

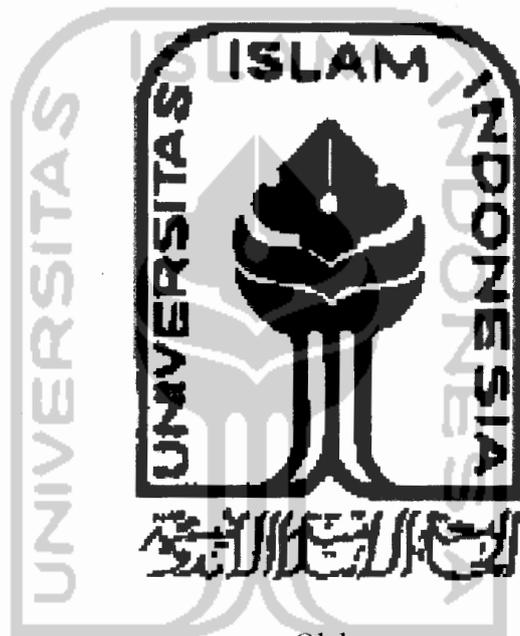
DIREKTORAT PERPUSTAKAAN UJI
INVENTARIS SUMBANGAN

TANGGAL : / /

NO. INV. :

**EFEK FRAKSI ETANOL INFUSA HERBA SAMBILOTO
[*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees] TERHADAP KADAR
KOLESTEROL TOTAL TIKUS JANTAN WISTAR
YANG DIBERI DIET LEMAK TINGGI**

SKRIPSI



Oleh :

DITA NURURIANIE

01613011

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
JULI 2005**



**EFEK FRAKSI ETANOL INFUSA HERBA SAMBILOTO
[*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees] TERHADAP KADAR
KOLESTEROL TOTAL TIKUS JANTAN WISTAR
YANG DIBERI DIET LEMAK TINGGI**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar
Sarjana Farmasi (S. Farm)
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia Jogjakarta**



Oleh :

**DITA NURURIANIE
01613011**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
JULI 2005**

SKRIPSI

**EFEK FRAKSI ETANOL INFUSA HERBA SAMBILOTO
[*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees] TERHADAP KADAR
KOLESTEROL TOTAL TIKUS JANTAN WISTAR
YANG DIBERI DIET LEMAK TINGGI**



Pembimbing Utama,

Endang Darmawan, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping,

M. Hatta Prabowo, S.F., Apt

SKRIPSI

**EFEK FRAKSI ETANOL INFUSA HERBA SAMBILOTO
[*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees] TERHADAP KADAR
KOLESTEROL TOTAL TIKUS JANTAN WISTAR
YANG DIBERI DIET LEMAK TINGGI**

Oleh :

**DITA NURURIANIE
01613011**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 18 Juni 2005

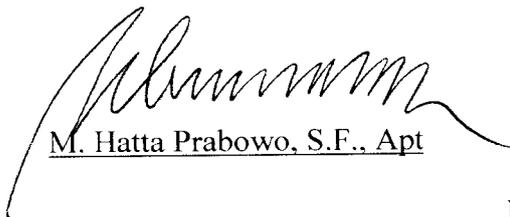
Ketua Penguji,



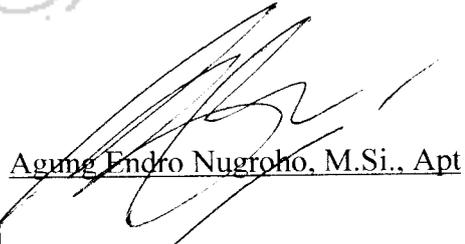
Endang Darmawan, M.Si., Apt

Anggota penguji,

Anggota penguji,



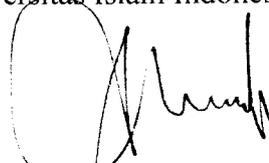
M. Hatta Prabowo, S.F., Apt



Agung Endro Nugroho, M.Si., Apt

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Jaka Nugraha, M.Si

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr Wb

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan segala kekurangan dan kelebihan. Sholawat dan salam penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya serta orang-orang yang selalu menegakkan ajaran Islam sampai akhir zaman.

Penulis bersyukur kepada Allah SWT karena atas izin dan ridho-Nya skripsi yang berjudul **“Efek Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees] Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Jantan Wistar Yang Diberi Diet Lemak Tinggi“** telah dapat diselesaikan.

Selesaiannya skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Endang Darmawan, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama yang senantiasa mendukung, membantu serta membimbing dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. M. Hatta Prabowo, S.F., Apt. selaku pembimbing pendamping yang senantiasa mendukung, membantu serta membimbing dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Agung Endro Nugroho, M.Si., Apt. selaku penguji yang telah memberi masukan dan telah membimbing dalam menyelesaikan skripsi ini.

4. Segenap staf di UPHP dan bapak Warsino terima kasih atas bantuannya dalam mengambil darah tikus dan merawat tikus.
5. Keluargaku (papa, mama, mas diat dan mas didit), yang telah memberikan dorongan moral dan spiritual, terima kasih atas doanya.
6. Laboran (Pak Marno, Pak Eko dan Pak Ari), satpam serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu terima kasih atas bantuannya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangannya. Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak untuk tercapainya skripsi yang lebih baik.

Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan Ilmu Pengetahuan khususnya dibidang Farmasi.

Wa'alaikumsalam Wr Wb

Jogjakarta, Juli 2005

Penulis,



دیتا نورانیة
Dita Nururianie

Dita Nururianie

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
INTISARI	ix
ABSTRACT	x
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
BAB II. STUDI PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	5
1. Lipid	5
2. Kolesterol	7
3. Hiperkolesterolemia	12
4. Antihiperlipidemia.....	15
5. Infudasi	18
6. Sambiloto [<i>Andrographis paniculata</i> (Burm.f.) Nees]	19
a. Uraian Tumbuhan	20
b. Klasifikasi	20
c. Nama	21
1). Sinonim	21
2). Nama daerah	21
3). Nama asing	21

4). Nama simplisia	21
d. Kandungan Kimia	21
e. Efek Farmakologi	22
B. Keterangan Empiris	22

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Bahan dan Alat	23
1. Bahan	23
2. Alat	24
B. Cara Penelitian	25
1. Koleksi dan Determinasi Tanaman	25
2. Penentuan Dosis Simvastatin dan Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto	25
3. Pembuatan Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto	26
4. Pembuatan Pakan Untuk Diet Lemak Tinggi	26
5. Penyiapan Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto Dan Simvastatin	27
6. Uji Efek Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto Terhadap Kadar Kolesterol Total	27
a. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum	27
b. Penentuan Waktu Operasional (<i>Operating Time</i>) Pengukuran Kadar Kolesterol	27
c. Harga Perolehan Kembali, Kesalahan Sistemik dan Kesalahan Acak	27
d. Penentuan Stabilitas Kolesterol	28
7. Rancangan Penelitian Hewan Uji	28
a. Sampling Darah	31
b. Metode Analisis	31
1). Pembuatan Serum	31
2). Penetapan Kadar Kolesterol Total Secara <i>Enzymatic-colorimetric test</i> CHOD-PAP	31

3). Penimbangan Berat Badan Tikus	32
4). Penimbangan Jumlah Pakan Sisa	32
C. Analisis Data	33

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Koleksi dan Determinasi Tanaman	34
B. Pembuatan Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto	35
C. Validasi Metode Penetapan Kadar Kolesterol	36
1. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum	36
2. Penetapan Waktu Serapan Optimum (Waktu Operasional)	38
3. Harga Perolehan Kembali, Kesalahan Acak dan Kesalahan Sistemik	40
4. Penentuan Stabilitas Kolesterol Total Dalam Serum Tikus	41
D. Pengaruh Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto Terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Tikus	42
E. Pengaruh Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto Terhadap Berat Badan Tikus	50
F. Pengaruh Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto Terhadap Jumlah Pakan Yang Dimakan Tikus	54

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan	58
B. Saran	59

DAFTAR PUSTAKA	60
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	64
-----------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Struktur kolesterol	8
Gambar 2.	Ringkasan sintesis kolesterol	9
Gambar 3.	Ringkasan pembentukan kolesterol	10
Gambar 4.	Sasaran terapi simvastatin	17
Gambar 5.	Skematis penelitian	30
Gambar 6	Hasil penetapan panjang gelombang maksimum quinonimina	37
Gambar 7.	Reaksi pembentukan warna quinonimina	38
Gambar 8.	Hasil penetapan waktu operasional quinonimina	39
Gambar 9.	Perubahan kadar kolesterol total (mg/dL) dalam serum tikus	44
Gambar 10.	Perubahan berat badan tikus (gram) pada hari ke-0, 10, 20, 30, 40, 50 dan 60	51
Gambar 11.	Perubahan jumlah pakan yang dimakan tikus (gram/10 hari) pada periode ke-I, II, III, IV, V dan VI	55

DAFTAR TABEL

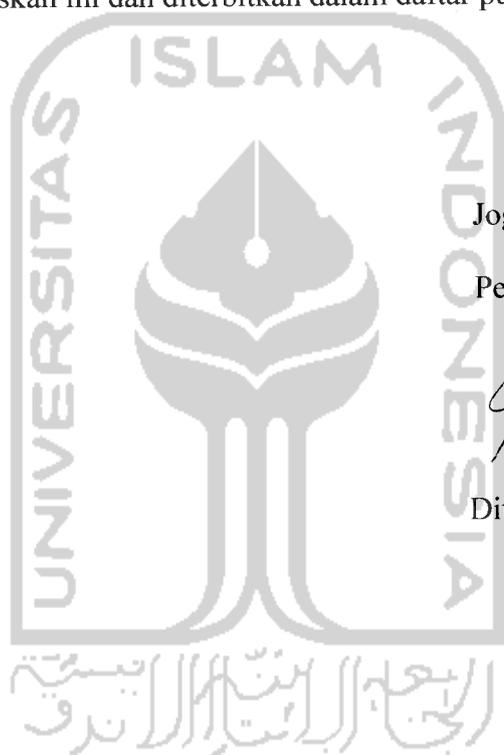
Tabel I.	Jenis lipoprotein, diameter, berat jenis, dan komposisinya	6
Tabel II.	Pedoman klinis profil lemak darah	14
Tabel III.	Penetapan panjang gelombang maksimum quinonimina	36
Tabel IV.	Penetapan waktu operasional serapan optimum quinonimina ...	42
Tabel V.	Perolehan kembali, kesalahan sistemik dan kesalahan acak kolesterol (kadar 100 mg/dL) dalam serum tikus	40
Tabel VI.	Harga prosentase (%) degradasi kolesterol (kadar 100 mg/dL) dalam serum tikus	41
Tabel VII.	Data kadar kolesterol total dalam serum tikus pada hari ke-0, 30 dan 60 (N = 6)	44
Tabel VIII.	Prosentase (%) perubahan kadar kolesterol total dalam serum tikus (N = 6)	45
Tabel IX.	Data statistika dan signifikansi prosentase peningkatan kadar kolesterol total dalam serum tikus pada periode awal	46
Tabel X.	Data statistika dan signifikansi prosentase penurunan kadar kolesterol total dalam serum tikus	48
Tabel XI.	Data berat badan tikus (gram) pada hari ke-0, 30 dan 60 (N = 6)	51
Tabel XII.	Perubahan berat badan tikus pada periode awal dan periode akhir (N = 6)	52
Tabel XIII.	Data jumlah pakan yang dimakan tikus (gram/hari) pada periode awal dan akhir serta perubahannya (N = 6)	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman	64
Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji	66
Lampiran 3. Foto tanaman sambiloto	67
Lampiran 4. Hasil penetapan panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer dari 3 kali replikasi	68
Lampiran 5. Hasil penetapan waktu operasional (<i>Operating time</i>) dengan spektrofotometer dari 3 kali replikasi	69
Lampiran 6. Data kadar kolesterol total (mg/dL) dalam serum tikus jantan Wistar pada pengukuran hari ke-0, 30 dan 60	70
Lampiran 7. Data prosentase perubahan kadar kolesterol total dalam serum tikus jantan Wistar pada periode awal dan periode akhir serta prosentase penurunannya	72
Lampiran 8. Data berat badan (gram) tikus jantan Wistar pada pengukuran hari ke-0, 30 dan 60	74
Lampiran 9. Data perubahan berat badan (gram) tikus jantan Wistar perhari pada periode awal dan periode akhir	76
Lampiran 10. Data jumlah pakan yang dimakan tikus jantan Wistar (gram/hari) pada periode awal dan periode akhir serta perubahannya	78
Lampiran 11. Analisis statistika <i>ANOVA</i> (95 %)	80

PERNYATAAN

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



Jogjakarta, Juli 2005

Penulis,

Dita Nururianie

**EFEK FRAKSI ETANOL INFUSA HERBA SAMBILOTO
[*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees] TERHADAP KADAR
KOLESTEROL TOTAL TIKUS JANTAN WISTAR
YANG DIBERI DIET LEMAK TINGGI**

INTISARI

Kadar kolesterol yang tinggi merupakan salah satu penyebab terjadinya aterosklerosis. Sambiloto [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees] merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan untuk pengobatan alternatif. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk memperoleh data khasiat fraksi etanol infusa herba sambiloto terhadap kadar kolesterol total serta pengaruhnya terhadap berat badan dan jumlah pakan yang dimakan tikus. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola searah yang menggunakan 6 kelompok hewan uji yang masing-masing terdiri dari 6 ekor tikus jantan Wistar dengan berat 100 - 175 gram yang dibagi secara acak. Kelompok 1 (normal) diberi pakan basal (pakan standar) selama 60 hari dan larutan Na-CMC 0,5 % peroral pada 30 hari terakhir, Kelompok 2 (kontrol negatif) diberi diet lemak tinggi (pakan basal + 10 % lemak babi) selama 30 hari dan larutan Na-CMC 0,5 % peroral pada 30 hari terakhir, Kelompok 3 (kontrol positif) diberi diet lemak tinggi (pakan basal + 10 % lemak babi) selama 30 hari yang kemudian dilanjutkan dengan pemberian simvastatin dalam Na-CMC 0,5 % 3,6 mg/Kg BB peroral selama 30 hari, Kelompok 4, 5 dan 6 (perlakuan 1, 2, dan 3) diberi diet lemak tinggi (pakan basal + 10 % lemak babi) selama 30 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto dalam Na-CMC 0,5 % dengan dosis 0,655 ; 1,31 dan 2,62 g/Kg BB peroral selama 30 hari. Pada hari ke-0 (dihitung sejak awal perlakuan), hari ke-30 dan 60 dilakukan penetapan kadar kolesterol total serum secara enzimatik. Data kadar kolesterol yang diperoleh, dianalisis secara statistika dengan *ANOVA* (95 %) dan dilanjutkan dengan uji Tukey. Hasil analisis serum tikus menunjukkan bahwa fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 1,31 dan 2,62 g/Kg BB secara signifikan ($p < 0,05$) dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus berturut – turut 53,23 % dan 72,88 % bila dibandingkan dengan kontrol negatif. Disimpulkan bahwa fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 1,31 dan 2,62 g/Kg BB memiliki efek hipokolesterolemia. Selain itu fraksi etanol infusa herba sambiloto tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap berat badan maupun jumlah pakan yang dimakan tikus.

Kata kunci : Herba sambiloto [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees], kolesterol, hiperkolesterolemia.

**THE EFFECT OF ETHANOL FRACTION OF SAMBILOTO HERB
INFUSION [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees] TO THE TOTAL
CHOLESTEROL CONCENTRATION IN THE WISTAR MALE RAT
OBTAINED LARD CONTAINING FOOD PELLET**

ABSTRACT

Hypercholesterolemia is one causing factor of atherosclerosis evidence. Sambiloto [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees] is one of the alternative medication plant. The aim of this experimental is to get a special quality data of ethanol fraction of sambiloto herb infusion to the total cholesterol concentration and then its influences on body weight and food consumption which is eaten by rats. This experimental used the one way system complete random method which used 6 group of rats. Each group contains 6 Wistar male rat with body weight 100 – 175 gram which divided randomly. The first group (normal) were given basal food pellet (standard food pellet) during 60 days and Na-CMC solution 0,5 %, orally, at the last 30 days. The second group (negative control) were given a high fat diet (basal food pellet + 10 % lard) for 30 days and Na-CMC solution 0,5 %, orally, at the last 30 days. Third group (positive control) were given a high fat diet (basal food pellet + 10 % lard) for 30 days and followed with simvastatin in Na-CMC 0,5 % 3,6 mg/Kg BW, orally, for 30 days. Fourth, fifth and sixth group (treatment 1, 2 and 3) were given a high fat diet (basal food pellet + 10 % lard) for 30 days and then treated with ethanol fraction of sambiloto herb infusion in Na-CMC 0,5 % dosage 0,655 ; 1,31 and 2,62 g/Kg BW, orally for 30 days. The determining of serum cholesterol concentration were carried out on 0th (count since beginning treatment), 30th day and 60th day with enzymatically. The cholesterol data which obtained, were analyze statistically with ANOVA (95 %) and followed with Tukey test. The result analysis of rats serum showed that ethanol fraction of herb sambiloto infusion dosage 1,31 and 2,62 g/Kg BW significantly ($P < 0,05$) can decreased the total cholesterol concentration of rats are 53,23 % and 72,88 % respectively if compared to negative control. It can be concluded that ethanol fraction of sambiloto herb infusion dosage 1,31 and 2,62 g/Kg BW exhibits hypocholesterolemia. In addition, ethanol fraction of sambiloto herb infusion had no significant influences on body weight and food consumption which is eaten by rats.

Key word : Sambiloto herb [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees], cholesterol, hypercholesterolemia.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Modernisasi selalu meningkatkan pola hidup, kebiasaan makan berlebihan, terlalu banyak aktivitas, banyak merokok, dan kurang istirahat. Pada masa sekarang ini pola dan gaya hidup modern semakin menggejala di dalam masyarakat. Fenomena ini disambut baik sebagai wujud kemajuan pembangunan dan perkembangan teknologi. Namun, di sisi lain kecenderungan ini dapat merugikan, karena dapat meningkatkan terjadinya penyakit pembuluh darah dan jantung. Akibatnya, sejak sepuluh tahun terakhir penyakit jantung dan pembuluh darah banyak menyerang, terutama penduduk usia di atas 40 tahun. Masalahnya, karena semakin tua umur seseorang, pembuluh darahnya semakin kaku, sehingga semakin mudah diserang penyakit pembuluh darah. Di Indonesia penyakit ini peringkatnya meningkat menjadi pembunuh nomor tiga setelah diare dan saluran nafas. Di berbagai belahan dunia, terutama pada masyarakat maju, penyakit pembuluh darah (*cardiovascular*) telah lama menjadi pembunuh nomor satu. Tidak mustahil suatu saat penyakit ini bisa menyodok ke posisi pertama di Indonesia (Wiryowidagdo & Sitanggang, 2002). Salah satu penyakit paling populer di zaman ini ialah kelebihan kolesterol atau hiperkolesterolemia. Peningkatan kadar kolesterol dalam darah dikaitkan dengan pembentukan plak aterosklerotik yang dapat menyumbat pembuluh darah, menimbulkan serangan

jantung dan stroke (Marks, *et al.*, 1996). Pada masa sekarang kelebihan kolesterol menjadi momok yang sangat ditakuti orang karena sebagai salah satu penyebab penyempitan pembuluh darah yang dinamakan aterosklerosis, yaitu suatu proses pengapuran dan pengerasan dinding pembuluh darah, terutama di jantung, otak, ginjal, dan mata. Pada otak, aterosklerosis menyebabkan stroke, sedangkan pada jantung menyebabkan penyakit jantung koroner (PJK) (Dalimartha, 2002). Seperti diketahui bahwa penyakit jantung dan pembuluh darah merupakan penyebab kematian utama di dunia (Tan & Rahardja, 1993).

Penyakit degeneratif ini harus segera diatasi. Untuk menurunkan kadar kolesterol plasma dapat digunakan obat antilipemik. Obat antilipemik sekarang ini sudah banyak beredar di pasaran, baik yang berupa obat modern maupun obat tradisional. Pada saat ini obat - obat golongan statin dianggap obat pilihan pertama untuk pasien dengan hiperkolesterolemia. Di samping mengurangi risiko kardiovaskular, obat - obat golongan statin ini juga mempunyai efek baik pada pembuluh darah, baik melalui perbaikan fungsi endotel, melalui efek antiinflamasi dan mengurangi faktor koagulasi (Anonim, 2004). Efek samping obat - obat golongan statin, antara lain gangguan fungsi hati (kadar SGOT-SGPT) meningkat, kerusakan sel otot (*rhabdomyolysis*) yang bisa berakibat gagal ginjal, sedangkan efek samping ringan yang tidak berbahaya adalah setelah makan obat terasa kembung, sedikit mual, otot sedikit kencang atau pegal (Anonim, 2004). Obat antilipemik biasanya digunakan dalam jangka panjang dan terus menerus akan menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, sehingga perlu dicari obat yang memberi efek samping sekecil mungkin, dengan harga terjangkau.

Masyarakat di Indonesia dengan beragam latar belakang budaya etnik-nya masing-masing, lazim menggunakan obat tradisional dengan memanfaatkan kekayaan alam Indonesia (Anonim, 2000). Tumbuhan obat secara empiris telah terbukti dapat menurunkan kadar kolesterol maupun trigliserida darah, obat bahan alam ini bisa diperoleh dengan harga murah, bermanfaat, dan bebas efek samping (Dalimartha, 2002).

Sambiloto merupakan salah satu tanaman obat asli Indonesia dan dikenal dengan nama *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees. Herba sambiloto ini mengandung lakton dan flavonoid. Lakton yang diisolasi dari daun dan percabangannya yaitu *deoxy-andrographolide*, *andrographolide* (zat pahit), *neoandrographolide*, *14-deoxy-11, 12-didehydroandrographolide* dan *homoandrographolide*. Juga terdapat flavonoid, *alkane*, *ketone* dan *aldehyde*, selain mineral seperti kalium, kalsium, natrium dan asam kersik. Flavonoid diisolasi terbanyak dari akar yaitu *polymethoxyflavona*, *andrographin*, *panicolin*, *mono-o-methylwithan* dan *apigenin-7,4-dimethyl ether*. Tumbuhan *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees. Ini pun telah banyak diteliti khasiatnya untuk pengobatan antara lain : menurunkan panas, menghilangkan panas dalam, penawar racun, menghilangkan sakit, anti radang, menghilangkan bengkak (*anti-swelling*) (Wijayakusuma dkk, 1994). Herba ini rasanya pahit, dingin, masuk meridian paru, lambung, usus besar dan usus kecil (Dalimartha, 1999).

Secara empiris, rebusan herba sambiloto telah digunakan oleh masyarakat sebagai penurun kadar kolesterol darah (Dalimartha, 2002). Akan tetapi, penelitian mengenai efek herba sambiloto sebagai penurun kadar kolesterol total

secara ilmiah belum pernah dilaporkan. Penelitian yang telah dilakukan hanya mengenai efek sambiloto sebagai anti kanker (Kumar, *et al.*, 2004) dan sebagai anti hiperglikemik (Zhang & Tan, 2000). Berdasarkan pemikiran tersebut di atas, maka akan diteliti efek fraksi etanol infusa herba sambiloto terhadap kadar kolesterol total pada tikus jantan Wistar yang diberi diet lemak tinggi.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah fraksi etanol infusa herba sambiloto memiliki efek sebagai penurun kadar kolesterol total pada tikus jantan Wistar yang diberi diet lemak tinggi serta pengaruhnya terhadap perubahan berat badan dan jumlah pakan yang dimakan tikus.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto terhadap perubahan kadar kolesterol total pada tikus jantan Wistar yang diberi diet lemak tinggi serta pengaruhnya terhadap perubahan berat badan dan jumlah pakan yang dimakan tikus.

BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Lipid

Lipid darah, adalah zat - zat yang bersifat lemak dan terdiri atas kolesterol, trigliserida - trigliserida, asam - asam lemak bebas dan fosfolipida (antara lain lesitin di otak) (Tjay & Rahardja, 1991). Lipid atau lemak penting sekali untuk berfungsinya sel dan digunakan sebagai sumber energi, pelindung badan, pembentukan sel, sintesis hormon steroid, dan prekursor prostaglandin. Karena lemak pada umumnya tidak larut dalam air, agar lemak itu dapat diangkut dalam peredaran darah, maka lemak itu dibuat menjadi larut dengan mengikatkannya kepada protein yang larut dalam air. Ikatan itu disebut lipoprotein. Lipoprotein adalah suatu ikatan yang larut dalam air dengan berat molekul yang tinggi, terdiri dari lemak (kolesterol, trigliserida dan fosfolipida) dan protein yang khusus dapat mengikat protein (apo-protein). Di dalam peredaran darah lipoprotein itu merupakan suatu kompleks yang disebut *lipoprotein particle* yang terdiri dari 2 bagian yaitu bagian dalam (inti) yang tidak larut, terdiri dari trigliserida dan ester kolesterol, dan bagian luar, yang lebih larut, terdiri dari kolesterol bebas, fosfolipid dan apo-protein (Suyono,1999).

Tergantung dari besarnya molekul dan padatnya (berat jenis), maka lipoprotein – lipoprotein dapat dibagi dalam lima fraksi (Tjay & Rahardja, 1991). Jenis lipoprotein – lipoprotein tersebut, berikut diameter, berat jenis dan komposisinya dapat dilihat pada tabel I.

Tabel I. Jenis lipoprotein, diameter, berat jenis, dan komposisinya (Tjay & Rahardja, 1991)

	Fraksi	Diameter molekul (nm)	Berat jenis	Kandungan			
				Koles terol	Triglis erida	Protein	Fosfo lipida
H.D.L (High Density Lp)	α	4 – 10	> 1,06	25 %	5 %	50 %	20 %
L.D.L (Low Density Lp)	β	19 – 25	< 1,06	70 %	5 %	13 %	12 %
V.L.D.L (Very Low Dens Lp)	Pre- β	30 – 80	< 1,01	20 %	50 %	10 %	20 %
I.D.L (Intermediate D. Lp)	-			30 %	40 %	15 %	15 %
Chylomikron - chylomikron	-	70 – 600	< 0,95	4 %	85 %	2 %	9 %
Lp = Lipoprotein				1 nm (nanometer) = 10^{-9} m			

Lipoprotein dibagi menjadi beberapa jenis, sesuai dengan berat jenisnya yang ditentukan dengan cara ultra-sentrifugasi. Berat jenis ini berkisar antara 0,9 g/ml sampai dengan 1,28 g/ml. Berdasarkan berat jenisnya lipoprotein dapat dibagi menjadi beberapa jenis, yaitu: (Suyono, 1999).

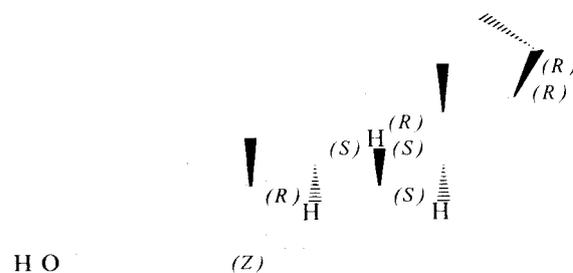
- a). Kilomikron merupakan lipoprotein dengan berat molekul terbesar. Kandungannya sebagian besar trigliserida untuk dibawa ke jaringan lemak dan otot rangka. Kilomikron juga mengandung kolesterol untuk dibawa ke hati.

- b). Lipoprotein densitas sangat rendah (VLDL) dibentuk dari asam lemak bebas di hati. VLDL mengandung 60 % trigliserida endogen dan 10 – 15 % kolesterol.
- c). Lipoprotein densitas sedang (IDL) juga mengandung trigliserida dan kolesterol. IDL merupakan zat antara yang terjadi sewaktu VLDL dikatabolisme menjadi LDL. IDL disebut juga VLDL sisa.
- d). Lipoprotein densitas rendah (LDL) merupakan lipoprotein pengangkut kolesterol terbesar untuk disebarkan ke seluruh endotel jaringan perifer dan pembuluh nadi. LDL merupakan metabolit VLDL yang disebut juga kolesterol jahat karena efeknya yang aterogenik, yaitu mudah melekat pada dinding sebelah dalam pembuluh darah dan menyebabkan penumpukan lemak yang dapat menyempitkan pembuluh darah.
- e). Lipoprotein densitas tinggi (HDL) merupakan lipoprotein yang mengandung Apo A dan mempunyai efek antiaterogenik kuat sehingga disebut juga kolesterol baik. Fungsi utama HDL yaitu mengangkut kolesterol bebas yang terdapat dalam endotel jaringan perifer, termasuk pembuluh darah, ke reseptor HDL di hati untuk dikeluarkan lewat empedu (Dalimartha, 2002).

2. Kolesterol

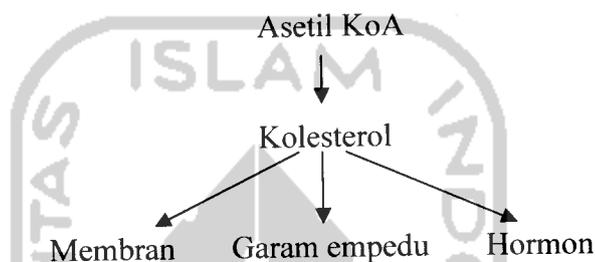
Kolesterol (bahasa Yunani : *chole* = empedu, *stereos* = padat) adalah zat alamiah dengan sifat - sifat fisik serupa lemak dan berumus steroida, seperti banyak senyawa alamiah lainnya. Kolesterol merupakan bahan bangun esensial bagi tubuh untuk sintesa zat - zat penting, seperti membran sel dan bahan isolasi sekitar serat syaraf, begitu pula hormon kelamin dan anak-ginjal, vitamin D, serta

asam empedu (Tjay & Rahardja, 2002). Kolesterol adalah suatu zat yang bersifat lemak dan tidak melarut dalam air atau cairan darah (Tan & Rahardja, 1993). Kolesterol terdapat dalam jaringan dan dalam lipoprotein plasma, yang bisa dalam bentuk kolesterol bebas atau gabungan dengan asam lemak rantai panjang sebagai ester kolesterol. Kolesterol adalah produk khas hasil metabolisme hewan dan dengan demikian terdapat dalam segala makanan yang berasal dari hewan (Mayes, 1996). Bahan makanan yang berasal dari nabati tidak mengandung kolesterol. Namun, kolesterol selain diperoleh dari makanan, juga diproduksi di hati dan lemak jenuh. Jadi penderita hiperkolesterolemia selain harus menghindari kolesterol, juga harus mengurangi makanan yang banyak mengandung lemak jenuh. Kolesterol banyak terdapat pada otak, daging babi, daging sapi, daging kambing, kulit unggas, jeroan, kuning telur, kepiting, keju, susu, dan mentega (Dalimartha, 2002). Karena kolesterol tidak disintesis oleh tumbuhan, sayuran dan buah berperan penting dalam diet rendah kolesterol (Marks, *et al.*, 1996). Kolesterol yang formulanya ditunjukkan dalam Gambar 1, terdapat dalam diet semua orang, dan dapat diabsorpsi dengan lambat dari saluran pencernaan ke dalam limfe usus (Guyton & Hall, 1996).



Gambar 1. Struktur Kolesterol (Lubert, 1995 *cit* Hidayat, 2002).

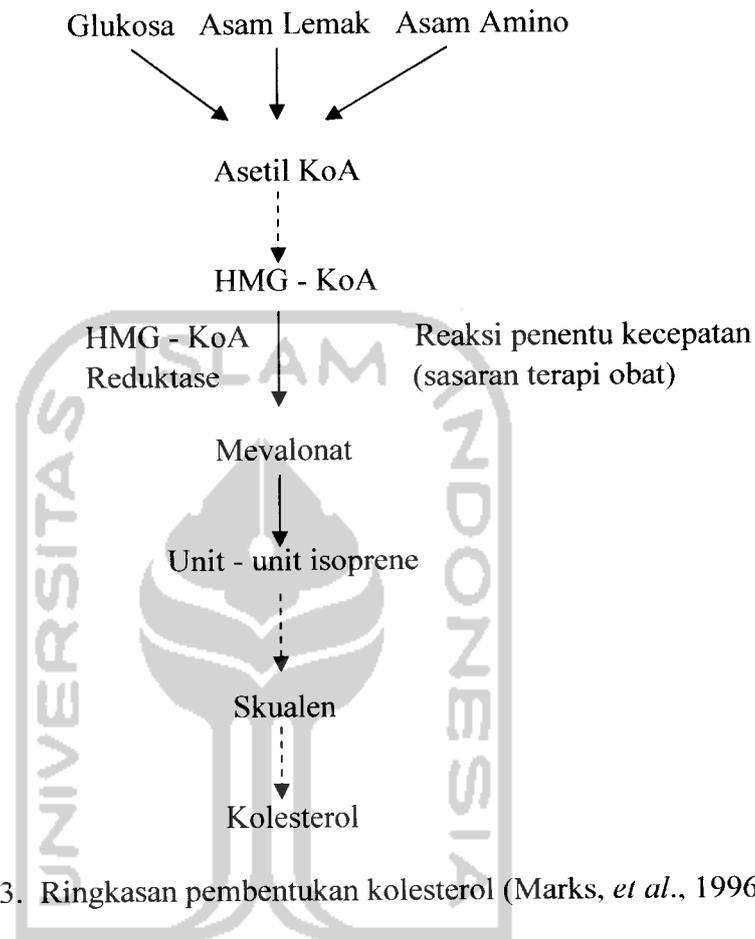
Kolesterol berperan menstabilkan lapis ganda (bilayer) fosfolipid pada membran. Kolesterol berfungsi sebagai prekursor garam - garam empedu, senyawa mirip deterjen yang berfungsi dalam proses pencernaan dan penyerapan lemak. Kolesterol juga berfungsi sebagai prekursor hormon steroid yang memiliki banyak fungsi, termasuk metabolisme, pertumbuhan, dan reproduksi (Marks, *et al.*, 1996).



Gambar 2. Ringkasan sintesis kolesterol (Marks, *et al.*, 1996).

Kolesterol diperoleh dari makanan atau disintesis melalui jalur yang terdapat pada hampir semua sel tubuh, tetapi terutama di sel hati dan usus (Marks, *et al.*, 1996). Dalam keadaan normal, hati melepaskan kolesterol ke darah sesuai kebutuhan. Tetapi, bila diet mengandung terlalu banyak kolesterol atau lemak hewani jenuh, maka kadar kolesterol darah akan meningkat (Tjay & Rahardja, 2002). Prekursor untuk sintesis kolesterol adalah asetil KoA, yang dapat dibentuk dari glukosa, asam lemak, atau asam amino. Dua molekul asetil KoA membentuk asetoasetil KoA, yang bergabung dengan molekul asetil KoA lainnya membentuk Hidroksimetilglutaril KoA (HMG-KoA). Reduksi HMG-KoA menghasilkan mevalonat. Reaksi yang dikatalisis oleh HMG-KoA reduktase, ini adalah reaksi penentu kecepatan pembentukan kolesterol. Mevalonat menghasilkan unit - unit isoprene yang akhirnya saling bergabung membentuk skualen. Siklisasi skualen

menghasilkan system cincin steroid, dan sejumlah reaksi selanjutnya menghasilkan kolesterol (Marks, *et al.*, 1996).



Gambar 3. Ringkasan pembentukan kolesterol (Marks, *et al.*, 1996).

Kolesterol terkemas dalam kilomikron di usus dan dalam lipoprotein berdensitas sangat rendah (VLDL) di hati. Kolesterol diangkut lewat darah dalam partikel - partikel lipoprotein tersebut, yang juga mengangkut triasilgliserol. Sewaktu triasilgliserol pada lipoprotein darah dicerna oleh lipoprotein lipase, kilomikron diubah menjadi sisa kilomikron dan VLDL diubah menjadi lipoprotein berdensitas-antara (IDL) dan selanjutnya menjadi lipoprotein berdensitas rendah (LDL). Produk - produk ini kembali ke hati lalu berikatan dengan reseptor di membran sel dan diserap melalui proses endositosis untuk dicerna oleh enzim lisosom. LDL juga diserap melalui proses endositosis oleh jaringan non-hati

(perifer). Kolesterol dan produk pencernaan lisosom lainnya dilepaskan ke dalam depot seluler. Hati menggunakan kolesterol daur-ulang ini, dan kolesterol yang disintesis dari asetil KoA, untuk membentuk VLDL dan garam empedu. HDL memperoleh kolesterol dari lipoprotein lain dan dari membrane sel serta mengubahnya menjadi ester kolesterol melalui reaksi yang dikatalisis oleh lesitin kolesterol asiltransferase (LCAT). Kemudian HDL secara langsung mengangkut kolesterol dan ester kolesterol ke hati atau memindahkan ester kolesterol ke lipoprotein lain melalui protein pemindah ester kolesterol (*cholesterol ester transfer protein*, CETP). Akhirnya, partikel lipoprotein membawa kolesterol dan ester kolesterol ke hati untuk diserap secara endositosis dan dicerna di dalam lisosom. Dengan demikian, fungsi utama HDL adalah "transpor kolesterol terbalik" (yaitu mengembalikan kolesterol ke hati) (Marks, *et al.*, 1996).

Sekitar satu gram kolesterol dikeluarkan dari dalam tubuh setiap harinya. Kolesterol yang berlebihan akan diekskresikan dari hati ke dalam empedu sebagai kolesterol atau garam empedu (Mayes, 1996). Garam empedu, yang dibentuk di hati dari kolesterol yang diperoleh dari lipoprotein darah atau disintesis dari asetil KoA, disekresikan ke dalam empedu. Garam ini disimpan dalam kandung empedu dan dikeluarkan ke usus sewaktu makan. Garam empedu menyebabkan emulsifikasi triasilgliserol dari makanan, sehingga lemak tersebut mudah dicerna. Produk pencernaan diserap oleh sel epitel dari misel garam empedu (butir - butir halus yang mengandung garam empedu pada permukaan antarmuka-airnya). Setelah isi misel diserap, sebagian besar garam empedu mengalir ke ileum, untuk diserap dan didaur ulang oleh hati. Kurang dari 5 % garam empedu yang masuk

ke dalam lumen usus akhirnya dikeluarkan melalui tinja. Walaupun ekskresi garam empedu melalui feses relatif rendah, ekskresi tersebut merupakan cara utama pengeluaran inti steroid kolesterol oleh tubuh. Karena tidak dapat diuraikan di dalam tubuh, struktur cincin kolesterol diekskresikan terutama dalam empedu sebagai garam empedu dan kolesterol bebas (Marks, *et al.*, 1996).

3. Hiperkolesterolemia

Hiperlipidemia (lebih tepat disebut hiperlipoproteinemia) adalah keadaan, dimana kadar lipoprotein plasma meningkat. Dapat dibedakan dua jenis, yakni:

- a). Hiperkolesterolemia, dengan peningkatan kadar LDL (dan kolesterol total);
- b). Hipertrigliserida, dimana kadar trigliserida meningkat (Tjay & Rahardja, 2002).

Kenaikan kadar kolesterol yang terdapat dalam VLDL, IDL atau LDL berkaitan dengan penyakit aterosklerosis, sedangkan kadar HDL yang tinggi memberikan efek protektif (Mayes, 1996). Karena partikel HDL berperan mengeluarkan kolesterol dari jaringan dan mengembalikannya ke hati. Kolesterol lipoprotein berdensitas rendah adalah sasaran utama terapi penurunan kolesterol karena bukti epidemiologis dan eksperimental sangat menyokong manfaat penurunan kolesterol LDL serum dalam mencegah penyakit kardiovaskular aterosklerotik (Marks, *et al.*, 1996). Konsentrasi plasma dari lipoprotein densitas rendah yang tinggi kolesterol ini secara langsung ditingkatkan oleh lemak jenuh di dalam diet sehari - hari. Sebagian kecil, juga ditingkatkan oleh peningkatan kolesterol dalam diet (Guyton & Hall, 1996).

Kadar kolesterol meningkat bila mengonsumsi makanan yang banyak mengandung kolesterol atau lemak jenuh, baik dari sumber nabati atau hewani. Lemak jenuh banyak terdapat pada lemak hewani, daging merah, jeroan, hati, limpa, kuning telur, lemak pada mentega, susu, krim, es krim dan keju, serta lemak nabati seperti santan kelapa. Peningkatan kolesterol juga terjadi akibat menurunnya pengeluaran (ekskresi) kolesterol ke usus melalui asam empedu atau produksi kolesterol di hati meningkat yang berhubungan erat dengan faktor genetik. Kadar kolesterol cenderung meningkat pada orang gemuk, kurang olah raga, stress, dan perokok berat (Dalimartha, 2002). Ada 2 macam gangguan pada kolesterol yaitu :

- a). *Dislipidemia primer* adalah gangguan lipida (meningkatnya kolesterol) yang terbagi menjadi 2 bagian, yakni hiperkolesterol poligenik dan hiperkolesterolemia familial. Hiperkolesterol poligenik biasanya terjadi peningkatan kolesterol ringan atau sedang. Beberapa faktor yang menyebabkan tingginya kolesterol ini adalah berkurangnya fungsi reseptor LDL, berkurangnya daya metabolisme kolesterol, dan meningkatnya penyerapan kadar kolesterol. Hiperkolesterolemia familial adalah meningkatnya kolesterol yang sangat dominan (banyak) akibat ketidakmampuan reseptor LDL (Wiryowidagdo & Sitanggang, 2002). Hiperkolesterolemia familial ini merupakan penyebab paling nyata hiperkolesterolemia (Buja, 1987).
- b). *Dislipidemia sekunder* terjadi akibat penderita mengidap suatu penyakit tertentu, seperti infeksi, stress, atau kurang gerak (olahraga). Berbagai macam

obat juga bisa meningkatkan kadar lemak darah. Perempuan yang telah masuk masa *menopause* (berhenti haid) jika diberi terapi estrogen mengalami resiko kenaikan kadar kolesterol darahnya (Wiryowidagdo & Sitanggang, 2002).

Gejala - gejala kolesterol tinggi pada umumnya tidak begitu kentara. Baru bila kadar kolesterol sangat dipertinggi tampak bercak - bercak kuning tebal yang khas di atas kulit, terutama pada kelopak mata, di siku dan tumit (Tan & Rahardja, 1993).

Untuk mengetahui ada atau tidaknya dislipidemia, diperlukan angka patokan standar kadar lemak darah. Pedoman klinis untuk menghubungkan profil lemak darah dengan resiko terjadinya penyakit jantung koroner (PJK) dapat dilihat pada Tabel II (Dalimartha, 2002).

Tabel II. Pedoman klinis profil lemak darah (Dalimartha, 2002)

Profil Lemak	Diinginkan mg/dL	Diwaspadai mg/dL	Berbahaya mg/dL
Kolesterol Total	< 200	200 – 239	≥ 240
Kolesterol LDL tanpa PJK	< 130	130 – 159	≥ 160
Kolesterol LDL dengan PJK	< 100	-	-
Kolesterol HDL	≥ 45	36 – 44	≤ 35
Trigliserida tanpa PJK	< 200	200 – 399	≥ 400
Trigliserida dengan PJK	< 150	-	-

Kadar lemak kolesterol dalam darah harus dikendalikan, terutama dengan pengaturan diet menurut pola makanan sehat. Sangat dianjurkan tidak banyak makan makanan yang mengandung lemak dan kalori yang berlebihan. Di samping itu dianjurkan untuk memilih makanan yang mengandung banyak serat, seperti buah – buahan dan sayuran (Wiryowidagdo & Sitanggang., 2002).

4. Antihiperlipidemia

Antilipemik adalah obat - obat yang dapat menurunkan kadar kolesterol dan/atau trigliserida darah yang tinggi (Tjay & Rahardja, 2002). Obat penurun lemak darah umumnya efektif, tetapi perlu diperhatikan beberapa hal seperti kemampuan meningkatkan kol-HDL, menurunkan kadar trigliserida, fibrinogen dan kol-LDL, efek samping obat, dan kesesuaian khasiat dengan harganya (*cost effectiveness*) (Dalimartha, 2002). Obat - obat yang kini tersedia adalah sebagai berikut:

a). Golongan resin pengikat asam empedu

Golongan obat ini bekerja dengan cara mengikat asam empedu sehingga asam tersebut tetap berada di dalam usus dan proses resirkulasi ke hati (siklus enterohepatik) tidak terjadi. Akibatnya akan terjadi peningkatan penggunaan kolesterol di hati sebagai bahan baku getah empedu sehingga cadangan kolesterol di hati menurun. Keadaan ini akan menyebabkan cadangan kolesterol yang ada di dalam darah di pergunakan juga sehingga kadar kolesterol dalam darah akan menurun (Dalimartha, 2002).

Obat ini tergolong kuat dengan efek samping ringan berupa gangguan pencernaan seperti nyeri ulu hati, kembung, mual, muntah, diare, bersendawa (*belching*), sembelit (*konstipasi*), dan memperburuk penyakit wasir (*hemoroid*) (Dalimartha, 2002). Contoh obat golongan ini adalah: Kolestiramin (6 – 12 g dua kali sehari) dan Kolestipol (5 – 15 g dua kali sehari) (Suyono, 1999).

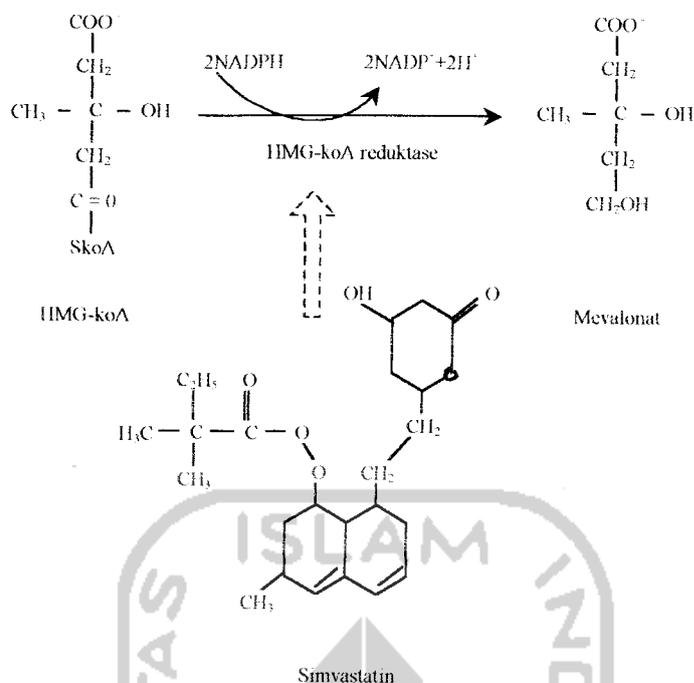
b). Golongan asam nikotinat

Niasin berkhasiat untuk semua kelainan fraksi lemak. Golongan ini mempengaruhi aktivitas enzim lipoprotein lipase sehingga terjadi penurunan produksi VLDL di hati. Akibatnya kadar kolesterol total, kol-LDL, dan trigliserida menurun. Niasin juga dapat meningkatkan kol-HDL (Dalimartha, 2002).

Efek samping golongan obat ini jarang menyebabkan gangguan pencernaan, tetapi bisa menimbulkan vasodilatasi pembuluh darah kulit yaitu kulit menjadi merah dan terasa panas (*flushing*), sakit kepala, berdebar, gatal di kulit, gangguan fungsi hati, meningkatnya kadar asam urat darah, timbulnya resistensi insulin, dan naiknya kadar gula darah. Contoh obat golongan ini adalah: asam nikotinat dan acipimox (Dalimartha, 2002).

c). Golongan statin (*HMG-CoA reduktase inhibitors*)

Golongan *Hydroxy Methyl Glutaryl Coenzyme A Reduktase Inhibitors* ini dapat menekan kadar kolesterol dalam darah secara efektif. Akibat hambatan obat ini, terjadi penurunan simpanan kolesterol intrasel. Obat ini juga menghambat sintesis VLDL di hati sehingga produksi kol-LDL menurun, meningkatkan jumlah reseptor LDL yang akan menyerap LDL bila jumlahnya di dalam darah meninggi, sehingga terjadi peningkatan katabolisme LDL yang berakibat turunnya kol-LDL (Dalimartha, 2002).



Gambar 4. Sasaran terapi simvastatin (Marks, *et al.*, 1996).

Efek samping yang timbul bisa berupa rash, nyeri otot, nyeri dada, sakit kepala, mual (*nausea*), muntah (*vomitus*), diare, dan rasa lelah (Dalimartha, 2002). Contoh obat golongan ini adalah: Simvastatin (5 – 40 mg/hari), Pravastatin (10 – 40 mg/hari), Lovastatin (20 – 80 mg/hari) dan Fluvastatin (5 – 40 mg/hari) (Suyono, 1999).

d). D – tiroksin

Khasiatnya meningkatkan konversi kolesterol menjadi asam empedu dan meningkatkan metabolisme LDL dengan cara menambah reseptor LDL, sehingga kadar LDL menurun. Dosis 1 - 2 mg tiap hari perlahan - lahan dinaikkan sampai maksimal 4 - 8 mg/hari (Suyono, 1999).

e). Probukol

Kerjanya menurunkan kolesterol LDL dengan mekanisme yang belum jelas. Ada yang mengatakan bahwa obat ini menurunkan kolesterol LDL

dengan cara meningkatkan katabolisme LDL dan mempertinggi ekskresi kolesterol ke dalam empedu. Efek samping obat ini boleh dikatakan jarang menimbulkan efek samping. Paling - paling gejala gastrointestinal ringan berupa diare, kembung kadang - kadang hiperhidrosis. Dosis: 250 - 500 mg 2 x sehari (Suyono, 2002).

5. Infudasi

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90° C selama 15 menit (Anonim, 1995). Infudasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan - bahan nabati. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh sebab itu sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam. Cara ini sangat sederhana dan sering digunakan oleh perusahaan obat tradisional. Dengan beberapa modifikasi, cara ini sering digunakan untuk membuat ekstrak (Anonim, 1986).

Pembuatan infusa merupakan cara yang paling sederhana untuk membuat sediaan herbal dari bahan yang lunak seperti daun dan bunga. Dapat diminum panas atau dingin (Anonim, 2000). Infusa dibuat dengan cara membasahi bahan bakunya, biasanya dengan air 2 kali bobot bahan, untuk bunga 4 kali bobot bahan dan untuk karagen 10 kali bobot bahan. Pembuatannya dilakukan dengan cara : simplisia yang telah dihaluskan sesuai dengan derajat kehalusan yang ditetapkan dicampur dengan air secukupnya dalam sebuah panci. Kemudian dipanaskan di dalam tangas air selama 15 menit, dihitung mulai suhu di dalam panci mencapai

90°C, sambil sekali - sekali diaduk. Infusa diserakai sewaktu masih panas melalui kain flannel. Untuk mencukupi kekurangan air, ditambah air mendidih melalui ampasnya. Infusa simplisia yang mengandung minyak atsiri harus diserakai setelah dingin. Infusa asam jawa dan simplisia yang berlendir tidak boleh diperas. Infusa kulit kina biasanya ditambah dengan asam sitrat sepersepuluh dari bobot simplisia. Infusa simplisia yang mengandung glikosida antraknon ditambahkan natrium karbonat sebanyak sepersepuluh dari bobot simplisia. Asam Jawa sebelum dipakai dibuang bijinya dan sebelum direbus dibuat massa seperti bubur. Buah adas dan buah adas manis harus dipecah terlebih dahulu (Anonim, 1986).

Kecuali dinyatakan lain, dan kecuali untuk simplisia yang tertera dibawah, infus yang mengandung bukan bahan berkhasiat keras, dibuat dengan menggunakan 10 % simplisia. Untuk pembuatan 100 bagian infus berikut, digunakan sejumlah yang tertera.

Kulit Kina	6 bagian	
Daun Digitalis	0,5 bagian	
Akar Ipeka	0,5 bagian	
Daun Kumiskucing	0,5 bagian	
Sekale Kornutum	3 bagian	
Daun Sena	4 bagian	
Temulawak	4 bagian	(Anonim, 1995).

6. Sambiloto [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees]

Sambiloto bukan tumbuhan asli Indonesia, tetapi sudah lama tumbuh di negeri ini. Tumbuhan ini berasal dari India, kemudian dalam perkembangannya

masuk kedaftar tanaman obat di daerah Cina, Malaysia, dan Indonesia (Winarto & tim, 2004).

a. Uraian tumbuhan

Sambiloto tumbuh liar di tempat terbuka, seperti di kebun, tepi sungai, tanah kosong yang agak lembab, atau di pekarangan. Tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 700 m di bawah permukaan laut. Terna semusim, tinggi 50 - 90 cm, batang disertai banyak cabang berbentuk segi empat (kwadrangularis) dengan nodus yang membesar. Daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan berilang, bentuk lanset, pangkal runcing, ujung meruncing, tepi rata, permukaan atas hijau tua, bagian bawah hijau muda, panjang 2 - 8 cm, lebar 1 - 3 cm.

Perbungaan rasemoa yang bercabang membentuk malai, keluar dari ujung batang atau ketiak daun. Bunga berbibir berbentuk tabung, kecil - kecil, warnanya putih bernoda ungu. Buah kapsul berbentuk jorong, panjang sekitar 1,5 cm, lebar 0,5 cm, pangkal dan ujung tajam, bila masak akan pecah membujur menjadi 4 keping. Biji gepeng, kecil - kecil, warnanya coklat muda. Perbanyakkan dengan biji atau setek batang (Dalimartha, 1999).

b. Klasifikasi

Divisi	:	Spermathophyta
Sub-divisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Dicotyledoneae
Bangsa	:	Solanales
Suku	:	Acanthaceae
Marga	:	Andrographis

Jenis : *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Ness,
Justicia paniculata Burm., atau *Justicia latebrosa* Russ
 (Winarto dan tim, 2004).

c. Nama

1). Sinonim

Justicia paniculata Burm., *Justicia latebrosa* Russ., *Justicia stricta*
 Lamk.

2). Nama daerah

Sumatera : pepaitan (Melayu).

Jawa : ki oray, ki peurat, takilo (Sunda).

bidara, sadilata, sambilata, takila (Jawa).

3). Nama asing

Chuan xin lian, yi jian xi, lan he lian (C), cong-cong, xuyen tam lien
 (V), kirata, mahatitka (IP), creat, green chiretta, halviva, kariyat (I).

4). Nama simplisia

Andrographidis Herba (herba sambiloto) (Dalimartha, 1999).

d. Kandungan kimia

Herba sambiloto mengandung lakton dan flavonoid. Lakton yang diisolasi dari daun dan percabangannya yaitu *deoxy-andrographolide*, *andrographolide* (zat pahit), *neoandrographolide*, *14-deoxy-11, 12-didehydroandrographolide* dan *homo-andrographolide*. Juga terdapat flavonoid, *alkane*, *ketone* dan *aldehyde*, selain mineral seperti kalium, kalsium, natrium dan asam kersik. Flavonoid diisolasi terbanyak dari akar yaitu *polymethoxyflavone*, *andrographin*, *panicolin*,

mono-o-methylwithtin dan *apigenin-7,4-dimethyl ether* (Wijayakusuma dkk, 1994). Zat aktif andrographolid terbukti berkhasiat sebagai hepatoprotektor (melindungi sel hati dari zat toksik) (Dalimartha, 1999).

e. Efek farmakologi

Tumbuhan sambiloto bersifat menurunkan panas, antitemam, antibiotik, antiradang, antibengkak, antidiare, antitumor, dan hepatoprotektor. Ekstrak sambiloto juga dapat merusak sel *trophocit* dan *thropblast*, berperan dalam kondensasi *cytoplasama* dari sel tumor, *pkynosis*, dan menghancurkan inti sel kanker. Selain itu, sambiloto sangat efektif mengobati infeksi dan merangsang *phagocytosis* (immunostimulant), mempunyai efek hipoglikemik, hipotermia, diuretik, antibakteri, dan analgetik, meningkatkan kekebalan tubuh seluler serta meningkatkan aktivitas kelenjar - kelenjar tubuh (Winarto & tim, 2004). Selain itu sambiloto juga mempunyai efek sebagai anti kanker (Kumar, *et al.*, 2004) dan sebagai anti hiperglikemik (Zhang & Tan, 2000).

B. Keterangan Empiris

Secara empiris, rebusan herba sambiloto digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol darah. Pada penelitian ini ingin diketahui efek pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto terhadap kadar kolesterol total pada tikus jantan Wistar yang diberi diet lemak tinggi.

BAB III
METODE PENELITIAN



A. Bahan dan Alat

1. Bahan

- a. Subjek uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus jantan Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian Dan Pengujian Terpadu (LPPT) – UGM, Jogjakarta, umur 1,5 - 2 bulan, berat badan 100 - 175 gram (surat keterangan hewan uji terlampir pada lampiran 2),
- b. Herba sambiloto yang telah dikeringkan dan dibuat serbuk, yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu – Jawa Tengah,
- c. Kit total kolesterol (yang diproduksi oleh CHOD-PAP, Diasys®), dengan komponen – komponen dan konsentrasi :

Reagent :

<i>Good's buffer</i>	PH 6,7	50 mmol/l
<i>Phenol</i>		5 mmol/l
<i>4-Aminoantipyrine</i>		0,3 mmol/l
<i>Cholesterol esterase</i> (CHE)		≥ 200 U/l
<i>Cholesterol oxidase</i> (CHO)		≥ 50 U/l
<i>Peroxidase</i> (POD)		≥ 3 kU/l

Standard : 200 mg/dL (5.2 mmol/l)

- d. Aquadestilata (yang diperoleh dari Laboratorium Kimia Farmasi UII, Jogjakarta),
- e. Etanol 95 % (yang diproduksi oleh Merck, Germany),
- f. Simvastatin (yang diperoleh dari Dexa Medika, Indonesia),
- g. Na-CMC (yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi UII, Jogjakarta),

- h. Lemak babi cair yang diperoleh dari Pasar tradisional, Kranggan Jogjakarta,
- i. Pakan BR2 yang diproduksi oleh PT. Japfa Comfeed Indonesia, dengan komponen – komponen dan konsentrasi :

Komponen penyusun	Konsentrasi
Air	Maks 12 %
Protein kasar	Min 19 %
Lemak kasar	Min 4 %
Serat kasar	Maks 5 %
Antibiotik	+
<i>Coccidiostat</i>	+
Abu	Maks 6,5 %
Kalsium	0,9 – 1,1
Pospor	0,7 – 0,9

2. Alat

- a. Timbangan analitik tikus (EK - 1200A AND),
- b. Tmbangan analitik bahan (GM – 300P, Lutron),
- c. *Eppendorf*,
- d. Spektrofotometer (*Genesys 10 UV*) dan kuvet,
- e. *Microtip (Yellow-tip dan Blue-tip)*,
- f. Pipa kapiler non heparin,
- g. Mikropipet 1000 μL ,
- h. Sentrifuge (*Himac CT 4D, Hitachi*),
- i. Vortex (*Maxi – Mix, Themolyne*),
- j. Alat - alat gelas (beker gelas, tabung reaksi, pipet volume, pipet tetes, gelas ukur, labu ukur, cawan porselen, vial),
- k. Spuit dan jarum oral,
- l. Seperangkat alat infusa, kompor listrik, penangas air dan corong Buchner.

B. Cara Penelitian

1. Koleksi dan determinasi tanaman

Herba sambiloto yang digunakan pada penelitian ini dalam keadaan kering diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu - Jawa Tengah. Dan determinasi tanaman *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees dilakukan oleh Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu - Jawa Tengah (surat keterangan determinasi terlampir pada lampiran 1).

2. Penentuan dosis simvastatin dan fraksi etanol infusa herba sambiloto

Dosis simvastatin untuk manusia adalah 5 - 40 mg/hari (Suyono, 1999). Konversi dari dosis manusia ke tikus 200 gram adalah 0,018 (Laurence & Bacharach, 1964). Jadi dosis yang digunakan untuk tikus adalah :

$$\begin{aligned} 0,018 \times 40 \text{ mg} &= 0,72 \text{ mg}/200 \text{ gram (3,6 mg/Kg BB).} \\ &= 0,72 \text{ mg}/2 \text{ ml Na-CMC} \end{aligned}$$

Dosis herba sambiloto kering untuk manusia adalah 20 gram (Dalimartha, 2002). Serbuk herba sambiloto kering yang digunakan untuk infusa adalah 50 gram dalam 600 ml aquadestilata yang kemudian difraksinasi dengan etanol 95 % menghasilkan fraksi etanol infusa herba sambiloto sebanyak 36,35 gram. Dosis yang digunakan pada manusia adalah :

$$\frac{20 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \times 36,35 \text{ gram} = 14,54 \text{ gram fraksi etanol infusa herba sambiloto.}$$

Konversi dari dosis manusia ke tikus 200 gram adalah 0,018 (Laurence & Bacharach, 1964). Jadi, dosis yang digunakan untuk tikus adalah :

$$0,018 \times 14,54 \text{ gram} = 0,262 \text{ gram}/200 \text{ gram (1,31 gram/Kg BB).}$$



Jadi, variasi dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Dosis 1 = 0,655 g fraksi etanol infusa/Kg BB \approx 0,9 g serbuk/Kg BB
 = 0,131 g fraksi etanol infusa/200 g
 = 0,131 g fraksi etanol infusa/2 ml Na-CMC
- Dosis 2 = 1,31 g fraksi etanol infusa /Kg BB \approx 1,8 g serbuk/Kg BB
 = 0,262 g fraksi etanol infusa/200 g
 = 0,262 g fraksi etanol infusa/2 ml Na-CMC
- Dosis 3 = 2,62 g fraksi etanol infusa/Kg BB \approx 3,6 g serbuk/Kg BB
 = 0,524 g fraksi etanol infusa /200 g
 = 0,524 g fraksi etanol infusa/2 ml Na-CMC

3. Pembuatan fraksi etanol infusa herba sambiloto

Ditimbang 50 gram serbuk herba sambiloto kemudian dimasukkan dalam panci infus dan ditambahkan 600 ml aquadest. Kemudian dipanaskan selama 15 menit dihitung mulai suhu mencapai 90° C sambil sekali - sekali diaduk. Selanjutnya infusa disaring melalui corong Buchner, ekstrak air diuapkan hingga menjadi ekstrak yang kental. Langkah selanjutnya melarutkan ekstrak ini dalam etanol 95 % sampai tidak berwarna dan didapatkan fraksi etanol infusa herba sambiloto (Setyaningsih, 2003).

4. Pembuatan pakan untuk diet lemak tinggi

Lemak babi dalam keadaan cair diperoleh dari Pasar Kranggan Jogjakarta, ditimbang sebanyak kurang lebih 100 gram. Lemak babi cair tersebut dicampurkan dengan pakan standar hingga 1 kg pakan, diaduk hingga homogen selanjutnya diberikan pada hewan uji.

5. Penyiapan fraksi etanol infusa herba sambiloto dan simvastatin

Fraksi etanol infusa herba sambiloto dilarutkan dengan larutan Na-CMC 0,5 % dengan kadar masing-masing 0,655 g/Kg BB ; 1,31 g/Kg BB dan 2,62 g/Kg BB dan simvastatin disuspensikan dengan larutan Na-CMC 0,5 % dengan kadar 3,6 mg/Kg BB. Suspensi yang digunakan selalu dibuat baru.

6. Uji efek fraksi etanol infusa herba sambiloto terhadap kadar kolesterol total

a. Penetapan panjang gelombang maksimum

Sebanyak 5 μ L serum ditambah 5 μ L standar kolesterol (100 mg/dL) dan ditambah dengan 1000 μ L pereaksi kolesterol, digojok. Kemudian dibaca absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada rentang panjang gelombang 450 - 550 nm. Dan setelah itu dicari panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum.

b. Penentuan waktu operasional (*operating time*) pengukuran kadar kolesterol

Sebanyak 5 μ L serum ditambah 5 μ L standar kolesterol (100 mg/dL) dan ditambah dengan 1000 μ L pereaksi kolesterol, digojok. Dibaca absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang cara 6a untuk tiap waktu inkubasi pada suhu kamar selama 0, 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 menit. Kemudian dicari waktu serapan yang paling stabil.

c. Harga perolehan kembali, kesalahan sistematik dan kesalahan acak

Pada penetapan harga perolehan kembali, kesalahan sistematik dan kesalahan acak ini menggunakan kadar teoritis 100 mg/dL. Sebanyak 5 μ L serum ditambah 5 μ L standar kolesterol (100 mg/dL) dan ditambah dengan 1000 μ L pereaksi kolesterol, digojok dan diinkubasi sesuai waktu operasional. Dibaca

absorbansi dengan panjang gelombang maksimum hasil penetapan pada bagian 6a (dilakukan dengan 3 replikasi). Kemudian ditetapkan kadarnya menurut cara 2. Perolehan kembali dihitung dengan membagi kadar yang terukur dengan kadar sebenarnya (kadar teoritis 100 mg/dL) dikalikan 100 %. Kesalahan acak dihitung sebagai perbandingan simpangan baku (SD) terhadap rata – rata harga perolehan kembali dikalikan dengan 100 %.

d. Penentuan stabilitas kolesterol total

Sebanyak 5 μ L serum ditambah 5 μ L standar kolesterol (100 mg/dL) diinkubasikan pada suhu kamar selama 0, 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 jam serta larutan yang lain di dalam lemari pendingin selama 24 jam. Setelah itu tiap larutan ditambah dengan 1000 μ L pereaksi kolesterol, digojok dan diinkubasi sesuai waktu operasional. Dibaca absorbansi dengan panjang gelombang maksimum hasil penetapan pada bagian 6a (dilakukan dengan 3 replikasi). Ditetapkan kadarnya menurut cara 2. Hasil yang didapatkan dinyatakan sebagai prosen degradasi.

7. Rancangan penelitian hewan uji

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola searah yang menggunakan 36 ekor tikus jantan Wistar dengan berat 100 – 175 gram yang dibagi menjadi 6 kelompok yang masing - masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus (diberi makan dan minum standar *ad libitum*).

Kelompok normal : diberi pakan basal (pakan standar) selama 60 hari dan larutan Na-CMC 0,5 % peroral pada 30 hari terakhir.

Kontrol negatif : diberi diet lemak tinggi (pakan basal dan 10 % lemak babi) selama 30 hari dan dilanjutkan dengan pemberian larutan Na-CMC 0,5 % peroral pada 30 hari terakhir.

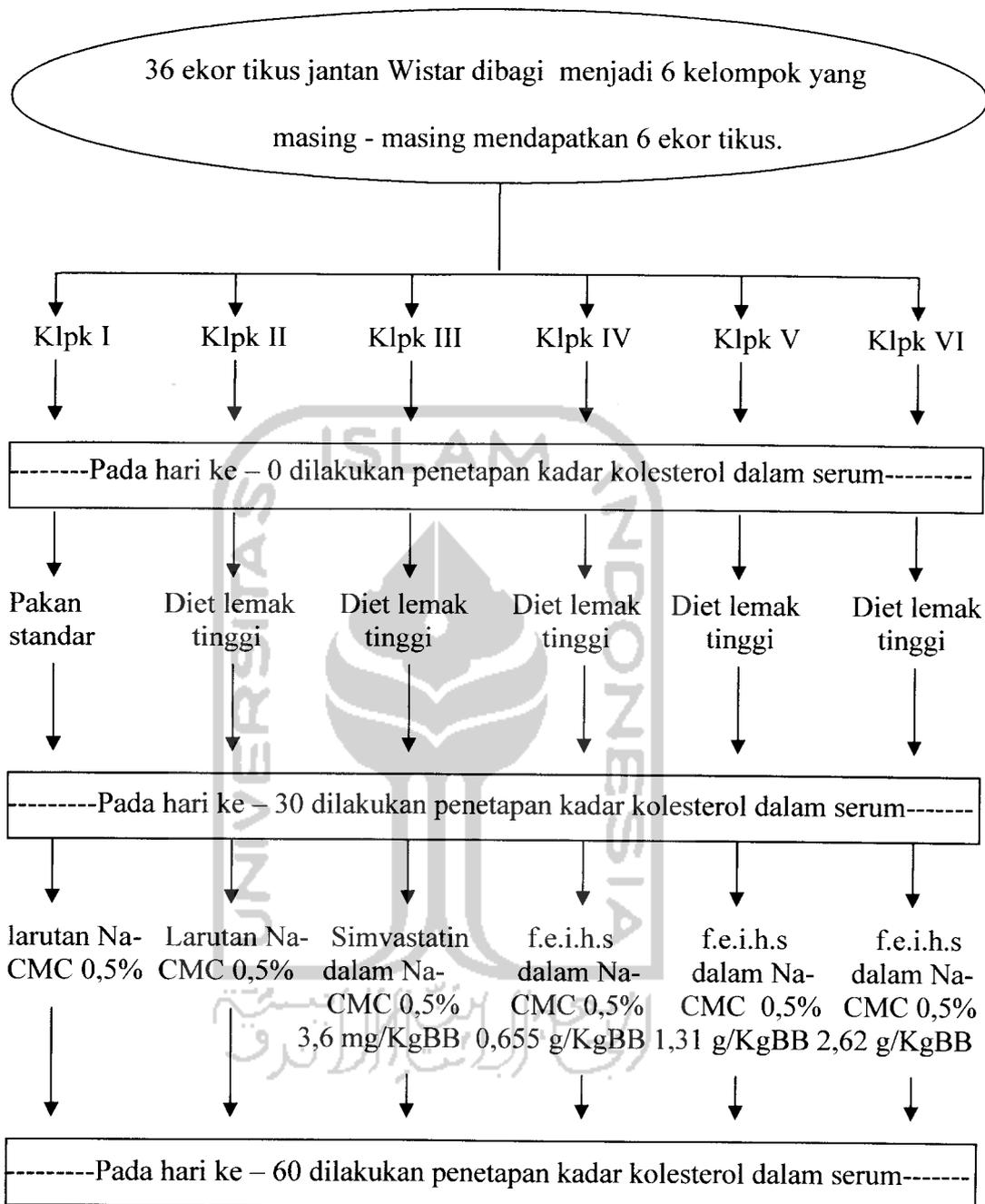
Kontrol positif : diberi diet lemak tinggi (pakan basal dan 10 % lemak babi) selama 30 hari dan dilanjutkan dengan pemberian simvastatin dalam Na-CMC 0,5 % 3,6 mg/Kg BB peroral selama 30 hari.

Kelompok Dosis 1 : diberi diet lemak tinggi (pakan basal dan 10 % lemak babi) selama 30 hari dan dilanjutkan dengan pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto dalam Na-CMC 0,5 % 0,655 g/Kg BB peroral selama 30 hari.

Kelompok Dosis 2 : diberi diet lemak tinggi (pakan basal dan 10 % lemak babi) selama 30 hari dan dilanjutkan dengan pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto dalam Na-CMC 0,5 % 1,31 g/Kg BB peroral selama 30 hari.

Kelompok Dosis 3 : diberi diet lemak tinggi (pakan basal dan 10 % lemak babi) selama 30 hari dan dilanjutkan dengan pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto dalam Na-CMC 0,5 % 2,62 g/Kg BB peroral selama 30 hari.

Pada hari ke-0 (dihitung sejak awal perlakuan), 30 dan 60 dilakukan penetapan kadar kolesterol total serum dengan menggunakan metode enzimatik. Selain itu penimbangan berat badan tikus dan jumlah pakan sisa dilakukan pada setiap harinya.



Keterangan :

- Penimbangan berat badan tikus dilakukan setiap hari
- Penimbangan jumlah pakan sisa dilakukan setiap hari.

Kelompok 1 = kelompok normal

Kelompok 2 = kontrol negatif

Kelompok 3 = kontrol positif

f.e.i.h.s = fraksi etanol infusa herba sambiloto.

Kelompok 4 = kelompok dosis 1

Kelompok 5 = kelompok dosis 2

Kelompok 6 = kelompok dosis 3

Gambar 5. Skematis penelitian.

a. Sampling darah

Sebelum diambil darahnya tikus dipuasakan selama 16 - 18 jam, tetapi tetap diberi minum *ad libitum*. Tikus diambil darahnya sebanyak 1,5 mL melalui *sinus orbitalis*. Pengambilan darah tikus melalui *sinus orbitalis* lebih mudah dan volume darah yang didapatkan lebih banyak, tetapi perlu kemahiran khusus dalam pelaksanaannya (Van Herck, *et al.*, 1998 *cit* Darmawan, 2004).

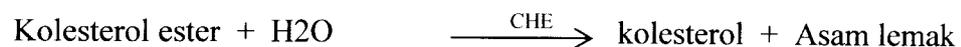
b. Metode Analisis

1). Pembuatan serum

Darah diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit, disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Diambil bagian yang jernih yaitu serum.

2). Penetapan kadar kolesterol total secara *enzymatic-colorimetric test* CHOD-PAP (Allain, *et al.*, 1974 *cit* Darmawan, 2004).

Penetapan kolesterol setelah mengalami proses hidrolisis dan oksidasi oleh secara enzimatik (Allain, *et al.*, 1974 *cit* Darmawan, 2004). Kolesterol esterase (CHE) menghidrolisis kolesterol ester menjadi kolesterol dan asam lemak. Oksidasi dari kolesterol oleh kolesterol oksidase (CHO) menghasilkan H₂O₂. Indikator warna merah quinonimina dihasilkan dari reaksi 4 - aminoantipirin dan fenol oleh hidrogen peroksida dengan dikatalisis oleh peroksidase (POD) menurut reaksi berikut :



Besarnya intensitas warna merah quinonimina yang terbentuk sebanding dengan kadar kolesterol.

Serum dan standar kolesterol masing-masing 0,01 mL dan ditambah 1,0 mL pereaksi kolesterol. Campuran digojok pada suhu kamar, didiamkan sesuai waktu inkubasi lalu dibaca absorbansinya. Kadar kolesterol dalam serum diperhitungkan dengan membandingkan absorbansi serum dan absorbansi standar kolesterol kemudian dikalikan dengan kadar standar kolesterol (kadar 200 mg/Dl) menggunakan persamaan:

$$K = (A_s / A_{st}) \times 200 \text{ mg/dL}$$

Keterangan : K = Kadar kolesterol dalam serum (mg/dL)
 A_s = Absorbansi serum
 A_{st} = Absorbansi standar

3). Penimbangan berat badan tikus

Pada setiap harinya semua hewan uji dari masing – masing kelompok perlakuan ditimbang berat badannya selama 60 hari. Penimbangan berat badan tikus dilakukan dengan menggunakan timbangan analitik EK - 1200A AND.

4). Penimbangan jumlah pakan sisa

Jumlah pakan yang diberikan pada tikus ditimbang setiap hari dengan berat yaitu 20 gram sedangkan penimbangan jumlah pakan sisa dilakukan keesokan harinya setelah dipisahkan dari kotoran tikus dan setelah pakan sisa tersebut kering. Jumlah pakan yang dimakan tikus diperoleh dari jumlah pakan yang diberikan pada tikus (20 gram) dikurangi dengan jumlah pakan sisa.

C. Analisis Hasil

Kadar kolesterol total hari ke-0, 30 dan 60 diperoleh dengan membandingkan absorbansi serum dengan absorbansi standar lalu dikalikan dengan kadar kolesterol total standar (kadar 200 mg/dL). Prosentase kenaikan dan penurunan kadar kolesterol total serta kenaikan berat badan tikus perhari dan jumlah pakan yang dimakan tikus perhari, dianalisis secara statistika dengan *ANOVA* (95 %). Apabila terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan dilanjutkan dengan uji Tukey ($p < 0,05$) untuk melihat perbedaan dari masing - masing kelompok.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Koleksi dan Determinasi Tanaman

Pengumpulan tanaman herba sambiloto dilakukan dengan cara : herba sambiloto dipanen dalam keadaan berbunga dan berbuah pada umur kurang lebih 6 – 7 bulan sejak mulai tanam, herba sambiloto yang diambil ini adalah seluruh bagian tanaman termasuk akar, selanjutnya herba sambiloto ini dicuci bersih dan dirajang – rajang, pengeringan herba sambiloto ini dilakukan dibawah sinar matahari langsung sambil diangin – anginkan yang kemudian dibuat serbuk. Tujuan dari pengeringan ialah agar herba sambiloto tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia sebab air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat merupakan media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya (Anonim, 1985). Tujuan dari herba sambiloto dibuat serbuk adalah untuk mengecilkan ukuran bahan sehingga meningkatkan luas permukaannya. Semakin besar luas permukaan bahan maka kontak bahan dengan penyari semakin besar sehingga mengoptimalkan proses penyarian.

Tanaman herba sambiloto yang akan digunakan untuk penelitian ini dideterminasi terlebih dahulu yang bertujuan agar tidak terjadi kesalahan terhadap tanaman yang akan digunakan dan untuk memperoleh kepastian bahwa herba

sambiloto yang digunakan pada penelitian ini benar – benar berasal dari tanaman herba sambiloto. Dan determinasi tanaman herba sambiloto dilakukan oleh Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu, Jawa Tengah. Berdasarkan hasil determinasi yang tercantum pada surat determinasi (lampiran 1) dapat diperoleh kepastian bahwa tanaman yang dideterminasi dan akan digunakan pada penelitian ini adalah species *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees.

B. Pembuatan Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto

Ditimbang 50 gram serbuk herba sambiloto kemudian dimasukkan dalam panci infus dan ditambahkan 600 ml aquadest. Kemudian dipanaskan selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90° C sambil sekali - sekali diaduk. Selanjutnya infusa disaring melalui kertas saring dengan menggunakan corong Buchner, dan ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus 500 ml, hasil ekstrak air ini diuapkan hingga menjadi ekstrak yang kental. Langkah selanjutnya melarutkan ekstrak ini dalam kurang lebih 38 ml etanol 95 % dan disentrifuge sampai tidak berwarna dan didapatkan fraksi etanol infusa herba sambiloto sebanyak 36,35 gram.

Fraksinasi digunakan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya (Harborne, 1987). Pelarut yang digunakan dalam penyarian ini adalah aquadest. Aquadest merupakan pelarut yang bersifat polar sehingga kemungkinan senyawa yang bersifat polar sebagian besar akan larut dalam aquadest sedangkan yang non polar atau kurang polar akan

tertinggal dalam residu (ampas). Penggunaan etanol 95 % adalah untuk menarik senyawa – senyawa yang larut dengan baik dalam etanol. Menurut Anonim (1986) Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena : bersifat lebih selektif serta kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20 % keatas.

C. Validasi Metode Penetapan Kadar Kolesterol Total

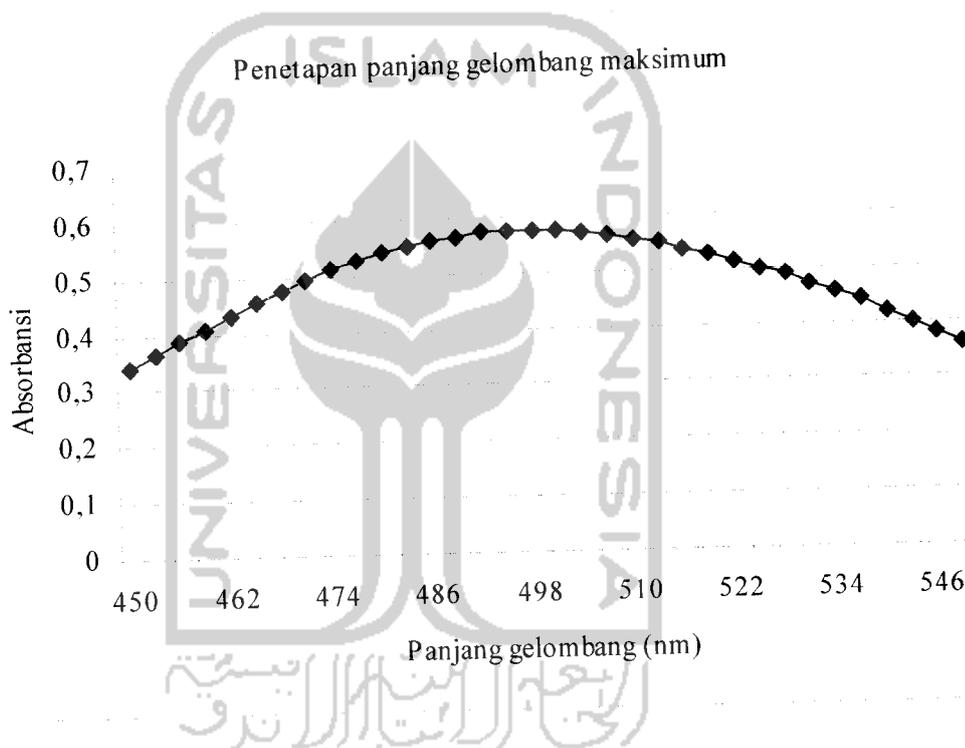
1. Penetapan panjang gelombang maksimum

Tujuan dari penetapan panjang gelombang maksimum adalah untuk menentukan pada panjang gelombang berapa quinonimina memberikan serapan yang maksimum, dimana pada panjang gelombang maksimum ini kepekaan analisis kadar kolesterol total yang dihasilkan adalah optimal.

Tabel III. Penetapan panjang gelombang maksimum quinonimina

No	λ (nm)	Absorbansi	No	λ (nm)	Absorbansi
1	450	0,340	18	501	0,575
2	453	0,362	19	504	0,572
3	456	0,387	20	507	0,566
4	459	0,409	21	510	0,558
5	462	0,430	22	513	0,549
6	465	0,455	23	516	0,537
7	468	0,476	24	519	0,526
8	471	0,496	25	522	0,514
9	474	0,512	26	525	0,500
10	477	0,526	27	528	0,487
11	480	0,540	28	531	0,472
12	483	0,551	29	534	0,456
13	486	0,559	30	537	0,439
14	489	0,567	31	540	0,417
15	492	0,573	32	543	0,400
16	495	0,576	33	546	0,380
17	498	0,577	34	549	0,361

Penetapan panjang gelombang maksimum ini dilakukan dengan 3 kali replikasi. Hasil penetapan panjang gelombang maksimum dari salah satu replikasi ditampilkan pada tabel III. Pada tabel tersebut dapat terlihat bahwa panjang gelombang maksimum yang didapatkan dari salah satu replikasi yaitu 498 nm dan begitu juga dengan replikasi yang lainnya. Pada panjang gelombang maksimum tersebut, absorbansi yang didapatkan juga maksimum.

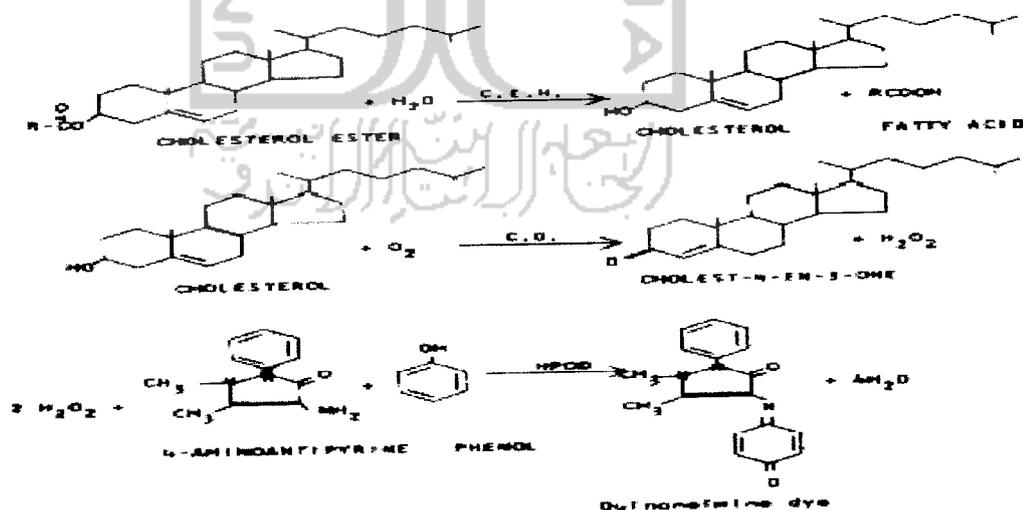


Gambar 6. Hasil penetapan panjang gelombang maksimum quinonimina.

Pada gambar 6 tersebut terlihat bahwa panjang gelombang maksimum yang didapatkan yaitu 498 nm. Hasil penetapan panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer untuk masing – masing replikasi ditampilkan pada lampiran 5. Oleh karena itu dalam penelitian ini selanjutnya pembacaan serapan dilakukan pada panjang gelombang maksimum 498 nm.

2. Penetapan waktu serapan optimum (waktu operasional)

Tujuan dari penetapan waktu serapan optimum (waktu operasional) adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil, yaitu pada saat larutan berwarna yang mengandung senyawa berwarna telah terbentuk dan memberikan serapan yang stabil. Pada saat itu reaksi warna antara kolesterol dengan senyawa yang terdapat dalam reagen CHOD-PAP sudah bercampur secara sempurna sehingga membentuk senyawa berwarna merah (quinonimina). Indikator warna merah (quinonimina) tersebut terbentuk setelah mengalami proses hidrolisis dan oksidasi oleh secara enzimatik. Kolesterol esterase (CHE) menghidrolisis kolesterol ester menjadi kolesterol dan asam lemak. Oksidasi dari kolesterol oleh kolesterol oksidase (CHO) menghasilkan H_2O_2 . Indikator warna merah quinonimina dihasilkan dari reaksi 4 - aminoantipirin dan fenol oleh hydrogen peroksida dengan dikatalisis oleh peroksidase (POD) menurut reaksi berikut :

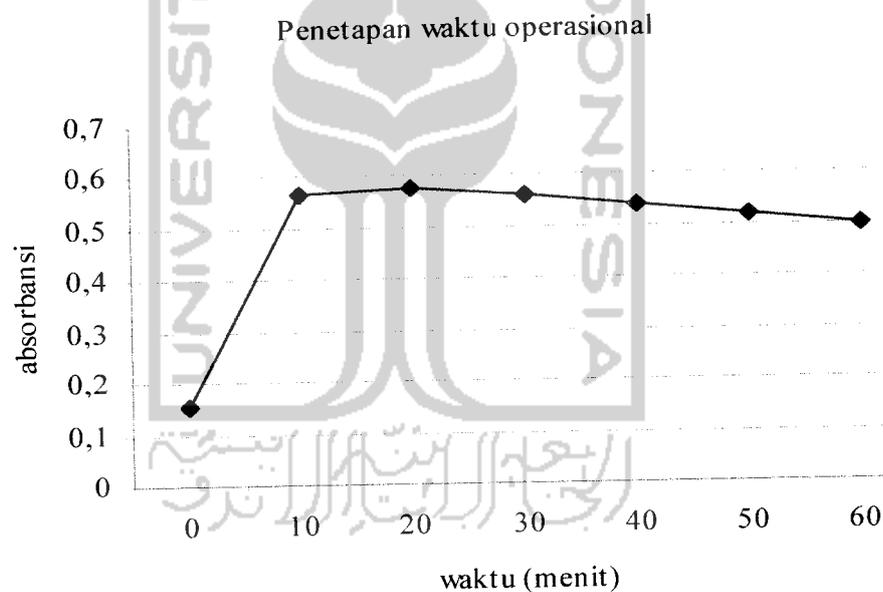


Gambar 7. Reaksi pembentukan warna quinonimina (Allain, et al., 1974).

Besarnya intensitas warna merah quinonimina yang terbentuk sebanding dengan kadar kolesterol. Hasil penetapan waktu operasional ditampilkan pada tabel IV.

Tabel IV. Penetapan waktu operasional serapan optimum quinonimina yang dibaca mulai menit ke-0 sampai menit ke-60 sejak direaksikan dengan reagen

No	Waktu inkubasi (menit)	Absorbansi			Rata-rata \pm SE
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
1	0	0,583	0,152	0,348	0,361 \pm 0,125
2	10	0,616	0,565	0,794	0,658 \pm 0,069
3	20	0,613	0,576	0,808	0,666 \pm 0,072
4	30	0,601	0,560	0,800	0,654 \pm 0,074
5	40	0,587	0,540	0,785	0,637 \pm 0,075
6	50	0,574	0,520	0,771	0,622 \pm 0,076
7	60	0,562	0,500	0,757	0,606 \pm 0,077



Gambar 8. Hasil penetapan waktu operasional quinonimina.

Pada tabel IV tersebut menunjukkan bahwa serapan yang dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-60 bervariasi dalam intensitas warna quinonimina yang terbentuk. Pada menit ke-0 sampai menit ke-20 reaksi warna belum sempurna. Dan mulai menit ke-30 sampai menit ke-60 reaksi warna sudah stabil. Pada

gambar 8 yang merupakan hasil dari salah satu replikasi, memberikan hasil waktu serapan yang stabil yaitu 30 – 60 menit, sedangkan data hasil spektrofotometer dari masing – masing replikasi terlampir pada lampiran 6. Jadi dapat disimpulkan bahwa waktu operasional pembacaan warna quinonimina yang terbentuk agar dapat memberikan serapan yang stabil yaitu antara menit ke-30 sampai menit ke-60.

3. Harga perolehan kembali, kesalahan sistemik dan kesalahan acak

Perlu dilakukan validitas terhadap suatu metode yang digunakan dalam menetapkan kadar suatu senyawa untuk menilai kesahihan metode yang digunakan. Dalam hal ini validitas metode penetapan kadar kolesterol total serum digunakan untuk mengetahui ketelitian dan ketepatan dalam menentukan kadar yang berturut - turut dinyatakan dengan harga perolehan kembali, kesalahan sistemik serta kesalahan acak.

Tabel V. Perolehan kembali, kesalahan sistemik dan kesalahan acak kolesterol (kadar 100 mg/dL) dalam serum tikus

	Absorbansi	Kadar mg/dL	Perolehan Kembali (%)	Kesalahan sistemik (%)	Kesalahan acak (%)
Replikasi 1	0,663	99,70	99,70 %	0,3 %	4,19 %
Replikasi 2	0,610	91,73	91,73 %	8,27 %	
Replikasi 3	0,632	95,04	95,04 %	4,96 %	
X ± SE			95,49 ± 2,31	4,51 ± 2,31	

Suatu metode analisis dinyatakan memenuhi persyaratan apabila metode tersebut dapat memberikan perolehan kembali lebih besar dari kesalahan 90 %, kesalahan acak dan sistemik kurang dari 10 % (Pachla, *et al.*, 1986 *cit* Darmawan, 1996). Perolehan kembali dihitung dengan membagi kadar yang terukur dengan kadar teoritis 100 mg/dL dikalikan 100 %. Kesalahan acak dihitung sebagai hasil

pembagian dari simpangan baku (SD) dengan rata - rata dari perolehan kembali dikalikan dengan 100 %. Sedangkan kesalahan sistemik didapat dari pengurangan 100 % dengan harga perolehan kembali. Pada tabel V terlihat bahwa harga perolehan kembali yang diperoleh lebih besar dari 90 % sedangkan kesalahan sistemik dan kesalahan acak kurang dari 10 %. Jadi metode analisis yang digunakan pada penelitian ini sudah memenuhi persyaratan.

4. Penentuan stabilitas kolesterol total dalam serum tikus.

Penentuan stabilitas ini dimaksudkan untuk mengetahui kestabilan kolesterol total pada serum tikus selama penyimpanan (proses analisis) pada waktu tertentu dan kondisi penyimpanan (suhu kamar dan lemari pendingin). Hal ini penting untuk mengantisipasi bila sampel tidak memungkinkan untuk diproses segera. Stabilitas dinyatakan sebagai proses degradasi terhadap kadar awal (jam ke-0). Hasil penentuan stabilitas kolesterol total pada serum tikus dapat dilihat pada tabel VI.

Tabel VI. Harga prosentase (%) degradasi kolesterol (kadar 100 mg/dL) dalam serum tikus

Jam ke-	Replikasi 1		Replikasi 2		Replikasi 3		Rata - rata % degradasi \pm SE
	Kadar mg/dL	% Degradasi	Kadar mg/dL	% Degradasi	Kadar mg/dL	% Degradasi	
0	99,55	0,45 %	99,10	0,90 %	98,80	1,20 %	0,85 \pm 0,22
1	98,95	1,05 %	98,20	1,80 %	98,35	1,65 %	1,50 \pm 0,23
2	98,50	1,50 %	97,74	2,26 %	98,05	1,95 %	1,90 \pm 0,22
3	97,89	2,11 %	97,14	2,86 %	96,39	3,61 %	2,86 \pm 0,43
4	97,29	2,71 %	96,54	3,46 %	95,94	4,06 %	3,41 \pm 0,39
5	96,24	3,76 %	95,79	4,21 %	95,34	4,66 %	4,21 \pm 0,26
6	95,19	4,81 %	95,04	4,96 %	94,59	5,41 %	5,06 \pm 0,17
24	92,48	7,52 %	91,58	8,42 %	92,78	7,22 %	7,72 \pm 0,36

Hasil penelitian pada tabel VI menunjukkan bahwa dari jam ke-0 sampai ke-6 (pada suhu kamar) dan jam ke-24 (pada kondisi dingin) kadar kolesterol yang terdegradasi untuk masing – masing replikasi dan begitu juga dengan rata – ratanya memberikan hasil dibawah 10 %. Jadi dapat dikatakan kolesterol dalam serum stabil sampai jam ke-24. Oleh karena itu dari jam ke-0 sampai jam ke-24 sampel masih dapat dikerjakan setelah sampel darah tersebut dicuplik dari tikus dan dipisahkan antara serum dan plasmanya.

D. Pengaruh Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto Terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Tikus

Faktor yang paling penting dalam menyebabkan atherosklerosis adalah konsentrasi kolesterol yang tinggi dalam plasma darah dalam bentuk lipoprotein dengan densitas rendah (Guyton & Hall, 1996). Pada otak, aterosklerosis menyebabkan stroke, sedangkan pada jantung menyebabkan penyakit jantung koroner (PJK) (Dalimartha, 2002).

Metode yang digunakan dalam penetapan kadar kolesterol total ini adalah metode enzimatis. Metode enzimatis merupakan metode standar dalam analisis klinik, dan perkembangan metode ini demikian pesat beberapa tahun terakhir ini. Alasan perkembangan yang pesat ini yaitu mempunyai spesifitas yang tinggi dan tahap penyiapan sampel pada saat analisis tidak membutuhkan waktu yang lama, tidak banyak pengganggu, pengukuran cepat dan tidak membutuhkan keahlian khusus, alat mudah diotomatisasi dan metode ini mempunyai ketepatan, ketelitian dan selektifitas yang tinggi (Gorog, 1983 *cit* Hadi, 1996).

Penetapan kadar kolesterol biasa dilakukan pada sampel biologis dan terutama pada serum darah. Arti penting kadar kolesterol serum yaitu untuk mengetahui adanya hiperkolesterolemia atau tidak. Hal ini digunakan untuk mendiagnosa dan memperkirakan adanya aterosklerosis atau penyakit kardiovaskuler lain secara cepat. Hal ini biasa dilakukan di laboratorium klinik pada beberapa sampel serum (Gorog, 1983 *cit* Hadi, 1996). Alasan digunakan serum adalah untuk kemudahan dalam penetapan kadar kolesterol total dimana warna serum yang bening dapat dianalisis dengan spektrofotometer disamping itu serum juga dapat dipisahkan dengan baik dengan pemusingan serta tidak memerlukan antikoagulan sehingga lebih ekonomis. Pengukuran kadar kolesterol dalam serum dilakukan dengan spektrofotometer yang umumnya digunakan di laboratorium klinik karena memiliki karakteristik pengukuran terhadap kolesterol total sehingga memiliki akurasi yang baik dan memuaskan (Speicher & Smith, 1983 *cit* Hidayat, 2002).

Penelitian ini didahului dengan pemberian diet lemak tinggi (*ad libitum*) terhadap tikus selama 30 hari untuk kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 sedangkan untuk kelompok normal diberi pakan basal. Pada hari ke-0, 30 dan 60 dilakukan penetapan kadar kolesterol total dalam serum tikus secara enzimatik dan sebelum dilakukan penetapan kadar kolesterol total, tikus dipuasakan selama 16 – 18-jam tetapi tetap diberi minum *ad libitum*. Tujuan dipuasakan adalah untuk mengurangi pengaruh makanan pada berbagai unsur darah sehingga hasil – hasil analisis kimia sampel darah akan lebih konsisten (Smith & Mangkoewidjojo, 1988). Data kadar kolesterol total pada hari ke-0, 30

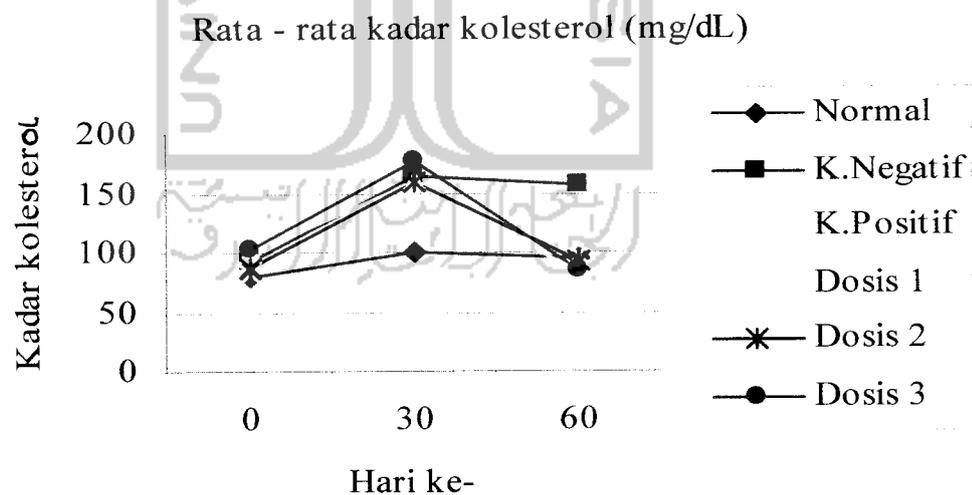
dan 60 dapat dilihat pada tabel VII. Gambar 9 memperlihatkan terjadinya peningkatan dan penurunan kadar kolesterol total dalam serum tikus. Sedangkan prosentase perubahan kadar kolesterol total serta penurunannya dapat dilihat pada tabel VIII.

Tabel VII. Data kadar kolesterol total dalam serum tikus pada hari ke-0, 30 dan 60 (N = 6)

No	Kelompok Perlakuan	Rata – rata kadar kolesterol total dalam serum tikus (mg/dL) ± SE		
		Hari ke-0	Hari ke-30	Hari ke-60
1	Normal	80,65 ± 5,73	99,00 ± 5,06	93,62 ± 4,25
2	Negatif	92,63 ± 5,83	164,70 ± 6,07	155,63 ± 3,77
3	Positif	100,17 ± 5,78	159,26 ± 3,62	81,51 ± 6,11
4	Dosis 1	81,20 ± 3,36	145,21 ± 4,49	97,99 ± 4,20
5	Dosis 2	87,94 ± 6,10	157,76 ± 11,84	91,10 ± 4,59
6	Dosis 3	101,34 ± 3,14	177,96 ± 5,54	83,61 ± 4,82

keterangan :

Kelompok Normal (diet basal + Na-CMC 0,5 %), Kontrol negatif (diet lemak tinggi + Na-CMC 0,5 %), Kontrol positif (diet lemak tinggi + simvastatin 3,6 mg/Kg BB), Dosis 1 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 0,655 g/Kg BB), Dosis 2 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 1,31 g/Kg BB), Dosis 3 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 2,62 g/Kg BB).



keterangan :

Kelompok Normal (diet basal + Na-CMC 0,5 %), Kontrol negatif (diet lemak tinggi + Na-CMC 0,5 %), Kontrol positif (diet lemak tinggi + simvastatin 3,6 mg/Kg BB), Dosis 1 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 0,655 g/Kg BB), Dosis 2 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 1,31 g/Kg BB), Dosis 3 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 2,62 g/Kg BB).

Gambar 9. Perubahan kadar kolesterol total (mg/dL) dalam serum tikus.

Tabel VIII. Prosentase (%) perubahan kadar kolesterol total dalam serum tikus (N = 6)

Kelompok Perlakuan	Rata – rata prosentase perubahan kadar kolesterol total dalam serum tikus (%) ± SE		
	Periode awal * (sebelum perlakuan)	Periode akhir ** (setelah perlakuan)	Penurunan ***
Normal	24,00 ± 4,84	-5,26 ± 1,45	-34,82 ± 17,11
K.Negatif	79,99 ± 8,28	-5,19 ± 2,28	-6,39 ± 2,74
K.Positif	60,70 ± 6,37	-48,72 ± 3,89	-83,88 ± 9,60
Dosis 1	79,56 ± 5,07	-32,18 ± 3,66	-41,65 ± 5,69
Dosis 2	79,65 ± 5,64	-41,66 ± 2,20	-53,23 ± 3,68
Dosis 3	76,13 ± 5,88	-53,18 ± 1,46	-72,88 ± 8,15

Keterangan :

Kelompok Normal (diet basal + Na-CMC 0,5 %), Kontrol negatif (diet lemak tinggi + Na-CMC 0,5 %), Kontrol positif (diet lemak tinggi + simvastatin 3,6 mg/Kg BB), Dosis 1 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 0,655 g/Kg BB), Dosis 2 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 1,31 g/Kg BB), Dosis 3 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 2,62 g/Kg BB).

* Periode awal = $\frac{\text{Kadar kolesterol hari ke30} - \text{hari ke 0}}{\text{Kadar kolesterol hari ke 0}} \times 100 \%$

** Periode akhir = $\frac{\text{Kadar kolesterol hari ke60} - \text{hari ke30}}{\text{Kadar kolesterol hari ke 30}} \times 100 \%$

*** Penurunan = $\frac{\text{Periode akhir}}{\text{Periode awal}} \times 100 \%$

Pada periode awal (sebelum perlakuan) dilakukan penetapan kadar kolesterol total dalam serum tikus, dari gambar 9 terlihat bahwa pada pemberian diet lemak tinggi dengan kadar 10 % terjadi peningkatan kadar kolesterol total. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian diet lemak tinggi dengan kadar 10 % selama 30 hari telah mampu meningkatkan kadar kolesterol total dalam serum tikus, adapun besarnya prosentase peningkatan kadar kolesterol total pada periode awal ini dapat dilihat pada tabel VIII. Lemak babi merupakan salah satu makanan yang mengandung kolesterol (Tan & Rahardja, 1991). Menurut Buja (1987) makanan berkadar tinggi lemak jenuh dan kolesterol, dapat meningkatkan kadar kolesterol serum. Dan menurut Hanafi (2004) lemak babi merupakan lipid hewani

yang banyak mengandung asam lemak jenuh sehingga dapat menaikkan kadar kolesterol. Pada kelompok normal juga terjadi peningkatan kadar kolesterol total walaupun tidak sebesar pada kelompok lainnya yang diberi diet lemak tinggi, hal tersebut karena pada kelompok ini hanya diberi pakan basal *ad libitum*. Menurut Buja (1987) diet kadar rendah lemak dan kolesterol akan berakibat kadar kolesterol rendah. Oleh sebab itu kadar kolesterol total pada kelompok normal lebih rendah dibandingkan dengan kelompok lainnya yang diberi diet lemak tinggi.

Tabel IX. Data statistika dan signifikansi prosentase peningkatan kadar kolesterol total dalam serum tikus pada periode awal

Kelompok Perlakuan		Signifikan	Keterangan
Normal	K. Negatif	0,000	Berbeda signifikan
	K. Positif	0,002	Berbeda signifikan
	Dosis 1	0,000	Berbeda signifikan
	Dosis 2	0,000	Berbeda signifikan
	Dosis 3	0,000	Berbeda signifikan
K. Negatif	K. Positif	0,255	Tidak berbeda signifikan
	Dosis 1	1,000	Tidak berbeda signifikan
	Dosis 2	1,000	Tidak berbeda signifikan
	Dosis 3	0,998	Tidak berbeda signifikan
K. Positif	Dosis 1	0,277	Tidak berbeda signifikan
	Dosis 2	0,272	Tidak berbeda signifikan
	Dosis 3	0,491	Tidak berbeda signifikan
Dosis 1	Dosis 2	1,000	Tidak berbeda signifikan
	Dosis 3	0,999	Tidak berbesa signifikan
Dosis 2	Dosis 3	0,998	Tidak berbeda signifikan

Besarnya peningkatan kadar kolesterol total dalam serum tikus pada periode awal tersebut, kemudian dianalisis dengan *ANOVA* (95 %). Pada tabel IX tersebut terlihat bahwa pada kelompok normal terjadi perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3. Hal tersebut dikarenakan pada kelompok normal hanya diberi pakan basal

sedangkan pada kelompok yang lainnya diberi diet lemak tinggi kadar 10 % sehingga penumpukan kolesterol pada kelompok lainnya lebih banyak daripada kelompok normal. Akan tetapi antara kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$), hal tersebut karena pada kelompok – kelompok tersebut diberi diet lemak tinggi dengan kadar dan berat yang sama. Jadi berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian diet lemak tinggi dengan kadar 10 % selama 30 hari telah mampu menaikkan kadar kolesterol total dalam serum tikus sebesar 60 – 80 %.

Prosentase penurunan kadar kolesterol total dalam serum tikus dapat dilihat pada tabel VIII, terlihat bahwa semua kelompok perlakuan mengalami penurunan kadar kolesterol total. Pada gambar 9 juga dapat dilihat bahwa semua kelompok perlakuan terjadi penurunan kadar kolesterol total. Pada kelompok normal dan kontrol negatif juga terjadi penurunan kadar kolesterol total walaupun tidak begitu berarti karena selisih penurunannya masih dibawah perlakuan simvastatin dan fraksi etanol infusa herba sambiloto, padahal pada kelompok tersebut hanya diberi perlakuan Na-CMC 0,5 %. Hal ini kemungkinan karena dalam Na-CMC diduga mengandung serat (Anonim, 2001). Terapi non farmakologik yang dibutuhkan untuk menurunkan kadar kolesterol adalah dengan banyak mengkonsumsi serat (Suyono, 1999). Serat terdiri dari selulosa. Dalam usus selulosa dapat menyerap baik sebagian dari lemak, kolesterol maupun asam empedu, yang kemudian dikeluarkan dengan tinja. Dengan demikian hati terpaksa mengubah lagi kolesterol darah untuk membuat asam empedu baru, yang bertugas

mengemulgir zat – zat lemak agar mudah diserap usus. Akibatnya ialah kadar kolesterol total turun (Tan & Rahardja, 1993).

Tabel X. Data statistika dan signifikansi prosentase penurunan kadar kolesterol total dalam serum tikus

Kelompok Perlakuan		Signifikan	Keterangan
Normal	K. Negatif	0,271	Tidak berbeda signifikan
	K. Positif	0,008	Berbeda signifikan
	Dosis 1	0,995	Tidak berbeda signifikan
	Dosis 2	0,716	Tidak berbeda signifikan
	Dosis 3	0,064	Tidak berbeda signifikan
K. Negatif	K. Positif	0,000	Berbeda signifikan
	Dosis 1	0,101	Tidak berbeda signifikan
	Dosis 2	0,013	Berbeda signifikan
	Dosis 3	0,000	Berbeda signifikan
K. Positif	Dosis 1	0,030	Berbeda signifikan
	Dosis 2	0,201	Tidak berbeda signifikan
	Dosis 3	0,956	Tidak berbeda signifikan
Dosis 1	Dosis 2	0,945	Tidak berbeda signifikan
	Dosis 3	0,186	Tidak berbeda signifikan
Dosis 2	Dosis 3	0,658	Tidak berbeda signifikan

Besarnya prosentase penurunan kadar kolesterol total dalam serum tikus tersebut, kemudian dianalisis dengan *ANOVA* (95 %). Pada tabel X terlihat bahwa antara kelompok normal dengan kontrol negatif tidak terjadi perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$), hal ini karena kelompok normal dan kontrol negatif sama – sama diberi Na-CMC 0,5 %.

Antara kelompok kontrol positif dengan perlakuan dosis 1 menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Hal tersebut karena fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 0,655 g/Kg BB tidak mampu menurunkan kadar kolesterol total. Sedangkan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok dosis 2 dan dosis 3 terlihat tidak terjadi perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 1,31

g/Kg BB dan dosis 2,62 g/Kg BB mampu menurunkan kadar kolesterol total dalam serum tikus sama hebatnya dengan kontrol positif (pemberian simvastatin dosis 3,6 mg/Kg BB). Simvastatin dijadikan kontrol positif karena dapat menurunkan LDL-kolesterol (18 - 55 %), trigliserida (5 - 15 %) dan HDL-kolesterol (7 - 30 %) (Anonim, 2002 *cit* Darmawan, 2004).

Pada kelompok kontrol negatif jika dibandingkan dengan kontrol positif, dosis 2, dan dosis 3 menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), sedangkan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok dosis 1 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Jadi dapat disimpulkan bahwa fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 1,31 dan 2,62 g/Kg BB mampu menurunkan kadar kolesterol total dalam serum tikus yang diberi diet lemak tinggi secara signifikan berturut - turut sebesar 53,23 % dan 72,88 %.

Penurunan kadar kolesterol total dalam serum tikus dari pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto ini kemungkinan disebabkan oleh flavonoid yang terkandung dalam tanaman tersebut. Penelitian lain yang mendukung bahwa flavonoid mampu menurunkan kadar kolesterol total telah dilakukan oleh Zou, *et al.*, (2005), dimana ekstrak yang kaya akan flavonoid mampu menurunkan kadar kolesterol total. Kemampuan flavonoid dalam menurunkan kadar kolesterol total adalah mungkin sebagai antioksidan dengan mekanisme : (1) menghambat reaksi oksidasi, (2) sebagai penangkap radikal bebas, (3) menekan pembentukan spesies oksigen dan nitrogen reaktif dengan cara menghambat enzim glutation-s-transferase dan mitokondria sukinoksidase yang terlibat dalam produksi radikal bebas, (4) serta melindungi antioksidan endogen (Robinson, 1991 ; Kwan, 2002).

Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol dan isoflavon (Pratt, 1992 *cit* Trilaksani, 2003).

E. Pengaruh Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto Terhadap Berat Badan Tikus

Tujuan dilakukan penimbangan berat badan tikus adalah untuk mengetahui apakah ada pengaruhnya pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto terhadap berat badan tikus serta untuk mengetahui bagaimana korelasi antara berat badan tikus dengan kadar kolesterol totalnya. Penimbangan berat badan tikus dilakukan setiap hari dan pada tabel XI ditampilkan data berat badan tikus pada hari ke-0, hari ke-30 dan hari ke-60. Dimana pada hari ke-0 tikus belum diberi perlakuan diet lemak tinggi selama 30 hari. Pada hari ke-30 tikus telah mendapat perlakuan diet lemak tinggi, kecuali kelompok perlakuan normal yang diberi pakan basal, data berat badan pada hari ke-30 ini merupakan hasil rata – rata berat badan tikus yang ditimbang setiap hari. Dan pada hari ke-60 tikus telah mendapat perlakuan pemberian simvastatin dosis 3,6 mg/kg BB sebagai kontrol positif dan fraksi etanol infusa herba sambiloto dengan dosis 0,655 ; 1,31 dan 2,62 g/kg BB berturut - turut sebagai kelompok perlakuan dosis 1, 2 dan 3 selama 30 hari sedangkan kelompok normal dan kontrol negatif mendapat perlakuan pemberian Na-CMC 0,5 % selama 30 hari, data berat badan pada hari ke-60 ini juga merupakan hasil rata – rata berat badan tikus yang ditimbang setiap hari.

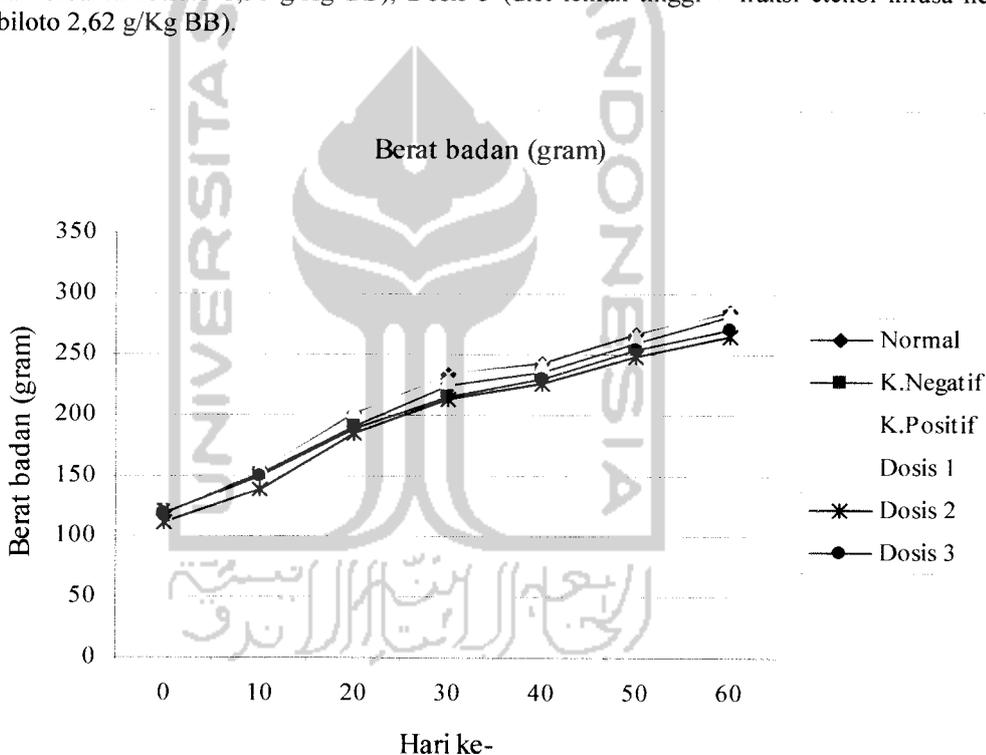


Tabel XI. Data berat badan tikus (gram) pada hari ke-0, 30 dan 60 (N = 6)

No	Kelompok Perlakuan	Rata – rata berat badan tikus (gram) ± SE		
		Hari ke-0	Hari ke-30	Hari ke-60
1	Normal	120,50 ± 4,65	196,99 ± 5,15	265,35 ± 9,26
2	Negatif	119,67 ± 5,27	189,08 ± 11,20	259,08 ± 15,46
3	Positif	119,67 ± 5,41	196,59 ± 8,69	262,72 ± 11,21
4	Dosis 1	118,83 ± 3,82	197,18 ± 9,49	264,59 ± 13,11
5	Dosis 2	111,33 ± 8,59	179,45 ± 6,23	246,51 ± 6,09
6	Dosis 3	118,67 ± 10,50	184,48 ± 9,56	250,83 ± 12,07

keterangan :

Kelompok Normal (diet basal + Na-CMC 0,5 %), Kontrol negatif (diet lemak tinggi + Na-CMC 0,5 %), Kontrol positif (diet lemak tinggi + simvastatin 3,6 mg/Kg BB), Dosis 1 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 0,655 g/Kg BB), Dosis 2 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 1,31 g/Kg BB), Dosis 3 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 2,62 g/Kg BB).



keterangan :

Kelompok Normal (diet basal + Na-CMC 0,5 %), Kontrol negatif (diet lemak tinggi + Na-CMC 0,5 %), Kontrol positif (diet lemak tinggi + simvastatin 3,6 mg/Kg BB), Dosis 1 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 0,655 g/Kg BB), Dosis 2 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 1,31 g/Kg BB), Dosis 3 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 2,62 g/Kg BB).

Gambar 10. Perubahan berat badan tikus (gram) pada hari ke-0, 10, 20, 30, 40, 50 dan 60.

Tabel XII. Perubahan berat badan tikus pada periode awal dan periode akhir
(N = 6)

Kelompok Perlakuan	Rata – rata perubahan berat badan (gram/hari) ± SE	
	Periode awal * (sebelum perlakuan)	Periode akhir ** (setelah perlakuan)
Normal	2,55 ± 0,11	1,24 ± 0,18
K.Negatif	2,32 ± 0,23	1,29 ± 0,18
K.Positif	2,56 ± 0,18	1,37 ± 0,13
Dosis 1	2,61 ± 0,20	1,30 ± 0,06
Dosis 2	2,27 ± 0,12	1,24 ± 0,15
Dosis 3	2,19 ± 0,17	1,40 ± 0,07

Keterangan :

Kelompok Normal (diet basal + Na-CMC 0,5 %), Kontrol negatif (diet lemak tinggi + Na-CMC 0,5 %), Kontrol positif (diet lemak tinggi + simvastatin 3,6 mg/Kg BB), Dosis 1 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 0,655 g/Kg BB), Dosis 2 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 1,31 g/Kg BB), Dosis 3 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 2,62 g/Kg BB).

* Periode awal = $\frac{\text{Rata – rata BB 30 hari awal} - \text{BB hari ke0}}{30}$

** Periode akhir = $\frac{\text{Rata – rata BB 30 hari akhir} - \text{BB hari ke30}}{30}$

Data berat badan tikus dari semua kelompok perlakuan terlampir pada tabel XI. Berdasarkan berat badan tikus, baik sebelum maupun setelah perlakuan pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto terjadi penambahan berat badan tikus (gambar 10). Terlihat bahwa berat badan semua kelompok hewan percobaan naik secara linier untuk rata - rata kenaikan berat badan setiap hari. Kenaikan berat badan tersebut dapat terjadi karena tikus terus mengalami pertumbuhan dan perkembangan selama hidupnya (percobaan) walaupun dengan kecepatan yang berbeda pada masing – masing tikus (Ganong, 1994 *cit* Hanafi, 2004). Selain itu adanya rata - rata kenaikan berat badan setiap hari tersebut menunjukkan bahwa makanan yang diberikan pada tikus cukup.

Data perubahan berat badan tikus perharinya ditampilkan pada tabel XII. Pada tabel tersebut terlihat bahwa pada periode awal (sebelum perlakuan) terjadi peningkatan berat badan tikus, peningkatan berat badan tikus ini diikuti juga

dengan peningkatan kadar kolesterol total pada periode awal. Berarti terdapat korelasi positif antara kenaikan berat badan tikus dengan kadar kolesterolnya. Menurut Buja (1987) berat badan berlebih merupakan faktor “minor” atau “lunak” karena hubungannya yang tidak pasti dengan resiko terjadinya aterosklerosis. Dimana faktor yang paling penting dalam menyebabkan aterosklerosis adalah konsentrasi kolesterol yang tinggi (Guyton & Hall, 1996).

Akan tetapi hasil analisis secara statistika dengan menggunakan *ANOVA* (95 %) menunjukkan bahwa perubahan berat badan tikus pada periode awal (sebelum perlakuan) ini tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) antar masing – masing kelompok perlakuan termasuk dengan kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian diet lemak tinggi 10 % dan pemberian pakan basal selama 30 hari telah mampu meningkatkan berat badan tikus walaupun peningkatannya tidak signifikan.

Pada periode akhir (setelah perlakuan), jika dilihat pada tabel XII terlihat bahwa terjadi penghambatan terhadap kenaikan berat badan tikus. Dan jika dilihat pada gambar 10 terlihat terjadi peningkatan berat badan tikus, hal ini berarti kenaikan berat badan tikus terjadi secara lambat (rendah), pada periode ini juga terjadi penurunan kadar kolesterol total untuk masing – masing kelompok perlakuan. Menurut Smith & Mangkoewidjojo (1988), tikus yang telah dewasa akan terus tumbuh tetapi sangat lambat. Menurut Buja (1987), berat badan berlebih merupakan faktor “minor” atau “lunak” karena hubungannya yang tidak pasti dengan resiko terjadinya aterosklerosis. Dimana faktor yang paling penting

dalam menyebabkan aterosklerosis adalah konsentrasi kolesterol yang tinggi (Guyton & Hall, 1996).

Hasil analisis secara statistika dengan menggunakan *ANOVA* (95 %) menunjukkan bahwa perubahan berat badan tikus pada periode akhir (setelah perlakuan) juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Perubahan berat badan tikus tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan bila dibandingkan antara kelompok perlakuan fraksi etanol infusa herba sambiloto dengan kelompok kontrol negatif ($p > 0,05$). Jadi, dapat disimpulkan bahwa pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 0,655 g/Kg BB ; 1,31 g/Kg BB dan 2,62 g/Kg BB tidak mempunyai pengaruh terhadap berat badan tikus.

F. Pengaruh Fraksi Etanol Infusa Herba Sambiloto Terhadap Jumlah Pakan Yang Dimakan Tikus

Tujuan pengukuran terhadap jumlah pakan tikus ini adalah untuk mengetahui apakah ada pengaruhnya pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto terhadap jumlah pakan yang dimakan tikus serta untuk mengetahui bagaimana korelasi antara jumlah pakan yang dimakan tikus dengan kadar kolesterolnya. Tabel XIII merupakan data rata – rata jumlah pakan yang dimakan tikus perharinya selama periode awal dan periode akhir berikut perubahannya. Gambar 11 menunjukkan perubahan jumlah pakan yang dimakan tikus setiap 10 harinya.

Tabel XIII. Data jumlah pakan yang dimakan tikus (gram/hari) pada periode awal dan akhir serta perubahannya (N = 6)

Perlakuan	Jumlah pakan yang dimakan (gram/hari) ± SE		Perubahan jumlah pakan (gram/hari)*** ± SE
	Periode awal *	Periode akhir **	
Normal	13,05 ± 0,40	12,73 ± 0,53	-0,32 ± 0,47
K.Negatif	11,52 ± 0,78	12,57 ± 0,82	1,04 ± 0,66
K.Positif	11,86 ± 0,49	12,73 ± 0,35	0,87 ± 0,25
Dosis 1	11,50 ± 0,68	12,07 ± 0,60	0,57 ± 0,19
Dosis 2	10,87 ± 0,16	12,13 ± 0,33	1,25 ± 0,22
Dosis 3	10,74 ± 0,37	11,78 ± 0,37	1,04 ± 0,20

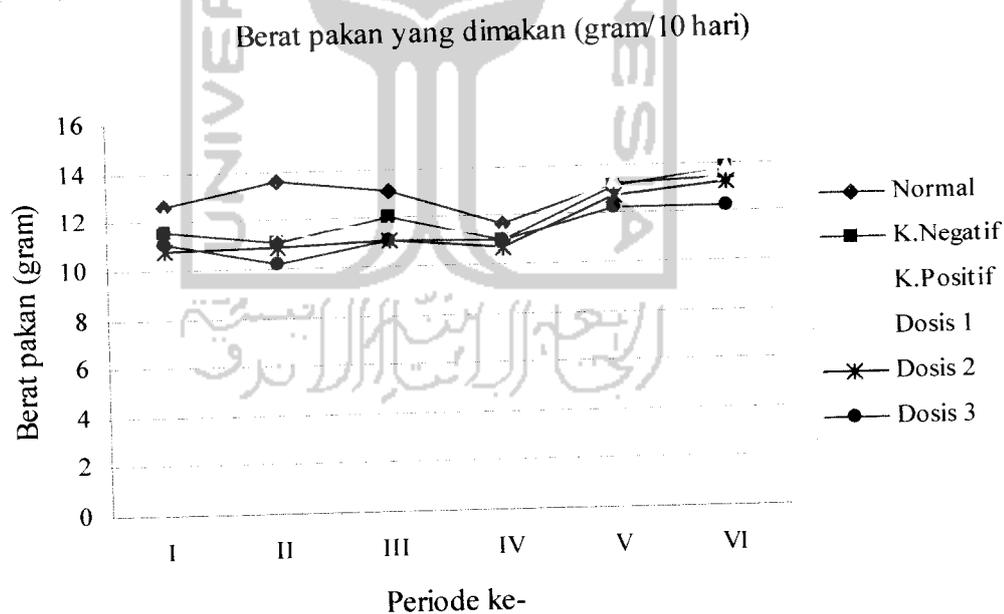
Keterangan :

Kelompok Normal (diet basal + Na-CMC 0,5 %), Kontrol negatif (diet lemak tinggi + Na-CMC 0,5 %), Kontrol positif (diet lemak tinggi + simvastatin 3,6 mg/Kg BB), Dosis 1 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 0,655 g/Kg BB), Dosis 2 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 1,31 g/Kg BB), Dosis 3 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 2,62 g/Kg BB).

* Periode awal = Rata – rata pakan pada 29 hari awal

** Periode akhir = Rata – rata pakan pada 29 hari akhir

*** Perubahan berat pakan yang dimakan = Periode akhir – Periode awal



Keterangan :

Kelompok Normal (diet basal + Na-CMC 0,5 %), Kontrol negatif (diet lemak tinggi + Na-CMC 0,5 %), Kontrol positif (diet lemak tinggi + simvastatin 3,6 mg/Kg BB), Dosis 1 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 0,655 g/Kg BB), Dosis 2 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 1,31 g/Kg BB), Dosis 3 (diet lemak tinggi + fraksi etanol infusa herba sambiloto 2,62 g/Kg BB).

Gambar 11. Perubahan jumlah pakan yang dimakan tikus (gram/10 hari) pada periode ke-I, II, III, IV, V dan VI.

Selama 30 hari pertama (periode awal), tikus untuk masing – masing kelompok diberi diet lemak tinggi kadar 10 %, kecuali pada kelompok normal yang diberi pakan basal. Banyaknya pakan yang diberikan kepada tikus sama yaitu 20 gram. Pada tabel XIII terlihat bahwa pemberian lemak babi pada pakan menyebabkan turunnya nafsu makan tikus selama periode tersebut. Hal tersebut ditunjukkan oleh berkurangnya asupan pakan pada kelompok dengan pemberian diet lemak tinggi dibandingkan dengan kelompok normal (tanpa penambahan lemak babi atau pakan standar BR2). Hal ini sesuai dengan penelitian Hanafi (2004) yaitu pemberian lemak babi pada pakan juga menyebabkan turunnya nafsu makan.

Dan pada 30 hari terakhir (periode akhir), semua kelompok perlakuan diberi pakan yang sama yaitu pakan basal. Banyaknya pakan yang diberikan pada tikus adalah sama yaitu 20 gram. Terlihat bahwa jumlah pakan yang dimakan tikus mengalami peningkatan kecuali pada kelompok normal yang mengalami penurunan.

Besarnya perubahan jumlah pakan yang dimakan tikus perharinya dapat dilihat pada tabel XIII, terlihat bahwa untuk semua kelompok perlakuan mengalami peningkatan terhadap jumlah pakan yang dimakan kecuali pada kelompok normal yang mengalami penurunan jumlah pakan yang dimakan, hal ini mungkin dipengaruhi oleh variasi biologis dari masing – masing tikus. Pada kelompok perlakuan yang diberi diet lemak tinggi terjadi peningkatan terhadap jumlah pakan yang dimakan tikus, hal ini karena pada 30 hari terakhir semua tikus dari masing – masing perlakuan diberi pakan basal dan kemungkinan pakan basal

lebih disukai oleh tikus, oleh karena itu jumlah pakan yang dimakan tikus mengalami peningkatan. Dan apabila dilihat dari perubahan kadar kolesterol totalnya terlihat terjadi penurunan kadar kolesterol total. Hal tersebut menunjukkan bahwa tidak ada hubungan antara kadar kolesterol total dengan jumlah pakan yang dimakan tikus. Menurut Narahari (2002) antara makanan dengan serum kolesterol tidak mempunyai hubungan yang nyata dan tidak ada korelasi antara keduanya. Kecuali pada kelompok normal yang mengalami penurunan kadar kolesterol total dan diikuti penurunan jumlah pakan yang dimakan tikus, hal ini mungkin dipengaruhi oleh variasi biologis dari masing – masing tikus.

Data perubahan jumlah pakan yang dimakan tikus perharinya kemudian dianalisis dengan *ANOVA* (95 %), dari hasil statistika terlihat bahwa dari semua kelompok perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Hal tersebut berarti jumlah pakan yang dimakan tikus perharinya dari semua kelompok perlakuan adalah sama. Begitu juga dengan pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 0,655 g/Kg BB ; 1,31 g/Kg BB dan 2,62 g/Kg BB tidak mempengaruhi terhadap jumlah pakan yang dimakan tikus apabila dibandingkan dengan kontrol negatif, karena perbedaannya tidak signifikan ($p > 0,05$). Jadi dapat disimpulkan bahwa pemberian fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 0,655 g/Kg BB ; 1,31 g/Kg BB dan 2,62 g/Kg BB tidak mempunyai pengaruh terhadap jumlah pakan yang dimakan oleh tikus.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN



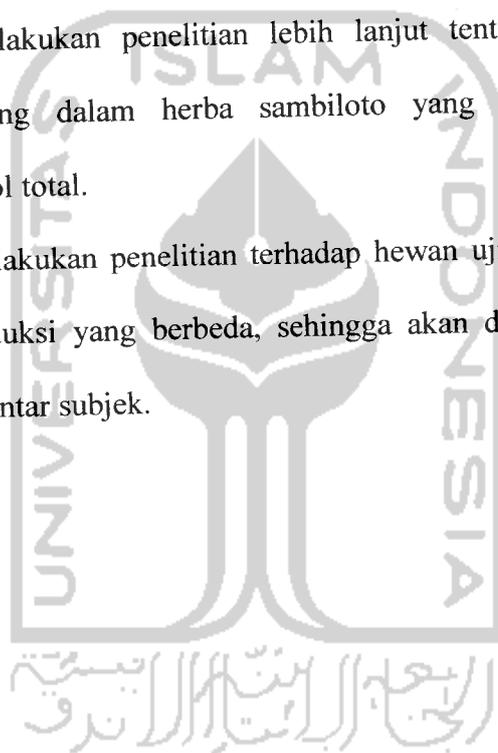
A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai efek fraksi etanol infusa herba sambiloto terhadap kadar kolesterol total tikus jantan Wistar yang diberi diet lemak tinggi, dapat disimpulkan bahwa :

1. Fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 1,31 g/Kg BB dan 2,62 g/Kg BB mempunyai efek dalam menurunkan kadar kolesterol total dalam serum tikus yang diberi diet lemak tinggi secara signifikan ($p < 0,05$) bila dibandingkan dengan kontrol negatif berturut – turut sebesar 53,23 % dan 72,88 %.
2. Fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 0,655 g/Kg BB ; 1,31 g/Kg BB dan 2,62 g/Kg BB tidak mempunyai pengaruh terhadap berat badan tikus ($p > 0,05$).
3. Fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 0,655 g/Kg BB ; 1,31 g/Kg BB dan 2,62 g/Kg BB tidak mempunyai pengaruh terhadap jumlah pakan yang dimakan tikus ($p > 0,05$).

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh fraksi etanol infusa herba sambiloto terhadap kadar trigliserida, HDL, dan LDL.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh fraksi etanol infusa herba sambiloto terhadap histopatologi organ tikus.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang senyawa kimia yang terkandung dalam herba sambiloto yang dapat menurunkan kadar kolesterol total.
4. Perlu dilakukan penelitian terhadap hewan uji yang lain dan dengan zat pengiinduksi yang berbeda, sehingga akan dapat mengetahui penyebab variasi antar subjek.



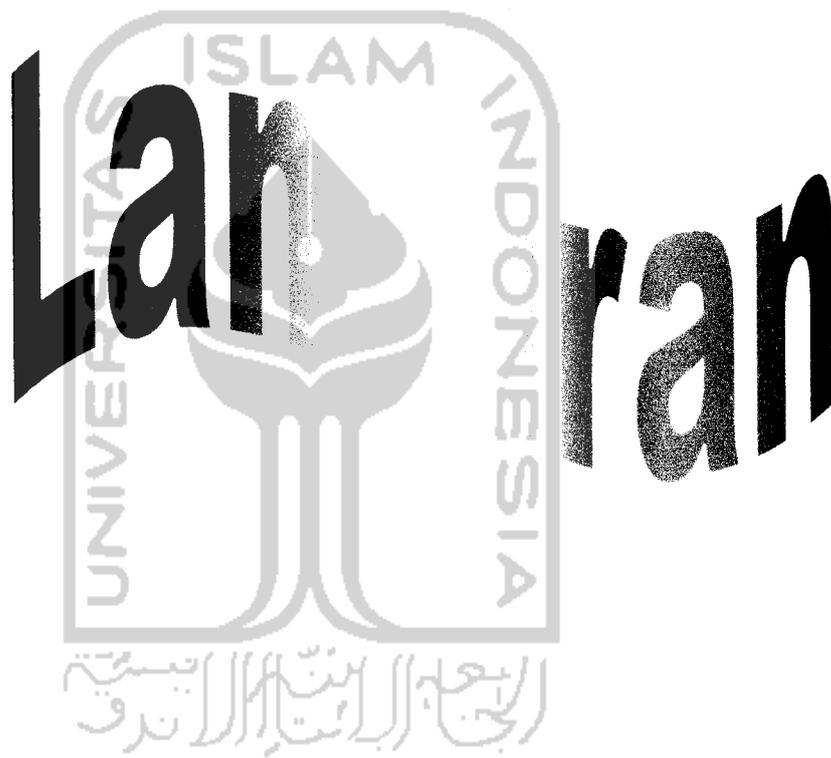
DAFTAR PUSTAKA

- Allain, C.C., L.S Poon., C.S Chan., W Richmond., and P C Fu., 1974, *Enzymatic determination of total serum cholesterol*, Clin. Chem. **20** : 470 - 475.
- Anonim, 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 10.
- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 6, 8 - 9.
- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 9.
- Anonim, 2000, *Acuan Sediaan Herbal*, Cetakan I, Edisi I, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 3 - 4.
- Anonim, 2000, *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*, Cetakan 1, Dirjen POM-Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 1 - 4.
- Anonim, 2001, *Mencegah Serangan Jantung Dengan Menekan Kolesterol*, [Http://www.hayat_ipb.com/users/rudyct/indiv2001/hevy-winarsi.htm](http://www.hayat_ipb.com/users/rudyct/indiv2001/hevy-winarsi.htm).
- Anonim, 2002, Second report of the expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adult (Adult treatment panel III), *JAMA*; **284** : 2486 - 2491.
- Anonim, 2004, *Obat Hiperkolesterolemia*, [http://www.Kalbe.co.id/kfportal.nsf/0/3228e1996c716eda47256ed8000af778?openDocument & AutoFramed](http://www.Kalbe.co.id/kfportal.nsf/0/3228e1996c716eda47256ed8000af778?openDocument&AutoFramed) (diakses 16 september 2004).
- Anonim, 2004, *Obat Hiperkolesterolemia*, <http://www.indonesia.com/intisari/1999/november/kolesterol.htm> (diakses 16 september 2004).
- Buja, M.L., 1987, Sistem Vaskula, Penerjemah Andoko Prawiro Atmodjo, Dalam Robbins, S.L and Kumar, V., (Eds.), *Buku Ajar Patologi*, Edisi 4, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 3 dan 6.
- Dalimartha, S., 1999, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, jilid 1, Trubus Agriwidya, Jakarta, 190 - 195.
- Dalimartha, S., 2002, *36 Resep Tumbuhan Obat Untuk Menurunkan Kolesterol*, Cetakan kelima, Penebar Swadaya, Jakarta, 2, 3, 5, 9, 13, 47, 55 - 57.

- Darmawan, E., 1996, Pengaruh Praperlakuan Merica dan Piperin Terhadap Farmakokinetika Salisilamida Pada Tikus, *Skripsi*, Fakultas Farmasi UGM, Jogjakarta.
- Darmawan, E., 2004, Pengaruh Ekstrak Terpurifikasi, Ekstrak Etanol, dan Minyak Atsiri Temulawak Terhadap Kadar Lipid Serum, Histopatologi Hati dan Aorta Terhadap Tikus *Sprague Dawley* Jantan Yang Diberi Pakan Lemak Tinggi, *Thesis*, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Jogjakarta.
- Ganong, W.F., 1994, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 14, Penerjemah dr. M. Djauhari Widjajakusumah dkk, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 449 – 451.
- Gorog, S., 1983, *Quantitative Analysis Of Steroid*, El Savier Scientific Publishing Company, New York, 249 – 278.
- Guyton, A.L., & Hall, J.E., 1996, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 9, Cetakan 1, Diterjemahkan oleh Irawati Setiawan, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 1087 - 1088.
- Hadi, P., 1996, Efek Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Putih Yang Diberi Diet Lemak Tinggi, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Jogjakarta.
- Hanafi, M., 2004, Pengaruh Perasan Segar Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Kadar Trigliserida Serum Tikus Putih Betina Galur Wistar Yang Diberi Diet Lemak Tinggi, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Jogjakarta.
- Harborne, B.J., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Cetakan kedua, Penerjemah Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerbit ITB, Bandung, 7 – 8.
- Hidayat, R., 2002, Uji Aktivitas Infusa Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih Wistar Yang Diberi Diet Lemak Tinggi, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Jogjakarta.
- Kumar, R.A., Sridevi, K., Kumar, N.V., Nanduri, S., & Rajagopal, S., 2004, *Anticancer and immunostimulatory compounds from Andrographis paniculata*, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=8347130&query_hl=13 (diakses 19 Mei 2005).

- Kwan, A., 2002, *Flavonoid And Vascular Disease*, <http://www.freevas.domon.cu.uk/student/flavonoids.htm> (diakses 4 Agustus 2004).
- Laurence, D.R., & Bacharach, A.L., 1964, *Evaluation Of Drug Activities, Pharmacokinetics*, Volume 2, Academic Press, London.
- Lubert, S., 1995, *Biokimia*, Penerjemah Mohammad Sadikin, Edisi 4, Vol 2 Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 685 – 710.
- Marks, D.B., Marks, A.D., & Smith, C.M., 1996, *Biokimia Kedokteran Dasar*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 513 – 515, 519.
- Mayes, P.A., 1996, Sintesis, Pengangkutan dan Ekskresi Kolesterol, dalam Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwel, V.W., (Eds), *Biokimia Harper*, Edisi 24, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 277, 284, 289.
- Narahari, D., 2002, *Dietary and serum cholesterols*, <http://www.dailynews.lk/2002/03/08/fea07.html> (diakses 27 Mei 2005).
- Pachla, L.A, Wright, D.S., & Reynolds, D.L., 1986, *Bioanalytic Consideration For Pharmacokinetic and Biopharmaceutic Studies*. J. Clin. Pharmacol. 26:332 – 335.
- Pratt, D.E., 1992, Natural Antioksidan From Plant Material, dalam M.T. Huang, C.T. Ho, & C.Y. Lee (eds), *Phenolic Compounds In Food and Their Effects on Health*, American Society, Washington DC.
- Robinson, T., 1991, *Kandungan Organik Tunbuhan Tinggi*, Penerjemah Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 191 - 192.
- Setiyaningsih, S., 2003, Isolasi Dan Identifikasi Flavonoid Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Nees), *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Jogjakarta.
- Smith, J.B., & Mangkoewidjojo, S., 1988, *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Hasil Percobaan di Daerah Tropis*, UI Press, Jakarta, 38, 256.
- Speicher, C.E., & Smith, J.W., 1983, *Pemilihan Uji laboratorium Yang Efektif*, Diterjemahkan dari *Choosing Effective Laboratory Test*, Editor Siti Boeaina Kresno, Alih Bahasa Joko Suyono, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 162 – 174.

- Suyono, S., 1999, Hiperlipidemia, Dalam Anonim (Eds.), *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi ketiga, Jilid I, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 714, 717, 719, 721 - 722.
- Tan, H.T., & Rahardja, K., 1993, *Swamedikasi Cara-Cara Mengobati Gangguan Seharian Dengan Obat-Obat Bebas Sederhana*, Edisi pertama, Cetakan pertama, Direktorat Jendral Pengawasan Obat & Makanan Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 203, 206, 214.
- Tjay, T.H., & Rahardja, K., 1991, *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya*, Edisi keempat, Cetakan kedua, Direktorat Jendral Pengawasan Obat & Makanan Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 411 - 412, 418 - 419.
- Tjay, T.H., & Rahardja, K., 2002, *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya*, Edisi kelima, Cetakan kedua, PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta, 536, 541.
- Trilaksana, W., 2003, *Antioksidan : Jenis, Sumber, Mekanisme kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*, http://rudycet.tripod.com/sem2_023/wini_trilaksana.htm (diakses 20 Juni 2005).
- Van Herck H, Baumans V, Brandt CJWM, Hesp APM, Sturkenboom JH, Van Lith HA, Van Titelen G, Beynen AC., 1998, Orbital sinus blood sampling in rats as performed by different animal technicians: the influence of technique and expertise, *Laboratory Animal*: 32: 377 - 386.
- Wijayakusuma, H., Wirian, A.S., Yaputra, T., Dalimartha, S., & Wibowo, B., 1994, *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*, Jilid II, Cetakan kedua, Pustaka Kartini, Jakarta, 117 - 118.
- Winarto, W.P., & Tim Karyasari., 2004, *Sambiloto, Budi daya dan Pemanfaatan Untuk Obat*, Cetakan kedua, Penebar Swadaya, Jakarta, 2, 8.
- Wiryowidagdo, S., & Sitanggang, M., 2002, *Tanaman Obat Untuk Penyakit Jantung, Darah Tinggi, dan Kolesterol*, Cetakan pertama, AgroMedia Pustaka, Jakarta, 1, 24.
- Zhang, X.F., & Tan, B.K., 2000, *Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of Andrographis paniculata in normal and diabetic rats*, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=10831236&query_hl=8 (diakses 19 Mei 2005).
- Zou Y, Lu Y, Wei D., 2005, *Hypocholesterolemic Effects of a Flavonoid-Rich Extract Of Hypericum perforatum L. In Rats Fed a Cholesterol-Rich Diet*, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=15796580&query_hl=8 (diakses 30 Mei 2005).





DEPARTEMEN KESEHATAN R.I.
 BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
BALAI PENELITIAN TANAMAN OBAT

Jl. Raya Lawu No. 11 Tawangmangu Telp. (0271) 697010 Fax. 697451
 Karanganyar, Surakarta, Jawa Tengah



INDONESIA
 SEHAT
 2010

Nomor : KS.01.02.10.058
 Lampiran : -
 Perihal : Surat Keterangan Selesai
 Melakukan Determinasi

Kepada Yth :
 Saudara Dekan
 Fakultas MIPA
 Jurusan Farmasi
 Universitas Islam Indonesia
 Jl. Kaliurang Km.14,4
 YOGYAKARTA

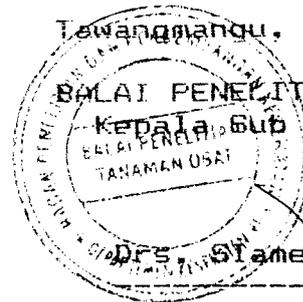
Menunjuk surat Saudara Nomor: 167/Dek/70/Bag.AAS/I/2005 tanggal:28
 Januari 2005 perihal permohonan determinasi.

Dengan ini kami kirimkan hasil determinasi Mahasiswa Saudara :

No. !	Nama/NIM	Nama Tanaman
1 !	Sri Susanti ! 01613008	<i>Morus alba</i> L.
2 !	Emy Mariana ! 01613054	<i>Morus alba</i> L.
3 !	Dyah Suci Afianti ! 01613002	<i>Andrographis paniculata</i> (Burm.F) Nees.
④ !	Dita nururianie ! 01613011	<i>Andrographis paniculata</i> (Burm.F) Ness.

Demikian, atas perhatian serta kerjasama yang baik kami ucapkan
 terima kasih.

Tawangmangu, 21 Februari 2005



BALAI PENELITIAN TANAMAN OBAT.
 Kepala Sub Bag Tata Usaha

Drs. Slamet Wahyono, Apt.

NIP. 140322618

Tembusan kepada Yth :

SURAT KETERANGAN DETERMINASI

Nama : *Andrographis paniculata* (Burm.F) Nees.

Suku : Acanthaceae

Deskripsi tanaman;

Habitus; Herba, semusim, tinggi 20-50 cm. Batang; berkayu, pangkal bulat, masih muda bentuk segi empat setelah tua bulat, percabangan monopodial, warna hijau. Daun; tunggal, bulat telur, bersilang, berhadapan, pangkal dan ujung runcing, tepi rata, panjang \pm 5 cm, lebar \pm 1,5 cm, pertulangan menyirip, panjang tangkai \pm 30 mm, hijau keputih-putihan, hijau. Bunga; majemuk, bentuk tandan, diketiak daun, dan diujung batang, kelopak lanset, berbagi lima, pangkal berlekatan, hijau, benangsari dua, bulat panjang, kepala sari bulat, ungu, putik pendek, kepala putik ungu kecoklatan, mahkota lonjong, pangkal berlekatan, ujung pecah menjadi empat, bagian dalam putih bernoda ungu, bagian luar berambut, warna merah. Buah; Kotak, bulat panjang, ujung runcing, tengah beralur, masih muda hijau setelah tua warna hitam. Biji; Bulat, kecil, masih muda putih kotor setelah tua coklat. Akar; Tunggang, putihkecoklatan.

Hasil determinasi menurut C. A. Backer (1968):

1a_2a_3a_4a_5a_7a_8b_10a_11a-12b_32b_33b_34a_35b_36b_39b_40b_

36b_39b_40b_42a-43a_44a _____ *Andrographis*

1a _____ *Andrographis paniculata* (Burm.F) Nees.

Tawangmangu, Februari 2005

Kepala Instalasi

Simplisia Herbaria dan Koleksi


Drs. Katno

Nip. 140168949



UNIVERSITAS GADJAH MADA

**LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU
(LPPT – UGM)**

Bidang Layanan Penelitian Pra – Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan

Jl. Agro Karang Malang Kampus UGM

Telp. (0274) 7497705, FAX. (0274) 546868, e-mail: lppt_info@mail.ugm.ac.id

SURAT KETERANGAN

No : 81/LP3HP/XI/2005

Bersama ini kami menerangkan bahwa ;

Nama : Dita Nururianie
NIM : 01613011
Instansi : Fak. MIPA Farmasi UII YK.
Jenjang Studi : S1

Benar – benar telah selesai melakukan Penelitian di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Bidang Layanan Penelitian Pra – Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan (LP3HP) Universitas Gadjah Mada, pada bulan April 2005 sesuai proposal yang di ajukan dengan judul .

“EFEK FRAKSI ETANOL INFUSA HERBA SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG DIBERI DIET LEMAK TINGGI”

dan telah di nyatakan bebas dari segala tanggungan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada.
Demikian surat keterangan ini dibuat semoga dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Atas kerjasama yang baik diucapkan banyak terimakasih.

Yogyakarta, 23 Mei 2005

Kabid LP3HP.



Dra. Mulyati S. M. Si.

NIP : 131453920

Lampiran 3

Foto tanaman sambiloto



Sambiloto [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees]

Lampiran 4

Hasil penetapan panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer dari 3 kali replikasi.

TEST SETUP
GENESYS 10 v2.021 2HSF155001

Survey Scan 12:07 8Feb05
Test Name DITA N
Measurement Mode Absorbance
Start Wavelength 450nm
Stop Wavelength 550nm
Sample Positioner Manual 6
Scan Speed Fast
ID# (0-OFF) 1
Auto Print Off



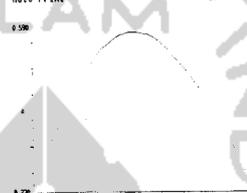
ID# : 1

Wavelength	Abs
450	0.330
453	0.352
456	0.375
459	0.397
462	0.418
465	0.443
468	0.463
471	0.482
474	0.499
477	0.513
480	0.527
483	0.539
486	0.546
489	0.555
492	0.561
495	0.564
498	0.566
501	0.564
504	0.561
507	0.556
510	0.549
513	0.541
516	0.530
519	0.520
522	0.508
525	0.494
528	0.482
531	0.469
534	0.453
537	0.436
540	0.415
543	0.398
546	0.379
549	0.361

Replikasi 1

TEST SETUP
GENESYS 10 v2.021 2HSF155001

Survey Scan 12:23 8Feb05
Test Name DITA N
Measurement Mode Absorbance
Start Wavelength 450nm
Stop Wavelength 550nm
Sample Positioner Manual 6
Scan Speed Fast
ID# (0-OFF) 1
Auto Print Off



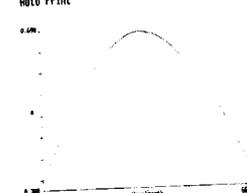
ID# : 1

Wavelength	Abs
450	0.340
453	0.362
456	0.387
459	0.409
462	0.430
465	0.455
468	0.476
471	0.496
474	0.512
477	0.526
480	0.540
483	0.551
486	0.559
489	0.567
492	0.573
495	0.576
498	0.577
501	0.575
504	0.572
507	0.566
510	0.558
513	0.549
516	0.537
519	0.526
522	0.514
525	0.500
528	0.487
531	0.472
534	0.456
537	0.439
540	0.417
543	0.400
546	0.380
549	0.361

Replikasi 2

TEST SETUP
GENESYS 10 v2.021 2HSF155001

Survey Scan 12:32 8Feb05
Test Name DITA N
Measurement Mode Absorbance
Start Wavelength 450nm
Stop Wavelength 550nm
Sample Positioner Manual 6
Scan Speed Fast
ID# (0-OFF) 1
Auto Print Off



ID# : 1

Wavelength	Abs
450	0.395
453	0.421
456	0.450
459	0.476
462	0.500
465	0.529
468	0.553
471	0.576
474	0.595
477	0.611
480	0.628
483	0.642
486	0.651
489	0.661
492	0.667
495	0.671
498	0.673
501	0.671
504	0.667
507	0.661
510	0.653
513	0.643
516	0.630
519	0.617
522	0.603
525	0.586
528	0.572
531	0.555
534	0.537
537	0.517
540	0.492
543	0.471
546	0.449
549	0.427

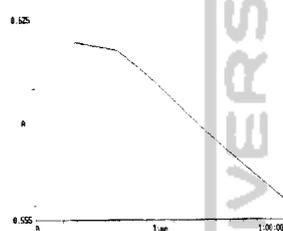
Replikasi 3

Lampiran 5

Hasil penetapan waktu operasional (*Operating time*) dengan spektrofotometer dari 3 kali replikasi.

TEST SETUP
GENESYS 10 v2.021 ZHSF155001

Kinetics 14:39 8Feb05
Test Name DITA
Measurement Mode Absorbance
Wavelength 498nm
Ref. Wavelength Correction Off
Delay Time (min:sec) 0:00
Interval Time (min:sec) 10:00
Total Run Time (hr:min:sec) 1:00:00
Display Result (Rate * Factor) On
Factor 1.000
Units µg/mL
Linearity Value 0.005
Sample Positioner Manual 6
ID# (0-OFF) 1
Low/High Limits -9999/9999
Auto Print Off



ID#	Abs/min	Result	µg/mL
1	0.000	0.000	

HH:MM:SS	Abs	Delta	Lin
0:00:00	0.583	---	---
0:10:00	0.616	0.033	---
0:20:00	0.613	-0.003	N
0:30:00	0.601	-0.012	N
0:40:00	0.587	-0.014	L
0:50:00	0.574	-0.013	L
1:00:00	0.562	-0.012	L

Replikasi 1

TEST SETUP
GENESYS 10 v2.021 ZHSF155001

Kinetics 15:58 8Feb05
Test Name DITA
Measurement Mode Absorbance
Wavelength 498nm
Ref. Wavelength Correction Off
Delay Time (min:sec) 0:00
Interval Time (min:sec) 10:00
Total Run Time (hr:min:sec) 1:00:00
Display Result (Rate * Factor) On
Factor 1.000
Units µg/mL
Linearity Value 0.005
Sample Positioner Manual 6
ID# (0-OFF) 1
Low/High Limits -9999/9999
Auto Print Off



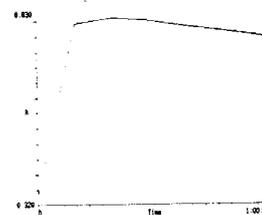
ID#	Abs/min	Result	µg/mL
1	0.006	0.006	

HH:MM:SS	Abs	Delta	Lin
0:00:00	0.452	---	---
0:10:00	0.565	0.413	---
0:20:00	0.576	0.041	N
0:30:00	0.560	-0.016	N
0:40:00	0.540	-0.020	L
0:50:00	0.520	-0.020	L
1:00:00	0.500	-0.020	L

Replikasi 2

TEST SETUP
GENESYS 10 v2.021 ZHSF155001

Kinetics 18:11 8Feb05
Test Name DITA
Measurement Mode Absorbance
Wavelength 498nm
Ref. Wavelength Correction Off
Delay Time (min:sec) 0:00
Interval Time (min:sec) 10:00
Total Run Time (hr:min:sec) 1:00:00
Display Result (Rate * Factor) On
Factor 1.000
Units µg/mL
Linearity Value 0.005
Sample Positioner Manual 6
ID# (0-OFF) 1
Low/High Limits -9999/9999
Auto Print Off



ID#	Abs/min	Result	µg/mL
1	0.007	0.007	

HH:MM:SS	Abs	Delta	Lin
0:00:00	0.348	---	---
0:10:00	0.794	0.446	---
0:20:00	0.808	0.014	N
0:30:00	0.800	-0.008	N
0:40:00	0.785	-0.015	N
0:50:00	0.771	-0.014	L
1:00:00	0.757	-0.014	L

Replikasi 3

Lampiran 6

Data kadar kolesterol total (mg/dL) dalam serum tikus jantan Wistar pada pengukuran hari ke-0, 30 dan 60

No	Kelompok perlakuan	No. hewan	Kadar kolesterol (mg/dL) hari ke-		
			0	30	60
1	Normal	1	75,88	102,89	98,07
		2	80,90	93,60	89,60
		3	95,23	101,63	93,71
		4	98,99	120,45	111,42
		5	68,59	86,83	87,80
		6	64,32	88,58	81,13
		Rata - rata SE	80,65 5,73	99,00 5,06	93,62 4,25
2	Kontrol Negatif	1	72,61	142,53	145,31
		2	98,74	156,84	158,41
		3	109,30	169,13	161,23
		4	81,91	159,35	142,75
		5	105,53	183,69	164,57
		6	87,69	176,66	161,49
		Rata - rata SE	92,63 5,83	164,70 6,07	155,63 3,77
3	Kontrol Positif	1	89,20	145,80	82,41
		2	96,73	154,58	95,25
		3	123,87	170,39	92,43
		4	83,92	156,08	68,04
		5	106,78	165,62	92,17
		6	100,50	163,11	58,79
		Rata - rata SE	100,17 5,78	159,26 3,62	81,51 6,11
4	Dosis I (fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 0,655 g/Kg BB)	1	75,13	137,77	110,40
		2	92,21	163,11	99,36
		3	78,89	150,31	106,29
		4	70,85	132,50	95,76
		5	89,45	139,52	95,25
		6	80,65	148,05	80,87
		Rata - rata SE	81,20 3,36	145,21 4,49	97,99 4,20

Lampiran 6 (lanjutan)

No	Kelompok perlakuan	No. hewan	Kadar kolesterol (mg/dL) hari ke-		
			0	30	60
5	Dosis II (fraksi etanol infusa herba sambiloto Dosis 1,31 g/Kg BB)	1	102,76	189,96	102,95
		2	92,71	146,05	88,32
		3	80,90	137,52	92,68
		4	74,87	136,01	76,51
		5	106,28	199,50	104,49
		6	70,10	137,51	81,64
		Rata - rata	87,94	157,76	91,10
		SE	6,10	11,84	4,59
6	Dosis III (fraksi etanol infusa herba sambiloto Dosis 2,62 g/Kg BB)	1	100,50	192,72	92,94
		2	101,26	183,19	90,63
		3	100,00	178,67	77,02
		4	110,05	163,86	74,20
		5	108,04	189,71	98,07
		6	88,19	159,60	68,81
		Rata - rata	101,34	177,96	83,61
		SE	3,14	5,54	4,82

Lampiran 7

Data prosentase perubahan kadar kolesterol total dalam serum tikus jantan Wistar pada periode awal dan periode akhir serta prosentase penurunannya

No	Kelompok perlakuan	No. hewan	Perubahan kadar kolesterol total (%)		
			Periode awal *	Periode akhir **	Penurunan ***
1	Normal	1	35,59	-4,68	-13,15
		2	15,70	-4,27	-27,20
		3	6,72	-7,79	-115,92
		4	21,68	-7,50	-34,59
		5	26,59	1,12	4,21
		6	37,72	-8,41	-22,29
		Rata - rata	24,00	-5,26	-34,82
		SE	4,84	1,45	17,11
2	Kontrol Negatif	1	96,29	1,95	2,03
		2	58,84	1,00	1,70
		3	54,74	-4,67	-8,53
		4	94,54	-10,42	-11,02
		5	74,06	-10,41	-14,06
		6	101,46	-8,59	-8,47
		Rata - rata	79,99	-5,19	-6,39
		SE	8,28	2,28	2,74
3	Kontrol Positif	1	63,45	-43,48	-68,53
		2	59,80	-38,38	-64,18
		3	37,55	-45,75	-121,84
		4	85,99	-56,41	-65,60
		5	55,10	-44,35	-80,49
		6	62,30	-63,96	-102,66
		Rata - rata	60,70	-48,72	-83,88
		SE	6,37	3,89	9,60
4	Dosis I (fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 0,655 g/Kg BB)	1	83,37	-19,87	-23,83
		2	76,89	-39,08	-50,83
		3	90,53	-29,29	-32,35
		4	87,01	-27,73	-31,87
		5	55,97	-31,73	-56,69
		6	83,57	-45,38	-54,30
		Rata - rata	79,56	-32,18	-41,65
		SE	5,07	3,66	5,69

Lampiran 7 (lanjutan)

No	Kelompok perlakuan	No. hewan	Perubahan kadar kolesterol total (%)		
			Periode awal *	Periode akhir **	Penurunan ***
5	Dosis II (fraksi etanol infusa herba sambiloto Dosis 1,31 g/Kg BB)	1	84,86	-45,80	-53,97
		2	57,53	-39,53	-68,71
		3	69,99	-32,61	-46,59
		4	81,66	-43,75	-53,57
		5	87,71	-47,62	-54,29
		6	96,16	-40,63	-42,25
		Rata - rata SE	79,65 5,64	-41,66 2,20	-53,23 3,68
6	Dosis III (fraksi etanol infusa herba sambiloto Dosis 2,62 g/Kg BB)	1	91,76	-51,77	-56,42
		2	80,91	-50,53	-62,45
		3	78,67	-56,89	-72,31
		4	48,89	-54,72	-111,92
		5	75,59	-48,31	-63,91
		6	80,97	-56,88	-70,25
		Rata - rata SE	76,13 5,88	-53,18 1,46	-72,88 8,15

* Periode awal = $\frac{\text{Kadar kolesterol total hari ke30} - \text{hari ke0}}{\text{Kadar kolesterol total hari ke0}} \times 100\%$

** Periode akhir = $\frac{\text{Kadar kolesterol total hari ke60} - \text{hari ke30}}{\text{Kadar kolesterol total hari ke30}} \times 100\%$

*** Penurunan = $\frac{\text{Periode akhir}}{\text{Periode awal}} \times 100\%$

Lampiran 8

Data berat badan (gram) tikus jantan Wistar pada pengukuran hari ke-0, 30 dan 60.

No	Kelompok perlakuan	No. hewan	Berat badan tikus (gram) hari ke-		
			0	30	60
1	Normal	1	132,00	208,40	288,80
		2	125,00	204,90	258,37
		3	104,00	173,17	227,90
		4	111,00	196,87	267,73
		5	132,00	195,77	260,63
		6	119,00	202,83	288,67
		Rata - rata SE	120,50 4,65	196,99 5,15	265,35 9,26
2	Kontrol Negatif	1	131,00	215,83	306,40
		2	104,00	171,10	223,00
		3	112,00	184,47	246,47
		4	139,00	229,60	304,23
		5	115,00	161,10	252,70
		6	117,00	172,37	221,70
		Rata - rata SE	119,67 5,27	189,08 11,20	259,08 15,46
3	Kontrol Positif	1	114,00	165,33	213,50
		2	108,00	194,30	260,50
		3	120,00	207,87	290,40
		4	108,00	181,63	256,73
		5	125,00	204,30	270,63
		6	143,00	226,13	284,53
		Rata - rata SE	119,67 5,41	196,59 8,69	262,72 11,21
4	Dosis I (fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 0,655 g/Kg BB)	1	120,00	197,43	268,57
		2	122,00	208,70	278,80
		3	103,00	168,47	245,27
		4	117,00	176,13	223,43
		5	119,00	199,30	254,30
		6	132,00	233,23	317,17
		Rata - rata SE	118,83 3,82	197,18 9,49	264,59 13,11

Lampiran 8 (lanjutan)

No	Kelompok perlakuan	No. hewan	Berat badan tikus (gram) hari ke-		
			0	30	60
5	Dosis II (fraksi etanol infusa herba sambiloto Dosis 1,31 g/Kg BB)	1	100,00	181,27	270,27
		2	106,00	178,67	253,50
		3	100,00	169,90	228,27
		4	104,00	171,60	238,57
		5	104,00	166,73	237,40
		6	154,00	208,57	251,03
		Rata - rata	111,33	179,45	246,51
		SE	8,59	6,23	6,09
6	Dosis III (fraksi etanol infusa herba sambiloto Dosis 2,62 g/Kg BB)	1	107,00	168,80	225,00
		2	107,00	177,80	245,17
		3	105,00	162,73	230,27
		4	119,00	177,47	230,33
		5	104,00	192,40	277,10
		6	170,00	227,67	297,10
		Rata - rata	118,67	184,48	250,83
		SE	10,50	9,56	12,07

UNIVERSITAS SAMUDRA MEDITERRANEA
 جامعة البحر المتوسط المتوسطية
 البحر المتوسط المتوسطية



Lampiran 9

Data perubahan berat badan (gram/hari) tikus jantan Wistar perhari pada periode awal dan periode akhir

No	Kelompok perlakuan	No. hewan	Data perubahan berat badan tikus (gram/hari)	
			Periode awal *	Periode akhir **
1	Normal	1	2,55	1,73
		2	2,66	0,85
		3	2,30	0,63
		4	2,86	1,26
		5	2,13	1,25
		6	2,79	1,72
		Rata - rata SE	2,55 0,11	1,24 0,18
2	Kontrol Negatif	1	2,83	1,81
		2	2,24	1,03
		3	2,42	1,18
		4	3,02	0,94
		5	1,54	1,92
		6	1,85	0,89
		Rata - rata SE	2,32 0,23	1,29 0,18
3	Kontrol Positif	1	1,71	1,08
		2	2,88	1,35
		3	2,94	1,71
		4	2,45	1,72
		5	2,64	1,39
		6	2,77	0,98
		Rata - rata SE	2,56 0,18	1,37 0,13
4	Dosis I (fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 0,655 g/Kg BB)	1	2,58	1,22
		2	2,89	1,36
		3	2,18	1,51
		4	1,97	1,08
		5	2,68	1,18
		6	3,37	1,44
		Rata - rata SE	2,61 0,20	1,30 0,06

Lampiran 9 (lanjutan)

No	Kelompok perlakuan	No. hewan	Data perubahan berat badan tikus (gram/hari)	
			Periode awal *	Periode akhir **
5	Dosis II (fraksi etanol infusa herba sambiloto Dosis 1,31 g/Kg BB)	1	2,71	1,74
		2	2,42	1,25
		3	2,33	1,07
		4	2,25	1,42
		5	2,09	1,35
		6	1,82	0,63
		Rata - rata SE	2,27 0,12	1,24 0,15
6	Dosis III (fraksi etanol infusa herba sambiloto Dosis 2,62 g/Kg BB)	1	2,06	1,23
		2	2,36	1,37
		3	1,92	1,57
		4	1,95	1,44
		5	2,95	1,64
		6	1,92	1,17
		Rata - rata SE	2,19 0,17	1,40 0,07

* Periode awal = $\frac{\text{Rata - rata berat badan 30 hari awal} - \text{Berat badan hari ke0}}{30}$

** Periode akhir = $\frac{\text{Rata - rata berat badan 30 hari akhir} - \text{Berat badan hari ke30}}{30}$

Lampiran 10

Data jumlah pakan yang dimakan tikus jantan Wistar (gram/hari) pada periode awal dan periode akhir serta perubahannya

No	Kelompok perlakuan	No. hewan	Jumlah pakan yang dimakan tikus (gram/hari) pada		Perubahan jumlah pakan (gram/hari) ***
			Periode awal *	Periode akhir **	
1	Normal	1	13,67	14,14	0,47
		2	14,29	12,04	-2,25
		3	12,12	10,09	-1,23
		4	13,11	13,25	0,14
		5	11,72	12,04	0,32
		6	13,42	14,03	0,61
		Rata - rata SE	13,05 0,40	12,73 0,53	-0,32 0,47
2	Kontrol Negatif	1	13,17	15,26	2,09
		2	10,90	11,31	0,41
		3	10,86	12,78	1,92
		4	14,55	13,61	-0,94
		5	9,84	13,08	3,24
		6	9,83	9,37	-0,46
		Rata - rata SE	11,52 0,78	12,57 0,82	1,04 0,66
3	Kontrol Positif	1	10,29	11,38	1,09
		2	11,63	12,54	0,91
		3	12,39	13,61	1,22
		4	10,71	12,36	1,65
		5	13,30	13,73	0,43
		6	12,86	12,78	-0,08
		Rata - rata SE	11,86 0,49	12,73 0,35	0,87 0,25
4	Dosis I (fraksi etanol infusa herba sambiloto dosis 0,655 g/Kg BB)	1	11,36	11,99	0,63
		2	12,56	12,45	-0,11
		3	10,48	11,33	0,85
		4	9,29	10,51	1,22
		5	11,16	11,39	0,23
		6	14,15	14,77	0,62
		Rata - rata SE	11,50 0,68	12,07 0,60	0,57 0,19

Lampiran 10 (lanjutan)

No	Kelompok perlakuan	No. hewan	Jumlah pakan yang dimakan tikus (gram/hari) pada		Perubahan jumlah pakan (gram/hari) ***
			Periode awal *	Periode akhir **	
5	Dosis II (fraksi etanol infusa herba sambiloto Dosis 1,31 g/Kg BB)	1	11,13	13,35	2,22
		2	11,22	12,55	1,33
		3	10,26	10,90	0,64
		4	10,75	11,99	1,24
		5	10,69	11,85	1,16
		6	11,20	12,12	0,92
		Rata - rata SE	10,87 0,16	12,13 0,22	1,25 0,22
6	Dosis III (fraksi etanol infusa herba sambiloto Dosis 2,62 g/Kg BB)	1	10,42	10,98	0,56
		2	10,40	11,17	0,77
		3	10,01	11,00	0,99
		4	9,88	11,81	1,93
		5	11,89	12,69	0,80
		6	11,85	13,06	1,21
		Rata - rata SE	10,74 0,37	11,78 0,20	1,04 0,20

* Periode awal (sebelum perlakuan) = Rata – rata pakan pada 29 hari awal

** Periode akhir (sesudah perlakuan) = Rata – rata pakan pada 29 hari akhir

*** Perubahan jumlah pakan = Periode akhir – Periode awal

Lampiran 11

Hasil pengukuran prosentase perubahan kadar kolesterol total dalam serum tikus jantan Wistar pada periode awal dengan menggunakan *ANOVA* (95 %)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan	% Kadar kolesterol hari ke 30-0
N		36	36
Normal Parameters(a,b)	Mean	3,5000	66,6711
	Std. Deviation	1,73205	24,77692
Most Extreme Differences	Absolute	,140	,145
	Positive	,140	,088
	Negative	-,140	-,145
Kolmogorov-Smirnov Z		,841	,870
Asymp. Sig. (2-tailed)		,480	,435

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

% Kadar kolesterol hari ke 30-0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,896	5	30	,497

ANOVA

% Kadar kolesterol hari ke 30-0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14747,284	5	2949,457	13,130	,000
Within Groups	6739,074	30	224,636		
Total	21486,358	35			

Lampiran 11 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: % Kadar kolesterol hari ke 30-0

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	K.Negatif	-55,9883(*)	8,65324	,000	-82,3080	-29,6687
	K.Positif	-36,6983(*)	8,65324	,002	-63,0180	-10,3787
	Dosis 1	-55,5567(*)	8,65324	,000	-81,8763	-29,2370
	Dosis 2	-55,6517(*)	8,65324	,000	-81,9713	-29,3320
	Dosis 3	-52,1317(*)	8,65324	,000	-78,4513	-25,8120
K.Negatif	Normal	55,9883(*)	8,65324	,000	29,6687	82,3080
	K.Positif	19,2900	8,65324	,255	-7,0297	45,6097
	Dosis 1	,4317	8,65324	1,000	-25,8880	26,7513
	Dosis 2	,3367	8,65324	1,000	-25,9830	26,6563
	Dosis 3	3,8567	8,65324	,998	-22,4630	30,1763
K.Positif	Normal	36,6983(*)	8,65324	,002	10,3787	63,0180
	K.Negatif	-19,2900	8,65324	,255	-45,6097	7,0297
	Dosis 1	-18,8583	8,65324	,277	-45,1780	7,4613
	Dosis 2	-18,9533	8,65324	,272	-45,2730	7,3663
	Dosis 3	-15,4333	8,65324	,491	-41,7530	10,8863
Dosis 1	Normal	55,5567(*)	8,65324	,000	29,2370	81,8763
	K.Negatif	-,4317	8,65324	1,000	-26,7513	25,8880
	K.Positif	18,8583	8,65324	,277	-7,4613	45,1780
	Dosis 2	-,0950	8,65324	1,000	-26,4147	26,2247
	Dosis 3	3,4250	8,65324	,999	-22,8947	29,7447
Dosis 2	Normal	55,6517(*)	8,65324	,000	29,3320	81,9713
	K.Negatif	-,3367	8,65324	1,000	-26,6563	25,9830
	K.Positif	18,9533	8,65324	,272	-7,3663	45,2730
	Dosis 1	,0950	8,65324	1,000	-26,2247	26,4147
	Dosis 3	3,5200	8,65324	,998	-22,7997	29,8397
Dosis 3	Normal	52,1317(*)	8,65324	,000	25,8120	78,4513
	K.Negatif	-3,8567	8,65324	,998	-30,1763	22,4630
	K.Positif	15,4333	8,65324	,491	-10,8863	41,7530
	Dosis 1	-3,4250	8,65324	,999	-29,7447	22,8947
	Dosis 2	-3,5200	8,65324	,998	-29,8397	22,7997

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 11 (lanjutan)

Homogeneous Subsets

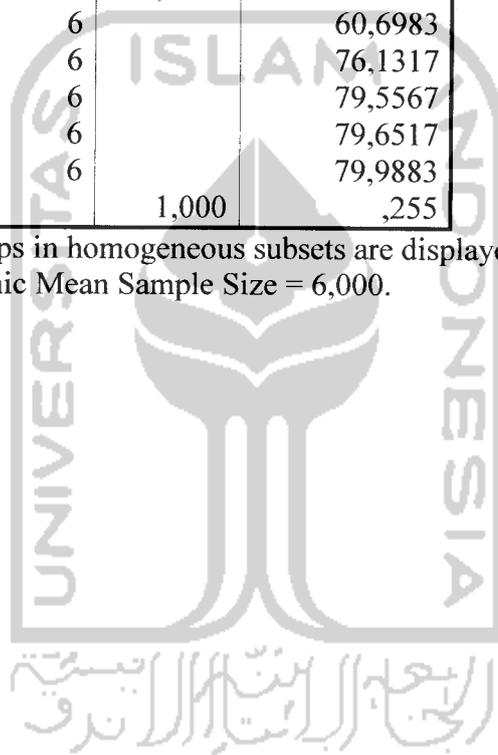
% Kadar kolesterol hari ke 30-0

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Normal	6	24,0000	
K.Positif	6		60,6983
Dosis 3	6		76,1317
Dosis 1	6		79,5567
Dosis 2	6		79,6517
K.Negatif	6		79,9883
Sig.		1,000	,255

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.



Lampiran 11 (lanjutan)

Hasil pengukuran prosentase penurunan kadar kolesterol total dalam serum tikus jantan Wistar dengan menggunakan *ANOVA* (95 %)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kelompok perlakuan	% Penurunan kadar kolesterol
N		36	36
Normal Parameters(a,b)	Mean	3,5000	-48,8083
	Std. Deviation	1,73205	33,11993
Most Extreme Differences	Absolute	,140	,100
	Positive	,140	,085
	Negative	-,140	-,100
Kolmogorov-Smirnov Z		,841	,601
Asymp. Sig. (2-tailed)		,480	,864

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

% Penurunan kadar kolesterol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,919	5	30	,121

ANOVA

% Penurunan kadar kolesterol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23250,952	5	4650,190	9,213	,000
Within Groups	15141,582	30	504,719		
Total	38392,534	35			

Lampiran 11 (lampiran)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: % Penurunan kadar kolesterol

Tukey HSD

(I) Kelompok perlakuan	(J) Kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	K.Negatif	-28,4317	12,97073	,271	-67,8834	11,0200
	K.Positif	49,0600(*)	12,97073	,008	9,6083	88,5117
	Dosis 1	6,8217	12,97073	,995	-32,6300	46,2734
	Dosis 2	18,4067	12,97073	,716	-21,0450	57,8584
	Dosis 3	38,0533	12,97073	,064	-1,3984	77,5050
K.Negatif	Normal	28,4317	12,97073	,271	-11,0200	67,8834
	K.Positif	77,4917(*)	12,97073	,000	38,0400	116,9434
	Dosis 1	35,2533	12,97073	,101	-4,1984	74,7050
	Dosis 2	46,8383(*)	12,97073	,013	7,3866	86,2900
	Dosis 3	66,4850(*)	12,97073	,000	27,0333	105,9367
K.Positif	Normal	-49,0600(*)	12,97073	,008	-88,5117	-9,6083
	K.Negatif	-77,4917(*)	12,97073	,000	-116,9434	-38,0400
	Dosis 1	-42,2383(*)	12,97073	,030	-81,6900	-2,7866
	Dosis 2	-30,6533	12,97073	,201	-70,1050	8,7984
	Dosis 3	-11,0067	12,97073	,956	-50,4584	28,4450
Dosis 1	Normal	-6,8217	12,97073	,995	-46,2734	32,6300
	K.Negatif	-35,2533	12,97073	,101	-74,7050	4,1984
	K.Positif	42,2383(*)	12,97073	,030	2,7866	81,6900
	Dosis 2	11,5850	12,97073	,945	-27,8667	51,0367
	Dosis 3	31,2317	12,97073	,186	-8,2200	70,6834
Dosis 2	Normal	-18,4067	12,97073	,716	-57,8584	21,0450
	K.Negatif	-46,8383(*)	12,97073	,013	-86,2900	-7,3866
	K.Positif	30,6533	12,97073	,201	-8,7984	70,1050
	Dosis 1	-11,5850	12,97073	,945	-51,0367	27,8667
	Dosis 3	19,6467	12,97073	,658	-19,8050	59,0984
Dosis 3	Normal	-38,0533	12,97073	,064	-77,5050	1,3984
	K.Negatif	-66,4850(*)	12,97073	,000	-105,9367	-27,0333
	K.Positif	11,0067	12,97073	,956	-28,4450	50,4584
	Dosis 1	-31,2317	12,97073	,186	-70,6834	8,2200
	Dosis 2	-19,6467	12,97073	,658	-59,0984	19,8050

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 11 (lanjutan)

Homogeneous Subsets

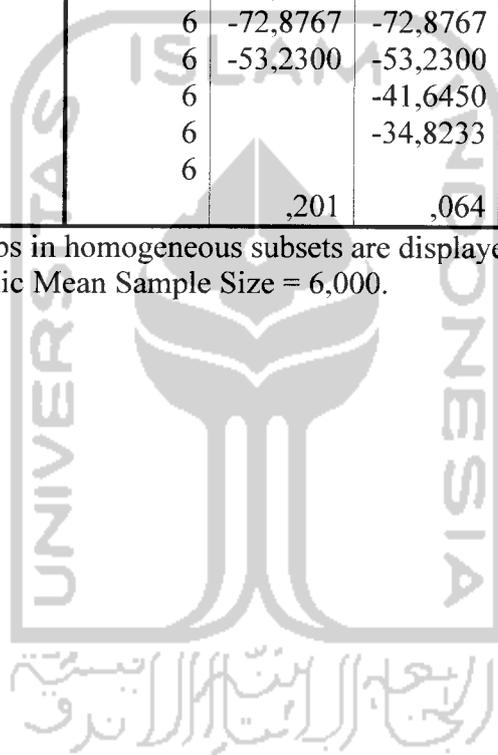
% Penurunan kadar kolesterol

Tukey HSD

Kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
K.Positif	6	-83,8833		
Dosis 3	6	-72,8767	-72,8767	
Dosis 2	6	-53,2300	-53,2300	
Dosis 1	6		-41,6450	-41,6450
Normal	6		-34,8233	-34,8233
K.Negatif	6			-6,3917
Sig.		,201	,064	,101

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.



Lampiran 11 (lanjutan)

Hasil pengukuran perubahan berat badan (gram/hari) tikus pada periode awal dengan menggunakan *ANOVA* (95 %)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan	Perubahan Berat badan pada periode awal
N		36	36
Normal Parameters(a,b)	Mean	3,5000	2,4175
	Std. Deviation	1,73205	,43170
Most Extreme Differences	Absolute	,140	,086
	Positive	,140	,072
	Negative	-,140	-,086
Kolmogorov-Smirnov Z		,841	,515
Asymp. Sig. (2-tailed)		,480	,954

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Perubahan Berat badan pada periode awal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,728	5	30	,608

ANOVA

Perubahan Berat badan pada periode awal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,952	5	,190	1,026	,420
Within Groups	5,570	30	,186		
Total	6,523	35			

Lamoiran 11 (lanjutan)

Hasil pengukuran perubahan berat badan (gram/hari) tikus pada periode akhir dengan menggunakan *ANOVA* (95 %)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan	Perubahan BB pada Periode Akhir
N		36	36
Normal Parameters(a,b)	Mean	3,5000	1,3086
	Std. Deviation	1,73205	,32230
Most Extreme Differences	Absolute	,140	,088
	Positive	,140	,064
	Negative	-,140	-,088
Kolmogorov-Smirnov Z		,841	,528
Asymp. Sig. (2-tailed)		,480	,943

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Perubahan BB pada Periode Akhir

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,737	5	30	,157

ANOVA

Perubahan BB pada Periode Akhir

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,133	5	,027	,228	,947
Within Groups	3,502	30	,117		
Total	3,636	35			

Lampiran 11 (lanjutan)

Hasil pengukuran perubahan jumlah (gram/hari) pakan yang dimakan tikus dengan menggunakan *ANOVA* (95 %)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan	Perubahan Berat Pakan Yang Dimakan
N		36	36
Normal Parameters(a,b)	Mean	3,5000	,7431
	Std. Deviation	1,73205	1,00366
Most Extreme Differences	Absolute	,140	,120
	Positive	,140	,116
	Negative	-,140	-,120
Kolmogorov-Smirnov Z		,841	,720
Asymp. Sig. (2-tailed)		,480	,678

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Perubahan Berat Pakan Yang Dimakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6,122	5	30	,001

ANOVA

Perubahan Berat Pakan Yang Dimakan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9,727	5	1,945	2,286	,071
Within Groups	25,530	30	,851		
Total	35,257	35			

Lampiran 11 (lanjutan)**Robust Tests of Equality of Means**

Perubahan Berat Pakan Yang Dimakan

	Statistic (a)	df1	df2	Sig.
Welch	2,130	5	13,799	,123

a Asymptotically F distributed.

