Aktivitas Ekstrak Daun Jati Belanda terhadap Kadar Kolesterol HDL dan LDL pada Tikus Hiperkolesterolemia

Skripsi

sebagai salah satu syarat

untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Biologi

Oleh

Fatchun Na'im

4411412051

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

2016

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan yang sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul "Aktivitas Ekstrak Daun Jati Belanda Terhadap Kadar Kolesterol HDL dan LDL pada Tikus Hiperkolesterolemia "disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka dibagian akhir skripsi ini. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, 7 Juli 2016

Fatchun Naim
NIM. 4411412051

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul:

"Aktivitas Ekstrak Daun Jati Belanda Terhadap Kadar Kolesterol HDL dan LDL pada Tikus Hiperkolesterolemia"

disusun oleh :

nama : Fatchun Naim

NIM : 4411412051

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 14 Juli 2016.

Panitia Ujian

Ketua

Prof. Dr. Zaenuri, S.E., M. Si., Akt.

NIP. 196412231988031001

Sekretaris

Dra. Endah Peniati, M.Si.

NIP. 196511161191032001

Penguji Utama

Dr. Retno Sri Iswari, S.U.

NIP. 19520207 197904 2001

Anggota Penguji/

Pembimbing Utama

Dr. Aditya Marianti, M.Si.

NIP. 19671217 199303 2001

Anggota Penguji/

Pembimbing Pendamping

Dr. drh. R. Susanti, M. P.

NIP. 19690323 199703 2001

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

Kesempurnaan Ilmu adalah dikembangkan dan
diamalkan untuk kemaslahatan umat

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk orang-orang terkasih yang selalu hebat. Ayahanda Subadi, Ibunda Muntianah, Kakakku Siti Ismus Tofiah dan Adikku Izza Safitri Rahmadhani. Ustad Jamal serta sahabat-sahabatku Muhammad Abduh, Ika Restu Apriliana, Reza Faizal dan Rifka Widiarti.

ABSTRAK

Naim, Fatchun. 2016. Aktivitas Ekstrak Daun Jati Belanda Terhadap Kadar Kolesterol HDL dan LDL pada Tikus Hiperkolesterolemia. *Skripsi.* Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Dr. Aditya Marianti, M.Si. dan Dr. drh. R. Susanti, M. P.

Hiperkolesterolemi adalah keadaan kadar kolesterol tubuh yang melebihi batas normal. Keadaan ini dapat berdampak pada berbagai penyakit seperti aterosklerosi dan jantung koroner. Ekstrak daun jati belanda memiliki senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan kuat untuk mengurangi penimbunan kolesterol dalam darah. Tujuan penelitian ini adalah menguji aktivitas ekstrak daun jati belanda terhadap kadar kolesterol HDL dan LDL tikus. Ekstraksi daun jati belanda dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Uji fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Penelitian ini merupakan penelitian experimental dengan rancangan Post Randomized Controlled Group Design. Dua puluh lima ekor tikus putih dibagi dalam 5 kelompok uji, yaitu 1 kelompok kontrol, 1 kelompok kontrol positif dan 3 kelompok perlakuan (P1, P2, P3) dengan tiap kelompok terdiri dari 5 ekor. Pada kelompok kontrol diberi induksi dengan akuades. Pada kelompok kontrol positif diberi induksi vitamin C 1,8 mg /hr. Kelompok P1 diberi induksi ekstrak daun jati belanda 25 mg/kg BB/hari, P2 diberi induksi 50 mg/kg BB/hari dan kelompok P3 75 mg/kg BB/hari. Pemberian induksi dilakukan selama 14 hari. Data yang diperoleh dianalisis dengan Anova satu arah dengan taraf kepercayaan 95% dilanjut dengan uji LSD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun jati belanda signifikan menurunkan kadar LDL pada kelompok P3 75 mg/kg BB/hari. Namun ekstrak daun jati belanda tidak berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar HDL.

Kata kunci: daun jati belanda, HDL, hiperkolesterolemia, LDL

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah- Nya sehingga skripsi dengan judul "Aktivitas ekstrak daun jati belanda terhadap kadar kolesterol HDL dan LDL pada tikus hiperkolesterolemia " dapat diselesaikan. Penulis menyadari dalam pembuatan skripsi tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa syukur dan terimakasih kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan segala fasilitas dan kesempatan sehingga penulis dapat menyelesaikan studinya.
2. Dekan FMIPA Unnes yang telah memberikan kemudahan dan perijinan dalam penelitian.
3. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unnes yang telah memberikan kemudahan administrasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Aditya Marianti, M.Si. selaku pembimbing pertama yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama penyelesaian skripsi ini.
5. Ibu Dr. drh. R. Susanti, M.P. sebagai dosen pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, motivasi, dan pengetahuan baru kepada penulis.
6. Ibu Dr. Retno Sri Iswari, S.U. sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan yang sangat berguna untuk penyempurnaan skripsi ini.
7. Andin Irsadi, S.Pd., M.Si. selaku dosen wali selama menjadi mahasiswa yang telah membimbing penulis dalam menyusun jadwal perkuliahan serta motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini.
8. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memberikan banyak ilmunya.
9. Bapak Agung selaku Kepala Laboratorium Kimia FMIPA UNNES, Bapak Wiji dan seluruh staff yang telah membantu selama penelitian.

10. Bapak Harsojo selaku Kepala Laboratorium dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada dan seluruh staff yang telah membantu selama penelitian.
11. Almarhumah Ibuku Muntianah dan Bapakku Subadi yang penuh kasih sayang dan keikhlasan memberikan dorongan dan motivasi baik material maupun spititual.
12. Seluruh Rakyat Indonesia melalui Beasiswa Bidikmisi yang telah membantu dalam pembiayaan selama menempuh studi di Biologi FMIPA Unnes.
13. Kakakku Siti Ismus Tofiah dan Adikku Izza Safitri Rahmadhani atas perhatian, nasehat, dorongan, semangat dan doa nya tiada henti kepada penulis
14. Keluarga Kos Abu Bakar bin Khattab, Junaedi Harmiansyah, Agus, Isa, Roni, Carnawi, Olin, Huda, Sidiq, dan Mushlih. Terima Kasih atas semangatnya dan dorongan yang kalian berikan.
15. Keluarga Student Scientific Center, Familia Biologi dan kakak-kakak serta adik-adik keluarga besar Biologi yang telah memberikan semangat dan motivasi untuk menyelesaikan karya ini.
16. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Namun demikian penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih ada beberapa kekurangan. Oleh karena itu, segala saran dan masukan dari semua pihak selalu diharapkan untuk perbaikan dan penyempurnaanya. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua.

Semarang, 7 Juli 2016

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI ii
PENGESAHAN iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN iv
ABSTRAK v
KATA PENGANTAR vi
DAFTAR ISI viii
DAFTAR TABEL xi
DAFTAR GAMBAR xii
DAFTAR LAMPIRAN xiii
BAB I PENDAHULUAN 1
A. Latar belakang 1
B. Rumusan Masalah 3
C. Tujuan Penelitian 4
D. Manfaat 4
E. Penegasan Istilah 4

BAB II TINJUAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS 5
A. Tinjuan pustaka 5
1. Tanaman Jati Belanda 5
2. Hiperkolesterolemia 7
3. Profil Lipid 8
a. Kolesterol 8
b. Trigliserida 9
c. High Desity Lipoprotein (HDL) dan Low Density Lipoprotein (LDL) 10
4. Senyawa–senyawa Aktif Daun Jati Belanda 13
a. Tanin 13
b. Flavanoid 15

c. Saponin 18
d. Alkaloid 19
e. Steroid dan Triterpenoid 20
5. Vitamin C Sebagai Antioksidan 21
6. Mekanisme Ekstrak Daun Jati Belanda terhadap Kadar Kolesterol LDL dan HDL 22
7. Kerangka Berfikir 25
B. Hipotesis 26

BAB III METODE PENELITIAN 27
A. Lokasi dan Waktu Penelitian 27
B. Populasi dan Sampel 27
C. Variabel Penelitian 27
D. Rancangan Penelitian 28
E. Alat dan Bahan Penelitian 29
F. Prosedur Penelitian 30
1. Tahap Persiapan 30
2. Eksperimen 34
G. Metode Pengumpulan Data 35
H. Metode Analisis Data 36

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 37
A. Hasil Penelitian 37
1. Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda ... 37
2. Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda 37
3. Induksi Hiperkolesterol 38
4. Pengujian Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda terhadap Kadar *LDL*- Kolesterol dan *HDL*-Koleterol Tikus Putih 38

B. Pembahasan 40

BAB V SIMPULAN DAN SARAN 49
A. Simpulan 49

B. Saran 49

DAFTAR PUSTAKA 50

LAMPIRAN 59

DAFTAR TABEL

Halaman

1. Variasi Kadar Kolesterol Total, HDL, dan LDL 13
2. Alat Penelitian 29
3. Bahan Penelitian 30
4. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda 37
5. Rerata Kadar Kolesterol Total Sebelum Perlakuan (mg/dl) 38
6. Rerata Kadar LDL dan Kadar HDL (mg/dl) 38
7. Hasil Uji Lanjut LSD Kadar LDL pada Setiap Kelompok 39

DAFTAR GAMBAR

Halaman

1. Tanaman Jati Belanda 5
2. Proses Terjadinya *Aterosklerosis* 11
3. Struktur Inti Tanin 14
4. Struktur Inti Flavanoid 16
5. Peredaman Radikal Bebas oleh Flavanoid 17
6. Pembentukan Kompleks Logam pada Flavanoid 17
7. Sapogenin Steroid dan Sapogenin Triterpenoid 19
8. Peredaman Radikal Bebas oleh Alkaloid 20
9. Reaksi Reduksi dan Oksidasi Asam Askorbat 21
10. Mekanisme Pengaturan Sintesis Kolesterol 23
11. Kerangka Berfikir 25
12. Rancangan Penelitian 28
13. Diagram Alir Ekstraksi Daun Jati Belanda 31
14. Mekanisme Senyawa Saponin dalam Mengurangi Kadar Kolesterol 47

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

1. Data Berat Badan Tikus Selama Penelitian 59
2. Komposisi Pakan Standar Tikus 60
3. Data Kadar LDL Setelah Perlakuan (mg/dl) 61
4. Data Kadar HDL Setelah Perlakuan (mg/dl) 62
5. Ringkasan Hasil Uji ANAVA Satu Arah Kadar LDL Sesudah Perlakuan..... 63
6. Hasil Uji LSD Kadar LDL Tikus Hiperkolesterolemia Sesudah Perlakuan..... 64
7. Ringkasan Hasil Uji ANAVA Satu Arah Kadar HDL Sesudah Perlakuan 65
8. Hasil Uji LSD Kadar HDL Tikus Hiperkolesterolemia Sesudah Perlakuan 66
9. Dokumentasi Selama Penelitian..... 67
10. Hasil Uji Nilai Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda..... 72
11. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda 73
12. Surat Ijin Penelitian Laboratorium Kimia Unnes..... 74
13. Surat Ijin Penelitian Laboratorium Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada 75
14. Surat Ijin Penelitian Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada..... 76

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Penyakit Jantung Koroner (PJK) adalah salah satu penyakit akibat dari gaya hidup modern di negara yang terus berkembang. Kejadian penyakit jantung dan pembuluh darah cenderung naik seiring dengan modernisasi masyarakatnya. Hal ini disebabkan etiologi penyakit jantung dan pembuluh darah berkaitan dengan status ekonomi dan sosial masyarakat modern. Diantara gaya hidup tersebut adalah tingginya derajat stres, pola makan salah, merokok, minum alkohol, *junk food* atau *fast food* yang berlebihan (Bustan 2007). Junk food banyak mengandung sodium, lemak jenuh dan kolesterol. Bila tubuh terlalu banyak mengandung sodium, dapat meningkatkan aliran dan tekanan darah sehingga menyebabkan tekanan darah meningkat. Peningkatan tekanan darah dapat menyebabkan munculnya gangguan penyakit jantung. Seseorang yang mempunyai kadar kolesterol melebihi ambang batas normal (hiperkolesterolemia) berisiko terkena aterosklerosis dan dapat menyebabkan PJK. Hiperkolestrolemi merupakan salah satu faktor resiko terjadinya PJK.

Berdasarkan data yang telah dipublikasikan *World Health Organization* (WHO) tahun 2011, saat ini 25% penduduk dunia memiliki kadar kolesterol tinggi. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2010 menunjukkan bahwa rata-rata konsumsi lemak penduduk Indonesia 25,6% dari total konsumsi energi. Data yang diperoleh dari Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah tahun 2009, angka prevalensi penyakit kardiovaskular 833.094 kasus atau 54,33% dari penyakit tidak menular. Prevalensi stroke tahun 2009 tertinggi di Kota Surakarta Jawa Tengah, mencapai 0,75% dari semua kasus di Jawa Tengah (Dinkes Jateng 2009).

Penyakit jantung koroner dapat terjadi pada semua tingkatan usia maupun strata ekonomi. Upaya pengobatan secara modern memerlukan biaya relatif mahal, sehingga hanya dapat dinikmati oleh golongan ekonomi

menengah atas. Manusia telah mengenal dan menggunakan tanaman dan bahan alam yang berkhasiat untuk mencegah dan menyembuhkan penyakit tertentu.

WHO merekomendasikan penggunaan tanaman obat dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat. WHO juga mendukung upaya-upaya peningkatan keamanan dan khasiat dari tanaman obat (WHO 2011). Oleh karena itu perlu untuk terus mencari alternatif penggunaan obat tradisional yang berasal dari tanaman obat.

Beberapa penelitian membuktikan bahwa tanaman jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) layak dikonsumsi sebagai obat alternatif maupun untuk perawatan tubuh. Joshita *et al.* (2000) menyebutkan bahwa seduhan daun jati belanda dapat meningkatkan kerja enzim lipase. Sementara itu Monica & Farida (2000) menyebutkan bahwa daun jati belanda mampu menurunkan kadar kolesterol darah kelinci.

Hasil penelitian pendahuluan terhadap komposisi daun jati belanda menunjukkan adanya senyawa yang berpotensi sebagai penurun kolesterol LDL. Kandungan senyawa kimia pada daun jati belanda adalah flavonoid, fenol, hidrokuinon, dan senyawa flavonoid lain seperti kalkon, auron, dan flavanol (Miradiono 2002). Rachmadani (2001) melaporkan bahwa pada daun jati belanda terdapat tannin, steroid dan triterpenoid. Hasil berbeda dilaporkan Lestari dan Muhtadi (1997) yang menyatakan bahwa daun jati belanda hanya mengandung tanin saja.

Penelitian Sukandar *et al* (2009) membuktikan bahwa pemberian ekstrak air daun jati belanda dengan dosis 50mg/kg bb mampu menghambat peningkatan kadar kolesterol total dan *Low Density Lipoprotein* (LDL) secara signifikan. Namun belum ada penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas ekstrak etanol 70 % dalam daun jati belanda terhadap kadar kolesterol HDL dan LDL. Penelitian yang telah dilakukan oleh Kharisma (2007) membuktikan bahwa presentase senyawa-senyawa daun jati belanda yang terdapat pada ekstrak air lebih kecil dibandingkan pada ekstrak etanol. Pada ekstrak etanol senyawa-senyawa dari hasil uji fitokimia yang

teridentifikasi adalah flavanoid, fenolik hidrokuinon, saponin, tanin, steroid serta triterpenoid. Sementara pada ekstrak air daun jati belanda senyawa-senyawa yang teridentifikasi adalah flavonoid, fenolik hidrokuinon, saponin, serta tannin. Hal ini yang menjadi dasar pemakaian pelarut dengan menggunakan etanol 70 %.

Senyawa aktif daun jati belanda yang dapat menurunkan kolesterol LDL dalam darah adalah adanya aktivitas dari flavanoid, steroid dan senyawa-senyawa polifenol seperti tanin. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Venugopal *et al.* (2002) bahwa secara *in vitro* flavanoid bekerja sebagai inhibitor *enzim 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reduktase (HMG-CoA reduktase)* yaitu enzim yang berperan dalam pembentukan kolesterol sehingga sintesis kolesterol intraseluler menurun. Kadar kolesterol intraseluler yang rendah mengakibatkan penurunan pembentukan kilomikron (Mayes 2000). *Remnant* kilomikron yang mencapai ke hati akan menurun. Kondisi ini akan merangsang sintesis reseptor LDL. Selain itu sekresi VLDL oleh sel-sel hati akan menurun sehingga menyebabkan konversi VLDL ke LDL berkurang. Hal ini berdampak pada penurunan kadar LDL dalam tubuh (Trautwein *et al.* 2006).

Berdasarkan uraian di atas, senyawa-senyawa metabolit sekunder dari daun jati belanda mampu mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL serum tikus. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas ekstrak daun jati belanda *(Guazuma ulmifolia* Lamk*.)* terhadap kadar kolesterol LDL dan HDL.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, maka rumusan masalah yang akan dikaji dalam penelitian ini adalah bagaimana aktivitas ekstrak daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) terhadap kadar kolesterol HDL dan LDL tikus ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah menguji aktivitas ekstrak daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) terhadap kadar kolesterol HDL dan LDL tikus.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian :

1. Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang pemanfaatan jati belanda yang mengandung senyawa-senyawa antioksidan alami seperti tanin, saponin serta flavanoid.
2. Menambah wawasan pengetahuan masyarakat dan mendorong pemanfaatan jati belanda untuk kesehatan tubuh.

E. Penegasan Istilah

Untuk menghindari salah pengertian dalam memahami isi skripsi ini, perlu ada batasan-batasan terhadap beberapa istilah sebagai berikut :

1. Ekstrak dari daun jati belanda

   Pada penelitian ini menggunakan ekstrak daun jati belanda yang didapatkan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70 % (Kharisma 2007).
2. Hiperkolesterolemia

   Hiperkolesterolemia adalah peningkatan kadar kolesterol dalam darah. Pada tikus dikatakan hiperkolesterolemi jika kolestrol tikus putih > 54 mg/dl (Smith & Mangkoewidjojo 1988).
3. LDL dan HDL

   Parameter- parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol LDL dan HDL menggunakan CHODPAP (*Cholesterol Oxidase Para Aminophenazone*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

A. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk)

Tanaman jati belanda berasal dari benua Amerika yang beriklim tropis. Tanaman ini juga tersebar luas di wilayah tropis lainnya seperti Pulau Jawa dan Madura. Di Pulau Jawa, tanaman ini biasa disebut dengan jati londo atau jatos landi. Tanaman ini tumbuh baik pada dataran dengan ketinggian 1-1800 m di atas permukaan laut (Dewi *et al.* 2000). Gambar tanaman jati belanda bisa dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Tanaman Jati Belanda (Dewi *et al.* 2000).

Tanaman jati belanda mengandung senyawa aktif seperti flavanoid **(**Feltrin *et al*. 2012). Shekhawat & Vijayvergia (2010) menyebutkan dalam studinya bahwa zat-zat yang terkandung dalam jati belanda antara lain protein, lipid, karbohidrat, fenol, dan glukosa. Penelitian pendahuluan terhadap komposisi daun jati belanda menunjukkan adanya senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Miradiono (2002) menyebutkan bahwa serbuk daun jati belanda mengandung flavonoid, fenol hidrokuinon, dan senyawa flavonoid lain seperti kalkon, auron, dan flavonol. Penelitian Andriani (2005) menyatakan bahwa dalam daun jati belanda mengandung senyawa tanin. Rachmadani (2001) melaporkan bahwa pada daun jati belanda terdapat tanin, steroid dan triterpenoid. Penelitian Katno *et al*. (2008) menyebutkan bahwa kadar tannin pada daun jati belanda dengan bobot bahan simplisia 10 gram menghasilkan kadar tanin sebesar 0,6 gram dengan waktiu

pengeringan 8 jam. Lama waktu pengeringan simplisia daun jati belanda mempengaruhi kadar tanin yang terkandung di dalamnya. Jastrezebski *et al*. (2007) menyebutkan terkait hasil studinya bahwa tanaman jati memiliki kandungan polifenol dan flavanoid sebagai komponen bioaktif dan antioksidan.

Hasil penelitian secara *in vivo* menyatakan bahwa daun jati belanda mampu menghambat peningkatan kadar lipid peroksida pada darah kelinci yang diberi pakan kolesterol (Tombilangi 2004). Sukandar *et al*. (2009) menyebutkan bahwa konsentrasi 50mg/200bb ekstrak air daun jati belanda mampu menurunkan kadar kolesterol total dan LDL secara signifikan. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak air dari daun jati belanda terbukti memiliki potensi sebagai antioksidan. Adanya potensi atau khasiat sebagai antioksidan didasarkan pada keberadaan senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan alami yang terdapat pada daun jati belanda antara lain flavanoid, saponin, fenolik, steroid, triterpenoid, dan tanin.

Penelitian secara *in vivo* dan *in vitro* oleh Magos *et al*. (2008) menyebutkan bahwa ekstrak aseton pada daun jati belanda mengandung *Procyanidin Fraction* (PCF) yang memiliki aktivitas antihipertensi. Magos *et al*. (2008) juga menyebutkan bahwa kulit daun jati belanda memiliki aktivitas antihipertensi karena senyawa yang terkandung seperti tanin mempunyai efek meningkatkan produksi *nitric oxide* (NO). NO adalah *vasodilator endogenous* yang mempunyai kemampuan anti hipertensi. Ramakrishna *et al*. (2014) menyebutkan bahwa kandungan flavonoid daun jati belanda dapat menghambat proliferasi sel. Sementara Berenguer *et al.* (2007) menyebutkan bahwa tanaman jati belanda dapat dijadikan sebagai antioksidan, antimikroba serta antihipertensi. Nakaguchi *et al.* (2001) menyebutkan bahwa ekstrak daun jati belanda dapat dijadikan sebagai promoter pada pertumbuhan rambut.

2. Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia adalah peningkatan kadar kolesterol darah di atas batas normal. Hiperkolesterolemia ada dua yaitu hiperkolesterolemia primer dan sekunder. Hiperkolesterolemia primer adalah suatu penyakit herediter yang menyebabkan seseorang mewarisi kelainan gen pembentuk reseptor lipoprotein berdensitas rendah pada permukaan membran sel tubuh (Guyton & Hall 2008) yang terjadi akibat mutasi reseptor LDL (Price *et al.* 2006). Hiperkolesterolemia primer adalah gangguan lipid yang terbagi menjadi 2 bagian, yakni hiperkolesterol poligenik dan hiperkolesterol familial (Wiryowidagdo 2002). Hiperkolesterol poligelik disebabkan oleh berkurangnya daya metabolisme kolestrol, dan meningkatnya penyerapan lemak. Sedangkan hiperkolesterolemia familial adalah kelainan genetik penyebab terjadinya penyakit jantung koroner atau aterosklerosis. Hiperkolesterolemia familial terjadi karena adanya mutasi gen reseptor LDL (R-LDL) sehingga terjadi perubahan struktur maupun fungsi dari reseptor yang mengikat LDL plasma. Hal ini mengakibatkan tingginya kadar kolesterol LDL sehingga terjadi penumpukan kolesterol pada kulit dan jaringan ikat hingga aterosklerosis pada pembuluh darah koroner dan kematian (Suharti 2006).

Pasien dengan hiperkolesterolemia familial yang parah memiliki konsentrasi kolesterol darah 600-1000 mg/dl, atau empat-enam kali nilai normal. Banyak pasien seperti ini yang meninggal sebelum usia 20 tahun, karena infark miokardium atau gejala penyumbatan aterosklerosis di seluruh pembuluh darah (Guyton & Hall 2008).

Hiperkolesterolemia sekunder diakibatkan oleh gangguan sistemik (Price *et al.* 2006). Hiperkolesterolemia sekunder terjadi akibat penderita mengidap suatu penyakit tertentu, stres, atau kurang gerak (olah raga). Berbagai macam obat juga dapat meningkatkan kadar kolesterol. Wanita yang telah masuk masa *menopause* (berhenti haid) jika diberi terapi estrogen akan mengalami peningkatan kadar kolesterol (Wiryowidagdo 2002).

3. Profil Lipid

Kata lipid berasal dari bahasa Yunani = Greek; “lipos” yang berarti “lemak”. Secara umum lipid merupakan senyawa organik yang tidak larut dalam air tetapi dapat diekstraksi dengan pelarut non polar seperti kloroform, eter, dan benzena. Pengertian ini didasarkan dari salah satu kesepakatan Konggres Internasional Kimia Murni dan Terapan (*International Conggres of Pure and Applied Chemistry*) karena sukarnya memberikan definisi yang jelas tentang lipid. Senyawa-senyawa lipid tidak mempunyai rumus struktur yang sama dan sifat kimia serta biologinya juga bervariasi. Karena itu dibuat kesepakatan tentang lipid yang didasarkan pada sifat fisika lemak tersebut (Toha 2001). Profil lipid adalah gambaran dari keadaan lipid yang terdiri dari kolestrol total, Trigliserida, HDL dan LDL (Almatsier 2003).

a. Kolesterol

Kolesterol merupakan bahan antara pembentukan sejumlah steroid penting, seperti asam empedu, asam folat, hormon-hormon adrenal kortek, estrogen, androgen, dan progesteron. Sebaliknya kolesterol dapat membahayakan tubuh jika terlalu banyak. Di dalam darah, kolesterol dapat membentuk endapan pada dinding pembuluh darah sehingga terjadi penyempitan yang dinamakan aterosklerosis. Bila penyempitan terjadi pada pembuluh darah jantung menyebabkan penyakit jantung koroner dan bila pada pembuluh darah otak menyebabkan penyakit serebrovaskuler (Almatsier 2003). Kadar kolesterol total darah pada tubuh manusia sebaiknya $\leq$ (200mg/dl), bila 200 mg/dl berarti risiko untuk terjadinya PJK meningkat (Anwar 2004).

Kolesterol mempunyai tiga fungsi penting yaitu (1) membantu membuat lapisan luar atau dinding-dinding sel, (2) menghasilkan asam empedu guna membantu mengurai makanan, (3) membantu tubuh membuat vitamin D dan hormon. Kolesterol merupakan zat gizi atau komponen lemak kompleks yang dibutuhkan tubuh sebagai salah satu sumber energi yang memberikan kalori paling tinggi dan juga merupakan bahan

dasar pembentukan hormon steroid. Sebagai lemak, koleterol melayang-layang seperti minyak di dalam air. Untuk dapat melayang, dibutuhkan protein yang membungkusnya yang sering disebut lipoprotein. Lipoprotein adalah kompleks makromolekul yang membawa lemak plasma hidrofobik, yaitu kolesterol dan trigliserida dalam darah (Fikri 2009). Lipoprotein yang mengangkut lipida dari saluran cerna ke dalam tubuh dinamakan kilomikron. Kilomikron diadsorbsi melalui dinding usus halus ke dalam sistem limfe untuk kemudian melalui *ductus thoraticus* di sepanjang tulang belakang masuk ke dalam vena besar di tengkuk dan seterusnya masuk ke dalam aliran darah (Almatsier 2003).

Bila kadar kolesterol darah manusia 200-239 mg/dl, tetapi tidak ada faktor risiko PJK lainnya, maka biasanya tidak perlu penanggulangan yang serius. Akan tetapi bila dengan kadar 200-239 mg/dl didapatkan faktor risiko PJK lainnya, maka perlu pengobatan yang intensif seperti halnya penderita dengan kadar kolesterol yang tinggi atau >240 mg/dl (Anwar 2004).

b. Trigliserida (Triasilgliserol)

Trigliserida atau triasilgliserol adalah ester gliserol, suatu alkohol trihidrat dan asam lemak (Almatsier 2003). Triasilgliserol atau trigliserida adalah dua istilah yang berarti triester dari gliserol, sedangkan diasil dan monoasil gliserol adalah intermediet penting dalam sejumlah reaksi biosintesis triasilgliserol. Triasilgliserol berada dalam bentuk cair atau padat, bergantung pada asam lemak pokoknya. Umumnya triasilgliserol tumbuhan mempunyai titik leleh rendah dan berbentuk cair pada suhu kamar. Hal ini disebabkan oleh banyaknya jumlah asam lemak tak jenuh seperti asam oleat, linoleat, atau asam linolenat. Sebaliknya triasilgliseriol hewan mempunyai asam lemak jenuh tinggi seperti asam palmitat dan stearat, sehingga titik leleh lebih tinggi, dan pada suhu kamar berbentuk semipadat atau padat (Toha 2001).

Trigliserida memiliki berat jenis lebih rendah daripada air, oleh karena itu trigliserida akan berada di lapisan atas dalam campuran air dan minyak

atau cuka dan minyak (Almatsier 2003). Kadar trigliserida yang tinggi merupakan faktor risiko untuk terjadinya PJK (Anwar 2004).

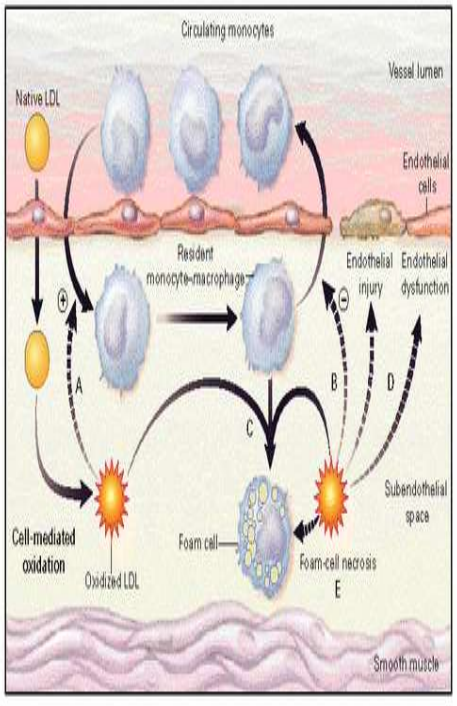
c. High *Density Lipoprotein* (HDL) dan *Low Density Lipoprotein* (LDL)

Ada dua jenis lipoprotein yang penting dalam distribusi kolesterol, yakni HDL dan LDL. LDL merupakan lipoprotein pengangkut kolesterol terbesar (40-50%) untuk disebarkan ke sel-sel otot, lemak, dan sel-sel lain (Almatsier 2003). LDL merupakan kolesterol jahat karena efeknya yang aterogenik, yaitu mudah melekat pada dinding sebelah dalam pembuluh darah dan menyebabkan penumpukan lemak yang dapat menyempitkan pembuluh darah. Tingginya kolesterol-LDL (kol-LDL) bisa terjadi akibat kurangnya jumlah reseptor LDL yang ada di dalam hati seperti pada kelainan genetik (hiperkolesterolemia familial), atau jenuhnya reseptor LDL yang ada sehubungan konsumsi makanan yang terlalu banyak mengandung kolesterol dan lemak jenuh, tingginya kadar VLDL, kecepatan produksi, serta eliminasi LDL (Dalimartha 2008). Jaringan yang banyak mengandung LDL adalah hati dan kelenjar adrenal. Peningkatan kadar kol-LDL di dalam darah akan menyebabkan metabolisme LDL terganggu (Dalimartha 2008).

Fungsi utama LDL adalah mengangkut kolestrol ke jaringan yang memerlukan untuk membran sel dan sintesis metabolit, seperti hormon steroid. Reseptor LDL mengenali apoB100 pada LDL, dan aktivitas reseptor LDL diregulasi oleh kadar kolestrol bebas intraseluler. Pengambilan LDL dapat bervariasi berdasarkan kebutuhan sel akan kolestrol (Barasi *et al.* 2007). Keberadaan reseptor LDL (reseptor apo B/E) berperan penting penting dalam pengontrolan kolesterol LDL di darah. Bila reseptor ini tidak ada, hati tidak dapat mengabsorpsi lipoprotein berdensitas sedang atau rendah. Tanpa adanya absorpsi tersebut, mesin kolesterol di sel hati menjadi tidak terkontrol dan terus membentuk kolesterol baru. Di samping itu dalam pembuluh darah terdapat sel-sel perusak yang dapat merusak LDL. Sel-sel perusak ini adalah sel-sel inflamasi berupa makrofag, neutrofil, dan

limfosit yang dikeluarkan oleh tubuh karena respon reaksi inflamasi. Reaksi ini muncul akibat adanya oksidasi LDL. Oksidasi LDL menginisiasi terjadinya proses inflamasi akut yang menyebabkan vasodilatasi sehingga monosit dalam darah masuk melalui celah antar endotel dan masuk pada tunika adventisia, dimana deposisi lemak juga terbentuk. Kerusakan ini diakibatkan adanya induksi hiperkolesterol yang memicu radikal bebas dan mengakibatkan reaksi inflamasi dan menyebabkan perlemakan pada tunika adventisia (Beers *et al.* 2003).

Bila hal ini terjadi selama bertahun-tahun, kolesterol akan menumpuk pada dinding pembuluh darah dan membentuk *plak.* Plak akan bercampur dengan protein dan ditutupi oleh sel-sel otot dan kalsium. Hal inilah yang kemudian dapat berkembang menjadi *aterosklerosis* (Almatsier 2003). Proses terjadinya *aterosklerosis* dapat dilihat pada Gambar 2.



Keterangan :

A) LDL terjebak dalam ruang subendotelial, sel-sel vaskular seperti sel-sel otot polos, sel endotel, dan makrofag akan Merangsang oksidasi LDL (tanda plus)

B) Menghambat (tanda minus) monosit keluar dari dinding pembuluh darah.

C) Monosit berdiferensiasi menjadi makrofag yang menginternalisasi oksidasi LDL menyebabkan pembentukan sel-busa

D) Oksidasi LDL juga menyebabkan disfungsi endotel dan cedera

E) Serta nekrosis sel-busa mengakibatkan pelepasan enzim lisosom dan puing-puing nekrotik. Panah patah menunjukkan efek samping dari oksidasi LDL

Gambar 2. Proses terjadinya *aterosklerosis* (Diaz *et al.*1997)

Proses terjadinya *aterosklerosis* diawali dengan kadar kolesterol yang meningkat, mengakibatkan kadar LDL naik dan membuat HDL turun. LDL

yang meningkat akan memicu oksidasi LDL dan menimbulkan reaksi inflamasi pada dinding pembuluh darah. Reaksi inflamasi menginisiasi sel imunokompeten seperti limfosit, neutrofil, monosit, dan makrofag. Beers *et al.* (2003) mengatakan gambaran histopatologi aorta yang paling jelas dari hiperkolesterol adalah infiltrasi oleh makrofag dan limfosit. Pemicu untuk influk dan migrasi leukosit belum diketahui, tetapi paparan produk degradasi elastin pada dinding aorta dapat berperan sebagai *primary chemotactic attractant* untuk infiltrasi makrofag.

Reaksi imunologi dan luka endotel menyebabkan vasodilatasi, sehingga sel endotel terganggu dan permeabilitas sel-sel endotel terhadap berbagai bahan di dalam plasma meningkat yang mengakibatkan bahan-bahan tersebut memiliki akses ke dalam arteri. Luka pada sel-sel endotel mengakibatkan reaksi inflamasi dan imunitas. Luka endotel akan memicu adanya ROS yang kemudian berikatan dengan LDL dalam darah dan terjadi proses oksidasi LDL. Selain itu, luka endotel juga meningkatkan peptida vasoaktif yang membuat permeabilitas endotel meningkat, sehingga terbentuk rongga antar sel, dan terjadi infiltrasi lemak dan sel inflamasi pada tunika adventisia.

HDL merupakan lipoprotein yang mengandung Apo AI dan Apo AII dengan kandungan trigliserida (5-10%) dan kolesterol (15-25%). HDL mempunyai efek antiaterogenik kuat sehingga disebut juga kolesterol baik (Almatsier 2003). Fungsi utama HDL adalah mengangkut kolesterol bebas yang terdapat dalam endotel jaringan perifer, ke reseptor HDL di hati untuk dijadikan empedu. Dengan demikian, penimbunan kolesterol di perifer berkurang. Kadar HDL yang tinggi di dalam darah dibutuhkan untuk mengontrol kadar kolesterol sehingga tidak terjadi hiperkolesterolemia (Dalimartha 2008).

Nilai LDL dan HDL mempunyai implikasi terhadap kesehatan jantung dan pembuluh darah. Nilai LDL yang tinggi dikaitkan dengan resiko tinggi terhadap serangan jantung. Sebaliknya HDL tinggi dikaitkan dengan resiko rendah terhadap serangan jantung. Oleh sebab itu, LDL dikatakan juga

sebagai " kolestrol jahat", sedangkan HDL" kolestrol baik" (Almatsier 2003). Menurut *National Institutes of Health Expert Panel* (NCEP) pada tahun 2001 mengklasifikasikan kadar kolesterol total, HDL dan LDL seperti tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Variasi kadar kolesterol total, HDL, dan LDL (*National Institutes of Health Expert Panel* 2011)

Value (mg/dl)	Stages
Kolesterol Total	
< 200	Sangat Baik
200-240	Cukup Tinggi
≥ 240	Tinggi
Low Density Lipoprotein (LDL)	
<100	Sangat Baik
100-129	Lebih dari baik
130-159	Cukup Baik
160-190	Tinggi
≥ 190	Sangat Tinggi
High Density Lipoprotein (HDL)	
< 40	Rendah
> 60	Tinggi

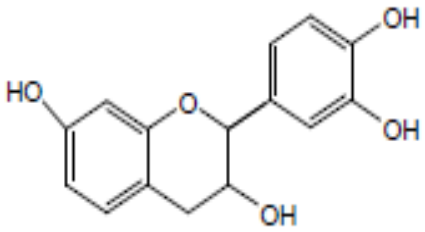
4. Senyawa-Senyawa Aktif Jati Belanda

a. Tanin

Tanin merupakan senyawa yang memiliki sejumlah gugus hidroksi fenolik yang banyak dijumpai pada tumbuhan, terutama pada bagian daun, buah dan batang (Najib 2010). Tanin merupakan salah satu jenis senyawa golongan polifenol. Tanin dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis. Maka dari itu semua penelitian tentang berbagai jenis senyawa tanin mulai dilirik peneliti (Sulistiono 2007).

Tanin merupakan himpunan polihidroksi fenol yang dapat dibedakan dari fenol-fenol lain karena kemampuannya untuk mengendapkan protein. Tanin mempunyai aktivitas antioksidan dan menghambat pertumbuhan tumor. Tumbuhan yang banyak mengandung tanin diantaranya adalah teh, jambu biji dan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L). Tanin pada saat ini sudah banyak diisolasi dari tanaman dan dapat dijumpai di pasaran berupa bubuk atau serbuk putih kekuningan, amorf, beraroma khas.

Tanin merupakan salah satu tipe dari senyawa metabolit sekunder yang mempunyai karakteristik (1) senyawa oligomer dengan satuan struktur yang bermacam- macam dengan gugus fenol bebas, (2) berat molekul antara 100 sampai 20.000, (3) larut dalam air, dan (4) mampu berikatan dengan protein membentuk kompleks tanin-protein (Giner 2001).



Gambar 3**.** Struktur inti tanin (Robinson 1995)

Senyawa tanin dalam bidang pengobatan digunakan untuk mengobati diare, hemostatik (menghentikan pendarahan), dan wasir. Senyawa tanin dibagi menjadi dua yaitu tanin yang terhidrolisis dan tanin yang terkondensasi. Tanin terkondensasi secara biosintesis yang terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal (galokatekin) yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Proantosianidin merupakan nama lain dari tanin terkondensasi karena jika direaksikan dengan asam panas, beberapa ikatan karbon penghubung satuan terputus dan dibebaskanlah monomer antosianidin (Harborne 1987).

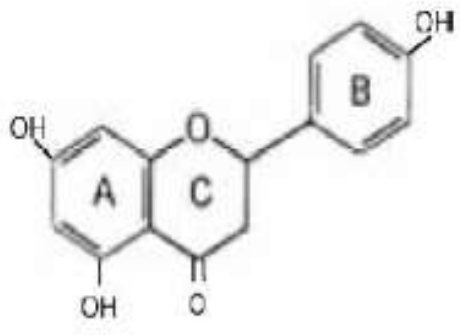
Senyawa tannin merupakan zat aktif dari jati belanda yang bersifat polar (Katno *et al* 2008). Suatu molekul bersifat polar apabila tersusun atas atom-atom yang berbeda. Kepolaran suatu molekul ditentukan oleh harga momen dipolnya (μ). Suatu molekul bersifat polar bila $\mu > 0$ dan nonpolar bila $\mu = 0$ (Effendy 2006). Struktur senyawa tanin tersusun atas atom-atom yang berbeda dan tanin memiliki gugus hidroksi lebih dari satu dan memiliki momen dipol tidak sama dengan nol ($\mu \neq 0$) yang menyebabkan tanin bersifat polar, sehingga harus dilarutkan dengan pelarut yang bersifat polar. Penelitian Ummah (2010) menunjukkan bahwa dengan pelarut campuran aseton dan air didapatkan kadar tannin lebih banyak yaitu 10.92 %.

Tanin merupakan senyawa polifenol. Pada senyawa polifenol, aktivitas antioksidan berkaitan erat dengan struktur rantai samping dan juga substitusi pada cincin aromatiknya. Kemampuannya untuk bereaksi dengan radikal bebas DPPH dapat mempengaruhi urutan kekuatan antioksidannya. Aktivitas peredaman radikal bebas senyawa polifenol diyakini dipengaruhi oleh jumlah dan posisi hidrogen fenolik dalam molekulnya. Dengan demikian aktivitas antioksidan yang lebih tinggi akan dihasilkan pada senyawa fenolik yang mempunyai jumlah gugus hidroksil yang lebih banyak pada inti flavonoidnya (Es-Safi *et al*. 2007). Senyawa fenolik ini mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan hidrogen, maka aktivitas antioksidan senyawa fenolik dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas yang mengawali proses oksidasi atau pada penghentian reaksi radikal berantai yang terjadi (Es-Safi *et al*. 2007).

Hagerman *et.al* (1998) menyebutkan bahwa senyawa tanin memiliki potensi sebagai antioksidan biologis. Potensial redoks dari senyawa tanin memiliki kesamaan dengan struktur senyawa fenolik pada umumnya dalam hal mekanisme terhadap penangkal radikal bebas. Hagerman *et.al* (1998) juga menyebutkan bahwa tanin memiliki peranan yang unik sebagai antioksidan. Sebagai contoh tanin sebagai cadangan antioksidan dan dengan demikian secara tidak langsung meningkatkan tingkat antioksidan di jaringan lain seta juga dapat melindungi protein, karbohidrat, dan lipid dalam saluran pencernaan dari kerusakan oksidatif selama proses pencernaan.

b. Flavanoid

Flavonoid merupakan salah satu jenis komponen yang terkandung dalam tanaman, dan dapat ditemukan pada semua tanaman vaskuler. Flavonoid adalah komponen yang mempunyai berat molekul rendah, dan pada dasarnya merupakan *phenylbenzopyrones* (*phenylchromones*) dengan berbagai variasi pada struktur dasarnya, yaitu tiga cincin utama yang saling melekat. Struktur dasar ini terdiri dari dua cincin benzene (A dan B) yang dihubungkan melalui cincin heterosiklik piran atau piron (dengan ikatan ganda) yang disebut cincin “C” dan struktur dasar flavonoid adalah rangkaian cincin karbon $C_6C_3C_6$ (Rahmat 2009).

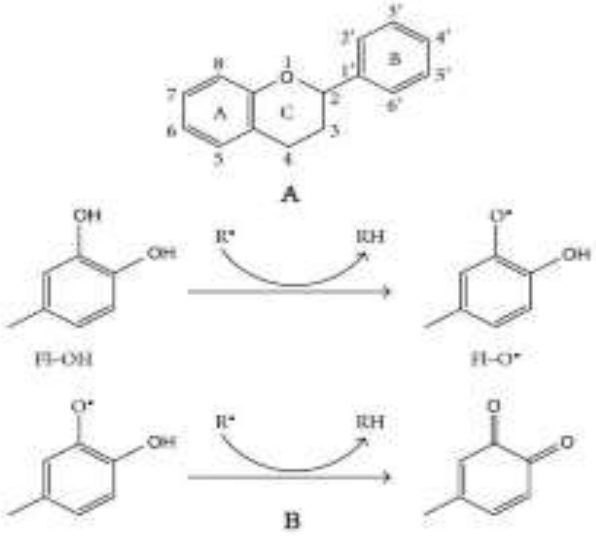


Gambar 4**.** Struktur inti flavanoid (Rahmat 2009).

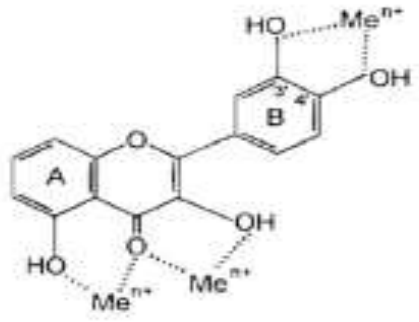
Senyawa-senyawa flavonoida adalah senyawa-senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzene yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon. Senyawa-senyawa flavonoida adalah senyawa 1,3 diaril propana, senyawa isoflavonoida adalah 1,1 diaril propana. Istilah flavonoida deiberikan pada suatu golongan besar senyawa yang berasal dari kelompok senyawa yang paling umum, yaitu senyawa flavon; suatu jembatan oksigen terdapat diantara cincin A dalam kedudukan orto, dan atom karbon benzil yang terletak disebelah cincin B. Senyawa heterosiklik ini, pada tingkat oksidasi yang berbeda terdapat dalam kebanyakan tumbuhan. Flavon adalah bentuk yang mempunyai cincin C dengan tingkat oksidasi paling rendah dan dianggap sebagai struktur induk dalam nomenklatur kelompok senyawa-senyawa ini (Hutauruk 2010). Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktifitas sebagai obat. Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, bunga dan buah (Agestiawaji & Sugrani 2009).

Sifat antioksidan dari flavonoid berasal dari kemampuan untuk mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas (Gambar 5) dan juga membentuk kompleks dengan logam (Gambar 6). Kedua mekanisme itu membuat flavonoid memiliki beberapa efek, diantaranya menghambat peroksidasi lipid,

menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat aktivitas b



Gambar 5. Peredaman Radikal Bebas oleh Flavonoid. (A) Struktur Dasar Flavonoid . (B) Proses Peredaman Radikal Bebas oleh Flavonoid (Agestiawaji & Sugrani 2009).



Gambar 6. Pembentukan Kompleks Logam pada Flavanoid (Agestiawaji & Sugrani 2009).

Flavonoid yang terdapat pada tumbuh tumbuhan bila dikonsumsi secara rutin dapat melindungi tubuh dari penyakit kardiovaskuler dan beberapa penyakit kronis lain (Knekt *et al.* 2002; Chepulis & Starkey 2008). Ternyata Flavonoid mampu memperbaiki fungsi endotel pembuluh darah (Engler *et al.* 2004), dapat mengurangi kepekaan LDL terhadap pengaruh radikal bebas (Stein *et al.*1999;

Ling *et al.* 2001) dan dapat bersifat hipolipidemik, antiinflamasi serta sebagai antioksidan yang baik (Davalos 2006; Castilla *et al.* 2006; Kelley *et al.*2006).

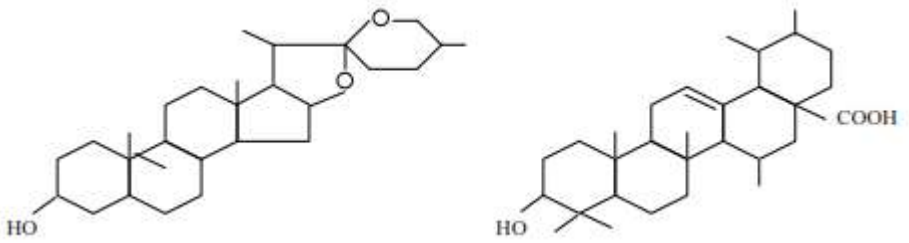
c. Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida triterpenoida ataupun glikosida steroida yang merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisa sel darah merah. Pola glikosida saponin kadang-kadang rumit, banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat (Harborne 1987).

Glikosida saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa sapogenin. Saponin tersebar luas di antara tanaman tinggi, keberadan saponin sangat mudah ditandai dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila dikocok menimbulkan buih yang stabil. Saponin merupakan senyawa berasa pahit menusuk dan dapat menyebabkan bersin dan bersifat racun bagi hewan berdarah dingin, banyak di antaranya digunakan sebagai racun ikan (Gunawan & Mulyani 2004).

Senyawa saponin dapat pula diidentifikasi dari warna yang dihasilkannya dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Warna biru-hijau menunjukkan saponin steroida, dan warna merah, merah muda, atau ungu menunjukkan saponin triterpenoida (Farnsworth 1966).

Saponin memiliki berat molekul tinggi, dan berdasarkan struktur aglikonnya, saponin dapat dibedakan menjadi dua macam, yaitu tipe steroid dan tipe triterpenoid. Kedua senyawa ini memiliki hubungan glikosidik pada atom C-3 dan memiliki asal usul biogenetika yang sama lewat asam mevalonat dan satuan-satuan isoprenoid (Gunawan & Mulyani 2004). Tipe aglikon senyawa saponin dapat dilihat pada Gambar 7 (Farnsworth 1966).



A **B**

Gambar 7. (A) Sapogenin Steroid (B) Sapogenin Triterpenoid (Farnsworth 1966).

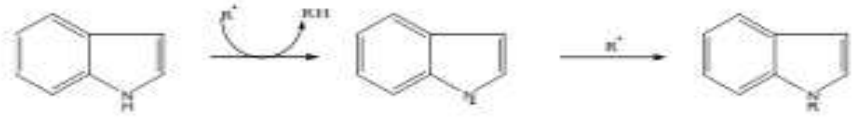
Saponin terdiri dari sapogenin yaitu bagian yang bebas dari glikosida yang disebut aglikon. Senyawa ini mempunyai efek antioksidan dengan membentuk hidroperoksida sebagai antioksidan sekunder sehingga menghambat pembentukan lipid peroksida (Sudirman 2011).

d. Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang memiliki atom nitrogen. Sebagian besar atom nitrogen merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Alkaloid pada umumnya bersifat basa. Sebagian besar alkaloid mempunyai aktivitas biologis tertentu. Beberapa alkaloid dilaporkan memiliki sifat beracun, tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan (Lenny 2006).

Sebagian besar senyawa alkaloid bersumber pada tumbuh-tumbuhan. Namun demikian alkaloid juga dapat ditemui pada bakteri, artopoda, amfibi, burung dan mamalia. Alkaloid dapat ditemui pada berbagai bagian tanaman seperti akar, batang, daun, dan biji. Alkaloid pada tanaman berfungsi sebagai: racun yang dapat melindunginya dari serangga dan herbivora, faktor pengatur pertumbuhan, dan senyawa simpanan yang mampu menyuplai nitrogen dan unsur-unsur lain yang diperlukan tanaman (Wink 2008).

Senyawa alkaloid, terutama indol, memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien. Senyawa radikal turunan dari senyawa amina ini memiliki tahap terminasi yang sangat lama (Gambar 8).



Senyawa Alkaloid (Indol) **Hasil Reaksi dengan Radikal Bebas**

Gambar 8. Peredaman Radikal Bebas oleh Senyawa Akaloid terutama indol (Yuhernita & Juniarti 2011).

e. Steroid dan Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C-30 asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini tidak berwarna, berbentuk kristal, bertitik leleh tinggi dan bersifat optis aktif (Harborne 1987). Golongan senyawa triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana disebut senyawa steroid. Dahulu sering digunakan sebagai hormon kelamin, asam empedu, dan lain-lain. Tahun-tahun terakhir ini makin banyak senyawa steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Tiga senyawa yang biasa disebut fitosterol terdapat pada hampir setiap tumbuhan tinggi yaitu: sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol (Harborne 1987; Robinson 1995).

Pada uji aktivitas antioksidan senyawa steroid dan terpenoid menggunakan uji DPPH, Peredaman radikal bebas terjadi ketika elektron tak berpasangan menjadi berpasangan dengan adanya sebuah donor hidrogen, sehingga membentuk DPPH yang lebih stabil (Gambar 9). DPPH yang merupakan suatu molekul radikal bebas dengan warna ungu dapat berubah menjadi senyawa yang stabil dengan warna kuning oleh reaksi dengan antioksidan, dimana antioksidan memberikan satu elektronnya pada DPPH sehingga terjadi peredaman pada radikal bebas DPPH (Yuhernita & Juniarti 2011).

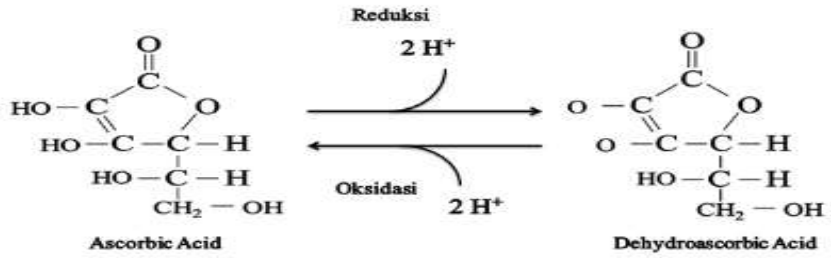
5. Vitamin C Sebagai Antioksidan

Vitamin C adalah nutrien dan vitamin yang larut dalam air dan penting untuk kehidupan serta untuk menjaga kesehatan. Vitamin ini juga dikenal dengan nama kimia dari bentuk utamanya yaitu asam askorbat. Vitamin C dikenal sebagai antioksidan terlarut air paling dikenal, vitamin C juga secara efektif memungut formasi ROS dan radikal bebas (Frei 1994).

Di dalam tubuh, vitamin C terdapat di dalam darah (khususnya leukosit), korteks anak ginjal, kulit, dan tulang. Vitamin C akan diserap disaluran cerna melalui mekanisme transport aktif (Sherwood 2000).

Sebagai zat penyapu radikal bebas, vitamin C dapat langsung bereaksi dengan anion superoksida, radikal hidroksil, oksigen singlet dan lipid peroksida. Sebagai reduktor asam askorbat akan mendonorkan satu elektron membentuk semidehidroaskorbat yang tidak bersifat reaktif dan selanjutnya mengalami reaksi disproporsionasi membentuk dehidroaskorbat yang bersifat tidak stabil. Dehidroaskorbat akan terdegradasi membentuk asam oksalat dan asam treonat. Oleh karena kemampuan vitamin C sebagai penghambat radikal bebas, maka peranannya sangat penting dalam menjaga integritas membran sel (Suhartono *et al*. 2007).

Vitamin C merupakan suatu donor elektron dan agen pereduksi. Disebut anti oksidan, karena dengan mendonorkan elektronnya, vitamin ini mencegah senyawa-senyawa lain agar tidak teroksidasi. Walaupun demikian, vitamin C sendiri akan teroksidasi dalam proses antioksidan tersebut, sehingga menghasilkan asam dehidroaskorbat (Padayatty 2003).



Gambar 9. Reaksi reduksi dan oksidasi asam askorbat (Padayatty 2003).

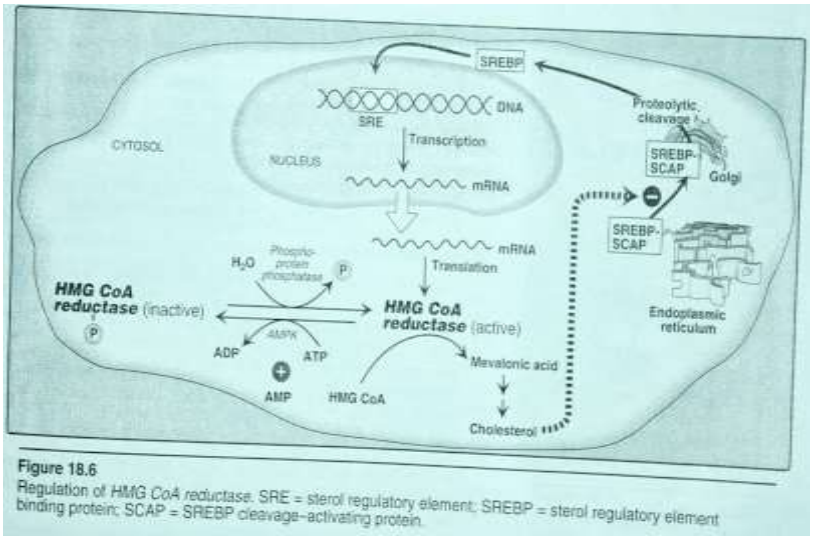
Vitamin C memiliki struktur yang mirip glukosa, merupakan antioksidan yang bekerja pada sitosol secara ekstrasel. Vitamin C terdapat dalam bentuk asam askorbat maupun dehidroaskorbat. Asam askorbat dioksidasi *in vivo* menjadi radikal bebas askorbil reversibel dan mampu menjadi asam askorbat kembali. Secara *in vitro*, vitamin C berfungsi sebagai koantioksidan pada regenerasi bentuk radikal vitamin E menjadi vitamin E tereduksi. Asam askorbat masuk sirkulasi untuk didistribusikan ke sel-sel tubuh. Vitamin C adalah antioksidan kuat yang berperan dibawah kondisi *in vitro* dan *in vivo* (Pavlovic *et al*. 2005).

6. Mekanisme Ekstrak Daun Jati Belanda terhadap Kadar Kolesterol LDL dan HDL

Mekanisme penurunan kadar kolesterol LDL oleh ekstrak daun jati belanda diperankan oleh senyawa steroid (Then *et al.* 2009). Selain itu komponen utama pada ekstrak daun jati belanda menekan kadar kolesterol LDL plasma melalui mekanisme peningkatan aktivitas reseptor LDL (Astawan *et al*. 2008).

Kandungan senyawa aktif pada ekstrak jati belanda seperti flavonoid, steroid saponin serta tanin merupakan senyawa yang berperan dalam menurunkan kadar kolesterol LDL. Fitosterol memiliki mekanisme dalam menurunkan kadar kolesterol LDL, yaitu sebagai *ligan* untuk LXR – RXR *nuclear reseptor* (Brousseau 2003). Ikatan heterodimer LXR – RXR mengatur beberapa gen yang terlibat dalam sintesis, penyerapan, ekskresi untuk homeostasis kolesterol dan metabolisme lipoprotein. Salah satunya peningkatan ekspresi gen *ATP-Binding Cassette Transporter A1* (ABC A1), transporter yang membawa kolesterol dari sel *enterocyte*, hepatosit dan makrofag. Ikatan heterodimer LXR – RXR juga meningkatkan ekspresi gen transporter ABC-G5 dan G8 yang membawa kolesterol dari hepatosit ke kantong empedu (Brousseau 2003). *ATP-Binding Cassette Transporter A1* (ABCA 1) akan berinteraksi dengan Apo-1 lalu tersekresi dalam plasma dengan bentuk lipid poor Apo A1 yang mengambil kolesterol berlebih dari sel dan membentuk pre-β-HDL (*nascent*). Kolesterol bebas dari HDL diesterifikasi enzim *Lechitin Cholesterol Acyl Transferase* (LCAT) untuk merubah pre-β-HDL (nascent) menjadi α-HDL. LCAT adalah enzim yang bertugas mengikat lipoprotein atau lemak bebas dalam plasma dan disekresi oleh hati (Brousseau 2003).

Senyawa fitosterol dan tanin dalam daun jati belanda juga akan menghambat ikatan *sterol regulatory element binding protein* (SREBP) dengan *sterol regulatpry element* (SRE), protein yang berperan dalam transkripsi gen reseptor LDL (Gambar 10).



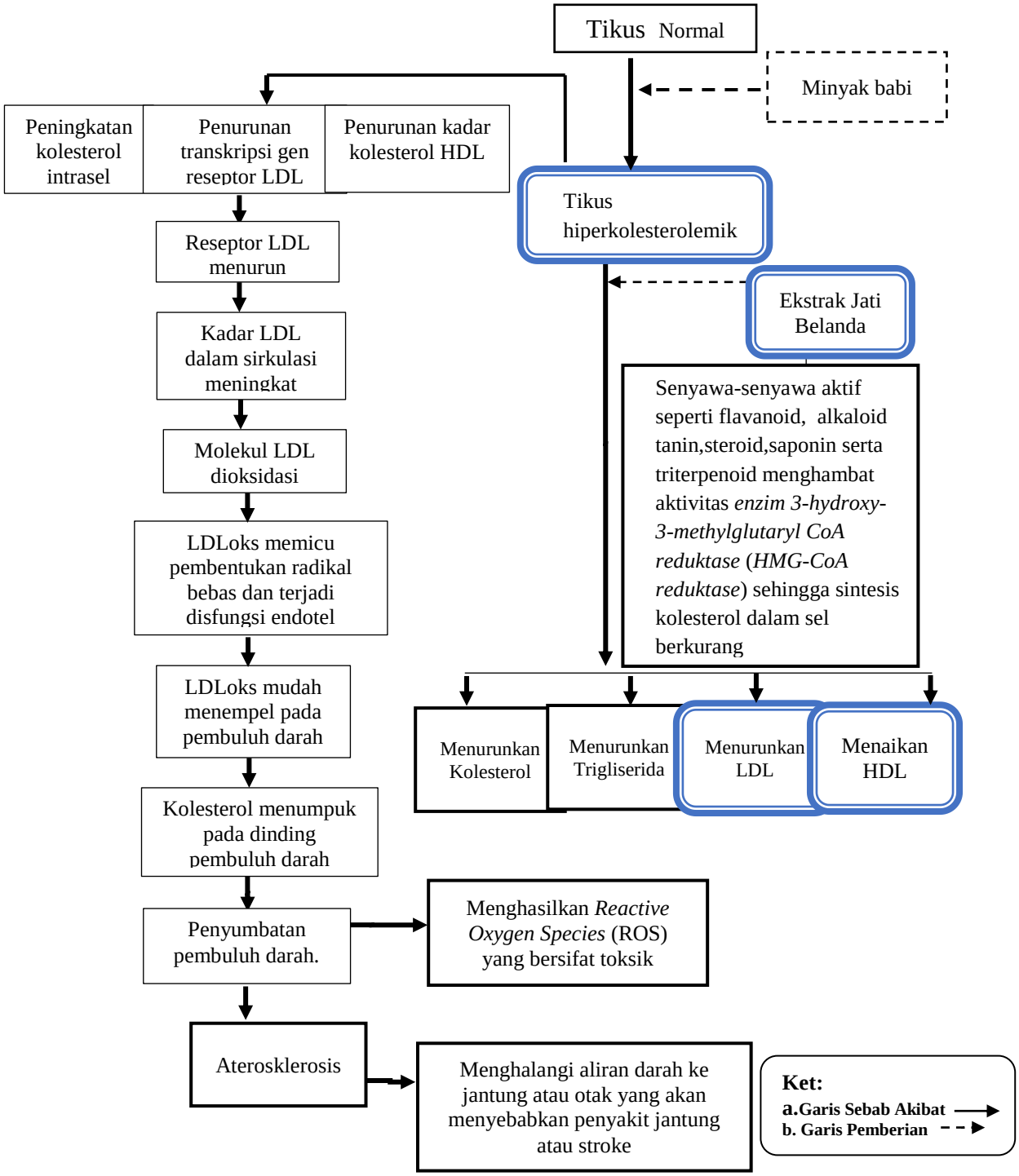
Gambar 10. Mekanisme pengaturan sintesis kolesterol (Mayes 2000).

Hambatan ini mengakibatkan penurunan aktivitas *enzim 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reduktase* (*HMG-CoA reduktase*) sehingga sintesis kolesterol dalam sel berkurang. Kadar kolesterol intraseluler yang rendah mengakibatkan penurunan pembentukan kilomikron (Mayes 2000). *Remnant* kilomikron yang mencapai ke hati akan menurun. Kondisi ini akan merangsang sintesis reseptor LDL. Selain itu sekresi VLDL oleh sel-sel hati akan menurun sehingga menyebabkan konversi VLDL ke LDL berkurang. Hal ini berdampak pada penurunan kadar LDL dalam tubuh (Trautwein *et al.* 2006). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Venugopal *et al.* (2002) bahwa secara *in vitro* flavanoid juga bekerja sebagai inhibitor *enzim 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reduktase (HMG-CoA reduktase)* sehingga sintesis kolesterol menurun.

Selain itu saponin memiliki mekanisme dalam menurunkan kadar LDL dalam tubuh. Senyawa saponin memiliki afinitas yang tinggi untuk berikatan dan membentuk misel campuran makanan (DMM) daripada kolesterol. Akibatnya,

komponen ini menggantikan kolesterol dari DMM, tanpa mempengaruhi konsentrasi garam empedu yang dimasukkan di DMM. kolesterol akan mengendap menjadi bentuk dalam agregat besar yang tidak bisa diserap oleh di dinding usus (Vinarova *et al*. 2015). Senyawa aktif jati belanda pada penelitian ini memungkinkan efek terhadap penurunan kadar kolesterol LDL plasma dan peningkatan kadar kolesterol HDL plasma.

7. Kerangka Berfikir



Gambar 11. Kerangka Berfikir Penelitian tentang Aktivitas Ekstrak Daun Jati Belanda terhadap Kadar Kolesterol HDL dan LDL pada Tikus Hiperkolesterolemia

Kondisi hiperkolesterolemik mengakibatkan terjadinya aterosklerosis yang akan berdampak pada penyakit kardiovaskuler. Ekstrak dari daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) mampu mencegah peningkatan kolesterol total serum darah tikus (Sukandar *et al.* 2009). Penurunan kadar kolesterol total melalui mekanisme antioksidan dari senyawa aktif daun jati belanda, meningkatan metabolisme kolesterol menjadi asam empedu dan meningkatkan ekskresi asam empedu melalui feses. Rendahnya kadar kolesterol dalam hati akan meningkatkan pengambilan kolesterol dari darah ke hati yang selanjutnya berperan sebagai prekursor asam empedu, dengan demikian kadar kolesterol total dalam darah berkurang (Almaitser 2003). Pada penelitian ini akan digunakan hewan uji tikus hiperkolesterolemi akibat induksi minyak babi. Minyak babi merupakan bahan yang digunakan untuk menginduksi peningkatan lipid pada binatang percobaan. Pemberian minyak babi adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi hiperkolesterolemik binatang percobaan yang diberikan melalui oral dengan cara gavage selama 14 hari (Umarudin *et al.* 2012). Karena keterbatasan penelitian maka peneliti memfokuskan untuk meneliti kadar kolesterol HDL dan LDL yang diberikan dosis ekstrak etanol 70% daun jati belanda dengan berbagai dosis.

B. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah ekstrak daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) memiliki aktivitas terhadap peningkatan kadar kolesterol HDL dan penurunan kadar kolesterol LDL serum darah tikus hiperkolesterolemik

BAB III
METODE PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian di LPPT Unit 1 Universitas Gajah Mada dan Laboratorium Kimia Fisik Universitas Negeri Semarang. Penelitian dilaksanakan selama 3 bulan.

B. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih galur *wistar*. Adapun besar sampel keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor tikus putih galur *wistar* jantan berumur 3 bulan dengan berat badan 150-200 g. Dimana 25 ekor tikus putih tersebut dibagi dalam 5 kelompok uji, yaitu 1 kelompok kontrol, 1 kelompok kontrol positif dan 3 kelompok perlakuan dengan tiap kelompok terdiri dari 5 ekor. Perhitungan besar sampel dihitung dengan rumus Federer sebagai berikut.

$$(t-1)\,(n-1) \geq 15$$
$$(5-1)\,(n-1) \geq 15$$
$$4n-4 \geq 15$$
$$4n \geq 19$$
$$n \geq 4.75 \text{ atau } 5$$

Keterangan.

t : Jumlah kelompok uji

n : Besar sampel per kelompok

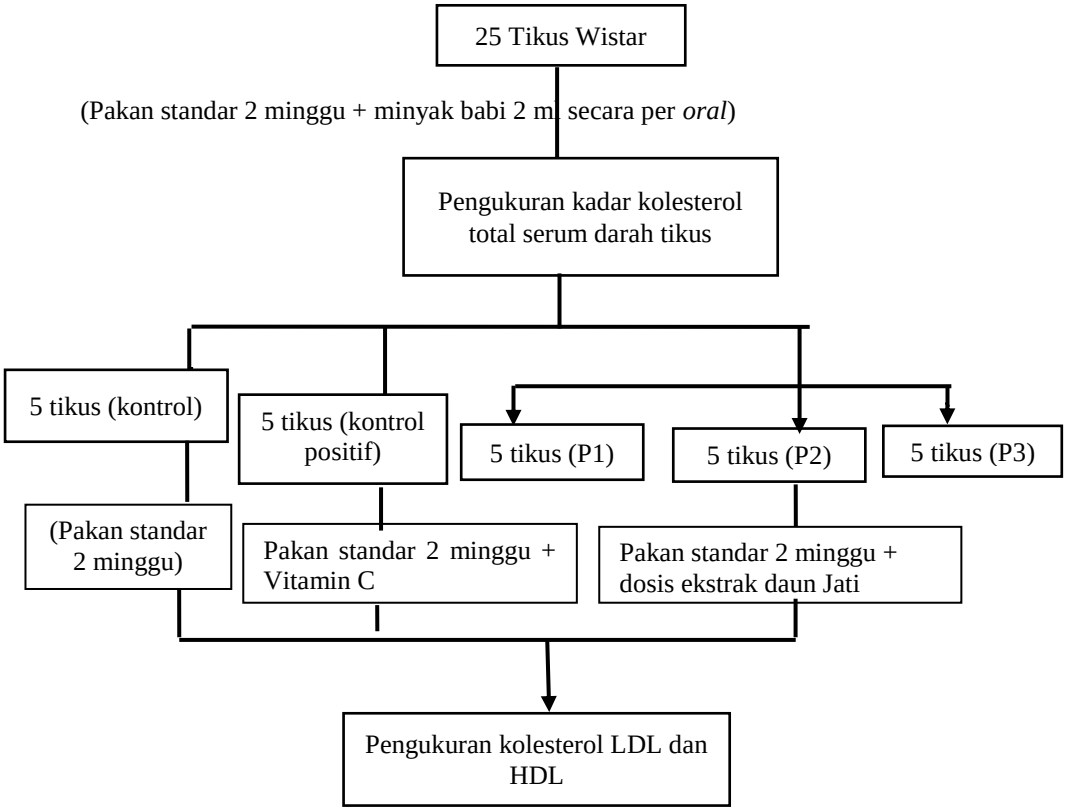
C. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini ada 4 variabel yaitu :

1. Variabel bebas : Dosis ekstrak daun jati belanda
2. Variabel Tergantung : Kadar kolestrol HDL dan LDL serum darah tikus
3. Variabel Kendali : Strain, jenis kelamin, umur, jenis pakan, dan ukuran kandang
4. Variabel Rambang : Keadaan kandang, suhu, udara, dan pencahayaan

D. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen. Desain yang digunakan yaitu *Post test Randomized Control Design* dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dalam penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan.



Gambar 12. Rancangan Penelitian

Keterangan:
Kontrol : Pakan Standar
Kontrol Positif : Pakan Standar + Vitamin C 1,8 mg /hari
Perlakuan 1 (P1) : Pakan Standar + Ekstrak daun Jati Belanda 25 mg/kg BB/hari
Perlakuan 2 (P2) : Pakan Standar + Ekstrak daun Jati Belanda 50 mg/kg BB/hari
Perlakuan 3 (P3) : Pakan Standar + Ekstrak daun Jati Belanda 75 mg/kg BB/hari

E. Alat dan Bahan Penelitian

Tabel 2. Alat Penelitian

No	Alat	Kegunaan
1	Timbangan (*Ohaus*)	Menimbang berat badan tikus.
2	Timbangan elektrik (Precisa xT 120A)	Menimbang bahan
3	Alat alat gelas (erlenmeyer, gelas ukur, corong pisah, pipet tetes, pengaduk gelas, labu ukur 100 ml)	Mengukur, memisahkan serta mengambil larutan
4	Blender (Cosmos)	Menghaluskan daun Jati Belanda
5	*Vacum rotary evaporator* (RV 10 control V-C)	Memekatkan hasil filtrat ekstarsi daun jati belanda
6	Seperangkat alat kromatografi lapis tipis	Mengidentifikasi kandungan ekstrak daun jati belanda
7	Kandang tikus (ukuran 50 X 30 cm) lengkap dengan tempat pakan dan minum	Tempat pemeliharaan tikus.
8	Mikrohematokrit (Bio-Rad)	Untuk mengambil darah dari sinus orbitalis
9	Rak dan tabung reaksi (Pyrex)	Untuk menampung sampel darah.
10	Ependrof (Extra gene)	Untuk menampung serum darah.
11	Mikropipet (Sacorex)	Untuk mengambil zat dengan volume terkecil.
12	Sentrifuge (Scientific model 3621)	Untuk memisahkan serum darah tikus
13	Spektrofotometer (Clinicon 4010 panjang gelombang 340-600 nm)	Untuk memeriksa kadar kolesterol serum darah.
14	Jarum sonde lambung (Teknis)	Memasukan minyak babi secara oral ke tikus percobaan
15	Water bath (ThermoScientific)	Pemanasan ekstrak tannin daun jati belanda

Tabel 3. Bahan Penelitian

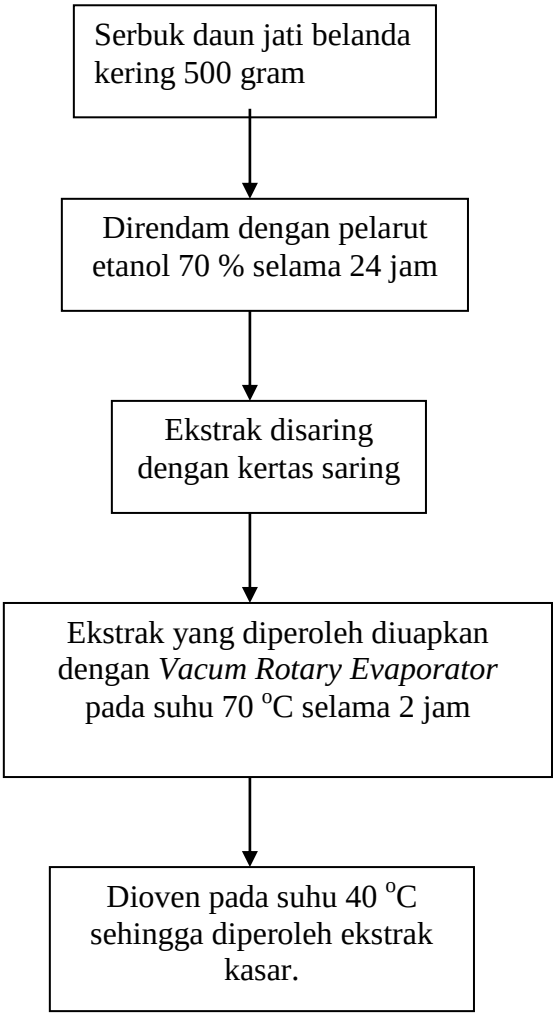
No	Bahan	Kegunaan
1	Minyak babi	Untuk menaikkan kadar kolesterol tikus.
2	Pakan standar (pellet)	sebagai pakan sehari-hari.
3	Air minum	Sebagai minuman hewan percobaan
4	Asam Pikrat	Untuk menandai hewan percobaan
5	Tikus Wistar jantan (umur 3 bulan), berat 150-200 g.	Hewan uji percobaan
6	Etanol 70 % (Merck)	Pelarut untuk ekstraksi daun jati belanda
7	Akuades (Teknis)	Pelarut untuk melarutkan ekstrak daun jati belanda
8	$FeCl_3$ (Merck)	Reagen untuk uji kualitatif adanya senyawa tannin dalam daun jati belanda
9	Reagen (LDL dan HDL) (DIASYS)	Mengetahui kadar LDL dan HDL,
10	Bahan - bahan untuk elusi (Klorofom (Merck), Metanol (Merck), NH_4OH pekat (Merck), aseton (Merck), butanol (Merck), asam asetat (Merck), *n*-heksana (Merck), toluen (Merck), etil asetat (Merck))	Eluen untuk analisis Fitokimia metode KLT
11	Pereaksi Dragendorff	Uji fitokimia senyawa alkaloid
12	Pereaksi $SbCl_3$	Uji fitokimia senyawa saponin
13	Radikal bebas DPPH	Uji aktivitas antioksidan

F. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

a. Ekstraksi Daun Jati Belanda

Ekstraksi diawali dengan cara daun jati belanda dibersihkan kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar selama 3 hari. Setelah itu diblender hingga menjadi serbuk kasar. Serbuk tersebut ditimbang sebanyak 500 g kemudian direndam dengan 5000 ml pelarut etanol 70 % selama 24 jam. Selanjutnya ekstrak disaring dengan kertas saring. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan *Vacum Rotary Evaporator* pada suhu 70 ^oC selama 2 jam dan dioven pada suhu 40 ^oC sehingga diperoleh ekstrak kasar (Kharisma 2007, Gambar 14).



Gambar 13. Diagram Alir Ekstraksi Daun Jati Belanda (Kharisma 2007).

b. Analisis Fitokimia Ekstrak Daun Jati Belanda Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder sampel secara kualitatif. Analisis fitokimia dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) (Marliana *et al.* 2005).

1) Uji Alkaloid

Sampel 2 ml ditambah amonia 25% hingga PH 8-9. Kemudian ditambahkan kloroform, dan dipekatkan di atas *waterbath*. Fase kloroform ditotolkan pada plat silika gel G_{60}. Elusi dilakukan dengan metanol : NH_4OH

pekat = 200 :3. Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Kemudian plat disemprot dengan pereaksi Dragendorff, dikeringkan dan diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

2) Uji Saponin

Sampel 2 ml ditambah dengan HCl 2M, diaduk, direfluks 6 jam di atas *waterbath*, kemudian didinginkan. Setelah itu dinetralkan dengan amonia, diuapkan di atas *waterbath*, ditambah n-heksana kemudian disaring. Filtratnya kemudian diuapkan di atas *waterbath*, ditambah 5 tetes kloroform, dan ditotolkan pada plat silika gel G_{60}. Elusi dilakukan dengan kloroform : aseton = 4 : 1 Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Kemudian plat disemprot dengan $SbCl_3$ dioven pada suhu 110^0C selama 10 menit, dan diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

3) Uji Flavanoid

Sampel ditotolkan pada plat silika gel G_{60}. Dielusi dengan butanol : asam asetat : air = 3:1:1, Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Selanjutnya plat disemprot dengan amonia, dikeringkan dan diamati kembali dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

4) Uji Tanin

Sampel ditotolkan pada plat silika gel G_{60} yang sudah diaktifkan pada pemanasan dalam oven suhu 100^0C selama 10 menit. Sampel ditotolkan pada jarak 1cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan dan dielusi dengan fase gerak *n*-Butanol : asam asetat : air (4:1:5). Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Noda yang terbentuk diperiksa dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

5) Uji Steroid

Sampel ditotolkan pada plat silika gel GF_{254} yang sudah diaktifkan. Sebagai fase gerak digunakan toluen : etil asetat : klorofom (5 : 1 : 4). Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Noda yang terbentuk diperiksa dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

6) Uji Terpenoid

Sampel ditotolkan pada plat silika gel GF_{254} yang sudah diaktifkan. Sebagai fase gerak digunakan eluen kloroform : *n*-heksana (2:1). Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Noda yang terbentuk diperiksa dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

c. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Buffer asetat 100 mM 1 ml (pH 5.50), 1.87 ml metanol dan 0.1 ml radikal bebas DPPH 3 mM dalam metanol dimasukkan ke tabung reaksi. Kemudian sebanyak 0.03 ml larutan sampel ditambahkan ke dalam tabung reaksi tersebut dan diinkubasi 25ºC selama 20 menit. Absorbansi yang dihasilkan dibaca pada 517 nm. Penurunan absorbansi menunjukkan adanya aktivitas scavenging (aktivitas antioksidan). Untuk pembuatan kurva standar digunakan asam askorbat, sehingga satuannya dinyatakan dalam AEAC (*Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity*) (Kubo *et al.* 2002).

d. Pembuatan Tikus Hiperkolesterolemia

Setiap kelompok tikus diberikan diet hiperkolesterol secara oral, dengan cara pemberian minyak babi sebanyak 2 ml dengan bantuan sonde lambung dan ditambah pakan standar selama 14 hari (Gani 2013). Kadar kolesterol total tikus dianalisis untuk mengetahui apakah tikus dalam keadaan

hiperkolesterolemia atau belum. Tikus dikatakan hiperkolesterolemi jika kolestrol tikus putih melebihi 54 mg/dl (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

2. Eksperimen

a. Tikus putih hiperkolesterolemia yang berjumlah 25 ekor dikelompokkan secara random dengan undian menjadi 5 kelompok, yaitu satu kelompok kontrol, satu kelompok kontrol positif dan 3 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor.

b. Tikus hiperkolesterolemi diperlakukan selama 14 hari sebagai berikut (Sukandar *et al.* 2009) :

Kelompok I : Sebagai kontrol hiperkolesterolemia diberi pelarut air.

Kelompok II : Sebagai kontrol positif diberi Vitamin C 1,8 mg/hari.

Kelompok III : Diberi ekstrak daun jati belanda dengan 25 mg/kg BB/hari.

Kelompok IV : Diberi ekstrak daun jati belanda dengan 50 mg/kg BB/hari.

Kelompok V : Diberi ekstrak daun jati belanda dengan 75 mg/kg BB/hari.

c. Perhitungan dosis :

- Dosis Vitamin C (Kemasan merk “CIPI” dengan komposisi setiap tablet mengandung 50 mg vitamin C). Dosis pencegahan untuk manusia = 100 mg/ hari. Dosis konversi untuk tikus = 0,018 x 100 mg = 1,8 mg /hari.
- Dosis ekstrak untuk tikus bobot 200 gram (dosis 25 mg/kg BB)

  $= \frac{BB}{1000}$ X Dosis

  $= \frac{200}{1000}$ X 25

  = 5 mg/200 g BB/hari
- Dosis ekstrak untuk tikus bobot 200 gram (dosis 50 mg/kg BB)

  $= \frac{BB}{1000}$ X Dosis

  $= \frac{200}{1000}$ X 50

  = 10 mg/200 g BB/hari
- Dosis ekstrak untuk tikus bobot 200 gram (dosis 75 mg/kg BB)

  $= \frac{BB}{1000}$ X Dosis

  $= \frac{200}{1000}$ X 50

  = 15 mg/200 g BB/hari

d. Kadar HDL dan LDL tikus diukur. Tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 14 jam sebelum pengambilan darah. Pengukuran tersebut dilakukan pada hari ke 15 (Sukandar *et al.* 2009).

G. Metode Pengumpulan Data

Pengambilan data dilakukan dengan cara mengukur kadar LDL-kolesterol, dan HDL-kolesterol serum darah tikus putih menggunakan CHODPAP (*Cholesterol Oxidase Para Aminophenazone*). Darah tikus diambil dari sinus orbitalis dan ditampung dalam tabung *eppendorf.* Darah didiamkan selama 15 menit dan disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm.

1. Pengukuran Kadar Kolesterol HDL

Serum darah sebanyak 100 µl dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan reagen HDL sebanyak 250 µl dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu kamar kemudian sentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Sebanyak 100 µl supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Pereaksi HDL ditambahkan sebanyak 1000 µl, dan dihomogenkan dengan vortex kemudian dibiarkan 10 menit pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 500 nm. Nilai dari serapan tersebut digunakan untuk menghitung kadar kolesterol HDL dalam sampel.

2. Pengukuran Kadar Kolesterol LDL

Serum darah sebanyak 250 µl dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan reagen LDL sebanyak 250 µl dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu kamar kemudian sentrifus selama 10 menit dengan kecepata 4000 rpm. Sebanyak 100 µl supernatan dimasukan ke dalam tabung reaksi. Pereaksi LDL ditambahkan sebanyak 1000 µl, dan dihomogenkan dengan vortex kemudian dibiarkan 10 menit pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 500 nm. Nilai dari serapan tersebut digunakan untuk menghitung kadar kolesterol LDL dalam sampel menggunakan rumus :

$$LDL\ (^{mg}/_{dl}) = \frac{\Delta\ A\ Sampel}{\Delta\ A\ Standart}\ konsentrasi\ Standart\ (^{mg}/_{dl})$$

Setelah dilakukan pengujian terhadap kadar kolesterol-LDL dan kolesterol-HDL data-data yang diperoleh disusun dalam tabel.

H. Metode Analisis Data

Setiap data yang terkumpul dilakukan *cleaning*, *coding* dan tabulasi. Selanjutnya dientri ke dalam komputer dan dilakukan analisis diskriptif data. Sebelum dilakukan analisis lebih lanjut, dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Varians (Uji F). Data dikatakan memiliki variasi homogen bila P>0,05.

Analisis data yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun jati belanda dengan berbagai dosis terhadap kadar LDL-kolesterol dan HDL-kolesterol, digunakan metode analisis varians Anava satu jalan dengan taraf kepercayaan 95% (Sugiyono 2006). Jika berpengaruh signifikan dilanjutkan analisis antar kelompok perlakuan dengan uji *Least Significance Different* (LSD), dengan tingkat kepercayaan 95%. Analisis dilakukan dengan fasilitas pengolah dan penyaji data *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 21 (Santoso 2012)

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1) Kapasitas antioksidan ekstrak etanol daun jati belanda

Metode DPPH digunakan secara luas untuk pengujian kemampuan penangkapan radikal bebas dari beberapa komponen alam seperti komponen fenolik, flavonoid dan antosianin. Senyawa yang aktif sebagai antioksidan mereduksi radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menjadi difenil pikril hidrazin sehingga warna ungu semakin memudar (Molyneux 2004). Kapasitas antioksidan dari ekstrak etanol daun jati belanda yang diuji dengan radikal bebas DPPH sebesar 52,83 %.

2) Kandungan fitokimia ekstrak etanol daun jati belanda

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder sampel secara kualitatif. Analisis fitokimia dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) (Marliana *et al.* 2005). Senyawa-senyawa yang diperiksa keberadaannya adalah alkaloid, flavanoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Hasil analisa fitokimia ekstrak etanol daun jati belanda menggunakan KLT dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun jati belanda

Kandungan Kimia	Hasil
Alkaloid	+
Saponin	+
Tanin	+
Flavanoid	+
Steroid	+
Triterpenoid	+

Keterangan : + (Positif)

Hasil analisis fitokimia pada Tabel 4 menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang diperiksa semuanya positif terdapat pada ekstrak daun jati belanda.

3) Induksi hiperkolesterol

Dapat terlihat dari hasil induksi bahan hiperkolesterol secara oral selama 14 hari tersaji pada Tabel 5.

Tabel 5. Rerata kadar kolesterol total sebelum perlakuan (mg/dl) pada tikus hiperkolesterolemia

Perlakuan	Rerata Kadar Kolesterol Total (mg/dl)
Kelompok 1	54,44
Kelompok II	54,40
Kelompok III	56,98
Kelompok IV	54,62
Kelompok V	61,70

Dari data yang tersaji dalam Tabel 5 menunjukkan bahwa rata-rata tikus dalam penelitian ini mengalami keadaan hiperkolesterolemia. Pada tikus dikatakan hiperkolesterolemi jika kolestrol tikus putih > 54 mg/dl (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

4) Pengujian ekstrak etanol daun jati belanda terhadap kadar *LDL*-kolesterol dan *HDL*-kolesterol tikus putih

Tikus hiperkolestrolemi yang diberi ekstrak daun jati belanda dengan dosis 0, 25, 50, dan 75 mg/kg BB serta vitamin C dengan dosis 1,8 mg/hari selama 14 hari didapatkan data rerata kadar LDL dan HDL seperti tersaji pada Tabel 6.

Tabel 6. Rerata kadar LDL dan HDL (mg/dl) pada tikus hiperkolesterolemia

Perlakuan	Rerata	
	LDL	HDL
Kelompok I: Kontrol	23,720	24,540
Kelompok II: Diberi Vitamin C	18,040	25,020
Kelompok III: Diberi ekstrak daun jati belanda 25 mg/kg BB/hari	21,980	24,860
Kelompok IV: Diberi ekstrak daun jati belanda 50 mg/kg BB/hari	18,760	28,080
Kelompok V : Diberi ekstrak daun jati belanda 75 mg/kg BB/hari	17,440	28,700

Pada Tabel 6 terlihat bahwa kadar LDL tertinggi pada kelompok I dan terendah pada kelompok V. Kadar HDL tertinggi pada kelompok V dan terendah pada kelompok I. Hasil pengujian ANAVA satu arah menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70 % daun jati belanda tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar HDL. Oleh karena itu tidak dilanjutkan dengan uji LSD. Sementara hasil uji ANAVA menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70 % daun jati belanda berpengaruh signifikan terhadap kadar LDL. Oleh karena itu dilakukan uji lanjut dengan uji LSD 5%, yang hasilnya tersaji pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji lanjut LSD kadar LDL pada setiap kelompok pada tikus hiperkolesterolemia

Kelompok	Nilai Tengah
I	23,720[a]
II	18,040[a b]
III	21,980[a b]
IV	18,760[a b]
V	17,440[b]

Keterangan : Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan

Hasil uji LSD menunjukkan bahwa kadar LDL pada kelompok I berbeda nyata dengan kelompok V akan tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok II, III, dan IV. Hal ini terjadi karena dosis ekstrak etanol 70% daun jati belanda yang terlalu rendah (25 dan 50 mg/kg BB/hari) sehingga ekstrak etanol 70% daun jati belanda tidak dapat mengikat semua kolesterol dan lemak dalam usus.

Ekstrak etanol 70% daun jati belanda dengan dosis 75 mg/kgBB/hari (kelompok V) terbukti berpengaruh signifikan untuk menurunkan kadar LDL. Hasil Uji LSD menunjukkan bahwa dosis 75 mg/kgBB/hari merupakan dosis yang berpengaruh untuk menurunkan kadar LDL secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun jati belanda berpengaruh positif terhadap penurunan kadar LDL bagi tubuh.

B. Pembahasan

Secara spesifik dikatakan bahwa suatu senyawa mempunyai aktivitas antioksidan sangat kuat jika mampu menghambat perkembangan radikal bebas lebih dari 80%, dikatakan sedang jika mampu menghambat sebesar 50-80%, dan dikatakan lemah jika mempunyai kemampuan penghambatan kurang dari 50% (Fuhrman & Aviram 2002). Berdasarkan hasil analisis diketahui bahwa ekstrak daun jati belanda mempunyai aktivitas sedang dalam menghambat radikal bebas dengan nilai kapasitas antioksidan sebesar 52,83%.

Nilai kapasitas antioksidan suatu bahan dipengaruhi oleh komponen-komponen di dalam bahan tersebut yang dapat meredam radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan cara mentransfer elektron ke senyawa radikal bebas DPPH.

Salah satu senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jati belanda adalah tanin. Senyawa tanin adalah salah satu senyawa golongan polifenol. Pada senyawa polifenol, aktivitas antioksidan berkaitan erat dengan struktur rantai samping dan juga substitusi pada cincin aromatiknya. Kemampuannya untuk bereaksi dengan radikal bebas DPPH dapat mempengaruhi aktivitas antioksidannya. Aktivitas peredaman radikal bebas oleh senyawa polifenol dipengaruhi oleh jumlah dan posisi hidrogen fenolik dalam molekulnya. Aktivitas antioksidan senyawa fenolik berasal dari kemampuannya mendonasikan hidrogen kepada radikal sehingga menghentikan oksidasi lipid pada tahap inisiasi. Aktivitas antioksidan yang lebih tinggi akan dihasilkan pada senyawa fenolik yang mempunyai jumlah gugus hidroksil yang lebih banyak pada inti flavonoidnya (Praksh *et al.* 2007).

Kandungan total fenol yang tinggi dapat mempengaruhi kapasitas antioksidan, namun hal ini tidak menjadi parameter tetap karena adanya senyawa lain yang memiliki aktivitas antioksidan selain senyawa fenolik seperti senyawa alkaloid, steroid dan triterpenoid (Nurjanah *et al.* 2011). Selain itu, metode DPPH digunakan untuk mengukur kapasitas

antioksidan dari seluruh aktivitas senyawa yang terkandung di dalam suatu tumbuhan dalam menangkal radikal bebas dan tidak spesifik hanya mengukur aktivitas antioksidan dari senyawa fenolik yang terkandung dalam tumbuhan tersebut (Kiay *et al.* 2011).

Fungsi antioksidan sebagai *scavenger* radikal bebas adalah dengan memberikan atom hidrogen pada radikal. Kapasitas antioksidan dari senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol daun jati belanda berhubungan erat dengan struktur masing-masing senyawa tersebut. Struktur yang mempunyai aktivitas tersebut adalah jumlah dan lokasi gugus OH yang berperan dalam menetralkan radikal bebas (Sandrasari 2008).

Secara umum mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan, yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R*, ROO*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A*) tersebut lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon 1990).

Antioksidan alami dapat ditemukan dalam berbagai tumbuh-tumbuhan baik pada tanaman berkayu, sayuran, atau buah-buahan. Pada tumbuhan berkayu diketahui banyak senyawa yang dapat bertindak sebagai antioksidan seperti flavanoid, senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, dan lainnya. Sayuran dan buah-buahan diketahui banyak mengandung vitamin A, vitamin B, vitamin C, vitamin E, dan karotenoid yang diyakini dapat berperan sebagai antioksidan, sehingga mampu melindungi tubuh dari penyakit kanker (Atmosukarto & Rahmawati 2003).

Hasil uji fitokimia senyawa yang berperan sebagai antioksidan dalam ekstrak daun jati belanda adalah alkaloid, flavanoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Hasil uji fitokimia ini sesuai dengan Gunawan (2003)

bahwa ekstrak metanol daun jati belanda dengan metode sokletasi mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavanoid, steroid, tanin dan kunion. Hasil yang sama ditunjukkan oleh Nurlita (2002) bahwa ekstrak metanol daun jati belanda mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavanoid, steroid dan tanin.

Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh Rachmadani (2001) bahwa ekstrak air daun jati belanda tidak mengandung flavanoid. Sementara penelitian lain menyatakan bahwa ekstrak etanol daun jati belanda hanya mengandung tanin saja (Lestari & Muhtadi 1997).

Penggunaan metode ekstraksi turut mempengaruhi hasil uji fitokimia. Hal ini terjadi karena semakin tinggi suhu ekstraksi akan menyebabkan gerakan molekul semakin cepat, begitu juga dengan sirkulasi (pergerakan) pelarut. Adanya faktor suhu dan sirkulasi pelarut dapat meningkatkan laju perpindahan massa senyawa dari sel tanaman. Dengan demikian kontak sampel dengan pelarut semakin sering dan diperoleh senyawa yang terlarut dalam ekstrak lebih banyak (Widiastuti & Damayanti 2013).

Pada penelitian ini ekstraksi daun jati belanda menggunakan pelarut etanol 70 % dengan hasil senyawa alkaloid, flavanoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid semuanya positif terdapat pada daun jati belanda. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut larut dalam pelarut etanol. Menurut Harborne (1987) pelarut etanol merupakan salah satu pelarut yang sangat baik untuk ekstraksi pendahuluan, karena dapat mengekstrak senyawa polar dan nonpolar.

Pelarut etanol memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat menghasilkan persen *yield* lebih banyak dibandingkan pelarut lainnya. Etanol juga mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman, tidak beracun dan tidak berbahaya. Pelarut etanol memiliki dua sisi yang terdiri dari gugus -OH yang bersifat polar dan gugus CH_2CH_3 yang bersifat non polar (Azis *et al.* 2014). Sifat tersebut menyebabkan senyawa-senyawa polar maupun non polar pada daun jati belanda larut dalam pelarut etanol. Senyawa-senyawa tersebut yaitu alkaloid, flavanoid, saponin, tanin,

steroid dan triterpenoid. Golongan triterpenoid atau steroid merupakan senyawa yang larut dalam pelarut non polar seperti *n*-heksan, sedangkan golongan alkaloid termasuk senyawa semi polar yang dapat larut dalam pelarut semi polar. Senyawa flavonoid dan tanin dapat larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, etil asetat atau pelarut polar lainnya (Harbourne 1987).

Pemberian bahan induksi hiperkolesterol menggunakan minyak babi dapat meningkatkan kadar kolesterol total (Tabel 6). Peningkatan kadar kolesterol pada penelitian ini tidak terlalu signifikan akibat induksi hiperkolesterol dengan minyak babi. Hal ini disebabkan waktu pemberian induksi yang kurang lama, selain itu semakin lama waktu pemberian bahan induksi hiperkolesterol semakin banyak asupan tinggi asam lemak jenuh dan kolesterol yang menyebabkan konsentrasi kolesterol yang ada dalam tubuh meningkat dan menurunkan sintesis dan aktivitas reseptor LDL. Setiap asupan jenuh 1% dari total energi sehari dapat meningkatkan 2,7 mg/dl kadar kolesterol (Murray *et al*. 2006). Tingginya asupan kolesterol memicu peningkatan kadar kolesterol total, akibat tidak terkompensasi oleh HDL untuk dibawa kembali menuju hepar (Murray *et al*. 2006). Penggunaan jenis tikus *wistar* pada penelitian ini juga mempengaruhi nilai kadar kolesterol. Penelitian Umarudin *et al.* (2012) menunjukkan bahwa tikus jenis *saparague dawley* lebih responsif terhadap pemberian bahan induksi hiperkolesterol dari pada jenis *wistar* sehingga lebih cepat menaikkan kadar kolesterol darah.

Aktivitas senyawa-senyawa metabolit sekunder ekstrak daun jati belanda juga dapat mencegah terjadinya stress oksidatif yaitu gangguan keseimbangan antara produksi oksidan dan antioksidan terkait dengan konsumsi radikal bebas. Mekanisme ekstrak etanol daun jati belanda dalam menurunkan kadar kolesterol LDL adalah meningkatkan kerja reseptor LDL sehingga menghambat oksidasi LDL. Oksidasi kolesterol LDL merupakan suatu proses biologi yang diduga terlibat dalam mekanisme proses inisiasi dan akselerasi lesi arteri (Sukandar *et al.* 2006).

Kerja antioksidan dalam ekstrak etanol daun jati belanda berfungsi untuk mengurangi aktivitas dari LDL oksidasi yang terjadi akibat penimbunan kolesterol dalam darah (Brown *et al.* 2003). Proses oksidasi LDL yang dihambat menyebabkan tidak terjadinya proses inflamasi dan vasodilatasi pembuluh darah, akibatnya tidak ada sel inflamasi yang masuk pada tunika adventisia (Riesanti 2006). Antioksidan dapat meningkatkan HDL dalam darah. Penelitian Brown *et al.* (2003) menunjukkan bahwa antioksidan akan meningkatkan kadar HDL dengan cara meningkatkan mRNA Apo A1 hati yang berperan untuk menginisiasi sintesis Apo A1 (komponen utama HDL). Apo A1 juga dapat berperan sebagai anti inflamasi dan menekan perbanyakan LDL sehingga tidak terjadi oksidasi LDL.

Hasil pengujian ANAVA satu arah menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70 % daun jati belanda tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar HDL. Kemungkinan disebabkan oleh beberapa hal antara lain, peningkatan kadar kolesterol pada penelitian ini tidak terlalu signifikan rata-rata 54 mg/dl pada setiap kelompok akibat induksi hiperkolesterol dengan minyak babi. Hal ini disebabkan waktu pemberian induksi yang kurang lama. Selain itu nilai kapasitas antioksidan dari ekstrak daun jati belanda yang hanya sebesar 52,83 % turut mempengaruhi dalam peningkatan kadar HDL. Kerja dari senyawa flavanoid sebagai antioksidan kurang maksimal dalam meningkatkan mRNA Apo A1 hati yang berperan untuk menginisiasi sintesis Apo A1 (komponen utama HDL). Faktor lain yang menjadi kemungkinan tidak berpengaruhnya ekstrak etanol 70 % daun jati belanda terhadap kadar HDL adalah jumlah sampel yang terlalu kecil sehingga berdampak pada jumlah variasi perlakuan yang terbatas. Secara statistik penelitian jumlah sampel kurang lebih 35 sampel, akan tetapi dalam penelitian ini hanya 25 sampel.

Mekanisme penurunan kadar kolesterol LDL oleh ekstrak daun jati belanda diperankan oleh senyawa steroid (Then *et al.* 2009). Senyawa steroid yang terdapat pada tanaman disebut fitosterol (Robinson 1995). Fitosterol memiliki mekanisme dalam menurunkan kadar kolesterol LDL,

yaitu sebagai *ligan* untuk LXR – RXR *nuclear reseptor* (Brousseau 2003). Ikatan heterodimer LXR – RXR mengatur beberapa gen yang terlibat dalam sintesis, penyerapan, ekskresi untuk homeostasis kolesterol dan metabolisme lipoprotein. Salah satunya peningkatan ekspresi gen *ATP-Binding Cassette Transporter A1* (ABC A1), transporter yang membawa kolesterol dari sel *enterocyte*, hepatosit dan makrofag. Ikatan heterodimer LXR – RXR juga meningkatkan ekspresi gen transporter ABC-G5 dan G8 yang membawa kolesterol dari hepatosit ke kantong empedu (Brousseau 2003). *ATP-Binding Cassette Transporter A1* (ABCA 1) akan berinteraksi dengan Apo-1 lalu tersekresi dalam plasma dengan bentuk lipid poor Apo A1 yang mengambil kolesterol berlebih dari sel dan membentuk pre-β-HDL (*nascent*). Kolesterol bebas dari HDL diesterifikasi enzim *Lechitin Cholesterol Acyl Transferase* (LCAT) untuk merubah pre-β-HDL (nascent) menjadi α-HDL. LCAT adalah enzim yang bertugas mengikat lipoprotein atau lemak bebas dalam plasma dan disekresi oleh hati (Brousseau 2003).

Fitosterol juga akan menghambat ikatan *sterol regulatory element binding protein* (SREBP) dengan *sterol regulatpry element* (SRE), protein yang berperan dalam transkripsi gen reseptor LDL. Hambatan ini mengakibatkan penurunan aktivitas *enzim 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reduktase* (*HMG-CoA reduktase*) sehingga sintesis kolesterol dalam sel berkurang. Kadar kolesterol intraseluler yang rendah mengakibatkan penurunan pembentukan kilomikron (Mayes 2000). *Remnant* kilomikron yang mencapai ke hati akan menurun. Kondisi ini akan merangsang sintesis reseptor LDL. Selain itu sekresi VLDL oleh sel-sel hati akan menurun sehingga menyebabkan konversi VLDL ke LDL berkurang. Hal ini berdampak pada penurunan kadar LDL dalam tubuh (Trautwein *et al.* 2006). Kadar kolesterol LDL plasma menurun akibat pemberian ekstrak etanol daun jati belanda, namun pemberian 25 dan 50 mg/kgBB/hari serta dosis vitamin C 1,14 mg/hari diduga penurunan tersebut belum maksimal. Penurunan yang belum maksimal salah satu nya disebabkan waktu pemberian induksi dosis ekstrak etanol daun jati belanda tidak terlalu lama, yaitu selama 14 hari sehingga perlu ditambahkan waktu untuk

pemberian induksinya. Semakin lama waktu pemberian induksi dosis ekstrak etanol daun jati belanda terhadap tikus hiperkolesterolemia semakin besar kemungkinan senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak untuk bekerja dalam menurunkan kadar LDL dan menaikkan kadar HDL.

Tingginya kadar kolesterol LDL pada kelompok kontrol berhubungan dengan diet tinggi kolestrol dan asam lemak jenuh. Diet tinggi kolesterol dapat meningkatkan kadar kolestrol darah melalui mekanisme yang menyebabkan tekanan sintesis reseptor LDL. Asam lemak jenuh meningkatkan kadar kolesterol melalui beberapa mekanisme, yaitu menekan aktivitas reseptor LDL, menghambat sintesis kolestrol di hati, meningkatkan transfer kolesterol bebas dan menurunkan afinitas LDL bagi reseptor LDL (Grundy 1991).

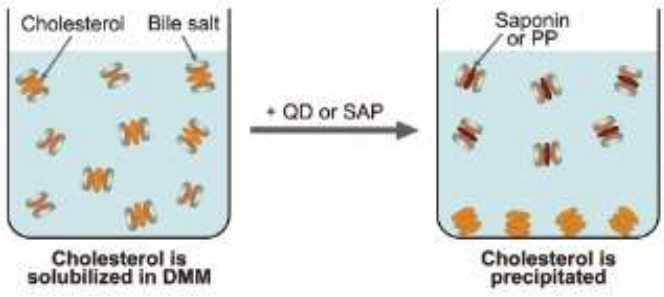
Senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jati belanda, senyawa flavanoid adalah senyawa yang berperan besar sebagai antioksidan. Flavonoid dapat menekan pelepasan radikal O_2 yang reaktif sehingga menekan terjadinya kerusakan endotel dengan menghambat inisiasi dari reaksi rantai oksidasi dan sebagai anti inflamasi yang dapat menghambat reaksi inflamasi, sehingga mencegah makin banyaknya makrofag (Siregar 2015). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Venugopal *et al.* (2002) bahwa secara *in vitro* flavanoid bekerja sebagai inhibitor *enzim 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reduktase (HMG-CoA reduktase)* sehingga sintesis kolesterol menurun.

Salah satu senyawa yang termasuk flavanoid adalah quercetin. Mekanisme kerja quercetin, yaitu dapat menurunkan kadar kolesterol LDL dengan cara menghambat sekresi Apo-B 100 pada sel $CaCO_2$ serta dapat menurunkan aktivitas MTP (*mycrosomal tryglicerida transfer protein*) yang berperan pada pembentukan lipoprotein dengan mengkatalisa perpindahan lipid ke molekul Apo-B. Quercetin juga dapat menghambat aktivitas enzim HMG-KoA reduktase, yaitu enzim yang berperan dalam pembentukan kolesterol (Duarte *et al.* 2001). Hal ini berdampak pada

sekresi VLDL dari sel-sel hati akan menghasilkan pengurangan konversi VLDL ke LDL. Mekanisme tersebut menyebabkan terjadinya penurunan kolesterol LDL (Then *et al.* 2009). Sifat quercetin sebagai antioksidan dapat mencegah oksidasi LDL dengan mengikat radikal bebas dan transisi ion logam dalam menghambat peroksidasi lipid (Alrawaiq & Abdullah 2014).

Seperti halnya senyawa flavanoid dan steroid, mekanisme senyawa tanin dalam ekstrak etanol daun jati belanda terhadap penurunan kadar LDL adalah dengan menghambat kerja dari enzim HMG-KoA reduktase, yaitu enzim yang berperan dalam pembentukan kolesterol. Senyawa tanin juga dapat mengurangi kadar kolesterol dalam tubuh dengan mengikat asam empedu masuk dalam usus halus diserap dan dikeluarkan lewat feses (Zaubaidah *et al.* 2014*).*

Salah satu senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun jati belanda adalah saponin. Saponin memiliki mekanisme dalam menurunkan kadar LDL dalam tubuh (Gambar 15).



Gambar 14. Mekanisme senyawa saponin dalam mengurangi kadar kolesterol (Vinarova *et al*. 2015).

Senyawa saponin memiliki afinitas yang tinggi untuk berikatan dan membentuk misel campuran makanan (DMM) daripada kolesterol. Akibatnya, komponen ini menggantikan kolesterol dari DMM, tanpa mempengaruhi konsentrasi garam empedu yang dimasukkan di DMM. kolesterol akan mengendap menjadi bentuk dalam agregat besar yang tidak bisa diserap oleh di dinding usus (Vinarova *et al*. 2015). Kadar

kolesterol intraseluler yang rendah mengakibatkan penurunan pembentukan kilomikron (Mayes 2000). *Remnant* kilomikron yang mencapai ke hati akan menurun. Kondisi ini akan merangsang sintesis reseptor LDL. Selain itu sekresi VLDL oleh sel-sel hati akan menurun sehingga menyebabkan konversi VLDL ke LDL berkurang. Hal ini berdampak pada penurunan kadar LDL dalam tubuh (Trautwein *et al.* 2006).

BAB V
SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Pemberian ekstrak etanol daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) pada tikus hiperkolesterolemia secara oral selama 14 hari menunjukkan aktivitas penurunan kadar LDL dan tidak berpengaruh terhadap peningkatan kadar HDL .

B. Saran

Dari hasil penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat diajukan saran yaitu

1. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut penambahan waktu induksi dosis ekstrak etanol daun jati belanda agar berpengaruh lebih signifikan terhadap penurunan kadar LDL dan peningkatan kadar HDL.
2. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut penambahan waktu bahan induksi hiperkolesterolemia agar berpengaruh lebih signifikan terhadap peningkatan kadar kolesterol tikus percobaan.
3. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut penggunaan jenis tikus *sparague dawley* untuk diberikan induksi hiperkolesterolemia dalam meningkatkan kadar kolesterol tikus percobaan.
4. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut penambahan jumlah sampel agar mendapat hasil yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

Agestiawaji R & Sugrani. 2009. Flavonoid (Quercetin). (*Makalah Kimia Organik).* Makasar: Program S2 Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Almatsier S. 2003. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka *Utama*.

Alrawaiq NA & A Abdullah. 2014. A Review of Flavonoid Quercetin: Metabolism, Bioactivity and Antioxidant Properties. *International Journal of PharmTech Reserach* 6 (3): 933-941

Andriani Y. 2005. Pengaruh ekstrak daun jati belanda (*Guazuma uilmifolia* Lamk.) terhadap bobot badan kelinci yang diberi pakan berlemak. *Jurnal Gradien* 1 (2):74-76.

Anwar TB. 2004. *Faktor Risiko Penyakit Jantung Koroner*. Sumatra: Bagian Ilmu Gizi Fakultas kedokteran Universitas Sumatera Utara.

Atmosukarto K & Rahmawati. 2003. Mencegah penyakit degeneratif dengan makanan. *Cermin Dunia Kedokteran* 140: 41-49.

Azis T, S Febrizky & AD Mario. 2014. Pengaruh jenis pelarut terhadap persen *yield alkaloid* dari daun salam india (*murraya koenigii*). *Jurnal Teknik Kimia* 2 (20): 1-6

Badan Pengembangan Kesehatan. 2010. Data Riset dan Kesehatan Dasar (Riskesdas). Jakarta: Kementrian Kesehatan Replubik Indonesia

Barasi M. 2007. *Nutrion at A Glace*. Jakarta: Erlangga.

Beers MH, AJ Fletcher & TV Jones. 2003. *Aneurysms and Aortic Dissection*. The Merck Manual of Medical Information, 2nd ed. New York : Merck *Publising*

Berenguer B, C Trabadela, SF Sanchaz, A Quilez, P Mino, R De la Puerta & MJ Martin. 2007. The Aerial Parts of *Guazuma ulmifolia* Lam. Protect Against NSAID-Induced Gastric Lesions. *Journal of Ethnopharmacology* 114 (2):153-160.

Brousseau ME. 2003. ATP-binding cassette transporter A1, fatty acids, and cholesterol absorption. *Current Opinion in Lipidology* (14) : 35-40.

Brown MS & JL Goldstein. 2004. Lowering plasma cholesterol by raising LDL receptor. *Atheroscler Suppl* 5:57–59.

Brown BG, EJ Schaefer & D Albers. 2003. Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins or the combination for the prevention of coronary disease. *English Journal Medicine* 345 (3):1583-1592.

Bustan MN. 2007. *Epidemiologi Penyakit Tidak Menular*. Jakarta : Rineka Cipta.

Castilla P, R Echarri, A Davalos & F Cerrato. 2006. Concentreted red grape juice *exerts* antioxidant, hypolipidemic, and antiinflammastory effects in both hemodiálisis patients and healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 84 (1): 252-262

Chepulis L & Starkey N. 2008. The Long-Term Effects of Feeding Honey Compared with Sucrose and a Sugar-Free Diet on Weight Gain, Lipid Profiles, and DEXA Measurements in Rats. *Journal of Food Science*73(1):1-7.

Dalimartha. 2008. *Care Your Self Hipertensi*. Depok: Penebar Swadaya

Davalos A, CF Hernando, F Cerrato, JM Botas, DG Coronado, CG Cordoves & MA Lasuncion. 2006. Red Grape Juice Polyphenols Alter Cholesterol Homeostasis and Increase LDL-Receptor Activity in Human Cells in Vitro. *J Nutr* 136 (4): 1766-1773.

Dewi YK, Widiastuti, Djumidi & Sujipto. 2000. Ragam Penggunaan Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia)* dalam Jamu Berbungkus ysang Beredar di Pasaran. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 6: 9-11.

Diaz MN, B Frey, JA Vita & JF Keaney. 1997. Antioxidants and Atherosclerotic Heart Disease. *The New England Journal of Medicine* 337(6):408-416.

Dinas Kesehatan (DINKES) Jawa Tengah. 2009. Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah tahun 2009. http: //www.dinkesjatengprov.go.id/dokumen/ profil/2009/Profil2009 br. pdf [diakses 3 Juli 2015].

Duarte J, RP Palencia, F Vargas, MA Ocete, FP Vizcaino, A Zarzuelo & J Tamargo. 2001. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin inspontaneously hypertensive rats. *British journal of pharmacology* 133 (1): 117-124

Dwiloka.B. 2003. Efek Kolesterolemik Berbagai Telur. *Media Gizi dan Keluarga* 27 (2) : 58-65.

Effendy. 2006. *Teori VSEPR Kepolaran dan Gaya Antarmolekul*. Malang: Bayumedia Publising.

Engler MB, MM Engler, CY Chen, MJ Malloy, A Browne, EY Chiu, HK Kwak , P Milbury, SM Paul, J Blumberg, MM Snyder. 2004. Flavonoid-Rich Dark Chocolate Improves Endothelial Function and Increases Plasma

Epicatechin Concentrations in Healthy Adults. *Journal of The American College of Nutrition* 23 (3): 197-204.

Es-Safi NE, S Ghidouche, & PH Ducrot. 2007. Flavonoid: Hemisynthesis, Reactivity, Characterization and Free Radical Scavenging Activity. *Molecules* 12: 2228-2258.

Farnsworth NR. 1966. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 55 : 225-236.

Feltrin AC, AA Boligon, V Janovik & ML Athayde. 2012. Antioxidant potential, total phenolics and flavonoid cantents from the stem bark of (*Giazuma ulmifolia* Lam.) Asian. *J Biol Sci* 5(3): 268-272.

Fikri F. 2009. *Bahaya Kolesterol*. Jogjakarta : Kelompok Penerbit Ar-Ruzz Media.

Frei. 1994. *Reactive Oxygen Species and Antioxidant Vitamins: Mechanisms of Action.* America: Excerpta Medica Inc.

Fuhrman & Aviram. 2002. Polyphenols and Flavanoids Protect LDL against Atherogenic Modification. Handbook of Antioxidants 2 nd Edition.Inc New York.

Gani N. 2013. Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah *(Abelmoschus manihot L.*). *Jurnal UNSRAT Science* 2 (1): 44-49.

Giner C & A Cannas. 2001. Tannis: Chemical Structural The Structur of Hydrolysable Tannins. on line at http://www. Ansci-cornel. Edu. Cornert University [diakses tanggal 3 November 2015]

Gordon MH. 1990. The mechanism of antioxidants action in vitro. London : Elsivier Applied Science

Grime JP. 1984. Plant strategies in shade, in: *Plants and Daylight Spectrum*. New York: Academic Press. h. 159-186

Grundy SM.1991. Multifactorial etiologu of hioercholestrolemia: implication for prevention of corony heart diseases. *Arterioscler Thromb* 11:1619-1635.

Gunawan D & S Mulyani. 2004. Obat hayati golongan minyak atsiri. Dalam: *Ilmu obat alam (farmakognosi)*. Cetakan I. Jakarta: Penebar Swadaya. h.119-120.

Gunawan E. 2003. Uji esktrak metanol dan kloroform daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) terhadap konsistensi aktivitas lipase dan

karakterisasi ekstrak. (*Skripsi*). Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor

Guyton H & Hall. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. 11th ed. Jakarta: EGC.

Hagerman AE, KM Riedl, G Alexander, KN Sovik, NT Richrad, PW Hartzfeld & TL Riechel. 1998. High Moleculer Weight Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. *Journal Agriculture Food Chem*.46 (5): 1887-1892.

Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumnbuhan*. Bandung: ITB.

Hutauruk JE. 2010. Isolasi Senyawa Flavonoida Dari Kulit Buah Tanaman Jengkol *(Pithecellobium lobatum* Benth*.). (Skripsi*). Sumatera: FMIPA Universitas Sumatera Utara.

Jastrezebski Z, Z Tashma, E Katrich & S Gorinstein. 2007. Biochemical characteristics of the herb mixture prolipid as a plant food supplement and medicinal remedy. *Plant Foods for Human Nutrition* 64 (4):145-150.

Joshita D, Azizahwati & Wahyuditomo. 2000. Pengaruh daun jati belanda terhadap kerja enzim lipase secara *in vitro*. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 6 (3): 6-8.

Katno AP, Kusumadewi & Sutjipto. 2008. Pengaruh Waktu Pengeringan Terhadap Kadar Tanin Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.). *The Journal of Indonesian Medicinal Plant* 1(1): 38-46.

Kelley DS, R Rasooly, RA Jacob, AA Kader, BE Mackey. 2006. Consumption of Bing Sweet Cherries Lowers Circulating Concentrations of inflammation Markers in Healthy Men and women. *J Nutr* 136: 981-986

Kharisma AM. 2007. Potensi Antioksidasi Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol 70 % Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.). (*Skripsi*). Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Kiay N, Suryanto & Mamahit. 2011. Efek Lama Perendaman Ekstrak Kalamansi (*Citrus microcarpa*) terhadap Aktivitas Antioksidan Tepung Pisang Goroho (*Musa spp*.). *Chem. Prog* 4: 27-33

Kishimoto Y, S Wakabayashi & H Takeda. 1995. Hipocholesterolemic effect of dietary fiber: Relation to intestinal fermentation and bile acid excretion. *J. Nutr. Sci. Vitaminol* 41: 151-61.

Knekt P, J Kumpulainen, R Jarvinen, H Rissanen,M Heliovaara, A Reunanen, T Hakulinen & A Aromaa. 2002. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr* 76(53): 560-568.

Kubo I, N Masuoka, P Xiao, H Haraguchi. 2002. Antioxidant Activity of Dodecyl Gallate. *J Agric Food Chem.* .50(12): 3533-3539.

Lenny S. 2006. Senyawa Flavanoida, Fenilpropanida dan Alkaloida. *Karya Ilmiah*: Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.

Lestari & Muchtadi. 1997. Uji aktivitas antihiperlipidemia daun jati belanda (Guazuma ulmifolia Lamk.) pada tikus [*laporan penelitian*]. Bandung: Universitas Padjajaran.

Ling WH, QX Cheng, J Ma & T Wang. 2001. Red and Black Rice Decrease Athrosclerotic Plaque Formation and Increase Antioxidant status in rabbits. *J Nutr* 131:1421-1426

Magos GA, JC Mateos, E Paez, G Fernandez, C Lobato, C Marquez & RG Enriquez. 2008. Hypotensive and vasorelaxant effects of the procyanidin fraction from *Guazuma ulmifolia* bark in normotensive and hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology* 117(1): 58-68.

Marliana SD, V Suryanti, Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi* 3 (1): 26-31.

Mayes. 2000. Cholesterol synthesis, transport and excretion. In Murry RK, Granner DK, Mayes PA. and Rodwell VW, eds. Harpes Biochemistry. Mc Graw-Hill : p. 285-97.

Menys VC & PN Durrington. 2007. Human cholesterol metabolism and therapeutic molecules. *Experimental Physiology* 93 (1): 27-42.

Miradiono A. 2002. Efektifitas pengekstrak flavonoid dari daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.). (*Skripsi*). Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26 (3) : 211-219.

Monica WS & Farida. 2000. Pengaruh ekstrak daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk*.) terhadap penurunan kadar kolesterol darah kelinci. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 6 (3):12-13.

Murray RK, Granner & Rodwell. 2006. *Biokimia Harper*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta

Nakaguchi O, H Okamoto, Y Matsuyama, T Hashigaki, T Sakano, Katsata & Masanori. 2001. *Hair-growing agent composition/novel use of plant extract as hair growth promoter*. Japan: Kokai Tokkyo Koho.

NCEP-ATP III. 2001. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 285 : ISSN 2486–2497.

Nurjanah, L Izzati & A Abdullah. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau *(Solen spp*). *Jurnal Ilmu Kelautan* 16 (3): 119-124.

Nurlita Y. 2002. Identifikasi senyawa daun jati belanda (Guazuma ulmifolia Lamk) yang berpotensi meningkatkan aktivitas lipase. *(Skripsi).* Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor

Padayatty SJ. 2003. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr.* 22(1):18-35.

Pavlovic V, S Cekic, G Rankovic & N Stoiljkovic. 2005. Antioxidant and Pro-oxidant Effect of Ascocbic Acid. *Acta Medica Medianae.* 44 (1): 65-69.

Praksh D, S Suri, G Upadhyav & Singh. 2007. Total Phenol Antioxidant, And Free Radical Scaveging Actities Of Some Medical Plants. *Int J Food Sci Nurtr* 58 (1) : 18 – 28

Price S & Wilson. 2006. *Patofisiologi: Konsep Klinis dan Proses –Proses Penyakit* .6th *ed*. Jakarta: EGC.

Rachmadani. 2001. Ekstrak air daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) *berpotensi* menurunkan kadar lipid darah tikus putih *strain* wistar.*(Skripsi*). Bogor: Jurusan Kimia Fmipa Institut Pertanian Bogor.

Rahayu T. 2005. Blood Cholestrol Degree of White Rat (*Rattus norvegicus* L) After *Getting* Kombucha Fluid Per-Oral. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi.* 6(2):85-100.

Rahmat H. 2009. Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Sayuran Indigenous Jawa Barat. *(Skripsi).* Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor

Ramakrishna UV, SN Sinha, N Kumari & V Bhatnagar. 2014. A Review on Pharmacognistic, Phytochemical, Chemical Profile and Apoptosis

Induction in Yeast Cells Of *Guazuma ulmifolia. An International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences* 5 (3):2130-2141.

Riesanti DG. 2006. Kadar HDL, Kadar LDL dan Gambaran Histopatologi Aorta Pada Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia Dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*). (*Artikel Ilmiah*). Malang: Program Studi Kedokteran Hewan, Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

Robinson T. 1995. *Kandungan Senyawa Organic Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.

Sandrasari DA. 2008. Kapasitas Antioksidan dan Hubungannya dengan Nilai Total Fenol Ekstrak Sayuran *Indigenous.* [*Skripsi*]. Bogor: Jurusan Ilmu Pangan Fmipa Institut Pertanian Bogor.

Santoso S. 2012. *Analisis Statistik non parametric dengan SPSS for Windows*. Jakarta: PT Elex Media Computindo.

Sargowo D. 2001. Peranan Kadar Trigliserida dan Lippoprotein sebagai faktor Resiko Penyakit Jantung Koroner (Studi Pendahuluan). *Jurnal Saintika*. Lembaga Penelitian Universitas Brawijaya-Malang, Vol 13 No. 2.

Shahidi F, C Kadaswarmi, E Middleton, V Shukla. 1997. Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications. Illionis : AOCS Press

Shekhawat N & R Vijayvergia. 2010. Comparative study of primary metabolites in different plant parts of *Clitoria ternatea (*L.*), Guazuma ulmifolia* (Lam.) *& Madhuca indica* (Gmel). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2 (2): 168-171.

Sherwood L. 2000. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Siregar RN. 2015. The Effect of *Eugenia polyantha* Extract on LDL Cholesterol. *J Majority* 4 (5): 85-92.

Smith JB & S Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan ,Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis.* Jakarta: Universitas Indonesia.

Stein JH, JG Keevil, DA Wiebe, S Aeschlimann & JD Folts. 1999. Purple Grape Juice Improves Endothelial Function and Reduces the Susceptibility of LDL Cholesterol to Oxidation in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation* 100: 1050-1055.

Sudirman S. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kangkung Air (*Ipomoea aquatic* Forsk.). (*Skripsi)*. IPB. Bogor.

Sugiyono. 2006. *Statistika Untuk Penelitian*. Bandung: Alfabeta

Suharti KS. 2006. *Pencegahan Stroke dan Serangan Jantung Pada Usia Muda.* Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Suhartono E, H Fachir & B Setiawan. 2007. *Kapita Sketsa Biokimia Stres Oksidatif Dasar dan Penyakit*. Banjarmasin: Pustaka Benua

Sukandar EY, Elfahmi & Nurdewi. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Jati Belanda *(Guazuma ulmifolia Lamk.)* terhadap Kadar Lipid Darah pada Tikus Jantan. *JKM.* 8 (2): 102-112.

Sulistiono. 2007. *Tannin*. Mataram: Universitas Mataram

Then AH, S Bardosono & IP Harahap. The effect of indigestible dextrin and phytosterol on serum LDL-cholesterol level on hypercholesterolemic subjects. *Med J Indones* 18(2): 114-119.

Toha HA. 2001. *Biokimia Metabolisme Biomolekul.* Bandung : Alfabeta.

Tombilangi AK. 2004. Khasiat ekstrak daun jati belanda (*Guazuma uilmifolia* Lamk.) terhadap kadar lipid peroksida darah kelinci yang hyperlipidemia.(*Skripsi).* Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Trautwein EA, GS Duchateau GS, AB Awad, PG Bradford. 2006. Phytosterols: sources and metabolism in Nutrition and Cancer Prevention. CRC: Taylor and Francis group. p 223-41

Umaruddin, Susanti R & A Yuniastuti. 2012. Efektivitas Ekstrak Tanin Seledri (*Apium* graveolens L) terhadap Profil Lipid Tikus Putih Hiperkolesterolemia. *Unnes J Life Sci* 1 (2):*79*-85.

Ummah MK. 2010. Ekstraksi dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) (Kajian Variasi Pelarut). (*Skripsi*). Malang: Universitas Islam Negeri Mualana Malik Ibrahim Malang.

Venugopal SK, S Devaraj , I Yuhanna, P Shaul , I Jialal. 2002. Demonstration that Creactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *J Circulation* 106 (12): 1439-1441.

Vinarova L , S Tcholakova, Z Vinarov, V Atanasov, N Denkov, I Pantcheva & S Stoyanov. 2015. Lowering of cholesterol bioaccessibility and serum concentrations by saponins: in vitro and in vivo studies. *Food Funct Journal* 6: 501-502.

Vita JA. 2005. Poliphenol and cardiovascular disease: effect on endothelial and platelet function. *Am J Clin Nutr* 81 (1): 292-297.

Widiastuti ES & Damayanti. 2013. *Pengaruh metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan kulit buah durian (Durio zibethinus murr.) varietas petruk.* Surakarta: Universitas Negeri Surakarta

Wink M. 2008. Ecological Roles of Alkaloids. Wiley: Jerman

Wiryowidagdo S. 2002. *Tanaman Obatr untuk Penyakit Jantung, Darah Tinggi dan Kolesterol.* Jakarta: Penerbit PT. Agromedia Pustaka.

World Health Organization (WHO). 2011. Traditional Medicine. *http*://www.who.int/mediacentre/factsheet/fs134/en/. [diakses 4 Maret 2015].

Yuhernita & Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains.* 15(1) : 48-52.

Zubaidah E, DY Ichromasari & OK Mandasari. (2014) Effect of Salacca Vinegar Var. Suwaru on Lipid Profile Diabetic Rats. *Food and Nutrition Sciences* 57 : 43-748.

Lampiran 1.
DATA BERAT BADAN TIKUS SELAMA PENELITIAN (Gram)

Kelompok	Berat Badan Awal	Berat Badan Setelah Perlakuan Induksi Hiperkolesterol	Berat Badan Setelah Perlakuan Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda
I	162,2	207,5	215,7
	159,0	184,2	210,8
	164,6	194,4	229,1
	183,6	219,2	255,2
	175,7	211,8	255,7
II	192,0	222,9	263,4
	183,7	205,8	264,3
	159,7	198,4	216,7
	198,3	214,2	246,6
	170,2	197,6	199,8
III	174,9	176,6	197,7
	183,7	226,1	227,4
	171,2	212,3	203,6
	198,9	241,3	276,4
	180,2	238,0	270,1
IV	203,3	254,2	278,4
	183,5	230,3	259,2
	172,2	208,5	232,6
	179,5	216,0	242,7
	184,9	226,3	253,2
V	186,9	231,6	255,7
	184,2	213,4	247,2
	161,0	193,8	217,3
	163,2	173,2	217,6
	167,0	192,7	234,7

Lampiran 2. Komposisi Pakan Standar Tikus

Air : Maks 12%
Protein Kasar : Min 15%
Lemak Kasar : 3-7%
Serat Kasar : Maks 6%
Abu : Maks 7%
Kalsium : 0,9-1,1%
Phospor : 0,6-0,9%
Antibiotik : +
Coccidiostat : +

Bahan baku yang digunakan:
Jagung kuning, SBM, CGM, Palm Olein, Asam Amino Esensial, Mineral Esensial, Premix, dan Vitamin

Produksi:
PT. JAFFA COMFEED INDONESIA, Tbk.

Lampiran 3. Data Kadar LDL Setelah Perlakuan (mg/dl)
NOMOR SPK : 16030100506
Jumlah Sampel : 25
Tanggal Pengujian : 29 Maret 2016

No	No. Sampel	Kode Sampel	LDL Presipitant	Kadar LDL	Rata-rata
1	506001	KI.1	30,4	27,4	23,72
2	506002	KI.2	27,3	33	
3	506003	KI.3	41,4	17,5	
4	506004	KI.4	36,9	20,6	
5	506005	KI.5	37,5	20,1	
6	506006	K2.1	42,9	21,1	18,04
7	506007	K2.2	33,9	16,6	
8	506008	K2.3	34,1	13,9	
9	506009	K2.4	40,8	20,9	
10	506010	K2.5	30,3	17,7	
11	506011	K3.1	25,6	20	21,98
12	506012	K3.2	29	15,6	
13	506013	K3.3	48,3	30,2	
14	506014	K3.4	39,8	18,4	
15	506015	K3.5	48,8	25,7	
16	506016	K4.1	21,5	21,5	18,76
17	506017	K4.2	17,1	17,1	
18	506018	K4.3	17,6	17,6	
19	506019	K4.4	13	13	
20	506020	K4.5	24,6	24,6	
21	506021	K5.1	20,3	20,3	17,44
22	506022	K5.2	15,6	15,6	
23	506023	K5.3	17,1	17,1	
24	506024	K5.4	16,2	16,2	
25	506025	K5.5	18	18	

Lampiran 4. Data Kadar HDL Setelah Perlakuan (mg/dl)
NOMOR SPK : 16030100506
Jumlah Sampel : 25
Tanggal Pengujian : 29 Maret 2016

No	No.Sampel	Kode Sampel	Kadar HDL	Rata-Rata
1	506001	KI.1	18,0	24,54
2	506002	KI.2	29,3	
3	506003	KI.3	24,6	
4	506004	KI.4	25,2	
5	506005	KI.5	25,6	
6	506006	K2.1	28,9	25,02
7	506007	K2.2	25,5	
8	506008	K2.3	21,4	
9	506009	K2.4	27,2	
10	506010	K2.5	22,1	
11	506011	K3.1	29,4	24,86
12	506012	K3.2	21,6	
13	506013	K3.3	22,8	
14	506014	K3.4	21,5	
15	506015	K3.5	29,0	
16	506016	K4.1	26,9	28,08
17	506017	K4.2	25,4	
18	506018	K4.3	24,3	
19	506019	K4.4	30,3	
20	506020	K4.5	33,5	
21	506021	K5.1	34,0	28,70
22	506022	K5.2	21,2	
23	506023	K5.3	33,6	
24	506024	K5.4	23,5	
25	506025	K5.5	31,2	

Lampiran 5. Ringkasan hasil uji ANAVA satu arah Kadar LDL sesudah perlakuan

LDL

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	148,454	4	37,114	3,334	,046
Within Groups	429,332	20	11,131		
Total	577,786	24			

Keterangan:

Untuk menggunakan tabel diatas, terlebih dahulu kita lakukan uji hipotesis terhadap perlakuan (dosis) sebagai berikut:

Analisis perlakuan:

i. Hipotesis

Ho : semua perlakuan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap variabel respon.

H1 : semua perlakuan berpengaruh secara signifikan terhadap variabel respon.

ii. Dipilih tingkat signifikansi $\alpha = 5\ \%$

iii. Tabel ANAVA

Perhatikan tabel ANAVA kolom F dan Sig: Between Groups

iv. Daerah Kritis

Karena Sig= 0,046< α = 5%= 0,05 maka H0 ditolak. Jadi, dalam tingkat signifikansi 5% Kelompok kontrol, Kelompok pembanding, Kelompok perlakuan 1, Kelompok perlakuan 2 dan Kelompok perlakuan 3 berpengaruh signifikan terhadap penurunan kadar LDL.

Lihat tabel diatas. Hasil F hitung dapat dilihat pada kolom F yaitu 3,334 . Jika dibandingkan dengan F tabel yaitu 2,86. Maka F hitung> Ftabel, sehingga H0 ditolak.

Lampiran 6. Hasil Uji LSD Kadar LDL Tikus Hiperkolesterolemia Setelah Perlakuan.

Dependent Variable: LDL

LSD

(I) LDL	(J) LDL	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KONTROL	VITAMIN C	5,6800	2,9303	,067	-,432	11,792
	EKSTRAK 25 Mg	1,7400	2,9303	,559	-4,372	7,852
	EKSTRAK 50 Mg	4,9600	2,9303	,106	-1,152	11,072
	EKSTRAK 75 MG	6,2800*	2,9303	,045	,168	12,392
VITAMIN C	KONTROL	-5,6800	2,9303	,067	-11,792	,432
	EKSTRAK 25 Mg	-3,9400	2,9303	,194	-10,052	2,172
	EKSTRAK 50 Mg	-,7200	2,9303	,808	-6,832	5,392
	EKSTRAK 75 MG	,6000	2,9303	,840	-5,512	6,712
EKSTRAK 25 Mg	KONTROL	-1,7400	2,9303	,559	-7,852	4,372
	VITAMIN C	3,9400	2,9303	,194	-2,172	10,052
	EKSTRAK 50 Mg	3,2200	2,9303	,285	-2,892	9,332
	EKSTRAK 75 MG	4,5400	2,9303	,137	-1,572	10,652
EKSTRAK 50 Mg	KONTROL	-4,9600	2,9303	,106	-11,072	1,152
	VITAMIN C	,7200	2,9303	,808	-5,392	6,832
	EKSTRAK 25 Mg	-3,2200	2,9303	,285	-9,332	2,892
	EKSTRAK 75 MG	1,3200	2,9303	,657	-4,792	7,432
EKSTRAK 75 MG	KONTROL	-6,2800*	2,9303	,045	-12,392	-,168
	VITAMIN C	-,6000	2,9303	,840	-6,712	5,512
	EKSTRAK 25 Mg	-4,5400	2,9303	,137	-10,652	1,572
	EKSTRAK 50 Mg	-1,3200	2,9303	,657	-7,432	4,792

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Keterangan:

Hasil analisis Least Significance Different (LSD) menunjukan hasil yang signifikan antara kelompok control dan Kelompok perlakuan Ekstrak 75 mg/kg BB/hari. Hal ini ditunjukan dari hasil mean difference yang menunjukan adanya tanda * pada kedua kelompok tersebut.

Lampiran 7. Ringkasan Hasil Uji ANAVA satu arah Kadar HDL setelah perlakuan

HDL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	78,600	4	19,650	1,058	,403
Within Groups	371,380	20	18,569		
Total	449,980	24			

Keterangan:

Untuk menggunakan tabel diatas, terlebih dahulu kita lakukan uji hipotesis terhadap perlakuan (dosis) sebagai berikut:

Analisis perlakuan:

i. Hipotesis

Ho : semua perlakuan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap variabel respon.

H1 : semua perlakuan berpengaruh secara signifikan terhadap variabel respon.

ii. Dipilih tingkat signifikansi $\alpha = 5\ \%$

iii. Tabel ANAVA

Perhatikan tabel ANAVA kolom F dan Sig: Between Groups

iv. Daerah Kritis

Karena Sig= 0,403< α = 5%= 0,05 maka H0 diterima. Jadi, dalam tingkat signifikansi 5% Kelompok kontrol, Kelompok pembanding, Kelompok perlakuan 1, Kelompok perlakuan 2 dan Kelompok perlakuan 3 tidak berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar HDL.

Lihat tabel diatas. Hasil F hitung dapat dilihat pada kolom F yaitu 1,058 . Jika dibandingkan dengan F tabel yaitu 2,86. Maka F hitung< Ftabel, sehingga H0 diterima.

Lampiran 8. Hasil Uji LSD Kadar HDL Tikus Hiperkolesterolemia Setelah Perlakuan

(I) HDL	(J) HDL	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	vitamin c	-,4800	2,7254	,862	-6,165	5,205
	25 mg	-,3200	2,7254	,908	-6,005	5,365
	50 mg	-3,5400	2,7254	,209	-9,225	2,145
	75 mg	-4,1600	2,7254	,143	-9,845	1,525
vitamin c	Kontrol	,4800	2,7254	,862	-5,205	6,165
	25 mg	,1600	2,7254	,954	-5,525	5,845
	50 mg	-3,0600	2,7254	,275	-8,745	2,625
	75 mg	-3,6800	2,7254	,192	-9,365	2,005
25 mg	Kontrol	,3200	2,7254	,908	-5,365	6,005
	vitamin c	-,1600	2,7254	,954	-5,845	5,525
	50 mg	-3,2200	2,7254	,251	-8,905	2,465
	75 mg	-3,8400	2,7254	,174	-9,525	1,845
50 mg	Kontrol	3,5400	2,7254	,209	-2,145	9,225
	vitamin c	3,0600	2,7254	,275	-2,625	8,745
	25 mg	3,2200	2,7254	,251	-2,465	8,905
	75 mg	-,6200	2,7254	,822	-6,305	5,065
75 mg	Kontrol	4,1600	2,7254	,143	-1,525	9,845
	vitamin c	3,6800	2,7254	,192	-2,005	9,365
	25 mg	3,8400	2,7254	,174	-1,845	9,525
	50 mg	,6200	2,7254	,822	-5,065	6,305

Keterangan:

Hasil analisis Least Significance Different (LSD) menunjukan hasil yang tidak signifikan antara Kelompok kontrol, Kelompok pembanding, Kelompok perlakuan 1, Kelompok perlakuan 2 dan Kelompok perlakuan 3. Hal ini ditunjukan dari hasil mean difference yang tidak menunjukan adanya tanda * pada setiap kelompok.

Lampiran 9. Dokumentasi Selama Penelitian

Daun jati belanda yang telah dihaluskan

Serbuk daun jati belanda

Persiapan penimbangan serbuk daun jati belanda pada timbangan elektrik

Penimbangan serbuk daun jati belanda pada timbangan elektrik

Proses maserasi ekstrak daun jati belanda menggunakan pelarut etanol 70 %

Proses ekstraksi daun jati belanda

Proses pemanasan daun jati belanda dalam proses ekstraksi

Proses pemanasan daun jati belanda dalam proses ekstraksi

Ekstrak daun jati belanda dalam bentuk pasta

Ekstrak daun jati belanda dalam bentuk pasta

Tikus hewan percobaaan galur wistar

Tikus hewan percobaaan galur wistar

Minyak Babi untuk induksi kolesterol

Minyak Babi untuk induksi kolesterol

Tikus hewan percobaaan galur wistar

Persiapan Induksi kolesterol

Ekstrak daun jati belanda dan vitamin C

Ekstrak daun jati belanda dan vitamin C

Proses Induksi kolesterol
us hewan percobaaan galur

Proses Induksi kolesterol

Proses Induksi ekstrak daun
jati belanda

Proses Induksi ekstrak daun
jati belanda

Proses pengambilan darah
tikus

Proses pengambilan darah
tikus

Proses pengambilan darah tikus

darah tikus

Lampiran 10. Hasil Uji Nilai Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda

UNIVERSITAS GADJAH MADA
PUSAT STUDI PANGAN DAN GIZI

LAPORAN HASIL UJI
(Analysys Certificate)
No.PS/038/II/2016

Nomor Pengujian : PS/029/I/2016
(Analysis Report Number)
Nama Pelanggan : **Fatchun Nai'im**
(Name of client)
Alamat Pelanggan :
(Addres of client)
No. Telepon Pelanggan :
(Phone No. of client)
Contoh Uji : **Padatan**
(Type of sample)
Tanggal Penerimaan Contoh Uji : 27 Januari 2016
Tanggal Pengujian : 29 Januari 2016
Metode Uji
(Analysis Method)
Hasil Uji
(Analysis Result)

No.	Kode sampel	Hasil Analisa
		Antioksidan %
1.	Ekstrak Daun Jati	52.24 52.83

Yogyakarta, 10 Februari 2016
Ketua Devisi Pelayanan Masyarakat,

Prof. Dr. Ir. Sutardi, M.App.Sc.
NIP. 19481103197411001

Gedung PAU Universitas Gadjah Mada
Jl. Teknika Utara, Barek, Yogyakarta 55281
Telp. (0274) 6492282, 589242 Fax. (0274) 589242
E-mail: chs@ugm.ac.id; Website: www.chs.ugm.ac.id

Lampiran 11. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda

UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU

RSP/3.10.01/LPPT
Rev. 1
Halaman 1 dari 1

LAPORAN HASIL UJI

No. Sertifikat : 00143/01/LPPT/II/2016
No. Pengujian : 16010100143

Informasi Customer

Nama : Fatchun Naim
Alamat : Fakultas MIPA-Jurusan Biologi UNNES

Tanggal Penerimaan : 27 Januari 2016
Tanggal Pengujian : 27 Januari 2016

Hasil Pengujian

Ekstrak Daun Jati Belanda

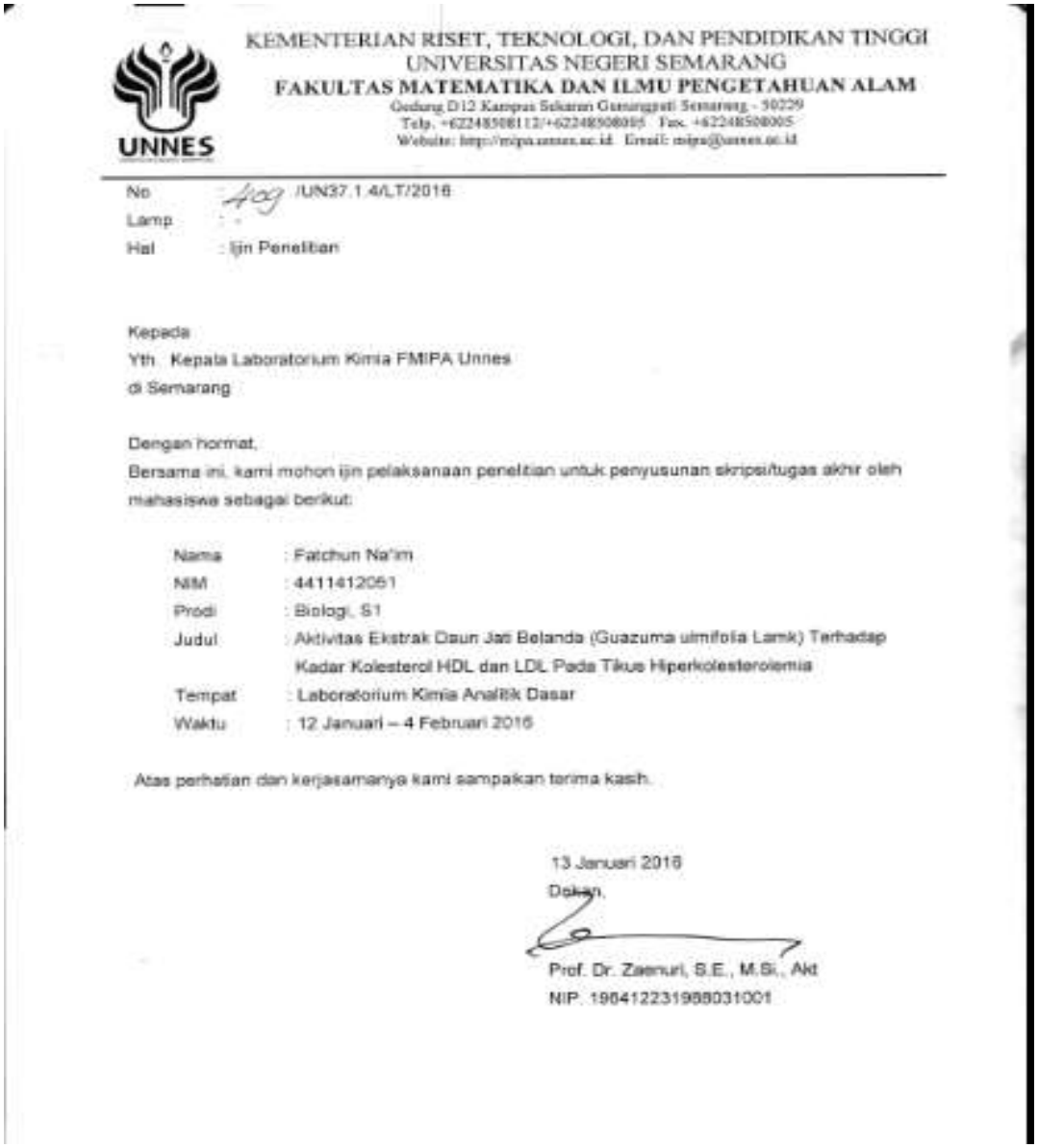
No	Parameter Uji	Hasil	Metode
1.	Tannin	Positif	KLT
2.	Steroid	Positif	KLT
3.	KLT	Negatif	KLT
4.	Flavonoid	Positif	KLT
5.	Saponin	Positif	KLT
6.	Alkaloid	Positif	KLT

Yogyakarta, 09 Februari 2016
Manajer Teknik,

Prof. Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt.
NIP. 197701202005011002

Perhatian :
1. LHU ini berlaku hanya pada sampel yang diujikan
2. LHU ini dibuat semata-mata untuk penggunaan pelanggan yang disebutkan akan LHU ini
3. LPPT tidak berbeggung jawab atau setiap kerugian, kerusakan atau kerggung jawab hukum yang diderita oleh pihak ketiga sebagai akibat dari kepercayaan terhadap atau penggunaan laporan ini
4. Tidak diperkenankan menggandakan LHU ini dengan ijin dari LPPT UGM

Lampiran 12. Surat Ijin Penelitian Laboratorium Kimia UNNES



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
Gedung D12 Kampus Sekaran Gunungpati Semarang - 50229
Telp. +62248508112/+62248508005 Fax. +62248508005
Website: http://mipa.unnes.ac.id Email: mipa@unnes.ac.id

No : 409 /UN37.1.4/LT/2016
Lamp : -
Hal : Ijin Penelitian

Kepada
Yth. Kepala Laboratorium Kimia FMIPA Unnes
di Semarang

Dengan hormat,
Bersama ini, kami mohon ijin pelaksanaan penelitian untuk penyusunan skripsi/tugas akhir oleh mahasiswa sebagai berikut:

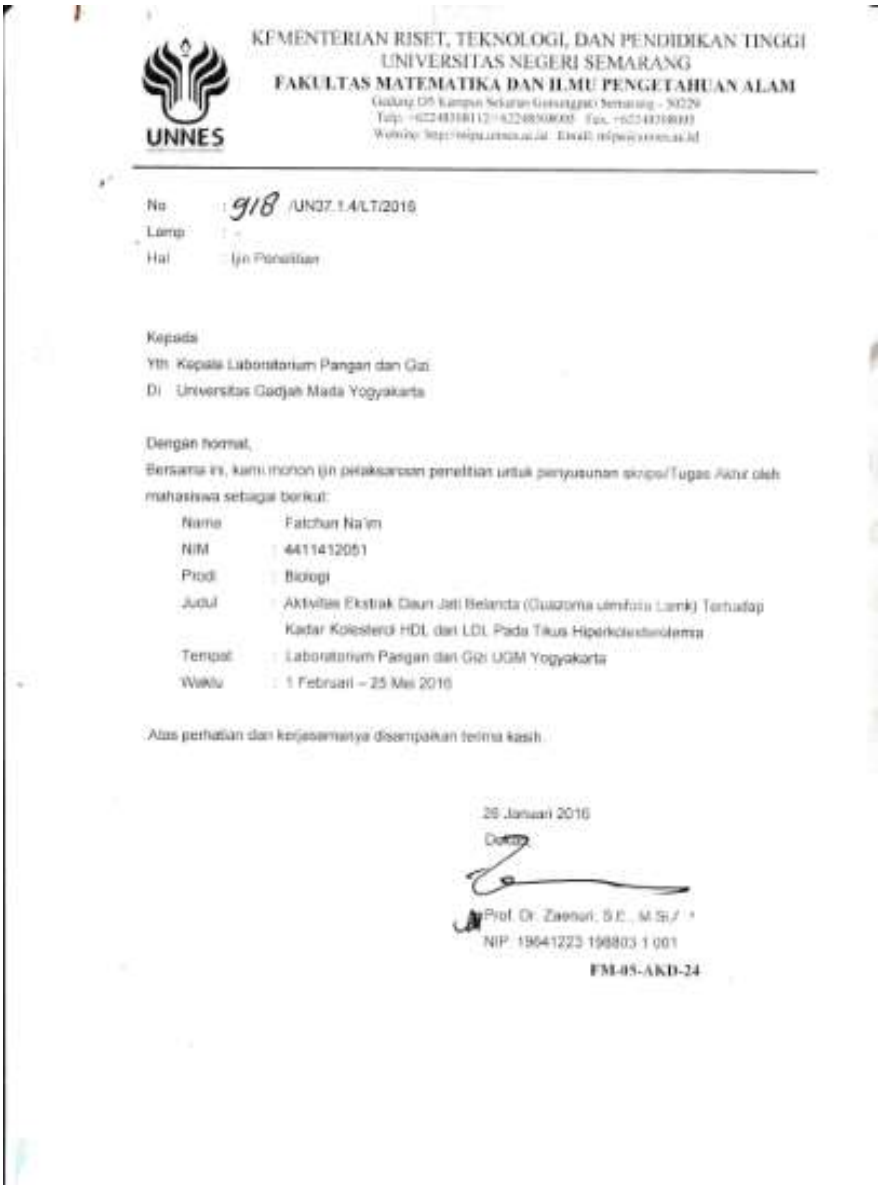
Nama	: Fatchun Na'im
NIM	: 4411412051
Prodi	: Biologi, S1
Judul	: Aktivitas Ekstrak Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk) Terhadap Kadar Kolesterol HDL dan LDL Pada Tikus Hiperkolesterolemia
Tempat	: Laboratorium Kimia Analitik Dasar
Waktu	: 12 Januari – 4 Februari 2016

Atas perhatian dan kerjasamanya kami sampaikan terima kasih.

13 Januari 2016
Dekan,

Prof. Dr. Zaenuri, S.E., M.Si., Akt
NIP. 196412231988031001

Lampiran 13. Surat Ijin Penelitian Laboratorium Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
Gedung D5 Kampus Sekaran Gunungpati Semarang - 50229
Telp. +6224 8508112 / 6224 8508033 Fax. +6224 8508033
Website: http://mipa.unnes.ac.id Email: mipa@unnes.ac.id

UNNES

No : 918 /UN37.1.4/LT/2016
Lamp : -
Hal : Ijin Penelitian

Kepada
Yth. Kepala Laboratorium Pangan dan Gizi
Di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Dengan hormat,
Bersama ini, kami mohon ijin pelaksanaan penelitian untuk penyusunan skripsi/Tugas Akhir oleh mahasiswa sebagai berikut:

Nama	: Fatchun Na'im
NIM	: 4411412051
Prodi	: Biologi
Judul	: Aktivitas Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) Terhadap Kadar Kolesterol HDL dan LDL Pada Tikus Hiperkolesterolemia
Tempat	: Laboratorium Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta
Waktu	: 1 Februari – 25 Mei 2016

Atas perhatian dan kerjasamanya disampaikan terima kasih.

26 Januari 2016
Dekan

Prof. Dr. Zaenuri, S.E., M.Si./
NIP. 19641223 198803 1 001

FM-05-AKD-24

Lampiran 14. Surat Ijin Penelitian Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
Gedung D5 Kampus Sekaran Gunungpati Semarang - 50229
Telp. +6224 8508112/+6224 8508003 Fax. +6224 8508003
Website: http://fmipa.unnes.ac.id Email: fmipa@unnes.ac.id

No : 918 /UN37.1.4/LT/2016
Lamp : -
Hal : Ijin Penelitian

Kepada
Yth. Kepala Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu
Di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Dengan hormat,
Bersama ini, kami mohon ijin pelaksanaan penelitian untuk penyusunan skripsi/Tugas Akhir oleh mahasiswa sebagai berikut:

Nama	:	Fatchun Na'im
NIM	:	4411412051
Prodi	:	Biologi
Judul	:	Aktivitas Ekstrak Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk) Terhadap Kadar Kolesterol HDL dan LDL Pada Tikus Hiperkolesterolemia
Tempat	:	Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu UGM Yogyakarta
Waktu	:	1 Februari – 25 Mei 2016

Atas perhatian dan kerjasamanya disampaikan terima kasih.

20 Januari 2016
Dekan,

Prof. Dr. Zaenuri, S.E., M.Si.Akt
NIP. 19641223 198803 1 001

FM-05-AKD-24