

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT SALAK  
TERHADAP PROFIL LIPID, IL-6 DAN MDA SERUM**

**Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur *Wistar* Yang Diinduksi Diet  
Tinggi Lemak**

**TESIS**

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat  
Magister (S2)**



**Magister Ilmu Biomedik**

**Hanny Fuzi Lestari**

**MBK. 2219010281**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG**

**SEMARANG 2023**

**TESIS**  
**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT SALAK**  
**TERHADAP PROFIL LIPID, IL 6 DAN MDA SERUM**  
**(Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur *Wistar***  
**Yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak)**

Disusun oleh:


**Hanny Fuzi Lestari**  
**MBK. 2219010281**


Yang dipertahankan didepan tim Penguji  
Desember 2023

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima  
Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

  
Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H, Sp. KF

  
Dr. dr. Danis Pertiwi, M.Si. Med, Sp.PK

NIK. 210199049

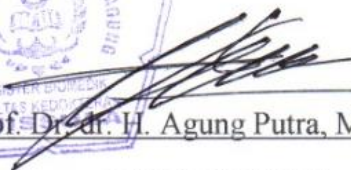
NIK. 210199051

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



  
Prof. Dr. dr. H. Agung Putra, M.Si.M.Ed

NIK. 210199050

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya 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, Desember 2023

Yang menyatakan

Hanny Fuzi Lestari

## **RIWAYAT HIDUP**

### **I. IDENTITAS DIRI**

Nama : Hanny Fuzi Lestari  
Tempat / Tanggal Lahir : Kuningan, 10 Februari 1994  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Perempuan

### **II. RIWAYAT PENDIDIKAN FORMAL**

1. SD Negeri 1 Babakan Mulya : Lulus Tahun 2006
2. SMPN 2 KUNINGAN : Lulus Tahun 2009
3. SMAN 2 KUNINGAN : Lulus Tahun 2012
4. S1 Kedokteran Umum UNISSULA : Lulus Tahun 2016
5. Profesi Dokter UNISSULA : Lulus Tahun 2018
6. Magister Ilmu Biomedik FK UNISSULA : 2022 - Sekarang

### **III. RIWAYAT KELUARGA**

Nama Orang Tua  
Ayah : Ali  
Ibu : Iroh Rohami

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Rabbil Alamin, puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunia-Nya, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Salak Terhadap Profil Lipid, IL-6 dan MDA Serum. Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur *Wistar* Yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak.

Tesis ditulis dalam rangka memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Magister Biomedik ( M.Biomed ) di Sekolah Pascasarjana Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Penulis menyadari bahwa tesis dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis berterima kasih kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan tesis ini.

Selanjutnya ucapan terimakasih yang setulus-tulusnya penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M.Hum selaku rector Universitas Islam Sultan Agung Semarang beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H. Sp.KF selaku dekan Fakultas Kedokteran UNISSULA yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan di program Magister Biomedik.
3. Prof. DR. dr H. Agung Putra., M.Si., Med selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan kesempatan penulis untuk mengikuti pendidikan di Prodi Biomedik.

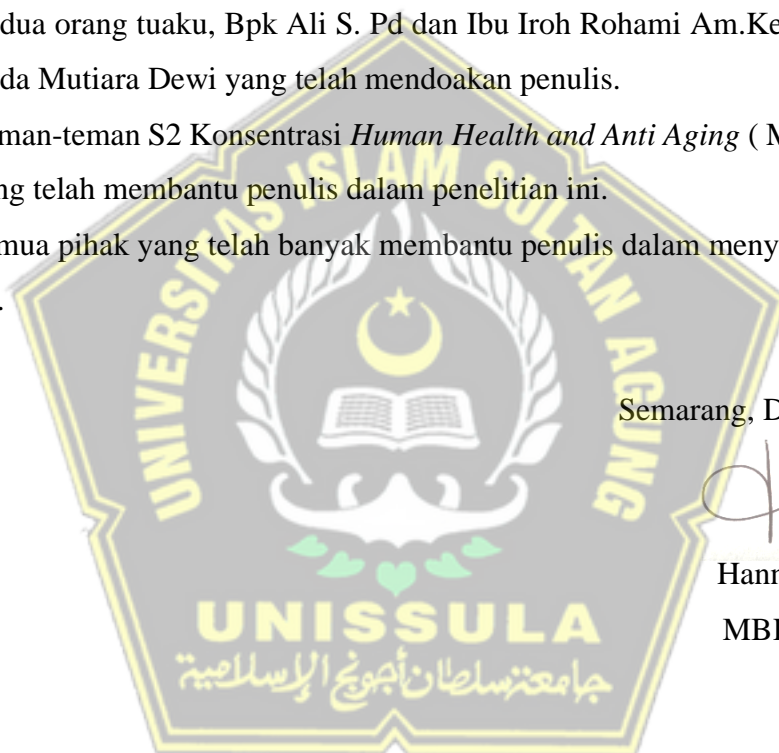
4. Tim pembimbing: Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H, Sp.KF dan Dr. dr. Danis Pertiwi, M.Si.Med, Sp.PK yang telah membimbing dan menempa dengan segenap ilmu, waktu, tenaga dalam menyusun tesis ini.
5. Tim penguji: Prof. Dr. dr. H. Agung Putra, M.Si.M.Ed, Dr. Dra. Atina Husaana, Msi.Apt, dan Dr. dr. Sri Priyantini, Sp. A selaku dosen penguji yang telah bersedia menilai dan memberi masukan kepada penulis.
6. Segenap dosen Ilmu Biomedik Konsentrasi *Human Health and Anti Aging* yang telah memberikan waktu dan ilmunya kepada penulis.
7. Kedua orang tuaku, Bpk Ali S. Pd dan Ibu Iroh Rohami Am.Keb serta adikku Firda Mutiara Dewi yang telah mendoakan penulis.
8. Teman-teman S2 Konsentrasi *Human Health and Anti Aging* ( Mas Wahyudi ) yang telah membantu penulis dalam penelitian ini.
9. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Semarang, Desember 2023



Hanny Fuzi Lestari

MBK 2219010281



## DAFTAR ISI

	Halaman
TESIS .....	i
PERNYATAAN.....	ii
RIWAYAT HIDUP.....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiii
ABSTRAK.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan.....	7
1.3.1 Tujuan Umum.....	7
1.3.2 Tujuan Khusus .....	7
1.4 Orisinalitas Penelitian.....	8
1.5 Manfaat Penelitian.....	11
1.5.1 Manfaat Teoritis.....	11
1.5.2 Manfaat Praktis .....	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1 Profil Lipid .....	12

2.1.1 Kolesterol total.....	12
2.1.2 HDL .....	19
2.1.3 LDL.....	22
2.1.4 Trigliserida.....	25
2.4 Ekstrak Etanol Kulit Salak .....	26
2.2 MDA.....	29
2.3 IL-6.....	31
2.5 Dislipidemia .....	35
2.6 Mekanisme Antioksidan terhadap Radikal Bebas.....	41
2.7 Manfaat salak terhadap mikrobiota usus.....	43
2.8 Penggunaan Tikus sebagai Hewan Coba.....	45
<b>BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP</b> .....	<b>46</b>
<b>DAN HIPOTESIS</b> .....	<b>46</b>
3.1 Kerangka Teori.....	46
3.2 Kerangka Konsep .....	49
3.3 Hipotesis.....	49
<b>BAB IV METODE PENELITIAN</b> .....	<b>50</b>
4.1 Jenis Penelitian.....	50
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	52
4.2.1 Populasi.....	52
4.2.2 Sampel .....	52
4.2.3 Teknik Sampling.....	52
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Penelitian.....	53
4.3.1 Variabel Penelitian.....	53
4.3.2 Definisi Operasional .....	53



4.4 Instrumen dan Bahan Penelitian.....	55
4.4.1 Instrumen Penelitian .....	55
4.5. Pemberian Dosis Ekstrak Etanol Kulit Salak .....	56
4.6 Induksi Dislipidemia .....	57
4.7 Alur Penelitian.....	57
4.7.1 Pengajuan Ethical Clearance .....	57
4.7.2 Adaptasi Hewan Coba .....	57
4.7.3 Prosedur Penelitian .....	57
4.7.4 Cara Pengambilan Sampel Hewan Coba .....	59
4.7.5 Prosedur Pengukuran Kadar Profil Lipid.....	59
4.7.6 Cara Pengukuran Kadar IL-6.....	60
4.7.7 Cara Pengukuran Kadar MDA.....	61
4.7.8 Tempat dan waktu Penelitian.....	61
4.8 Analisis Data .....	63
<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>64</b>
5.1 Hasil Penelitian.....	64
5.1.1 Validasi kadar profil lipid.....	64
5.1.2 Hasil pemeriksaan kadar profil lipid, IL-6 dan MDA setelah pemberian EEKS .....	66
5.1.3 Hasil analisis kadar IL-6.....	74
5.1.4 Hasil analisis kadar MDA.....	76
5.2 Pembahasan .....	78
<b>BAB VI KESIMPULAN.....</b>	<b>84</b>
6.1 Kesimpulan.....	84
6.2 Saran .....	84

DAFTAR PUSTAKA .....	85
LAMPIRAN .....	90
a. Lampiran Ethical Clearance .....	90
b. Lampiran Surat Izin Penelitian.....	91
c. Lampiran Foto Kegiatan Penelitian .....	92
d. Lampiran Hasil Statistik.....	94

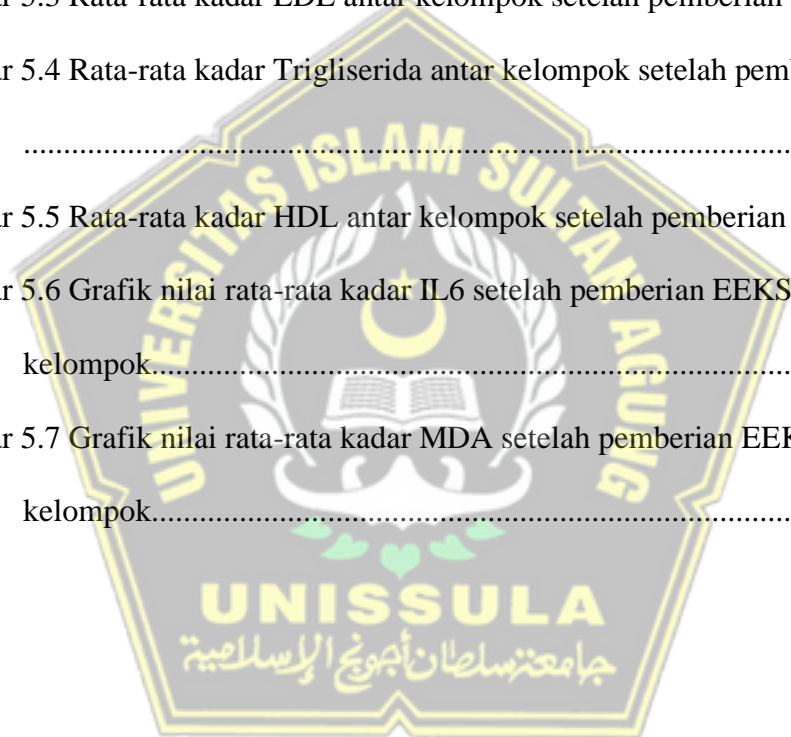


## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian .....	2
Tabel 2.1 Jenis lipoprotein, apolipoprotein dan kandungan lipid .....	25
Tabel 2.2 Klasifikasi kadar lipid plasma .....	27
Tabel 5.1 Perbandingan rata-rata kadar profil lipid kelompok tanpa intervensi dengan kelompok intervensi yang diinduksi diet tinggi lemak .....	65
Tabel 5.2 Hasil analisis rata-rata profil lipid, IL-6 dan MDA .....	66
Tabel 5.3 Perbedaan rata-rata kadar kolesterol total tiap kelompok setelah pemberian EEKS dengan uji <i>Posh Hoc Tamhane</i> .....	69
Tabel 5.4 Perbedaan rata-rata kadar LDL tiap kelompok setelah pemberian EEKS dengan uji <i>Posh Hoc Tamhane</i> .....	70
Tabel 5.5 Perbedaan rata-rata kadar LDL tiap kelompok setelah pemberian EEKS dengan uji <i>Posh Hoc Tamhane</i> .....	72
Tabel 5.6 Perbedaan rata-rata kadar HDL tiap kelompok setelah pemberian EEKS dengan uji <i>Posh Hoc Tamhane</i> .....	74
Tabel 5.7 Perbedaan rata-rata kadar IL-6 tiap kelompok setelah pemberian EEKS .....	75
Tabel 5.8 Perbedaan rata-rata kadar MDA setelah pemberian EEKS tiap kelompok dengan uji <i>Mann-Whitney</i> .....	78

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 5.1 Grafik perbedaan kadar profil lipid kelompok tanpa intervensi dengan kelompok intervensi yang diinduksi diet tinggi lemak .....	66
Gambar 5.2 Rata-rata kadar kolesterol total antar kelompok setelah pemberian EEKS.....	68
Gambar 5.3 Rata-rata kadar LDL antar kelompok setelah pemberian EEKS.....	70
Gambar 5.4 Rata-rata kadar Trigliserida antar kelompok setelah pemberian EEKS .....	71
Gambar 5.5 Rata-rata kadar HDL antar kelompok setelah pemberian EEKS .....	73
Gambar 5.6 Grafik nilai rata-rata kadar IL6 setelah pemberian EEKS pada tiap kelompok.....	74
Gambar 5.7 Grafik nilai rata-rata kadar MDA setelah pemberian EEKS pada tiap kelompok.....	77



## DAFTAR LAMPIRAN

a. Lampiran Ethical Clearance .....	90
b. Lampiran Surat Izin Penelitian.....	91
c. Lampiran Foto Kegiatan Penelitian .....	92
d. Lampiran Hasil Statistik.....	94



## DAFTAR SINGKATAN

<b>AI</b>	: Atherogenic index
<b>BMI</b>	: Body Mass Index
<b>EEKS</b>	: Ekstrak Etanol Kulit Salak
<b>LDL-C</b>	: Low density lipoprotein-cholesterol
<b>HDL-C</b>	: High density lipoprotein-cholesterol
<b>GSH-Px</b>	: Glutathione <i>peroxidase</i>
<b>MDA</b>	: <i>Malondialdehyde</i>
<b>TAC</b>	: Total Antioxidant Capacity
<b>TG</b>	: Triglycerides
<b>TC</b>	: Total cholesterol
<b>ROS</b>	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
<b>SOD</b>	: <i>Superoxide Dismutase</i>



## ABSTRAK

Latar Belakang: Dislipidemia ditandai dengan peningkatan kolesterol total, trigliserida, LDL dan penurunan HDL. Salah satu akibat disfungsi endotel sebagai awal penyakit kardiovaskular yang diinduksi oleh stres oksidatif dan inflamasi, sehingga kondisi tersebut harus dikendalikan. Dislipidemia menyebabkan peningkatan sitokin pro inflamasi yang berperan dalam stress oksidatif dan proses inflamasi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit salak terhadap kadar profil lipid, IL-6 dan MDA serum pada tikus *Wistar* yang diinduksi diet tinggi lemak. Metode: Jenis penelitian adalah Experimental dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Subjek penelitian menggunakan 36 ekor tikus *Wistar*, terbagi atas 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol sehat (KS), kontrol negatif (K-), kontrol positif dengan simvastatin (K+), Kelompok EEKS dosis 60 mg (P1), Kelompok EEKS dosis 120 mg (P2), dan Kelompok EEKS dosis 240 mg (P3). Pemeriksaan pada hari ke 36 menggunakan serum darah metode ELISA untuk menganalisa kadar profil lipid, IL-6 dan MDA.

Hasil Penelitian: Terdapat perbedaan signifikan dengan uji *t test* ( $p < 0,05$ ) terhadap penurunan rata-rata kadar kolesterol total, LDL, trigliserida, dan peningkatan kadar HDL. Hasil kadar IL-6 menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok dengan uji *one way anova* ( $p < 0,05$ ), pada dosis 120 mg memiliki hasil paling rendah namun tidak berbeda signifikan jika dibandingkan dengan kelompok K+ dengan uji *Post hoc LSD* ( $p < 0,05$ ), sedangkan hasil kadar MDA berbeda signifikan dengan uji *Kruskal Wallis* ( $p < 0,05$ ) ditunjukkan pada dosis 240 mg memiliki hasil sama dengan kelompok simvastatin dengan uji *Mann-Whitney* ( $p < 0,05$ ). Kesimpulan: Ekstrak etanol kulit salak (EEKS) pada dosis 240 mg memiliki efek sama dengan simvastatin dengan menurunkan kadar kolesterol total, LDL, trigliserida dan meningkatkan HDL. EEKS menurunkan kadar IL-6 dan MDA pada kondisi dislipidemia.

**Kata Kunci:** Ekstrak kulit salak, profil lipid, IL-6, MDA

## ABSTRACT

Background: Dyslipidemia is characterized by an increase in total cholesterol, triglycerides, LDL and a decrease in HDL. One of the consequences of endothelial dysfunction as a precursor to cardiovascular disease is induced by oxidative stress and inflammation, so this condition must be controlled. Dyslipidemia causes an increase in pro-inflammatory cytokines which play a role in oxidative stress and inflammatory processes. The aim of this study was to determine the effect of administering snake fruit ethanol extract on serum lipid profile, IL-6 and MDA levels in Wistar rats induced by a high-fat diet. Method: The type of research is experimental with a Post Test Only Control Group Design research design. The research subjects used 36 Wistar rats, divided into 6 treatment groups, namely healthy control group (KS), negative control (K-), positive control with simvastatin (K+), 60 mg dose EEKS group (P1), 120 mg dose EEKS group (P2), and EEKS group dose 240 mg (P3). Examination on day 36 used blood serum ELISA method to analyze levels of lipid profile, IL-6 and MDA. Research Results: There was a significant difference using the t test ( $p < 0.05$ ) in the average decrease in total cholesterol, LDL, triglyceride levels and increase in HDL levels. The results of IL-6 levels showed significant differences between groups using the one way anova test ( $p < 0.05$ ), the 120 mg dose had the lowest results but was not significantly different when compared to the K+ group using the post hoc LSD test ( $p < 0, 05$ ), while the results of MDA levels were significantly different using the Kruskal Wallis test ( $p < 0.05$ ), showing that the 240 mg dose had the same results as the simvastatin group using the Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ ). Conclusion: Snake bark ethanol extract (EEKS) at a dose of 240 mg has the same effect as simvastatin by reducing total cholesterol, LDL, triglyceride levels and increasing HDL. EEKS reduces IL-6 and MDA levels in dyslipidemia conditions.

Keywords: Salak bark extract, lipid profile, IL-6, MDA



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Peningkatan LDL, trigliserida, kolesterol total, dan penurunan HDL merupakan ciri khas dislipidemia. Dislipidemia harus ditangani karena salah satu dampaknya adalah disfungsi endotel, yang merupakan stres oksidatif dan inflamasi yang merupakan pemicu penyakit kardiovaskular. Sitokin pro-inflamasi, yang terlibat dalam stres oksidatif dan proses inflamasi, meningkat pada dislipidemia.<sup>1</sup> Ketika spesies oksigen reaktif (ROS) melebihi antioksidan, peningkatan kadar ROS menyebabkan stres oksidatif dan kerusakan jaringan selanjutnya. Sitokin pro-inflamasi yang disebut interleukin-6 (IL-6) digunakan untuk mengidentifikasi proses inflamasi jaringan. Stress oksidatif menyebabkan peningkatan ROS dalam tubuh yang menyebabkan peroksidasi lipid. Senyawa organik yang merupakan petanda peroksidasi lipid adalah MDA (*malondyaldehida*).

Menurut data Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), prevalensi dislipidemia adalah 40% pada wanita dan 37% pada pria pada tahun 2008. Dislipidemia diperkirakan menjadi penyebab 2,6 juta kematian dan 29,7 juta kasus ketidakberdayaan setiap tahunnya.<sup>4</sup> Berdasarkan data RISKESDAS tahun 2013, 35,9% penduduk Indonesia yang berusia di atas 15 tahun menderita dislipidemia; persentase ini lebih tinggi pada perempuan dibandingkan laki-laki dan lebih banyak terjadi di perkotaan dibandingkan di pedesaan. Data RISKESDAS tahun 2013 juga mengungkapkan bahwa 11,9% penduduk

berusia 15 tahun ke atas memiliki kadar trigliserida 500 mg/dl, 22,9% memiliki kadar HDL  $\leq$  40 mg/dl, dan 15,9% penduduk memiliki proporsi LDL 190 mg/dl.<sup>5</sup> Berdasarkan data PAPDI tahun 2011, hanya 31,3% pasien dislipidemia di Indonesia yang mencapai target terapi yang diharapkan.<sup>6</sup> Profil lipid secara keseluruhan dipengaruhi secara positif oleh standar emas penggunaan obat statin. Statin adalah obat yang efektif mengurangi risiko penyakit kardiovaskular dengan menurunkan LDL, trigliserida, dan kolesterol total. Penggunaan statin jangka panjang meningkatkan kadar enzim hati selama lima bulan pertama terapi, terutama pada pasien hepatitis B dan C, meskipun statin efektif dalam menurunkan profil lipid. Selain itu, penggunaan statin perlu diwaspadai karena 5% penggunaanya mengalami miopati dan gagal ginjal.

Dalam studinya, Nuranti dkk. (2015) menemukan bahwa ekstrak etanol kulit buah salak yang diberikan pada tikus dengan dosis 210 dan 840 mg/kg berat badan mampu menurunkan kadar kolesterol total darah tikus; penurunan tertinggi diamati pada 840 mg/kg berat badan tikus, sebesar 23,72%. Meski demikian, aktivitasnya masih kalah dibandingkan simvastatin yang menurunkan kadar kolesterol total sebesar 42,08%. Oleh karena itu, penelitian dengan dosis EEKS yang lebih tinggi yaitu 200, 400, 600 mg/200 gram bobot tikus yang diharapkan dapat membuktikan penurunan kadar profil lipid, menurunkan kadar IL 6 dan MDA serum darah tikus jantan galur *wistar*.

Masih kurangnya penelitian mengenai sifat antioksidan ekstrak etanol kulit buah salak. Ekstrak etanol kulit buah salak menurut penelitian Handayani dkk. (2021), mengandung alkaloid 7,61% b/b, flavonoid 0,041% b/b, tanin 1,8%

b/b, dan saponin 2% b/b. Tikus yang diberi ekstrak etanol kulit buah salak dengan dosis 140 mg/kg BB menunjukkan adanya penurunan glukosa darah, ureum, dan kreatinin. Kanon dkk. (2012) menemukan bahwa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dapat menurunkan kadar gula darahnya bila diberikan ekstrak etanol kulit buah salak sebanyak 150 mg/Kg BB. Menurut penelitian Putri (2020), tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan dapat menurunkan kadar gula darahnya dengan pemberian ekstrak etanol kulit buah salak dengan dosis 0,075-0,225 g/200 g BB. Dalam studi mereka, Valentino dkk. (2021) menemukan bahwa dosis EEKS yang optimal adalah 600 mg/KgBB dan dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus yang diberi suntikan aloksan dengan nilai  $p < 0,05$ . Sedangkan penurunan berat badan mencit yang mendapat injeksi aloksan menunjukkan hasil yang kurang signifikan ( $p > 0,05$ ).

Peneliti Datu dkk. (2022) menemukan bahwa pemberian jus salak (*Salacca zalacca*) kepada tikus model hiperlipidemia dan obesitas mempengaruhi profil lipid mereka dengan menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL. Mereka juga menemukan bahwa jus berdampak pada berat badan tikus. Pemberian jus buah pada tikus yang mengalami obesitas juga dapat menurunkan berat badan dan kadar glukosa darahnya.

Salah satu pengobatan yang mungkin untuk dislipidemia adalah penggunaan antioksidan. Pencegahan dan pengobatan penyakit berbasis antioksidan adalah pendekatan terapeutik yang sah yang setara dengan manajemen farmakologis atau gaya hidup. Antioksidan yang kuat terbukti

mampu melawan sejumlah penyakit, termasuk penyakit degeneratif yang sulit diobati.<sup>8</sup> Manusia dapat mengonsumsi zat-zat yang terdapat di alam yang mempunyai kemampuan menghambat radikal bebas.

Masyarakat Indonesia telah memanfaatkan tumbuhan sebagai obat dan perawatan kesehatan secara turun-temurun. Buah salak merupakan salah satu tanaman yang mempunyai khasiat bagi kesehatan (*Salacca zalacca*). Salah satu senyawa metabolit sekunder bermanfaat yang terdapat pada tanaman salak diketahui memiliki efek antioksidan yang dapat mengurangi efek berbahaya dari radikal bebas.<sup>37</sup>

Sekelompok zat yang disebut metabolit sekunder diproduksi oleh makhluk hidup dan penting untuk kelangsungan hidup mereka. Dalam industri farmasi, metabolit sekunder dimanfaatkan secara khusus sebagai kandidat obat, yaitu struktur kimia dengan aktivitas biologis yang memiliki efek terapeutik dengan toksisitas rendah.<sup>36</sup> Berdasarkan temuan penelitian, hanya sekitar 30% pasien dislipidemia yang mencapai tujuan pengobatannya. Perlu dilakukan upaya penurunan kadar profil lipid dengan menggunakan bahan alami.

Penggunaan statin merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan, namun tetap perlu diwaspadai karena penggunaan obat tersebut dalam jangka panjang telah dikaitkan dengan efek samping seperti gagal ginjal dan miopati.<sup>8</sup> Oleh karena itu, diperlukan terapi alternatif yang terjangkau, mudah diakses, dan nyaman. Salah satu pilihannya adalah dengan menggunakan bahan-bahan obat yang tersedia secara lokal. Sumber makanan antioksidan terbesar bagi manusia adalah buah-buahan. Mengonsumsi buah-buahan yang kaya akan

antioksidan alami berkorelasi positif dengan rendahnya kejadian penyakit tidak menular seperti diabetes, kanker, dan gangguan kardiovaskular, menurut penelitian epidemiologi baru-baru ini.<sup>37</sup> Buah salak merupakan salah satu tanaman yang memiliki beberapa kegunaan. Salah satu produk hortikultura yang potensial untuk dikembangkan secara komersial adalah salad. Vitamin, mineral, serat, dan zat bioaktif seperti antioksidan semuanya bisa ditemukan dalam salad. Banyak negara tropis, termasuk Indonesia, yang merupakan rumah bagi salak. Komponen kimia yang terdapat pada kulit salak antara lain polifenol, flavanol, flavonoid, asam askorbat, dan tanin yang semuanya memiliki sifat antioksidan.<sup>3</sup>

Meskipun sifat antioksidan pada buah salak telah dibuktikan, sedikit yang diketahui mengenai efek pada kulit buah tersebut. Daging buah salak merupakan satu-satunya bagian yang dimanfaatkan masyarakat; kulit buahnya, misalnya, hampir tidak dimanfaatkan sama sekali dan dibuang begitu saja. Sebenarnya, hampir setiap bagian tanaman—termasuk kulit buahnya, yang sering diabaikan—dapat bermanfaat. Penelitian sebelumnya mengenai efek salak, atau *Salacca zalacca* (Gaertner) Voss, sebagian besar terkonsentrasi pada daging buahnya. Kandungan polifenol total buah salak adalah  $217,1 \pm 13,2$  mg GAE (setara asam galat)/100 g berat segar, berdasarkan temuan penelitian<sup>38</sup>. Dari segi aktivitas antioksidan, buah salak memiliki kandungan  $110,4 \pm 7,9$   $\mu$ M TE (micromolar trolox setara)/100 g berat segar menggunakan metode DPPH dan  $1507,5 \pm 70,1$   $\mu$ M TE menggunakan metode ABTS. Kehadiran asam metilpirol-2,4-dikarboksilat, senyawa baru dalam tanaman salak var, dan aktivitas

antioksidan pada salak var. Ekstrak bongkok etil asetat ( $IC_{50} = 1,6 \mu\text{g/mL}$ ) terdeteksi. Dengan  $IC_{50} 3,27 \mu\text{g/mL}$ , Hunchback memiliki aktivitas antioksidan. Namun, belum banyak penelitian yang dipublikasikan mengenai kulit buah salak. Deng (2012) menemukan bahwa kulit buah salak memiliki aktivitas antioksidan, dengan nilai TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Kapasitas) sebesar  $4,50 \pm 0,22 \mu\text{mol Trolox/g}$  kulit buah, dan nilai FRAP (Ferric-Reducing Antioxidant Power) sebesar  $0,74 \pm 0,10 \text{ mol Fe(II)/g}$  (Deng, dkk., 2012). Dosis EEKS menunjukkan aktivitas antioksidan, menurut penelitian Fitri (2014), dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $229,27 \pm 6,35 (\mu\text{g/mL})$ . Sejauh ini penelitian yang menjelaskan tentang pengaruh ekstrak etanol kulit salak pada tikus terhadap kadar profil lipid, IL-6 dan MDA masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian masih sangat relevan untuk diteliti lebih lanjut.

Pemakaian hewan coba tikus jantan galur *wistar* karena genetik, fisiologis, dan metabolisme yang mirip dengan manusia. Selain itu tikus jantan galur *wistar* memiliki siklus hidup yang relative singkat, jumlah keturunan yang banyak per kelahiran, dan kemudahan penanganan<sup>9</sup>.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak etanol kulit salak berpengaruh terhadap profil lipid, IL-6 dan MDA serum pada tikus jantan galur *wistar* yang diinduksi diet tinggi lemak?

## 1.3 Tujuan

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit salak terhadap kadar profil lipid, IL-6 dan MDA serum pada tikus jantan galur *wistar* yang diinduksi diet tinggi lemak.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui rerata kadar kolesterol total, trigliserida, LDL HDL, IL-6, dan MDA serum tikus jantan galur *wistar* yang diberi pakan standart dan aquabidest.

1.3.2.2 Mengetahui rerata kadar kolesterol total, trigliserida, LDL HDL, IL-6, dan MDA serum tikus jantan galur *wistar* yang diinduksi diet tinggi lemak dan diberi simvastatin dosis 0,18 mg.

1.3.2.3 Mengetahui rerata kadar kolesterol total, trigliserida, LDL HDL, IL-6, dan MDA serum tikus jantan galur *wistar* yang diinduksi diet tinggi lemak dan berikan EEKS dosis 60 mg/200 gram BB tikus.

1.3.2.4 Mengetahui rerata kadar kolesterol total, trigliserida, LDL HDL, IL-6, dan MDA serum tikus jantan galur *wistar* yang diinduksi diet tinggi lemak dan berikan EEKS dosis 120 mg/200 gram BB tikus.

1.3.2.5 Mengetahui rerata kadar kolesterol total, trigliserida, LDL HDL, IL-6, dan MDA serum tikus jantan galur *wistar* yang diinduksi

diet tinggi lemak dan berikan EEKS dosis 240 mg/200 gram BB tikus.

1.3.2.6 Menganalisis perbedaan rerata kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, HDL, IL-6 dan MDA serum antar kelompok.

#### 1.4 Orisinalitas Penelitian

Saat ini hanya ada sedikit informasi yang tersedia tentang bagaimana pemberian ekstrak etanol buah salak mempengaruhi profil lipid, IL-6, dan serum MDA pada tikus Wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak. Karya ini merupakan investigasi eksperimental menggunakan tikus yang diberi diet tinggi lemak. Kajian yang berhubungan dengan kajian ini adalah:

**Tabel 1.1 Orisinalitas Penelitian**

Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil
Neisha Nadya Nuranti et al	Uji Aktifitas Anti hiperkolesterolemia Ekstrak Kulit Terhadap Swiss Bester Jantan yang Diinduksi Diet Pakan Tinggi Lemak	<i>Pre-post Control Group Design</i>	Pada dosis 210 dan 840 mg/kg berat badan mencit, ekstrak etanol kulit salak menunjukkan aktivitas dalam menurunkan kadar kolesterol darah mencit; pada tikus 840 mg/kg berat badan, persentase penurunan kadar kolesterol total sebesar 23,72%. Dengan kadar kolesterol total sebesar 42,08%, aktivitasnya masih kalah dibandingkan



				simvastatin (pembanding).
Dhayanaputri, I.G.A.S., Karta, I.W., dan Krisna, I.A.W.	Analisa kandungan gizi ekstrak kulit salak produksi kelompok tani abian salak Desa Sibetan sebagai upaya pengembangan potensi produk pangan lokal	<i>Pre-post Control Group Design</i>	Ekstrak etanol kulit salak mengandung zat antioksidan tinggi.	
Tien Wahyu Handayani, Agustinus Widodo, Risna Yanti, Erdy Prasetyo, Zulfaidah, Joni Tandi	Analisis Metabolit Sekunder dan Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Salak ( <i>Salacca zalacca</i> (Gaertn.) Voss) Terhadap Kadar Glukosa dan Ureum Kreatinin Tikus Putih Jantan ( <i>Rattus norvegicus</i> )	<i>Post Control Group Design</i>	Ekstrak etanol kulit buah salak mempunyai kandungan alkaloid 7,61% b/b, flavonoid 0,041% b/b, tanin 1,8% b/b, dan saponin 2% b/b. Perlu dilakukan penelitian tambahan mengenai ekstrak etanol kulit buah salak sebagai antidiabetes karena efektif menurunkan kadar glukosa darah dan kadar ureum- kreatinin bila diberikan dengan dosis 140 mg/kg BB.	
Lia Krisdayanti, Hajrah, Adam M Ramadhan	Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Biji Salak ( <i>Salacca zalacca</i> (Gaertn.) Voss.) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar	<i>Post Control Group Design</i>	Ekstrak etanol biji salak memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar asam urat darah.	

		( <i>Rattus norvegicus</i> ) Yang Diinduksi Kalsium Oksalat		
Aldy Valentino1, Rido Gunawan1, Wiranto1, Febyami N Simatupang1, Miranda S Baringbing1, Ermi Girsang2, Ali Napiah Nasution3	Efektifitas Ekstrak Etanol Kulit Salak ( <i>Salacca zalacca</i> ) Terhadap Penurunan Berat Badan Dan Kadar Gula Darah Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> )	<i>Post Control</i> <i>Group Design</i>	Tikus yang disuntik aloksan mengalami penurunan KGD sebesar EEKS dengan p-value kurang dari 0,05; dosis optimalnya adalah 600 mg/KgBB. Sedangkan penurunan berat badan mencit yang mendapat injeksi aloksan menunjukkan hasil yang kurang signifikan ( $p >$ 0,05).	
Olvie Syenni Datu, Julianri Sari Lebang, Erladys Melindah Rumondor	Pengaruh Pemberian Sari Buah Salak ( <i>Salacca zalacca</i> ) terhadap Profil lipid dan Berat Badan Tikus Model Hiperlipidemia dan Obesitas	<i>Pre-post Control</i> <i>Group Design</i>	Pemberian jus buah salak menurunkan LDL, trigliserida, dan kolesterol total yang berdampak pada profil lipid. Pemberian jus buah pada ular juga dapat menurunkan kadar gula darah dan membantu tikus yang mengalami obesitas menurunkan berat badan.	

## **1.5 Manfaat Penelitian**

### **1.5.1 Manfaat Teoritis**

Memberikan data kepada akademisi mengenai bagaimana pemberian ekstrak etanol buah salak mempengaruhi profil lipid, IL-6, dan serum MDA pada tikus Wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak. Selain itu, temuan penelitian ini dapat menjadi panduan atau acuan untuk penyelidikan di masa depan.

### **1.5.2 Manfaat Praktis**

Memberi informasi bagi masyarakat tentang manfaat ekstrak etanol kulit salak untuk memperbaiki profil lipid.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Profil Lipid**

Protein, fosfolipid, trigliserida, dan kolesterol tak teresterifikasi membentuk lipoprotein, yang merupakan bentuk lipid yang bersirkulasi. Darah mengandung lima lipoprotein utama: (1) kilomikron; (2) lipoprotein densitas sangat rendah (VLDL); (3) lipoprotein densitas menengah (IDL); (4) lipoprotein densitas rendah (LDL); dan (5) high-density lipoprotein (HDL). Masing-masing kelas lipoprotein ini mengangkut kolesterol dan trigliserida ke tujuan yang telah ditentukan.

##### **2.1.1 Kolesterol total**

###### **2.1.1.1 Definisi**

Molekul lipofilik yang penting bagi kehidupan manusia adalah kolesterol. Ia memainkan berbagai peran yang mendukung fungsi normal sel. Misalnya, kolesterol memainkan peran penting dalam struktur membran sel. Ini mengubah fluiditas membran dan menambah konfigurasi strukturalnya. Sintesis vitamin D, hormon steroid (seperti kortisol, aldosteron, dan androgen adrenal), dan hormon seks (seperti testosteron, estrogen, dan progesteron) semuanya memerlukan kolesterol sebagai molekul prekursor. Garam empedu, yang membantu pencernaan dan meningkatkan penyerapan vitamin A, D, E, dan K yang larut dalam lemak, juga mengandung kolesterol.

Kilomikron berperan dalam pencernaan lemak makanan, yang dapat melepaskan kolesterol ke dalam darah. Namun, semua sel tubuh mampu mensintesis kolesterol secara langsung karena perannya yang penting dalam fungsi sel. Hati, tempat sebagian besar sintesis kolesterol de-novo terjadi, adalah tempat utama proses ini.

#### 2.1.1.2 Metabolisme

Secara klinis, lipid plasma terpenting adalah trigliserida dan kolesterol. Terlepas dari peran sentral kolesterol dalam pengaturan dan stabilitas seluler, ia berfungsi sebagai blok bangunan untuk hormon steroid, vitamin D, oksisterol, dan asam empedu. Karena tidak larut dalam plasma, lipoprotein—makromolekul berbentuk bola yang terdiri dari inti hidrofobik yang terutama terdiri dari trigliserida dan ester kolesterol—dan lapisan hidrofilik yang terdiri dari fosfolipid, kolesterol bebas, dan apolipoprotein—mengangkut zat tersebut. Lipoprotein densitas rendah (LDL) dan lipoprotein densitas tinggi (HDL) adalah dua lipoprotein utama yang membawa kolesterol. Relevansi klinis kadar lipid dan lipoprotein plasma untuk diagnosis dan prognosis penyakit seperti aterosklerosis diterima secara umum. Ketidakseimbangan homeostasis kolesterol dipicu oleh peningkatan asupan makanan atau oleh faktor genetik yang mengakibatkan pembuangan kolesterol di jaringan

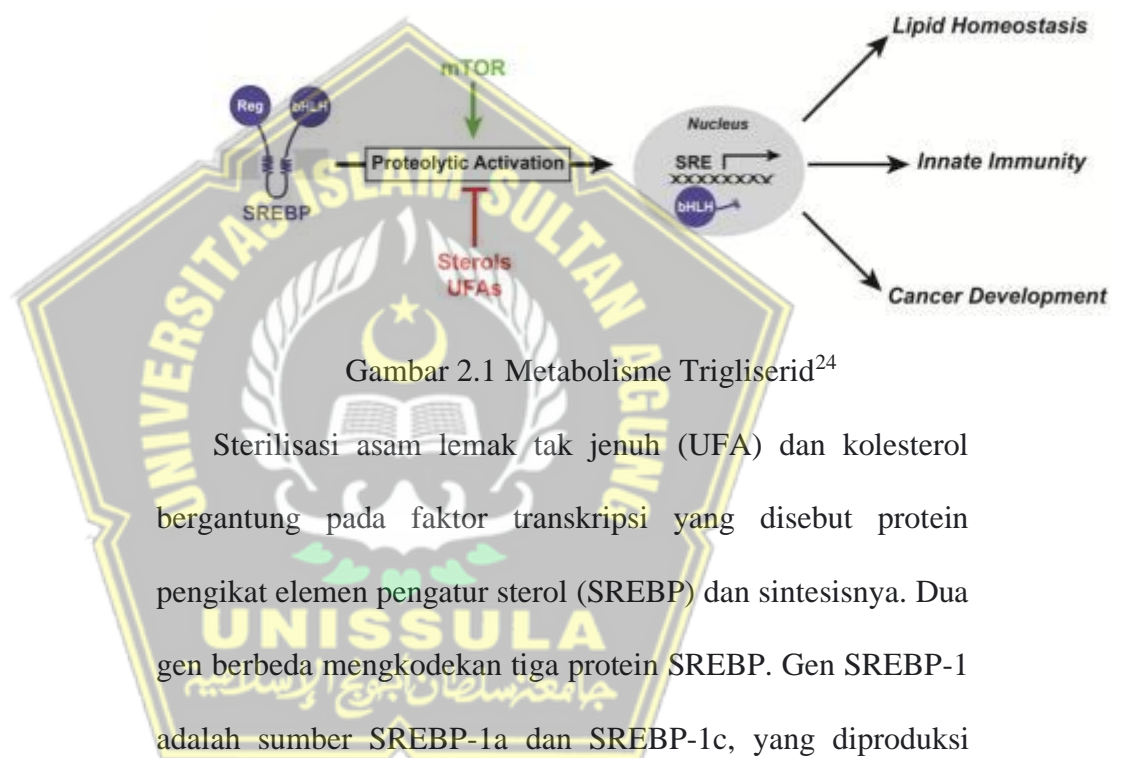
perifer, misalnya dinding arteri. Hal tersebut mengakibatkan aterosklerosis, disfungsi pembuluh darah dan aliran darah tersumbat, mekanisme yang mendasari penyakit kardiovaskular (CVDs). CVD antara lain stroke, serangan jantung, dan penyakit arteri perifer (PAD).

Aterosklerosis diawali oleh kerusakan endotelium yang menyebabkan migrasi monosit ke dalam intima dan diferensiasi menjadi makrofag. Reseptor pemulung makrofag memediasi endositosis berlebihan dari LDL termodifikasi, yang tidak memiliki regulasi umpan balik negatif dan menghasilkan pembentukan sel busa makrofag. Penyerapan LDL yang dimodifikasi secara berlebihan menyebabkan apoptosis dan peradangan yang diinduksi kolesterol. Sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan sel endotel merangsang proliferasi sel otot polos. Lesi awal ini disebut fatty streaks dan merupakan prekursor untuk lesi aterosklerotik lanjut. Yang terakhir dicirikan oleh penutup berserat yang terdiri dari sel otot polos dan matriks ekstraseluler yang menutupi inti nekrotik yang diperkaya lipid. Peradangan yang tidak terselesaikan akhirnya mengarah pada ekspansi plak, destabilisasi, dan rupture.

Kelebihan kolesterol intraseluler dapat menjadi racun dan menyebabkan pembentukan sel busa dan pengerasan sel, yang pada gilirannya memengaruhi integritas pembuluh darah dan

pensinyalan sel. Oleh karena itu, sel perlu menjaga keseimbangan yang ketat antara sintesis, penyerapan, dan ekspor kolesterol, karena kolesterol itu sendiri tidak dapat didegradasi dalam organisme yang lebih tinggi. Untuk menghabiskan kolesterol seluler, kolesterol ditransfer ke partikel HDL, yang menerima kelebihan kolesterol terutama dari sel dan jaringan perifer untuk diangkut kembali ke hati untuk dibuang bersamaan ke dalam empedu. Jalur ini disebut transportasi kolesterol terbalik (RCT). Sebaliknya, partikel LDL yang bersirkulasi, yang terbentuk dari lipoprotein kaya trigliserida setelah remodeling di plasma dan hati, menyelesaikan transportasi kolesterol ke sel yang membutuhkan lipid. Dalam hal ini, sel mengekspresikan tingkat LDL-receptor (LDLR) yang lebih tinggi, sebuah protein yang memediasi pengambilan partikel LDL melalui jalur endositosis yang dimediasi reseptor klasik. Dalam kasus kelebihan kolesterol tubuh total, kolesterol pada akhirnya akan terakumulasi dalam partikel LDL, yang menyebabkan sirkulasi berkepanjangan dalam aliran darah. Ketidakseimbangan ini akibatnya diikuti oleh oksidasi partikel itu sendiri, yang menyebabkan peningkatan potensi aterosklerotik dan kekakuan membran sel. Memang, partikel LDL teroksidasi telah terbukti menginduksi kekakuan endotel. Proses aterogenik mungkin, pada gilirannya, mengubah proses

transportasi lainnya, seperti HDL transcytosis atas sel endotel, yang sangat penting untuk pembersihan lipid di intima. Seiring waktu, kolesterol dan lipid lainnya disimpan di dinding pembuluh darah, menyebabkan pembentukan plak. Namun, seluruh fenomena dimulai pada tingkat sel ketika sel dihadapkan dengan kelebihan kolesterol.



Gambar 2.1 Metabolisme Triglisericid<sup>24</sup>

Sterilisasi asam lemak tak jenuh (UFA) dan kolesterol bergantung pada faktor transkripsi yang disebut protein pengikat elemen pengatur sterol (SREBP) dan sintesisnya. Dua gen berbeda mengkodekan tiga protein SREBP. Gen SREBP-1 adalah sumber SREBP-1a dan SREBP-1c, yang diproduksi dengan menggunakan promotor berbeda untuk menyambung ekson pertama yang berbeda ke ekson kedua yang sama dalam transkrip. SREBP-2 berasal dari gen yang terpisah. SREBPs disintesis sebagai prekursor tidak aktif yang berlabuh ke membran retikulum endoplasma (ER). Domain N-terminal dari SREBP adalah faktor transkripsi helix-loop-helix-leucine zipper (bHLH-Zip) dasar, sedangkan domain regulasi C-terminal



memediasi hubungan dengan protein membran yang disebut Scap yang memainkan peran penting dalam aktivasi SREBP. N- dan C-termini dari SREBPs diproyeksikan ke dalam sitosol dan dipisahkan oleh loop pendek yang diproyeksikan ke dalam lumen ER.

#### 2.1.1.3 Faktor yang mempengaruhi kadar kolesterol

##### 1. Faktor genetik

Kadar kolesterol dipengaruhi oleh faktor genetik. Peningkatan pembentukan LDL disebabkan oleh mutasi abnormal pada reseptor LDL. Hal ini biasanya ditunjukkan dengan kadar kolesterol HDL kurang dari 35 mg/dl dan produksi kolesterol lebih dari 400 mg/dl.

##### 2. Makanan yang dikonsumsi

Diet tinggi kolesterol bisa meningkatkan sintesis kolesterol di hati dengan meningkatkan aktifitas enzim HMGCoA, yang mengkatalisis proses awal dalam biosintesis kolesterol. Diet tinggi kolesterol meningkatkan kolesterol dalam plasma.

##### 3. Obesitas

Kondisi overweight atau obesitas akan mempengaruhi disregulasi lemak, yang akan mempengaruhi kadar trigliserid dan ester kolesterol. Akumulasi lemak yang berlebih secara tidak langsung menyebabkan peningkatan kolesterol plasma.

#### 4. Usia

Dengan bertambahnya usia akumulasi kolesterol menjadi lebih banyak. Sel reseptor ini banyak terdapat di hati, mempunyai fungsi homeostatic dan mengatur sirkulasi kolesterol dalam darah, sehingga jika sel reseptor tersebut terganggu maka kolesterol total dalam darah akan meningkat.

#### 5. Jenis kelamin

Kolesterol darah bervariasi berdasarkan jenis kelamin. Karena pengaruh hormon testosteron, pria menurunkan kadar kolesterolnya secara signifikan. Sedangkan wanita terutama yang mengalami menopause akan mengalami kadar kolesterol yang lebih tinggi.

#### 6. Aktifitas fisik

*Adenosin Trifosfat (ATP)* akan memetabolisme makanan yang masuk ke tubuh seseorang. ATP akan menghasilkan energi untuk tubuh. Aktifitas fisik yang kurang menyebabkan makanan yang akan menjadi energi berubah menjadi simpanan kolesterol dalam tubuh.

#### 2.1.1.4 Metode pemeriksaan kolesterol

Untuk mengukur kadar kolesterol dengan metode *Cholesterol Oksidase Para Amino Phenazone (CHOD-PAP)*. Metode CHOD PAP, yang menggunakan kolorimeter

enzimatik, beroperasi atas dasar bahwa kolesterol esterase mengubah ester kolesterol menjadi asam lemak bebas dan kolesterol. Kolesterol dan hidrogen peroksida diproduksi ketika kolesterol yang terbentuk dioksidasi dengan bantuan kolesterol oksidase. Dengan bantuan enzim peroksidase, hidrogen peroksida yang dihasilkan bergabung dengan fenol dan fenazon 4-amino membentuk quinonimn, yang berwarna merah muda dan diukur dengan fotometer dengan panjang gelombang antara 480 dan 550 nm. Jumlah kolesterol dalam sampel tercermin dalam intensitas warnanya<sup>24</sup>.

## **2.1.2 HDL**

### **2.1.2.1 Definisi**

Kolesterol lipoprotein densitas tinggi (HDL-C) adalah kelompok lipoprotein heterogen yang terlibat dalam pengangkutan sterol dan lipid. HDL-C dianggap sebagai kolesterol baik anti-aterogenik. Pedoman pengelolaan pasien dengan dislipidemia terutama berfokus pada pencapaian target kadar kolesterol lipoprotein densitas rendah (LDL-C) untuk pengurangan risiko penyakit jantung koroner (PJK) (NCEP-ATP III). Namun, ada peningkatan minat pada kolesterol lipoprotein densitas tinggi (HDL-C) sebagai target terapi lini kedua. Telah diketahui dengan baik bahwa konsentrasi HDL-C yang rendah dikaitkan dengan risiko PJK yang lebih tinggi dan

peningkatan konsentrasi dikaitkan dengan penurunan risiko PJK.

#### 2.1.2.2 Metabolisme

Usus dan hati merupakan tempat untuk sintesis HDL. HDL prebeta dibuat selama proses sintesis HDL oleh Apo-AI, protein struktural HDL, yang membawa kolesterol dan fosfolipid dari hepatosit dan enterosit melalui transporter ATP Binding Cassette Subfamily A Member (ABCA1). Jaringan perifer melepaskan kolesterol bebas ke dalam sirkulasi, yang diambil oleh HDL. Apo-I akan bertindak sebagai co-factor untuk Lecithin Cholesterol Acyltransferase (LCAT)<sup>28</sup>.

#### 2.1.2.3 Faktor yang mempengaruhi kadar HDL

##### 1. Faktor genetik

Kondisi *Hiperalphalipoproteinemia Familial Primer* (HALP) merupakan kelainan genetic yang berhubungan dengan peningkatan kadar HDL di dalam tubuh. Kondisi ini di kaitkan dengan adanya mutasi pada gen apo-I yang mengakibatkan produksi yang berlebih.

##### 2. Asupan makanan

Asupan nutrisi spesifik seperti protein, asam folat dan magnesium dikaitkan dengan kadar HDL yang meningkat<sup>29</sup>.

##### 3. Obesitas

BMI yang meningkat dikaitkan dengan kadar HDL yang rendah dan telah dibuktikan dalam beberapa penelitian<sup>30</sup>.

#### 2.1.2.4 Metode pemeriksaan HDL

Konsentrasi HDL plasma atau serum biasanya ditentukan dengan metode presipitasi menggunakan berbagai reagen. Reagen menggunakan heparin, dekstran sulfat, dan natrium fosfotungstat, yang digunakan dengan kation divalent, seperti magnesium, heparin-mangan, atau kalsium. Metode klasik untuk pemisahan subfraksi lipoprotein adalah dengan ultrasentrifugasi densitas gradien. Pada akhirnya, metode yang lebih baik seperti ultrasentrifugasi preparative lebih dikembangkan. Subfraksi HDL juga dapat dinilai berdasarkan ukuran dengan ND-PAGGE atau berdasarkan muatan dan ukuran dengan 2D-PAGGE. Kromatografi cair cepat atau *High Performance Liquid Chromotography* (HPLC) adalah metode lain untuk mengklasifikasikan dan mengatur lipoprotein menurut ukuran partikel. Spektroskopi *Resonance Nuclear Magnetic* (NMR) adalah metode cepat lainnya untuk menilai subkelas HDL yang memancarkan sinyal NMR khas yang muncul dari struktur fisiknya yang unik<sup>25</sup>.

## 2.1.3 LDL

### 2.1.3.1 Definisi

Kolesterol lipoprotein densitas rendah, atau kolesterol LDL, adalah sejenis lemak yang mengalir melalui aliran darah ke berbagai bagian tubuh yang diperlukan untuk perbaikan sel dan kemudian disimpan di dinding arteri. Trigliserida dan kolesterol berikatan dengan protein agar dapat melewati darah hidrofilik karena tidak larut dalam air.

### 2.1.3.2 Metabolisme

Pembawa lipid utama pada manusia, low-density lipoprotein (LDL) menyediakan kolesterol ke jaringan yang membutuhkan konsentrasi sterol tertinggi. Selain itu, LDL adalah lipoprotein yang paling jelas bertanggung jawab terhadap perkembangan plak aterogenik. Orang yang makan banyak kolesterol dan/atau lemak jenuh mungkin memiliki kadar kolesterol LDL yang lebih tinggi dalam darahnya. Selain itu, orang dengan cacat genetik yang mempengaruhi struktur apoprotein LDL, apo B, atau fungsi reseptor LDL (hiperkolesterolemia resesif autosomal, hiperkolesterolemia familial, mutasi PCSK9), serta orang dengan kelainan poligenik yang mempengaruhi metabolisme LDL, memiliki kadar LDL yang lebih tinggi. LDL yang bersirkulasi diambil oleh endotelium yang melapisi dinding arteri, melintasinya, dan disimpan dan terperangkap dalam intima arteri. Di sana, mereka

dapat mengalami oksidasi atau modifikasi biokimia lainnya, diambil oleh makrofag, dan merangsang aterogenesis. Hubungan kolesterol total serum dengan PJK sebagian besar merupakan cerminan dari korelasi kadar kolesterol LDL dengan kolesterol total pada sebagian besar manusia. Studi pada pasien dengan diabetes telah menghasilkan data yang agak bertentangan tentang prevalensi peningkatan kadar LDL, seperti yang didefinisikan oleh norma populasi umum, tetapi bukti yang lebih banyak menunjukkan bahwa penderita diabetes memiliki kadar LDL yang serupa dengan yang terlihat pada kelompok kontrol nondiabetes yang cocok. Mengingat risiko yang lebih besar bagi penderita diabetes untuk mengembangkan penyakit arteri koroner (CAD), pedoman Program Pendidikan Kolesterol Nasional menetapkan kadar LDL di atas 100 mg/dL sebagai hal yang tidak diinginkan pada penderita diabetes. Jika dinilai dari kriteria ketat ini, peningkatan kadar LDL sangat umum terjadi pada pasien diabetes. Selain itu, penderita diabetes sering kali memiliki LDL yang lebih kecil, lebih padat, dan lebih mudah teroksidasi—karakteristik yang terkait dengan peningkatan aterogenisitas.

### 2.1.3.3 Faktor yang mempengaruhi kadar LDL

Berdasarkan data ada tiga variabel yang berdampak pada kadar LDL yaitu: pekerjaan, jumlah konsumsi lemak sehari-hari dan kadar HbA1C

### 2.1.3.4 Metode pemeriksaan LDL

Menggunakan polivinil sulfat atau heparin untuk mengendapkan LDL pada pH rendah, metode pengendapan langsung menentukan konsentrasi LDL dengan membandingkan konsentrasi dalam supernatan dengan kolesterol total. Kami menggunakan metode presipitasi untuk mengukur kadar LDL. Ide dasar metode ini adalah dengan melakukan sentrifugasi HDL dan VLDL pada supernatan setelah menyimpan LDL. Selisih antara kolesterol serum dan supernatan total digunakan untuk menghitung data LDL.

Karena metode presipitasi tidak terpengaruh oleh kenaikan trigliserida, metode ini jauh lebih unggul. Berbeda dengan perhitungan Friedewald, pengujian tetap dapat dilakukan dengan metode presipitasi meskipun kadar TG tinggi. Meskipun kadar kolesterol, TG, dan HDL tidak diuji, metode presipitasi juga dapat mengukur kadar LDL secara langsung. Sehingga metode presipitasi lebih menguntungkan untuk kebutuhan pemeriksaan LDL tunggal<sup>27</sup>.



## 2.1.4 Triglicerida

### 2.1.4.1 Definisi

Molekul trigliserida (TG) terdiri dari tulang punggung gliserol yang diesterifikasi dengan tiga asam lemak. Trigliserida adalah penyusun utama lemak nabati dan hewani dalam makanan, dan merupakan penyusun utama simpanan lemak tubuh. Konsentrasi TG total serum atau plasma dapat ditentukan untuk menilai gangguan metabolisme.

### 2.1.4.2 Metabolisme

Biosintesis TG terdiri dari empat jalur : biosintesis asetil KoA lemak, konversi asetil KoA lemak menjadi asam fosfatidat, konversi asam fosfatidat menjadi diasilgliserol, dan konversi diasilgliserol menjadi triasilgliserol.

### 2.1.4.3 Faktor yang mempengaruhi kadar trigliserida

#### 1. Faktor genetik

Sindrom genetik yang bisa menyebabkan hipertrigliseridemia yaitu *Familial Combined Hyperlipidemia* ( FCHL ), *Distabellipoproteinemia* tipe III dan *familial Hypertrigliceridemia* (FHTG).

#### 2. Obesitas

Pada kondisi obesitas terjadi penurunan aktifitas lipolysis melalui resistensi insulin, yang akhirnya menyebabkan kegagalan pembersihan trigliserida.

### 3. Merokok

Merokok bisa meningkatkan peluang terjadinya dislipidemia terutama pada kelompok trigliserida tinggi.

### 4. Diabetes

Diabetes dihubungkan dengan kadar trigliserida yang meningkat. Mekanisme tersebut disebabkan karena resistensi insulin yang meningkat dan sensitivitas insulin berkurang.

#### 2.1.4.4 Metode pemeriksaan trigliserida

Metode pengujian trigliserida adalah menggunakan metode kolorimetri enzim *Glycerol Peroxidase Phospat Acid* (GPO-PAP). Cara kerja GPO-PAP adalah trigliserida dihidrolisis secara enzimatis oleh lipase tertentu sehingga menghasilkan gliserol dan asam bebas, yang kemudian membentuk kompleks berwarna yang konsentrasinya dapat ditentukan menggunakan spektrofotometer<sup>26</sup>.

## 2.4 Ekstrak Etanol Kulit Salak

### 2.4.1 Definisi

Salah satu tanaman buah populer yang prospek budidayanya menjanjikan adalah tanaman salak. Meskipun asal usul pastinya tidak diketahui, diyakini berasal dari Thailand, Malaysia, atau Indonesia. Ada yang berpendapat bahwa tanaman salak, *Salacca zalacca*, berasal dari Jawa. Benih salak diangkut oleh para pedagang pada masa kolonial dan

dibawa ke seluruh Indonesia, juga ke Filipina, Malaysia, Brunei, dan Thailand.

#### 2.4.2 Taksonomi

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, kedudukan tanaman salak diklsifikasikan sebagai berikut<sup>13</sup> :

- Kingdom : Plantae
- Sub Kingdom : Trachebionta
- Super Divisi : Spermatophyta
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Lilopsida
- Sub Kelas : Arecidae
- Ordo : Arecales
- Famili : Areceae
- Genus : Salacca
- Spesies : Salacca zalacca

#### 2.4.3 Morfologi



Gambar Morfologi Salak<sup>13</sup>

Tanaman salak mempunyai ciri batang berwarna coklat, bulat, dan tegak. Daun majemuk, panjang 50-75 cm, lebar 7-10 cm, berwarna hijau, permukaan bawah seperti lilin, bentuk lanset, ujung runcing, tepi dan pangkal rata, serta bertangkai, helai daun runcing tanpa tangkai. Mekar: tongkol, batang, dan bunga berwarna coklat muda, panjang 7–15 cm. Buahnya berbentuk seperti telur dan sisiknya tersusun rapi. Daging buahnya yang berwarna coklat putih terbagi menjadi dua atau tiga bagian dan berwarna coklat tua. Bijinya berbentuk lonjong atau bulat, keras, dan diameter sekitar 1,5 cm. Warnanya coklat kehitaman. Akarnya berwarna coklat muda dan berserabut.

#### 2.4.4 Komposisi

Indonesia merupakan negara tropis dengan berbagai macam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Buah salak merupakan salah satu tanaman yang dapat ditemukan di Indonesia. Buah salak memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, mulai dari daging, kulit, hingga bijinya. Buah dan kulit salak terbukti mengandung bahan kimia seperti alkaloid, flavonoid, dan tanin setelah dilakukan pengujian fitokimia.

#### 2.4.5 Khasiat

Salah satu tanaman yang memiliki banyak kegunaan adalah salak. Selain daging buahnya, biji dan kulit buah salak juga bisa dimanfaatkan.

## 2.2 MDA

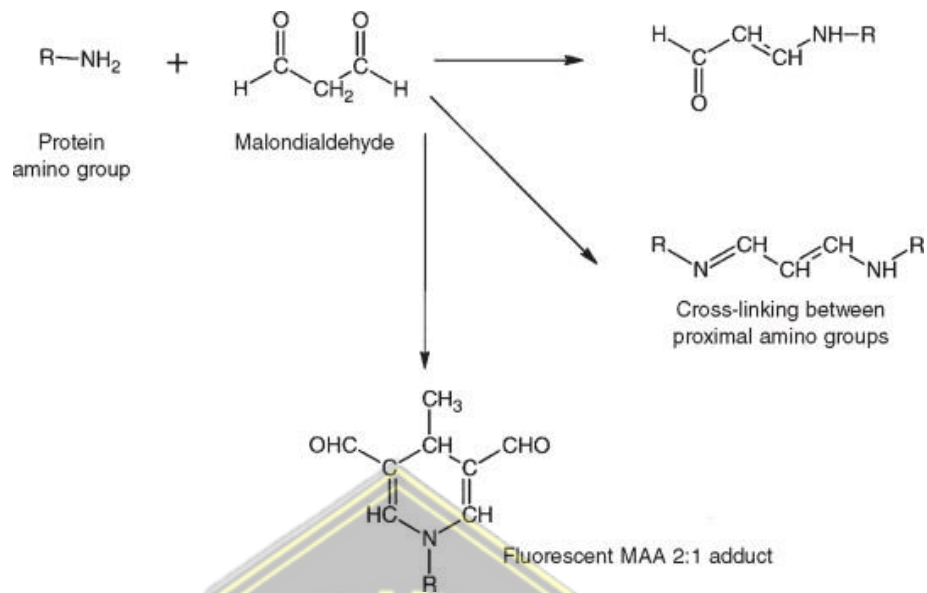
Penyakit pembuluh darah perifer, penyebab utama kesakitan dan kematian secara global, serta serangan jantung dan stroke, semuanya disebabkan oleh dislipidemia. Akumulasi lipid umumnya dianggap sebagai penyebab dan pengganggu jenis peradangan kronis yang menjadi ciri penyakit ini. Faktor risiko terpisah, hiperkolesterolemia dan hipertrigliseridemia, dapat mempercepat perkembangan lesi aterosklerotik dan perkembangan aterosklerosis. Penumpukan sel dengan lipid ekstra di dalam dinding arteri merupakan salah satu tahap awal aterosklerosis. Selain itu, telah terbukti bahwa peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) intraseluler berkontribusi signifikan terhadap reaksi inflamasi kronis yang dipicu oleh aterosklerosis.

Dalam organisme aerobik, spesies oksigen reaktif (ROS) diproduksi selama metabolisme oksidatif mitokondria fisiologis atau fisiopatologis. Fungsi sel dapat terganggu oleh ROS melalui reaksinya dengan berbagai biomolekul, seperti lipid, karbohidrat, protein, asam nukleat, dan makromolekul jaringan ikat. Terdapat keseimbangan antara sistem pertahanan antioksidan dan produksi radikal bebas oksigen selama kondisi fisiologis normal. Stres oksidatif disebabkan oleh penurunan keseimbangan oksidan/antioksidan, yang biasanya disebabkan oleh produksi spesies oksigen reaktif yang berlebihan. Dalam berbagai penyakit manusia, stres oksidatif diketahui menjadi bagian dari jalur kerusakan jaringan molekuler dan seluler. Berbagai senyawa teroksidasi, terutama aldehida seperti malondialdehid (MDA) dan diena terkonjugasi, dihasilkan ketika lipoprotein membran dan

asam lemak tak jenuh ganda diserang oleh radikal bebas. Selain antioksidan non-enzimatik, enzim seperti glutathione peroksidase (GSH-Px) dan superoksida dismutase (SOD) penting dalam mencegah kerusakan jaringan akibat pembentukan radikal bebas. Sejumlah penelitian telah mengungkapkan bahwa MDA serum menurun setelah suplementasi makanan dengan antioksidan dan meningkat pada individu dengan hiperlipidemia<sup>11</sup>.

Saat ini, MDA berfungsi sebagai indikator stres oksidatif yang dapat diandalkan, hasil paling konsisten dari peroksidasi lipid in vivo. Sebagai indikator klinis peroksidasi lipid, MDA telah digunakan secara luas di banyak bidang dan telah berkontribusi pada pemahaman peningkatan stres oksidatif pada berbagai penyakit. Meski hampir semua cairan biologis mengandung MDA, darah dan urin adalah yang paling sering digunakan sebagai sampel penelitian.

Mengukur MDA memiliki keunggulan dibandingkan produk peroksidasi lipid lainnya karena metode ini lebih murah dan menggunakan bahan yang lebih mudah didapat. MDA merupakan biomarker yang sangat tepat untuk stres oksidatif karena sejumlah alasan: MDA merupakan produk sampingan spesifik dari peroksidasi lipid dan dapat dideteksi di seluruh jaringan tubuh dan cairan biologis; dapat diukur secara akurat dengan menggunakan berbagai metode yang tersedia; itu stabil dalam sampel cairan tubuh yang terisolasi; hal ini tidak dipengaruhi oleh variasi diurnal atau kandungan lemak dari makanan; dan terdapat dalam jumlah yang dapat dideteksi di seluruh jaringan tubuh dan cairan biologis.



Gambar 2.1 Struktur Malondialdehid<sup>12</sup>

Metode TBRAS (zat reaktif asam tiobarbiturat) digunakan untuk mengukur kadar MDA. Metode ini mengukur reaksi basa antara MDA dan asam tiobarbiturat menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm.

## 2.3 IL-6

### 2.3.1 Definisi

Sitokin pro-inflamasi seperti interleukin-6 terlibat dalam pematangan dan aktivasi neutrofil, pematangan makrofag, dan diferensiasi limfosit T NK dan sitotoksik. Salah satu mediator paling signifikan dan awal dalam induksi dan regulasi sintesis protein fase akut setelah trauma, infeksi, pembedahan, atau infeksi adalah IL-6. Setelah kejadian cedera, konsentrasi plasma IL-6 bisa dideteksi dalam waktu 60 menit dengan konsentrasi puncak antara 4 sampai 6 jam, dan bertahan

hingga 10 hari. IL 6 dianggap relevan sebagai marker dari derajat kerusakan sel dalam proses inflamasi.

IL-6 dinilai sebagai sitokin yang memiliki banyak fungsi. IL-6 berefek pada sel target dengan mengikat reseptor membrane yang spesifik IL-6 ( IL-6R), yang mengaktifkan glikoprotein transduser 130 (gp130), sub unit dari kelompok IL-6R. Sel yang tidak terikat membrane IL-6R, masih dapat bereaksi terhadap IL-6 ketika IL-6 terikat dalam bentuk IL-6R yang terlarut IL-6/ kompleks IL-6R terlarut mengaktifkan gp 130, yang diekspresikan pada sebagian besar sel-sel<sup>10</sup>.

### 2.3.2 Inflamasi

Ketika tubuh mengalami infeksi atau cedera maka akan terjadi proses inflamasi yang tentunya melibatkan mediator inflamasi. Inflamasi merupakan hal wajar terjadi ketika tubuh seseorang mengalami proses infeksi atau cedera jaringan. Inflamasi meliputi proses lokal, sistemik, akut dan kronis. Ciri inflamasi yaitu tumor, rubor, calor, dan terjadi gangguan fungsi. Tanda pertama peradangan adalah pelepasan kemokin dari jaringan yang mengalami stres, termasuk faktor migrasi Macrophage Inhibition Factor (MIF) dan monocyte chemoattractant protein (MCP)-1. Peradangan mempengaruhi jaringan adiposa dan endotel vaskular pada kondisi terkait dislipidemia. Faktor Uni akan menarik monosit dan sel imun ke jaringan inflamasi dengan meningkatkan regulasi ekspresi seleksi-E dan molekul adhesi seluler interstitial dan vaskular (ICAM-1, VCAM-



1). Proliferasi yang didorong oleh kemokin dan aktivasi gen proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, IL18, interferon (IFN), dan lainnya menjadi ciri proses selanjutnya. Produk akhir glikasi lanjutan (AGEs), lipid teroksidasi, NO, peningkatan angiotensin II, asam lemak bebas, dan ROS merupakan faktor tambahan yang dapat memicu stimulasi ekspresi gen. Melalui peningkatan ekspresi Plasminogen Activator Inhibitor (PAI-1) dan faktor jaringan melalui aktivasi trombosit, baik sel endotel maupun makrofag berkontribusi pada pembentukan perubahan vasoreaktivitas dan keadaan prokoagulan. Reaksi fase akut yang meningkatkan faktor koagulasi adalah fibrinogen dan faktor VIII. Secara klinis dikenal sebagai penanda peradangan, produksi CRP dirangsang secara signifikan oleh IL-6<sup>10</sup>.

### 2.3.3 Proses inflamasi pada dislipidemia

Peradangan menyebabkan perubahan metabolisme lipid yang ditujukan untuk mengurangi toksisitas berbagai agen berbahaya dan perbaikan jaringan dengan mendistribusikan nutrisi ke sel-sel yang terlibat dalam pertahanan inang. Respons fase akut, dimediasi oleh sitokin, melindungi pejamu dari cedera akut. Ketika peradangan ini menjadi kronis, hal itu dapat menyebabkan gangguan kronis seperti aterosklerosis dan sindrom metabolik. Aktivasi kaskade inflamasi akan menginduksi penurunan kolesterol HDL (HDL-C), dengan gangguan pada transpor kolesterol terbalik, dan perubahan paralel pada apolipoprotein, enzim, kapasitas anti-oksidan, dan penghabisan yang

bergantung pada kaset pengikat ATP A1. Penurunan HDL-C dan fosfolipid ini dapat merangsang perubahan kompensasi, seperti sintesis dan akumulasi VLDL yang kaya fosfolipid yang mengikat produk bakteri dan zat beracun lainnya, yang mengakibatkan hipertrigliseridemia. Konsekuensi terakhir adalah peningkatan akumulasi kolesterol dalam sel. Ketika respon kompensasi (peradangan) tidak mampu memperbaiki cedera, itu berubah menjadi reaksi berbahaya, dan perubahan lipid akan menjadi kronis, baik dengan rangsangan berulang atau berlebihan, meningkatkan pembentukan lesi aterosklerotik. Dengan demikian, perubahan lipid klasik yang terkait dengan sindrom metabolik (peningkatan trigliserida dan penurunan HDL-C) dapat dilihat sebagai respons evolusioner yang sangat kekal yang ditujukan untuk perbaikan jaringan. Di bawah asumsi ini, masalahnya bukan pada respons tetapi kegigihan stimulus.

Tingkat penanda proinflamasi serum—interleukin-6, monosit chemoattractant protein-1, dan tumor necrosis factor- $\alpha$ —dideteksi dengan menggunakan enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (MultiSciences Biotech Co., Ltd.) menurut protokol pabrikan. Seperti yang disarankan oleh kit ELISA, campuran 50  $\mu$ l sampel serum, standar encer dua kali lipat, dan antibodi pendeteksi encer diinkubasi pada suhu kamar selama 1 jam dan 45 menit pada pengocok pelat mikro yang diatur pada 300 rpm. Setelah dicuci dengan hati-hati, ditambahkan 100  $\mu$ l streptavidin-horseradish peroxidase yang telah diencerkan.

Kemudian, perkembangan progresif kompleks berwarna pada pelat dihasilkan dengan menggunakan larutan substrat. Intensitas kompleks warna yang dihasilkan berbanding lurus dengan konsentrasi penanda dalam sampel.

## 2.5 Dislipidemia

### 2.5.1 Definisi

Gangguan metabolisme lipid yang disebut dislipidemia diidentifikasi melalui variasi jumlah fraksi lipid dalam plasma. Peningkatan kolesterol total (K-Total), kolesterol LDL, dan/atau trigliserida (TG) dan penurunan kolesterol HDL merupakan kelainan fraksi lipid primer<sup>14,15</sup>.

Lipid adalah zat lemak yang memerlukan pengikatan pada molekul protein, disebut juga apolipoprotein, sering disingkat menjadi "apo", agar molekul lipid dapat larut dalam darah. Lipoprotein adalah molekul lipid yang mengandung apolipoprotein. Tergantung dari kandungan lipid dan jenis apolipoprotein yang terkandung maka dikenal lima jenis lipoprotein yaitu kilomikron, *very low density lipoprotein* (VLDL), *intermediate density lipoprotein* (IDL), *low density lipoprotein* (LDL), dan *high density lipoprotein* (HDL).

Jenis Lipoprotein	Jenis Apoprotein	Kandungan Lipid (%)		
		Trigliserida	Kolesterol	Fosfolipid
Kilomikron	Apo-B48	80-95	2-7	3-9
VLDL	Apo-B100	55-80	5-15	10-20
IDL	Apo-B100	20-50	20-40	15-25

LDL	Apo-B100	5-15	40-50	20-25
HDL	Apo-AI dan Apo-AII	5-10	15-25	20-30

Tabel 2.1 Jenis Lipoprotein, apoprotein, dan kandungan lipid<sup>35</sup>

K-LDL mengandung 60–70% dari total kolesterol serum, dan mengandung apolipoprotein yang dikenal sebagai apo B-100 (apo B). Target utama penanganan dislipidemia adalah kolesterol low-density lipoprotein (LDL), yang merupakan lipoprotein aterogenik utama. 20–30% kolesterol serum terdiri dari kolesterol HDL, dan apo-A-1 dan apo-A-II adalah dua apolipoprotein utama. Terdapat bukti yang mendukung klaim bahwa K-HDL mencegah aterosklerosis.

Parameter	Nilai Rujukan
Kolesterol Total ( mg/dl )	
• Diinginkan	< 200
• Sedikit tinggi (borderline)	200-239
• Tinggi	≥ 240
Kolesterol LDL ( mg/dl )	
• Optimal	< 100
• Mendekati optimal	100-129
• Sedikit tinggi (borderline)	130-159
• Tinggi	160-189
• Sangat Tinggi	≥ 190
Kolesterol HDL ( mg/dl )	
• Rendah	< 40
• Tinggi	≥60
Trigliserida ( mg/dl )	
• Normal	< 150
• Sedikit Tinggi (borderline)	( 150-199 200-499
• Tinggi	≥500
• Sangat tinggi	

Tabel 2.2 Klasifikasi kadar lipid plasma<sup>16,17</sup>

### 2.5.2 Metabolisme Lipid

Ketika hati melepaskan VLDL yang belum matang, atau VLDL yang baru lahir, proses metabolisme lipid dimulai. Apo-B100, apo-E, apo C1, ester kolesterol, kolesterol, dan trigliserida semuanya terdapat dalam VLDL yang baru lahir. VLDL yang belum matang dalam aliran darah akan terpapar apo C II yang berasal dari K-HDL dan menjadikan VLDL tersebut matang. Enzim lipoprotein lipase (LPL) pada kapiler permukaan otot rangka, otot jantung, dan jaringan lemak kemudian akan berinteraksi dengan VLDL matang. Trigliserida, yang digunakan sebagai sumber energi atau disimpan sebagai cadangan energi di jaringan, akan diekstraksi dari VLDL sebagai hasil interaksi ini. Setelah apo CII dikembalikan ke K-HDL, VLDL dan K-HDL akan berinteraksi kembali dan melalui proses pertukaran trigliserida dengan ester kolesterol. Enzim cholesteryester transfer protein (CETP) memediasi pertukaran ini. Kadar trigliserida dari VLDL menurun akibat proses pertukaran ini sehingga berubah bentuk menjadi IDL. Apo B-100 dan apo E akan mengikat sekitar setengah dari IDL, menyebabkan hati memulai proses endositosisnya. Apalagi IDL tersebut akan berubah menjadi K-LDL karena sisa IDL yang tidak mengalami endostosis tidak mengandung trigliserida atau Apo E. Apo B-100 yang ada dalam partikel K-LDL berfungsi sebagai ligan, memungkinkan reseptor

LDL (LDLR), yang didistribusikan secara luas di hepatosit, untuk mengenali dan mengikat partikel tersebut<sup>18,19</sup>.

### 2.5.3 Klasifikasi dislipidemia

Banyak faktor genetik dan lingkungan mempengaruhi kadar kolesterol. Selain itu, hiperkolesterolemia sering kali ditemukan sebagai efek samping dari penyakit tertentu<sup>20</sup>.

Meskipun terdapat banyak klasifikasi berbeda untuk dislipidemia dalam literatur, dislipidemia primer dan sekunder adalah dua kategori yang paling banyak digunakan. Dislipidemia akibat kondisi medis yang mendasari disebut sebagai dislipidemia sekunder. Saat memutuskan rencana pengobatan yang akan diikuti, pembagian ini sangat penting.

#### **Dislipidemia Primer**

Dislipidemia yang disebabkan oleh kelainan genetik disebut dengan dislipidemia primer. Individu dengan dislipidemia gabungan familial dan dislipidemia akibat hiperkolesterolemia poligonik. Hipertrigliseridemia primer, dislipidemia sisa, dan hiperkolesterolemia familial merupakan penyebab utama dislipidemia berat<sup>21</sup>.

#### **Dislipidemia Sekunder**

Adalah dislipidemia yang disebabkan oleh kondisi lain seperti sindrom metabolik, sindrom nefrotik, hipotiroidisme, dan diabetes

mellitus. Cara mengatasinya adalah dengan mengatasi akar permasalahannya<sup>22,23</sup>.

#### 2.5.4 Gejala dan keluhan dislipidemia

Biasanya, dislipidemia tidak muncul dengan gejala atau keluhan klinis apa pun. Manifestasi klinis yang ditimbulkan biasanya berupa komplikasi terkait dislipidemia, seperti penyakit jantung koroner dan stroke. Kadar trigliserida yang meningkat secara berlebihan dapat mengakibatkan pembuluh darah retina berwarna krem (lipidemia retinalis), plasma darah seperti susu, hepatosplenomegali, parastesia, sesak napas, dan gangguan kesadaran. Pasien yang memiliki kadar low-density lipoprotein (LDL) yang sangat tinggi dapat mengalami arcus kornea, xanthomas di area tendon achile, siku, dan lutut, serta xanthelasma di kelopak mata.

#### 2.1 Hubungan Dislipidemia terhadap Produksi Radikal Bebas

Secara global, aterosklerosis merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas. Ini adalah penyebab utama penyakit pembuluh darah perifer, serangan jantung, dan stroke. Akumulasi lipid umumnya dianggap sebagai penyebab dan pengganggu jenis peradangan kronis yang menjadi ciri penyakit ini. Faktor risiko terpisah, hiperkolesterolemia dan hipertrigliseridemia, dapat mempercepat perkembangan lesi aterosklerotik dan perkembangan aterosklerosis. Penumpukan sel dengan lipid ekstra di dalam dinding arteri merupakan salah satu tahap awal aterosklerosis. Selain itu, telah terbukti bahwa

peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) intraseluler berkontribusi signifikan terhadap reaksi inflamasi kronis yang dipicu oleh aterosklerosis.

Dalam organisme aerobik, spesies oksigen reaktif (ROS) diproduksi selama metabolisme oksidatif mitokondria fisiologis atau fisiopatologis. Fungsi sel dapat terganggu oleh ROS melalui reaksinya dengan berbagai biomolekul, seperti lipid, karbohidrat, protein, asam nukleat, dan makromolekul jaringan ikat. Terdapat keseimbangan antara sistem pertahanan antioksidan dan produksi radikal bebas oksigen selama kondisi fisiologis normal. Stres oksidatif disebabkan oleh penurunan keseimbangan oksidan/antioksidan, yang biasanya disebabkan oleh produksi spesies oksigen reaktif yang berlebihan. Dalam berbagai penyakit manusia, stres oksidatif diketahui menjadi bagian dari jalur kerusakan jaringan molekuler dan seluler. Berbagai senyawa teroksidasi, terutama aldehida seperti malondialdehid (MDA) dan diena terkonjugasi, dihasilkan ketika lipoprotein membran dan asam lemak tak jenuh ganda diserang oleh radikal bebas. Selain antioksidan non-enzimatik, enzim seperti glutathione peroksidase (GSH-Px) dan superoksida dismutase (SOD) penting dalam mencegah kerusakan jaringan akibat pembentukan radikal bebas. Sejumlah penelitian telah mengungkapkan bahwa MDA serum menurun setelah suplementasi makanan dengan antioksidan dan meningkat pada individu dengan hiperlipidemia. Temuan serupa telah didokumentasikan pada model hiperlipidemia hewan<sup>31</sup>.



## 2.6 Mekanisme Antioksidan terhadap Radikal Bebas

Antioksidan adalah molekul yang cukup stabil untuk melepaskan elektron dari radikal bebas dan menetralsirnya, sehingga membatasi kerusakan yang ditimbulkannya. Mekanisme utama antioksidan ini mencegah atau menunda kerusakan sel adalah dengan menangkal radikal bebas. Dengan berinteraksi secara aman dengan radikal bebas, antioksidan dengan berat molekul rendah ini dapat menghentikan reaksi berantai sebelum molekul penting dirusak. Glutathione, ubiquinol, dan asam urat adalah beberapa antioksidan yang diproduksi tubuh secara alami selama metabolisme teratur. Makanan mengandung antioksidan tambahan yang kurang kuat. Meskipun tubuh memiliki banyak sistem enzim yang menetralsir radikal bebas, vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol), vitamin C (asam askorbat), dan beta-karoten adalah mikronutrien antioksidan utama. Zat gizi mikro ini harus berasal dari makanan karena tubuh tidak mampu memproduksinya.

Antioksidan telah dikaitkan dengan dua mekanisme aksi utama. Yang pertama adalah mekanisme pemutusan rantai, di mana sistem radikal bebas menerima elektron dari antioksidan utama. Mekanisme kedua adalah pemadaman katalis penginisiasi rantai, yang menghilangkan penggagas ROS/spesies nitrogen reaktif (antioksidan sekunder). Melalui berbagai proses, seperti donasi elektron, khelasi ion logam, ko-antioksidasi, atau regulasi ekspresi gen, antioksidan dapat mempengaruhi sistem biologis.

Antioksidan berfungsi dalam sistem pertahanan dalam berbagai cara, termasuk perbaikan de novo, pembasmian radikal, pencegahan, dan adaptasi, yang merupakan garis pertahanan keempat.

Antioksidan preventif, yang menghambat produksi radikal bebas, adalah garis pertahanan pertama. Meskipun proses dan lokasi pembentukan radikal secara in vivo masih kurang dipahami, salah satu sumber utama pembentukan radikal adalah penguraian hidroperoksida dan hidrogen peroksida yang disebabkan oleh logam. Antioksidan tertentu mencegah produksi radikal bebas dengan mereduksi hidroperoksida dan hidrogen peroksida terlebih dahulu menjadi alkohol dan air, dan protein tertentu menyerap ion logam untuk menghentikan reaksi tersebut. Hidroperoksida lipid diketahui dipecah menjadi alkohol yang sesuai oleh glutathione peroksidase, glutathione-s-transferase, fosfolipid hidroperoksida glutathione peroksidase (PHGPX), dan peroksidase. Kemampuan PHGPX untuk menurunkan hidroperoksida fosfolipid yang terintegrasi ke dalam biomembran menjadikannya istimewa. Hidrogen peroksida direduksi menjadi air oleh katalase dan glutathione peroksidase.

Antioksidan, yang mengais radikal aktif untuk menghambat inisiasi rantai dan/atau menghentikan reaksi penyebaran rantai, merupakan garis pertahanan kedua. Ada beberapa antioksidan endogen yang diketahui mampu menangkap radikal; beberapa bersifat lipofilik, sementara yang lain bersifat hidrofilik. Vitamin E dan ubiquinol merupakan antioksidan pemulung radikal lipofilik, sedangkan vitamin C, asam urat, bilirubin, albumin, dan tiol merupakan antioksidan hidrofilik dan pemulung radikal. Diakui secara luas

bahwa vitamin E adalah antioksidan lipofilik paling ampuh yang menangkal radikal.

Antioksidan dan perbaikan *de novo* berfungsi sebagai garis pertahanan ketiga. Sitosol dan mitokondria sel mamalia mengandung enzim proteolitik, seperti proteinase, protease, dan peptidase, yang mengidentifikasi, memecah, dan menghilangkan protein yang dimodifikasi secara oksidatif sekaligus mencegah penumpukan protein teroksidasi.

Seluruh mekanisme pertahanan terhadap kerusakan oksidatif sangat bergantung pada sistem perbaikan DNA. Enzim yang memperbaiki DNA yang rusak antara lain nuklease dan glikosilase. Fungsi penting lainnya disebut adaptasi, yaitu proses dimana sinyal pembentukan dan respons radikal bebas menyebabkan antioksidan yang tepat terbentuk dan diangkut ke lokasi yang tepat.

## **2.7 Manfaat salak terhadap mikrobiota usus**

Ada sekitar empat triliun bakteri di usus, menjadikannya salah satu organ limfoid terbesar di tubuh. Mikrobiota usus adalah komunitas bakteri seberat 1-2 kg yang mengkode setidaknya lima juta gen. Itu terdiri dari 2000 spesies berbeda. Gen yang dikodekan oleh mikroba dalam tubuh manusia disebut sebagai mikrobioma, dan bersama-sama mereka membentuk mikrobiota. Komunitas rumit ini, yang berinteraksi dengan inangnya dan satu sama lain serta dengan taksa dari seluruh pohon kehidupan, eukariota, bakteri, virus, dan setidaknya satu archaeon, mempunyai dampak signifikan terhadap fisiologi dan kesehatan manusia. Lima filum bakteri—Firmicutes, Actinobacteria (gram

positif), Bacteroidetes (gram negatif), Proteobacteria, dan Verrucomicrobia—mendominasi mikrobiota usus manusia. Firmicutes adalah filum yang paling umum pada manusia dan tikus, mencakup 60–80% dari seluruh genera (yang mana Ruminococcus, Clostridium, dan Lactobacillus adalah yang paling signifikan); Bacteroidetes, yang mencakup 20-30% dari seluruh genera dan terutama terdiri dari Bacteroides, Prevotella, dan Xylanibacter; dan Actinobacteria, yang merupakan 10% sisanya (kebanyakan dari genus Bifidobacterium). Yang kurang umum adalah protobakteri seperti Escherichia dan Enterobacteriaceae. Usia, jenis kelamin, lokasi, etnis, keluarga, dan pola makan semuanya mempengaruhi komposisi mikrobiota usus, yang juga dapat dipengaruhi oleh prebiotik, probiotik, dan antibiotik.

Bahan kimia atau zat lain yang dikenal sebagai antioksidan berinteraksi dengan radikal bebas dan menjadikannya tidak aktif, sehingga mencegah terjadinya kerusakan. Menghilangkan aktivitas radikal bebas merupakan langkah pertama yang penting dalam pengobatan penyakit. Salacca zalacca dapat membantu mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh stres oksidatif, yang disebabkan oleh pembentukan radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas pertama kali diproduksi oleh tubuh selama kondisi aerobik sebagai produk sampingan dari reaksi biokimia, terutama sebagai sinyal untuk memulai kematian sel terprogram, atau apoptosis, untuk menjaga keseimbangan organisme. Produksi radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh dapat menyebabkan terganggunya regulasi dan aktivitas sel serta kerusakan DNA. Antioksidan seperti vitamin, polifenol, bioflavonoid, karotenoid, superoksida

dismutase, glutathione, dan glutathione reduktase, dapat mencegah radikal bebas berlebihan. Dengan mengurangi oksidasi, mereka dapat menunda penuaan dan mencegah penyakit yang berkaitan dengan usia. Melalui aktivitas antioksidannya, tanaman obat dan komponennya berkontribusi signifikan terhadap pencegahan atau netralisasi radikal bebas. Karakteristik redoks senyawa fenolik, yang berperan penting dalam menyerap dan menetralkan radikal bebas, meningkatkan aktivitas antioksidannya.

## 2.8 Penggunaan Tikus sebagai Hewan Coba

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan percobaan karena mudah diperoleh dalam jumlah banyak, responsive, dan relative murah. Sebanyak 40 % penelitian telah menggunakan tikus sebagai model laboratorium. Tikus umumnya sering digunakan dalam penelitian laboratorium yang melibatkan bidang fisiologi, histopatologi, dan psikiatri. Tikus banyak digunakan sebagai hewan percobaan karena memiliki keunggulan seperti siklus hidup yang relative singkat, jumlah keturunan yang banyak per kelahiran, kemudahan penanganan, ciri-ciri reproduksi yang mirip dengan mamalia lain, serta struktur anatomis, fisiologis, dan genetic mirip dengan manusia<sup>9</sup>.

**BAB III**  
**KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP**  
**DAN HIPOTESIS**

**3.1 Kerangka Teori**

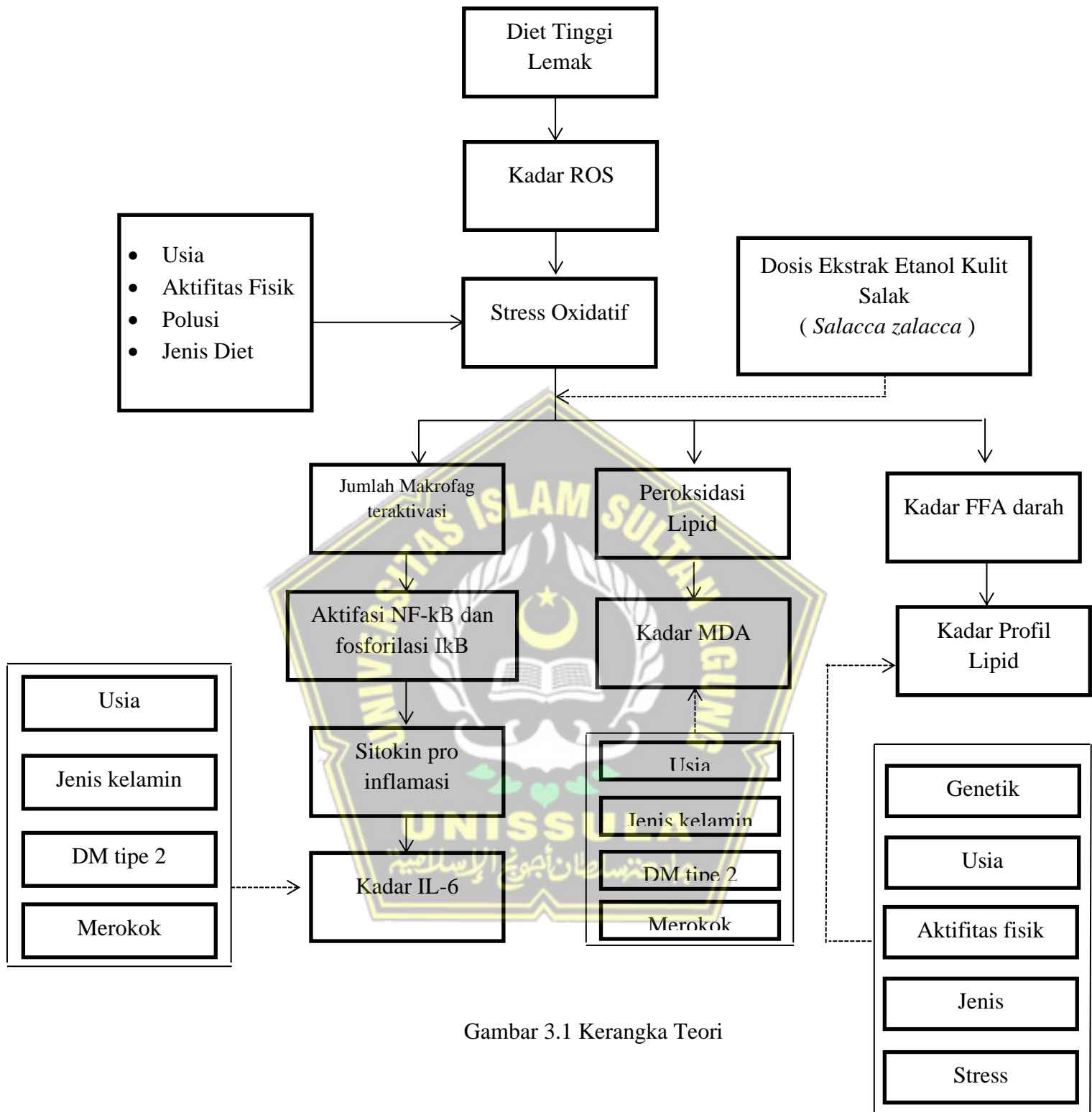
Dislipidemia ialah gangguan metabolisme lipid yang lama kelamaan dapat menyebabkan kondisi inflamasi pada tubuh. Hal ini akan berakibat pada gangguan fungsi sel serta mempengaruhi fungsi sistem organ. Kondisi inflamasi pada dislipidemia menyebabkan tubuh lebih banyak memproduksi radikal bebas. Spesies reaktif tercipta ketika radikal bebas ini bergabung dengan oksigen reaktif (ROS).

Stres oksidatif ialah akibat dari ketidakseimbangan produksi antioksidan dan radikal bebas dalam tubuh. Peroksidasi lipid disebabkan oleh stres oksidatif<sup>32</sup>. Peroksidasi lipid, yang disebabkan oleh radikal bebas, akhirnya berubah menjadi *malondialdehyde* (MDA) di dalam darah. MDA adalah tanda kerusakan sel akibat radikal bebas<sup>33</sup>. Antioksidan dari luar tubuh sangat penting karena terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan yang dihasilkan pada kondisi dislipidemia.

Saat terjadi overnutrition akan terjadi lipogenesis sehingga terjadi ketidakseimbangan antara akumulasi lipid yang berlebih dengan vaskular yang mengakibatkan sel mengalami hipoksik dalam jangka waktu lama. Hasil akhir dari keadaan ini adalah produksi ROS meningkat dan terjadi stress pada DNA yang akan menginduksi jalur NF-kB lalu sel akan melepaskan sitokin pro inflamasi lebih banyak.

Dislipidemia membuat tubuh lebih banyak memproduksi radikal bebas yang akan masuk ke jaringan lalu mengaktifasi makrofag. Kondisi ini menyebabkan inhibitor NF-kB menjadi terfosforilasi dan teraktivasi. Selanjutnya, inhibitor NF-kB dipecah oleh protease, memungkinkan NF-kB menempel pada gen targetnya dan memicu transkripsi gen yang terkait dengan peradangan pada sel. Makrofag bereaksi terhadap peningkatan aktivasi NF-kB dengan menghasilkan peradangan<sup>34</sup>. Saat proses ini berlangsung, sitokin IL-6 muncul terlebih dahulu.

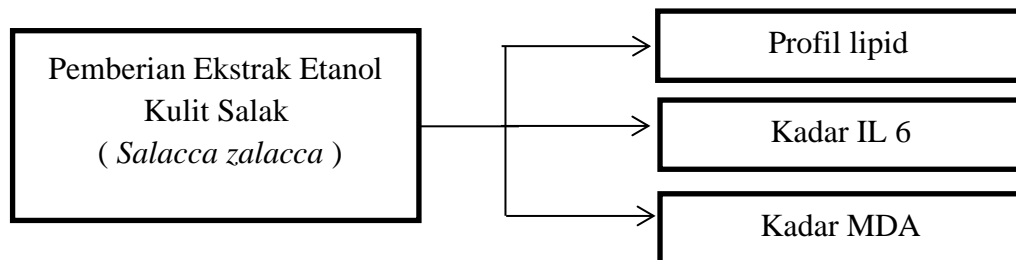
Sebagai antioksidan, flavonoid mempunyai kemampuan menstabilkan spesies oksigen reaktif (ROS) dengan cara bereaksi dengan senyawa reaktif turunan radikal, sehingga menurunkan stres oksidatif dan peroksidasi lipid. Berkurangnya ROS juga mencegah aktivasi inhibitor fosforilasi NF-kB dan NF-kB, yang menyebabkan makrofag memproduksi lebih sedikit IL-6. Kerusakan jaringan dan peradangan dapat dikurangi dengan menurunkan peroksidasi lipid dan IL-6. Perlawanan utama terhadap stress oksidatif ini dapat dicapai dengan pemberian antioksidan. Antioksidan dari luar tubuh, seperti ekstrak etanol kulit buah salak yang mengandung antioksidan seperti polifenol, flavanol, asam askorbat, flavonoid, dan tinin, mampu menangkal peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS) yang terjadi pada penderita dislipidemia.



Gambar 3.1 Kerangka Teori



### 3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka konsep

### 3.3 Hipotesis

Pemberian ekstrak etanol kulit salak berpengaruh terhadap profil lipid, IL-6 dan MDA serum pada tikus jantan galur *wistar* yang diinduksi diet tinggi lemak.

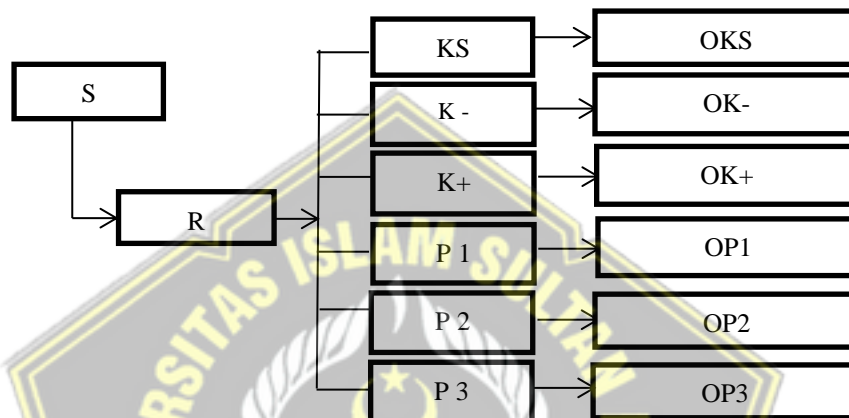


## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis Penelitian

Jenis riset ini ialah Experimental memiliki rancangan riset *Post Test Only Control Group Design*. Design riset ini disajikan dalam gambar 4.1.



Gambar 4.1 Desain Penelitian

Keterangan:

S : Subyek penelitian

R : Randomisasi menjadi 5 kelompok

KS : Kelompok kontrol sehat → kelompok perlakuan dengan pemberian pakan normal

K - : Kelompok kontrol negatif → kelompok perlakuan dengan pemberian diet pakan tinggi lemak tanpa intervensi

K+ : Kelompok kontrol positif → kelompok perlakuan dengan pemberian diet pakan tinggi lemak yang diintervensi dengan simvastatin dosis 0,18 mg/hari secara oral.

- P 1 : Kelompok uji perlakuan, tikus diberi pakan standart + diet tinggi lemak + aquades selama 14 hari dan pemberian ekstrak etanol kulit salak dosis 60 mg/ 200 gram BB tikus selama 14 hari
- P 2 : Kelompok uji perlakuan, tikus diberi pakan standart + diet tinggi lemak + aquades selama 14 hari dan pemberian ekstrak etanol kulit salak dosis 120 mg/ 200 gram BB tikus selama 14 hari
- P 3 : Kelompok uji perlakuan, tikus diberi pakan standart + diet tinggi lemak + aquades selama 14 hari dan pemberian ekstrak etanol kulit salak dosis 240/ 200 gram BB tikus mg selama 14 hari
- OKS : Observasi/pengukuran kadar profil lipid, IL-6 dan MDA serum pada kelompok 1
- OK- : Observasi/pengukuran kadar profil lipid, IL-6 dan MDA serum pada kelompok 2
- OK+ : Observasi/pengukuran kadar profil lipid, IL-6 dan MDA serum pada kelompok 3
- OP1 : Observasi/pengukuran kadar profil lipid, IL-6 dan MDA serum pada kelompok 4
- OP2 : Observasi/pengukuran kadar profil lipid, IL-6 dan MDA serum pada kelompok 5
- OP3 : Observasi/pengukuran kadar profil lipid, IL-6 dan MDA serum pada kelompok 6

## 4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

### 4.2.1 Populasi

Populasi riset ini ialah tikus jantan galur *wistar* berumur 8 minggu yang didapat dari laboratorium IBL FK Unissula.

### 4.2.2 Sampel

Besar sampel minimal untuk binatang coba dihitung dengan rumus besar sampel berikut :

$$n = DF/k + 1$$

Keterangan:

n = Jumlah sampel

DF = *degrees of freedom* ( untuk uji beda > 2 kelompok tidak berpasangan ), nilai DF yang direkomendasikan adalah 10-20

k = Jumlah kelompok uji ( 6 kelompok )

Enam tikus dipergunakan dalam riset ini sebagai sampel atau kelompok perlakuan, dan satu tikus ditambahkan ke setiap kelompok untuk memperkirakan kemungkinan *droup out*. Jumlah sampel dalam riset ini ialah 36 ekor tikus *Wistar* jantan<sup>39</sup>.

### 4.2.3 Teknik Sampling

Pengambilan sampel dalam penelitian ini mempergunakan metode *simple random sampling*.

#### 4.2.3.1 Kriteria Inklusi

- Berat badan 150-200 gram
- Kondisi Sehat ( aktif dan tidak cacat )

#### 4.2.3.2 Kriteria Eksklusi / *Droup Out*

Tikus sakit atau mati selama masa penelitian.

### 4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Penelitian

##### 4.3.1.1 Variabel Bebas

Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Salak (*Salacca zalacca*) dosis 60, 120 dan 240 mg/200 gram BB tikus.

##### 4.3.1.2 Variabel Tergantung

- Kadar Profil Lipid yang terdiri dari : Kadar kolesterol total, HDL, LDL, Trigliserdia
- Kadar IL-6
- Kadar MDA

##### 4.3.1.3 Variabel prakondisi

Diet pakan tinggi lemak diberikan pakan standart dan usap lambung. Komposisi pakan tinggi lemak terdiri dari pakan standart : kuning telur puyuh.

#### 4.3.2 Definisi Operasional

##### 4.3.2.1 Ekstrak Etanol Kulit Salak

Pembuatan ekstrak kulit salak melalui metode maserasi berulang, yaitu menimbang kulit salak yang telah diblender hingga berat sekitar 150 gram, kemudian diekstraksi menggunakan 900 ml larutan etanol 70% dengan cara direndam selama kurang lebih lima hari. Ekstrak kemudian disaring melalui

kertas saring (hasil saring pertama). Bahan sisa kemudian diekstraksi kembali dengan 600 ml etanol 70% selama dua hari, dan kali ini disaring melalui hasil filter kedua. Langkah pertama yaitu mengumpulkan larutan yang dihasilkan oleh filter pertama dan kedua, menguapkannya dalam evaporator vakum bersuhu 70<sup>0</sup>C hingga volumenya hanya seperempat dari volume awalnya, kemudian dikeringkan kembali dalam oven bersuhu 40<sup>0</sup>C hingga diperoleh ekstrak kental. terbentuk. Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 4,86 gram dibagi menjadi tiga konsentrasi yaitu 200 mg/kgbb, 400 mg/kgbb, dan 600 mg/kgbb.

Skala: Rasio

#### 4.3.2.2 Kadar Profil Lipid

Kadar kolesterol total, HDL, LDL, dan trigliserida dalam darah hewan coba diukur dengan metode *Colorimetric Enzimatic Test* dengan memanfaatkan alat *Automatic Analyze* merk *Shimatzu*. Hasilnya dinyatakan dalam satuan mg/dl, dan ahli teknis di Laboratorium IBL FK Unissula memverifikasi pengukuran tersebut.

Skala : Rasio

#### 4.3.2.3 Kadar IL-6

Pada hari ke 35 dijalankan pemeriksaan IL-6. Sampel darah diperoleh, dan setiap tikus menerima 0,2 ml serum. Kadar IL-6 kemudian diukur menggunakan kit katalog Bioenzy merk BZ-

08185310-EB, dan diukur menggunakan metode pembaca ELISA. ng/ml adalah satuan yang digunakan untuk kadar IL 6.

Skala: rasio

#### 4.3.2.4 Kadar MDA

Stres oksidatif ditunjukkan atau ditandai dengan *malondialdehyde* (MDA). Peroksidasi lipid, atau interaksi asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) dan radikal bebas (radikal hidroksi) dalam membran sel, merupakan sumber MDA. Pada hari ke 35, metode TBRAS digunakan untuk mengukur kadar MDA dalam sampel darah. Spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm dan satuan nmol/ml digunakan untuk pengukuran.

Skala: rasio

#### 4.4 Instrumen dan Bahan Penelitian

##### 4.4.1 Instrumen Penelitian

- Kandang tikus dengan tempat pakan dengan ukuran P : 40 cm, L : 30 cm, T: 30 cm
- Timbangan tikus “Nigushi Scale”
- Gunting kecil
- Pisau silet
- Sonde oral
- Sarung tangan
- Kapas counter
- Pipet tetes
- Tabung *Eppendorf*

- *Cuvet*
- *Waterbath* dengan suhu 95<sup>0</sup> C
- Spektrofotometer
- Sentrifuge
- Mikropipet
- ELISA reader
- Kamera digital

#### 4.4.2 Bahan Penelitian

##### **Bahan pemberian**

Ekstrak Etanol Kulit Salak dosis 60, 120, dan 240 mg/200 gram BB tikus.

##### **Bahan Pemeriksaan Profil Lipid**

- a. Serum Tikus
- b. *Automatic Analyze* merek *Shimatzu*

##### **Bahan Pemeriksa MDA**

- a. Serum tikus
- b. Larutan TBA 0,37 % dalam HCl 0,25 N
- c. Larutan TCA 15%

##### **Bahan pemeriksaan IL 6**

- a. Serum tikus
- b. Reagen Kit IL-6

#### 4.5. Pemberian Dosis Ekstrak Etanol Kulit Salak

Berdasar pada riset sebelumnya (Fitri, 2014), dilakukan perhitungan dosis ekstrak etanol kulit salak (EEKS). Aktivitas antioksidannya ditemukan memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 229,27 ± 6,35 (µg/mL).



#### **4.6 Induksi Dislipidemia**

Usap lambung dan pakan standar diberikan pada diet tinggi lemak.

Bahan utama pakan tinggi lemak adalah kuning telur puyuh yang merupakan pakan standar.

#### **4.7 Alur Penelitian**

##### **4.7.1 Pengajuan Ethical Clearance**

Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang memberikan izin etik penelitian.

##### **4.7.2 Adaptasi Hewan Coba**

Enam kelompok yang masing-masing terdiri dari enam ekor tikus Wistar jantan dibuat secara acak dari total 36 ekor tikus Wistar jantan yang memenuhi kriteria inklusi. Hewan percobaan pertama kali disesuaikan dengan lingkungannya selama seminggu untuk membantu mereka terbiasa dan mencegah stres, yang dapat berdampak pada temuan riset.

##### **4.7.3 Prosedur Penelitian**

###### **4.7.3.1 Induksi Dislipidemia**

Usap lambung dan pakan standar diberikan pada diet tinggi lemak. Pakan tinggi lemak terdiri dari pakan biasa yaitu kuning telur yang diberikan antara hari ke 8 sampai hari ke 21 perlakuan.

#### 4.7.3.2 Pemberian perlakuan

Terdapat 6 kelompok perlakuan pada hewan coba, dengan rincian sebagai berikut :

K S: Kelompok kontrol sehat → kelompok perlakuan dengan pemberian diet pakan standart + aquabidest.

K - : Kelompok kontrol negatif → kelompok perlakuan dengan pemberian diet pakan tinggi lemak tanpa intervensi obat standart + aquabidest.

K + : Kelompok kontrol positif → kelompok perlakuan dengan pemberian diet pakan tinggi lemak yang diintervensi dengan simvastatin dosis 0,18 mg/hari secara oral + aquabides selama 14 hari.

P1 : Kelompok perlakuan dengan pemberian diet pakan tinggi lemak selama 14 hari dan pemberian ekstrak etanol kulit salak dosis 60 mg/200 gram BB tikus + aquabidest selama 14 hari

P2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian diet pakan tinggi selama 14 hari dan pemberian ekstrak etanol kulit salak dosis 120 mg/200 gram BB tikus + aquabidest selama 14 hari

P3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian diet pakan tinggi selama 14 hari dan pemberian ekstrak etanol kulit

salak dosis 240 mg/200 gram BB tikus + aquabidest selama 14 hari

Pada hari ke 35 tikus wistar jantan diambil darahnya untuk dilakukan pemeriksaan kadar profil lipid, IL-6 dan MDA serum.

#### 4.7.4 Cara Pengambilan Sampel Hewan Coba

1. Setelah 35 hari perlakuan, maka dilakukan pengambilan darah tikus melalui penusukan pada vena optalmica di retro-orbitalis. Darah ditampung ke dalam *collect tube*.
2. Setelah darah dalam tabung penampung didiamkan selama 20 menit, darah disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm hingga menghasilkan serum berupa cairan bening pada supernatan. Setelah diekstraksi, serum dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk diperiksa.

#### 4.7.5 Prosedur Pengukuran Kadar Profil Lipid

1. Siapkan blanko, standart dan sampel serum darah tikus.
2. Isi masing-masing ketiga tabung dengan 1000  $\mu$ l reagen uji kolesterol total, HDL, LDL, dan trigliserida.
3. Isi tabung dengan 1000  $\mu$ l reagen kolesterol total, HDL, LDL, dan trigliserida dan tambahkan 10  $\mu$ l sampel standar kolesterol total, HDL, LDL, dan trigliserida.
4. Tambahkan 10  $\mu$ l sampel serum ke dalam reagen untuk kolesterol total, HDL, LDL, dan trigliserida.
5. Inkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 10 menit.

6. Dengan menggunakan spektrofotometer yang disetel pada 546 nm, bacalah hasilnya setelah 60 menit.

#### 4.7.6 Cara Pengukuran Kadar IL-6

1. Siapkan reagen, sampel dan larutan standart. Usahakan sudah berada dalam suhu ruang  $\pm$  30 menit sebelum larutan dipakai.
2. Ambil plate dan strip yang berisi sumuran suseuai kebutuhan, untuk strip yang tidak dipakai bias disimpan dalam pendingin dengan suhu  $2-8^{\circ}$  C.
3. Masukkan 50  $\mu$ l larutan standart kedalam sumuran, catatan : tidak perlu menambahkan antibody, karena didalam larutan standart sudah mengandung antibody.
4. Masukkan 40  $\mu$ l sampel kedalam sumuran dan tambahkan 10  $\mu$ l anti IL-6 antibody ke dalam sumuran yang berisi sampel, setelah itu tambahkan 50  $\mu$ l streptavidin-HRP kedalam sumuran standart dan sampel ( kecuali control negative ), campur larutan dan tutup dengan sealer lalu inkubasi dalam incubator pada suhu  $37^{\circ}$  C selama 1 jam.
5. Buka sealer dan cuci sumuran selama 5x dengan buffer cuci sebanyak 0,35 ml setiap sumuran sampai sumuran penuh, dan serap menggunakan tissue hingga kering.
6. Masukkan 50  $\mu$ l larutan substrat A dan 50  $\mu$ l substrat B ke dalam sumuran, tutup plate menggunakan sealer, lalu inkubasi kedalam incubator dengan suhu  $37^{\circ}$  C dengan kondisi tertutup (gelap) selama 10 menit (hingga larutan berubah dari bening menjadi biru).
7. Keluarkan plate berisi sumuran tambahkan 50  $\mu$ l larutan stop kedalam sumuran, larutan akan berubah dari warna biru menjadi kuning, selanjutnya masukkan plate ke dalam elisa reader untuk dibaca absorbansi warnanya dengan panjang gelombang baca 450 nm (hasil valid jika pembacaan dilakukan dibawah 10 menit).

#### 4.7.7 Cara Pengukuran Kadar MDA

1. Sinus orbital dipergunakan mengambil satu mililiter darah tikus wistar jantan.
2. Setelah sampel darah disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3000 rpm, supernatannya dibuang sebanyak 200  $\mu$ l dan dimasukkan ke dalam tabung centrifuge. Dua ribu mikroliter masing-masing larutan TCA 15% dan TBA 0,37% ditambahkan ke HCl 0,25 N.
3. Dipanaskan selama 60 menit pada suhu 95°C dalam penangas air.
4. Dimasukkan ke dalam kolom Sep-Park C18 setelah didinginkan hingga 30 °C.
5. Kolom dibersihkan dengan 5 mililiter metanol dan air sebelum digunakan.
6. Setelah dimasukkan ke dalam kolom, campuran sampel dikeluarkan.
7. Setelah menambahkan 4 ml metanol ke dalam kolom, encerkan TBA dan kumpulkan dalam kuvet.
8. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur kerapatan warna pada panjang gelombang 532 nm.

#### 4.7.8 Tempat dan waktu Penelitian

##### 4.7.8.1 Tempat Penelitian

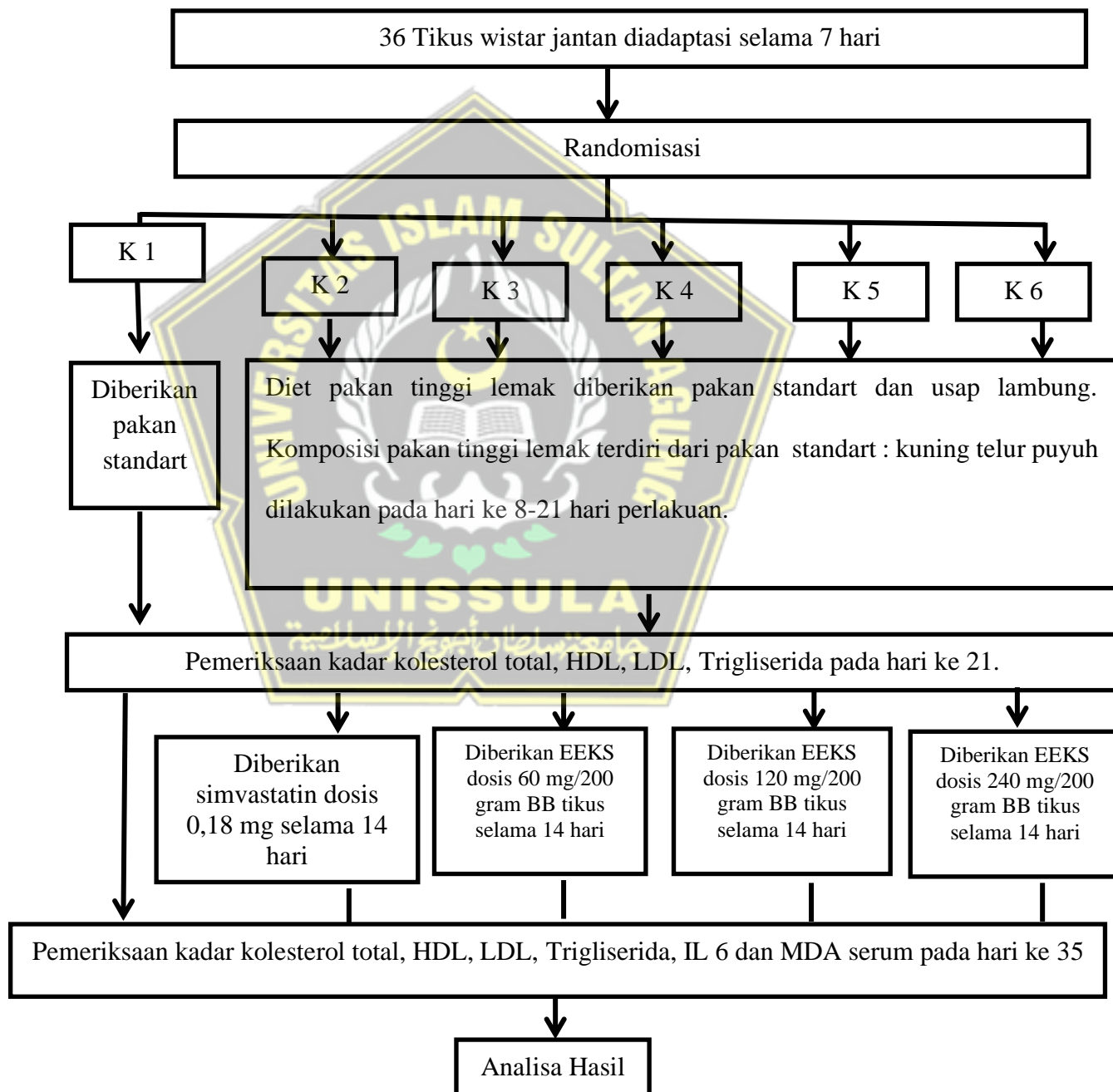
Pengambilan sampel riset dijalankan di Laboratorium IBL

FK UNISSULA.

#### 4.7.8.2 Waktu Penelitian

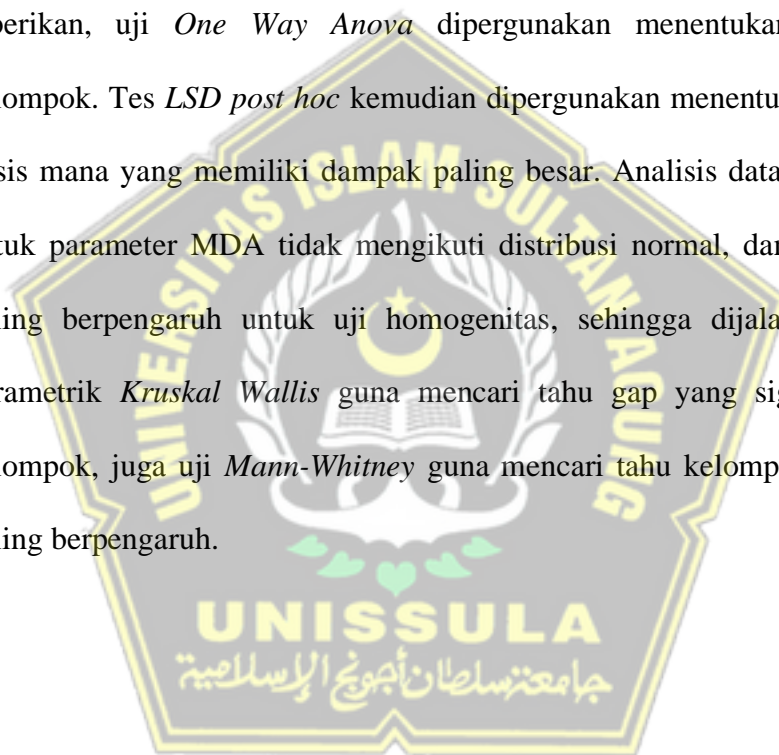
Riset ini dijalankan bulan Agustus - Oktober 2023

#### 4.7.9 Alur Penelitian



#### 4.8 Analisis Data

Tabel dan grafik dipergunakan merepresentasikan data rata-rata tingkat profil lipid secara visual. Uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Leuvene* dipergunakan menilai data. Berdasar temuan analisis didapat distribusi data normal dan homogen, sehingga kelompok validasi dislipidemia dibandingkan dengan dan tanpa gangguan menggunakan uji t. Setelah EEKS diberikan, uji *One Way Anova* dipergunakan menentukan signifikansi kelompok. Tes *LSD post hoc* kemudian dipergunakan menentukan kelompok dosis mana yang memiliki dampak paling besar. Analisis data *Shapiro-Wilk* untuk parameter MDA tidak mengikuti distribusi normal, dan Uji *Leuvene* paling berpengaruh untuk uji homogenitas, sehingga dijalankan uji non parametrik *Kruskal Wallis* guna mencari tahu gap yang signifikan antar kelompok, juga uji *Mann-Whitney* guna mencari tahu kelompok dosis yang paling berpengaruh.



## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Hasil Penelitian

Jenis riset ini menerapkan desain eksperimen dengan *post test only control group*. Riset dijalankan di Laboratorium IBL FK UNISSULA pada bulan Agustus–Oktober tahun 2023. Tujuan riset ini ialah guna mencari tahu dampak pemberian ekstrak etanol salak terhadap profil MDA, IL-6, dan lipid serum tikus wistar jantan yang telah diberi diet tinggi lemak. Tikus Wistar jantan yang dipergunakan sebagai subjek riset sebanyak 36 ekor, dibagi menjadi 6 kelompok secara acak, masing-masing kelompok berjumlah 6 ekor. Sekelompok tikus yang disebut kelompok kontrol sehat (KS) diberi makanan standar + aquabidest. Selama 14 hari, tikus kelompok kontrol negatif (K-) mendapat makanan standar ditambah makanan tinggi lemak ditambah aquabidest. Tikus pada kelompok kontrol positif (K+) mendapat air sulingan, diet tinggi lemak, pakan standar, dan simvastatin dengan dosis harian 0,18 mg. Selama 14 hari, tikus kelompok P1 mendapat pakan standar, diet tinggi lemak, air suling, dan ekstrak etanol kulit buah salak 60 mg. Selama kurun waktu 14 hari, tikus kelompok P2 mendapat pakan standar, diet tinggi lemak, air suling, dan ekstrak etanol kulit buah salak 120 mg. Selama kurun waktu 14 hari, tikus kelompok P3 mendapat pakan standar, diet tinggi lemak, air suling, dan 240 mg ekstrak etanol kulit buah salak.

##### 5.1.1 Validasi kadar profil lipid

Pada hari ke 21 penelitian, diet tinggi lemak diberikan (sebagai validasi), dan profil lipid serum tikus diperiksa. Kadar kolesterol total, LDL (*low-density*



*lipoprotein*), TG (*trigliserida*), dan HDL (*high-density lipoprotein*) ialah tingkat profil lipid yang diukur.

Tabel 5.1 Perbandingan rata-rata kadar profil lipid kelompok tanpa intervensi dengan kelompok intervensi yang diinduksi diet tinggi lemak

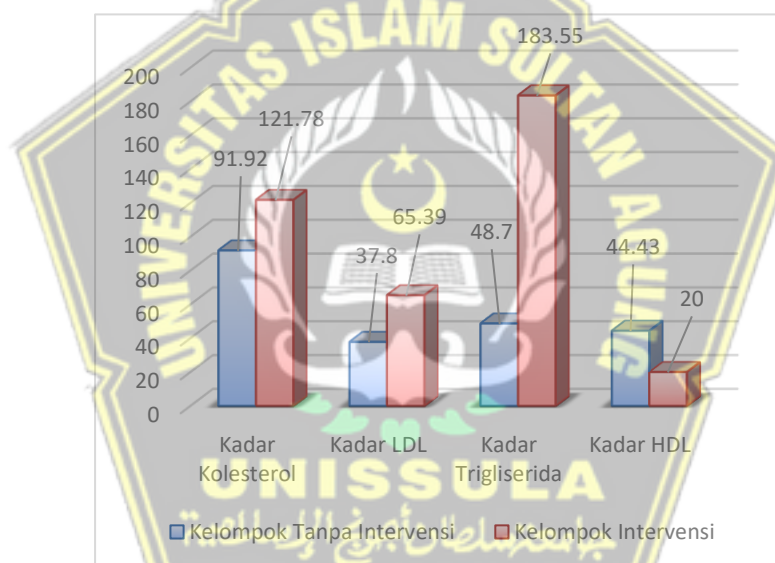
Kelompok	Kadar Kolesterol (mg/dL)	Kadar LDL (mg/dL)	Kadar Trigliserida (mg/dL)	Kadar HDL (mg/dL)
<b>Kelompok tanpa intervensi</b>				
Mean ± SD	91,92 ± 16,92	37,8 ± 8,84	48,7 ± 20,7	44,43 ± 10,42
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,69*	0,22*	0,9*	0,49*
<b>Kelompok intervensi</b>				
Mean ± SD	121,78 ± 16,33	65,39 ± 8,72	183,55 ± 25,41	20,00 ± 4,74
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,69*	0,22*	0,90*	0,49*
<i>Leuvene Test</i>	0,95 <sup>+</sup>	0,83 <sup>+</sup>	0,25 <sup>+</sup>	0,08 <sup>+</sup>
<i>t-test</i>	0,01 <sup>^</sup>	0,00 <sup>^</sup>	0,00 <sup>^</sup>	0,00 <sup>^</sup>

**Keterangan:** tanda \* menunjukkan hasil distribusi data normal ( $p > 0,05$ ). Tanda <sup>+</sup> menunjukkan data homogen dengan uji Levene test ( $p > 0,05$ ). Tanda <sup>^</sup> menunjukkan hasil signifikan untuk uji *One Way Anova* ( $p < 0,05$ )

Pada hari ke-21, kadar profil lipid enam tikus pada kelompok sehat yang tidak mendapat intervensi apa pun, dan enam tikus pada kelompok yang mendapat intervensi diet tinggi lemak, diambil darahnya. Kelompok yang tidak mendapat intervensi berata-rata hasil kolesterol total sebesar 91,92 mg/dL, sedangkan kelompok yang mendapat intervensi mempunyai rata-rata hasil kolesterol total sebesar 121,78 mg/dL. Rata-rata kadar trigliserida pada kelompok tanpa interpenetrasi sebesar 48,7 mg/dL; meningkat menjadi rata-rata 183,55 mg/dl pada kelompok interpenetrasi. Rata-rata kadar HDL pada kelompok tanpa interpenetrasi sebesar 44,43 mg/dL, sedangkan pada kelompok interpenetrasi menurun menjadi 20,00 mg/dL. Kadar LDL pada kelompok tanpa interpenetrasi sebesar 37,8 mg/dL dan meningkat menjadi 65,39 mg/dL pada kelompok interpenetrasi.

Seluruh kelompok memiliki varian data yang homogen dengan hasil Uji *Leuvene* ( $p > 0,05$ ) dan berdistribusi normal nilainya, sesuai analisis uji *Shapiro-Wilk*. Hasil keempat kelompok ditemukan berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) berdasarkan analisis uji t. Setelah diet tinggi lemak, kadar HDL menurun dan kadar kolesterol, LDL, dan trigliserida meningkat. Oleh karena itu, terapi induksi diet tinggi lemak dapat dikatakan efektif (terdapat perbedaan).

### 5.1.2 Hasil pemeriksaan kadar profil lipid, IL-6 dan MDA setelah pemberian EEKS



Gambar 5.1 Grafik perbedaan kadar profil lipid kelompok tanpa interpersi dengan kelompok interpersi yang diinduksi diet tinggi lemak

Pemeriksaan profil lipid, IL-6 dan MDA dari serum tikus dilakukan setelah pemberian EEKS pada hari ke 36 penelitian selama 14 hari. Kadar profil lipid yang diperiksa setelah pemeberian EEKS adalah kolesterol total, LDL, Trigliseride, dan HDL, kemudian parameter IL-6 dan MDA.

Tabel 5.2 Hasil analisis rata-rata profil lipid, IL-6 dan MDA

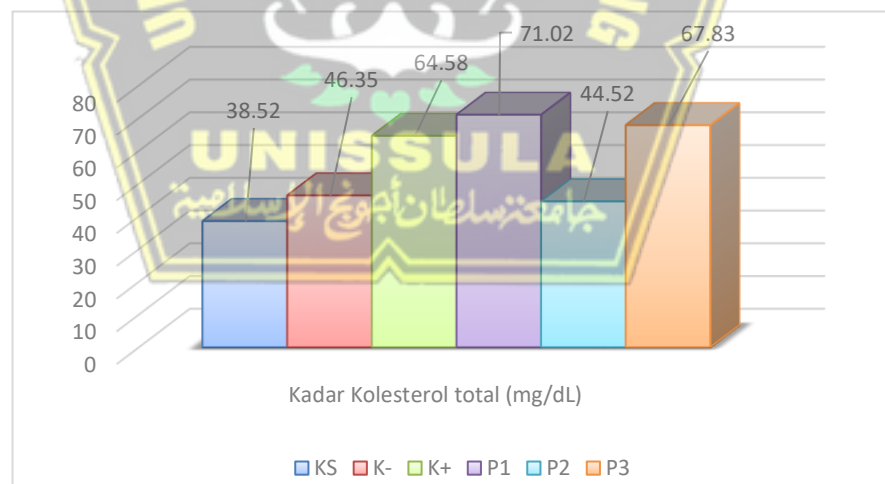
Variabel	Kelompok
----------	----------

		KS	K-	K+	P1	P2	P3	<i>P value</i>
Kadar Kolesterol Total (mg/dL)	Mean ± SD	38,52 ± 25,48	46,35 ± 19,94	64,58 ± 6,63	71,02 ± 8,68	44,52 ± 9,35	67,83 ± 4,38	
	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,17*	0,74*	0,85*	0,25*	0,97*	0,36*	
	<i>Leuvene Test</i>							0,003 <sup>+</sup>
	<i>One way Anova</i>							0,019 <sup>^</sup>
Kadar LDL (mg/dL)	Mean ± SD	3,73 ± 0,92	6,72 ± 1,28	6,91 ± 2,15	7,98 ± 0,84	7,47 ± 2,33	8,97 ± 0,66	
	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,08*	0,06*	0,60*	0,09*	0,34*	0,1*	
	<i>Leuvene Test</i>							0,04 <sup>+</sup>
	<i>One way anova</i>							0,003 <sup>^</sup>
Kadar Triglicerida (mg/dL)	Mean ± SD	55,12 ± 20,84	125,89 ± 31,12	68,75 ± 19,56	103,45 ± 8,36	44,61 ± 9,86	41,03 ± 4,00	
	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,08*	0,06*	0,60*	0,09*	0,34*	0,10*	
	<i>Leuvene Test</i>							0,02
	<i>One way anova</i>							0,00 <sup>^</sup>
Kadar HDL (mg/dL)	Mean ± SD	23,77 ± 17,25	14,45 ± 0,89	43,92 ± 12,71	42,35 ± 5,46	28,13 ± 5,96	50,65 ± 7,97	
	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,30*	0,65*	0,81*	0,99*	0,46*	0,36*	
	<i>Leuvene Test</i>							0,03
	<i>One way anova</i>							0,00 <sup>^</sup>
Kadar IL-6 (ng/L)	Mean	3,07 ± 1,01	4,02 ± 0,9	3,35 ± 0,93	4,36 ± 0,87	2,9 ± 0,55	3,8 ± 0,59	
	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,5*	0,78*	0,93*	0,27*	0,89*	0,45*	
	<i>Leuvene Test</i>							0,68 <sup>+</sup>
	<i>One way Anova</i>							0,032 <sup>^</sup>
Kadar MDA (mg/mL)	Mean	0,13 ± 0,04	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,01	
	<i>Shapiro-Wilk</i>	*0,12	*0,55	*0,42	0,01	0,01	*0,10	
	<i>Leuvene Test</i>							0,03
	<i>Kruskal Wallis</i>							0,01 <sup>”</sup>

Keterangan: tanda \* menunjukkan hasil distribusi data normal ( $p > 0,05$ ). Tanda <sup>+</sup> menunjukkan data homogen dengan uji Levene test ( $p > 0,05$ ). Tanda <sup>^</sup> menunjukkan hasil signifikan untuk uji *One Way Anova* ( $p < 0,05$ ), Tanda “ menunjukkan hasil signifikan untuk uji *Kruskal Wallis* ( $p < 0,05$ ).

### 5.1.2.1 Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total setelah pemberian EEKS

Setelah pemberian EEKS, rata-rata kadar kolesterol total kelompok tersebut diukur. Hasil pada kelompok KS ialah 38,52 mg/dL, K- 46,35 mg/dL, K+ 64,58 mg/dL, P1 44,52 mg/dL, P2 67,83 mg/dL, dan P3 43,44 mg/dL. Kelompok P1 berkadar kolesterol total tertinggi, sedangkan kelompok KS berkadar kolesterol total terendah. Uji *Shapiro-Wilk* yang dipergunakan dalam analisis deskriptif memperlihatkan bahwasanya semua kelompok bernilai normalitas ( $p > 0,05$ ), namun uji *Leuvene* ( $p > 0,05$ ) memperlihatkan hasil 0,00 yang menggambarkan bahwasanya varians datanya tidak homogen. Gambar 5.2 memperlihatkan grafik rata-rata kadar kolesterol total antar kelompok:



Gambar 5.2 Rata-rata kadar kolesterol total antar kelompok setelah pemberian EEKS

Setelah pemberian EEKS dan diet tinggi lemak, kadar kolesterol total kelompok perlakuan menurun. Uji *one way Anova* dilakukan pada kelompok setelah pemberian EEKS dan hasilnya memperlihatkan 0,019 ( $p < 0,05$ ) yang

menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada masing-masing kelompok. Hasilnya ditampilkan pada tabel 5.2.

Tabel 5.3 Perbedaan rata-rata kadar kolesterol total tiap kelompok setelah pemberian EEKS dengan uji *Post Hoc Tamhane*

Kelompok	K-	K+	P1	P2	P3
KS	1,00	0,87	0,70	1,00	0,80
K-		0,93	0,73	1,00	0,84
K+			0,99	0,20	1,00
P1				*0,08	0,13
P2					0,31

Keterangan: \* Bermakna  $p < 0,05$

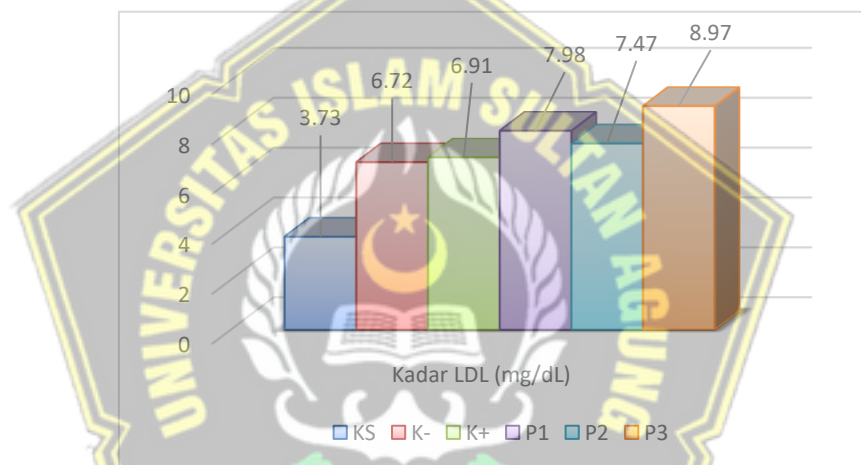
Guna memastikan dosis EEKS yang paling signifikan dipergunakan uji *Post hoc Tamhane* guna menganalisis variasi rata-rata kadar kolesterol. Dengan hasil sebesar 0,08 ( $p < 0,05$ ), hasil tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok P1 dan P2. Kesimpulannya ialah pada tikus wistar jantan yang diinduksi diet tinggi lemak, kelompok P2 dengan dosis EEKS 120 mg berdampak paling besar atas kadar kolesterol total.

### 5.1.3.2 Hasil pemeriksaan kadar LDL setelah pemberian EEKS

Setelah pemberian EEKS, rata-rata hasil pemeriksaan kadar LDL kelompok ialah 3,73 mg/dL pada kelompok KS, 6,72 mg/dL pada kelompok K-, 6,91 mg/dL pada kelompok K+, 7,98 mg/dL pada kelompok P1, 7,47 mg/dL pada kelompok P2, dan 8,97 mg/dL pada kelompok P3. Kelompok P3 berkadar LDL tertinggi, sedangkan kelompok KS berkadar LDL terendah.

Grafik 5.3 memperlihatkan temuan analisis deskriptif dengan menerapkan uji *Shapiro-Wilk* yang menggambarkan bahwasanya semua kelompok mempunyai nilai normalitas sebesar ( $p > 0,05$ ), namun varians datanya tidak homogen dengan hasil Uji *Leuvene* ( $p > 0,05$ ), menghasilkan hasil 0,04.

Tes *Post hoc Tamhane* dipergunakan menganalisis perbedaan rata-rata kadar LDL. Temuan riset memperlihatkan bahwasanya kelompok P3 yang mendapat dosis EEKS 240 mg berdampak paling besar atas kadar LDL pada



Gambar 5.3 Rata-rata kadar LDL antar kelompok setelah pemberian EEKS

tikus Wistar jantan yang diinduksi diet tinggi lemak. Kelompok KS mempunyai perbedaan yang signifikan dengan kelompok P3, dengan nilai 0,002 ( $p < 0,05$ ), dan kelompok KS mempunyai perbedaan signifikan dengan P1 0,007 ( $p < 0,05$ ). Ditambahkan ke tabel 5.6 di bawah:

Tabel 5.4 Perbedaan rata-rata kadar LDL tiap kelompok setelah pemberian EEKS dengan uji *Post Hoc Tamhane*

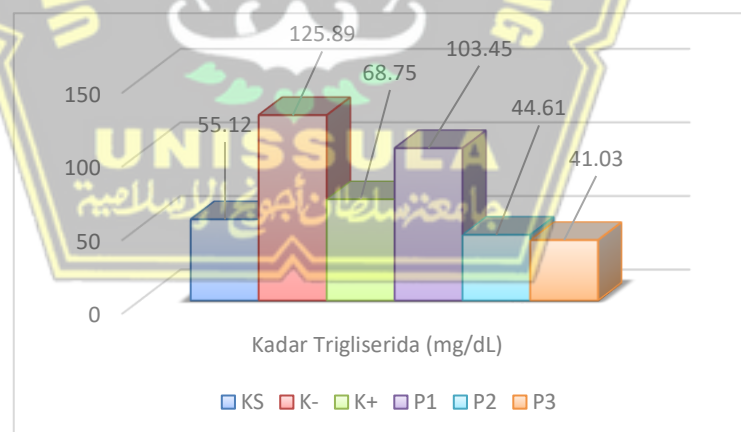
Kelompok	K-	K+	P1	P2	P3
KS	0,15	0,55	*0,007	0,47	*0,002
K-		1,00	0,93	1,00	0,37

K+	1,00	1,00	0,91
P1		1,00	0,84
P2			0,99

Keterangan: \* Bermakna  $p < 0,05$

### 5.1.3.3 Hasil pemeriksaan kadar trigliserida setelah pemberian EEKS

Setelah pemberian EEKS, rata-rata hasil pemeriksaan trigliserida kelompok ialah: P1 103,45 mg/dL, P2 44,61 mg/dL, dan P3 41,03 mg/dL. Hasil kelompok KS 55,12 mg/dL, K- 125,89 mg/dL, K+ 68,75 mg/dL. Kelompok K+ memiliki kadar trigliserida tertinggi, sedangkan kelompok P3 memiliki kadar trigliserida terendah. Seluruh kelompok ditemukan berdistribusi normal melalui analisis deskriptif menerapkan uji *Shapiro-Wilk* ( $p > 0,05$ ). Namun pada Uji *Leuvene* ( $p > 0,05$ ) diperoleh hasil sebesar 0,02 yang memperlihatkan bahwasanya varians data tidak homogen, seperti



Gambar 5.4 Rata-rata kadar Trigliserida antar kelompok setelah pemberian EEKS

terlihat pada grafik 5.4.

Uji *Shapiro-Wilk* yang dipergunakan dalam analisis deskriptif memperlihatkan bahwasanya semua kelompok memiliki nilai normalitas

distribusi ( $p > 0,05$ ). Namun pada Uji *Leuvene* ( $p > 0,05$ ) diperoleh hasil sebesar 0,02 yang memperlihatkan varian data tidak homogen.

Pada tikus wistar jantan yang diinduksi makan diet tinggi lemak, kelompok P2 dengan dosis 120 mg dan kelompok P3 dengan dosis EEKS 240 mg berdampak paling besar atas kadar trigliserida. Analisis perbedaan rerata kadar trigliserida menerapkan uji *Post hoc Tamhane* memperlihatkan terdapat perbedaan bermakna pada kelompok KS dengan K+ 0,003, K+ dengan P2 0,003, K+ dengan P3 0,010, P1 dengan P2 0,002, P1 dengan P3 0,002 ( $p < 0,05$ ).

Tabel 5.5 Perbedaan rata-rata kadar LDL tiap kelompok setelah pemberian EEKS dengan uji *Posh Hoc Tamhane*

Kelompok	K-	K+	P1	P2	P3
KS	0,16	*0,003	0,18	1,00	0,99
K-		0,64	0,99	0,14	0,16
K+			0,05	*0,003	0,010
P1				*0,002	*0,002
P2					1,00

Keterangan: \* Bermakna  $p < 0,05$

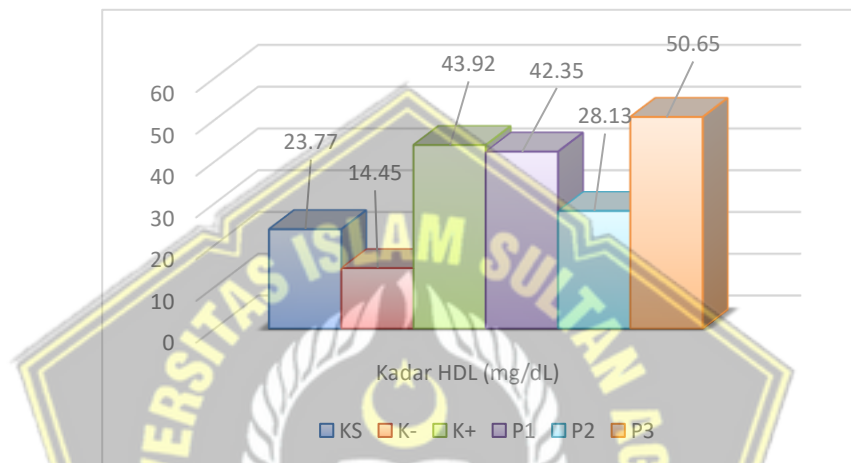
#### 5.1.1.4 Hasil pemeriksaan kadar HDL setelah pemberian EEKS

Setelah menerima EEKS, rata-rata kadar HDL pada kelompok diperiksa. Temuan riset memperlihatkan bahwasanya kelompok KS memiliki rata-rata kadar HDL tertinggi sebesar 23,77 mg/dL, disusul K- sebesar 14,45 mg/dL, K+ sebesar 43,92 mg/dL, P1 sebesar 42,35 mg/dL, P2 sebesar 28,13 mg/dL, dan P3 sebesar 50,65 mg/dL. Kelompok P3 memiliki kadar HDL tertinggi, sedangkan kelompok K memiliki kadar HDL terendah. Uji *Shapiro-Wilk* yang dipergunakan dalam analisis deskriptif memperlihatkan



bahwasanya semua kelompok bernilai normalitas ( $p > 0,05$ ), namun uji *Leuvene* ( $p > 0,05$ ) dengan hasil 0,03 yang memperlihatkan bahwasanya varians datanya ialah 0,03 (tidak homogen), seperti terlihat pada grafik 5.5 di bawah ini:

Tes *post hoc Tamhane* dipergunakan menganalisis perbedaan rata-rata



Gambar 5.5 Rata-rata kadar HDL antar kelompok setelah pemberian EEKS

kadar HDL. Temuan riset memperlihatkan bahwasanya K- dengan K+ 0,026, kelompok K- dengan P1 0,009, kelompok K- dengan P3 0,023, dan kelompok K+ dengan P2 0,031 ( $p < 0,05$ ). Kelompok P3 yang mendapat dosis EEKS 240 mg ternyata berdampak paling besar atas kadar HDL pada tikus Wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak, dengan tingkat signifikansi 0,023. Tabel berikut terlampir:

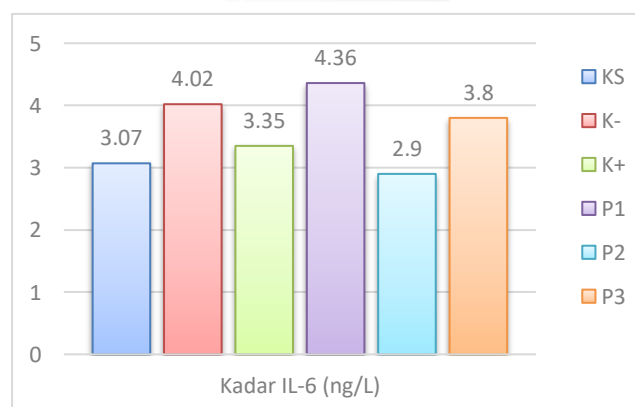
Tabel 5.6 Perbedaan rata-rata kadar HDL tiap kelompok setelah pemberian EEKS dengan uji *Post Hoc Tamhane*

Kelompok	K-	K+	P1	P2	P3
KS	0,45	0,22	1,00	0,99	0,98
K-		*0,026	*0,009	0,08	*0,002
K+			0,18	*0,031	0,30
P1				0,06	0,99
P2					0,07

Keterangan: \* Bermakna  $p < 0,05$

### 5.1.3 Hasil analisis kadar IL-6

Hasil rata-rata pemeriksaan kadar IL-6 kelompok KS ialah 3,07 ng/L, K- 4,02 ng/L, K+ 3,35, P1 4,36 ng/L, P2 2,90 ng/L, dan P3 3,80 ng/L. Kelompok P1 berkadar IL-6 tertinggi, sedangkan kelompok P2 berkadar IL-6 terendah. Melalui penggunaan uji *Shapiro-Wilk* dalam analisis deskriptif diketahui bahwasanya keseluruhan kelompok mempunyai varian data yang homogen dan berdistribusi normal, dengan nilai p-value 0,05 yang diperoleh dari uji *Leuvene* ( $p > 0,05$ ) yakni 0,068. Data rata-rata tingkat IL-6 ditemukan homogen dan berdistribusi normal, memenuhi prasyarat uji *One Way ANOVA* yang dipergunakan dalam membandingkan perbedaan kelompok.



Gambar 5.6 Grafik nilai rata-rata kadar IL6 setelah pemberian EEKS pada tiap kelompok

Terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan yang ditunjukkan dengan hasil uji *one way ANOVA* yaitu sebesar 0,032 ( $p < 0,05$ ). Membandingkan Kelompok P2 yang mendapat dosis EEKS 120 mg selama 14 hari dengan kelompok positif (K+) yang mendapat dosis simvastatin menunjukkan penurunan yang signifikan. Secara oral, 0,18 mg/hari, seperti terlihat pada grafik 5.6.

Kelompok dosis yang memberikan dampak terbesar pada tikus diet tinggi lemak yang diintervensi EEKS diidentifikasi dengan menganalisis perbedaan rata-rata kadar IL-6 menggunakan uji *Post hoc LSD*, sebagaimana terlampir:

Tabel 5.7 Perbedaan rata-rata kadar IL-6 tiap kelompok setelah pemberian EEKS

Kelompok	K-	K+	P1	P2	P3
KS	*0,056	0,561	*0,011	0,722	0,134
K-		0,171	0,485	0,26	0,654
K+			*0,043	0,351	0,350
P1				*0,005	0,256
P2					0,068

Keterangan: \* Bermakna  $p < 0,05$

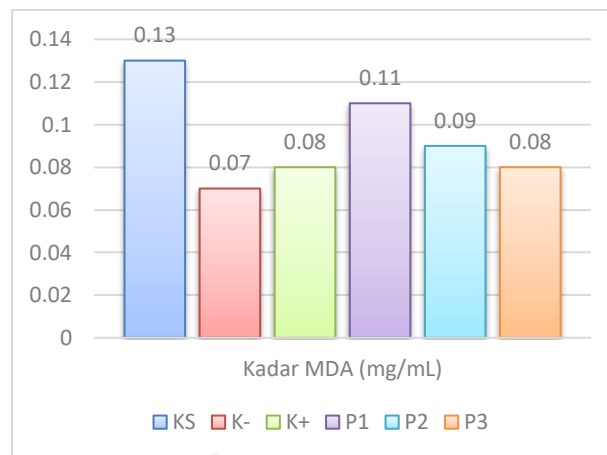
Kadar IL-6 kelompok KS dengan uji *post hoc LSD* berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok K-, kelompok KS berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok P1, kelompok K+ berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok P1, dan kelompok P1 berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok P2. Perbandingan tiap kelompok dengan

nilai paling signifikan adalah kelompok P2 sebesar 0,005 ( $p < 0,05$ ) dapat disimpulkan bahwa kelompok P2 dengan dosis 120 mg memberikan efek paling baik dalam menurunkan kadar IL-6.

#### 5.1.4 Hasil analisis kadar MDA

Rata-rata kadar MDA pada kelompok KS ialah 0,13 mg/mL, K- 0,07 mg/mL, K+ 0,08 mg/mL, P1 0,11 mg/mL, P2 0,09 mg/mL, dan P3 0,08 mg/mL, sesuai pemeriksaan. hasil. Kelompok P1 berkadar MDA tertinggi, sedangkan kelompok K berkadar MDA terendah. Data tidak berdistribusi normal pada kelompok P1 0,01 mg/ml dan P2 0,01 mg/ml ( $p > 0,05$ ), berdasarkan analisis deskriptif menerapkan uji *Shapiro-Wilk*. Selain itu variansi data tidak homogen dengan hasil Uji *Leuvene* ( $p > 0,05$ ) yaitu sebesar 0,03. Setelah diketahui rata-rata data kadar MDA tidak homogen dan tidak berdistribusi normal, maka dipergunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaannya.

Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan hasil yaitu 0,01 ( $p < 0,05$ ) memperlihatkan terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan, Kelompok K- yang diberikan diet tinggi lemak tanpa intervensi memiliki nilai paling rendah, kelompok K+ dengan pemberian simvastatin dosis 0,18 mg/hari secara oral dengan kelompok P3 dengan pemberian EEKS dosis 240 mg selama 14 hari memiliki nilai rata-rata MDA yang sama, seperti yang tergambar pada grafik 5.7 berikut:



Gambar 5.7 Grafik nilai rata-rata kadar MDA setelah pemberian EEKS pada tiap kelompok

Analisis perbedaan rata-rata kadar MDA diterapkan uji *Mann-Whitney* guna mencari tahu kelompok dosis yang paling berdampak atas tikus dengan diet tinggi lemak yang diintervensi pemberian ekstrak kulit salak.

Dengan menerapkan uji *Mann-Whitney* diketahui kadar MDA kelompok KS berbeda signifikan dengan kelompok K dengan nilai 0,005 ( $p < 0,05$ ), berbeda signifikan dengan kelompok K+ dengan nilai 0,002, tidak berbeda signifikan dari kelompok P1 dengan nilai 0,226, berbeda nyata dengan kelompok P2 dengan nilai 0,023, dan berbeda drastis dengan kelompok P3 dengan nilai 0,003. Metode yang paling berhasil guna meningkatkan kadar MDA ialah dengan pemberian 240 mg ekstrak etanol kulit salak selama 14 hari. Hasilnya ditunjukkan dalam tabel berikut:

Tabel 5.8 Perbedaan rata-rata kadar MDA setelah pemberian EEKS tiap kelompok dengan uji *Mann-Whitney*

Kelompok	Pembandingan	Sig
KS	K-	*0,005
	K+	*0,005
	P1	0,189
	P2	*0,023
	P3	*0,003

Keterangan: \* Bermakna  $p < 0,05$

## 5.2 Pembahasan

Istilah "dislipidemia" mengacu pada kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan variasi kadar fraksi lipid dalam plasma. Kelainan yang paling umum pada fraksi lipid ialah penurunan kolesterol HDL dan peningkatan kolesterol LDL, total, dan/atau TG.<sup>14,15</sup> Dislipidemia yang memodulasi fungsi dan aktivitas sel myeloid, dan peningkatan metabolisme oksidatif dengan peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (ROS). Sebagai mekanisme pertahanan sel menghasilkan antioksidan (AOs) untuk mencegah atau membatasi cedera jaringan oksidatif. Produksi ROS yang berlebihan dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara ROS dan AOS yang menyebabkan oksidatif stres dan kerusakan, berkontribusi terhadap cedera jaringan melalui beberapa mekanisme, termasuk kerusakan DNA, peroksidasi lipid membran, oksidasi enzim dan stimulasi sitokin proinflamasi.<sup>40</sup> Penyakit pembuluh darah perifer, serangan jantung, dan stroke terutama disebabkan oleh dislipidemia. Penumpukan lipid menyebabkan dan mengganggu peradangan kronis. Respon inflamasi kronis sebagian besar dipengaruhi oleh penumpukan sel dengan lipid berlebih di dalam dinding arteri dan peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) intraseluler.<sup>25</sup>

Kondisi yang disebut dislipidemia terjadi ketika terjadi kelainan pada metabolisme lipid sehingga mengakibatkan peningkatan atau penurunan fraksi lipid dalam darah. Kelainan pada fraksi lipid biasanya bermanifestasi sebagai peningkatan kolesterol total, TG, kadar LDL, dan penurunan kolesterol HDL.<sup>41</sup> Riset ini memperlihatkan bagaimana ekstrak kulit salak bisa menurunkan kadar kolesterol, LDL, dan TG sekaligus meningkatkan kadar HDL pada tikus yang diberi diet tinggi lemak selama 14 hari. Menurut riset Datu dkk. (2022), pemberian jus buah salak (*Salacca zalacca*) mempunyai efek mengurangi kadar LDL, trigliserida, dan kolesterol total yang pada akhirnya mempengaruhi profil lipid. Pemberian jus buah pada ular juga bisa mengurangi kadar gula darah dan membantu tikus yang mengalami obesitas menurunkan berat badan.

Ekstrak etanol kulit buah salak pada dosis 210 dan 840 mg/kg berat badan mencit telah dibuktikan pada riset Nuranti dkk. (2015) guna menurunkan kadar kolesterol total darah pada tikus; penurunan terbesar ialah 23,72% (dosis 840 mg/kg berat badan mencit). Meski begitu, aktivitasnya masih kalah dibandingkan simvastatin yang menurunkan kadar kolesterol total sebesar 42,08%. Berbeda dengan penelitian ini dimana pada dosis 120 mg EEKS yang diberikan selama 14 setelah perlakuan diet tinggi lemak, mengalami penurunan kadar kolesterol total lebih rendah dari pada kelompok simvastatin, namun pada dosis 240 mg didapatkan tidak lebih rendah dari kelompok simvastatin. Hasil ini menunjukkan dosis optimal 120 mg lebih baik dari pada simvastatin yang perlu dilakukan penelitian lebih mendalam.

Secara klinis, lipid plasma terpenting adalah trigliserida dan kolesterol. Terlepas dari peran sentral kolesterol dalam pengaturan dan stabilitas seluler, ia berfungsi sebagai blok bangunan untuk hormon steroid, vitamin D, oksisterol, dan asam empedu. Karena tidak larut dalam plasma, lipoprotein—makromolekul berbentuk bola yang terdiri dari inti hidrofobik yang terutama terdiri dari trigliserida dan ester kolesterol—dan lapisan hidrofilik yang terdiri dari fosfolipid, kolesterol bebas, dan apolipoprotein—mengangkut zat tersebut. Lipoprotein densitas rendah (LDL) dan lipoprotein densitas tinggi (HDL) adalah dua lipoprotein utama yang membawa kolesterol. Ketidakseimbangan homeostasis kolesterol dipicu oleh peningkatan asupan makanan atau oleh faktor genetik yang mengakibatkan pembuangan kolesterol di jaringan perifer. Kerusakan endotelium yang menyebabkan migrasi monosit ke dalam intima dan diferensiasi menjadi makrofag. Reseptor pemulung makrofag memediasi endositosis berlebihan dari LDL termodifikasi, yang tidak memiliki regulasi umpan balik negatif dan menghasilkan pembentukan sel busa makrofag. Penyerapan LDL yang dimodifikasi secara berlebihan menyebabkan apoptosis dan peradangan yang diinduksi kolesterol. Sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan sel endotel merangsang proliferasi sel otot polos. Peradangan yang tidak terselesaikan akhirnya mengarah pada ekspansi plak, destabilisasi, dan rupture.<sup>24</sup>

Kelebihan kolesterol intraseluler dapat menjadi racun dan menyebabkan pembentukan sel busa dan pengerasan sel, yang pada gilirannya memengaruhi integritas pembuluh darah dan pensinyalan sel. Menjaga keseimbangan yang



ketat antara sintesis, penyerapan, dan ekspor kolesterol, karena kolesterol itu sendiri tidak dapat didegradasi dalam organisme yang lebih tinggi. Untuk penghabisan kolesterol seluler, kolesterol ditransfer ke partikel HDL, yang menerima kelebihan kolesterol terutama dari sel dan jaringan perifer guna diangkut kembali ke hati supaya dibuang bersamaan ke dalam empedu. Jalur ini disebut transportasi kolesterol terbalik (RCT). Sebaliknya, partikel LDL yang bersirkulasi, yang terbentuk dari lipoprotein kaya trigliserida setelah remodeling di plasma dan hati, menyelesaikan transportasi kolesterol ke sel yang membutuhkan lipid. Dalam hal ini, sel mengekspresikan tingkat LDL-receptor (LDLR) yang lebih tinggi, sebuah protein yang memediasi pengambilan partikel LDL melalui jalur endositosis yang dimediasi reseptor klasik. Dalam kasus kelebihan kolesterol tubuh total, kolesterol pada akhirnya akan terakumulasi dalam partikel LDL, yang menyebabkan sirkulasi berkepanjangan dalam aliran darah. Ketidakseimbangan ini akibatnya diikuti oleh oksidasi partikel itu sendiri, yang menyebabkan peningkatan potensi aterosklerotik dan kekakuan membran sel. Partikel LDL teroksidasi telah terbukti menginduksi kekakuan endotel. Proses aterogenik mengubah proses transportasi lainnya, seperti HDL transcytosis atas sel endotel, yang sangat penting untuk pembersihan lipid di intima. Seiring waktu, kolesterol dan lipid lainnya disimpan di dinding pembuluh darah, menyebabkan pembentukan plak. Namun, seluruh fenomena dimulai pada tingkat sel ketika sel dihadapkan dengan kelebihan kolesterol.<sup>26</sup>

Dengan bereaksi dengan berbagai biomolekul, seperti lipid, karbohidrat, protein, asam nukleat, dan makromolekul jaringan ikat, spesies oksigen reaktif (ROS) yang dihasilkan selama metabolisme oksidatif fisiologis atau fisiopatologis di mitokondria menyebabkan gangguan fungsi sel. Terdapat keseimbangan antara sistem pertahanan antioksidan dan produksi radikal bebas oksigen selama kondisi fisiologis normal. Stres oksidatif disebabkan oleh penurunan keseimbangan oksidan/antioksidan, yang biasanya disebabkan oleh produksi spesies oksigen reaktif yang berlebihan. Dalam berbagai penyakit manusia, stres oksidatif diketahui menjadi bagian dari jalur kerusakan jaringan molekuler dan seluler. Berbagai senyawa teroksidasi, terutama aldehid seperti malondialdehid (MDA) dan diena terkonjugasi, dihasilkan ketika lipoprotein membran dan asam lemak tak jenuh ganda diserang oleh radikal bebas. Sejumlah riset telah mengungkapkan bahwasanya MDA serum menurun sesudah suplementasi makanan dengan antioksidan dan meningkat pada individu dengan hiperlipidemia<sup>11</sup>.

Dislipidemia menyebabkan peningkatan sitokin pro inflamasi yang berperan dalam stress oksidatif dan proses inflamasi.<sup>1</sup> Antioksidan menjadi pilihan dalam upaya pengendalian dislipidemia. Kandungan antioksidan pada ekstrak kulit salak mampu mengurangi kadar MDA pada hasil penelitian ditunjukkan kelompok dosis 240 mg EEKS sama dengan kelompok dengan pemberian simvastatin dosis 0,18 mg, menunjukkan efek dari EEKS yang meredam peradangan sehingga menurunkan kadar MDA menyamai hasil dari kelompok simvastatin, membuktikan kandungan antioksidan dapat menjadi

pilihan alternatif dalam pengobatan berkaitan dislipidemia. Pengobatan juga pencegahan penyakit berbasis antioksidan ialah strategi terapeutik yang setara dengan intervensi farmakologis. Antioksidan kuat terbukti efektif dalam mengobati sejumlah penyakit, termasuk penyakit degeneratif yang sulit diobati.<sup>8</sup>

Metabolisme lipid dan peroksidasi penting dalam perkembangan peradangan, yang meningkat dengan beberapa komplikasi yang terkait dislipidemia.<sup>40</sup> IL-6 memiliki peran utama dalam hubungan antara peradangan, obesitas dan kardiovaskular penyakit. Beberapa temuan lain menunjukkan peningkatan interleukin (IL)-6 digunakan sebagai penanda peradangan sistemik dan penanda diagnostik kejadian aterosklerotik.<sup>41</sup>

Kelemahan dalam penelitian ini tidak melakukan analisis kadar IL-6 dan MDA sebelum pemberian EEKS, sehingga pada penelitian mendatang dapat dirancang dengan *pre post test group design* dan menambah variasi dosis besar yang memungkinkan efek yang lebih baik dari pada simvastatin.

## BAB VI

### KESIMPULAN

#### 6.1 Kesimpulan

Didasarkan atas temuan riset yang diperoleh diambil kesimpulan meliputi:

- 6.1.1 Pemberian ekstrak etanol kulit salak berpengaruh menurunkan kadar IL-6 pada tikus jantan galur *wistar* yang diinduksi diet tinggi lemak.
- 6.1.2. Pemberian ekstrak etanol kulit salak berpengaruh menurunkan kadar MDA pada tikus jantan galur *wistar* yang diinduksi diet tinggi lemak.

#### 6.2 Saran

Didasarkan atas riset yang sudah dijalankan, terdapat beberapa rekomendasi bagi riset selanjutnya:

- 6.2.1 Perlu dijalankan riset lanjutan mengenai dampak ekstrak etanol kulit salak dengan variasi dosis yang lebih tinggi
- 6.2.2 Perlunya melakukan pengujian parameter MDA dan IL-6 sebelum dilakukan intervensi dengan ekstrak etanol kulit salak (Pre-test).

## DAFTAR PUSTAKA

1. Najiao Hong et.al. 2022. The relationship between dyslipidemia and inflammation among adults in east coast China: A cross-sectional study. doi: [10.3389/fimmu.2022.937201](https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.937201).
2. Kiki Ikrima et.al. 2019. Peran Spesies Oksigen Reaktif Pada Inflamasi Serta Antioksidan Alami Sebagai Fitoterapi. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/22010>.
3. Puryono, Rahayedra Ivory et al. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Varietas Ekstrak Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) (Antioxidant Assay of Some *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss Varieties using DPPH (1,1 - Diphenyl - 2 - Picrylhydrazyl) Method).
4. World health Organization ( WHO ). Global Health Observatory ( GHO ) data. Available from : [http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/cholesterol/text/en/](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/cholesterol/text/en/). Accessed February 16.2023.
5. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI tahun 2013. Laporan Nasional Riset Kesehatan Daerah ( RISKESDAS)2013.2014.
6. Lin CF, Chang YH, Chien SC, Lin YH. Epidemiology dyslipidemia in Asia Pacific Region. *Int J Geront* 2018; 12:2-6
7. Park EJ, Chiang C, Munawar M et.al. Lipid Lowering Treatment in Hipercholesterolaemia Patients; The CEPHEUS Pan-Asians Survey. *Eur J Cardiovasc Prev Rehab*, 2011;19(4):781-794
8. Lin CF, Chang YH, Chien SC, Lin YH. Epidemiology of dyslipidemia in Asia Pasific Region. *Int J Geront* 2020;12;2-6
9. Mutiarahmi CN, Hartady T, Lesmana R. Use Of Mice A Experimental Animals In Laboratories That Refer To The Principles Of Animal Welfare: A Literaure review. *Indones Med Veterinus*. 2021 jan 31; 10(1):134-45.
10. Laufs U, Parhofer KG, Ginsberg Hn, Hegele RA. Clinical Review On Trigilerides. *Eur Heart J*.2020 Jan 1;41 (1);99-109c.

11. Yang, Rui-Li; Shi, Yong-Hui; Hao, Gang; Li, Wu; Le, Guo-Wei (2018). Increasing Oxidative Stress with Progressive Hyperlipidemia in Human; Relation between Malondyaldehyde and Atherogenic Index. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 43(3),154-158. Doi:10.3164/jcbrn.2018044.
12. Delpech, Bernard. (2019). *The Alkaloids Chemistry and Biology Vol 73 II The Saraine Alkaloid*. 223-329. Doi:10.1016/B978-0-12-411565-1.00004-4
13. Fikri Fatoni.2014. Studi Potensi Biji salak sebagai sumber alternatif monosakarida dengan cara hidrolisis menggunakan asam sulfat. (skripsi). FTP UGM; Yogyakarta
14. Soebardi s, Purnamasari D, Oemardi M, Soewondo P, Waspaji S, Soegondo S. Dyslipidemia in newly diagnosis diabets mellitus. The Jakarta surveilance 2006. *Acta Med Indones*, 41 (4);186-190,2009
15. Eckel RH, Cornier MA. Update on NCEP ATP-III emerging cardiometabolic risk factors. *BMC Med* 2014;12;115
16. Soegondo S. Aterogenic dyslipidemia and the metabolic syndrome. *Acta.Med Indones* 2015; 37(3);177-183
17. Jacobson AT, Ito KM, Maki CK et al. National Lipid Association (NLA ) recomendation for patient-entered management of dyslipidemia;part I (full report).*J Clin Lipid* 2015;9;129-169
18. Chaudury B, Aggarwal A. Diabetic dyslipidemia:Current concepts in pathipisiology and management. *J Clin Diag Res* 2018;12 (1);6-9
19. Rader JD, Kheterpal AS. Lipoprotein physiology in;Dyslipidemias pathopisiology, evaluation and management, Garg A (ed). Humana Press;1-12,2015
20. Grundy SM, Becker D, Clark LT. Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults.2019.
21. Cabazeas CM.Burggraaf B,Klop B. Dyslipidemia in clinical pratice. *Clin Chim Act*, 2018;487;117-125

22. Kopin L, Lowenstein JC. In the clinic. Dyslipidemia. *Ann Intern Med.* ACP 2017;ITC 81-ITC95
23. American Diabetes Association (ADA). Cardiovascular disease and risk management; Standarts of medical cere in diabetes. *Diab Care* 2018;41(1);S86-S104.
24. Fransiska I, Indahyani DE, Handayani ATW. Kadar Kolesterol pada Mencit (Mus-Musculus) Diabetes Setelah Konsumsi Ekstrak Rumput Laut Coklat (Phaeophyta). 2020;8;6.
25. Hafianie A, genest J. High Density Lipoproteins; Measurment techniques and High HDL-Cholesterol Level Always Benefical? *Biomedicines.* 2021. Aug 25;9(9);1083.
26. Zhang A, Yao Y, Xue Z, Guo X, Dou J, Lv Y, et al. A Study on the Factors Influencing Triglyceride Levels among Adults In Northeast China. *Sci Rep.* 2018 Dec;8 (1);6388
27. Agrawal M, Spencer Hj, Faas FH. The Method of LDL Cholesterol Measurment Influences Clasification of LDL Cholesterol to Treatment Goals; 2014;14.
28. Connelly MA, Shalaurova I, Otvus JD. High-density lipoprotein and inflamation in cardiovascular disease. *Transl Res.* 2016 Jul; 173;7-18
29. Laufs U, Parhofer KG, Ginsberg HN, Hegele RA. Clinical Review on trygliseride. *Eur Heart J.* 2020 Jan 1;41(1);99-109c.
30. Franczyk B, Rysz J, Lawinski J, Rysz-Gorzyriska M, Gluba-Brzozka A. Is a High HDL-Cholesterol Level Always Benefical? *Biomedicines.* 2021 Aug 25;9(9);1083
31. Zheng S. Crocetin attenuates atherosclerosis in hyperlipidemic rabbits through inhibition of LDL oxidation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2006;47:70–76. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
32. Kurnia H, Permatasari N, Subandi, Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam terhadap MDA dan sel spermatogonium tikus yang dipapar Asap Rokok Kretek Subakut. *J Kedokteran Brawijaya.* 2014.03.07

33. Harum Iriyanti, Susanto H, Rosidi A. 2017. Pemberian Tempe Menurunkan Kadar MDA dan Meningkatkan Aktifitas Enzim SOD pada tikus dengan aktifitas fisik tinggi. *Jurnal Gizi Pangan Universitas Dipenogoro Semarang*.
34. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Deng J, Li Y, Wang X, Zhao L. 2018. Inflammatory Responses and Inflammation – Association Disease in Organs, *oncotarget*, 9(96):7204-7218.
35. Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, Setyohadi B, Syam AF. *Panduan Pengelolaan Dislipidemia*. Jakarta: PAPDI. 2019
36. Handayani, TW., Widodo, A., Yanti, R., Prasetyo, E., Zulfaidah., dan Tandil, J. (2021). Analisis Metabolit Sekunder dan Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) Terhadap Kadar Glukosa dan Ureum Kreatinin Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 7(3): 161-168.
37. Adjeng, A. N. T., Hairah, S., Herman, S., Ruslin, R., Fitrawan, L. O. M., Sartinah, A., Ali, N. F. M., & Sabarudin, S. (2020). Skrining Fitokimia dan Evaluasi Sediaan Sabun Cair Ekstrak Etanol 96% Kulit Buah Salak Pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss.) Sebagai Antioksidan. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 5(2), 21–24. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v5i2.10170>
38. Afrianti, L.H., E.Y. Sukandar, S. Ibrahim, I.K. Adnyana (2010). Senyawa asam-2- metilester-1-H-pirol-4-karboksilat dalam ekstrak etil asetat buah salak varietas Bongkok sebagai antioksidan dan antihyperuricemia, *J.Teknol. dan Industri Pangan*, Vol.XXI No.1 Th.2010, 66-72.
39. Arikunto, S.(2010). *Prosedur penelitian: suatu pendekatan praktik*. Edisi Revisi Cetakan ke-14. Jakarta:Rineka Cipta.
40. De Souza Bastos A, Graves DT, de Melo Loureiro AP, Júnior CR, Corbi SC, Frizzera F, Scarel-Caminaga RM, Câmara NO, Andriankaja OM, Hiyane MI, Orrico SR. Diabetes and increased lipid peroxidation are associated with systemic inflammation even in well-controlled patients. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2016 Nov 1;30(8):1593-9.



41. Sarbijani HM, Khoshnia M, Marjani A. The association between Metabolic Syndrome and serum levels of lipid peroxidation and interleukin-6 in Gorgan. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2016 Jan 1;10(1):S86-9.
42. Heriwijaya IP, Jawi IM, Satriyasa BK. Uji efektivitas ekstrak air daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas*) terhadap profil lipid tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi pakan dislipidemia. *Intisari Sains Medis*. 2020 Aug 1;11(2):452-6.

