

PENGARUH PEMBERIAN AIR PERASAN BUAH JERUK BALI

(*Citrus maxima Merr.*) TERHADAP KADAR TRIGLISERIDA

Studi Ekeperimental terhadap Tikus Jantan Galur Wistar yang Diberi Diet

Tinggi Kolesterol

Karya Tulis Ilmiah

untuk memenuhi sebagian persyaratan

untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Moh Yully Ardiansyah

01.207.5395

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2011

PENGARUH PEMBERIAN AIR PERASAN BUAH JERUK BALI (*Citrus maxima Merr.*) TERHADAP KADAR TRIGLISERIDA
Studi Eksperimental terhadap Tikus Jantan Galur Wistar yang Diberi Diet Tinggi Kolesterol

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Moh Yully Ardiansyah

01.207.5395

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

pada tanggal, 4 Juli 2011

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



Dra. Edijanti Goenarwo, Apt.

Anggota Tim Penguji



dr. Hj. Chodidjah, M.Kes

Pembimbing II



Dr. Hj. Qathrunnada Djam'an, M.Si.Med.



Drs. Purwito Soegeng P. M.Kes

Semarang, Juli 2011

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp.And

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Moh Yully Ardiansyah

Nim : 01.207.5395

Dengan ini menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah yang berjudul :
Pengaruh Perasan Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima Merr*) Terhadap Kadar
Trigliserida

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, Juli 2011

Ttd

(materai

METERAI
TEMPEL
PAJAK NEGARAWAY KALINGGA
TGL
A7E9DAAF395213010



LIMA RIBU RUPIAH
6000

DJP

(Moh Yully Ardiansyah)

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas semua anugerah dan rahmatNya sehingga Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“Pengaruh Pemberian Air Perasan Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima Merr.*) terhadap Kadar Trigliserida studi terhadap tikus jantan galur Wistar yang diberi diet tinggi kolesterol”**.

Karya Tulis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Dr. dr. H. Taufiq R Nasihun, M.Kes, Sp.And., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dra. Edijanti Goenarwo, Apt dan dr. Hj. Qathrunnada Djam'an M.Si.Med., selaku dosen pembimbing I dan II yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
3. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes. dan Drs. Purwito Soegeng P., M.Kes., selaku dosen penguji yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Ibu Tika dan staf Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang yang telah membantu dalam penelitian ini.

Sebagai akhir kata dari penulis, penulis hanya bisa berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Wassalamu 'alaikum Wr.Wb

Semarang, Juli 2011

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Triglicerida	
2.1.1 Definisi	5
2.2 Fungsi.....	6
2.3 Metabolisme	7

2.4 Faktor yang mempengaruhi.....	9
2.5 Simvastatin	
2.5.1 Definisi.....	10
2.5.2 Farmakokinetik	11
2.5.3 Mekanisme Kerja	11
2.5.4 Penggunaan Terapi.....	12
2.5.5 Dosis	12
2.5.6 Efek Samping.....	13
2.6 Otak sapi.....	14
2.7 Hewan Coba.....	15
2.8 Jeruk Bali	
2.8.1 Definisi, morfologi dan penyebaran.....	16
2.8.2 Kandungan kimia	18
2.8.3 Manfaat jeruk bali	19
2.8.4 Efek Buah Jeruk Bali (<i>citrus maxima mer</i>) Terhadap kadar trigliserida.....	19
2.9 Kerangka Teori.....	22
2.10 Kerangka Konsep.....	23
2.11 Hipotesa.....	23
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1. Jenis Penelitian	24
3.2. Variabel dan Definisi Operasional	24
3.3. Populasi dan Sampel	25

3.4. Alat dan Bahan Penelitian	26
3.5. Cara Penelitian	27
3.6. Alur Penelitian	32
3.7. Tempat dan Waktu Penelitian	33
3.8. Analisis Data	33
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
4.1. Hasil Penelitian	34
4.2. Pembahasan	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	41
5.2. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	



DAFTAR SINGKATAN

HDL	:	<i>High Density Lipoprotein</i>
VLDL	:	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
LDL	:	<i>Low Density Lipoprotein</i>
IDL	:	<i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
LCAT	:	<i>Lesithin Cassete Asil Transferase</i>
CETP	:	<i>Cholesterol Ester Transfer Protein</i>
WHO	:	<i>World Health Organisation</i>
KK	:	Kelompok Kontrol
KP	:	Kelompok Perlakuan
APBJB	:	Air Perasan Buah Jeruk Bali



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Data kadar trigliserida mean dan standar deviasi tiap kelompok uji..	35
Tabel 2. Hasil Uji Post Hoc	36



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Grafik Mean Kadar Trigliserida	35
--	----



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Pembacaan Pemberian Air Perasan Buah Jeruk Bali terhadap
Kadar Trigliserida

Lampiran 2. Uji *Descriptives*

Lampiran 3. Uji Normalitas

Lampiran 4. Uji *Levene* tes

Lampiran 5. Uji *One way Anova*

Lampiran 6. Uji *Post Hoc*

Lampiran 7. Gambar-Gambar Penelitian

Lampiran 8. Surat Penelitian



INTI SARI

Buah jeruk bali berkhasiat untuk menurunkan kadar trigliserida, kandungan jeruk bali seperti pectin, flavonoid, likopen dan vitamin C lebih banyak dari pada jeruk yang biasa dikonsumsi. Kandungan zat tersebutlah yang mampu menurunkan kolesterol karena kolesterol merupakan salah satu faktor resiko penyakit jantung koroner. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian air perasan buah jeruk bali terhadap kadar trigliserida.

Penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* ini menggunakan tikus jantan galur wistar dibagi 5 kelompok secara random. KK (-) sebagai kontrol negatif (pakan standar, aquadest dan otak sapi), KK (+) diberi pakan standar, aquadest, otak sapi dan simvastatin 0,18 mg sebagai kontrol positif, KP I diberi pakan standar, aquadest, otak sapi mg dan air perasan buah jeruk bali 1,25 ml, KP II diberi pakan standar, aquadest, otak sapi dan air perasan buah jeruk bali 2,5 ml, KP III diberi pakan standar, aquadest, otak sapi dan air perasan buah jeruk bali 3,75 ml. Perlakuan ini diberikan 1x sehari secara sonde selama 21 hari. Pada hari ke 21 tikus jantan galur Wistar dipuaskan selama 12 jam dan setelah itu dilakukan pengambilan serum. Data diuji dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis, dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

Hasil rerata penurunan kadar trigliserida yaitu KK (-): 166,2, KK (+): 42,44, KP I: 28,32, KP II: 53,22 KP III: 55,68. Hasil uji One Way Anova, menunjukkan terdapat perbedaan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Uji lanjut dengan *Post Hoc*, menunjukkan KK (-) berbeda dengan seluruh kelompok perlakuan lainnya, KP I berbeda dengan KP II dan KP III, kecuali KK (+) tidak berbeda dengan KP I, KP II, KP III dan KP II dengan KP III.

Kesimpulannya air perasan buah jeruk bali berpengaruh menurunkan kadar trigliserida terhadap tikus jantan galur Wistar yang diberi diet tinggi kolesterol.

Kata kunci : air perasan buah jeruk bali, jeruk bali, kadar trigliserida



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jeruk bali (*Citrus maxima Merr*) merupakan salah satu buah yang disukai banyak orang karena rasanya manis, agak masam serta baunya menyegarkan. Jeruk bali memiliki kandungan vitamin C tinggi dan juga zat – zat lainnya yang berkhasiat dalam mengatasi berbagai macam penyakit. Jeruk bali lebih diminati masyarakat daripada beberapa tumbuhan berkhasiat yang rasanya pahit seperti daun papaya dan lainnya. Keuntungan lain jeruk bali adalah lebih praktis ketika mengkonsumsinya karena tidak perlu direbus atau dibuat ekstrak terlebih dahulu (anonim 1, 2009). Selain itu Jeruk bali *Citrus.maxima Merr* merupakan salah satu bahan alami yang dapat membantu menurunkan kadar kolesterol LDL, trigliserida dan menaikkan kadar kolesterol HDL, sehingga secara nyata dapat menurunkan kadar kolesterol total. Dibandingkan dengan jeruk yang biasa dikonsumsi, jeruk bali memiliki lebih banyak kandungan pektin yang lebih banyak. Pektin inilah yang dipercaya mampu menurunkan kolesterol sekaligus mengurangi risiko sakit jantung. Kandungan likopen jeruk bali juga berguna untuk meningkatkan daya tahan tubuh. Selain itu jeruk bali juga baik untuk kesehatan gusi karena kadar vitamin C-nya tinggi. Manfaat lainnya adalah dapat membersihkan sel darah merah yang telah tua didalam tubuh dan menormalkan hematokrit (persentase sel darah per volume darah). Sekaligus sebagai sumber antioksidan penangkal kanker (Nenk, 2009). Apriani (2006) dengan judul pengaruh pemberian

ekstrak buah jeruk bali (*Citrus maxima Merr.*) sebesar 30,83 mg/20gBB dan 61,66 mg/20gBB terhadap penurunan kadar kolesterol total serum mencit yang diberi diet tinggi kolesterol berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol total mencit yang diberi diet tinggi kolesterol.

Penyakit jantung koroner (PJK) merupakan dampak dari peningkatan metabolisme lemak yaitu, salah satunya adalah peningkatan kadar trigliserida. Prevalensi penderita penyakit jantung koroner semakin meningkat dari tahun 2006, 2007 dan 2008 masing-masing 1,5% menjadi 1,6% dan 1,7% (Depkes Jateng, 2009). Penyakit jantung koroner (PJK) merupakan problema kesehatan utama di negara maju. Di Indonesia telah terjadi pergeseran kejadian Penyakit Jantung dan pembuluh darah dari urutan ke-8 tahun 1999 menjadi urutan ke-5 tahun 2005. (Sukaman, 2008)

Jeruk bali mengandung pektin jauh lebih banyak dibandingkan dengan jenis jeruk lainnya. Satu jus jeruk bali mengandung lebih dari 3,9% pektin. Setiap 15 gram pektin dapat menurunkan 10% tingkat kadar kolesterol dalam darah. Hal ini menunjukkan bahwa jeruk bali dapat menurunkan kolesterol dan menurunkan resiko penyakit jantung (Anonim, 2008). Selain itu Jeruk Bali juga mengandung pektin yang merupakan jenis enzim atau senyawa hemiselulosa yang berupa serat tak cerna, dan telah diketahui bahwa enzim berfungsi untuk proses pemecahan dan penyerapan nutrisi dan makanan sehingga dapat meningkatkan produksi enzim pencernaan. menangkap bahan-bahan toksik diusus dan mempercepat pengeluaran kotoran dari dalam tubuh, namun ada juga yang berfungsi sebagai anti oksidan untuk membantu sistem

imun (Olivia dkk, 2006). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa di dalam usus halus, pektin dapat meningkatkan viskositas dan mempengaruhi proses pencernaan dan penyerapan makanan (Marounek, *et al.* 2007). Beberapa peneliti melaporkan bahwa pengaruh pektin dapat mengurangi konsentrasi kolesterol pada plasma darah tikus (Judd dan Truswell, 1985; Arjmandi, *et al.* 1992, Hexeberg, *et al.* 1994), hamster (Terpstra, *et al.* 1998), Terpstra, *et al.* 2002) dan babi (Fernandez, *et al.* 1994). Selanjutnya pektin yang dicampurkan dalam makanan hewan dapat menurunkan daya cerna protein dan bahan organik pada pencernaan di usus halus (Mosenthin, *et al.* 1994), dan meningkatkan ekskresi nitrogen dalam feses (Pastuszewska, *et al.* 2000). Pemberian pektin dapat mempengaruhi aktivitas enzim-enzim yang berperan pada biosintesis kolesterol dan asam empedu. Adanya pektin dalam makanan dapat meningkatkan aktivitas enzim kolesterol 7 α -hidroksilase (Fernandez, *et al.* 1999 Sajuthi, *et al.* (1995).

Berdasarkan penelitian terdahulu Apriani (2006) bahwa ekstrak buah jeruk bali berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol total dengan menggunakan hewan coba mencit yang sebelumnya diberi diet tinggi kolesterol, maka peneliti akan melakukan penelitian dengan menggunakan Air perasan buah jeruk bali terhadap kadar trigliserida tikus jantan galur wistar diberi diet tinggi kolesterol.

1.2 Perumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut di atas dapat di rumuskan permasalahan sebagai berikut” Adakah pengaruh pemberian air perasan buah jeruk bali. (*Citrus maxima herr*) terhadap kadar trigliserida pada Tikus Jantan Galur Wistar yang diberi diet tinggi kolesterol?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum:

Mengetahui pengaruh pemberian air perasan buah jeruk bali. (*Citrus maxima herr*) terhadap kadar trigliserida pada Tikus Jantan Galur Wistar yang mendapat diet tinggi koesterol.

1.3.2 Tujuan Khusus:

1.3.2.1. Untuk mengetahui kadar trigliserida pada tikus jantan galur Wistar yang mendapat diet tinggi kolesterol.

1.3.2.2. Untuk mengetahui kadar trigliserida pada tikus jantan galur Wistar terhadap pemberian air perasan buah jeruk bali. (*Citrus maxima herr*) dengan berbagai dosis yang mendapat diet tinggi kolesterol.

1.3.2.3. Untuk menganalisis pengaruh pemberian air perasan buah jeruk bali. (*Citrus maxima herr*) terhadap kelompok tikus jantan galur Wistar yang mendapat diet tinggi kolesterol terhadap kadar trigliserida.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Teoritis

Sebagai sumber informasi untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai manfaat dan kandungan perasan jeruk bali. (*Citrus maxima herr*)

1.4.2 Praktis

Mencari alternatif dalam menurunkan kadar trigliserida dengan memanfaatkan bahan tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Trigliserida

2.1.1 Definisi

Trigleserida (atau lebih tepatnya triasil gliserol atau triasilgliserida) adalah sebuah trigliserida, yaitu ester dari glesirol dan tiga asam lemak. Trigliserida



merupakan penyusun utama minyak nabati dan lemak hewani. Rumus kimea trigliserida adalah $\text{CH}_2\text{COOR}' - \text{CHCOOR}'' - \text{CH}_2 - \text{COOR}'''$, dimana R, R'

masing-masing adalah sebuah rantai alkil yang panjang. Ketiga asam lemak $\text{R}'\text{COOH}$ dan $\text{R}''\text{COOH}$ bisa jadi semuanya sama, semuanya berbeda ataupun hanya dua diantaranya yang sama, jenuh ataupun tidak jenuh. (M.jewski, 2001)

Panjang rantai asam lemak pada trigliserida yang terdapat secara alami dapat bervariasi, namun panjang yang paling umum adalah, 16, 18, atau 20 atom karbon. Asam lemak alami yang ditemukan pada hewan dan tumbuhan biasanya terdiri dari jumlah atom karbon yang genap disebabkan cara asam lemak di biosintesis dari asetil KoA. Sekalipun begitu bakteri memiliki kemampuan untuk menyintesis asam lemak dengan atom karbon ganjil ataupun rantai bercabang.

Karena itu, hewan memamah biak biasanya memiliki asam lemak berkarbon ganjil, misalnya 15, karena aksi bakteri di dalam lumennya. (M.Jewski, 2001)

Kebanyakan lemak alami memiliki lemak kompleks dari berbagai macam trigliserida; karena ini lemak mencair pada suhu yang berbeda-beda (M.Jewski, 2001). Titik leleh asam lemak dengan atom karbon berjumlah genap akan meningkat menurut panjang rantai dan menurun menurut ketajenuhannya. Dalam praktiknya, senyawa Asilgliserol alami mengandung campuran asam lemak yang disesuaikan dengan peran fungsionalnya. Lipid membrane, yang harus berbentuk cair pada segala suhu lingkungan, bersifat lebih tak jenuh dibandingkan lipid cadangan. Lipid di dalam jaringan yang terpajan pada suhu dingin, misal pada hewan hibernator atau pada ekstremitas hewan, bersifat tak jenuh. (PA Mayes, 2000)

2.2 Fungsi

Trigliserida sebagai zat energi. Lemak disimpan di dalam tubuh dalam bentuk trigliserida. Apabila sel membutuhkan energi, enzim lipase dalam sel lemak akan memecah trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak serta melepaskannya ke dalam pembuluh darah. Oleh sel-sel yang membutuhkan komponen-komponen tersebut kemudian dibakar dan menghasilkan energi, karbondioksida (CO₂), dan air (H₂O). (Smaolin L. A & Grosvenor M. B, 1997)

Trigliserida dalam tubuh di gunakan untuk menyediakan energi berbagai proses metabolisme, fungsi lipid ini mempunyai peranan yang hampir sama dengan karbohidrat. (Arthur C Guyton, 1991)

2.3 Metabolisme

Sebagian besar lemak yang kita makan berbentuk trigliserida. Lemak kolesterol dan trigliserida dari makanan dicerna pada waktu dimakan. Usus/pencernaan menghasilkan partikel kecil yang disebut kilomikron dengan jalan menggabungkan trigliserida dan kolesterol dengan protein. Kilomikron yang mengandung kadar trigliserida tinggi kemudian dilepaskan kedalam aliran darah, kilomikron dipecah oleh enzim Lipoprotein lipase dengan melepaskan asam lemak dari rangka gliserol. Asam lemak yang dibebaskan ini diambil oleh otot sebagai energy atau disimpan dalam jaringan lemak sebagai lemak untuk pemakaian bila diperlukan. Partikel yang tertinggal disebut kilomikron remnant berukuran lebih kecil, dengan komposisi kolesterol lebih tinggi dari semula. Kilomikron remnant beredar dalam darah, akhirnya diserap oleh darah. (PA Mayes, 2000)

Didalam hepar, kilomikron hasil dari proses pencernaan bahan makanan dipisah-pisahkan menjadi kolesterol dan trigliserida. dihepar ini pula, kolesterol dan trigliserida disintesis dari karbohidrat. Bahkan sebagian besar 80% dibuat oleh tubuh dan hanya 20% masuk bersama bahan makanan. Sebagian dari kolesterol kemudian dikirim ke empedu sebagai asam empedu, sebagian lagi bergabung bersama trigliserida dan protein (Apoprotein B), ketiganya lalu diangkut VLDL. (PA Mayes, 2000)

Setelah kolesterol dan trigliserida dimuat, VLDL pun dilepaskan ke darah. Sewaktu VLDL bersirkulasi, ia membongkar trigliserida yang kemudian dipakai sebagai energy oleh jaringan atau disimpan sebagai lemak. VLDL kehilangan sebagian besar dari trigliseridanya, maka VLDL tersebut disebut VLDL remnant yang lebih kecil. VLDL remnant di ambil oleh hepar melalui reseptor atau dipecah lebih jauh menjadi IDL (Intermediate Density Lipoprotein). IDL dapat di ambil oleh reseptor atau di ubah menjadi LDL. Jadi hasil akhirnya adalah LDL yang miskin akan trigliserida. (PA Mayes, 2000)

LDL mengandung paling banyak kolesterol 45% dari semua jenis lipoprotein sehingga merupakan pengirim atau pembawa kolesterol utama dalam darah. Sel-sel yang membutuhkan lalu menerima kolesterol. Namun apabila makanan kita banyak mengandung kolesterol atau lemak jenuh, kadar LDL dalam darah tinggi. Kelebihan LDL akan melayang-layang dalam darah dengan resiko penumpukan atau pengendapan kolesterol pada dinding pembuluh darah arteri yang diikuti terjadinya atherosclerosis. (PA Mayes, 2000)

Tabel Kadar Trigliserida darah puasa pada orang dewasa menurut *NCEP ATP III (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel)*

Kurang dari 150 mg/dL (<1.7 mmol/L)	Normal
150-199 mg/dL (1.7-2.3 mmol/L)	Bonderline-tinggi
200-499 mg/dL (2.3-5.64 mmol/dL)	Tinggi
Lebih dari 500 mg/dL (>5.64 mmol/L)	Sangat Tinggi

2.4 Faktor yang mempengaruhi kadar trigliserida darah pada manusia

2.4.1 Usia dan Jenis Kelamin

Pada wanita premenopause mempunyai kadar kolesterol yang lebih rendah dari pada pria dengan usia yang sama. Setelah menopause, kadar trigliserida pada wanita cenderung meningkat. (Karyadi, 2006)

2.4.2 Aktifitas Fisik

Olah raga teratur memberikan pengaruh baik pada profil lipid plasma. Konsentrasi trigliserida juga menurun, tampaknya akibat sensitasi insulin meningkat, yang meningkatkan ekskresi lipoprotein lipase. (Murray dkk, 2003)

2.4.3 Berat Badan

Umumnya orang obesitas memiliki kadar trigliserida darah yang tinggi, karena trigliserida banyak disimpan di kulit. Simpanan trigliserida yang berlebihan sewaktu-waktu berpotensi berubah menjadi kolesterol VLDL dan HDL di hati. (Karyadi, 2006)

2.4.4 Genetik

FHT (Familial Hipertrigliseridemia) adalah penyakit genetik dimana pasien memiliki kadar trigliserida dan VLDL yang amat tinggi. Pada FHT terdapat kenaikan produksi LDL sebagai akibat dari kenaikan produksi VLDL. Tetapi liver membuat VLDL partikel yang mengandung lebih banyak trigliseridanya di banding ukuran normal VLDL. (Soeharto, 2001)

2.4.5 Diet Tinggi Lemak

Ester kolesterol dalam makanan berlemak di hidrolisis menjadi kolesterol, yang kemudian bercampur dengan kolesterol yang tidak teresterifikasi dari makanan dan kolesterol empedu sebelum penyerapan dari usus bersama dengan unsure lipid lainnya. Senyawa ini bercampur dengan kolesterol yang di sintesis di usus halus dan kemudian di satukan dalam kilomikron. Ketika kilomikron bereaksi dengan lipoprotein lipase untuk membentuk sisa kilomikron, hanya sekitar 5% ester kolesterol yang hilang sisanya di ambil oleh hati ketika sisa kilomikron bereaksi dengan sisa reseptor LDL dan di hidrolisis menjadi kolesterol. VLDL yang terbentuk di hati mengangkut kolesterol ke dalam plasma. Sebagian kolesterol didalam VLDL tertahan pada sisa VLDL (IDL) yang di ambil oleh hati atau di konversi menjadi LDL sehingga akan meningkatkan kadar trigliserida darah dan LDL dalam hati dan jaringan ekstra hepatic. (Murray dkk, 2003)

2.5 Simvastatin

2.5.1 Definisi

Simvastatin termasuk didalam golongan statin kuat, dimana statin merupakan senyawa yang paling efektif untuk mengobati dislipidemia. Obat ini merupakan inhibitor kompetitif 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) reduktase, yang mengkatalisis tahap awal pembatas laju pada biosintesis kolesterol. Simvastatin dalam dosis tinggi juga dapat menurunkan kadar trigliserida yang naiknya kadar

Very Low Density Lipoprotein (VLDL), selain itu juga dapat menaikkan kadar High Density Lipoprotein-C (HDL-C).

Simvastatin juga merupakan senyawa antilipemic derivat asam mevinat yang mempunyai mekanisme kerja menghambat 3-hidroksi-3-metil-glutaril-koenzim A (HMG-CoA) reduktase yang mempunyai fungsi sebagai katalis dalam pembentukan kolesterol. HMG-CoA reduktase bertanggung jawab terhadap perubahan HMG-CoA menjadi asam mevalonat (Bull dan Morrel, 2007).

2.5.2 Farmakokinetik

Simvastatin diberikan secara oral, biasanya pada malam hari untuk mengurangi tingginya kolesterol sistesis di pagi hari. Simvastatin merupakan bentuk statin yang tidak aktif, sehingga harus dihidrolisis dulu di hati untuk bisa menjadi *active form* (Rang dan Dales, 2007).

2.5.3 Mekanisme Kerja

Simvastatin memberikan efek utamanya yaitu menurunkan Low Density Lipoprotein (LDL) melalui gugus mirip asam mevalonat yang menghambat HMG-CoA reduktase secara kompetitif melalui penghambatan produk. Simvastatin mempengaruhi kadar kolesterol darah dengan menghambat pembentukan kolesterol dalam hati, dan meningkatkan reseptor LDL yang terdapat di membran sel hati sehingga menyebabkan LDL dalam plasma menjadi lebih sedikit. Simvastatin cenderung menurunkan trigliserida dan meningkatkan High Density Lipoprotein (HDL).

Simvastatin merupakan obat yang menurunkan kadar kolesterol (hipolipidemik). Mekanisme kerjadari metabolic aktif tersebut dengan cara menghambat 3-hidroksi-3-metil-glutaril-koenzim A (HMG-CoA), dimana enzim ini mengkatalisis perubahan HMG-CoA menjadi asam mevalonat yang merupakan langkah awal sintesis kolesterol (Bull dan Morrell, 2007).

2.5.4 Penggunaan Terapi

Simvastatin efektif dalam menurunkan kadar kolesterol plasma pada semua jenis hiperlipidemia. Simvastatin diberikan bersamaan dengan obat antihiperlipidemik yang lain, karena itu pemberian simvastatin perlu dibarengi strategi lain seperti diet, latihan atau pemberian obat antihiperlipidemik lain guna kombinasi terapi (Mycek J.M dan Harvey A.R, 2001).

2.5.5 Dosis:

- a. Dosis awal: 5-20 mg melalui mulut (per oral), 1 kali sehari pada malam hari.
- b. Cakupan dosis: 5-40 mg melalui mulut (per oral), 1 kali sehari pada malam hari.
- c. Dosis maksimum: 80 mg/hari melalui mulut (per oral).
- d. Untuk penyakit *hypercholesterolemia* utama dan *dyslipidemia* campuran: 10-20 mg melalui mulut (per oral), 1 kali sehari pada malam hari, sesuaikan pada jarak 4 minggu.

- e. Cakupan dosis: 10-80 mg melalui mulut (per oral), 1 kali sehari pada malam hari.
- f. Untuk penyakit *homozygous familial hypercholesterolemia*: 40 mg melalui mulut (per oral), 1 kali sehari pada malam hari, atau 80 mg melalui mulut (per oral) dalam 3 dosis terbagi, yaitu 20 mg, 20 mg dan dosis malam 40 mg.

(Mycek J.M dan Harvey A.R, 2001).

2.5.6 Efek Samping

Terdapat beberapa efek samping simvastatin, antara lain :

2.5.6.1 Hati

Kelainan biokimiawi fungsi hati terjadi dalam penggunaan inhibitor HMG-CoA reduktase. Karena itu, sangat diperlukan menilai fungsi hati dan mengukur kadar serum transaminase secara periodik. Semua akan kembali normal apabila konsumsi obat dihentikan.

2.5.6.2 Otot dan ginjal

Miopati dan rhabdomyolisis (disintegrasi atau disolusi otot) jarang dilaporkan. Dalam beberapa kasus, pasien biasanya menderita insufisiensi ginjal sehingga kadar kreatin kinase plasma harus diperiksa secara teratur.

2.5.6.3 Interaksi obat

Inhibitor HMG-CoA reduktase juga meningkatkan kadar *kumarin*. Sehingga harus sering mengevaluasi waktu protrombin

2.5.6.4 Kontraindikasi

Simvastatin merupakan kontraindikasi bagi ibu hamil, menyusui dan tidak boleh digunakan pada anak – anak (Mycek J.M. dan Harvey A.R, 2001)

2.6 Otak sapi

Kadar kolesterol meningkat bila mengkonsumsi makanan yang banyak mengandung kolesterol atau lemak jenuh baik dari sumber nabati maupun hewani. Peningkatan kolesterol juga terjadi akibat menurunnya pengeluaran kolesterol ke usus melalui asam empedu atau produksi kolesterol di hati meningkat karena factor genetic.

Otak sapi adalah salah satu makanan yang mengandung kadar kolesterol dan asam lemak jenuh tinggi. Kandungan kolesterol dalam 10gr otak sapi adalah 2100 mg dan kandungan asam lemak jenuhnya 1,8 gr/ons (Hardjono, 2009). Idealnya, konsumsi makanan yang mengandung lemak sebesar 30%, karbohidrat 50%, dan protein 20%. Untuk itu usahakan untuk tidak mengkonsumsi kolesterol lebih dari 300 mg per hari. Penambahan kolesterol sebesar 200 mg tiap 100 gram pakan dapat meningkatkan kadar kolesterol serum sebelum perlakuan bahkan mencapai hiperkolesterolemia (Baraas, 2001). Diet yang terlalu banyak mengandung kolesterol dapat menyebabkan hiperkolesterolemia (Kotiah, 2007).

Kelebihan kadar kolesterol dalam darah dapat meningkatkan resiko berbagai macam penyakit. Kolesterol yang berlebihan dalam tubuh akan tertimbun di dalam pembuluh darah dan menyebabkan kondisi yang

dinamakan aterosklerosis, yaitu penyempitan atau pengerasan pembuluh darah. Kondisi ini yang menjadi cikal bakal terjadinya penyakit jantung dan stroke (Kotiah, 2007).

2.7 Hewan Coba

Tikus mempunyai ukuran tubuh yang lebih besar daripada mencit sehingga membuat tikus lebih sering digunakan dalam penelitian. Lambung tikus terdiri dari dua bagian yaitu non glandular dan glandular. Small intestine terdiri dari duodenum, jejunum dan ileum. Pada umur 2 bulan berat badannya mencapai 200 - 300 gram. Tikus tergolong hewan yang mudah dipegang, dikendalikan atau dapat diambil darahnya dalam jumlah besar sehingga materi dapat diberikan dengan mudah lewat berbagai rute. Secara fisiologi, tikus diperkirakan sesuai atau identik dengan manusia (kusumawati, 2004)

Kadar kolesterol total normal pada tikus ini sebesar 10,0 – 54,0 mg/dl (Kusumawati, 2004)

2.7.1 Taksonomi

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Superfamily	: Muroidea
Spesies	: Rattus norvegicus

2.8 Jeruk Bali

2.8.1 Definisi, Morfologi dan Penyebaran

Semua jeruk berasal dari asia, terutama India dan Cina. Jeruk mulai dibudidayakan setidaknya sejak tiga ribu tahun silam. pohon – pohon jeruk mulai ditanam pada abad 13 di Spanyol, sedangkan pohon – pohon jeruk keprok diportugal abad ke 15. Pohon – pohon jeruk mandarin dibawa ke provence dan afrika utara pada tahun 1800an. Dalam waktu yang lama jeruk menempati posisis sebagai buah istimewa, tetapi kini jeruk demikian merakyat, bahkan masuk dalam diet di banyak Negara dan dimanfaatkan dalam berbagai tradisi memasak diduga, ada satu miliar batang pohon jeruk di tanam di seluruh dunia, dan menghasilkan hamper 100 juta ton buah setiap tahun. (Wijayakusuma, 2007)

Jeruk Bali atau *Citrus maxima* (Rutaceae) adalah tumbuhan menahun (perennial) dengan karakteristik tinggi pohon 5-15 meter. Batang tanaman agak kuat, garis tengah 10-30 meter, berkulit agak tebal, kulit bagian luar berwarna coklat kekuningan, bagian dalam berwarna kuning. Pohon jeruk mempunyai banyak cabang yang terletak saling berjauhan dan merunduk pada bagian ujungnya. Cabang yang masih muda bersudut dan berwarna hijau, namun lama-lama menjadi berbentuk bulat dan berwarna hijau tua. Tajuk pohon agak rendah dan tidak teratur. Daun tanaman berbentuk bulat telur dan berukuran besar, dengan bagian puncak atau ujung tumpul dan bagian

tepi hampir rata, serta bagian dekat ujung agak berombak. Letak daun terpecah dengan tangkai daun bersayap lebar, warna kekuningan, dan berbulu agak suram. (Asroruddin, 2004)

Ciri khas *Citrus maxima* adalah buah berukuran besar dan berkulit tebal sehingga tahan disimpan dan diangkut dalam jarak jauh. Buah berbentuk bulat atau bola yang tampak tertekan dan berkulit agak tebal, berisi 11- 16 segmen. Warna daging buah merah muda atau merah jambu. Daging buah memiliki tekstur keras sampai lunak, rasa manis sampai sedikit asam, dan berbiji sedikit. (Van Steenis, 2000)

Secara taksonomi (*Citrus maxima* herr) termasuk dalam klasifikasi sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta (berbiji)
Sub-Divisi	: Angiospermae (berbiji tertutup)
Kelas	: Dicotyledonae (berkeping dua)
Sub-kelas	: Choripetalae
Bangsa	: Geraniales
Suku	: Rutaceae
Marga	: Citrus
Jenis	: <i>Citrus maxima</i> (Burm. Fz) Merr (Van Steenis, 1968)

2.8.2 Kandungan Kimia

1. Kulit buah mengandung kristalin, glukosida, hesperidin, rutin, pectin, naringin, peroksida juga mengandung minyak menguap yang terdiri dari d-pinene, d-limonene, linalool, geraniol dan ester.

2. Daging buah mengandung sakarosa, asam folat, gula pereduksi, zat besi, kalsium, kalium, fosfor, sodium, vitamin A, vitamin B kompleks, vitamin C. (Wijayakusuma, 2007)
3. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang terdapat pada teh, buahbuahan, sayuran, anggur, bir dan kecap. Aktivitas antioksidan flavonoid tergantung pada struktur molekulnya terutama gugus prenil $(CH_3)_2C=CHCH_2-$.
4. Gugus prenil flavonoid dikembangkan untuk pencegahan atau terapi terhadap penyakit-penyakit yang diasosiasikan dengan radikal bebas. (Birt et al., 2001).
5. Likopen merupakan pigmen karotenoid yang membawa warna merah. Pigmen ini termasuk ke dalam golongan senyawa fitokimia yang mudah ditemui pada tomat, jeruk, semangka, dan buahbuahan lain yang berwarna merah. Selain itu, pigmen ini juga terdapat di dalam darah manusia, yaitu 0,5 mol/liter darah. Nama likopen diambil dari spesies tomat yaitu *Solanum lycopersicum*. (Giovannucci, 2005)
6. Jus jeruk bali mengandung pektin jauh lebih banyak dibandingkan dengan jenis jeruk lainnya. Satu porsi jus jeruk bali mengandung lebih dari 3,9 persen pektin. Pektin merupakan serat larut air, yang di dalam tubuh dapat bekerja sebagai penurun kolesterol. (Astawan, 2010)

2.8.3 Manfaat Jeruk Bali

1. Manfaat tanaman jeruk sebagai makanan buah segar atau makanan olahan, dimana kandungan vitamin C yang tinggi.
2. Di Beberapa negara telah diproduksi minyak dari kulit dan biji jeruk, gula tetes, alkohol dan pektin dari buah jeruk yang terbuang. Minyak kulit jeruk dipakai untuk membuat minyak wangi, sabun wangi, esens minuman dan untuk campuran kue.
3. Beberapa jenis jeruk seperti jeruk nipis dimanfaatkan sebagai obat tradisional penurun panas, pereda nyeri saluran napas bagian atas dan penyembuh radang mata. (Prihatman, 2000)

2.8.4 Efek Buah Jeruk Bali (*citrus maxima mer*) Terhadap kadar trigliserida

Jeruk bali mengandung pectin, dalam saluran pencernaan pectin akan mengikat asam empedu dan meningkatkan ekspresinya dalam feses sehingga mengurangi jumlah asam empedu yang diserap kembali dari usus kehati banyaknya asam empedu yang dibuang dapat menghambat makanan bercampur dengan enzim pencernaan, dan pembentukan misel berkurang sehingga mengurangi penyerapan zat makanan diusus akibatnya, trigliserida akan berkurang (Winarsi, 2001). Resintesis trigliserida dalam usus juga menurun hal ini akan menyebabkan trigliserida yang diangkut ke dalam aliran darah akan ikut berkurang dan kadar trigliserida serum darah akan menurun.

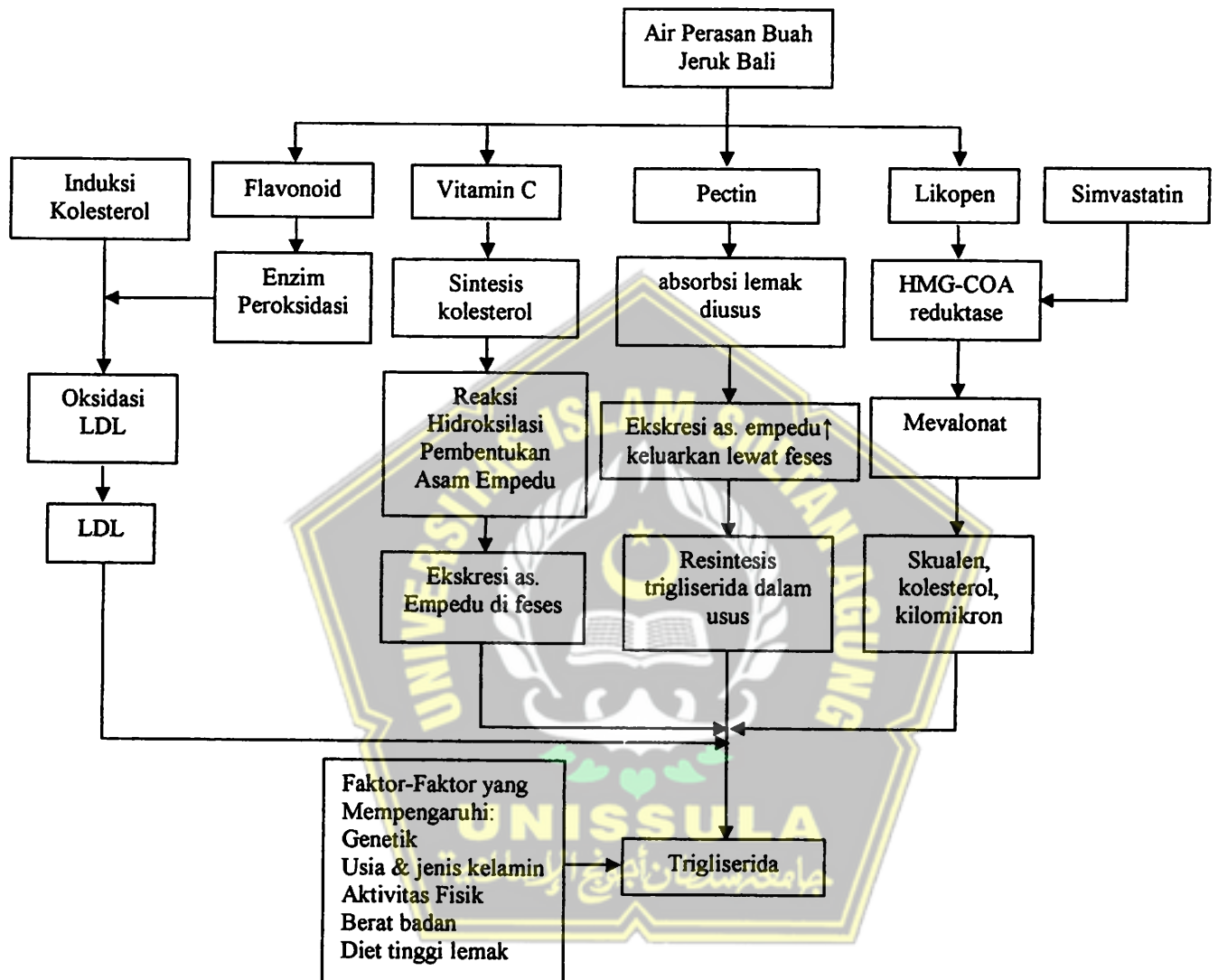
Citrus maxima merr mengandung flavanoid berfungsi sebagai anti oksidan yang paling utama, lebih kuat dari vitamin C dan vitamin E dalam fungsinya menetralkan radikan bebas, dan bekerja secara sinergis (saling memperkuat) dengan vitamin C. Dari penelitian juga dilaporkan bahwa sebagian besar berfungsi menurunkan resiko dari beberapa bentuk kanker dan penyakit kardiovaskuler termasuk PJK akibat aterosklerosis. Senyawa flavanoid berfungsi sebagai anti oksidan pelindung pembuluh darah, menangkap radikal bebas superoksida dan menghambat oksidasi kolesterol jahat (LDL) sehingga dapat mengatasi masalah aterosklerosis, dengan cara mengurangi jumlah platelet yang melekat pada dinding pembuluh darah dan saling melekat satu sama lain, sebagai penyebab PJK dan stroke (Yuliarti, 2008).

Kandungan vitamin C pada jeruk bali juga dapat menurunkan kadar kolesterol dengan membantu biosintesis asam empedu pada tahap awal reaksi 7^{α} hidroksilasi dan dalam biosintesis kolesterol yang berada pada tahap HMG-COA reduktase, sehingga terjadi peningkatan sintesis kolesterol menjadi asam empedu dihati (Muray, 2003). Lipoprotein dan kolesterol diubah oleh hati menjadi bahan empedu dan disimpan dalam kantong empedu. Ada dua kemungkinan bila empedu masuk ke dalam usus halus. Pertama sebagai bahan pengemulsi lemak sehingga diabsorpsi kembali oleh dinding usus dan diedarkan kembali. Kedua bahan empedu dalam usus halus diserap

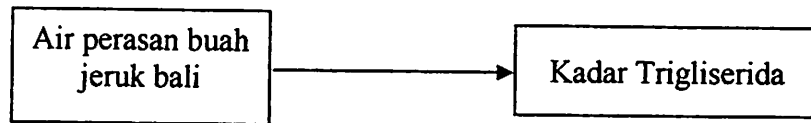
diedarkan kembali. Kedua bahan empedu dalam usus halus diserap oleh serap makanan tertentu dan dikeluarkan dari tubuh lewat feses. Karena empedu terbuat dari kolesterol, pengeluarnya dari tubuh dapat menurunkan kolesterol dan kadar trigliserida (Almatsier, 2001)

Likopen termasuk kandungan dari jeruk bali, mekanisme penurunan kadar kolesterol dan trigliserida oleh likopen terjadi melalui penghambatan aktivitas enzim HMG-COA (3-hidroks-3-metilglutanil coenzim A) reduktase (Anonim, 2004). Sebagai mana aktivitas yang ditunjukkan oleh obat modern penurun lemak yaitu levostatin (golongan statin) reaksi yang dikatalisasi oleh HMG-COA reduktase ini adalah reaksi penentu kecepatan pembentukan kolesterol. Enzim ini menyebabkan terbentuknya mevalonat dari HMG-COA. Mevalonat akan diubah menjadi skualen, lanosterol, dihidrolanosterol, D 8-dimetil sterol, 7 - dihidrokolesterol dan akhirnya menjadi kolesterol karena trigliserida sebagai pengangkut utama kolesterol maka secara langsung trigliserida juga akan terbentuk penghambatan aktivitas enzim HMG-COA reduktase oleh likopen menyebabkan tidak terbentuknya mevalonat dari HMG-COA. Dengan demikian, skualen, lanosterol, dihidrolanosterol, D 8-demetil sterol, 7 – dihidrokolesterol dan kolesterol akan menurun, kilomikron menurun trigliserida juga menurun (Muray dkk, 2005)

2.9 Kerangka Teori



2.10 Kerangka Konsep



2.11 Hipotesa

Ada pengaruh pemberian perasan buah jeruk bali (*citrus maxima merr*) terhadap kadar Trigliserida pada Tikus Jantan Galur Wistar yang di beri diet tinggi Kolesterol.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *post test only control group design* dengan melakukan pengukuran kadar trigliserida setelah 21 hari lalu dibandingkan antara pemberian air perasan buah jeruk bali dengan kontrol negatif maupun kontrol positif.

3.2 Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel

3.2.1.1 Variabel Bebas : Air perasan buah Jeruk bali

3.2.1.2 Variabel Terikat : Kadar trigliserida serum tikus jantan galur wistar.

3.2.2 Definisi Operasional

3.2.2.1 Variabel Bebas ; Air perasan buah Jeruk bali

3.2.2.1.1. Air perasan buah jeruk bali adalah cairan yang didapat dari 220 g buah jeruk bali kemudian disaring sehingga didapat 139,3 ml yang kemudian dikonversikan dengan 0,018 merupakan dosis 1 kali (Kusumawati, 2004), Kemudian dibuat menjadi beberapa dosis, antara lain dosis 0,5 kali dan 1,5 kali.

Skala : ordinal

3.2.2.2 Kadar Trigliserida

Yaitu kadar trigliserida serum darah yang diambil dari vena opthalmikus dengan satuan mg/dl, yang diukur dengan menggunakan spektrofotometer.

Skala : rasio

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi penelitian adalah tikus jantan galur Wistar yang diperoleh di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES) pada bulan Mei tahun 2011.

3.3.2 Sampel

Sampel diambil sebanyak 25 ekor dari populasi yang ada secara random.

3.3.2.1. Kriteria inklusi

1. Umur tikus 2 – 3 bulan
2. Sehat pada penampilan luar:
 - Banyak gerak
 - Makan dan minum normal
 - Tidak ada luka
 - Tidak ada cacat
 - Berat badan antara 150 – 200 gram

3.3.2.1. Jumlah sampel : Yang digunakan dalam penelitian adalah perhitungan dari WHO yaitu menggunakan 5 ekor tikus tiap kelompok (WHO, 1993)

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- 1) Kandang tikus lengkap
- 2) Timbangan
- 3) Sonde oral
- 4) Mikrohematokrit untuk mengambil sampel darah tikus
- 5) Eppendorf untuk menampung serum tikus
- 6) Rak dan tabung reaksi
- 7) Sentrifuge
- 8) Spektrofometer
- 9) Mikropipet
- 10) Timbangan digital
- 11) Blender
- 12) Trigliserida kit

3.4.2 Bahan Penelitian

- 1) Air perasan buah jeruk bali
- 2) Tikus jantan galur wistar
- 3) Aquades
- 4) Pakan dan minum tikus

- 5) Otak kepala sapi
- 6) Simvastatin tablet

3.5 Cara Penelitian

3.5.1 Air perasan buah jeruk bali

3.5.1.1 Pembuatan air perasan buah jeruk bali

Air perasan buah jeruk bali dibuat dengan cara : Dari 220 gr buah jeruk bali yang matang dan tidak cacat, diperas sarinya kemudian disaring didapat hasil perasan = 139,3 ml.

3.5.1.2 Penentuan dosis buah jeruk bali untuk tikus

Pada penelitian ini menggunakan dosis air perasan buah jeruk bali yang diambil dari dosis empiris 220 g/hari. Dosis tersebut kemudian dikonversikan ke tikus dengan berat badan rata – rata 200 gram dengan penghitungan :

$$= 0,018 \times 220 \text{ g}$$

$$= 3,96 \text{ g}$$

Jadi dalam bentuk perasan dosis untuk tikus adalah

$$= \frac{3,96 \text{ g}}{220\text{g}} \times 139,3 \text{ ml}$$

$$= 2,5 \text{ ml sebagai dosis 1 kali} \sim 3,96 \text{ g}$$

Kemudian ditetapkan dosis 0,5 kali dan dosis 1,5 kali

1. Dosis 0,5 kali

$$0,5 \times 2,5 \text{ ml}$$

$$= 1,25 \text{ ml} \sim 1,98 \text{ g}$$

2. Dosis 1,5 kali

$$1,5 \times 2,5 \text{ ml}$$

$$= 3,75 \text{ ml} \sim 5,94 \text{ g}$$

3.5.2 Dosis simvastatin

Dosis obat simvastatin untuk manusia adalah 10 mg/70 kg

BB/hari, maka pada tikus dikonversikan menjadi:

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

$$= 0,18 \text{ mg}/200 \text{ g BB/hari}$$

3.5.3 Persiapan penelitian

3.5.3.1. Menyiapkan hewan uji berupa tikus jantan galur wistar sebanyak 25 ekor.

3.5.3.2. Menyiapkan kandang tikus lengkap dengan pakan dan minumannya.

3.5.3.3. Menyiapkan timbangan

3.5.3.4. Menyiapkan ekstrak buah jeruk bali

3.5.3.5. Menyiapkan pakan standart dan otak sapi

3.5.3.6. Menyiapkan alat dan bahan untuk mengambil sampel darah yaitu mikrohematokrit.

3.5.4 Pelaksanaan penelitian

3.5.4.1. Tikus diadaptasi selama satu minggu

3.5.4.2. Menimbang berat badan tikus dan menandai dengan asam piktrat

3.5.4.3. Membagi hewan percobaan secara random yang terdiri dari 25 ekor tikus dengan umur 2 – 3 bulan dan berat 150 – 200 gram menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol (-), Kelompok perlakuan (I), kelompok perlakuan (II), kelompok perlakuan (III), kelompok kontrol (+).

3.5.4.4. Menempatkan tikus sesuai dengan rancangan penelitian:

3.5.4.4.1. Kelompok kontrol negatif

Lima ekor tikus jantan galur wistar, dimana per ekor tikus hanya diberikan pakan standart secara *ad libitum*, otak sapi sebanyak 10% dari pakan standart dalam satu kali pemberian per sonde dan Aqua *ad libitum* 3,75 ml selama 21 hari.

3.5.4.4.2. Kelompok kontrol positif

Lima ekor tikus jantan galur wistar, dimana per ekor tikus diberikan pakan standart secara *ad libitum*, otak sapi sebanyak 10% dari pakan standart dalam satu kali pemberian per sonde dan simvastatin sebanyak 0,18 ml/200 g BB/hari ditambah aqua *ad libitum* 3,75 ml selama 21 hari.

3.5.4.4.3. Kelompok perlakuan I

Lima ekor tikus jantan galur wistar, dimana per ekor tikus diberikan pakan standart secara *ad libitum*, otak sapi sebanyak 10% dari pakan standart

dalam satu kali pemberian per sonde dan air perasan buah jeruk bali sebanyak 1,25 ml (~ 1,98 g) /200 g BB/hari ditambah aqua *ad* 3,75 ml selama 21 hari.

3.5.4.4.4. Kelompok perlakuan II

Lima ekor tikus jantan galur wistar, dimana perekor tikus diberikan pakan standart secara *ad libitum*, otak sapi sebanyak 10% dari pakan standart dalam satu kali pemberian per sonde dan air perasan buah jeruk bali sebanyak 2,5 ml (~ 3,96 g) /200 g BB/hari ditambah aqua *ad* 3,75 ml selama 21 hari.

3.5.4.4.5. Kelompok perlakuan III

Lima ekor tikus jantan galur wistar, dimana perekor tikus diberikan pakan standart secara *ad libitum*, otak sapi sebanyak 10% dari pakan standart dalam satu kali pemberian per sonde hari dan air perasan buah jeruk bali sebanyak 3,75 ml (~ 5,94 g) /200 g BB/hari selama 21 hari.

3.5.5 Pengambilan dan pemisahan sampel darah

Sampel darah diambil dan dipisahkan dengan cara berikut :

3.5.5.1 Ambil mikrohematokrit dan siapkan tabung penampung darah yang diberi EDTA heparin.

3.5.5.1. Mikrohematokrit ditusukkan perlahan – lahan pada vena *opthalmicus* yang terdapat di sudut mata tikus

3.5.5.2. Mikrohematokrit diputar perlahan-lahan sampai darah keluar

3.5.5.3. Darah yang keluar ditampung pada tabung reaksi Pirex 10 ml

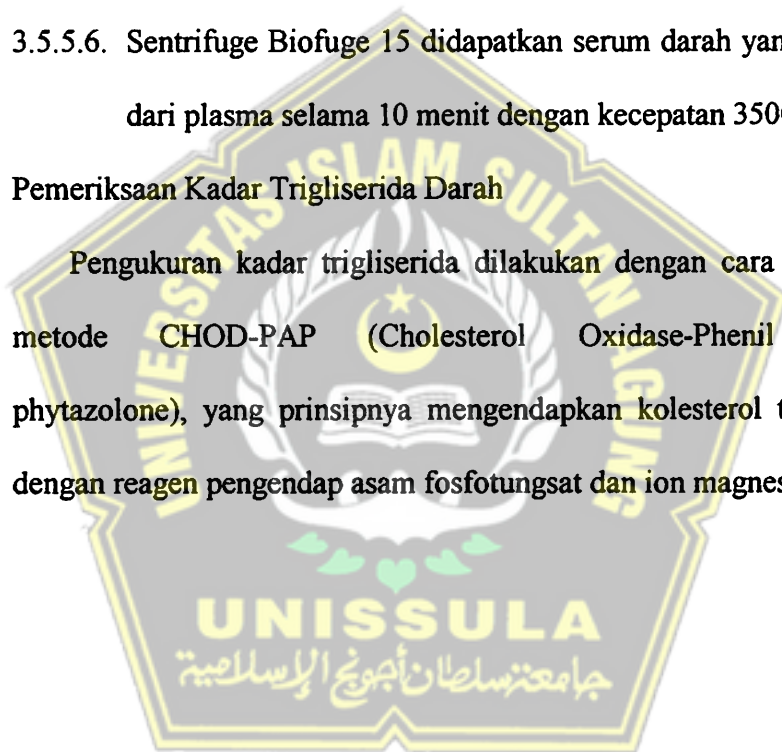
3.5.5.4. Apabila darah yang diperoleh sudah dianggap cukup, mikrohematokrit dilepas dan darah sisa yang terdapat pada mata tikus dibersihkan dengan kapas steril

3.5.5.5. Darah dimasukkan pada tabung sentrifuge 5 ml

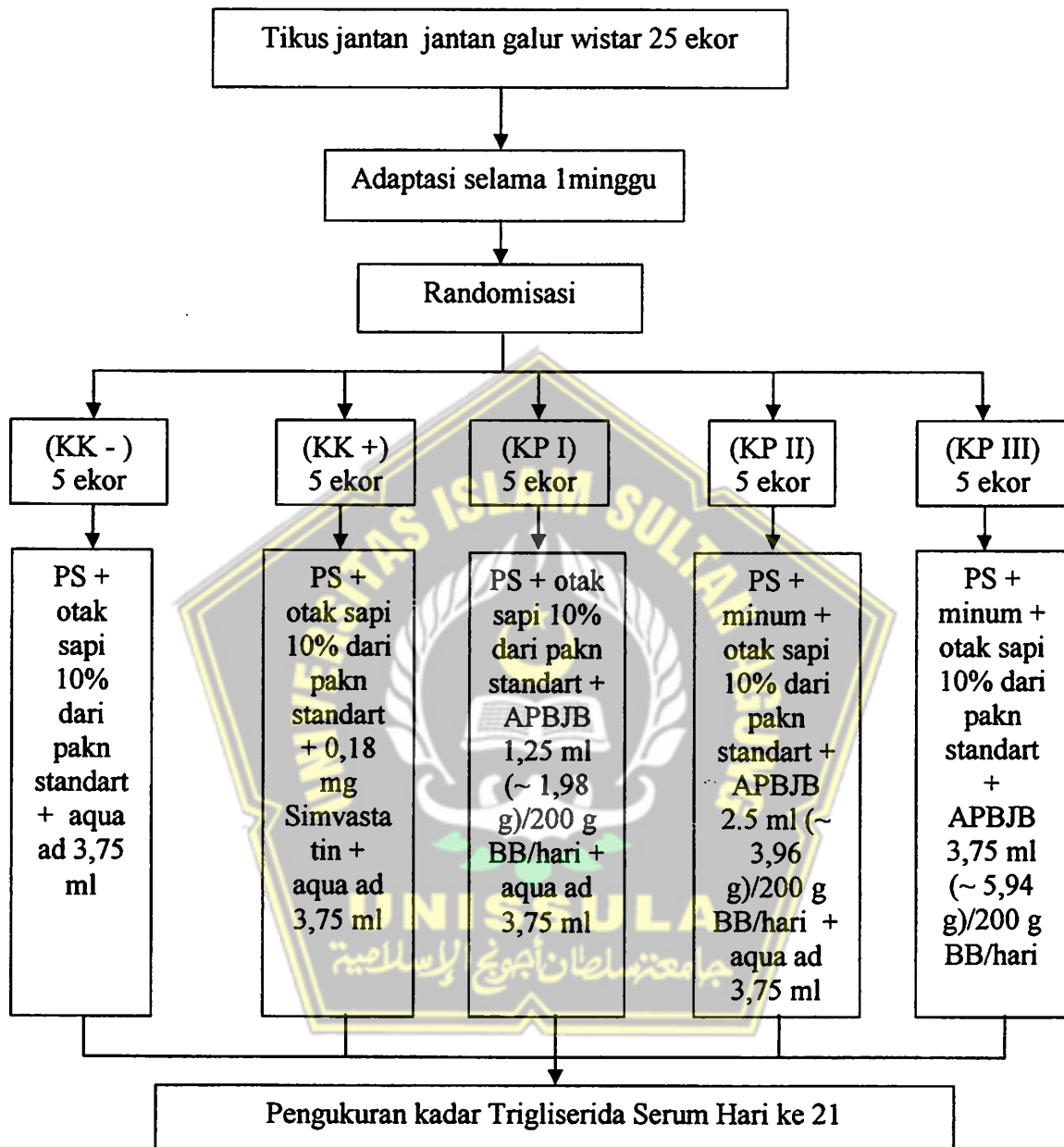
3.5.5.6. Sentrifuge Biofuge 15 didapatkan serum darah yang terpisah dari plasma selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm.

3.5.6 Pemeriksaan Kadar Trigliserida Darah

Pengukuran kadar trigliserida dilakukan dengan cara enzimatik metode CHOD-PAP (Cholesterol Oxidase-Phenil Amino phytazolone), yang prinsipnya mengendapkan kolesterol trigliserida dengan reagen pengendap asam fosfotungstat dan ion magnesium.



3.6 Alur Penelitian



Gambar 1. Alur kerja penelitian

Keterangan:

- KK : Kelompok kontrol
 KP : Kelompok perlakuan
 PS : Pakan standart
 APBJB : Air perasan buah jeruk bali

3.7 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan sekitar bulan Mei 2011 dengan rincian kegiatan:

1. Perlakuan pada hewan coba dan pengambilan trigliserida dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA UNNES.
2. Pengukuran kadar trigliserida dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA UNNES.

3.8 Analisis Data

Dari data hasil pengukuran kadar trigliserida dilakukan uji deskriptif untuk mengetahui mean dan standart deviasi lalu dibuat table dan grafik. Data diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro-wilk* dan homogenitasnya dengan uji *Leven Test*. Apabila sebaran data normal dan varian data homogen maka menggunakan uji *para metrik* yaitu uji *One Way Anova*, bila hasil uji *One Way Anova* $p < 0,05$, kemudian dilanjutkan untuk menilai kelompok mana yang terdapat perbedaan secara bermakna dilakukan uji *Post Hoc*. Apabila sebaran data tidak normal dan varian data tidak homogen maka dilakukan uji non para metrik yaitu dilakukan uji *Kruskal Wallis* dan bila untuk menilai kelompok mana yang terdapat perbedaan bermakna dilakukan uji *Mann Whitney*.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini sejumlah 25 ekor tikus jantan galur Wistar yang rata-rata berumur dua sampai tiga bulan, dan berat badan berkisar antara 200 gram. Sampel tersebut dibagi menjadi lima kelompok secara acak, setiap kelompok terdiri dari lima ekor. Seminggu pertama sampel dibuat hiperkolesterol dengan menggunakan otak sapi. (KK -) diberi pakan standar + otak sapi 10% dari pakan standart + aqua ad 3,75 ml, (KK +) diberi pakan standart + otak sapi 10% dari pakn standart + 0,18 mg Simvastatin + aqua ad 3,75 ml, (KP I) diberi pakan standart + otak sapi 10% dari pakn standart + APBJB 1,25 ml (~ 1,98 g)/200 g BB/hari + aqua ad 3,75 ml, (KP II) diberi pakan standar + minum + otak sapi 10% dari pakn standart + APBJB 2.5 ml (~ 3,96 g)/200 g BB/hari + aqua ad 3,75 ml, (KP III) diberi pakan standar +t+ minum + otak sapi 10% dari pakn standart + APBJB 3,75 ml (~5,94)/200 BB/hari. Perlakuan selama 21 hari, dan selama perlakuan sampel yang digunakan tidak ada yang mati.

Setelah perlakuan selesai, diambil sampel darah dari tikus jantan galur Wistar. Serum yang sudah terpisah dari plasma kemudian diukur kadar trigliseridanya menggunakan cara enzimatik metode CHOD-PAP (Cholesterol Oxidase-Phenil Amino phytazolone) dilakukan oleh ahli laboratorium. Data kadar trigliserida pada setiap kelompok uji disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Data Kadar trigliserida pada Tiap Kelompok Uji (mg/dl)

Kelompok	Mean	Standar Deviasi
K (-)	166,2	4,22
K (+)	42,44	12,17
KP I	28,32	6,90
KP II	53,22	16,05
KP III	55,68	9,74

Keterangan:

K(-) : pakan standar + aquadest + otak sapi

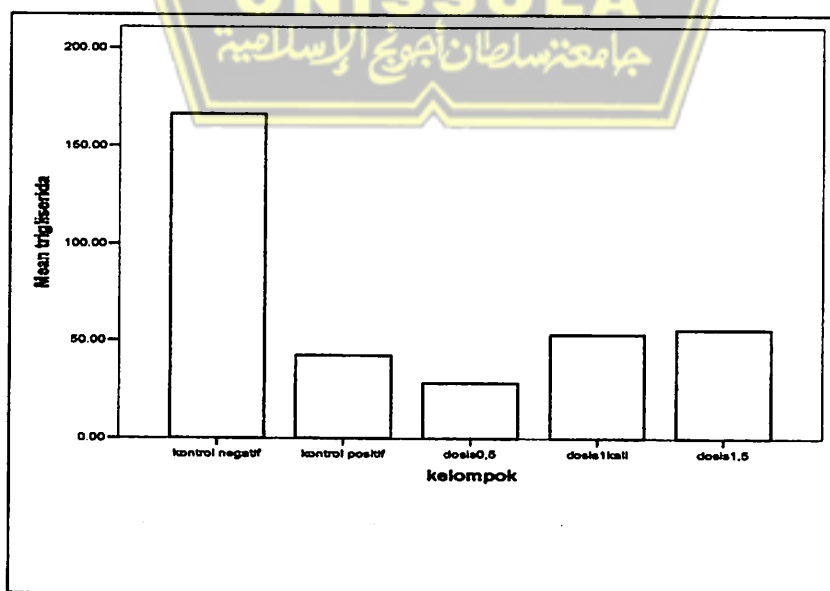
K(+) : pakan standar + aquades + otak sapi + simvastatin

KP I : pakan standar + aquadest + otak sapi + air perasan jeruk bali
1,25 mg/dl

KP II : pakan standar + aquadest + otak sapi + air perasan jeruk bali
2,5 mg/dl

KP III : pakan standar + aquadest + otak sapi + air perasan jeruk bali
3,75 mg/dl

Pada data diatas didapatkan mean tertinggi pada kelompok kontrol negatif (166,2), kemudian KP III (55,68), KP II (53,22), kontrol positif I (42,44), dan yang terendah KP I (28,32). Grafik mean kadar trigliserida disajikan dalam gambar 2.



Gambar 2. Mean Kadar trigliserida

Kemudian untuk membuktikan bahwa pemberian air perasan buah jeruk bali dapat secara signifikan menurunkan kadar trigliserida, dilakukan pengujian statistik. Pengujian normalitas data diperlukan untuk menentukan metode analisis yang sesuai. Uji normalitas dilakukan dengan metode *Shapiro-Wilk*. Hasil pengujian data pada kelima kelompok diperoleh nilai $p > 0,05$ sehingga sebaran data normal (lampiran 3). Kemudian perlu diuji homogenitas menggunakan *Levene* tes diperoleh nilai $p > 0,05$ (lampiran 4) sehingga data homogen. Uji *Anova* satu arah memiliki syarat mutlak data berdistribusi normal dan homogen, sehingga dalam uji hipotesis dapat dilakukan uji *Anova* satu arah.

Dari hasil uji *Anova* didapatkan hasil nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$), sehingga paling tidak pada dua kelompok terdapat perbedaan yang bermakna. Kemudian untuk melihat kelompok mana yang berbeda bermakna dilanjutkan dengan *Post Hoc* (tabel 2).

Tabel 2. Hasil Post Hoc

Pasangan Kelompok	Nilai p	Keterangan
K (-) dan K (+)	0,000	Berbeda
K (-) dan KP I	0,000	Berbeda
K (-) dan KP II	0,000	Berbeda
K (-) dan KP III	0,000	Berbeda
K (+) dan KP I	0,489	Tidak Berbeda
K (+) dan KP II	1,000	Tidak Berbeda
K (+) dan KP III	0,633	Tidak Berbeda
KP I dan KP II	0,014	Berbeda
KP I dan KP III	0,006	Berbeda
KP II dan KP III	1,000	Tidak Berbeda

Berdasarkan tabel uji *post hoc* menunjukkan antara K (-) dengan K (+), KP I, KP II dan KP III, kemudian antara KP I dengan KP II, dan KP III terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) sedangkan antara K (+) dengan KP I, KP II, dan KP III kemudian KP II dengan KP III tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$)

4.2 Pembahasan

Dari hasil uji statistik menunjukkan pada kelompok tikus jantan galur Wistar yang diberi diet tinggi kolesterol dan air perasan buah jeruk bali selama 21 hari terdapat penurunan kadar trigliserida. Penurunan kadar trigliserida juga terlihat pada kelompok tikus jantan galur Wistar KP I yang diberi air perasan buah jeruk bali 1,25 ml. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian air perasan buah jeruk bali secara *in vivo* terbukti berpengaruh menurunkan kadar trigliserida tikus jantan galur Wistar. Penurunan kadar trigliserida ini diduga karena kandungan jeruk bali berupa vitamin c, flavonoid, pektin dan likopen. Flavonoid menghambat enzim peroksidase sehingga oksidasi LDL terhambat dan menyebabkan turunnya kadar trigliserida. (Yuliarti, 2008). Dalam saluran pencernaan pektin akan mengikat asam empedu dan meningkatkan ekskresinya dalam feses sehingga mengurangi jumlah asam empedu yang diserap kembali dari usus kehati banyaknya asam empedu yang dibuang dapat menghambat makanan bercampur dengan enzim pencernaan, dan pembentukan misel berkurang sehingga mengurangi penyerapan zat makanan diusus, akibatnya trigliserida akan berkurang (Winarsi, 2001). Resintesis trigliserida dalam usus juga menurun hal ini akan menyebabkan trigliserida

yang diangkut ke dalam aliran darah akan ikut berkurang dan kadar trigliserida serum darah akan menurun.

Kandungan vitamin C pada jeruk bali juga dapat menurunkan kadar kolesterol dengan membantu biosintesis asam empedu pada tahap awal reaksi 7α hidroksilasi dan dalam biosintesis kolesterol yang berada pada tahap HMG-COA reduktase, sehingga terjadi peningkatan sintesis kolesterol menjadi asam empedu dihati (Muray, 2003). Lipoprotein dan kolesterol diubah oleh hati menjadi bahan empedu dan disimpan dalam kantong empedu. Ada dua kemungkinan bila empedu masuk ke dalam usus halus. Pertama sebagai bahan pengemulsi lemak sehingga diabsorpsi kembali oleh dinding usus dan diedarkan kembali. Kedua bahan empedu dalam usus halus diserap oleh serap makanan tertentu dan dikeluarkan dari tubuh lewat feses. Karena empedu terbuat dari kolesterol, pengeluarannya dari tubuh dapat menurunkan kolesterol dan kadar trigliserida (Almatsier, 2001)

Pada uji *Post Hoc* didapatkan perbedaan penurunan kadar trigliserida antar kelompok. Secara deskriptif rerata penurunan kadar trigliserida yang dihasilkan pada KP I diberi perasan buah jeruk bali dengan dosis 1,25 mg/dl (28,32 mg/dl) lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif yang di beri obat simvastatin (42,44 mg/dl), kontrol negative, yang diberi aquadest, otak sapi dan pakan standart (166,2 mg/dl), KP II dengan dosis perasan buah jeruk bali 2,5 mg/dl (53,22 mg/dl) dan KP III dengan dosis perasan buah jeruk bali 3,75 mg/dl (55,68 mg/dl). Akan tetapi kelompok kontrol positif (+) yang di beri obat simvastatin di bandingkan dengan KP I, KP II, KP III dan antara KP II dengan KP III terdapat perbedaan tidak bermakna. Hal ini mungkin karena

zat aktif pada kontrol (+) KP II, KP III belum bekerja secara optimal dibandingkan dengan KP I.

Antara kelompok kontrol negatif, yang diberi aquadest, otak sapi dan pakan standart dengan kelompok kontrol positif yang di beri obat simvastatin, dengan KP I diberi perasan buah jeruk bali dengan dosis 1,25 mg/dl, KP II dengan dosis perasan buah jeruk bali 2,5 mg/dl, KP III dengan dosis perasan buah jeruk bali 3,75 mg/dl dan antara KP I (air perasan buah jeruk bali 1,25 mg/dl), dengan KP II (air perasan buah jeruk bali 2,5 mg/dl), KP III dengan dosis perasan buah jeruk bali 3,75 mg/dl dan antara KP II (air perasan buah jeruk bali 2,5 mg/dl) terdapat perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa zat – zat aktif dalam kandungan air perasan buah jeruk bali seperti pektin, vitamin C, flavonoid dan likopen berperan lebih optimal dalam dosis 1,25 mg/dl dalam menurunkan kadar trigliserida.

Antara KP I yang diberi air perasan jeruk bali dengan dosis 2,5 mg/dl (28,32 mg/dl) lebih rendah dibandingkan dengan K (+) yang diberi obat simvastatin, dikarenakan pada air perasan buah jeruk bali mempunyai kandungan likopen yang sama halnya dengan simvastatin yaitu dengan cara mereduktase HMG-COA selain selain itu juga mempunyai kandungan Pectin, vit C dan Flavonoid yang dapat lebih efektif menurunkan kadar trigliserida. Sesuai dengan teori pectin juga dapat mengikat asam empedu dan meningkatkan ekskresinya dalam feses sehingga mengurangi jumlah asam empedu yang diserap kembali dari usus ke hati banyaknya asam empedu yang dibuang dapat menghambat makanan bercampur dengan enzim pencernaan, dan pembentukan misel berkurang sehingga mengurangi penyerapan zat makanan diusus akibatnya trigliserida akan berkurang (Winarsih, 2001).

Antara KP I yang diberi dosis 0,5 kali (28,32 mg/dl) efeknya lebih tinggi dibandingkan dengan KP II dan III yang diberi dosis 1 kali (53,22 mg/dl) dan 1,5 kali (55,68 mg/dl), dikarenakan pada pemberian dosis 1 kali dan 1,5 kali akan menyebabkan efek terapeutik yang berlebihan atau tumpang tindih satu sama lain sehingga tidak hanya menaikkan efek tetapi membuat efeknya semakin menurun. Analog dengan acetosal yang merupakan dosis yang berbeda-beda, untuk efek terapi yang berbeda. Misal, dosis kecil (± 150 mg/1 kali) merupakan efek pilihan platelet agregasi, dosis (500 mg/1 kali) sebagai analgetik atau antipiretik dan juga retensi asam urat, dosis (1500 mg/1 kali) sebagai urikosurik yang menambah ekskresi asam urat, dosis (2000 mg/1 kali) sebagai anti inflamasi jadi tidak selamanya pada dosis yang meningkat, akan menghasilkan efek terapi yang sama pula (Mycek J.M dan Harvey A.R, 2001).

Penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak buah jeruk bali terbukti dapat menurunkan kadar kolesterol total mencit yang diberi diet tinggi kolesterol selama 14 hari, sedangkan penelitian ini terbukti efektif terhadap pengaruh kadar trigliserida dengan menggunakan air perasan buah jeruk bali, hewan coba berupa mencit dan lama waktu penelitian 21 hari.

Keterbatasan penelitian ini hanya menggunakan rancangan *post test control group only* sehingga tidak bisa mengukur kadar trigliserida tikus yang hiperkolesterolemia dan belum bisa meneliti zat aktif mana yang berpengaruh lebih besar dalam penurunan kadar trigliserida, sehingga hanya meneliti kandungan buah jeruk bali secara menyeluruh, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan melakukan penarikan satu zat aktif spesifik pada air perasan buah jeruk bali seperti likopen terhadap kadar trigliserida tikus jantan galur Wistar.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- 5.1.1 Pemberian air perasan jeruk bali (*Citrus maxima Merr.*) berpengaruh menurunkan kadar trigliserida tikus jantan galur Wistar yang diberi diet tinggi kolesterol.
- 5.1.2 Nilai rerata kadar trigliserida darah tikus jantan galur Wistar yang diberi diet tinggi kolesterol dan air perasan buah jeruk bali dosis 0,5 kali (28,32 mg/dl), dosis 1 kali (53,22 mg/dl) dan dosis 1,5 kali (55,68 mg/dl).
- 5.1.3 Terdapat perbedaan yang bermakna antara semua kelompok percobaan kecuali antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok yang diberi air perasan buah jeruk bali dosis 1,5 kali (55,68 mg/dl).

5.2 Saran

- 5.2.1 Untuk penelitian yang selanjutnya peneliti menyarankan menggunakan rancangan penelitian *pre and post control group design*.
- 5.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mengamati salah satu zat aktif pada air perasan buah jeruk bali seperti likopen terhadap tikus jantan galur Wistar yang diberi diet tinggi kolesterol.

DAFTAR PUSTAKA

- Admin CCRC Farmasi UGM, 2009, Jeruk Bali (*Citrus maxima*), http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=1530, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta | Made Astawan, 2007, Jeruk Bali., Univ Udayana Bali.
- Almatsier, S., 2001, *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, hal. 34-35, 50-74, 185-201.
- Anonim 1. 2007. Tanaman Obat Indonesia http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php=150/ dikutip tgl 14.03.2008
- Anonim 1. 2007. Tanaman Obat Indonesia
- Anonim 2, 2008, Penyakit Jantung Koroner (PJK). <http://www.ilmusehat.com>. Dikutip tgl 29 November 2010
- Anonim, 2009 b, Gaya Hidup Sehat. [http : // www. Bit. Lipi.go.id/ pangan_kesehatan/ document/artikel - kolesterol/gaya-hidup-sehat.pdf](http://www.Bit.Lipi.go.id/pangan_kesehatan/document/artikel-kolesterol/gaya-hidup-sehat.pdf). dikutip tanggal 01 februari 2010
- Asroruddin, M., 2004, Likopen Sebagai Senyawa Fitonutrien Dan Peranannya Bagi Kesehatan Manusia, <http://eternalmovement.blogspot.com/2004/08/likopen-sebagai-senyawa-fitonutrien.html>, dikutip tanggal 20 november 2010.
- Bangun, A. P., 2005, Menangkal Penyakit dengan Jus Buah dan Sayuran, Agromedia Pustaka, Jakarta, 38-41
- Bangun, A.P., 2006, *Terapi Jus dan Ramuan Tradisional untuk Kolesterol*, Cetakan VIII, Agro Media Pustaka, Jakarta, 11-14
- Baraas, F., 2001, Mencegah Serangan Jantung Dengan Menekan Kolesterol, PT Gramedia Pustaka Utama , Jakarta, 22-24
- Boston, MA 02115 and Departments of Nutrition and Epidemiology, Harvard School of Public
- Bull, E., Morrell, J, 2007, *Simple Guide Cholesterol*, Erlangga, Jakarta, 60 – 61
- Channing Laboratory, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School,
- Eastwood MA. 1975. The role of vegetable dietary fiber in human nutrition. *Med Hypotheses* 1:46-53.

- Giovanucci, E., 2005, Products of Lycopene, and Prostate Cancer: A Review of the Epidemiological Literature 1.
- Jewsky M. lowering high triglyceride naturally: what you should know. [online]. 2001 [cited 2010 Desember 13]; [50 screen]. Available from: http://www.reducatriglycerides.com/lower_triglyceride.htm
- Kotiah, U., 2007, . Penjatuh pemberian ekstrak lidah buaya terhadap kadar kolesterol LDL & HDL serum tikus putih yang hiperkolesterolemia <http://www.unnes.ac.id> dikutip tanggal 29 Januari 2009
- Kusumawati, D., 2004, Bersahabat dengan hewan coba, Gajah Mada University Press, Jogjakarta, 8-10, 66-74, 87-94
- Mayes P A. *Lipid yang memiliki makna fisiologis*. Dalam Hartono A, alih bahasa; Bani Ap, tiara M.N. Sikumbang, editor. Biokimia Harper, edisi 25. Jakarta: EGC, 2000: 148-59
- Murray, dkk., 2005, Biokimia Harper, Edisi 25, EGC, Jakarta, Hal., 279, 273, 268.
- Murray, R.K., Gramer, D.K., Mayes, Al., dkk, 2003, Biokimia Harper, Edisi 25, EGC, Jakarta, Hal., 141-142.
- Mycek J.M dan Harvey A.R, 2001, Farmakologi : *Ulasan Bergambar*, Widya Medika, Jakarta, 216-219.
- Rang dan Dales, 2007, Pharmacology 6th ed, Elsevier, 325-326.
- Rickyeka, 2008, Vit C sebagai kebutuhan atau gaya hidup-manfaat, masalah, dosis, dan efek/Dampak buruk vit C, dalam : Organisasi. Org/vit-C-sebagai-kebutuhan-atau-gaya-hidup-manfaat-masalah-dosis-dan-efek-dampak-buruk-vit C, dikutip 8.4.2008.
- Ronald A; Richard A. McPherson. 2004. Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Jakarta: EGC.
- Soeharto, I., 2001, *Kolesterol & Lemak Jahat Kolesterol & Lemak Baik dan Proses Terjadinya Serangan Jantung dan Stroke*, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 102-287.
- Terpstra AHM, Lapre JA, De Vries HT, Beynen AC. 1998. Dietary pectin with high viscosity lowers plasma and liver cholesterol concentration and plasma cholesteryl ester transfer protein activity in hamsters. *J Nutr* 128: 1944-1949.

- Wijayakusuma HMH. 2007. *Potensi tumbuhan obat asli Indonesia sebagai produk kesehatan. Proseding Seminar Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi*. Jakarta: Himpunan Pengobatan Tradisional dan Akupuntur Indonesia, 1.
- Winarsih, H., 2001, *Peran serat (dietary fiber) untuk mempertahankan tubuh sehat, makalah falsafah sains*. Program Paska Sarjana/S3 IPB. <http://www.hayati.ipb.com/user/rudyct/indiv2001/herrywinarsi.htm>
- Wirjowidagdo, S., Sitanggang, M., 2002, *Tanaman Obat untuk Penyakit Jantung, Darah tinggi dan Kolesterol*, Cetakan I, Agro Media Pustaka, Jakarta, 22-24.
- World Health Organization, 1993, *Research Guidelines For The Safety and Efficacy of Herbal Medicine*, Regional Office for the Western Pacific Manila, 34-35
- Yuliarti, N., 2008, *Food Supplement (paduan mengkonsumsi makanan tambahan untuk kesehatan)*, Banyu Media, Yogyakarta, hal. 53-54.

