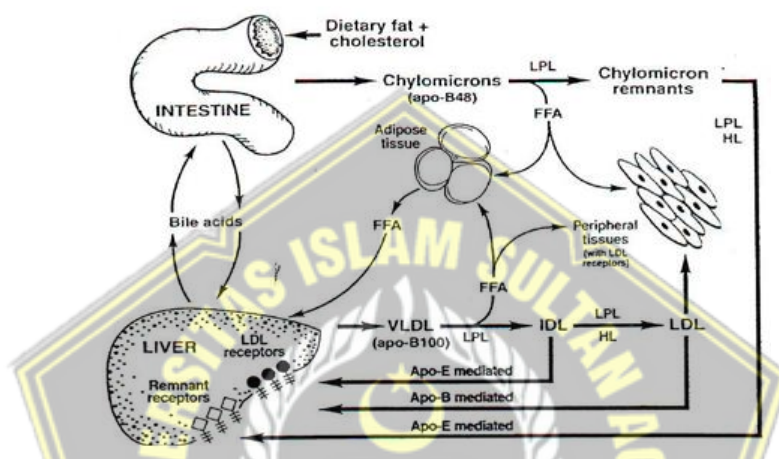
Metabolisme kolesterol memiliki beberapa jalur diantaranya jalur metabolisme eksogen, endogen, dan *revers cholesterol transport*. Jalur metabolisme eksogen dan endogen berkaitan oleh metabolisme kolesterol LDL dan trigliserida, jalur *reverse cholesterol transport* yang berhubungan dengan metabolisme kolesterol HDL.²⁵

a. Jalur Metabolisme Eksogen

Lipid yang bersumber dari diet akan mengalami emulsifikasi oleh empedu di dalam lambung dan berubah menjadi partikel kecil. Trigliserida kemudian dihidrolisis menjadi monogliserida dan asam lemak bebas di usus. Empedu, asam lemak bebas serta monogliserol kemudian membentuk miselus dan diserap pada *brush border* enterosit. Selanjutnya asam lemak bebas dibentuk menjadi trigliserida dalam eritrosit. Kemudian terjadi esterifikasi pada kolesterol yang menjadi kolesterol ester. Apoprotein B-48 dan fosfolipid kemudian membentuk lipoprotein atau kilomikron *nascent*.²⁵

Kilomikron akan disekresi menuju bagian lateral enterosit, lalu sampai ke saluran duktus torasikus, limfe, serta aliran darah. Kilomikron *nascent* dari HDL mempunyai apoA-IV, apoA-1, apoB-48, apoC-II dan apoE pada kelenjar limfatik serta darah. Kilomikron selanjutnya dihidrolisis melalui enzim lipoprotein lipase (LPL), dan diaktifkan oleh apoC-II melalui endotel kapiler dalam , otot rangka, jaringan jantung, adiposa, dan melepaskan *free fatty acids* (FFA). Adiposit dan miosit kemudian mengambil FFA yang mengoksidasi dan memproduksi energi atau terjadi esterifikasi kemudian disimpan menjadi trigliserida di jaringan adiposa. FFA yang terlalu banyak akan menjadi trigliserida. Kilomikron yang kekurangan

trigliserida berubah menjadi kilomikron *remnant* yang terdapat kandungan kolesterol ester yang menuju hepar dari ligan apoE (gambar 2.3). Kilomikron remnan merupakan komponen yang kaya dengan kolesterol ester serta penyusun lipid utama yang terdapat di lesi aterosklerosis, kilomikron remnan sebagian akan menuju subendotel atau oleh makrofag dapat difagositosis.²⁵

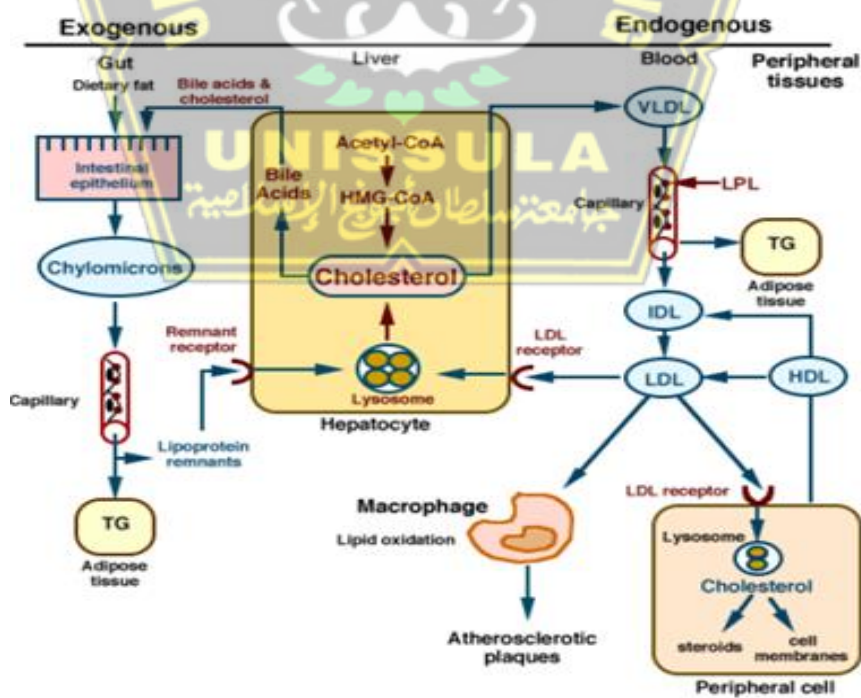


Gambar 2.2 Jalur metabolisme kilomikron.²⁵

b. Jalur Metabolisme Endogen

Kolesterol dan Trigliserida disintesis oleh hepar yang akan dibawa secara dalam bentuk VLDL, trigliserida kemudian akan dihidrolisis oleh LPL menjadi komponen yang lebih kecil yaitu IDL. Deposit lipid yang terkandung dalam hepatosit kemudian dimetabolisme menjadi kolesterol ester serta trigliserida. Dalam pembentukan VLDL, trigliserida serta fosfolipid akan disintesis oleh retikulum endoplasma, yang akan menuju aparatus golgi, lalu melekat dalam permukaan lumen hepatosit, dan melepas VLDL menuju celah disse, dalam kapiler jaringan adiposa serta otot akan menjadi lipoprotein VLDL *nascent* bersama apoB-100.²⁵

LDL adalah lipoprotein terbanyak melalui hidrolisis VLDL yang membawa kolesterol hasil akhir diperantarai oleh lipase. LDL memiliki kurang lebih 70% kolesterol plasma total. Sebagian kolesterol LDL ditransfer menuju hepar serta jaringan steroidogenik diantaranya testis, ovarium, serta kelenjar adrenal yang memiliki reseptor kolesterol LDL. VLDL dan sintesis membran atau menjadi prekursor biosintesis asam empedu. Beberapa bagian kecil dari kolesterol LDL akan memasuki subendotel, terjadi oksidasi, yang ditangkap oleh reseptor *scavenger-A* (SR-A) makrofag, dan difagositosis dengan makrofag dan kemudian menjadi sel busa (*foam cell*). Plasma yang mengandung banyak kadar LDL dapat menimbulkan oksidasi sehingga LDL akan ditangkap oleh makrofag. Besaran kolesterol yang teroksidasi dapat dilihat dari tingkat kolesterol yang terdapat dalam LDL.²⁵



Gambar 2.3 Jalur metabolisme eksogen dan endogen.²⁵

c. Jalur Metabolisme *Reverse Cholesterol Transport*

HDL adalah partikel terkecil yang disintesis di dalam usus juga hepar. HDL terdiri dari 50% protein, 50% lipid, apoprotein apoA-II, dan apoA-I. Terdapat HDL 3 dan HDL 2 berdasarkan densitasnya. Empedu mengekskresi kolesterol menuju empedu secara langsung atau setelah melalui konversi terlebih dahulu. Kolesterol dalam sel perifer selanjutnya dibawa ke hepar serta usus dengan proses *reverse cholesterol transport* oleh kolesterol HDL. Hepar dan usus kemudian mensintesis Lipoprotein HDL *nascent*, selanjutnya dari makrofag mengambil kolesterol, sedangkan kolesterol pada makrofag akan ditransfer oleh *adenosine triphosphate-binding cassette A-1* (ABCA-1) menuju permukaan membran makrofag. Kemudian, terbentuk kolesterol ester dari proses *lecitin-cholesterol acyl-transferase* (LCAT) yang mengesterifikasi HDL. Kolesterol ester kemudian akan berpindah menuju inti HDL, dan akan berbentuk sferis. Kemudian, lipid dan apoprotein dibawa menuju HDL dari permukaan kilomikron dan VLDL saat lipolisis.²⁵

Kolesterol HDL dibawa menuju hati melalui proses yang langsung serta tidak langsung. Kolesterol ester dibawa menuju hepar melalui tahap konversi VLDL ke IDL serta ke LDL yang selanjutnya dibawa reseptor LDL. Jalur tidak langsung tersebut membawa kolesterol ester lipoprotein-apoB untuk mendapatkan partikel yang tinggi akan kolesterol sehingga sel busa mengambilnya menjadi plak aterosklerosis dari sirkulasi endositosis. HDL kolesterol terjadi secara langsung apabila melewati *scavenger receptor class BI* (SR-BI) oleh hepatosit, yang

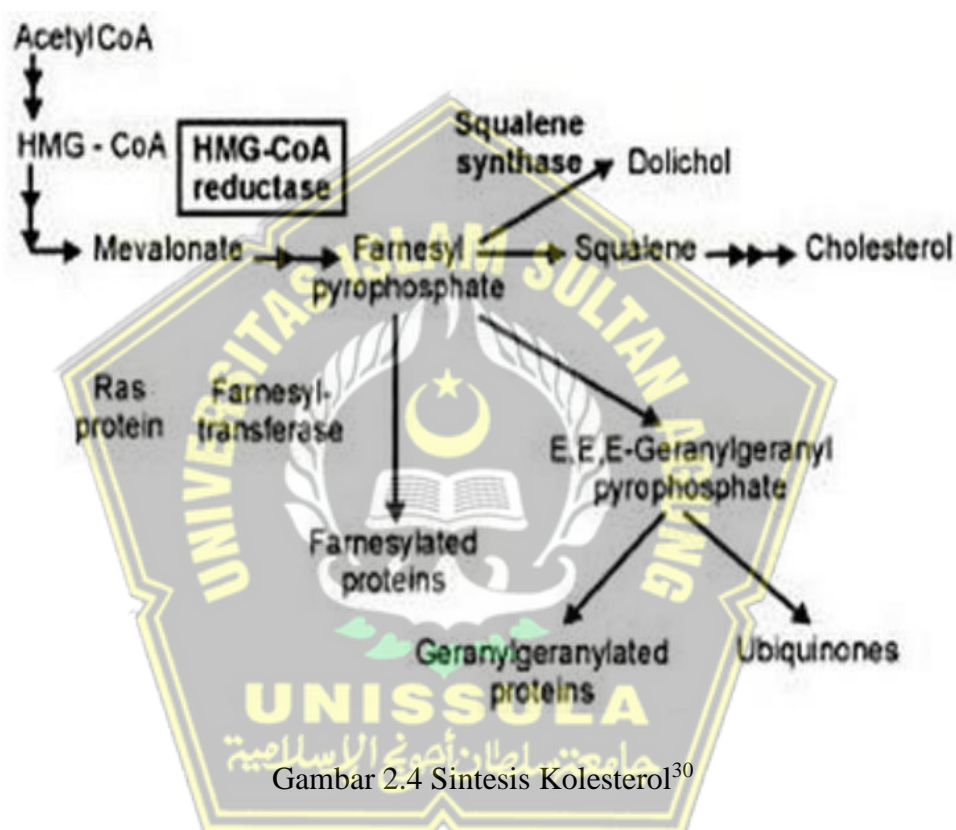
merupakan reseptor pada permukaan sel dalam transfer selektif menuju sel dari lipid.²⁵

Reverse cholesterol transport diperantarai HDL dalam membawa kolesterol menuju hepar melewati tiga mekanisme, diantaranya 1) Mayoritas kolesterol ester HDL akan dibawa dari HDL ke VLDL, IDL, lalu LDL oleh *cholesterol ester transfer protein* (CETP), serta VLDL, IDL, kemudian LDL *remnant* diterima oleh hepar. HDL akan membawa kolesterol ester ke hepar secara tidak langsung. 2) HDL terikat pada reseptor SR-BI, sehingga memudahkan kolesterol berpindah dari HDL oleh hepar secara langsung. 3) HDL berhubungan dengan reseptor hepatosit dalam membawa HDL dari plasma.²⁵

Tubuh manusia dalam 80% sintesis kolesterol adalah produk dari asetil koenzim A (Co-A). Asetil Co-A adalah prekursor sintesis kolesterol melalui pembentukan glukosa, asam lemak, dan asam amino. Terdapat 5 proses sintesis kolesterol yang terdiri dari (a) Asetil-CoA akan mensintesis mevalonat. (b) Unit isoprenoid terbentuk dari mevalonat melalui pelepasan CO₂. (c) Enam unit isoprenoid menghasilkan kondensasi menjadi senyawa antara skualen. (d) siklisasi senyawa skualen yang memproduksi senyawa steroid induk lanosterol. (e) Kolesterol melalui lanosterol jika telah melalui tahap berikutnya termasuk pelepasan tiga gugus metil.²⁹

Fase pertama akan merubah asetil CoA menjadi 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) yang dikatalisis oleh enzim HMG-CoA sintase, selanjutnya akan menjadi Mevalonat isopentenyl pyrophospat (IPP), bersama CO₂ yang hilang. Fase selanjutnya terjadi polimerisasi enam molekul isoprenoid menjadi molekul skualen.

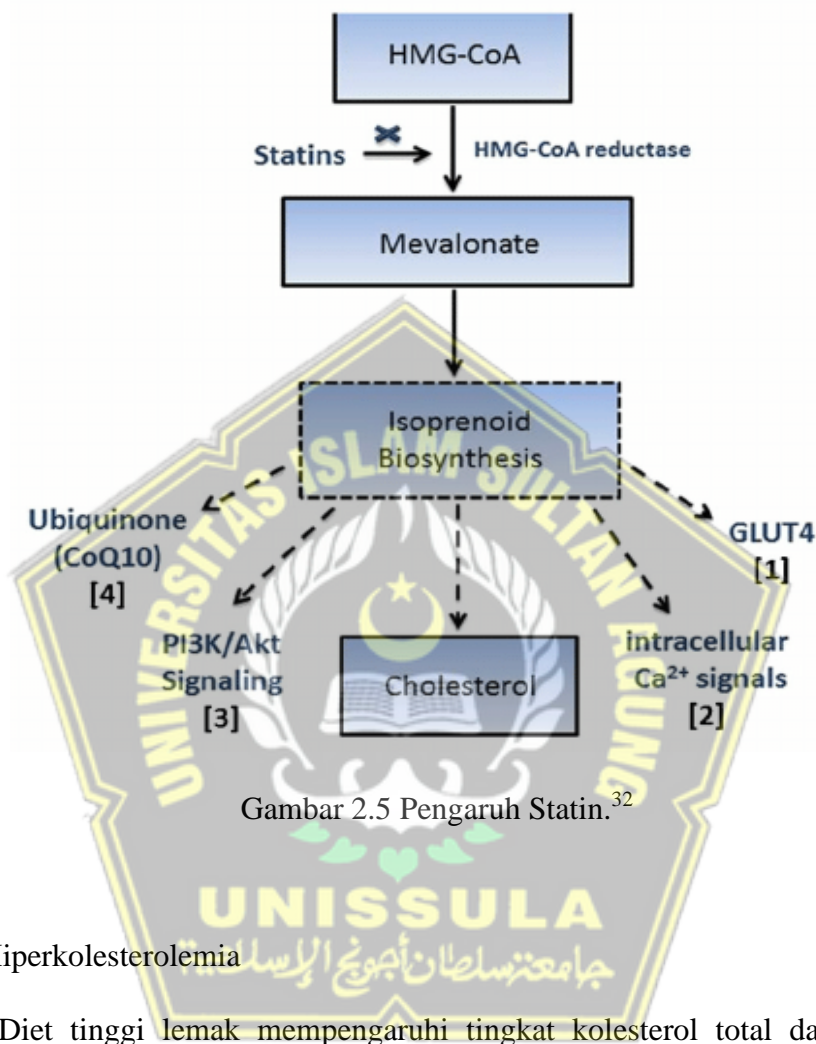
Fase terakhir yaitu proses pembentukan inti sterol dari skualen selanjutnya terbentuk kolesterol. Reaksi dikatalisasi oleh HMG Co-A reduktase ini merupakan reaksi yang menentukan kecepatan pembentuk kolesterol mevalonat menjadi isoprene yang saling bercampur menjadi skualen. Siklisasi skualen akan memproduksi sistem cincin steroid serta reaksi yang menimbulkan kolesterol.²⁹



Gambar 2.4 Sintesis Kolesterol³⁰

Sintesis kolesterol diatur melalui kecepatan pembentukan mevalonat oleh HMG-CoA reduktase. Enzim HMG-CoA dapat dicegah melalui pemberian farmakologi golongan statin.^{17,18} Terapi statin akan mengurangi kadar LDL, meningkatkan fungsi endotel, *plaque*, serta mencegah terbentuknya trombus. Statin dapat menghambat sintesis isoprenoid yang berperan pada interaksi lemak dalam signal molekul intraselular. Statin juga menghambat protein pengikat-GTP (Ras, Rho, Rac, dan Rap). Data terbaru menunjukkan statin secara langsung

mempengaruhi keseimbangan proliferasi atau apoptosis, mempengaruhi protein G, dan menurunkan sitokinin.³¹



Gambar 2.5 Pengaruh Statin.³²

2.1.2 Hiperkolesterolemia

Diet tinggi lemak mempengaruhi tingkat kolesterol total dalam tubuh. Konsumsi lemak yang meningkat sebesar 100 mg/hari akan mengakibatkan kolesterol total meningkat 2-3 mg/dL. Peningkatan kolesterol total akan berpengaruh dalam proses biosintesis kolesterol dalam penurunan aktivitas HMG-CoA reduktase. Aktivitas HMG-CoA reduktase yang menurun mempengaruhi penurunan sintesis kolesterol.³³ Proses metabolisme kolesterol terbilang normal apabila jumlah kolesterol tidak melebihi kadar normal yang dibutuhkan oleh tubuh.

Tabel 2.1 Kadar Kolesterol³⁴

	Baik (mg/dl)	Batas Maksimal (mg/dl)	Buruk (mg/dl)
Kolesterol total	< 200	200 - 240	> 240
HDL	> 45	34 - 45	< 35
Trigliserid	> 200	200 - 400	> 400
LDL	< 130	130 - 160	> 160

Konsumsi kolesterol yang tinggi dapat memicu hiperkolesterol familial.³⁵

Kolesterol adalah komponen sel penting dalam membran sel yang mempengaruhi integritas dan fungsional seluler dalam regulasi pensinyalan sel.^{1,14} Hiperkolesterolemia merupakan penyebab utama aterosklerosis dan penyakit terkait diantaranya serebrovaskular iskemik, jantung koroner, serta penyakit pembuluh darah perifer.^{8,9}

Respon endotel vaskular dalam kadar kolesterol darah yang tinggi ditandai dengan kadar sitokin IL-6 (Interleukin 6), IL-17 (Interleukin 7), dan TGF- β (Transforming Growth Factor- β). IL-6 serta TGF- β kemudian memicu Th17 menghasilkan IL-17 dan IL-10, yang dapat menginduksi efek dari antiinflamasi melalui supresi patogen diferensiasi sel Th1. Tingkat IL-6 yang lebih tinggi berkaitan dengan peningkatan konsentrasi trigliserida plasma pada pria dengan faktor risiko kardiovaskular yang berbeda. IL-6 pada tikus menghambat aktivitas lipase lipoprotein adiposit serta menginduksi peningkatan sekresi trigliserida hepar. Aksi IL-6 juga dikaitkan dengan peningkatan asam lemak bebas plasma (FFA).³

Efek pro-oksidan hiperkolesterolemia terjadi karena proses oksidasi lipid bilayer, peningkatan regulasi enzim penghasil *Reactive Oxygen Species* (ROS),

kerusakan mitokondria, aktivasi peradangan, dan penipisan antioksidan. Radikal bebas reaktif akan menyebabkan peroksidasi lipid yang menghasilkan lipid radikal peroksida serta radikal bebas lainnya. MDA merupakan penanda peroksidasi lipid yang menghasilkan peroksida dan radikal bebas.¹ Penelitian terdahulu telah mengungkapkan hubungan antara stres oksidatif dan peradangan. Hal ini berhubungan dengan apoptosis seluler dan nekrosis jaringan selama hiperkolesterolemia melalui faktor transkripsi serta generasi lipoprotein densitas rendah teroksidasi.³⁶

2.1.3 Faktor yang Mempengaruhi Tingkat Kolesterol

Kolesterol dipengaruhi oleh beberapa faktor menurut Sari,³⁷ diantaranya :

1. Pola Makan dan Berat Badan

Kebiasaan mengonsumsi makanan yang berlebih akan mempengaruhi status gizi. Konsumsi makanan dengan kandungan lemak jenuh secara berlebihan akan meningkatkan kadar kolesterol. Lemak jenuh terdapat pada bahan makanan hewani diantaranya ikan, telur, daging, yogurt, serta keju. Berat badan yang berlebihan akan berpengaruh pada meningkatnya kadar trigliseridan dan menurunkan kolesterol HDL dalam darah. Peningkatan Indeks Massa Tubuh (IMT) berlebih akan menampilkan banyaknya lemak yang ditemukan saat pemeriksaan darah kolesterol. Obesitas adalah keadaan jumlah lipid yang tidak normal dalam darah berupa peningkatan kolesterol.³⁸

2. Aktifitas Fisik

Kurang aktifitas mempengaruhi kadar kolesterol LDL yang akan meningkat dan menurunkan kadar kolesterol HDL, sehingga akan menyebabkan peningkatan kadar kolesterol.

3. Jenis Kelamin dan Umur

Kadar kolesterol pada usia 20 tahun pada pria akan mulai meningkat dan berhenti pada usia 50 tahun. Jenis kelamin berpengaruh dalam kadar kolesterol yang dikaitkan dengan aktivitas hormonal, wanita yang memiliki kadar estrogen lebih banyak dibandingkan pria dapat meningkatkan kadar kolesterol. Hormon testosteron pada pria dapat menurunkan kadar kolesterol.

4. Kondisi Kesehatan

Riwayat penyakit tertentu seperti DM, sindroma nefrotik, dan hipotiroidisme dapat mengakibatkan kadar kolesterol meningkat. Penatalaksanaan penyakit primer akan menurunkan kadar kolesterol.

5. Riwayat Keluarga

Kelainan genetik dalam mengatur metabolisme lemak dapat mempengaruhi kadar kolesterol. Pada hiperkolesterolemia familial reseptor LDL (R-LDL) hepatic mengalami penurunan yang menyebabkan tampak peningkatan konsentrasi LDL plasma akibat LDL yang tidak dapat diatur oleh tubuh penderita³⁹

6. Merokok

Konsumsi rokok dalam jangka panjang akan menurunkan HDL dan meningkatkan LDL sehingga kadar kolesterol total juga akan meningkat. Merokok akan meningkatkan penggumpalan sel-sel darah serta menempel di

lapisan pembuluh darah. Risiko penggumpalan darah juga berpengaruh dalam meningkatkan terjadinya aterosklerosis

2.2 Interleukin-6 (IL-6)

IL-6 adalah sitokin yang memiliki banyak fungsi dihasilkan oleh berbagai tipe sel yang berbeda, diantaranya sel imun, sel fibroblas, miosit, jaringan adiposa, serta sel endotel. IL-6 memediasi proses inflamasi serta stres yang diinduksi oleh radikal bebas. IL-6 juga kerap dikaitkan sebagai pro-inflamasi yang dapat dijadikan sebagai parameter dalam mengukur tingkat inflamasi melalui kerusakan sel endotel pada pembuluh darah. Peningkatan tingkat IL-6 akan mengakibatkan regulasi produksi NO yang menurun dengan menghalangi endothelial nitric oxide synthase (eNOS) yang memicu terjadinya trombus serta menaikkan risiko gangguan pada kardiovaskuler.⁴⁰

Nilai normal tingkat IL-6 menurut Siagian⁴¹ adalah < 4 pg/ml apabila tingkat serum IL-6 lebih dari ≥ 4 pg/ml maka dapat disebut terjadi peningkatan IL-6.⁴¹ IL-6 disintesis dalam lesi lokal selama tahap inflamasi awal dan kemudian masuk ke hepar melalui aliran darah. Protein fase akut seperti C-reaktif protein, serum amyloid A, fibrinogen, haptoglobin, dan $\alpha 1$ -antikemotripsin menginduksi secara cepat. Sistem reseptor IL-6, yang terdiri dari dua protein membran, bertanggung jawab atas aktivitas biologis IL-6. Sifat infiltrate leukosit, neutrophil polimorfonuklear, akan berubah menjadi monosit atau makrofag ketika perubahan inflamasi akut berubah menjadi kronis. Reseptor interleukin-6 (IL-6R gp80) dikomunikasikan oleh beberapa sel dalam sel manusia, reseptor ini diekspresikan

pada neutrophil, hepatosit, sel B, dan sel T. IL-6 mempunyai 2 subunit reseptor yaitu IL-6R dan gp130. IL-6R adalah protein transmembran 80-kDa yang langsung mengikat IL-6. Gp130 adalah glikoprotein 130kDa dengan sitoplasma besar yang menengahi reaksi signal dari IL-6. Reseptor IL-6 akan mengaktivasi jalur pensinyalan Janus Kinase (JAK).⁴⁰

Diet hiperkolesterol akan mempengaruhi ukuran serta bentuk jaringan adiposa akibat akumulasi lemak dan massa jaringan adiposa yang meningkat serta berpengaruh pada perubahan biokimia maupun histologi pada inflamasi. Jaringan lemak akan mensekresi sitokin proinflamasi (IL-6 dan TNF- α) dalam metabolisme lemak. Hiperkolesterolemia juga akan meningkatkan jumlah makrofag sehingga memicu inflamasi.⁴² Kolesterol LDL pada diet tinggi lemak mempengaruhi disfungsi endotel yang membuat makrofag berubah menjadi sel busa dan mengaktifkan sel imun untuk menghasilkan IL-6. IL-6 akan berdifusi melalui lapisan sub mukosa ke dalam lumen dan akan terdeteksi dalam darah lebih tinggi, sehingga IL-6 berperan sebagai mediator solubel dalam inflamasi vaskular.⁴³

Pasien dengan obesitas dan dengan resistensi insulin juga memberikan respon terhadap peningkatan IL-6. Hal ini terkait dengan sekresi IL-6 oleh adiposit pada jaringan adiposa visceral yang lebih tinggi dari jaringan adiposa subkutan. Peningkatan IL-6 dan asam lemak pada sirkulasi hepar dapat meningkatkan akumulasi lipid di hepar yang akan berkembang menjadi aterosklerotik akibat efek parakrin, autokrin, dan endokrin.⁴¹ Diet hiperkolesterol berpengaruh pada sitokin pro inflamasi melalui sekresi asam lemak bebas yang meningkat. Jaringan lemak akan mensekresi hormon (leptin), adipokin, serta chemokins (MCP-1, IL-16, IL-6,

dan TNF- α). Hiperplasia dan hipertrofi jaringan adiposa menjadi inflamasi akibat diferensiasi menjadi makrofag oleh monosit. Inflasi jaringan adiposa adalah pemicu utama yang menyebabkan terjadinya inflamasi.^{44,45}

IL-6 merupakan sitokin aktivitas pleiotropik yang menginduksi sintesis protein fase akut seperti *C-Reactive Protein* (CRP), fibrinogen, serum amiloid A, dan hepcidin dalam hepatosit, akan tetapi menghalangi produksi dari albumin. IL-6 berperan dalam merespon imun melalui stimulasi hasil antibodi dan pertumbuhan sel T efektor. IL-6 juga meningkatkan diferensiasi serta proliferasi sejumlah sel non-imun. Aktivitas pleiotropik pada sitokin menyebabkan produksi IL 6 tidak teratur secara terus menerus yang akan mengakibatkan berbagai penyakit. Treg, sel T pengatur; *Receptor Activator of Nuclear Factor κ B-Ligand* (RANKL), aktivator reseptor ligan faktor nuklir κ B (NF- κ B); *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), dan faktor pertumbuhan endotel vaskular berfungsi dalam up-regulasi keseimbangan Th17/Treg yang berperan dalam gangguan toleransi imunologis, dan terlibat dalam perkembangan penyakit autoimun serta inflamasi kronis.⁴⁶

Respon endotel vaskular terhadap kadar kolesterol darah yang tinggi ditandai dengan kadar sitokin IL-6, IL-17 dan *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β). Th17 yang dipicu oleh interleukin-6 dan TGF- β menghasilkan IL-17 dan IL-10, sehingga membuat IL-17 menginduksi efek anti inflamasi melewati penekanan patogen diferensiasi sel Th1. Aktivasi jalur interleukin-17 yang terjadi melalui faktor nuklir (NF)- κ B menimbulkan ekspresi gen sitokin pro-inflamasi diantaranya IL-6, *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor* (GM-CSF), IL-1, kemokin, matriks metaloproteinase

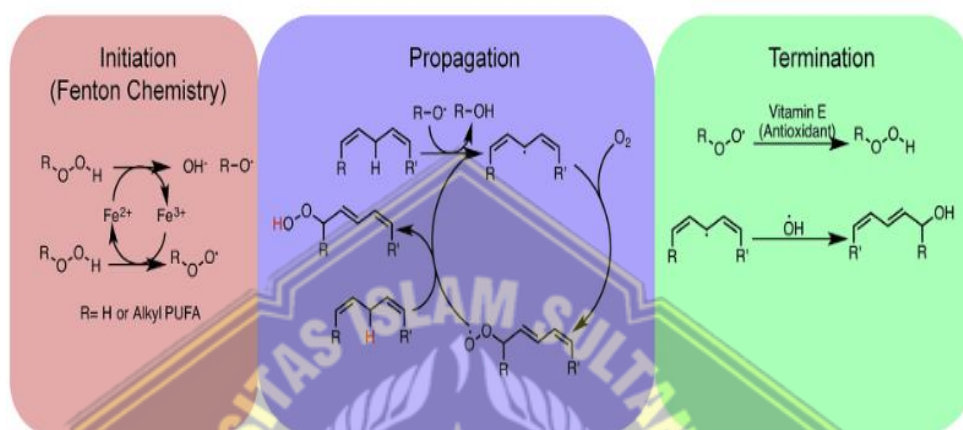
serta peptida antimikroba. Interleukin-17 kemudian akan menambahkan faktor *Granulocyte Colony Stimulating Factor* (G-CSF) dalam perekrutan neutrofil menuju situs peradangan. IL-17 terlibat dalam proses pembentukan plak aterosklerotik.³

2.3 Malondialdehyde (MDA)

MDA adalah produk enzimatis dan non enzimatis melalui pemecahan prostaglandin dari endoperoksida serta merupakan produk akhir lipid preoksidasi, dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$. Lipid termasuk dalam molekul yang sensitif pada radikal bebas dan MDA terbentuk melalui proses lipid peroksida. Peningkatan radikal bebas pada tubuh dapat dilihat dari konsentrasi MDA yang tinggi.⁴⁷ Peroksidasi lipid merupakan oksidatif dari asam lemak tak jenuh dengan rantai yang panjang *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA).^{1,48}

Stres oksidatif adalah kondisi terjadinya peningkatan pembentukan ROS atau menurunnya aktivitas antioksidan. Stres oksidatif menyebabkan kerusakan struktur biomolekul seperti lipid, asam nukleat, dan protein. Membran fosfolipid rentan berikatan dengan hidroksil dan dapat menghasilkan lipid peroksida, melalui proses inisiasi, propagasi dan terminasi. Proses inisiasi terjadi saat hidroksil berikatan dengan hidrogen membran fosfolipid, kemudian terbentuk radikal asam lemak yang sangat reaktif karena terjadi kehilangan atau penambahan karbon rangkap pada atom hidrogen. Proses propagasi yang menginisiasi reaksi berantai menghasilkan peroksil. Peroksil selanjutnya berikatan dengan membran fosfolipid lain dan membentuk lipid peroksida. Reaksi ini akan berjalan hingga terjadi proses

terminasi. Proses terminasi terjadi apabila molekul dua radikal bebas berikatan atau bereaksi dengan antioksidan dan membentuk molekul yang stabil. Radikal bebas dapat bereaksi dengan timin pada nukleus dan mitokondria yang akan merusak DNA.⁴⁹⁻⁵¹



Gambar 2.6 Proses peroksidasi lipid⁴⁹

MDA adalah biomarker peroksidasi lemak yang merupakan produk akhir peroksidasi lemak. MDA dikenal sebagai salah satu penunjuk aktivitas radikal bebas yang terdapat di dalam sel dan diketahui memiliki peran dalam proses terjadinya stres oksidatif. Prinsip pengukuran kadar MDA dengan metode *Thiobarbituric Acid-Reacting Substances* (TBARS) yang memiliki panjang gelombang 532 nm. Konsentrasi MDA kemudian ditetapkan dalam nmol/ml serum.^{52,53} Kadar normal MDA menurut Dixon *et al* (1998) antara 0,12-1,71 nmol/ml.⁵⁴ Sedangkan menurut Purwastyastuti⁵⁵ menyatakan kadar MDA rata-rata orang lanjut usia di Indonesia ialah 0,26 nmol/ml.⁵⁵

Peningkatan kadar MDA pada tubuh manusia merupakan suatu penanda terjadinya kerusakan pada sel. Membran sel yang rusak kemudian akan menimbulkan respons oksidasi, adisi, substitusi dan reduksi radikal bebas dengan

molekul biologis, hal ini akan berdampak pada terganggunya metabolisme dalam tubuh.⁴⁷ MDA terjadi karena oksidasi dari asam lemak tak jenuh akibat peningkatan radikal bebas pada tubuh. Kemudian MDA akan terbentuk dari asam lemak dengan tiga atau lebih ikatan rangkap yang selanjutnya dimanfaatkan dalam ukuran peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid terjadi apabila radikal peroksida akan melakukan ikatan rangkap pada lipid, kemudian terjadi proses yang rumit disebut inisiasi, propagasi, dan terminasi. Proses ini menghasilkan molekul reaktif yang dapat membahayakan tubuh manusia diantaranya MDA, isoprostan, 4-hidroksinonenal (HNE), dan sebagainya. Produk peroksidasi lipid terbesar adalah MDA dengan presentase 80-82% atau senilai dengan sepuluh kali dari kadar senyawa lainnya. Sehingga MDA kerap digunakan dalam biomarker terjadinya peningkatan radikal bebas dalam tubuh.^{47,48}

Kadar MDA yang meningkat berkaitan dengan konsumsi diet kolesterol tinggi, dimana kolesterol yang berlebihan akan menyebabkan terjadi ROS. ROS adalah bagian radikal bebas dari metabolisme sel normal, sedangkan radikal bebas merupakan produk reaksi kimia dalam tubuh dengan elektron yang tidak berpasangan. Penyebab tingginya kadar MDA juga disebabkan oleh jumlah antioksidan yang tidak seimbang dari produksi endogen maupun eksogen (diet) sehingga terjadinya kondisi stres oksidatif.¹

2.4 Pare (*Momordica charantia* L.)

2.4.1 Tanaman Pare



Gambar 2.7 Buah Pare⁵⁶

Kingdom : *Plantae*
 Subkingdom : *Tracheobionta*
 Superdivisio : *Spermatophyta*
 Divisio : *Magnoliophyta*
 Class : *Magnoliopsida*
 Subclass : *Dileniidae*
 Order : *Violales*
 Family : *Curcubitaceae*
 Genus : *Momordica* L.
 Species : *Momordica charantia* L.⁵⁷

Pare atau *bitter melon* atau *balsam pear* adalah salah satu tanaman obat yang hingga kini banyak diteliti dengan kandungan yang kaya antioksidan. Pare (*Momordica charantia* L.) termasuk famili *cucurbitaceae* yang disebut dengan karela atau pare. Tanaman pare termasuk tumbuhan semusim (anual)

yang merambat atau menjalar. Tanaman ini menghasilkan buah yang memiliki bentuk bulat panjang, dengan permukaan buah yang tidak rata atau berbintil-bintil, buah pare memiliki daging yang cukup tebal, serta terdapat sejumlah biji pada buahnya.^{57,58} Kriteria pare siap panen yaitu apabila buah pare telah memiliki bintil-bintil, bentuk lonjong meruncing, kulit mengkilap, namun keriputnya tidak terlalu rapat dan alurnya belum melebar.^{59,60}

2.4.2 Kandungan dan Manfaat Buah Pare (*Momordica charantia L.*)

Buah pare mengandung zat antioksidan serta dapat memulihkan sel yang rusak karena radikal bebas. Buah pare telah lama digunakan sebagai pengobatan tradisional di Asia diantaranya demam, batuk, diare, cacingan, luka bakar, penyakit kulit, dan diabetes. Ekstrak buah pare juga diketahui bermanfaat sebagai antibakteri, sitotoksik, penurunan trigliserida, antiinflamasi, dan penangkal radikal bebas.^{57,61}

Buah pare yang dilakukan uji fitokimia menampilkan banyak senyawa aktif, termasuk flavonoid, polisakarida, terponoid, steroid, protein, saponin, polifenol, momordisin, dan karantin. Ekstrak buah pare dengan pelarut etanol mengandung 96% flavonoid, dengan kadar total flavonoid 0,6%.^{15,62} Kandungan polisakarida pada ekstrak pare mencapai 5,91% hingga 10,62%. Polisakarida yang larut dalam air dapat memperbaiki stress oksidatif, hiperlipidemia, peradangan dan apoptosis selama infark miokard melalui jalur NF-kB. Flavonoid dan fenolik dalam ekstrak pare dikenal sebagai pemulung radikal bebas dan antioksidan yang paling efektif.²

Penelitian yang dilakukan oleh Purnamasari⁶ menyebutkan bahwa kolesterol total yang menurun setelah diberikan jus jeruk nipis (28,93%) dan jus pare (22,51%), serta kombinasi jus pare dan jeruk nipis (24,04%) ($p < 0,05$). Penurunan kadar kolesterol total diduga efek flavonoid, saponin, vitamin C, dan lutein yang terdapat pada jus pare dan jus jeruk nipis.⁶ Buah pare memiliki kandungan albuminoid, karbohidrat, zat karantin, vitamin A, B, C, dan hydroxytryptamine. Buah pare dengan berat 100 gram mengandung 29 kilo kalori; 1,1 gr lemak; 1,1 gr protein; 45 mg kalsium; 0,5 gr karbohidrat; 1,4 mg besi; 64 mg fosfor; 18 SI/mg vit A; 0,08 mg vit B; 52 mg vit C dan 91,2 gr air.⁶³ Pada Penelitian Naid⁶⁴ menyatakan β -Karoten yang terkandung di buah pare dapat diamati dengan pelarut aseton, eter, dan pelarut KOH 15 % di dalam methanol dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis, dan didapati hasil kadar β -karoten sebesar 0,7822 mg/100 g pada buah pare.^{64,65}

Pare memiliki efek samping apabila dikonsumsi dalam jumlah berlebih yang dimana dapat mempengaruhi jaringan dari organ hepar. Pada penelitian Padang⁶⁶ didapatkan efek toksik dari ekstrak pare dengan pemberian pare terhadap tikus dengan 4 perlakuan yaitu tanpa pemberian ekstrak pare, perlakuan 1 dengan dosis 100mg/ml, perlakuan 2 dosis 200mg/ml, dan dosis 3 dosis 400mg/ml dilakuakn selama 50 hari. Pada hasil didapatkan nekrosis di hepar pada pemberian kelompok ke 2 dan kongesti pada vena centralis, nekrosis, dan tanda sel regeneratif pada kelompok ke 3.^{66,67}

2.5 Pengaruh Ekstrak Pare terhadap kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA pada Hiperkolesterolemia

Simvastatin adalah obat lini pertama pengobatan hiperkolesterolemia dan merupakan obat keras dengan penggunaan yang harus diawasi oleh tenaga kesehatan agar menurunkan risiko efek samping. Cara kerja obat ini dengan menghambat enzim HMG-CoA reduktase, menaikkan afinitas dari reseptor LDL, meningkatkan kecepatan katabolisme LDL, ekstraksi prekursor LDL di hepar dan mengakibatkan penurunan LDL di plasma. Penggunaan obat simvastatin pada beberapa orang dapat memberikan efek samping berupa gangguan otot, nyeri perut, dan kembung.¹⁷ Masyarakat saat ini dapat memilih obat herbal sebagai salah satu pilihan untuk menurunkan kadar kolesterol. Pemberian ekstrak pare yang mengandung antioksidan adalah pilihan tepat sebagai penurun kadar kolesterol yang berlebih dalam darah dengan mekanisme yang sama dengan statin.

Radikal bebas dari eksternal tubuh diantaranya asap rokok, radiasi, makanan, obat-obatan, dan olahraga yang berlebihan. Makanan yang dapat menyebabkan stres oksidasi adalah makanan dengan kandungan lemak berlebihan terutama lemak tak jenuh. Lemak tak jenuh sangat rentan terjadi oksidasi atau terserang radikal hidroksil yang dapat menjadi radikal lipid peroksida. Hal ini berkaitan dengan oksigen yang berlebih saat melakukan aktivitas, kemudian terjadi reaksi kompleks dan menyebabkan produk samping berupa radikal bebas dalam metabolisme normal lipid. Radikal bebas pada target lipid dapat mengubah lipid sehingga menjadi jenuh, mengubah fluiditas, permeabilitas, serta mempengaruhi enzim yang terikat pada membran.⁴⁸

Studi menunjukkan bahwa akumulasi lipid yang berlebih di hati akan dikaitkan dengan terjadinya stress oksidatif dan disfungsi mitokondria hati. diet tinggi lemak akan menginduksi produksi berlebih spesies oksigen reaktif di jaringan adiposa dan hati. hati adalah organ pertama yang memetabolisme kolesterol yang dicerna dan dipengaruhi stress oksidatif yang dihasilkan dari ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan efektifitas antioksidan. Tikus yang diberi diet kolesterol tinggi akan menunjukkan kelainan berupa celah kolesterol, hepatotoksisitas, dan perlemakan pada hati.¹⁹ Kegiatan oksigen radikal dan peroksidasi lemak secara umum terjadi pada hati. Apabila radikal bebas meningkat dalam tubuh akan mengambil komponen struktur dan elektron atom yang menimbulkan reaksi berantai sehingga terjadi ROS.⁴⁸

Respon endotel vaskular terhadap kadar kolesterol darah yang tinggi ditandai dengan kadar sitokin IL-6, IL-17 dan TGF- β . Interleukin-6 dan TGF- β memicu Th17 untuk menghasilkan IL-17 dan IL-10, yang dalam kasus ini IL-17 dapat menginduksi efek anti inflamasi melalui supresi patogen diferensiasi sel Th1. Respon endotel vaskular terhadap kadar kolesterol darah yang tinggi ditandai dengan kadar sitokin IL-6, IL-17 dan TGF- β . Kadar IL-6 yang lebih tinggi dikarenakan aktivitas lipase lipoprotein adiposit dan menginduksi peningkatan sekresi trigliserida hati pada tikus, serta peningkatan asam lemak bebas plasma (FFA).³ MDA (*Malondialdehyde*) adalah penanda peroksidasi lipid yang menghasilkan peroksida dan radikal bebas lainnya, serta penanda stres oksidatif yang diproduksi dari peroksidasi lipid asam lemak tak jenuh.¹

Pare mengandung zat antioksidan yang merupakan senyawa penting dalam perbaikan sel yang rusak akibat radikal bebas. Manfaat pare bagi kesehatan juga berperan dalam menurunkan kadar kolesterol yang berlebih.⁶¹ Sebuah penelitian yang dilakukan Ahmad⁵⁷ menyebutkan tikus yang diberi makan asam lemak oktadecatrienoat terkonjugasi yang kemudian diisolasi selama 4 minggu, menunjukkan penurunan yang signifikan dari peroksidasi lipid plasma, peroksidasi lipid membran eritrosit, serta peroksidasi lipid jaringan hati nonenzimatik. Aktivitas antioksidan senyawa fenolik yang diekstraksi dari pare juga telah dilaporkan memiliki sifat antioksidan.⁵⁷

Peroksidasi lipid mengacu pada reaksi asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) bersama radikal bebas untuk menyusun radikal bebas menengah, kemudian dengan molekul oksigen untuk menyusun radikal bebas peroksidasi lipid, menyebabkan deformasi. Pare mengandung polisakarida aktif, yang dapat meningkatkan kekebalan, efek anti bakteri dan anti inflamasi. Gugus hidroksil semiasetal dengan sifat reduktif pada molekul polisakarida dapat mengurangi radikal bebas juga mencegah reaksi berantai dari radikal bebas. Polisakarida memiliki kemampuan dalam peroksidasi antilipid yang tinggi, dan memiliki gugus fosfat nukleofilisitas yang tinggi serta dapat mengikat logam.⁶⁷

Polisakarida adalah golongan karbohidrat yang mempunyai lebih dari 10 unit monosakarida dan didapatkan dari hidrolisis.⁶⁸ *dietary fiber* adalah bagian tumbuhan yang dapat dikonsumsi serta disusun oleh karbohidrat, serat pangan bersifat resistan bagi proses pencernaan, penyerapan di dalam usus halus, dan melalui proses fermentasi di dalam usus besar. Polisakarida akan menjerat lemak di

usus yang menyebabkan penurunan kadar kolesterol hingga 5% bahkan lebih. Polisakarida memiliki kemampuan untuk mengikat produk akhir kolesterol yaitu garam empedu, kemudian diekskresi bersama feses. Meningkatnya ekskresi kolesterol di dalam feses akan mengurangi jumlah kadar kolesterol yang disintesis ke hepar. Hasil fermentasi serat pangan dari bakteri usus adalah *Short Chain Fatty Acids* (SCFA) yang berpengaruh pada penurunan kadar kolesterol, dengan pembentukan propionate, dan selanjutnya menghambat enzim HMG-koA reduktase yang mempengaruhi penurunan sintesis kolesterol.⁶⁹

Disebutkan dalam penelitian Raish⁷⁰ bahwa ekstrak pare memiliki sifat antioksidan dalam melindungi infark miokard dengan menghambat stress oxidative, peradangan, apoptosis pada tikus yang diinduksi sintetik katekolamin adrenergik agonis isoproterenol melalui penghambatan jalur pensinyalan faktor nuklir kappa B (NF-kB). Pada penelitiannya didapatkan ekstrak pare secara signifikan mencegah upregulasi enzim antioksidan endogen dan downregulasi MDA.⁷¹ Flavonoid dan fenolik yang terkandung dalam ekstrak pare dikenal sebagai salah satu pemulung radikal bebas dan antioksidan yang paling efektif. Kandungan polisakarida pada ekstrak pare mencapai 5,91% hingga 10,62%. Polisakarida yang larut dalam air dapat memperbaiki stres oksidatif, hiperlipidemia, peradangan dan apoptosis selama infark miokard dengan jalur NF-kB.²

Penelitian Jia² menyebutkan pemberian oral 2% dan 5% ekstrak pare secara signifikan menekan infiltrasi makrofag pada jaringan adiposa epididimis tikus yang diberi diet tinggi lemak, serta menurunkan regulasi ekspresi monosit sitokin pro-inflamasi protein kemotaktik-1, serta IL-6 pada jalur NF-kB. Pare juga

memiliki efek neuroprotektif terhadap iskemia / reperfusi saraf in vitro. Pada ekstrak pare telah terbukti menurunkan trigliserida, kolesterol, dan meningkatkan kadar plasma adiponektin melalui *upregulasi activated receptor* (PPAR).² PPAR dan *AMP-activated protein kinase* (AMPK) merupakan aktivasi ekstrak pare dalam mekanisme perlindungan terhadap arterosklerosis melalui potensi anti inflamasi pada sel endotel. *Vascular Cell Adhesion Molecule* (VCAM) dan P-selektin yang larut dalam serum tikus yang diberikan ekstrak pare berperan dalam penurunan inisiasi aterosklerosis, ekspresi IL-6, dan *Monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1).⁷²

Pemberian ekstrak pare dapat menurunkan regulasi ekspresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan IL-10, penanda inflamasi (*nitric oxide*, *myeloperoxidase*, dan *nitric oxide synthase*), dan penanda apoptosis (caspase-3 dan BAX), dan ekspresi Bcl 2 yang diregulasi. Ekstrak pare dikaitkan dengan peningkatan sistem pertahanan antioksidan melalui jalur faktor nuklir kappa B (NF- κ B), dan anti-apoptosis melalui regulasi Bax, caspase-3, dan Bcl-2.^{70,71} Penelitian yang dilakukan Saad¹⁹ menyebutkan efek penurunan kadar kolesterol yang diinduksi pare mempromosikan konversi kolesterol menjadi asam empedu melalui aktivasi CYP7A1, pengaturan naik dan turun PPAR FAS, *sterol regulatory element binding protein-1c* (SREBP1c) dan HMG-CoAR di hati dan jaringan adiposa. Lebih dari 95% asam empedu kembali di metabolisme di ileum distal dan kembali ke hati. Pare berperan dalam menurunkan reabsorpsi asam empedu di usus.¹⁹ Pare berperan sebagai aktivator *AMP-activated protein kinase* (AMPK) berupa protein kinase yang diaktifkan oleh proliferasi peroksisom, menyeimbangkan metabolisme lipid

dan glukosa, serta melemahkan kelainan metabolisme. Ekstrak pare sangat bermanfaat dalam mengurangi patogenesis aterosklerosis melalui banyak mekanisme seperti penurunan trigliserida, anti inflamasi dan peningkatan fungsi endotel.^{2,70,71}



BAB 3

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Hiperkolesterol merupakan suatu kelainan metabolisme lemak ditandai oleh peningkatan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, penurunan kadar HDL, dan kenaikan kadar trigliserida. Hiperkolesterolemia dikaitkan dengan terjadinya aterosklerosis, peningkatan risiko aterogenik, baik kelainan genetik maupun diet yang diperkaya dengan lemak jenuh.^{8,9} Kadar kolesterol yang meningkat berkaitan dengan penyakit kardiovaskular yang di tandai dengan enzim HMG-CoA teraktivasi. Peningkatan profil lipid akan terjadi proses metabolisme secara *in vivo* serta menginduksi sitokrom P450 yang merupakan enzim mikrosomal hati.⁷³

Proses inflamasi yang terlokalisir akibat peningkatan dari massa jaringan adiposa akan memicu pembentukan ROS serta mensekresi sitokin proinflamasi berupa IL-6.³ Hiperkolesterolemia dapat mengakibatkan perubahan sifat fisik membran sel yang memfasilitasi kebocoran radikal bebas ROS.¹ Efek hiperkolesterolemia terutama menyebabkan oksidasi lipid bilayer, kerusakan mitokondria, dan peningkatan sebagian besar regulasi enzim penghasil ROS, penipisan antioksidan, dan aktivasi peradangan.¹⁴ Asam lemak tak jenuh yang mengalami peroksidasi bersifat toksik dengan hasil produk MDA yang menghasilkan peroksida dan penanda terjadinya stres oksidatif.¹ Kadar MDA dan IL-6 memegang peran penting dalam peningkatan ROS dan kolesterol dalam darah.³

Ekstrak pare yang mengandung *polisakarida*, *flavonoid*, *saponin* memiliki peran sebagai antilipidemik, antioksidan, hepatoprotektor, dan antiinflamasi yang bekerja dalam mekanisme jalur PPAR- α , HMG-CoA reduktase, AMPK, dan menghambat jalur pensinyalan NF-kB. Buah pare yang mengandung vitamin B3 dapat mempengaruhi kadar kolesterol HDL melalui peningkatan sekresi Apo A-1 yang merupakan protein utama penyusun HDL.^{2,4,5} Ekstrak pare dapat menurunkan kolesterol melalui mekanisme peningkatan aktivitas enzim CYP7A1 dengan membentuk asam empedu kemudian akan diekskresi bersama feses.⁷⁴ Buah pare yang mengandung flavonoid diketahui dapat menghambat enzim HMG-KoA reduktase dalam menurunkan sintesis kolesterol.⁷⁵ Saponin di ketahui dapat menghambat absorpsi kolesterol didalam usus halus.⁷⁶ Serta Lutein pada pare dapat menurunkan kadar kolesterol melalui penangkapan radikal bebas.⁷⁷

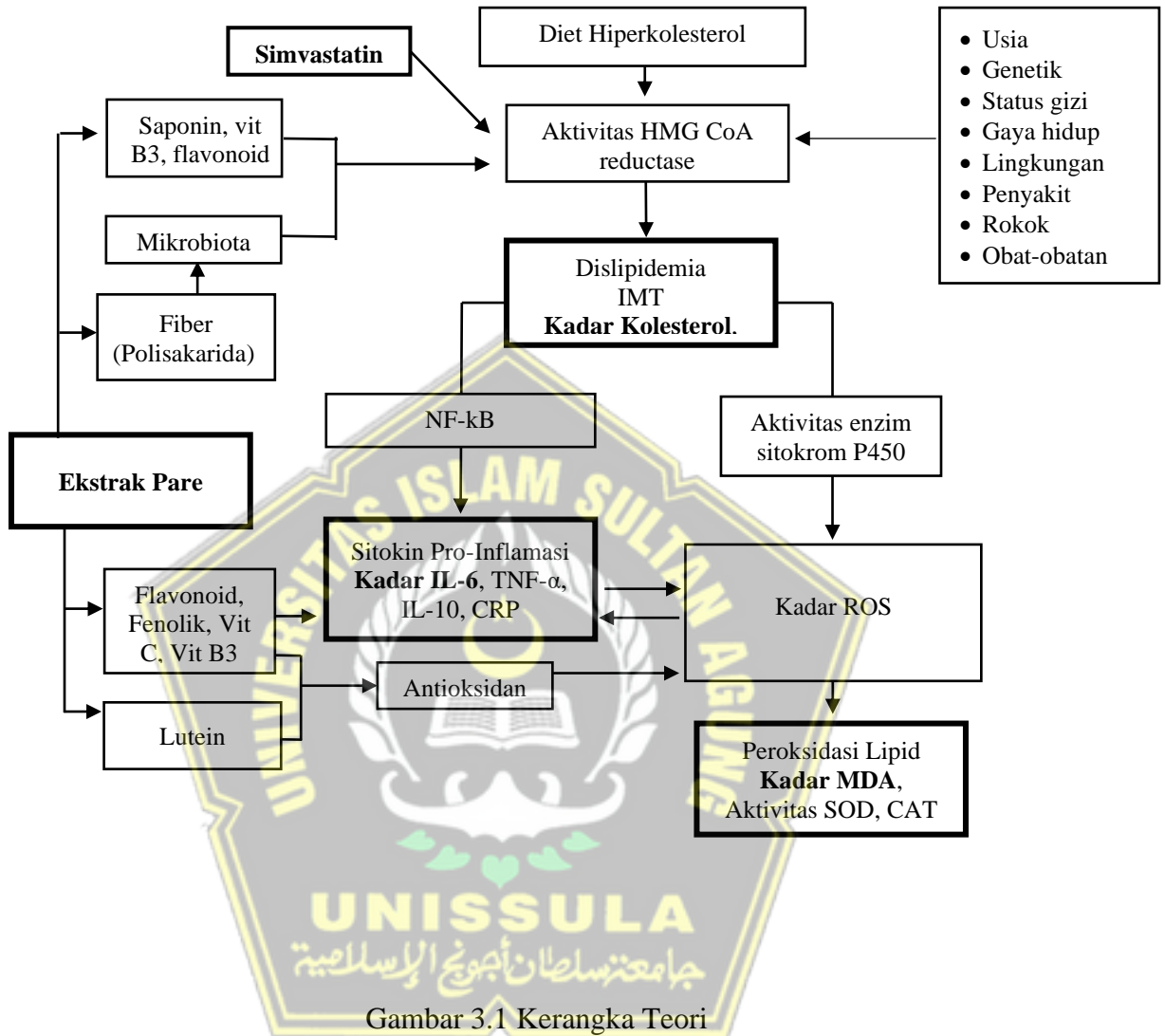
Polisakarida resistan pada proses pencernaan, melalui proses fermentasi, serta absorpsi dalam usus besar. Polisakarida dapat menjerat lemak di usus halus yang akan menurunkan tingkat kolesterol hingga 5%, memiliki kemampuan untuk mengikat garam empedu, dan diekskresi beserta feses. SCFA merupakan produk fermentasi serat pangan oleh bakteri usus yang berpengaruh dalam penurunan kolesterol, dengan pembentukan propionate, kemudian menghambat enzim HMG-koA reduktase, dan dapat menghambat sintesis kolesterol.⁶⁹

Umur adalah variabel pengganggu yang dapat dikendalikan menggunakan tikus berumur 2-3 bulan sehingga sampel dapat homogen dan mencegah peningkatan serum kolesterol karena umur. Serum kolesterol tikus akan meningkat saat berumur 6 minggu, kemudian menurun beberapa minggu. Serum kolesterol

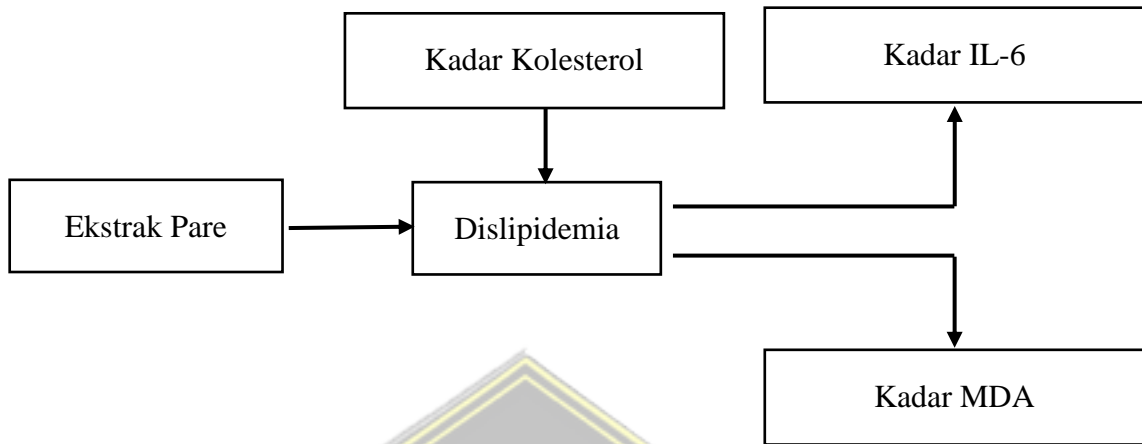
mencapai kadar minimum saat usia 12 minggu, dan kemudian meningkat kembali.⁷⁸ Faktor genetik pada penelitian ini dapat dikendalikan dengan menggunakan tikus normal yang bukan hiperkolesterolemia familial, dimana pada hiperkolesterolemia familial reseptor LDL (R-LDL) hepatic mengalami penurunan akan membuat penderita sulit mengatur kadar LDL dalam darah dan menghasilkan konsentrasi LDL plasma yang sangat tinggi.³⁹

Berat badan merupakan variabel pengganggu yang dapat mempengaruhi kadar kolesterol, penelitian ini melakukan pengukuran berat badan sebelum dan setelah diberikan perlakuan. Peningkatan IMT yang berlebih menampilkan banyaknya lipid dalam darah. Obesitas adalah keadaan jumlah lemak yang tidak normal berupa peningkatan kolesterol.³⁸





3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

Ekstrak pare berpengaruh terhadap kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA pada tikus putih *Rattus norvegicus strain Wistar* jantan hiperkolesterolemia.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian berikut adalah penelitian eksperimental *true experiment*. Desain penelitian menggunakan *post test only control group*.

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium PSPG Universitas Gadjah Mada pada 12 Juni 2023 hingga 17 Juli 2023

4.3 Populasi dan Sampel

4.3.1 Populasi

Penelitian ini menggunakan populasi seluruh tikus putih *strain Wistar* jantan.

4.3.2 Sampel

Sampel pada penelitian ini diambil berdasarkan kriteria inklusi.

4.3.3 Replikasi

Replikasi pada penelitian ini menggunakan rumus Federer yaitu:

$$(r-1)(t-1) \geq 15$$

$$(r-1)(5-1) \geq 15$$

$$4(r-1) \geq 15$$

$$4r-4 \geq 15$$

$$r \geq 4,75 \sim 5$$

(r = replikasi, t = jumlah perlakuan)

Pengulangan tiap kelompok perlakuan ialah 5 sehingga diperoleh E (*resource equation*) yaitu:⁷⁹

Σ = total jumlah hewan coba – total kelompok perlakuan

Σ sampel = (hasil rumus Federer x kelompok perlakuan) – kelompok perlakuan.

$$= (5 \times 5) - 5 = 20.$$

Sehingga sampel pada penelitian ini yaitu 20 ekor dengan masing – masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Rumus besar sampel untuk mengantisipasi kemungkinan sampel terpilih mengalami *drop out* (sebanyak 10%) sebagai berikut:⁷⁹

$$n' = 5 / (1-0,1)$$

$$n' = 5 / (0,9)$$

$$n' = 5,6 \sim 6$$

Keterangan:

n' = jumlah sampel penelitian

Σ cadangan tiap kelompok = n' – pengulangan = $6 - 5 = 1$

Σ sampel cadangan = cadangan tiap kelompok x kelompok perlakuan

$$= 1 \times 5 = 5$$

Σ Total sampel = Σ sampel + Σ sampel cadangan = $20 + 5 = 25$

Berdasarkan perhitungan yang dilakukan dengan rumus di atas, jumlah total sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok.

4.3.4 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel yang diambil menggunakan tehnik *random sampling*

4.3.5 Karakteristik Sampel Penelitian

1. Kriteria Inklusi

Tikus putih *Rattus norvegicus strain Wistar* dengan berat badan 150-200 gram yang berusia 2-3 bulan. Tikus hiperkolesterolemia, sehat, gerakan aktif, warna mata jernih, dan tidak cacat.

2. Kriteria Eksklusi

Tikus yang pernah digunakan untuk penelitian.

3. Kriteria Drop Out

Tikus dengan keadaan sakit dan mati saat dilakukan penelitian.

4.3.6 Variabel Penelitian

4.3.6.1 Variabel Bebas

Variable bebas pada penelitian yaitu dosis ekstrak pare 150 mg/kgBB per hari.

4.3.6.2 Variabel Tergantung

Variable tergantung pada penelitian ini adalah kadar kolesterol total, kadar MDA, dan kadar IL-6 pada tikus.

4.3.6.3 Variabel Kontrol

Variable kontrol penelitian yaitu simvastatin dosis 0,09 mg/kgBB.

4.3.6 Definisi Operasional

a) Ekstrak Pare

Ekstrak etanol buah pare pada penelitian adalah buah pare yang dibeli di pasar Kolombo Yogyakarta. Penelitian melakukan ekstraksi dengan metode maserasi pelarut etanol, selanjutnya ekstrak buah pare dilakukan pengujian fitokimia di laboratorium SCCR. Penentuan ekstrak pare dengan dosis 150 mg/kgBB/hari didapatkan dari penelitian Simorangki dan Wahyudi⁸⁰ yang menyebutkan bahwa menggunakan dosis 150 mg/kgBB/hari efektif menurunkan kadar kolesterol.⁸⁰ Ekstrak pare kemudian diberikan pada hari ke lima belas hingga hari ke dua puluh delapan perlakuan.

Skala : ordinal.

b) Kadar Kolesterol

Pengukuran kadar kolesterol dilakuakn dua kali pada hari ke-lima belas dan hari ke-dua puluh sembilan. Kadar kolesterol darah diukur dengan mengambil darah melalui pleksus retroorbital. Kadar kolesterol kemudian dianalisis dengan metode CHOD-PAP.^{81,82} Hasil kolesterol berupa absorbansi yang akan diinterpretasi kedalam rumus untuk didapatkan kadar kolesterol dalam mg/dL. Tikus yang dinyatakan hiperkolesterolemia jika diperoleh kadar kolesterol >88 mg/dL.⁸³ Kadar kolesterol dianalisis di Laboratorium Gizi PSPG Universitas Gadjah Mada.

Rumus hitung kadar kolesterol :⁸⁴

$$\text{Cholesterol Concentration} = \frac{\text{Absorbance of Specimen}}{\text{Absorbance of Standard}} \times \text{Standard value}$$

Keterangan :

Absorbance of specimen : nilai absorban sampel

Absorbance of standart : nilai absorban standar alat

Standard value : kadar standar kolestero (200 mg/dL)

Skala : rasio

c) Kadar IL-6

Kadar IL-6 dilakukan pengukuran menggunakan metode ELISA,³ sampel darah diambil pada hari ke dua puluh sembilan melalui *plexus retro-orbitalis* menggunakan tabung hematokrit.³ Hasil pembacaan Elisa *reader* yang berisi nilai standar, kemudian nilai standar dan hasil absorbansi yang diperoleh dibuat kurva standar, maka diperoleh hasil kadar IL-6 dalam pg/ml.^{43,85}

Skala : rasio.

d) Kadar MDA

Pengukuran kadar MDA menggunakan metode *Thiobarbituric Acid-Reacting Substances* (TBARS) dengan panjang gelombang 532 nm.^{86,87}

Kadar normal MDA antara 0,12-1,71 nmol/ml. dengan rata-rata 0,26 nmol/ml.^{54,55} Setelah hari ke dua puluh sembilan, tikus diambil darah melalui *plexus retro-orbitalis*, setelah pengumpulan sampel darah selanjutnya tikus diterminasi sesuai protokol. Pada pengukuran akan

didapatkan nilai absorbansi MDA yang kemudian dikalibrasi menggunakan kurva *Tetra Metoksi Propan* (TMP). Kemudian diperoleh kadar MDA dalam nmol/ml.^{47,88}

Skala : rasio.

4.4 Instrumen dan Bahan Penelitian

4.4.1 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan diantaranya ialah timbangan, bak, kandang tikus, dan alat bedah hewan (*scapel*, pinset, gunting, meja, *sputit*), *handscoon*, *tissue*, sonde oral, gelas ukur, tabung reaksi, *micropipette*, *microplate*, *sentrifuge*, *vortex*, *incubator*, *micro alu*, *spektrofotometer* ELISA *reader*, TBA kit, tabung eppendorf, minispin, sonifikator, fotometer darah, dan reagen CHOD-PAP.

4.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah ekstrak pare, tikus jantan dengan kriteria inklusi yang telah disebutkan, pakan hiperkolesterol, serum dan darah tikus, *reagen dyasis*, *Elisa kit rat IL-6*, EDTA 10%, larutan turk, aquades, eter, larutan Trikloroasetat (TCA) 20%, larutan Asam Tiobarbiturat (TBA) 0,67%, dan 1,1,3,3-tetrametoksipropana (TMP) 99%.⁸⁹

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Pembagian Kelompok Tikus

1. K Normal : Tikus sehat dengan pakan standar tanpa diberikan perlakuan
2. K - : Tikus diberikan pakan hiperkolesterol saja selama 28 hari.
3. K + : Tikus diberikan pakan hiperkolesterol selama 14 hari, kemudian 14 hari berikutnya diberikan pakan hiperkolesterol dan simvastatin dosis 0,09 mg/kgBB.
4. P 1 : Tikus diberikan pakan hiperkolesterol selama 14 hari, kemudian 14 hari berikutnya diberikan pakan hiperkolesterol dan ekstrak pare dengan dosis 150 mg/kg BB.
5. P 2 : Tikus diberikan pakan hiperkolesterol selama 14 hari, kemudian 14 hari berikutnya diberikan pakan hiperkolesterol dan ekstrak pare dengan dosis 75 mg/kg BB dan simvastatin 0,045 mg/kgBB.

4.5.2 Aklimatisasi

Aklimatisasi hewan coba dilakukan selama 7 hari agar tikus dapat beradaptasi di lingkungan baru.

4.5.3 Induksi Hiperkolesterol

Pemilihan kuning telur puyuh untuk pakan hiperkolesterol karena kadar kolesterol pada kuning telur puyuh lebih tinggi dari bahan makanan lainnya. Kuning telur puyuh mengandung 2.139,17mg/100g kolesterol.⁹⁰ Pemberian

pakan hiperkolesterol pada tikus sebanyak 10 ml/kgBB kuning telur puyuh selama 14 hari.⁸³

4.5.4 Penentuan Dosis

Penentuan dosis ekstrak pare didasarkan pada penelitian yang dilakukan Parawansah⁹¹ dimana dengan dosis 50 mg/kg BB, 150 mg/kg BB, serta 250 mg/kg BB ekstrak etanol buah pare memiliki efek antiinflamasi. Dosis ekstrak pare 150 mg/kg BB memiliki efek antiinflamasi dengan persentasi tertinggi dari dua dosis lainnya.⁹¹ Penelitian Armis⁹² menyebutkan pemberian ekstrak etanol buah pare dengan dosis 500 mg/kg BB, 250 mg/kg BB, dan 100 mg/kg BB memberikan efek antiinflamasi yang signifikan.⁹² Penelitian Simorangki⁸⁰ yang menyebutkan bahwa kadar kolesterol menurun dengan dosis 150 mg/kgBB/hari.⁸⁰ Penelitian ini memberikan dosis ekstrak pare 150 mg/kg BB dalam 14 hari.

4.5.5 Pemberian Ekstrak Pare dan Simvastatin

Buah pare diperoleh dari pasar dengan kriteria siap panen yaitu buah pare yang telah memiliki bintil-bintil, bentuk lonjong meruncing, kulit mengkilap, keriputnya masih sedikit rapat dan alurnya tidak terlalu lebar.^{59,60} Pembuatan ekstrak dengan mencuci bersih pare kemudian diparut dan dikeringkan dengan suhu oven 50° C selama 3 hari. Pare kemudian akan mengering dan susut sebesar $\pm 6,66\%$. Satu kilogram serbuk buah pare dimaserasi sebanyak 2,5 liter etanol 70% selama 24 jam. Ekstrak diperoleh sebesar 7,4%.⁶¹

Penelitian Yuda⁵² menyebutkan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol buah pare 2% mengandung flavonoid, saponin, dan poliferol (ekstrak pare). Sedangkan pada penelitian Parawansah⁹¹ ekstrak etanol buah pare dari hasil skrining fitokimia didapatkan kandungan senyawa berupa alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, dan triterpenoid.⁹¹

Ekstrak buah pare dibuat di laboratorium PSPG UGM dengan simplisia buah yang dimaserasi etanol 96% dan pengadukan dalam 3x24 jam dengan suhu kamar. Setelah maserat pertama disaring, remaserasi atau penggantian pelarut dilakukan dengan pelarut yang sama. Prosedur ini diulangi hingga maserat menjadi jernih. Setelah filtrat dikumpulkan, ekstrak ditambahkan dengan evaporator vakum rotasi dengan suhu ± 55 derajat Celcius hingga ekstrak menjadi kental.⁵²

Simorangkir dan Wahyudi⁸⁰ menyebutkan *dosis* simvastatin untuk manusia adalah 10 mg/hari sehingga apabila diberikan kepada tikus dosis tersebut harus dikonversi terlebih dahulu. Takaran konversi dosis untuk manusia pada tikus dengan BB 200 g adalah 0,018, dosis tikus 200 g yaitu : $0,018 \times 10 \text{ mg} = 0,18 \text{ mg}/200 \text{ gBB}$, sehingga dosis simvastatin yang diberikan pada tikus adalah 0,09 mg/kgBB.⁸⁰

4.5.6 Pengambilan Sampel

Pengambilan darah tikus dilakukan setelah tikus dipuaskan minimal 8-10 jam. Setelah maserat pertama disaring, remaserasi atau penggantian pelarut dilakukan dengan pelarut yang sama. Prosedur ini diulangi hingga maserat menjadi jernih. Setelah filtrat dikumpulkan, ekstrak ditambahkan dengan

evaporator vakum rotasi dengan suhu ± 55 derajat Celcius hingga ekstrak menjadi kental.⁹³ Dibaringkan menyamping tikus untuk mengambil darah melalui sinus orbitalisnya. Setelah salah satu sisi tikus menempel pada meja, ibu jari kiri dan jari telunjuk memegang kulit punggung dan tenguknya. Pipet gelas digunakan menyuntik dipegang tangan kanan, selanjutnya pipet di arahkan miring 45° ke sinus orbitalis (kantus medial). Masukkan pipet hingga menembus bagian kulit terluar dan berbunyi klik, miringkan tikus sehingga darah mulai menetes pada pipet dan ditampung pada penampung. Perdarahan kemudian berhenti spontan dalam beberapa menit setelah pipet di cabut.⁹⁴

a. Kadar kolesterol

Pada hari kelima belas dan dua puluh sembilan, sampel diambil untuk mengukur kadar kolesterol total sebanyak dua kali. Kadar kolesterol darah diambil melalui plexus retro-orbitalis. Pengukuran kolesterol total menggunakan metode enzimatik (CHOD-PAP) dengan fotometer microlab 300 secara langsung. Pertama, darah disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm dengan tiga tabung reaksi dan diberi label: blanko, standar, dan sampel. Setelah itu, ketiga tabung dimasukkan 1000 μ l reagensia kolesterol (CHOD-PAP). Dimasukkan 10 mililiter aquades ke dalam tabung blanko, 10 mililiter standar kolesterol ke dalam tabung standar, dan 10 mililiter serum ke dalam tabung sampel. Selanjutnya diinkubasi selama sepuluh menit pada suhu 37°C . Absorbansi kemudian diinterpretasi pada blanko dengan panjang gelombang 500-550nm.^{81,82,95} Hasil kadar kolesterol selanjutnya akan dibandingkan antara kelompok kontrol dan perlakuan.

Rumus hitung kadar kolesterol :⁸⁴

Cholesterol Concentration=

$$\frac{\text{Absorbance of Specimen}}{\text{Absorbance of Standard}} \times \text{Standard value}$$

Keterangan :

Absorbance of specimen : nilai absorban sampel

Absorbance of standart : nilai absorban standar alat

Standard value : kadar standar kolestero (200 mg/dL)

b. Kadar IL-6

Tikus yang telah diberi perlakuan hingga minggu ke 4 kemudian diambil darah melalui *plexus retro-orbitalis*, pemeriksaan kadar IL-6 menggunakan metode ELISA.³ Sampel yang telah diambil akan di sentrifuse 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan serum dari endapan selama 30 menit setelah pengambilan darah. Serum yang tidak langsung dianalisis maka serum harus disimpan pada suhu -20° C. Tes analisis IL-6 dengan metode ELISA dan dilakukan pembacaan dengan ELISA *reader*.⁹⁶

c. Kadar MDA

Prinsip pengukuran kadar MDA menggunakan metode *Thiobarbituric Acid-Reacting Substances* (TBARS) alat spektrofotometer. Pemeriksaan MDA pada tikus dilakukan melalui pleksus vena retro-orbita.^{52,53} Pengukuran MDA yang merupakan produk sekunder dari peroksidase lipid memberikan warna merah muda ketika direaksi dengan asam thiobarbiturat (TBA) dalam suasana asam (pH 2-3) serta pada suhu 97-100°C memberikan warna merah muda.⁹⁵ Pengambilan sampel darah kemudian dimasukkan pada tabung sentrifuge dengan kecepatan 3.500 rpm dalam 10 menit, kemudian tambahkan larutan TCA 15% sebanyak 2 ml dan tambahkan TBA 0,37% dalam HCl 0,25N.

Panaskan ke dalam *waterbath* pada suhu 95° selama 60 menit. Sentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm, kemudian ambil supernatan dan masukkan dalam cuvet. Lakukan baca absorbansi supernatan dengan spektrofotometer pada panjang 532 nm pada blanko TCA dan TBA.⁹⁷ Pada pengukuran akan didapatkan nilai absorbansi MDA yang kemudian dikalibrasi menggunakan kurva *Tetra Metoksi Propan* (TMP). Kemudian diperoleh kadar MDA dalam nmol/ml.^{47,88}

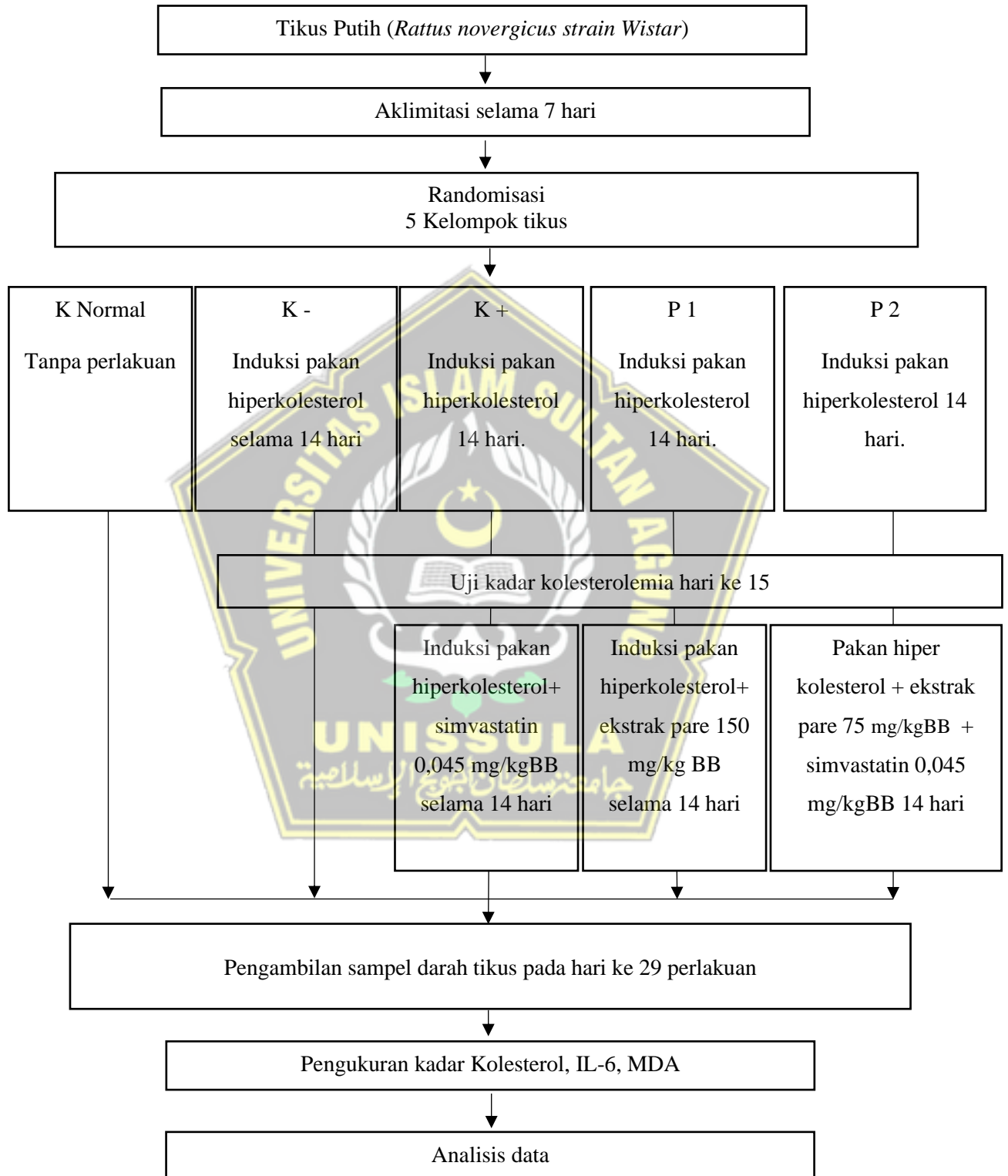
4.5.7 Penguburan Tikus

Tikus dikumpulkan dalam kotak kayu 30 x 20 x 20 cm selanjutnya tikus dikuburkan di tempat khusus untuk pemakaman tikus.

4.6 Analisis Data

Data rata-rata kadar kolesterol, IL-6, serta MDA ditampilkan dalam deskriptif berbentuk tabel. Data selanjutnya dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas dengan uji *Levene's test*. Distribusi data kadar kolesterol, IL-6, dan MDA didapatkan hasil normal dan homogen, sehingga dilanjutkan uji *One Way Annova* ($p < 0,05$) kemudian dilanjut dengan uji post hoc dengan uji *Tukey*.

4.7 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Diagram Alur Penelitian

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

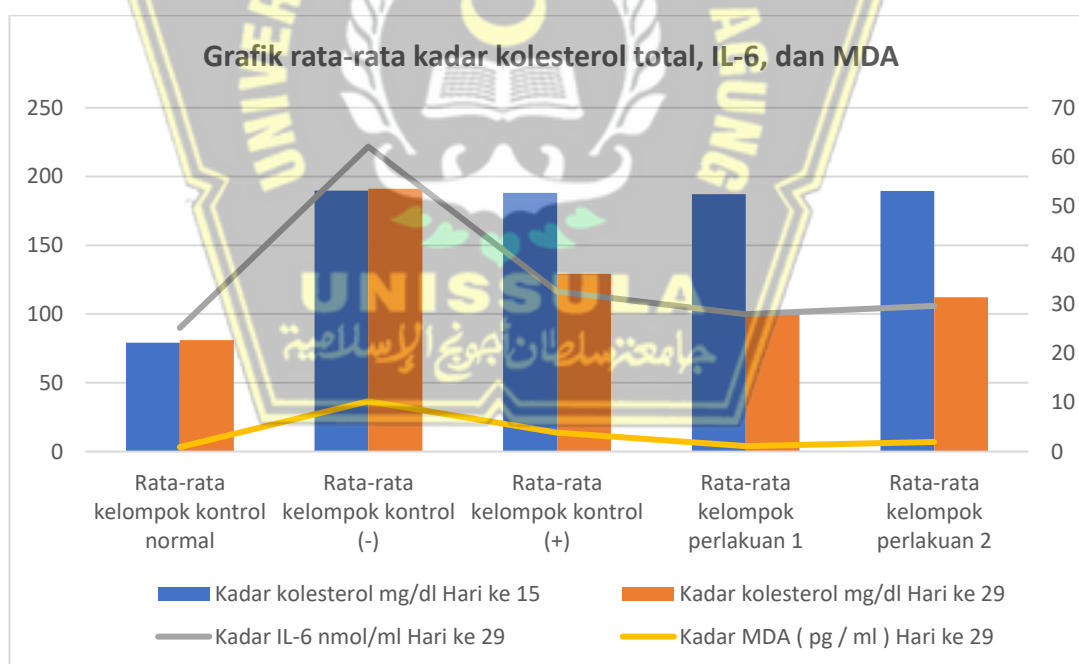
Penelitian dilakukan di laboratorium PSPG Universitas Gadjah Mada selama 28 hari. Tikus diberi pakan tinggi kolesterol dengan kuning telur 10ml/kgBB dalam 14 hari dan dilakukan validasi tikus hiperkolesterolemia pada hari ke 15. Sampel menggunakan tikus galur wistar berjumlah 25 tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok diantaranya K Normal, K-, K+, P1, dan P2. Rata-rata berat tikus pada hari pertama penelitian ini yaitu 189,4 gram pada kelompok K normal, 193,8 gram kelompok K -, 189,4 gram pada kelompok K +, 189,6 gram kelompok P1, dan 187,6 gram pada kelompok P2. Tidak didapatkan sampel penelitian yang memenuhi kriteria *drop out* sehingga seluruh sampel dinilai hingga akhir.

Kelompok tikus K normal hanya diberikan pakan standar tanpa diet tinggi kolesterol, kelompok tikus K - diberikan pakan tinggi kolesterol dengan kuning telur 10ml/kgBB selama 28 hari, kelompok K + yaitu tikus diberi pakan tinggi kolesterol dengan kuning telur 10ml/kgBB selama 14 hari kemudian diberikan simvastatin 0.09 mg/kgBB/hari selama 14 hari berikutnya, kelompok P1 yaitu tikus diberi pakan tinggi kolesterol dengan kuning telur 10ml/kgBB selama 14 hari kemudian diberikan ekstrak pare 150 mg/kgBB/hari selama 14 hari berikutnya, dan kelompok P2 yaitu tikus diberi pakan tinggi kolesterol dengan kuning telur 10ml/kgBB selama 14 hari kemudian diberikan kombinasi ekstrak pare 75 mg/kgBB/hari serta simvastatin 0.045 mg/kgBB/hari selama 14 hari berikutnya.

Penelitian pemberian ekstrak pare terhadap kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada tikus jantan galur wistar diet tinggi kolesterol menunjukkan hasil yang ditampilkan pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada berbagai kelompok

Kelompok	Kadar kolesterol mg/dl Hari ke 15	Kadar kolesterol mg/dl Hari ke 29	Kadar IL-6 nmol/ml Hari ke 29	Kadar MDA (pg / ml) Hari ke 29
Rata-rata kelompok kontrol normal	79,12	80,93	25,19	0,92
Rata-rata kelompok kontrol (-)	189,71	191,19	62,09	10,24
Rata-rata kelompok kontrol (+)	188,09	129,11	32,59	3,85
Rata-rata kelompok perlakuan 1	187,06	101,47	27,97	1,14
Rata-rata kelompok perlakuan 2	189,41	112,28	29,65	1,98



Gambar 5.1 Grafik rata-rata kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA

Berdasarkan hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai $sig p > 0,05$. Hasil uji normalitas bermakna varian data bersifat normal pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada berbagai kelompok yang dilakukan uji normalitas

Perlakuan	Uji <i>Shapiro-Wilk</i>		
		<i>Statistic</i>	<i>Sig</i>
Kolesterol	K N	.989	.976
	K -	.979	.932
	K +	.985	.961
	P 1	.942	.679
	P 2	.924	.553
IL-6	K N	.919	.523
	K -	.993	.990
	K +	.962	.824
	P 1	.941	.675
	P 2	.930	.597
MDA	K N	.901	.415
	K -	.988	.973
	K +	.990	.981
	P 1	.932	.608
	P 2	.945	.698

**sig $p > .05$
 K N : Kelompok kontrol normal
 K - : Kelompok kontrol negatif
 K + : Kelompok kontrol positif
 P 1 : Kelompok perlakuan 1
 P 2 : Kelompok perlakuan 2

Berdasarkan hasil uji homogenitas pemberian ekstrak pare terhadap kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada tikus diet tinggi kolesterol didapatkan nilai $sig p > 0,05$ yang bermakna varian data homogen pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada uji homogenitas

	Uji <i>Levene</i>	
	<i>Statistic</i>	<i>Sig</i>
Kolesterol	2.270	.098
IL-6	.787	.547
MDA	.864	.503

**sig $p > .05$

Kadar kolesterol pada hari ke 15 dan 29 pada kelompok K-, K+, P1, dan P2 dilakukan pengujian *One Way ANOVA* dan uji *Tukey* yang tertera pada tabel 5.4 dan tabel 5.5. Berdasarkan hasil uji analisis data *One Way ANOVA* dan uji *Tukey* menunjukkan hasil signifikan ($p < 0,05$) pada kadar kolesterol hari ke 29 dan tidak signifikan ($p > 0,05$) pada kadar kolesterol hari ke 15.

Tabel 5.4 Hasil uji beda kadar kolesterol hari ke 15 dan 29 pada kelompok K-, K+, P1, dan P2

		Uji <i>Oneway Anova</i>
		<i>Sig</i>
Kolesterol hari ke 15	<i>Between Groups</i>	
	<i>Within Groups</i>	.610
	<i>Total</i>	
Kolesterol hari ke 29	<i>Between Groups</i>	
	<i>Within Groups</i>	.000
	<i>Total</i>	

**sig p < .05

Tabel 5.5 Hasil uji beda kadar kolesterol pada hari ke 15 dan 29 antar 2 kelompok pada kelompok K-, K+, P1, dan P2

Uji <i>Tukey</i>	Perlakuan (I)	Perlakuan (J)			
		K -	K +	P 1	P 2
Kolesterol hari ke 15	K -	-	.881	.633	.999
	K +	.881	-	.965	.930
	P 1	.633	.965	-	.712
	P 2	.999	.930	.712	-
Kolesterol hari ke 29	K -	-	.000	.000	.000
	K +	.807	-	.000	.000
	P 1	.000	.008	-	.000
	P 2	.000	.000	.008	-

**sig p < .05
 K - : Kelompok kontrol negatif
 K + : Kelompok kontrol positif
 P 1 : Kelompok perlakuan 1
 P 2 : Kelompok perlakuan 2

Uji *One Way ANOVA* dan uji *Tukey* pada seluruh kelompok perlakuan dilakukan untuk mengetahui beda antar kelompok dan beda antara 2 kelompok yang tertera pada tabel 5.6 dan tabel 5.7. Berdasarkan hasil uji analisis data *One Way*

ANOVA dan uji *Tukey* menunjukkan hasil yang signifikan ditandai dengan sig < p 0,05.

Tabel 5.6 Hasil uji beda kadar kolesterol, IL-6, dan MDA antar kelompok

		Uji <i>Oneway Anova</i>		
		<i>Sum of Squares</i>	<i>Mean Square</i>	<i>Sig</i>
Kolesterol	<i>Between Groups</i>	351852565.360	87963141.340	.000
	<i>Within Groups</i>	3582866.400	179143.320	
	<i>Total</i>	355435431.760		
IL-6	<i>Between Groups</i>	3001301.440	750325.360	.000
	<i>Within Groups</i>	19452.000	972.600	
	<i>Total</i>	3020753.440		
MDA	<i>Between Groups</i>	45643569.040	11410892.260	.000
	<i>Within Groups</i>	107504.800	5375.240	
	<i>Total</i>	45751073.840		

**sig p < .05

Tabel 5.7 Hasil uji beda kadar kolesterol, IL-6, dan MDA antar 2 kelompok

Uji <i>Tukey</i>	Perlakuan (I)	Perlakuan (J)				
		K N	K -	K +	P 1	P 2
Kolesterol	K N	-	.000	.000	.000	.000
	K -	.000	-	.000	.000	.000
	K +	.000	.000	-	.000	.000
	P 1	.000	.000	.000	-	.005
	P 2	.000	.000	.000	.005	-
MDA	K N	-	.000	.000	.807	.000
	K -	.000	-	.000	.000	.000
	K +	.000	.000	-	.000	.000
	P 1	.807	.000	.000	-	.003
	P 2	.000	.000	.000	.003	-
IL-6	K N	-	.000	.000	.000	.000
	K -	.000	-	.000	.000	.000
	K +	.000	.000	-	.000	.000
	P 1	.000	.000	.000	-	.012
	P 2	.000	.000	.000	.012	-

**sig p < .05

K N : Kelompok kontrol normal

K - : Kelompok kontrol negatif

K + : Kelompok kontrol positif

P 1 : Kelompok perlakuan 1

P 2 : Kelompok perlakuan 2

5.1.1 Kadar Kolesterol Total

Tabel 5.1 menunjukkan bahwa rata-rata kadar kolesterol total terendah yaitu pada kelompok kontrol normal, kemudian berturut-turut diikuti dengan kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, kelompok kontrol + dan terakhir yaitu kelompok kontrol -. Berdasarkan uji *Shaphiro Wilk* seluruh kelompok kadar kolesterol menunjukkan data terdistribusi normal ($P > 0,05$) dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test* dengan hasil homogen ($p > 0,05$). Analisis data dilanjutkan menggunakan uji *One Way Anova* dan uji *Tukey*. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p = 0,000$). Hasil uji *Tukey* menunjukkan kadar kolesterol antar 2 kelompok memiliki perbedaan yang signifikan pada semua kelompoknya ($p < 0,05$).

Penelitian ini menguji beda antar kelompok dengan uji *Oneway Anova* dan uji beda 2 kelompok dengan uji *Tukey* pada kadar kolesterol hari ke 15 dan hari ke 29 pada kelompok K-, K+, P1, dan P2 (selain kelompok K N). Kadar kolesterol pada pengujian menunjukkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$) pada seluruh kelompok kadar kolesterol hari ke 29 dan tidak signifikan ($p > 0,05$) pada seluruh kelompok kadar kolesterol hari ke 15.

5.1.2 Kadar IL-6

Gambar 5.1 menunjukkan bahwa kadar IL-6 lebih rendah pada kelompok tikus 1 (P 1) setelah diberikan diet tinggi kolesterol dan ekstrak pare dengan dosis 150 mg/kgBB/hari yang dibandingkan dengan kelompok K-, K+, dan P2. Berdasarkan uji normalitas *Shaphiro Wilk* seluruh kelompok kadar IL-6 menunjukkan data terdistribusi normal ($P > 0,05$) dan uji homogenitas *Levene Test*

menunjukkan data terdistribusi homogen ($p > 0,05$). Analisis data dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* yang menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p = 0,000$). Selanjutnya, data diuji dengan uji Tukey, yang disajikan pada tabel 5.5, dan menunjukkan perbedaan signifikan di setiap kelompok ($p < 0,05$).

5.1.3 Kadar MDA

Rata-rata kadar MDA terendah setelah diberi diet tinggi kolesterol yaitu pada kelompok perlakuan 1, tikus hanya diberikan ekstrak pare dengan dosis 150 mg/kgBB/hari. Uji normalitas dan homogenitas kadar MDA pada penelitian ini didapatkan data terdistribusi normal ($P > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$). Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan dan kelompok kontrol ($p = 0,000$). Uji *Tukey* pada tabel 5.5 menunjukkan kadar MDA antar kelompok memiliki perbedaan yang signifikan pada hampir semua kelompok ($p < 0,05$), kecuali kelompok perlakuan 1 (P 1) terhadap kelompok kontrol normal (K N) begitu sebaliknya K N terhadap P 1 dengan nilai signifikan 0,807 ($p > 0,05$). Uji *Tukey* pada kadar MDA kelompok P 1 terhadap K N tidak signifikan atau tidak didapatkan perbedaan karena P1 pada tikus pemberian ekstrak pare 150 mg/kgBB/hari yang diberikan pakan tinggi kolesterol memiliki efek terendah menyerupai kadar MDA pada K N (tikus normal tanpa diberi pakan tinggi kolesterol).

5.2 Pembahasan

Hiperkolesterolemia adalah suatu kondisi klinis yang ditandai dengan peningkatan kolesterol total dan peningkatan LDL (*Low Density Lipoprotein*)

kolesterol.¹ Kelompok K-, K+, P1, dan P2 pada penelitian ini menunjukkan tikus hiperkolesterolemia (kadar kolesterol >88 mg/dL) dengan jumlah kadar IL-6, dan kadar MDA lebih tinggi setelah diberikan diet tinggi kolesterol sebanyak 10 mL/kgBB secara peroral selama 14 hari yang dibandingkan dengan kelompok K N. Hal ini sesuai dengan penelitian Kusuma⁸³ bahwa pakan hiperkolesterol pada hewan coba menggunakan kuning telur puyuh sebanyak 10 ml/kgBB selama 14 hari dapat menyebabkan kenaikan kadar kolesterol melebihi ambang normal (47-88 mg/dl).⁸³ Penelitian Aprilia⁹⁸ menyebutkan terjadi peningkatan kadar kolesterol LDL dan MDA pada tikus setelah diberikan diet tinggi kolesterol selama 14 hari. Wulandari⁹⁹ pada penelitiannya menyebutkan pemberian pakan tinggi kolesterol mampu meningkatkan radikal bebas yang dapat dilihat dari peningkatan kadar MDA. Penelitian Sarihati¹⁰⁰ juga menunjukkan peningkatan kadar IL-6 pada tikus yang diberikan diet tinggi kolesterol. Hal ini membuktikan bahwa diet tinggi kolesterol dapat memicu proses inflamasi yang dimediasi oleh IL-6.¹⁰⁰

Respon endotel vaskular terhadap kadar kolesterol darah yang tinggi ditandai dengan kadar sitokin IL-6, IL-17, dan TGF- β . IL-6 dan TGF- β memicu Th17 untuk menghasilkan IL-17 dan IL-10, yang dalam hal ini IL-17 dapat menginduksi efek antiinflamasi melalui supresi patogen diferensiasi sel Th1. IL-6 menghambat aktivitas lipase lipoprotein adiposit dan menginduksi peningkatan sekresi trigliserida hati pada tikus.² MDA adalah penanda peroksidasi lipid yang menghasilkan peroksida dan radikal bebas lainnya, serta penanda stres oksidatif yang dihasilkan dari peroksidasi lipid asam lemak tak jenuh.¹

Wahjuni⁴⁸ menyebutkan peningkatan kadar kolesterol pada tikus yang diberikan diet hiperkolesterol menginduksi produksi spesies oksigen reaktif di jaringan adiposa dan hati. Radikal bebas yang meningkat dalam tubuh kemudian mengambil komponen struktur dan elektron atom yang menimbulkan reaksi berantai sehingga terjadi ROS.⁴⁸ Penilaian peroksidasi lipid dan aktivitas antioksidan pada ekstrak pare dapat dilihat melalui kadar MDA pada tikus hiperkolesterolemia. Penelitian ini menunjukkan kadar MDA lebih rendah pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok K-. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Andiani⁷ bahwa terdapat perubahan kadar MDA yang lebih rendah secara signifikan pada tikus yang diberikan diet tinggi kolesterol dan pemberian ekstrak buah pare. Maulidia¹⁰¹ pada penelitiannya menyebutkan diet tinggi kolesterol dapat mempengaruhi proses inflamasi yang ditandai dengan kadar IL-6 menjadi lebih tinggi.

Isnawati⁶ pada penelitiannya juga menyebutkan kandungan buah pare pada kadar kolesterol total secara signifikan lebih rendah terhadap tikus yang diberikan diet tinggi kolesterol. Penelitian Chaturvedi¹⁰² memberi tikus diabetik yang diberi diet tinggi lemak ekstrak pare selama 30 hari, terbukti dapat menurunkan trigliserida, LDL, dan meningkatkan HDL. Akan tetapi penelitian ini tidak sesuai dengan studi yang diteliti oleh Rita¹⁰³ terhadap mencit yang diberi pakan tinggi kolesterol dan jus pare dengan dosis 0,5 ml/40 gBB. Hasil penelitian tidak didapatkan kadar kolesterol yang signifikan lebih rendah.

Kelompok kontrol + yang diberi terapi simvastatin pada diet tinggi kolesterol mengalami penurunan yang signifikan dikarenakan simvastatin bekerja

dengan menghambat enzim HMG-CoA reduktase, meningkatkan afinitas dari reseptor LDL, meningkatkan kecepatan katabolisme LDL, ekstraksi prekursor LDL di hepar dan mengakibatkan penurunan LDL di plasma. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Artha¹⁰⁴ yaitu terjadi penurunan kadar kolesterol pada tikus diet tinggi kolesterol yang diberikan simvastatin. Penurunan kadar kolesterol dengan simvastatin melalui mekanisme inhibisi HMG-CoA yang merupakan enzim utama sintesis kolesterol.

Rata-rata kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada kelompok perlakuan 1 merupakan kadar terendah dibandingkan kelompok perlakuan lainnya. Penelitian ini sejalan dengan Andiani⁷ bahwa ekstrak pare dapat mempengaruhi kadar MDA lebih rendah pada tikus wistar putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet tinggi lemak. Ekstrak pare dapat menurunkan kolesterol melalui banyak jalur, diantaranya yaitu meningkatkan aktivitas enzim *Cholesterol 7 alpha-hydroxylase* (CYP7A1) dengan mengubah kolesterol menjadi asam empedu kemudian akan dikeluarkan oleh tubuh.⁷² Senyawa flavonoid pada pare dapat menghambat efek enzim HMG-CoA reduktase dalam menurunkan sintesis kolesterol.⁷³ Lutein pada pare menurunkan kadar kolesterol dengan menangkap radikal bebas, mencegah oksidasi LDL.⁷⁵ Serta polisakarida pada ekstrak pare dapat menjerat lemak dalam usus halus, sehingga menurunkan tingkat kolesterol dalam darah hingga 5% atau lebih, serta dapat mengikat garam empedu (produk akhir kolesterol), dan dikeluarkan bersama dengan feses.⁶⁹

Kelompok perlakuan 2 dengan pemberian kombinasi ekstrak pare 75mg/kgBB dan simvastatin 0,045mg/kgBB mengalami perubahan signifikan lebih

rendah pada kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA namun nilai rata-rata hasil didapatkan lebih tinggi dari kelompok perlakuan 1. Hal ini diduga karena dosis ekstrak pare yang diberikan merupakan setengah dosis ekstrak pare dan setengah dosis simvastatin. Penelitian Simorangki⁸⁰ menyebutkan bahwa menggunakan dosis 150 mg/kgBB/hari ekstrak pare efektif menurunkan kadar kolesterol. Parawansah⁹¹ juga menyebutkan pada dosis 50 mg/kg BB, 150 mg/kg BB, serta 250 mg/kg BB ekstrak etanol buah pare memberikan efek antiinflamasi. Dosis ekstrak pare 150 mg/kg BB memberikan efek antiinflamasi dengan persentasi tertinggi dari dua dosis lainnya. Simorangkir dan Wahyudi⁸⁰ menyebutkan dosis simvastatin untuk manusia adalah 10 mg/hari, sedangkan pada penelitian ini dosis kombinasi simvastatin yang diberikan hanya 0,045mg/kgBB yang setara dengan dosis 5mg/hari pada manusia.

Kadar kolesterol, kadar IL-6, dan kadar MDA lebih rendah dari kelompok K- disebabkan oleh kandungan antioksidan pada pare yaitu polisakarida, flavonoid, fenolik, saponin yang dapat memperbaiki sel rusak akibat radikal bebas. Pengujian fitokimia ekstrak pare pada penelitian ini didapatkan hasil positif mengandung flavonoid yang berperan dalam penurunan kadar kolesterol, IL-6, dan MDA tikus diet tinggi kolesterol. Menurut penelitian Simorangki⁸⁰ penurunan kadar kolesterol disebabkan oleh kandungan flavonoid pada buah pare yang bekerja sebagai inhibitor enzim HMG-CoA reduktase. Penelitian yang dilakukan oleh Purnamasari⁶ menyebutkan terjadi penurunan kolesterol total setelah pemberian jus pare dan kombinasi jus pare secara signifikan ($p < 0,05$). Penurunan kadar kolesterol total

diduga efek flavonoid, saponin, vitamin C, dan lutein yang terdapat pada jus pare dan jus jeruk nipis.

Flavonoid juga ditemukan pada berbagai tanaman dan sumber makanan lain seperti pada buah naga, daun binahong, madu dorsata, dan sebagainya.^{23,35,98} Penelitian Sigarlaki²³ mengamati efek flavonoid pada buah naga yang juga dapat mempengaruhi kadar kolesterol menjadi lebih rendah melalui mekanisme flavonoid dengan menghambat *cholesteryl ester transfer protein* (CETP) dan menghambat enzim HMG-Coa reduktase. Yusuf³⁵ menyebutkan pengaruh flavonoid pada madu dorsata dapat mengurangi kadar kolesterol lebih rendah pada penderita hiperkolesterolemia. Flavonoid pada ekstrak daun binahong dalam penelitian Aprilia⁹⁸ bersifat antioksidan dan dapat menghambat kerja enzim xantin oksidase maupun reaksi superoksida. Flavonoid pada penelitian Sarihati¹⁰⁰ dapat menghambat sintesis sekresi dan ekspresi sitokin proinflamasi setelah pemberian ekstrak daun kenikir, yang ditandai pada perubahan kadar IL-6 menjadi lebih rendah pada tikus yang hiperkolesterolemia. Penelitian oleh Tarnajaya¹⁰⁵ menyebutkan bahwa antioksidan flavonoid pada daun cinta dapat menurunkan MDA dan meningkatkan SOD pada tikus yang diinduksi latihan fisik berlebih.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dan kajian teoritik yang telah diuraikan, maka hipotesis pemberian ekstrak pare dapat menurunkan kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada tikus yang diet tinggi kolesterol telah terbukti.

5.3 Keterbatasan Penelitian

- Penelitian ini tidak melakukan perbandingan dosis untuk melihat dosis optimal, toksik dan dosis minimal pada ekstrak pare untuk menurunkan kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada tikus diet tinggi kolesterol.
- Penelitian ini tidak melakukan uji validasi pengaruh antioksidan berupa pemeriksaan kadar IL-6 dan MDA sebelum dilakukan pemberian perlakuan.
- Penelitian ini hanya melakukan uji fitokimia secara kualitatif berupa flavonoid dan saponin terhadap ekstrak pare.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

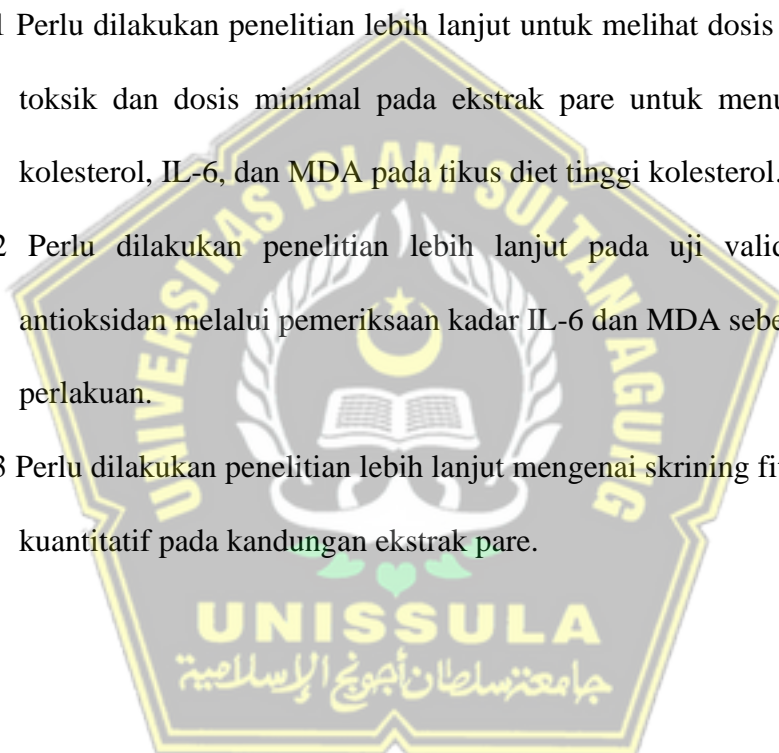
Hasil penelitian dan pembahasan tentang pengaruh pemberian ekstrak pare terhadap kadar kolesterol, IL-6, dan MDA yang dibandingkan dengan pemberian simvastatin, dapat disimpulkan terdapat pengaruh penurunan kadar kolesterol, IL-6, dan MDA setelah pemberian ekstrak pare pada tikus jantan galur wistar dengan diet tinggi kolesterol.

- 6.1.1 Terjadi peningkatan kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA kelompok kontrol negatif pada tikus putih *Rattus norvegicus strain wistar* jantan yang diberi pakan tinggi kolesterol dibanding kelompok kontrol normal.
- 6.1.2 Pemberian ekstrak pare dengan dosis 150 mg/KgBB/hari, memiliki pengaruh menurunkan kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA pada tikus wistar jantan yang diberi pakan tinggi kolesterol.
- 6.1.3 Pemberian simvastatin dengan dosis 0,09 mg/KgBB/hari, memiliki pengaruh menurunkan kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA pada tikus wistar jantan yang diberi pakan tinggi kolesterol.
- 6.1.4 Pemberian ekstrak pare dengan dosis 75 mg/KgBB/hari dan simvastatin dengan dosis 0,045 mg/KgBB/hari, memiliki pengaruh menurunkan kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA pada tikus wistar jantan yang diberi pakan tinggi kolesterol.

6.1.5 Hasil pengamatan menunjukkan kadar kolesterol total, IL-6, dan MDA kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 pada tikus *Rattus norvegicus strain wistar* jantan diet tinggi kolesterol lebih rendah dibanding kelompok kontrol negatif.

6.2 Saran

- 6.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat dosis optimal, dosis toksik dan dosis minimal pada ekstrak pare untuk menurunkan kadar kolesterol, IL-6, dan MDA pada tikus diet tinggi kolesterol.
- 6.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada uji validasi pengaruh antioksidan melalui pemeriksaan kadar IL-6 dan MDA sebelum diberikan perlakuan.
- 6.2.3 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai skrining fitokimia secara kuantitatif pada kandungan ekstrak pare.



DAFTAR PUSTAKA

1. Kumar S, Singh UN, Dhakal S. Study of oxidative stress in hypercholesterolemia. *Int J Contemp Med Res* [Internet]. 2017;4:5:2454–7379. Available from: www.ijcmr.com
2. Jia S, Shen M, Zhang F, Xie J. Recent advances in momordica charantia: Functional components and biological activities. *Int J Mol Sci*. 2017;18:12.
3. Darwin E, Elf EF, Dachriyanus. A comparative study on anti-diabetic effects of aqueous arietinum extracts on alloxan induced diabetic male albino rats. *J Young Pharm*. 2017;9:2:230–3.
4. Zeng Y, Guan M, Li C, Xu L, Zheng Z, Li J, et al. Bitter melon (*momordica charantia*) attenuates atherosclerosis in apo-E knock-out mice possibly through reducing triglyceride and anti-inflammation. *Lipids Health Dis*. 2018;17:1:1–7.
5. Lisius Marbun R. Potential of Pare *Momordica charantia* L as a Lowering Level Blood Cholesterol. *J Ilm Kesehatan Sandi Husada* [Internet]. 2019;10:2:188–92. Available from: <https://akper-sandikarsa.e-journal.id/JIKSH>
6. Purnamasari AW, Isnawati M. Pengaruh pemberian jus pare (*momordica charantia* l.) dan jus jeruk nipis (*citrus aurantifolia*) terhadap kadar kolesterol total tikus sprague dawley hiperkolesterolemia. *J Nutr Coll*. 2014;3:4:647–54.
7. Andiani, Harsa MS. Effect administration of ethanol extract of bitter melon (*momordica charantia* l.) on the reduction of MDA (malondialdehyde) levels serum in rats given a high-fat diet. *J Ilm Kedokt Wijaya Kusuma*. 2018;7:2:196.
8. Vijayan J, Sruthy, Neethu, Manohar N, Babitha, Soumya. Hypercholesterolemia. *Eur J Biomed Pharm Sci*. 2018;5:3:245–9.
9. Destiana D, Timan IS. The relationship between hypercholesterolemia as a risk factor for stroke and blood viscosity measured using digital microcapillary. *J Phys Conf Ser*. 2018;1073:4.
10. Saraswati RD, Khariri. Transisi epidemiologi stroke sebagai penyebab kematian pada semua kelompok usia di indonesia. *Semin Nas Ris Kedokt* [Internet]. 2021;2:1:81–6. Available from: <https://conference.upnvj.ac.id/index.php/sensorik/article/view/1001>
11. American Heart Association & American Stroke Association. Statistical fact sheet 2014 update: high blood cholesterol & others lipids. 2014.
12. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset kesehatan dasar 2013. 2013.
13. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Laporan nasional RISKESDAS 2018. Jakarta; 2018.
14. Binmowyna MN, Alfaris NA, Almnaizel AT, Alsayadi MM, Al-Sanea EA. Hypolipidemic and antioxidant effects of the juice and water seed extracts of two pomegranate species in high-cholesterol diet fed rats. *Food Sci Technol*. 2021;41:December:732–40.
15. Daniel P, Supe U, Roymon. A review on phytochemical analysis of

- momordica charantia. *Int J Adv Pharm , Biol Chem.* 2014;3:1:214–20.
16. Rivai H, Amalinah A, Asra R. Analisis kualitatif dan kuantitatif kandungan senyawa dari ekstrak heksan, aseton, etanol dan air daun dewa. *Researchgate.* 2019;1–6.
 17. Hariadini AL, Sidharta B, Ebtavanny TG, Minanga EP. Hubungan tingkat pengetahuan dan ketepatan penggunaan obat simvastatin correlation between hypercholesterolemic patient's knowledge and simvastatin use in Malang retail pharmacies. *Pharm J Indones.* 2020;5:2:91–6.
 18. Pradana M, Suryanto I. Terapi hiperkolesterol pada mecit mus musculus strain balb/c betina umur 2 bulan menggunakan sari bawang putih. *J Biota.* 2017;2:3:71–5.
 19. Saad DY, Soliman MM, Baiomy AA, Yassin MH, El-Sawy HB. Effects of Karela (Bitter Melon; *Momordica charantia*) on genes of lipids and carbohydrates metabolism in experimental hypercholesterolemia: Biochemical, molecular and histopathological study. *BMC Complement Altern Med.* 2017;17:1:1–13.
 20. Erlyn P, Fitriani N, Kamarudin S, Safira BJ, Aprilia Sartika Sujirata. Perbandingan daun teh hijau dan daun pare terhadap penurunan kolesterol. *Syifa' Med.* 2020;11:1:65–71.
 21. Permatasari SNI, Samsuri S, Kendran AAS. The increase of blood cholesterol levels in white rats supplemented with cassava yeast. *Indones Med Veterinus.* 2021;10:1:21–9.
 22. Ridayani N, Santri NF, Naim R. Gambaran hasil pemeriksaan kadar glukosa. *Politek Kesehat Kemenkes RI.* 2018;8:Ldl:15–21.
 23. Sigarlaki ED, Tjiptaningrum A. Pengaruh pemberian buah naga merah (*hylocereus polyrhizus*) terhadap kadar kolesterol total. *J Major.* 2016;5:5:14–7.
 24. Yu GJ, Choi IW, Kim GY, Kim BW, Park C, Hong SH, et al. Anti-inflammatory potential of saponin derived from cultured wild ginseng roots in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Int J Mol Med.* 2015;35:6:1690–8.
 25. Jim EL. Metabolisme lipoprotein. *J Biomedik.* 2013;5:3:149–56.
 26. Semenkovich C, Goldberg A. Disorders of lipid metabolism. Saunders E, editor. Philadelphia: Williams Textbook of Endocrinology; 2011. 1633–74 p.
 27. Rader H. Disorder of intermediary metabolism. 17th ed. *Medicine H principles of internal*, editor. New York; 2012. 3145–61 p.
 28. Adam J. Buku ajar ilmu penyakit dalam. 1st ed. Sudoyo A, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, editors. Jakarta: Interna Publishing; 2010. 1984–1992 p.
 29. Murray, Robert K, Daryl K, Granner, Victor W, Rodwel. *Biokimia Harper.* 27th ed. EGC, editor. Jakarta; 2009. 152–194 p.
 30. Sheriff D. *Medical Biochemistry.* Chapter 5. Blanco A, Blanco G, editors. Libya: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2004. 99–119 p.
 31. Hardianto D. Tinjauan lovastatin dan aplikasinya. *J Bioteknol dan Biosains Indones.* 2014;1:1:38.

32. Zafirir B, Jain M. Lipid-lowering therapies, glucose control and incident diabetes: evidence, mechanisms and clinical implications. *Cardiovasc drugs Ther.* 2014;28:4:361–77.
33. Yani M. Mengendalikan kadar kolesterol pada hiperkolesterolemia. *J Olahraga Prestasi.* 2015;V o l u m:1–7.
34. Nurani AT. Hubungan asupan serat dan vitamin E dengan kadar kolesterol total pada penderita penyakit jantung koroner rawat jalan di RSUD dr. Moeward. *J Kesehat Univ Muhammadiyah Surakarta.* 2016;
35. Zuhriana, Yusuf, Paramata NR, Rahma S. The effect of dorsata honey on total cholesterol and plasma LDL levels in hypercholesterolemic patients. *Jambura J Nurs.* 2021;3:2:59–69.
36. Alsaad AMS, Mohany M, Almalki MS, Almutham I, Alahmari AA, Alsulaiman M, et al. Baicalein neutralizes hypercholesterolemia-induced aggravation of oxidative injury in rats. *Int J Med Sci.* 2020;17:9:1156–66.
37. Soleha M. Kadar kolesterol tinggi dan faktor-faktor yang berpengaruh terhadap kadar kolesterol darah. *J Biotek Medisiana Indones [Internet].* 2012;1:2:1–3. Available from: <http://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/jbmi/article/view/1531>
38. Nazarena Y, Sadiq A, Telisa I, Terati. Nutritional status based on upper arm circumference (all), body mass index (bmi) and nutritional intake of hypercholesterolemia patients. *JGK.* 2022;14:2:294–308.
39. Prawitasari T, Sastroasmoro S, Sjarif DR. Skrining sistematik terhadap hiperkolesterolemia familial pada anak berdasarkan kriteria medped, simon broome register dan dutch lipid clinic. *Sari Pediatr.* 2011;13:2:152–8.
40. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro and anti inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1813:5:878–88.
41. Siagian D. Perbedaan kadar serum interleukin-6 pada kanker paru perokok dan tidak perokok di RSUPH : adam malik medan [Internet]. Universitas Sumatera Utara; 2018. Available from: <http://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/8347>
42. Ludgero Correia A, Aguila MB, Mandarim de Lacerda CA, Faria TS. Effects of high-fat diet on plasma lipids, adiposity, and inflammatory markers in ovariectomized C57BL/6 mice. *Nutrition [Internet].* 2012;28:3:316–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2011.07.014>
43. Darwin E, Afriani N, Hanam NN. Pengaruh arginin terhadap kadar IL_6, IL-17, dan TGF-B pada rattus novergicus dengan diet tinggi lemak. *PIN PAAI.* 2016;130–6.
44. Della Vedova MC, Muñoz MD, Santillan LD, Plateo-Pignatari MG, Germanó MJ, Rinaldi Tosi ME, et al. A Mouse Model of Diet-Induced Obesity Resembling Most Features of Human Metabolic Syndrome. *Lib Acad.* 2016;9:93–102.
45. Zhang DM, Jiao RQ, Kong LD. High dietary fructose: Direct or indirect dangerous factors disturbing tissue and organ functions. *Nutrients.* 2017;9:4:1–25.
46. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Il-6 in inflammation, immunity, and

- disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014;6:10:1–11.
47. Lizma Febrina, Helmi, Rijai L. Profil kadar malondialdehida, glukosa dan kolesterol pada tikus putih yang terpapar asap rokok. *J Tropical Pharm Chem.* 2016;3:49–58.
 48. Wahjuni S. Dislipidemia menyebabkan stress oksidatif ditandai oleh meningkatnya malondialdehid. Utama IH, editor. Udayana Unersversity Press. Denpasar, Bali; 2015.
 49. Gaschler MM, Stockwell BR. Biochemical and biophysical research communications lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2017;482:3:419–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.086>
 50. Li R, Jia Z, Trush MA. Defining ROS in biology and medicine. *React Oxyg Species.* 2016;1:80:678–87.
 51. Graziani G. Reactive oxygen species dan antioksidan pada mata. 2018.
 52. Yuda IKA, Anthara MS, Dharmayudha AAGO. Identifikasi golongan senyawa kimia estrak etanol buah pare (*momordica charantia*) dan pengaruhnya terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih jantan (*rattus novergicus*) yang diinduksi aloksan. *Bul Vet Udayana.* 2013;5:2:87–95.
 53. Venkadeswaran, Muralidharan, Annadurai, Ruban, Sundararajan, Anandhi. Antihypercholesterolemic and antioxidative potential of an extract of the plant, piper betle, and its active constituent, eugenol, in triton wr-1339-induced hypercholesterolemia in experimental rats. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2014;
 54. Dixon, Shie, Warden, Burri, Neidlinger. The effect of low carotenoid diet on malondialdehyde-thiobarbituric acid (MDA-TBA) concentrations in women: a placebo-controlled double blind study. *J AM Coll Nut.* 1998;62:149–50.
 55. Purwastyastuti. Relation of lipid peroxide to food habits, selected coronary heart disease risk factors and vitamin e supplementation in the elderly. UI; 2000.
 56. Joseph B, Jini. Antidiabetic effects of *momordica charantia* (bitter melon) and its medicinal potency. *Asian Pacific J Trop Dis* [Internet]. 2013;3:2:93–102. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60052-3](http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60052-3)
 57. Ahmad N, Hasan N, Ahmad Z, Zishan M, Zohrameena S. *Momordica charantia*: for traditional uses and pharmacological actions. *J Drug Deliv Ther.* 2016;6:2.
 58. Rukmana R. Budi daya pare. Kanisius. 1997;
 59. Ritonga AM. Pertumbuhan dan produksi tanaman pare (*momordica charantia* l.). Universitas Medan Area. 2019.
 60. Naldi R. Pengaruh solid dan abu jenjang kelapa sawit terhadap pertumbuhan sert produksi tanaman bawang merah (*allium ascalonicum* l.) ditanah gambit. UIR. 2022.
 61. Andayani D, Pamudji G, Herowati R. Aktivitas antihiperqlikemi dan penurunan lipid peroksidase ekstrak etanol buah pare (*momordica charantia* l.) pada tikus diabetes mellitus yang diinduksi aloksan. Fakultas Ilmu

- Kesehatan Universitas Nahdlatul Wathan Mataram. 2013.
62. Liqolbinisa SH, Rismawati E, Syafnir L. Pengujian Potensi Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia* L). *Pros Farm*. 2017;2:673–7.
 63. Sulihandari H. Herbal, sayur, dan buah ajaib. 1st ed. Jakarta: Trans Idea Publishing; 2013.
 64. Naid, Muflihunna, Madi. Analisis kadar β -karoten pada buah pare (*momordica charantia* l.) asal ternate secara spektrofotometri uv-vis. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 2012;127–30.
 65. Juliana VA, Aisyah S, Mustapha Jurusan Kimia FPMIPA UPI Jln Setiabudhi No I. Isolasi dan karakterisasi senyawa turunan terpenoid dari fraksi n-heksan *momordica charantia* l. *J Sains dan Teknol Kim* [Internet]. 2010;1:1:88–93. Available from: <http://ww.rain-tree.com/bitmelon.htm>;
 66. Padang VG, Queljoe E De, Mansauda KLR. Efek pemberian ekstrak etanol buah pare (*momordica charantia* l.) terhadap gambaran histopatologi organ hepar pada tikus putih jantan galur wistar (*rattus novergicus* l.). *J MIPA*. 2020;9:2:106.
 67. Chen F, Huang G, Yang Z, Hou Y. Antioxidant activity of *Momordica charantia* polysaccharide and its derivatives. *Int J Biol Macromol*. 2019;138:673–80.
 68. Hanum GR. Buku ajar biokimia dasar. Sartika SB, Multazam MT, editors. Sidoarjo, Jawa Timur: UMSIDA Press; 2017. 36–42 p.
 69. Fairudz A, Nisa K. Pengaruh serat pangan terhadap kadar kolesterol penderita overweight. *Med J Lampung Univ*. 2015;4:8:121–6.
 70. Raish M. *Momordica charantia* polysaccharides ameliorate oxidative stress, hyperlipidemia, inflammation, and apoptosis during myocardial infarction by inhibiting the NF- κ B signaling pathway. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2017;97:544–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.074>
 71. Reed D, Kumar D, Kumar S, Raina K, Punia R, Kant R, et al. Transcriptome and metabolome changes induced by bitter melon (*Momordica charantia*)-intake in a high-fat diet induced obesity model. *J Tradit Complement Med*. 2022;12:3:287–301.
 72. Zeng Y, Guan M, Li C, Xu L, Zheng Z, Li J, et al. Bitter melon (*Momordica charantia*) attenuates atherosclerosis in apo-E knock-out mice possibly through reducing triglyceride and anti-inflammation. *Lipids Health Dis*. 2018;17:1:1–7.
 73. Yu GJ, Choi IW, Kim GY, Kim BW, Park C, Hong SH, et al. Anti-inflammatory potential of saponins derived from cultured wild ginseng roots in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Int J Mol Med*. 2015;35:6:1690–8.
 74. Matsui S, Yamane T, Takita T, Oishi Y, Kobayashi-Hattori K. The hypocholesterolemic activity of *Momordica charantia* fruit is mediated by the altered cholesterol- and bile acid-regulating gene expression in rat liver. *Nutr Res* [Internet]. 2013;33:7:580–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2013.05.002>

75. Kurniawaty, Liani S. Pengaruh pemberian ekstrak biji jengkol (*pithecellobium lobatum* benth.) terhadap kadar kolesterol total dalam darah tikus diabetes yang di induksi aloksan. *Med Fac Lampung Univ.* 2013;4:70–6.
76. Mustofa S, Adli FK, Wardani DWSR, Busman H. Pengaruh ekstrak etanol daun *Rhizophora apiculata* terhadap kolesterol total dan trigliserida *rattus norvegicus galur sprague dawley* yang diinduksi diet tinggi lemak. *J Kesehat.* 2022;13:3:472.
77. Salim KP, Indrawati R, Limantara L. Terapi Alternatif Penyakit Kardiovaskular dengan Pigmen Alami. *Cermin Dunia Kedokt.* 2016;43:11:871–4.
78. Kritchevsky D. Colorectal cancer: the role of dietary fat and caloric restriction. *Mutat Res.* 1993;290:1:63–70.
79. Prihanti GS. Pengantar biostatik. Malang: UMM Press; 2016. 40–8 p.
80. Simorangkir D, Wahyudi. Formulasi dan uji efektivitas antihiperlipidemia kombinasi ekstrak etanol buah pare (*momordica charantia* l.) dan jahe merah (*zingiber officinale rosc var.rubrum*) terhadap tikus jantan putih (*rattus norvegicus*). *J Biosains (The J Biosci [Internet].* 2021;7:3:115–20.
81. Mubarak AAF, Fitranti DY. Pengaruh pemberian yoghurt koro pedang (*canavalia ensiformis*) terhadap kadar kolesterol total tikus *sprague dawley*. *J Nutr Coll.* 2016;5:3:138–42.
82. Ginting EE, Sari CF, Leny, Parhan, Ginting P. Analisa senyawa metabolit sekunder dan pengaruh pemberian serbuk semut jepang terhadap kadar kolesterol pada tikus putih jantan. *J Ilm Ibnu Sina.* 2022;7:1:56–65.
83. Kusuma AM, Asarina Y, Rahmawati YI, Susanti S. Efek ekstrak bawang dayak (*eleutherine palmifolia* (l.)merr) dan ubi ungu (*ipomoea batatas* l) terhadap penurunan kadar kolesterol dan trigliserida darah pada tikus jantan. *J Kefarmasian Indones.* 2017;6:2:108–16.
84. N.S. BIO-TEC. Cholesterol (CHOD-PAP). Use, Intended Significance, Clinical Principle, Assay. 2011. p. 1–2.
85. Mukrimaa S, Nurdyansyah, Fahyuni EF, Schulz ND, Taniredja T, Faridli EM, et al. Laporan praktikum ELISA. *J Penelit Pendidik Guru Sekol Dasar.* 2016;6:August:128.
86. Tubagus TA, Momuat LI, Pontoh JS. Kadar kolesterol plasma tikus wistar pada pemberiak ekstrak etanol dan heksana dari daun gedi merah (*abelmoschus manihot*). *J MIPA UNSRAT.* 2015;4:1:63–8.
87. Rahmawati Y, Ramadanty DD, Rahmawati F, Perwitasari E. Hiperkolesterolemia pada pasien lanjut usia. *J Kesehat Tambusai.* 2022;3:157–63.
88. Abubakar M, Taylor A, Ferns G. The effects of aluminium and selenium supplementation on brain and liver antioxidant status in the rat. *African J Biotechnol.* 2004;3:1.
89. Zaetun S, Dewi LBK, Wiadnya IBR. Profil kadar Mda (Malondialdehyde) Sebagai penanda kerusakan seluler akibat radikal bebas pada tikus yang diberikan air beroksigen. *J Anal Med Bio Sains.* 2018;5:1:79–84.
90. Rahma NL, Syauqy A. Pengaruh pemberian jus biji pepaya (*carica papaya*

- linn.) terhadap kadar trigliserida tikus sprague dawly dislipidemia. *J Nutr Coll* [Internet]. 2013;2:3:118–25.
91. Wahyuni, Parawansah, Zakiyatul M. Uji efek antipiretik dan antiinflamasi ekstrak etanol buah pare (*momordica charantia* L.) terhadap mencit jantan. 2016;4:309–15.
 92. Armis A, Haniastuti T, Susilowati H. Efek ekstrak pare terhadap infiltrat inflamasi dan aktivasi Nf-Kb pada periodontitis. 2017;
 93. Handajani F. Metode pemilihan dan pembuatan hewan model beberapa penyakit pada penelitian pada penelitian eksperimental. Prabowo S, editor. Surabaya: Zifatama Jawa; 2021. 16–22 p.
 94. FKU U. Modul Praktikum Penanganan Hewan Coba. Bali: Udayana Press; 2019. 1–9 p.
 95. M S Rukmini, Benedicta D, Vivian D. Superoxide dismutase and catalase activities and their correlation with malondialdehyde in schizophrenic patients. *Indian J Clin Biochem*. 2004;2:114–8.
 96. Tania POA, Simamora D, Parmasari WD, Rahmawati F. Kadar Interleukin 6 (IL-6) sebagai indikator progresivitas penyakit reumatoid arthritis (Ra). *Ilm Kedokt*. 2014;3:40–7.
 97. Febrina L, Helmi, Laboratorium LR. Profil kadar malondialdehida, glukosa dan kolesterol pada tikus putih yang terpapar asap rokok. *J Trop Pharm Chem*. 2016;3:4:277–82.
 98. Aprilia CA, Marlina Dewiastuti. Efektivitas Hipolipidemia dan Antioksidan Ekstrak Daun Binahong pada Tikus Putih yang Diinduksi Pakan Hiperkolesterol. *Yars Med J*. 2018;25:3:150.
 99. Wulandari DY, Padaga MC, Herawati. Kadar MDA dan gambaran histopatologi organ hati tikus hiperkolesterolemia setelah terapi ekstrak air benalu mangga. *J Med Vet Univ Brawijaya* [Internet]. 2012
 100. Sarihati IGAD, Dhyana Putri IGAS. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) terhadap Kadar Glutathion Dan Interleukin 6 Serum Tikus Wistar Jantan yang Diberi Pakan Tinggi Kolesterol. *J Kesehat*. 2020;11:1:77.
 101. Maulida M. Pengaruh pemberian VCO (virgin coconut oil) terhadap kadar kolesterol HDL ,LDL, dan IL-6. UNISSULA. 2021.
 102. Chaturvedi, George, Milinganyo, Tripathi. Effect of *momordica charantia* on lipid profile and oral glucose tolerance in diabetic rats. *Phytother Res*. 2004;18:11:956–6.
 103. Rita. Kadar lipid darah mencit betina middle-aged galur swiss webster setelah pemberian jus buah pare (*momordica charantia* L.). *Majalah Kedokteran Bandung*. 2011;43:2:93 – 97.
 104. Artha C, Mustika A, Sulistyawati SW. Pengaruh ekstrak daun singawalang terhadap kadar ldl tikus putih jantan hiperkolesterolemia. *eJournal Kedokt Indones*. 2017;5:2:105–9.
 105. Tarnajaya K, Pangkahila A, Pangkahila W, Siswanto FM. Pemberian Ekstrak Daun Cincau (*Mesona palustris* BL) Meningkatkan Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Diinduksi Latihan Fisik Berlebih. *J Biomedik*. 2018;10:1:9–15.