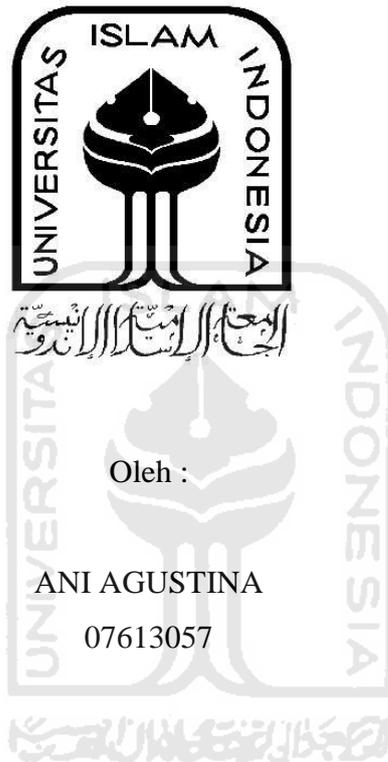


**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL
BUAH BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola* L.) TERSTANDAR
SEBAGAI UPAYA PREVENTIF HIPERLIPIDEMIA**

SKRIPSI



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
SEPTEMBER 2011**

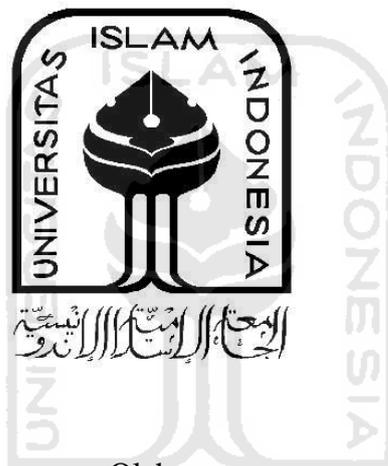
UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL
BUAH BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola* L.) TERSTANDAR
SEBAGAI UPAYA PREVENTIF HIPERLIPIDEMIA

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



Oleh :

ANI AGUSTINA

07613057

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
SEPTEMBER 2011

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL
BUAH BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola* L.) TERSTANDAR
SEBAGAI UPAYA PREVENTIF HIPERLIPIDEMIA



Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

Asih Triastuti, M. Pharm., Apt

Dimas Adhi Pradana, M. Sc., Apt

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL
BUAH BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola* L.) TERSTANDAR
SEBAGAI UPAYA PREVENTIF HIPERLIPIDEMIA

Oleh :

ANI AGUSTINA

07613057

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

Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 20 Oktober 2011

Ketua Penguji : Asih Triastuti, M. Pharm., Apt

Anggota Penguji : 1. Dimas Adhi Pradana, M. Sc., Apt

2. Dr. drh. Pudji Astuti, MP

3. Dr.rer.nat. Nanang Fakhrudin, SF, M. Si., Apt

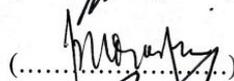
Mengetahui

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Yandi Syukri, M. Si., Apt



PERNYATAAN

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

Yogyakarta, 23 September 2011

Penulis,



Ani Agustina

Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya
bersama kesulitan itu ada kemudahan (*QS. Asy-Syarah : 5-6*)

Barangsiapa menempuh jalan untuk menuntut ilmu,
niscaya Allah memudahkan baginya jalan menuju surga
(*HR. Muslim*)

Nikmati masa gagalmu, ketika masa gagalmu habis, keberuntungan akan datang
terus-menerus.

Apapun kesulitan yang kamu hadapi, tak cukup kuat untuk menggagalkanmu,
kecuali jika kamu menyerah dan berhenti.

Seorang perfeksionis ikhlas menerima bahwa tidak ada yang sempurna, tetapi
tetap setia mengupayakan tercapainya yang terbaik.
(*Mario Teguh*)

Jangan lihat apa yang telah kamu usahakan,
tetapi lihatlah apa yang belum kamu selesaikan.
(*Anonim*)

Orang gagal mencari-cari alasan untuk berhenti, namun orang sukses berhenti
mencari-cari alasan
(*Isa Alamsyah*)

You never know, if you never try
(*Peribahasa*)

Sukses dan pujian kadang memotivasi, tetapi sesaat saja. Justru kegagalan dan
caci makilah mata air motivasi yang sesungguhnya.
Everything, even tragedy is a gift in disguise
(*Ust. Syatori Abdurrauf*)

Karya kecil ini kupersembahkan untuk,
***Abah dan Ummi tersayang H. Anhar Rozi, S. Sos., M. Si
dan Rabiatul Adawiyah, S. Pd. SD, serta adik terkasih Muh. Rizky Anshari
yang banyak memberi inspirasi***

Karena Allah telah memberiku cinta yang ditujukan untuk kalian ...

Almamater Universitas Islam Indonesia

Sebuah tempat beramal ilmiah, berilmu amaliyah

Semoga karya kecil ini akan memiliki kemanfaatan dikemudian hari



KATA PENGANTAR



Alhamdulillah, segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya maka skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.) Terstandar Sebagai Upaya Preventif Hiperlipidemia”** dapat terselesaikan dengan baik dengan memaksimalkan kemampuan yang saya miliki.

Pada kesempatan ini, saya ingin mengucapkan terima kasih banyak kepada orang-orang yang telah banyak terlibat dalam penelitian ini:

1. Kedua orang tua saya H. Anhar Rozi, S. Sos., M. Si dan Rabiatul Adawiyah, S. Pd. SD yang telah memberikan banyak dukungan baik secara moral, spiritual, dan material.
2. Ibu Asih Triastuti, M. Pharm., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama yang bersedia berbagi ilmu yang belum pernah saya ketahui sebelumnya dan proses bimbingan dengan nuansa santai, serius namun mengena.
3. Bapak Dimas Adhi Pradhana, M.Sc., Apt selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang bersedia mendengar keluh kesah saya terkait dengan berbagai macam kendala-kendala yang kami hadapi selama penelitian serta nuansa bimbingan yang juga santai.
4. Bapak Muhammad Hatta Prabowo, M. Si., Apt selaku Ketua Jurusan Program Studi Farmasi yang bersedia meluangkan waktunya untuk segala macam urusan kemahasiswaan
5. Bapak Yandi Syukri, M. Si., Apt selaku Dekan FMIPA UII yang memberikan banyak motivasi kepada seluruh mahasiswa untuk terus dan terus berkarya dan memberikan kesempatan yang sama kepada seluruh mahasiswa untuk menggunakan fasilitas yang dimiliki oleh fakultas dalam rangka peningkatan kualitas pendidikan.
6. Teman-teman satu tim penelitian: Endah Ayu Prawitasari, Nurul Isnaeni, Rr. Liza Anisa Mirawati, dan Eka Yuliana yang telah banyak melewati suka duka

bersama selama penelitian yang akhirnya menjadi proses belajar kita untuk menjadi dewasa.

7. Bapak Sumarno (Laboran Laboratorium Farmakologi dan Farmakoterapi), Bapak Kuswandi (Laboran Laboratorium Kimia Farmasi), Bapak Riyanto (Laboran Laboratorium Biologi Farmasi), Bapak Hartanto (Laboran Laboratorium Teknologi Farmasi), Ibu Diah Setia H. (Laboran Laboratorium Mikrobiologi Farmasi), Bapak Bibit (Laboran Laboratorium Farmasetika Dasar).
8. Saudari-saudariku di Pesantren Mahasiswi Darush Sholihat yang senantiasa selalu mewarnai hari-hariku dengan mengajak untuk selalu dekat kepada Allah dalam proses penyelesaian penelitian ini. Walaupun kita baru dipertemukan di Rumah Cahaya namun banyak cerita yang dapat kutuliskan untuk kalian.
9. Serta orang-orang yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang juga terlibat membantu dalam penelitian ini.

Semoga penelitian ini dapat menjadi manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan selanjutnya.

Yogyakarta, 23 September 2011

Penulis,

Ani Agustina

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL SKRIPSI	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING	ii
.....	
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN MOTTO	v
.....	
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II STUDI PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	
1. Belimbing manis (<i>Averrhoa carambola</i> L.)	4
2. Ekstrak Terstandar	6
3. Hiperlipidemia	8
B. Landasan Teori	12
C. Hipotesis	13
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Bahan dan Alat	14
B. Cara Penelitian	14

C. Analisis Hasil	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Determinasi buah belimbing manis	21
B. Penetapan standar ekstrak etanol buah belimbing manis	21
C. Optimasi metode dan dosis	25
D. Uji farmakologi ekstrak etanol terhadap mencit hiperlipidemia ditinjau dari kadar kolesterol dan trigliserida	25
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	30
B. Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN – LAMPIRAN	34



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Buah belimbing manis (<i>Averrhoa carambola</i> L.)	4
Gambar 2. Struktur (-)- Epicatechin	5
Gambar 3. Struktur Epigallocatechin	5
Gambar 4. Struktur (-)-Epigallocatechin gallat	6
Gambar 5. Biosintesis kolesterol hingga pembentukan plak aterosklerosis	9
Gambar 6. Alur pembuatan ekstrak etanol buah belimbing manis	15
Gambar 7. Alur perlakuan hewan uji	19
Gambar 8. Ekstrak etanol buah belimbing manis	22
Gambar 9. Struktur rutin	23
Gambar 10. Hasil uji kualitatif ekstrak etanol buah belimbing manis dengan menggunakan KLT	24
Gambar 11. Grafik penetapan kadar trigliserida dan kolesterol	27



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi buah belimbing manis per 100 g	5



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Keterangan Kelayakan Etik (<i>Ethical Clearance</i>)	34
Lampiran 2. Surat Keterangan Determinasi Tanaman	35
Lampiran 3. Surat Keterangan Sehat Hewan Uji	36
Lampiran 4. Data Hasil Absorbansi	37
Lampiran 5. Pengolahan data secara SPSS	39
Lampiran 6. Pengukuran kadar air dari ekstrak etanol buah belimbing manis	42
Lampiran 7. Penetapan kadar kolesterol dan trigliserida pada mencit.	43
Lampiran 8. <i>Color chart</i>	44



**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL
BUAH BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola* L.) TERSTANDAR
SEBAGAI UPAYA PREVENTIF HIPERLIPIDEMIA**

INTISARI

Hiperlipidemia dikenal sebagai kontributor utama terhadap kejadian penyakit jantung koroner yang dapat memperparah perkembangan aterosklerosis yang ditandai dengan adanya *reactive oxygen spesies* (ROS). Buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) yang banyak terdapat di Indonesia telah dibuktikan dapat menurunkan kadar kolesterol di dalam darah sebagai antihiperkolesterolemia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas buah belimbing manis terstandar sebagai upaya preventif untuk penyakit hiperlipidemia. Percobaan ini menggunakan 25 ekor mencit yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I (kontrol normal) yang tidak mendapat perlakuan, kelompok II (kontrol negatif) diberikan aquadest, kelompok III (kontrol positif) yang diberikan simvastatin 1,3 mg/kgBB mencit, kelompok IV diberikan ekstrak etanol belimbing manis 700 mg/kgBB mencit, dan kelompok V diberikan ekstrak etanol belimbing manis 1400 mg/kgBB mencit. Pada hari ke-15, mencit dipuasakan, kemudian diinduksi *poloxamer* 400 mg/kgBB. Sehari setelahnya, mencit dikorbankan. Darah diambil dari vena lateralis mencit kemudian di-*sentrifuge*. Serum diambil 0,2 µl dilakukan penetapan kadar kolesterol dan trigliserida. Hasilnya dianalisis dengan SPSS menggunakan uji one way ANOVA. Dari data didapat hasil, belimbing manis dengan dosis 700 mg/kgBB mencit dan 1400 mg/kgBB mencit tidak dapat memberikan efek terapi preventif hiperlipidemia pada mencit yang diinduksi *poloxamer*. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara belimbing manis dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$), begitu pula halnya dengan simvastatin yang juga tidak berbeda signifikan dengan kontrol, serta belimbing manis dosis 700 mg/kgBB dan 1400 mg/kgBB.

Kata kunci: belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.), kolesterol, preventif hiperlipidemia, trigliserida.

**THE ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT
STAR FRUIT (*Averrhoa carambola* L.) STANDARDIZED AS
PREVENTIVE OF HYPERLIPIDEMIA**

ABSTRACT

Hyperlipidemia is known as a major contributor to coronary heart disease that could exacerbate the progression of atherosclerosis characterized by the presence of reactive oxygen species (ROS). Sweet star fruit (*Averrhoa carambola* L.) that can be found in Indonesia a lot has been proven to make cholesterol levels in blood as antihypercholesterolemia lower. The aim of this study is to determine the effectiveness of the sweet star fruit (*Averrhoa carambola* L.) standardized as a preventive therapy for hyperlipidemia. Twenty five mice in this study are divided into 5 groups. Group I (normal control) which did not receive any treatment, group II (negative control) which is given only distilled water, group III (positive control) which is given simvastatin 1,3 mg/KgBB mice, group IV which is given ethanol extract of sweet star fruit 700 mg/kgBB mice, and group V which is given ethanol extract of sweet star fruit 1400 mg/kgBB mice. On the 15th day, all of animals were fasted, and then they induced poloxamer. A day later, mice were sacrificed. It is taken 0,2 mL serum. Determination of cholesterol levels using Fluitest[®]CHOL and Fluitest[®]TG. The results were analyzed with SPSS using one-way ANOVA test. Star fruit with a dose of 700 mg/kgBB mice and 1400 mg/kgBB mice cannot give preventive hyperlipidemia in mice induced poloxamer. There was no significant difference level star fruit with the group of control ($p > 0,05$), such a simvastatin which there is also no difference significant level from the controls, and star fruit of 700 mg/kgBB mice and 1400 mg/kgBB mice dosage.

Keywords: star fruit (*Averrhoa carambola* L.), cholesterol, preventive hyperlipidemia, triglycerides.

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit jantung koroner dan stroke adalah penyebab kematian yang utama di beberapa negara maju dan berkembang. Salah satu faktor risiko terjadinya perkembangan penyakit jantung koroner adalah hiperlipidemia⁽¹⁾. Penyakit jantung koroner juga dipengaruhi oleh beberapa faktor lain seperti hipertensi, diabetes, merokok dan adanya faktor keturunan^(1,2). Faktor risiko tersebut biasanya terjadi pada usia dewasa lebih dari 20 tahun dan usia 65 tahun bahkan lebih⁽³⁾. Hiperlipidemia dan adanya aterosklerosis dikenal sebagai kontributor utama terhadap kejadian penyakit jantung koroner⁽⁴⁾.

Prevalensi hiperlipidemia di negara barat tersebar luas sebab banyaknya makanan yang mengandung lemak tinggi serta gaya hidup yang tidak banyak melibatkan aktivitas fisik⁽⁵⁾. Di Amerika Serikat, diperoleh data dari *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) bahwa sekitar 28% dari 50 juta orang dewasa berusia lebih dari 20 tahun mengidap hiperlipidemia. Penelitian NHANES III menyatakan bahwa sekitar 16,58% (29 juta orang) menerima terapi diet dengan jumlah makanan dan minuman yang ditentukan dari hari ke hari serta sekitar 11,42% (21 juta orang) menerima terapi dengan obat antihiperlipidemia. Analisis dari penelitian ini juga menyatakan bahwa 82% hiperlipidemia berkembang menjadi *cardiovascular heart disease* (CHD), yang menjadi risiko paling tinggi dari infark miokardium fatal ataupun yang tidak fatal⁽⁴⁾.

Hiperlipidemia dapat dinyatakan terjadinya peningkatan kolesterol dan atau trigliserida serum di atas batas normal, disebabkan adanya gangguan sistemik seperti obesitas, asupan alkohol yang berlebihan, diabetes melitus, hipotiroidisme, dan sindrom nefrotik⁽²⁾. Aktivitas hiperlipidemia dapat memperparah terjadinya aterosklerosis diawali dengan adanya akumulasi sel yang mengandung lipid di dinding arteri. Hal tersebut dapat ditunjukkan dengan adanya *reactive oxygen spesies* (ROS) yang berperan penting dalam kejadian aterosklerosis⁽⁶⁾. ROS akan mengalami peningkatan jika terjadi kerusakan pada pertahanan antioksidan, yang

diawali dengan adanya krisis keseimbangan antara oksigen radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan⁽⁶⁾.

Terapi farmakologi hiperlipidemia terbagi dalam beberapa golongan yaitu resin pengikat asam empedu (kolestipol, kolestiramin), penghambat HMG-CoA *reductase* (statin), niasin, dan atau ezetimibe. HMG-CoA *reductase* menjadi pilihan pertama pada terapi hiperlipidemia sebab dianggap sebagai agen paling poten untuk menurunkan *low-density lipoprotein* (LDL)⁽⁷⁾. Terkadang pasien hiperlipidemia tidak melanjutkan terapi secara farmakologi disebabkan khawatir terhadap efek samping, kesulitan dalam mengatur lebih dari satu dosis dalam satu hari, atau adanya regimen obat yang penggunaannya dalam dosis terbagi sehingga meningkatkan ketidakpatuhan pasien terhadap terapi hiperlipidemia yang diberikan^(4,8).

Berdasarkan permasalahan tersebut, maka dicari alternatif terapi hiperlipidemia yang dapat menggantikan obat-obatan kimia sintetis, biasanya disebut dengan obat herbal. Belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) yang banyak terdapat di Indonesia dan biasanya dikonsumsi dalam keadaan segar mengandung protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin A, B, dan C⁽⁹⁾. Bahkan buah belimbing manis telah dipasarkan dalam berbagai macam bentuk sediaan seperti minuman, selai dan jelly. Di Surinam, belimbing manis difermentasi menjadi alkohol⁽¹⁰⁾.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Rosidi *et.al* (2007) sudah dibuktikan bahwa ekstrak etanol buah belimbing manis dapat menurunkan kadar kolesterol total pada tikus yang diberi diet lemak tinggi⁽³²⁾. Penelitian tersebut merupakan penelitian yang bersifat kuratif terhadap kejadian hiperlipidemia. Secara spesifik, Shui dan Leong (2004) melakukan analisis kandungan buah belimbing manis dengan menggunakan kromatografi cair dan spektrometri massa adanya kandungan antioksidan polifenol, yaitu L-asam askorbat, (-) epicatechin, dan asam galat dalam bentuk gallotannin, proanthosianidin⁽¹¹⁾.

Kebiasaan mengonsumsi buah belimbing manis segar dapat mencegah progresivitas hiperlipidemia. Hal tersebut dikarenakan buah belimbing manis mengandung senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan aktif sehingga dapat memberikan pertahanan pada sistem imun tubuh. Berdasarkan uraian yang telah

dikemukakan sebelumnya, maka penelitian ini lebih lanjut bertujuan untuk membuktikan khasiat buah belimbing manis standar sebagai upaya preventif hiperlipidemia.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka diperoleh rumusan masalah : apakah ekstrak etanol buah belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) terstandar dapat digunakan sebagai upaya preventif untuk hiperlipidemia?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas ekstrak etanol buah belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) terstandar sebagai upaya preventif hiperlipidemia.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu informasi tentang efek farmakologi ekstrak buah belimbing manis terstandar yang terkait dengan efek preventif hiperlipidemia, yaitu pencegahan terhadap peningkatan kadar lipid di dalam darah. Informasi tersebut diharapkan dapat menambah khasanah informasi obat alami yang dapat digunakan untuk pengembangan ilmu pengetahuan dibidang kesehatan.

BAB II
STUDI PUSTAKA
A. Tinjauan Pustaka

1. Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.)

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Ordo : *Oxalidales*
Famili : *Oxalidaceae*
Genus : *Averrhoa*
Spesies : *carambola*⁽¹²⁾



Gambar 1. Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.)⁽¹²⁾

a. Uraian tumbuhan

Pohon belimbing manis memiliki tinggi antara 7-10 m dan lebarnya 6-7,6 m. Pohonnya selalu berdaun hijau, dengan batang pohon tunggal atau bercabang. Pertumbuhan pohonnya sangat cepat pada lokasi yang terjaga dari angin yang kuat. Pada daerah yang terlindung dapat memproduksi buah belimbing yang matang. Panjang daun belimbing manis antara 6-12 cm dan lebarnya 1,5-9 cm yang tersusun pada cabang-cabang pohonnya. Bunganya tumbuh pada ranting, cabang, dan kayu pohon yang besar. Bunganya berukuran kecil dengan diameter 1 cm, berwarna merah muda hingga lavender⁽¹³⁾.

Buah belimbing manis mempunyai panjang 5-15 cm dengan 5 bingkai yang berbentuk longitudinal, bagian yang berbentuk bintang saling berseberangan. Memiliki kulit buah yang tipis, berwarna kuning terang hingga kuning yang menyala, halus, dan kulit ari yang seperti lilin^(13,14).

b. Kandungan kimia

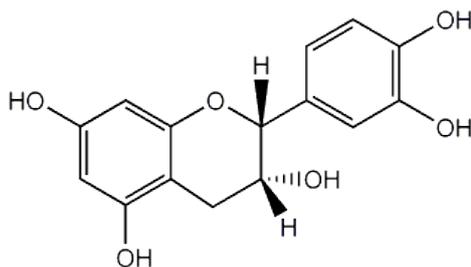
Buah belimbing manis mempunyai kandungan senyawa kimia berupa asam amino (protein), asam oksalat, pektin, klorofil⁽¹⁰⁾, lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin A dan B⁽⁹⁾, serta vitamin C^(9,10). Sebuah penelitian menyatakan bahwa buah belimbing manis mempunyai kandungan senyawa antioksidan polifenol, yaitu L-asam askorbat, (-) epicatechin, dan asam galat dalam bentuk gallotannin, proanthosianidin⁽¹¹⁾.

Hasil penelitian Narain *et.al* (2001) terkait dengan komposisi dari buah belimbing manis disajikan dalam bentuk tabel berikut:

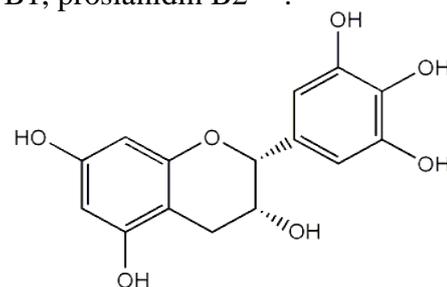
Tabel 1. Komposisi kimia buah belimbing manis per 100 g⁽³⁰⁾

Kandungan	Jumlah (mg)
Protein	450
Lipid	320
Asam sitrat anhidrat	360
Asam askorbat	23,4
Tanin	0,14

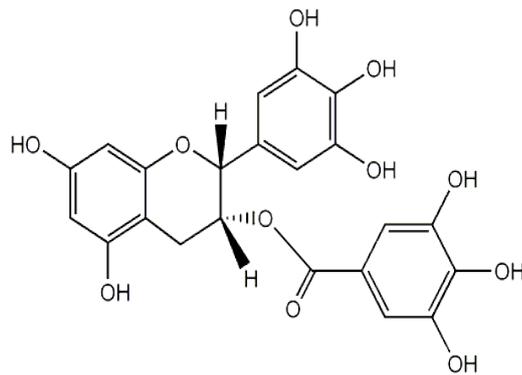
Selain itu, buah belimbing manis juga mengandung (-)-epicatechin, (+)-epicatechin, epigallocatechin 3-O-gallate, (-)-epigallocatechin gallate, (-)-epicatechin 3-O-gallate, prosianidin B1, prosianidin B2⁽¹⁵⁾.



Gambar 2. Struktur (-)-Epicatechin



Gambar 3. Struktur Epigallocatechin



Gambar 4. Struktur (-)- Epigallocatechin gallat

c. Khasiat buah belimbing manis

Buah belimbing manis mempunyai khasiat sebagai antihiperkolesterolemia⁽³²⁾, antioksidan⁽¹¹⁾, anti-inflamasi⁽¹⁶⁾, dan memiliki efek sebagai anti-ulserogenik pada gastrointestinal⁽¹⁷⁾.

2. Ekstrak Terstandar

a. Ekstrak

Ekstraksi adalah suatu proses untuk menarik kandungan kimia yang dapat larut sehingga terjadi pemisahan dengan bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Bahan yang diekstraksi merupakan simplisia yang sudah ditetapkan dalam “Materia Medika Indonesia”, yaitu bahan yang berasal dari alam yang dapat digunakan sebagai obat dan belum mengalami perlakuan apapun kecuali jika dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan⁽¹⁸⁾.

Simplisia yang sudah mengalami ekstraksi harus melalui proses standarisasi yang tidak lain merupakan rangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur yang terkait dengan paradigma mutu kefarmasian. Sehingga produk akhir yang dihasilkan dapat terjamin dan memiliki parameter yang konstan (tetap) dan ditetapkan terlebih dahulu⁽¹⁸⁾.

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dari proses ekstraksi senyawa aktif simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi yang digunakan adalah dengan cara

maserasi. Maserasi merupakan mengekstrak simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai kemudian dilakukan pengadukan pada suhu ruangan, sedangkan remaserasi merupakan proses maserasi berulang dengan penambahan pelarut lalu dilakukan penyaringan maserat⁽¹⁸⁾.

b. Parameter dan metode uji ekstrak

Standarisasi ekstrak melalui beberapa rangkaian parameter yang terdiri dari parameter non spesifik dan parameter spesifik, serta metode uji ekstrak⁽¹⁸⁾.

Penentuan kadar air yang merupakan salah satu parameter spesifik mempunyai prinsip dengan melakukan perhitungan kadar air yang berada di dalam bahan dengan menggunakan cara yang tepat diantara cara titrasi, destilasi atau gravimetri. Penentuan identitas dan organoleptik simplisia yang merupakan salah satu parameter spesifik mempunyai prinsip dengan mendeskripsikan tata nama dan mendeskripsikan senyawa identitas yang menjadi petunjuk spesifik, serta mendeskripsikan bentuk, warna, bau, rasa⁽¹⁸⁾.

Uji kekentalan atau uji viskositas dilakukan dengan memasukkan ekstrak ke dalam bejana viskosimeter elektrik (VT-04). Kecepatan (rpm) dan nomor rotor disesuaikan dengan kekentalan ekstrak. Alat dijalankan dan dilakukan pengukuran viskositas. Hasil yang terbaca pada alat merupakan viskositas dari ekstrak kental.

Kandungan kimia ekstrak diuji menggunakan pola kromatogram yang mempunyai prinsip ekstrak dilarutkan dengan pelarut dan cara tertentu, nantinya dianalisis hingga dapat memberikan pola kromatogram yang jelas⁽¹⁸⁾.

Pola kromatogram yang khas didapatkan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). KLT dipilih sebab dalam pelaksanaannya lebih mudah dan lebih murah dibandingkan dengan kromatografi yang lain. Metode ini terdiri atas fase diam dan fase gerak⁽¹⁹⁾.

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penyerap yang memiliki ukuran kecil dengan partikel berdiameter antara 10-30 μm ,

mekanisme sorpsi yang utama adalah partisi dan adsorpsi. Di pasaran, lempeng KLT tersedia dengan berbagai ukuran dan telah dilakukan penambahan reagen fluoresen untuk memfasilitasi deteksi bercak solut⁽¹⁹⁾.

Fase gerak yang digunakan dalam KLT, secara sederhana merupakan campuran 2 pelarut organik sebab daya elusi campuran kedua pelarut yang dapat diatur pemisahannya sehingga terjadi pemisahan yang optimal. Kemurnian fase gerak yang sangat tinggi dan daya elusi fase gerak dijadikan pertimbangan dalam pemilihan fase gerak. Setelahnya dilakukan penotolan, dengan menotolkan sampel dengan bercak sekecil dan sesempit mungkin agar didapatkan pemisahan pada kromatografi lapis tipis yang optimal⁽¹⁹⁾.

Setelah proses penotolan maka berlanjut kepada proses pengembangan dengan teknik pengembangan menaik (*ascending*) ataupun pengembangan dengan cara menurun (*descending*). Pendeteksian bercak dapat menggunakan reagen umum dan selektif. Reagen umum berlaku untuk hampir semua senyawa organik, sedangkan reagen selektif hanya mendeteksi jenis atau golongan senyawa tertentu⁽¹⁹⁾.

3. Hiperlipidemia

a. Definisi hiperlipidemia

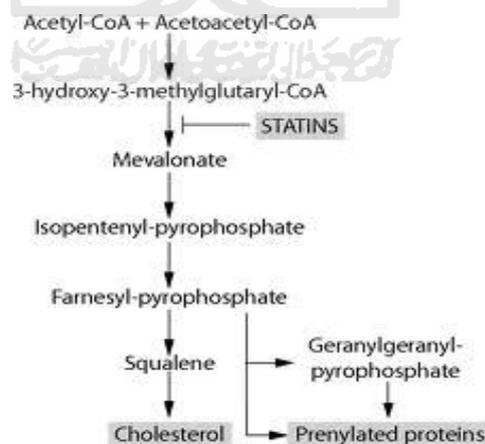
Hiperlipidemia merupakan salah satu faktor risiko yang memberikan kontribusi terhadap kejadian penyakit jantung koroner (*coronary heart diseases*)^(1,4,20). Hiperlipidemia ditandai dengan adanya peningkatan lipid di dalam plasma yaitu adanya total kolesterol dan atau trigliserida yang berasal dari eksogen dan endogen^(2,7,20). Kedua jenis lipid tersebut mempunyai makna klinis terhadap aterogenesis, yang berkaitan erat terhadap kejadian aterosklerosis yang berlanjut terhadap kejadian hiperlipidemia⁽²⁾.

Sistem transpor lipid pada manusia terbagi menjadi dua yaitu sistem eksogenus dan endogenus. Pada sistem eksogenus, kilomikron di dalam trigliserida yang berasal dari makanan dikonversikan menjadi kilomikron sisa kolesterol ester dari aksi *lipoprotein lipase* (LPL). Pada

sistem endogenus, *very low density lipoprotein* (VLDL) di dalam trigliserida disekresikan dari hati dan dikonversikan menjadi *intermediate density lipoprotein* (IDL), dan kemudian menjadi *low density lipoprotein* (LDL) pada kolesteril ester. Beberapa LDL masuk ke dalam subendotelial arteri, dan kemudian diambil oleh makrofag⁽⁷⁾.

Jika terjadi ketidakseimbangan transpor lipid dalam tubuh manusia, yaitu terjadinya peningkatan nilai VLDL dan LDL dan terjadinya penurunan nilai *high-density lipoprotein* (HDL), maka akan terjadi kondisi hiperlipidemia^(5,22,23). Hiperlipidemia dapat memperparah terjadinya aterosklerosis. Hal tersebut dapat ditunjukkan dengan adanya *reactive oxygen spesies* (ROS) yang berperan penting dalam kejadian aterosklerosis⁽⁶⁾.

ROS dapat bereaksi dengan berbagai macam biomolekul seperti lipid, karbohidrat, protein, asam nukleat, makromolekul jaringan dan kemudian akan mengganggu fungsi sel. Pada keadaan fisiologis yang tidak normal, terjadi krisis keseimbangan antara radikal bebas oksigen dan sistem pertahanan antioksidan. Jika terjadi kerusakan pada pertahanan antioksidan maka akan meningkatkan produksi ROS (hiperproduksi) dan kemudian akan meningkatkan aterosklerosis⁽⁶⁾.



Gambar 5. Biosintesis kolesterol hingga pembentukan plak aterosklerosis⁽²⁹⁾

Proses sintesis kolesterol mempunyai 5 tahap utama, yaitu: 1) Asetil-CoA dikonversikan menjadi 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA), 2) HMG-CoA dikonversikan menjadi mevalonat, 3)

mevalonat dikonversikan menjadi isopentenil pirofosfat (IPP), 4) IPP dikonversikan menjadi squalene, 5) squalene dikonversikan menjadi kolesterol⁽²¹⁾.

Penyebab utama hiperlipidemia adalah obesitas, asupan alkohol yang berlebihan, diabetes melitus, hipotiroidisme, dan sindrom nefrotik. Hiperlipidemia sebagai faktor resiko terjadinya penyakit jantung koroner (*coronary heart disesase*) pada usia dewasa lebih dari 20 tahun dan usia 65 tahun bahkan lebih merupakan faktor risiko yang dapat dirubah dan nantinya akan berimplikasi pada perubahan gaya hidup^(2,3,7).

b. Terapi hiperlipidemia

Secara farmakologi, hiperlipidemia diterapi dengan berbagai macam golongan antihiperlipidemia: resin pengikat asam empedu (kolestipol, kolestiramin), penghambat HMG-CoA *reductase* (statin), niasin, dan atau ezetimibe. Tetapi yang menjadi pilihan pertama pada terapi hiperlipidemia adalah golongan penghambat HMG-CoA *reductase* (statin) yang dianggap sebagai agen paling poten untuk menurunkan LDL⁽⁷⁾.

Mekanisme aksi golongan statin adalah secara kompetitif menghambat enzim HMG-CoA (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzym A) *reductase* yang dapat mengkonversi HMG-CoA menjadi mevalonat. Sehingga dapat menurunkan total kolesterol, LDL-C (*low-density lipoprotein*), apolipoprotein B, VLDL (*very-low density lipoprotein*) dan trigliserida dalam plasma. Dan dapat meningkatkan konsentrasi dalam plasma dari HDL (*high-density lipoprotein*)^(8,22).

c. Uji preventif hiperlipidemia

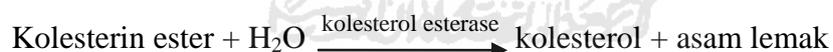
Ada beberapa metode yang digunakan untuk menjadikan hewan uji dalam kondisi hiperlipidemia. Beberapa peneliti memberikan pembebanan pada hewan uji dengan memberikan pakan lemak tinggi dari 5 g lemak sapi dan 10 g kuning telur dalam 100 ml aquadest⁽³²⁾, menggunakan makanan yang mengandung lemak dicampurkan dalam sebanyak 5 ml

susu pada waktu 4 minggu⁽³⁶⁾, menggunakan campuran 100 g kolesterol dan 50 gram asam kolat yang disuspensikan dalam 1 liter minyak kelapa dengan telur⁽²³⁾.

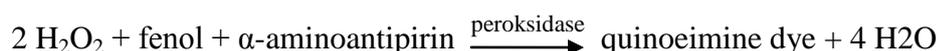
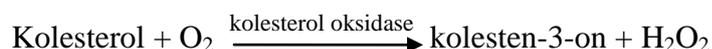
Bahkan hiperlipidemia dapat diinduksi dengan sikloforin yaitu antibiotik yang poten sebagai immunosupresif. sikloforin memiliki reaksi obat yang tidak dikehendaki berupa peningkatan LDL di dalam plasma⁽²⁴⁾. Metode-metode pembebanan hiperlipidemia yang telah dikemukakan sebelumnya memerlukan waktu yang cukup lama mulai dari hewan uji tidak mengalami hiperlipidemia hingga hewan uji menjadi hiperlipidemia. Maka digunakan *poloxamer* (Pluronic-407) yang secara langsung dapat menjadikan hewan uji mengalami kondisi hiperlipidemia. Poloxamer merupakan surfaktan ko-polimer yang dapat menginduksi hiperlipidemia dengan menggunakan dosis yang terkontrol dengan meningkatkan sirkulasi asam lemak bebas di dalam tubuh^(25,26).

Setelah diinduksi dengan poloxamer, maka hewan uji akan menjadi hiperlipidemia. Kemudian plasma dapat diuji dengan menggunakan *cholesterol CHOD-PAP* dan *triglycerides GPO-PAP*.

Cholesterol CHOD-PAP digunakan untuk tes enzimatik secara *in vitro* pada serum dan plasma manusia. Proses enzimatik menggunakan kolesterol esterase dan kolesterol oksidase.



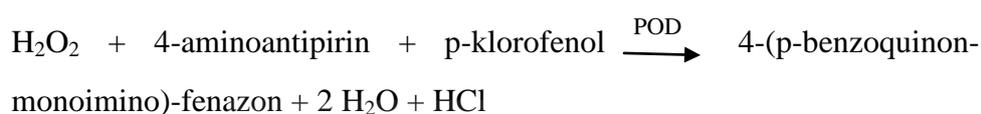
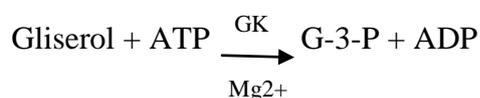
Kolesterin ester akan diubah menjadi kolesterol dan asam lemak oleh kolesterol esterase.



Kolesterol akan dikonversikan menjadi kolesten-3-on dan hidrogen peroksidase oleh enzim kolesterol oksidase. Hidrogen peroksidase akan menjadi berwarna merah dengan reaksi α -aminoantipin dan fenol oleh adanya katalisis dari enzim peroksidase, kemudian dapat dilakukan analisis dengan spektrofotometer⁽²⁷⁾.

Sedangkan *triglycerides GPO-PAP* digunakan untuk tes enzimatik secara *in vitro* pada serum dan plasma manusia. Metode ini melibatkan

lipoprotein lipase dari mikroorganisme agar terjadi hidrolisis trigliserida yang cepat dan lengkap menjadi gliserol dilanjutkan proses oksidasi menjadi dihidroksiaseton fosfat dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida akan bereaksi dengan 4-aminofenazon dan 4-klorofenol dengan bantuan enzim peroksidase menjadi berwarna merah⁽²⁷⁾.



B. Landasan Teori

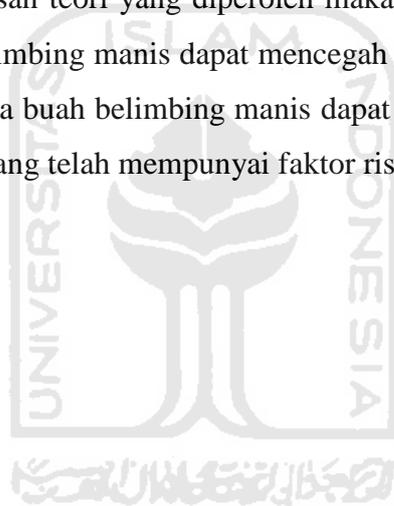
Banyaknya makanan yang mengandung lemak tinggi serta gaya hidup yang tidak banyak melibatkan aktivitas fisik menyebabkan meningkatnya prevalensi hiperlipidemia. Penyakit jantung koroner (*coronary heart disease*) disebabkan karena hiperlipidemia yang menjadi faktor risiko utama. Lini pertama untuk terapi farmakologi hiperlipidemia adalah HMG-CoA *reductase* (golongan statin). Golongan penghambat HMG-CoA *reductase* (statin) inilah yang dianggap sebagai agen paling poten untuk menurunkan LDL. Pada kenyataannya, pasien hiperlipidemia terkadang tidak patuh terhadap terapi ini sebab adanya kekhawatiran terhadap efek samping serta pemakaian dosis yang terbagi setiap harinya, dan pengaturan dosis yang dianggap cukup menyulitkan.

Berdasarkan latar belakang inilah kemudian dicari alternatif pengobatan herbal yang menggunakan bahan alam. Dimana masyarakat Indonesia pada umumnya masih mempercayai bahwa terapi dengan menggunakan herbal lebih aman daripada penggunaan obat-obatan kimia sintetis. Pada penelitian yang telah dilakukan percobaan secara *in vivo* oleh Rosidi *et.al* (2007) menyatakan bahwa ekstrak etanol belimbing manis dapat menurunkan kadar kolesterol total pada tikus yang diberi diet lemak tinggi dan bersifat kuratif. Penelitian terhadap belimbing manis juga dilakukan secara spesifik oleh Shui dan Leong (2004)

melakukan analisis kandungan buah belimbing manis dengan menggunakan kromatografi cair dan spektrometri massa adanya kandungan antioksidan dan polifenol. Dari beberapa penelitian tersebut diharapkan adanya penelitian bahwa belimbing manis selain sebagai terapi antihiperkolesterolemia yang bersifat kuratif maka dapat digunakan sebagai preventif hiperlipidemia. Hal ini didasarkan pada buah belimbing manis yang mengandung antioksidan aktif yang dapat mencegah terjadi perkembangan hiperlipidemia yang dapat meningkatkan kejadian aterosklerosis.

C. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang diperoleh maka dengan adanya senyawa antioksidan aktif buah belimbing manis dapat mencegah terjadinya hiperlipidemia dan aterosklerosis sehingga buah belimbing manis dapat digunakan sebagai terapi preventif hiperlipidemia yang telah mempunyai faktor risiko.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan galur Balb/C umur 1,5 bulan dengan berat badan 20-30 gram yang didapatkan dari Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi UGM, buah belimbing manis yang diperoleh dari kota Jombang, Jawa Timur, *Poloxamer* (Pluronic-407), kit analisis kolesterol (Fluitest[®]CHOL) dan trigliserida (Fluitest[®]TG), Etanol pro analisis (Bratachemia), Simvastatin 10 mg/70 kgBB (BB standar manusia), Silika GF₂₅₄, Diklorometan (Bratachemia), Metanol (Bratachemia), ependorf, *bluetip*, *yellowtip*, kertas timbang.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Ahaus), timbangan hewan, seperangkat alat bedah, spektrofotometer, *rotary evaporator*, penangas air, alat-alat gelas (tabung reaksi, erlenmeyer, gelas beker, labu takar), spuit oral, rak tabung reaksi, vortex, *chamber*.

B. Cara Penelitian

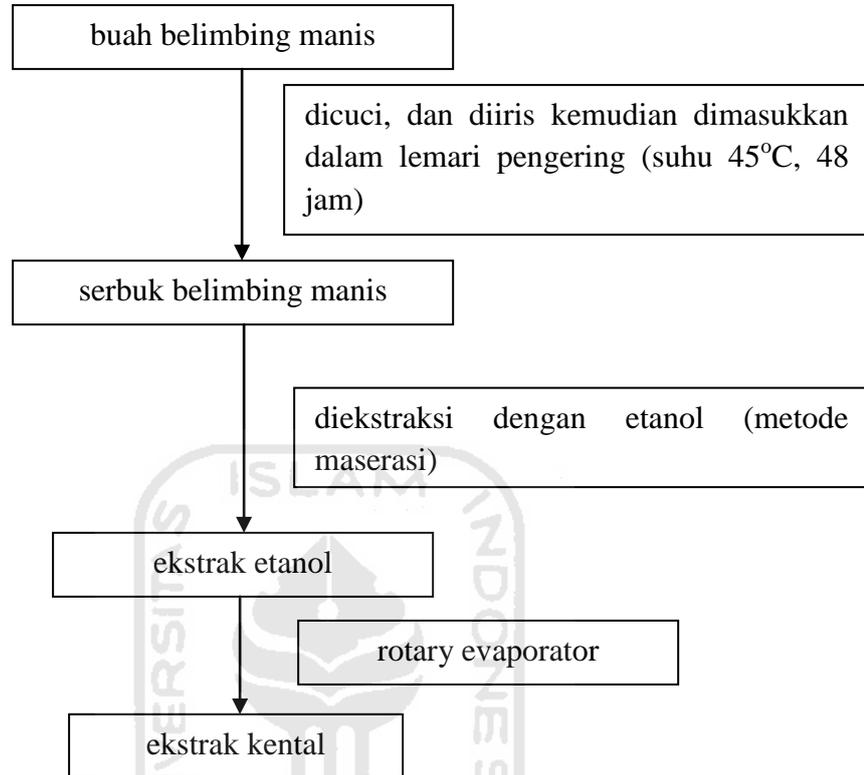
1. Determinasi buah belimbing manis

Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah buah belimbing manis yang diperoleh dari Jombang, Jawa Timur. Dilakukan determinasi buah belimbing manis di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

2. Pembuatan ekstrak etanol buah belimbing manis

Buah belimbing manis dicuci dan diiris, dimasukkan dalam lemari pengering dengan suhu 45°C, selama 48 jam. Setelah kering kemudian diblender sehingga menjadi serbuk belimbing manis. Serbuk belimbing manis diekstraksi dengan metode remaserasi menggunakan etanol, diaduk 30 menit, diamkan selama 24 jam, dan diulangi 3 kali. Ekstrak etanol buah belimbing manis yang

diperoleh, kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental buah belimbing manis⁽³²⁾. Adapun alur pembuatan ekstrak etanol buah belimbing manis sebagai berikut:



Gambar 6. Alur pembuatan ekstrak etanol buah belimbing manis

3. Standarisasi ekstrak etanol buah belimbing manis

a. Penentuan kadar air

Penentuan kadar air dengan menggunakan alat *Moisture Analyzer* HB43-S. Alat ini digunakan untuk menentukan kelembaban dan kandungan kering sampel dalam bentuk persentase. Hasil yang didapatkan cepat dan akurat. Suhu yang digunakan berada pada kisaran 50-200°C. Minimal sampel yang ditimbang adalah 0,5 gram dan maksimal 54 gram. Keterbacaan kadar air adalah 0,01%⁽³⁵⁾.

b. Penentuan kekentalan ekstrak

Penentuan parameter kekentalan ekstrak dengan menggunakan alat *viscometer Brookfield*.

c. Penentuan organoleptik ekstrak

Dengan menggunakan pancaindera maka dideskripsikan terkait dengan bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.)⁽¹⁸⁾.

d. Penentuan pola kromatogram

Digunakan fase diam adalah Silika Gel 60 GF₂₅₄, dan eluen yang digunakan adalah diklorometan dan metanol dengan perbandingan 4:3. Spot dapat dilihat dengan menguapkan plat dengan ammonia.

4. Penentuan dosis simvastatin

Digunakan simvastatin dengan dosis 10 mg/70 kgBB (BB standar manusia) perhari. Dosis ini merupakan dosis preventif untuk hiperlipidemia. Simvastatin merupakan derivat metal dari Lovastatin yang bekerja sangat kompetitif menghambat enzim HMG-CoA *reductase*, yang mampu mengkatalisis lajunya tahap biosintesis kolesterol. Perhitungan stok untuk simvastatin adalah:

Dosis simvastatin yang belum dikonversikan = 10 mg/70 kgBB.

Konversi menjadi 10 mg/70 kgBB x 0,0026 = 0,026 mg/20 g = 1,3 mg/kgBB (BB standar mencit).

Setiap 20 g BB mencit diberikan volume pemejanan 0,2 ml. Dibuat larutan stok untuk 5 ekor mencit selama 3 hari. Maka 0,2 ml x 5 (mencit) x 3 (hari) = 3 ml.

Pembuatan volume stok kemudian dilebihkan sampai 10 ml, sehingga 0,026 mg/0,2 ml = 1,3 mg/10 ml.

5. Perlakuan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit dengan berat badan 20-30 gram. Ada 25 ekor mencit yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Tiap kelompok perlakuan diberikan pakan dan minum yang sama setiap harinya.

Kelompok I : normal, hanya diberikan aquadest tanpa diinduksi *poloxamer*.

Kelompok II : kontrol negatif, diberikan aquadest dan diinduksi *poloxamer*.

Kelompok III : kontrol positif, diberikan simvastatin 10 mg/70 kgBB (standar manusia) dan diinduksi *poloxamer*

Kelompok IV : perlakuan dengan ekstrak belimbing manis 700 mg/kgBB (BB standar mencit) dan diinduksi *poloxamer*.

Kelompok V : perlakuan dengan ekstrak belimbing manis 1400 mg/kgBB (BB standar mencit) diinduksi *poloxamer*.

Semua kelompok diberikan perlakuan secara peroral selama 2 minggu. Dan pada hari ke-14 mencit dipuasakan, kemudian diinduksi dengan *poloxamer* (Pluronic-407) dengan dosis 400 mg/kgBB. Sehari setelahnya mencit dikorbakan dan diambil darahnya dari vena lateral perut mencit. Darah yang diperoleh kemudian di-*sentrifuge* dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, dan diambil bagian serumnya untuk dianalisis dengan menggunakan kit kolesterol dan trigliserida.

Berdasarkan hasil penelitian Rosidi, *et.al* (2007), perhitungan stok untuk ekstrak buah belimbing manis berasal dari dosis pemejanan pada tikus⁽²⁵⁾ adalah:

1. Dosis ekstrak buah belimbing manis yang belum dikonversikan = 500 mg/1000g BB (BB standar tikus).

Konversi menjadi $500 \text{ mg}/1000 \text{ g} = 100 \text{ mg}/200 \text{ g} \times 0,14 = 0,014 \text{ g}/20 \text{ g} = 700 \text{ mg}/\text{kgBB}$ (BB standar mencit).

Setiap 20 g BB mencit diberikan volume pemejanan 0,2 ml. Dibuat larutan stok untuk 5 ekor mencit selama 3 hari. Larutan stok yang dibuat adalah $0,2 \text{ ml} \times 5 \text{ (mencit)} \times 3 \text{ (hari)} = 3 \text{ ml}$.

Pembuatan volume stok kemudian dilebihkan sampai 10 ml, sehingga $14 \text{ mg}/0,2 \text{ ml} = 700 \text{ mg}/10 \text{ ml}$.

2. Dosis ekstrak buah belimbing manis yang belum dikonversikan = 1000 mg/1000g BB (BB standar tikus).

Konversi menjadi $1000 \text{ mg}/1000 \text{ g} = 200 \text{ mg}/200 \text{ g} \times 0,14 = 0,028 \text{ g}/20 \text{ g} = 1400 \text{ mg}/\text{kgBB}$ (BB standar mencit).

Setiap 20 g BB mencit diberikan volume pemejanan 0,2 ml. Dibuat larutan stok untuk 5 ekor mencit selama 3 hari. Larutan stok yang dibuat adalah $0,2 \text{ ml} \times 5 \text{ (mencit)} \times 3 \text{ (hari)} = 3 \text{ ml}$.

Pembuatan volume stok kemudian dilebihkan sampai 10 ml, sehingga $14 \text{ mg}/0,2 \text{ ml} = 1400 \text{ mg}/10 \text{ ml}$.

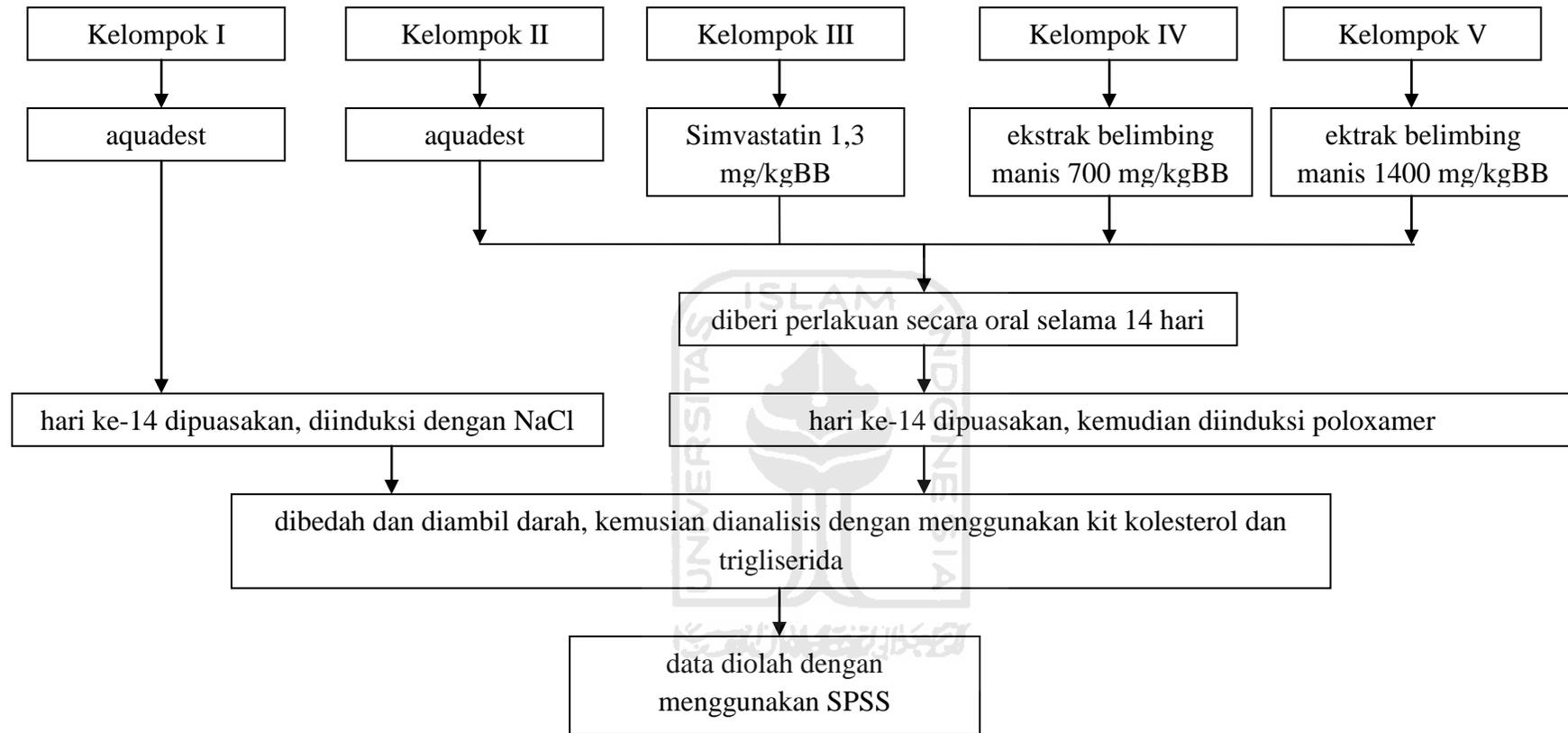
Perhitungan dosis *poloxamer* yang akan diinduksi pada mencit adalah 400 mg/kgBB (BB standar mencit) adalah sebagai berikut :

Dosis *poloxamer* = 400 mg/1000 g BB mencit = 8 mg/20g BB mencit.

Setiap 20 g BB mencit diberikan volume pemejanan 0,2 ml. Dibuat larutan stok untuk 25 ekor mencit. Maka 0,2 ml x 25 (mencit) = 5 ml.

Pembuatan volume stok kemudian dilebihkan sampai 10 ml, sehingga 8 mg/0,2 ml = 400 mg/10 ml.





Gambar 7. Alur perlakuan perlakuan hewan uji

3. Penetapan kadar kolesterol total dan trigliserida

a. Pengukuran total kolesterol

Fluitest[®]CHOL (*cholesterol CHOD-PAP*) yang mengandung pipes buffer PH 6.9 90 mmol/l, phenol 26 mmol/l, kolesterol oxidase 200 U/l, kolesterol esterase 300 U/l, peroxidase 1250 U/l, 4-aminopyrine 0.4 mmol/l. Dicampurkan dengan serum, diukur inkubasinya setelah suhu 37°C selama 5 menit atau 20°C hingga 25°C selama 10 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 546 nm (500-550 nm)⁽²⁸⁾.

b. Pengukuran trigliserida

Fluitest[®]TG (*triglyceride GPO-PAP*) yang mengandung pipes buffer pH 7.8 50 mmol/l, p-chlorophenole 2 mmol/l, lipoprotein lipase 150000 U/l, glycerolkinase 800 U/l, glycerol-3-P-oxidase 4000 U/l, peroxidase 440 U/l, 4-aminoantipyrine 0.7 mmol/l, ATP 0.3 mmol/l, Mg²⁺ 40 mmol/l, Na-cholat 0.20 mmol/l, potassium-hexacyanoferrat (II) 1 µmol/l. Dicampurkan dengan serum, diukur inkubasinya setelah suhu 37°C selama 5 menit atau 20°C hingga 25°C selama 10 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 546 nm (500-550 nm)⁽²⁸⁾.

C. Analisis Hasil

Metode analisis data menggunakan SPSS[®] 16 yang mana dilakukan uji normalitas terlebih dahulu menggunakan Komolgorov-smirnov, jika data yang didapatkan terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA sedangkan untuk data yang tidak terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*. Metode uji *one way* ANOVA digunakan untuk mengetahui pengaruh masing-masing perlakuan terhadap kadar kolesterol total dan kadar trigliserida. Kadar kolesterol total serum dan kadar trigliserida dikatakan bermakna apabila nilai signifikansi yang dihasilkan kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) dan tidak memiliki perbedaan bermakna jika nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol buah belimbing manis yang digunakan sebagai upaya preventif hiperlipidemia. Sebuah hipotesa diambil berdasarkan adanya penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa belimbing manis dapat digunakan sebagai terapi antihiperkolesterolemia⁽³²⁾ serta adanya kandungan antioksidan dari buah belimbing manis yang dapat mencegah terjadinya plak aterosklerosis⁽¹⁵⁾. Hiperlipidemia merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis kemudian memicu penyakit kardiovaskular.

Di Indonesia, banyak kematian terjadi karena penyakit kardiovaskular ini. Sehingga perlu adanya terapi preventif untuk mencegah terjadinya hiperlipidemia untuk orang-orang yang telah memiliki faktor risiko *cardiovascular disease*.

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan dari Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dengan Nomor KE/FK/400/EC tanggal 11 Juli 2011.

A. Determinasi buah belimbing manis

Tanaman yang digunakan untuk penelitian adalah buah belimbing manis yang diperoleh dari kota Jombang, Jawa Timur telah dideterminasi di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII. Dinyatakan bahwa buah belimbing manis tersebut merupakan buah dengan (lampiran 2) :

Keluarga : Oxalidaceae

Genus : *Averrhoa*

Spesies : *carambola*

B. Penetapan standar ekstrak etanol buah belimbing manis

(Averrhoa carambola L.)

Sebelum proses standarisasi dilakukan, simplisia buah belimbing manis yang sudah dikeringkan dibuat menjadi ekstrak etanol buah belimbing manis terlebih dahulu. Dari 8250 g belimbing manis diperoleh 650 g berat kering dan ekstrak etanol yang

diperoleh 302,89 g. Sehingga, di dalam penelitian ini diperoleh rendemen ekstrak etanol buah belimbing manis sebesar 45,60%.

Metode standarisasi yang dilakukan adalah parameter spesifik berupa penentuan organoleptik ekstrak dimaksudkan untuk mendeskripsikan ekstrak etanol buah belimbing manis yang telah diperoleh. Ekstrak dapat dideskripsikan sebagai ekstrak kental (berdasarkan hasil uji kekentalan ekstrak), memiliki warna coklat pekat atau *dark skin*⁽³¹⁾ mempunyai notasi Munsell 3 YR 3,7/3,2 (lampiran 6), tidak berbau, serta mempunyai rasa pahit.



Gambar 8. Ekstrak etanol buah belimbing manis

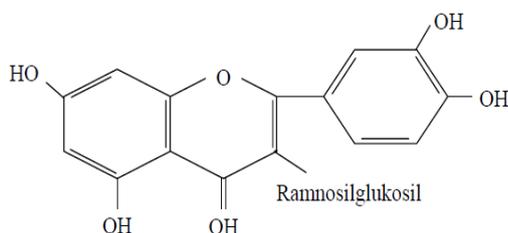
Dilakukan penentuan kadar air yang mempunyai korelasi dengan teknik pengeringan yang dilakukan terhadap buah belimbing manis. Penentuan kadar air ini merupakan salah satu parameter nonspesifik yang dilakukan. Pengeringan buah belimbing manis untuk menjadi simplisia dimaksudkan untuk meminimalisir kandungan air sedemikian rupa sehingga enzim-enzim yang memicu pertumbuhan jamur tidak bisa bekerja dan jasad-jasad renik tidak dapat berkembang biak. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini, ekstrak etanol buah belimbing manis terstandarkan dengan kadar air sebanyak 77,04%.

Pengukuran viskositas ekstrak etanol belimbing manis dilakukan menggunakan alat *Viscometer Brookfield*. Ukuran spindle yang digunakan pada *Viscometer Brookfield* ini adalah 63 dan kecepatan putaran spindle yang digunakan adalah 50 rpm dengan

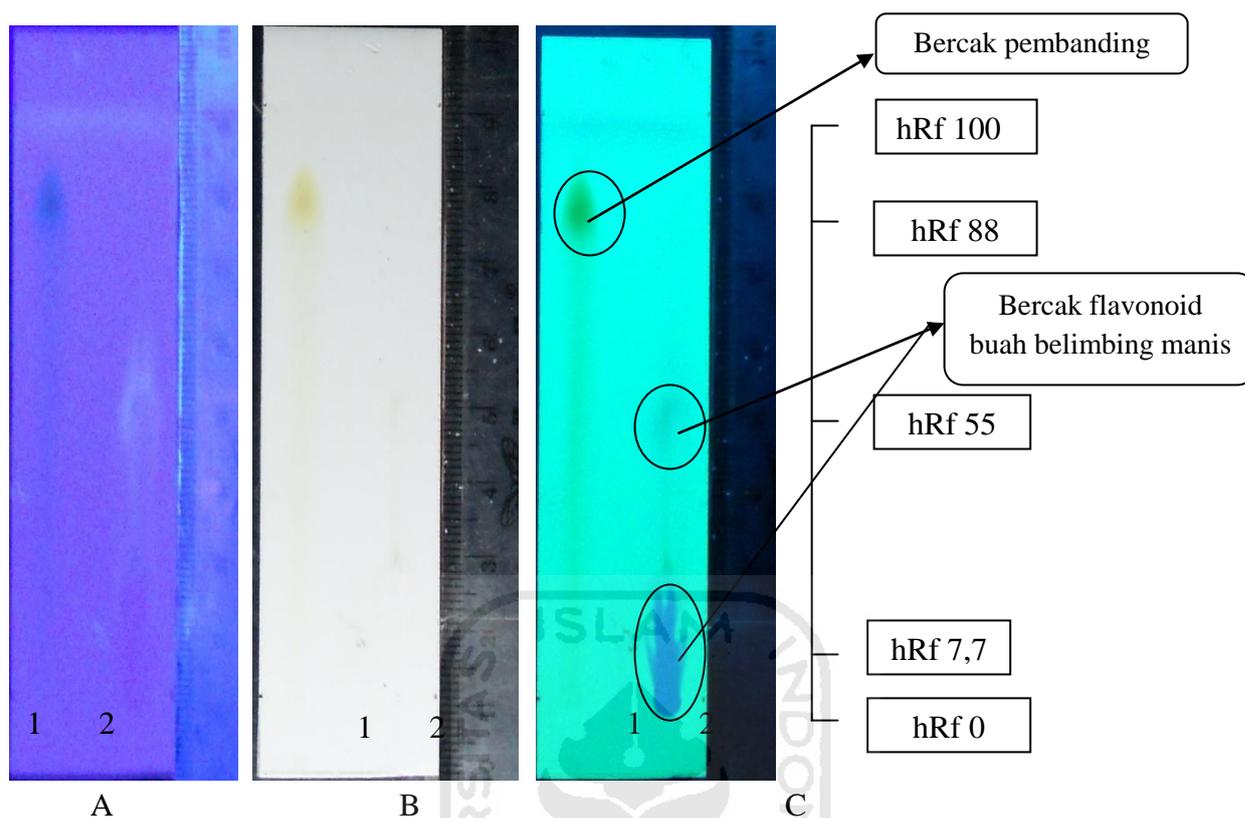
berat ekstrak untuk pengujian sebanyak 100 g. Hasil yang diperoleh dari pengukuran tersebut adalah 1752 *centipoise* dengan persentase 73%. Ekstrak etanol belimbing manis dapat dikatakan memiliki kekentalan yang tinggi sebab masuk dalam range kekentalan antara 800 – 2000 *centipoise*⁽²⁸⁾. Hal ini mempunyai keterkaitan erat dengan adanya sifat alir, apabila viskositas makin tinggi, maka makin besar tahanannya. Hasil penelitian ini menunjukkan viskositas yang tinggi sehingga tahanannya juga tinggi. Sifat alir dan tahanan ekstrak etanol buah belimbing manis yang tinggi dapat mempengaruhi laju absorpsinya pada saluran cerna sehingga dapat meningkatkan proses distribusi ekstrak untuk dapat berikatan dengan reseptor target⁽²⁹⁾.

Penentuan pola kromatogram menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Terdiri atas dua fase yaitu fase gerak dan fase diam. Fase gerak yang digunakan adalah diklorometan : metanol dengan perbandingan 4 : 3. Fase diam yang digunakan adalah silica gel GF₂₅₄. Hasil yang didapat kemudian dideteksi menggunakan NH₃ (ammonia) pada sinar UV254 nm, 366 nm dan tampak.

Sebelum dilakukan penentuan pola kromatogram dengan cara penotolan sederhana, ekstrak etanol buah belimbing manis dihidrolisis untuk memisahkan senyawa glikon dan aglikon. Senyawa flavonoid diidentifikasi dengan menggunakan sinar UV sebab flavonoid mengandung struktur aromatik terkonjugasi yang kemudian dapat menunjukkan pita dengan serapan kuat pada spektrum UV dan tampak. Perbandingan yang digunakan adalah rutin, yang merupakan salah satu glikosida flavonoid yang bersifat polar.



Gambar 9. Struktur rutin



Gambar 10. Hasil uji kualitatif ekstrak etanol buah belimbing manis dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. A) diamati pada sinar UV 366 nm, B) diamati pada sinar visibel, C) diamati pada sinar UV 254

Keterangan :

Fase diam : silica gel F254

Fase gerak : diklorometan : metanol (4 : 3)

Pereaksi : NH_3 (ammonia)

1 : pembanding (rutin)

2 : sampel ekstrak etanol buah belimbing manis.

Gambar 10, menunjukkan hasil KLT yang terlihat pada sinar visibel, tidak terdapat bercak, sedangkan pada sinar UV 254 didapatkan bercak berwarna biru sehingga diduga senyawa ini merupakan senyawa flavonoid⁽³⁷⁾. Nilai Rf yang terdeteksi yaitu 0,55 dan 0,077 memiliki hRf 55 dan 7,7. Terjadi perbedaan hRf pada spot yang dihasilkan dikarenakan rutin mempunyai struktur yang bersifat polar dan memiliki gugus gula. Pemisahan menggunakan fase diam silika gel yang bersifat polar sedangkan fase gerak yang bersifat sedikit polar sehingga daya elusi rutin memiliki harga Rf lebih besar dibandingkan dengan sampel.

Spot yang dihasilkan oleh sampel memiliki harga Rf yang lebih kecil daripada pembanding rutin. Spot sampel dapat ditingkatkan dengan melakukan kembali optimasi pelarut yang digunakan agar didapatkan spot yang mendekati dengan pembanding.

C. Optimasi metode dan dosis

Metode yang digunakan untuk optimasi adalah pemberian oral ekstrak buah belimbing manis terlebih dahulu sebelum dipejankan *poloxamer* sebab metode ini paling cocok untuk menggambarkan preventif hiperlipidemia. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya dosis yang dipejankan kepada mencit pada proses optimasi yaitu dosis simvastatin 10 mg/70 kgBB (BB standar manusia); dosis ekstrak belimbing manis I (700 mg/kgBB); dosis ekstrak belimbing manis II (1400 mg/kgBB). Dengan menggunakan dosis tersebut kurun waktu 2 minggu selama optimasi penelitian, tidak terdapat mencit yang mengalami kematian. Induksi *poloxamer* dilakukan setelah perlakuan 2 minggu. Setelah 2 minggu dilakukan pemberian ekstrak etanol buah belimbing manis secara oral, maka mencit dipejankan *poloxamer* dengan dosis 400 mg/kgBB. Pemejanaan *poloxamer* dengan dosis tersebut tidak menyebabkan kematian pada hari berikutnya pada mencit.

D. Uji Farmakologi Ekstrak Etanol Terhadap Mencit Hiperlipidemia Ditinjau Dari Kadar Kolesterol dan Kadar Trigliserida.

Hiperlipidemia ditandai dengan adanya peningkatan lipid di dalam plasma yaitu adanya total kolesterol dan atau trigliserida yang berasal dari eksogen dan endogen^(2,7,20). Hiperlipidemia merupakan faktor risiko terjadinya *cardiovaskuler disease* dengan angka morbiditas dan mortalitasnya tinggi. Secara farmakologi, hiperlipidemia dapat diterapi dengan menggunakan obat-obatan antihiperlipidemia, yang mana salah satu pilihan pertama untuk terapinya adalah golongan statin atau HMG-CoA *reductase*.

Pada saat sekarang, penggunaan obat-obatan antihiperlipidemia sintetik cenderung dapat menimbulkan ketidakpatuhan pasien untuk mengkonsumsi. Hal ini disebabkan oleh adanya penggunaan antihiperlipidemia dalam dosis terbagi setiap harinya yang dianggap dapat menyulitkan bagi pasien serta penggunaannya yang dikonsumsi setiap hari.

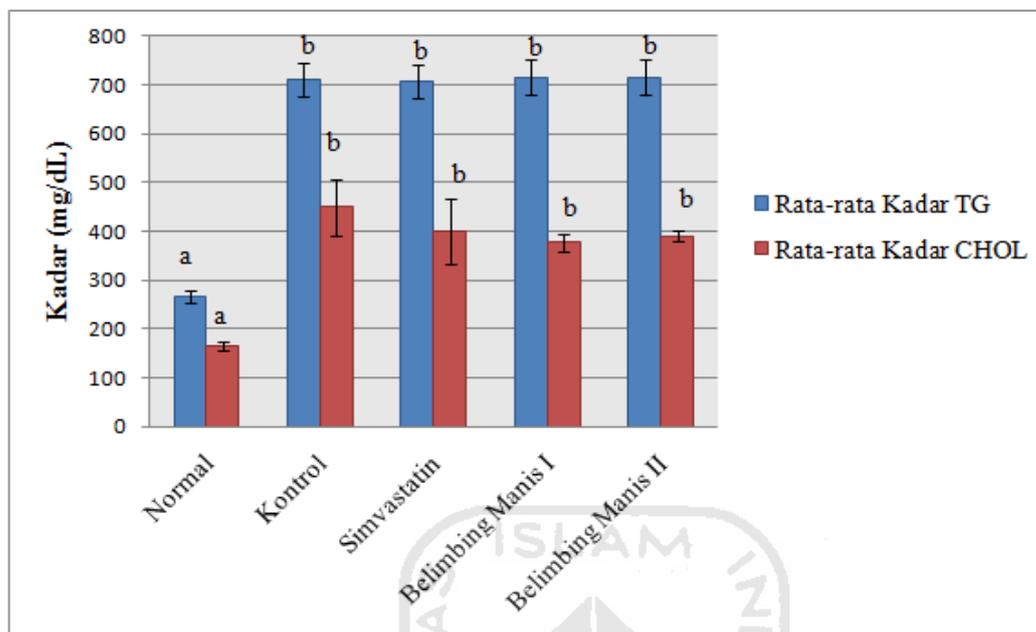
Untuk mengantisipasi adanya ketidakpatuhan pasien, dicari sebuah alternatif lain penggunaan obat-obatan herbal. Masyarakat Indonesia untuk saat sekarang lebih percaya pada penggunaan obat herbal karena dianggap relatif lebih aman daripada obat-obatan kimia sintetik. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat herbal antihiperlipidemia adalah buah belimbing manis. Pada penelitian sebelumnya, belimbing manis digunakan sebagai terapi antihiperkolesterolemia yang ternyata dapat dibuktikan dapat menurunkan kadar kolesterol didalam darah. Pada penelitian ini, belimbing manis digunakan sebelum pasien mengalami hiperlipidemia dengan menyesuaikan kebiasaan masyarakat Indonesia yang lebih suka mengkonsumsi buah belimbing manis dalam keadaan segar seperti dalam bentuk jus buah belimbing manis.

Penetapan kadar kolesterol ini menggunakan metode *Enzymatic Photometric Test Cholesterol CHOD-PAP*, sedangkan untuk penetapan kadar trigliserida menggunakan metode *Enzymatic Photometric Test Triglycerides GPO-PAP*. Metode yang digunakan merupakan metode reaksi warna secara *in vitro* dengan melibatkan kolesterol esterase untuk mengubah kolesterol ester menjadi kolesterol dan asam lemak. Enzim kolesterol oksidase kolesterol akan dikonversikan menjadi kolestin-3-on dan hidrogen peroksidase. Hidrogen peroksidase inilah yang memberikan warna merah karena bereaksi dengan α -aminoantipin dan fenol oleh adanya katalisis dari enzim peroksidase⁽²⁷⁾.

Penetapan kadar trigliserida, melibatkan adanya lipoprotein lipase untuk menghidrolisis trigliserida menjadi gliserol yang kemudian dilanjutkan dengan adanya proses oksidasi menjadi dihidrokdiaseton fosfat dan dihidrogen peroksida. Dihidrogen peroksida inilah yang memberikan warna merah setelah bereaksi dengan 4-aminofenazon dan 4-klorofenol dengan bantuan enzim peroksidase menjadi berwarna merah⁽²⁷⁾.

Gambar 11, pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah belimbing manis tidak berbeda signifikan dengan kontrol ($p > 0,05$). Belimbing manis dengan menggunakan 700 mg/kgBB dan belimbing manis 1400 mg/kgBB tidak dapat memberikan efek pencegahan terhadap pembentukan kolesterol dan trigliserida. Begitu juga halnya dengan pemberian simvastatin dengan menggunakan dosis 1,3 mg/kgBB tidak dapat digunakan untuk mencegah terbentuknya kolesterol dan

trigliserida, sebab pada penelitian ini simvastatin tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol ($p>0,05$).



Gambar 11. Grafik penetapan kadar trigilserida dan kolesterol

Keterangan : perbedaan huruf menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p<0,05$). Belimbing manis I dengan dosis 700 mg/kgBB, belimbing manis II dengan dosis 1400 mg/kgBB.

Normal : dipejankan aquadest, diinduksi NaCl 0,9%

Kontrol : dipejankan aquadest, diinduksi *poloxamer* 400 mg/kgBB (standar mencit)

Simvastatin : dipejankan simvastatin 1,3 mg/kgBB dengan pelarut Na. CMC, diinduksi *poloxamer*

Belimbing manis I : dipejankan ekstrak buah belimbing manis 700 mg/kgBB dengan pelarut aquadest, diinduksi *poloxamer*

Belimbing manis II : dipejankan ekstrak buah belimbing manis 1400 mg/kgBB dengan pelarut aquadest, diinduksi *poloxamer*

Penelitian yang dilakukan oleh Rosidi, *et.al* (2007), ekstrak etanol buah belimbing manis memberikan efek sebagai antihiperkolesterolemia dengan menduga adanya kandungan niasin dan vitamin C. Niasin dapat mempengaruhi aktivitas enzim lipoprotein lipase sehingga terjadi penurunan produksi VLDL di hati akibat kadar kolesterol total, kolesterol LDL menurun serta meningkatkan kolesterol HDL. Selain itu, vitamin C dapat membangkitkan dan merangsang sistem metabolisme tubuh, membersihkan lemak yang menumpuk di dalam sel, mengencerkan dan melarutkan lemak sehingga lebih mudah dikeluarkan dari tubuh⁽³²⁾.

Pada umumnya, aktivitas antioksidan yang berasal dari tanaman seringkali dihubungkan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoidnya. Senyawa fenolik telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat redoksnya⁽³³⁾. Senyawa fenolik bereaksi sebagai agen pereduksi, pemberi hidrogen, peredam oksigen singlet, dan sebagai pengkelat logam yang potensial. Sementara itu, flavonoid dapat bereaksi sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas melalui pemberian atom hidrogen pada radikal tersebut⁽³³⁾.

Pada penelitian ini dengan diduga adanya senyawa flavonoid di dalam kandungan ekstrak etanol buah belimbing manis yang berfungsi sebagai antioksidan. Asam galat merupakan salah satu jenis tanin, jika senyawa ini bergabung dengan karbohidrat akan membentuk gallotanin dan dapat terhidrolisis sehingga disebut tanin terhidrolis (*tannins hydrolysable*). Adapula jenis tanin yang lain tetapi tidak dapat terhidrolisis tetapi dapat terkondensasi menghasilkan asam klorida, disebut sebagai *proantocyanidin*. Salah satu contohnya adalah Shorgum procyanidin, merupakan trimer yang tersusun dari epicatechin dan catechin⁽³⁴⁾.

Senyawa-senyawa yang tersebut di atas termasuk golongan senyawa fenolik kategori flavonoid. Berdasarkan penelitian Narain *et.al* (2001), total flavonoid (yaitu tanin) dalam 100 gram buah belimbing manis sebesar 0,14 mg⁽³⁰⁾. Sampai saat ini, belum ada penelitian kuantitatif lebih lanjut terkait total senyawa antioksidan polifenol yang terkandung dalam buah belimbing manis.

Penelitian ini memberikan hasil bahwa senyawa flavonoid ekstrak etanol buah belimbing manis tidak mampu memberikan efek preventif terhadap kolesterol dan trigliserida atau yang disebut dengan hiperlipidemia. Flavonoid tidak mampu menghambat sintesis kolesterol, dimana 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) tetap diubah menjadi mevalonat kemudian menjadi kolesterol.

Terbentuknya kolesterol tidak sebanding dengan jumlah antioksidan yang dikonsumsi kemudian terjadi ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas sehingga menyebabkan stress oksidatif. Tidak adanya antioksidan disebabkan konsentrasi antioksidan yang dikonsumsi tidak mencukupi di dalam tubuh, sedangkan berlebihnya produksi radikal bebas disebabkan adanya perubahan susunan lipid oleh *poloxamer* sehingga lipid yang mengalami kerusakan secara kimiawi diduga memiliki satu elektron tak berpasangan pada orbital terluar. Keadaan ini sangat tidak stabil dan

mudah bereaksi dengan berbagai macam zat kimia organik maupun anorganik, jika kemudian radikal bebas ini dibentuk di dalam sel maka radikal bebas akan menyerang dan mendegradasi asam nukleat dan berbagai molekul membran⁽²⁸⁾.

Simvastatin memiliki persentase *protein binding* 95%, dan memiliki waktu paruh ($t_{1/2}$) dalam waktu 3 jam. Simvastatin memiliki bioavailabilitas dengan hanya diabsorpsi sebesar 60% sampai 80% dan mengalami *ekstensif metabolisme first-pass* di dalam hepar oleh enzim CYP3A4⁽²²⁾. Berdasarkan profil farmakokinetik dari simvastatin dan frekuensi pemberian simvastatin yang hanya sekali sehari, dimungkinkan simvastatin tidak terakumulasi dalam tubuh sehingga tidak tepat digunakan untuk preventif hiperlipidemia.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

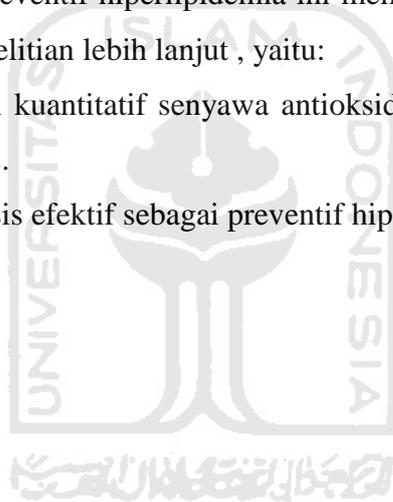
A. KESIMPULAN

Berdasar hasil dan pembahasan yang telah diperoleh, ekstrak etanol buah belimbing manis tidak dapat digunakan sebagai upaya preventif hiperlipidemia karena ketidakmampuan ekstrak etanol buah belimbing manis untuk mencegah terjadinya pembentukan radikal bebas yang dapat menyebabkan terjadinya hiperlipidemia.

B. SARAN

Penelitian uji aktivitas ekstrak etanol buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) sebagai upaya preventif hiperlipidemia ini memiliki banyak kekurangan sehingga diperlukan adanya penelitian lebih lanjut, yaitu:

1. Penelitian terkait dengan uji kuantitatif senyawa antioksidan dan polifenol ekstrak etanol buah belimbing manis.
2. Penelitian terkait dengan dosis efektif sebagai preventif hiperlipidemia.



DAFTAR PUSTAKA

- (1) Uusinarkaus, K., 2011, *Hyperlipidemia-High Cholesterol*, available at <http://www.cshp.net/healthTips/Cholesterol2.pdf> (diakses 21 Januari 2011)
- (2) Price, S. A., Wilson, L. M., 2002, *Pathophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes, 6/E*, diterjemahkan oleh Brahm. U. Pendit, EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta, 580-582.
- (3) McDonald, M., Hertz, R. P., Unger, A. N., Lustik, M. B., 2009, Prevalence, Awareness, and Management of Hypertension, Dyslipidemia, and Diabetes Among United States Adults Aged 65 and Older, *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 64 (2) : 256-263
- (4) Larosa, J. H., Larosa, J. C., 2000, *Enhancing Drug Compliance Lipid-Lowering Treatment*, Arch Fam Med, available at <http://archfami.ama-assn.org/cgi/content/full/9/10/1169#SEC2> (diakses 21 Januari 2011)
- (5) Kannel, W. B., 1990, Contribution of the Farmingham Study to Preventif Cardiology, *J Am Coll Cardiol* 15: 206-211
- (6) Yang, R. L., Shi, Y. H., Hao, G., Li, W., Le, G. W., 2008, Increasing Oxidative Stress with Progressive Hyperlipidemia in Human: Relation Between Malondialdehyd and Atherogenic Index, *J. Clin. Biochem. Nutr.* 43: 154-158
- (7) Talbert, R. L., 2008, Hyperlipidemia, *In Pharmacotherapy: A Pathophysiology Approach*, McGraw Hill, New York, 385, 388, 395.
- (8) Buck, M. L., 2002, HMG Co-A Reductase Inhibitors for the Treatment og Hypercholestrolemia in Children and Adolescents, *Pediatric Pharmacotherapy* (8) 9
- (9) Hariana, H. A., 2005, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Cetakan 2*, Penebar Swadaya, Jakarta, 24.
- (10) Patil, A. G., Patil, D. A., Phatak, A. V., Chandra, N., 2010, Physical dan Chemical Characteristics of Carambola (*Averrhoa carambola* L.) Fruits at Three Stages of Maturity, *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology I* (2) : 624-629
- (11) Shui, G., Leong, L. P., 2004, Analysis of Polyphenolic Antioxidants In Star Fruit in Using Liquid Chromatographyand Mass Spectromtery, *Journal of Chromatography A* 1022 : 67 - 75
- (12) Anonim, 2011, *Averrhoa carambola* L., available at <http://wikipedia.org/averrhoa-carambola.htm> (diakses 28 Januari 2011)
- (13) Crane, J. H., 1994, *The Carambola (Star Fruit)*, available at <http://university.uog.edu/cals/people/PUBS/Carambol/MG26900.pdf> (diakses 21 Januari 2011)
- (14) Thomas, S., Patil, D. A., Patil, A. G., Chandra, N., 2008, Pharmacognostic Evaluation and Physicochemical Analysis of Averrhoa carambola L. Fruit, *Journal of Herbal Medicine and Toxicology* 2 (2): 51-54
- (15) Hosoi, 2008, *Averrhoa carambola* L., available at <http://www.KNapSack.com/averrhoa-carambola> (diakses Agustus 2011)
- (16) Cabrini, D. A., Moresco, H. H., Imazu, P., Silva, C. D., Pietrovski, E. F., Mendes, D. A. G. B., Prudente, A. S., Pizzolatti, M. G., Brighente, I. M. C., Otuki, M. F., 2010, Analysis of the Potential Topical Anti-inflammatory Activity of Averrhoa carambola L. in Mice, *eCAM Advance* : 1-7

- (17) Gancalves, S. T., Baroni, S., Bersani-Amando, F. A., 2006, Preliminary Studies on Gastric Anti-ulcerogenic Effects of *Averrhoa carambola* L. in Rats, *Acta Farm* 25 (2) : 245-257
- (18) Anonim, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- (19) Gandjar, I. G., Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 535-376.
- (20) Balasubramanian, M. N., Muralidharan, P., Balamurugan, G., 2008, Anti Hyperlipidemic Activity of *Pedalium murex* (Linn.) Fruits on High Fat Diet Fed Rats, *Int. J. Pharmacol.* 4 (4) : 310-313
- (21) Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell. V. W., 2003, Biokimia Harper, diterjemahkan oleh Anna P. Bani, Tiara M. N, EGC Penerbit Buku kedokteran, Jakarta, 225 – 235
- (22) Amin, C., 2007, *HMG Co-A Reductase Inhibitors/Statins*, available at <http://www.medpin.org/docs/HyperlipidemiaMonograph.pdf> (diakses 21 Januari 2011)
- (23) Dhulasalvant, V., Shinde, S., Pawar, M., Naikwade, M. S., 2010, Antihyperlipidemic Activity of *Cinnamomum tamala* Nees. On High Cholesterol Induced Hyperlipidemia, *Int. J. PharmTech. Res* 2 (4): 2517-2521
- (24) Afshari, A. T., Shirpoor, A., Balakhani, E. D., 2005, The Effect of Garlic on Cyclosporine-A-Induced Hyperlipidemia, *Urology Journal* 2 (3) : 153-156
- (25) Johnston, T. P., Waxman, D. J., 2008, The Induction of Atherogenic Dyslipidemia In Poloxamer 407-treated Mice Is Not Mediated Through PPAR α , *J Pharm Pharmacol* 60 (6): 753-759.
- (26) Johnston, T. P., Waxman, D. J., 2008, Circulating Free Fatty Acids Are Increased Independent of PPAR γ Activity Following Administration of Poloxamer 407 To Mice, *J Physiol Pharmacol.* 86(9): 643–649.
- (27) Pisani, T., Gebiski, C. P., Laery, E. T., 1995, Accurate Direct Determination of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol, *Arch. Pathol Lab Med* 119: 1127.
- (28) Kumar, V., Cotran, R. S., Robbins, S. L., 2003, Buku Ajar Patologi edisi 7, diterjemahkan oleh Awal Prasetyo, Barhm U. Pendit, Toni Priliono, EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta 9 – 11
- (29) Hotherhall, E., Sharry. C., Mc., Thomson, M. C., 2006, Occasional review : Potential therapeutic role for statins in respiratory disease, *Thorax* 61(8): 729-734
- (30) Narain, N., Bora, P. S., Holschuh, H. J., Vasconcelos, M. A. Da. S., 2001, Physical and Chemical Composition of Carambola fruit (*Averrhoa carambola* L.) at Three stage maturity, *Cienc. Tecno. Aliment* 3(3):144-148
- (31) C. S. McCamy, H. Marcus., (1976), "A Color-Rendition Chart", *Journal of Applied Photographic Engineering*, 2(3). 95–99.
- (32) Rosidi, U. E., Widyaningsih, W., Mulyono, 2001, Efek Ekstrak Etanol Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.) Sebagai Penurun Kadar Kolesterol, *Media Farmasi* 6 (1): 9-14.
- (33) Rohman, A., Riyanto, S., Dahliyanti, R., Pratomo, D. B., 2009, Penangkapan Radikal 2,2 –Difenil-1-fikril Hidrazil oleh Ekstrak Buah *Psidium guajava* L. dan *Averrhoa carambola* L., *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 7 (1) : 1-5
- (34) Sulistiono, D. A., 2011, Tannin, available at www.scribd.com/doc/33507735/TANNIN (diakses September 2011).

- (35) Anonim, 2011, Operating Instructions Moisture Analyzer HB43-S, available at www.google.com/at-us.mt.com/operating_instrumen_moisture_analyzer (diakses Oktober 2011)
- (36) Choudhary, R., 2008, Beneficial Effect of *Allium sativum* and *Allium tuberosum* on Experimental Hyperlipidemia and Atherosclerosis, *Pak J Physiol* 4 (2): 7-9
- (37) Markham, K. R, 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, terjemahan Kosasih Padmawinata, ITB Bandung.



Lampiran 1. Surat Kelayakan Etik (*Ethical Clearance*)

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS GADJAH MADA
KOMISI ETIK PENELITIAN KEDOKTERAN DAN KESEHATAN**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
(*Ethical Clearance*)**

Nomor: KE/FK/ 400 /EC

Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, setelah mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan bahwa penelitian dengan:

Judul : Aktivitas Ekstrak Etanol Buah Belimbing Manis (*Everrhoa carambola L.*) Terstandar Sebagai Terapi Preventif Hiperlipidemia

Peneliti utama : Ani Agustina

Pembimbing/Penanggung Jawab Medis : 1. Asih Triastuti, M.Pharm.,Apt
2. Dimas Adhi Pradana, M.Sc.,Apt

Lembaga/tempat penelitian : Laboratorium FMIPA Universitas Islam Indonesia

dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan, dengan catatan sewaktu-waktu Komisi dapat melakukan pemantauan.

Yogyakarta,

11 JUL 2011

Prof. dr. Mohammad Hakimi, Sp.OG (K), Ph.D
Ketua

dr. Tri Wibawa., Ph.D
Sekretaris

Lampiran 2. Surat Keterangan Determinasi Tanaman

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JURUSAN FARMASI FMIPA UII
BAGIAN BIOLOGI FARMASI

SURAT KETERANGAN

Nomor:53/UII/Jur Far/det/IV/2011

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

Nama : Ani Agustina
NIM : 07613057
Pada tanggal : 7 April 2011

Telah mendeterminasi 1 (satu) species tanaman dengan bimbingan Dra.Iyok Budiarti, di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Averrhoa carambola*, L (belimbing manis)

Demikian surat keterangan ini di buat untuk dipergunakan semestinya.

Yogyakarta, 7 April 2011
Bagian Biologi Farmasi
Kepala,



Hady Anshory T.S.Si., Apt.
NIP.056130703

Lampiran 3. Surat Keterangan Sehat Hewan Uji



Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik
Fakultas Farmasi
Universitas Gadjah Mada
 Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telp. (0274) 902660 Fax (0274) 543120

SURAT KETERANGAN

Nomor : FA/FFK/004 /Kandang/VII/2011

Yang bertanda tangan di bawah ini Kepala Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi UGM menerangkan bahwa :

Nama : Ani Agustina
 No. Mhs : 07 613 057
 Institusi : Farmasi UII

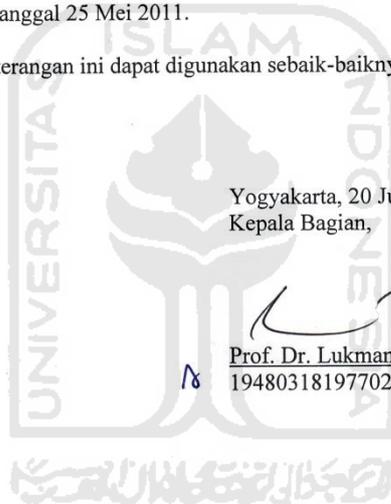
Telah melakukan pembelian mencit galur Balb-C jenis kelamin jantan umur 1.5 bulan sebanyak 25 ekor dalam keadaan sehat. Tikus tersebut digunakan untuk penelitian.

Pembelian dilakukan pada tanggal 25 Mei 2011.

Demikian, semoga surat keterangan ini dapat digunakan sebaik-baiknya.

Yogyakarta, 20 Juli 2011
 Kepala Bagian,


 Prof. Dr. Lukman Hakim, M.Sc., Apt
 194803181977021001



Lampiran 4. Data Hasil Absorbansi

Pengukuran Kadar Trigliserida

Kelompok	Absorbansi	Kadar Trigliserida (mg/dL)
Normal	0.293	270.05
	0.282	259.91
	0.304	280.18
	0.273	251.61
	0.287	264.52
Kontrol Negatif	0.766	705.99
	0.773	712.44
	0.767	706.91
	0.779	717.97
	0.773	712.44
Simvastatin	0.763	703.23
	0.772	711.52
	0.776	715.21
	0.771	710.60
	0.751	692.17
Belimbing Manis I	0.776	715.21
	0.782	720.74
	0.766	705.99
	0.78	718.89
	0.778	717.05
Belimbing Manis II	0.776	715.21
	0.781	719.82
	0.78	718.89
	0.775	714.29
	0.773	712.44

Pengukuran Kadar Kolesterol

Kelompok	Absorbansi	Kadar Kolesterol (mg/dL)
Normal	0.276	176.92
	0.251	160.90
	0.261	167.31
	0.251	160.90
	0.239	153.21
Kontrol Negatif	0.6	384.62
	0.639	409.62
	0.677	433.97
	0.811	519.87
	0.779	499.36
Simvastatin	0.553	354.49
	0.803	514.74
	0.576	369.23
	0.636	407.69
	0.556	356.41
Belimbing Manis I	0.581	372.44
	0.625	400.64
	0.568	364.10
	0.556	356.41
	0.609	390.38
Belimbing Manis II	0.606	388.46
	0.628	402.56
	0.593	380.13
	0.594	380.77
	0.627	401.92

Lampiran 5. Pengolahan Data Secara SPSS

*Kadar Trigliserida***One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		TG
N		25
Normal Parameters ^a	Mean	6.2293E2
	Std. Deviation	1.82681E2
Most Extreme Differences	Absolute	.448
	Positive	.296
	Negative	-.448
Kolmogorov-Smirnov Z		2.238
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000

a. Test distribution is Normal.

Multiple Comparisons

TG

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Kontrol	-445.89600 [*]	4.60504	.000	-459.6760	-432.1160
	Simvastatin	-441.29200 [*]	4.60504	.000	-455.0720	-427.5120
	Belimbing Manis I	-450.32200 [*]	4.60504	.000	-464.1020	-436.5420
	Belimbing Manis II	-450.87600 [*]	4.60504	.000	-464.6560	-437.0960
Kontrol	Normal	445.89600 [*]	4.60504	.000	432.1160	459.6760
	Simvastatin	4.60400	4.60504	.852	-9.1760	18.3840
	Belimbing Manis I	-4.42600	4.60504	.869	-18.2060	9.3540
	Belimbing Manis II	-4.98000	4.60504	.814	-18.7600	8.8000
Simvastatin	Normal	441.29200 [*]	4.60504	.000	427.5120	455.0720
	Kontrol	-4.60400	4.60504	.852	-18.3840	9.1760
	Belimbing Manis I	-9.03000	4.60504	.320	-22.8100	4.7500
	Belimbing Manis II	-9.58400	4.60504	.266	-23.3640	4.1960
Belimbing Manis I	Normal	450.32200 [*]	4.60504	.000	436.5420	464.1020

	Kontrol	4.42600	4.60504	.869	-9.3540	18.2060
	Simvastatin	9.03000	4.60504	.320	-4.7500	22.8100
	Belimbing Manis II	-.55400	4.60504	1.000	-14.3340	13.2260
Belimbing Manis II	Normal	450.87600*	4.60504	.000	437.0960	464.6560
	Kontrol	4.98000	4.60504	.814	-8.8000	18.7600
	Simvastatin	9.58400	4.60504	.266	-4.1960	23.3640
	Belimbing Manis I	.55400	4.60504	1.000	-13.2260	14.3340

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

Pengukuran Kadar Kolesterol

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		CHOL
N		25
Normal Parameters ^a	Mean	3.5628E2
	Std. Deviation	1.08048E2
Most Extreme Differences	Absolute	.293
	Positive	.152
	Negative	-.293
Kolmogorov-Smirnov Z		1.467
Asymp. Sig. (2-tailed)		.027

a. Test distribution is Normal.

Multiple Comparisons

CHOL

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Kontrol	-285.64000*	25.98623	.000	-363.4005	-207.8795
	Simvastatin	-236.66400*	25.98623	.000	-314.4245	-158.9035
	Belimbing Manis I	-212.94600*	25.98623	.000	-290.7065	-135.1855

	Belimbing Manis II	-226.92000*	25.98623	.000	-304.6805	-149.1595
Kontrol	Normal	285.64000*	25.98623	.000	207.8795	363.4005
	Simvastatin	48.97600	25.98623	.357	-28.7845	126.7365
	Belimbing Manis I	72.69400	25.98623	.074	-5.0665	150.4545
	Belimbing Manis II	58.72000	25.98623	.199	-19.0405	136.4805
Simvastatin	Normal	236.66400*	25.98623	.000	158.9035	314.4245
	Kontrol	-48.97600	25.98623	.357	-126.7365	28.7845
	Belimbing Manis I	23.71800	25.98623	.889	-54.0425	101.4785
	Belimbing Manis II	9.74400	25.98623	.995	-68.0165	87.5045
Belimbing Manis I	Normal	212.94600*	25.98623	.000	135.1855	290.7065
	Kontrol	-72.69400	25.98623	.074	-150.4545	5.0665
	Simvastatin	-23.71800	25.98623	.889	-101.4785	54.0425
	Belimbing Manis II	-13.97400	25.98623	.982	-91.7345	63.7865
Belimbing Manis II	Normal	226.92000*	25.98623	.000	149.1595	304.6805
	Kontrol	-58.72000	25.98623	.199	-136.4805	19.0405
	Simvastatin	-9.74400	25.98623	.995	-87.5045	68.0165
	Belimbing Manis I	13.97400	25.98623	.982	-63.7865	91.7345

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

Lampiran 6. Pengukuran kadar air dari ekstrak etanol buah belimbing manis

Replikasi	Waktu (menit)	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Persentase (%)
1	10	0.582	0.453	77.84
2	9	0.568	0.429	75.53
3	7	0.584	0.454	77.74
			X	77.04
			SD	1.31



Lampiran 7. Penetapan kadar kolesterol dan trigliserida pada mencit

Kelompok	Rata-rata kadar Kolesterol ($\bar{x} \pm SD$)	Rata-rata kadar trigliserida ($\bar{x} \pm SD$)
Normal	163,85 \pm 8,85 ^a	265,25 \pm 10,74 ^a
Kontrol	449,49 \pm 58,05 ^b	711,15 \pm 4,86 ^b
Simvastatin	400,51 \pm 67,35 ^b	706,54 \pm 9,14 ^b
Belimbing manis I	376,79 \pm 18,36 ^b	715,58 \pm 5,74 ^b
Belimbing manis II	390,77 \pm 10,98 ^b	716,13 \pm 3,1 ^b

Keterangan : perbedaan huruf menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p < 0.05$). Belimbing manis I dengan dosis 700 mg/kgBB, belimbing manis II dengan dosis 1400 mg/kgBB.



Lampiran 8. Color chart



No.	Number	sRGB			CIE L*a*b*			Munsell Notation	
		R	G	B	L*	a*	b*	Hue Value / Chroma	
1.	dark skin	115	82	68	37.986	13.555	14.059	3 YR	3.7 / 3.2
2.	light skin	194	150	130	65.711	18.13	17.81	2.2 YR	6.47 / 4.1
3.	blue sky	98	122	157	49.927	-4.88	-21.925	4.3 PB	4.95 / 5.5
4.	foliage	87	108	67	43.139	-13.095	21.905	6.7 GY	4.2 / 4.1
5.	blue flower	133	128	177	55.112	8.844	-25.399	9.7 PB	5.47 / 6.7
6.	bluish green	103	189	170	70.719	-33.397	-0.199	2.5 BG	7 / 6
7.	orange	214	126	44	62.661	36.067	57.096	5 YR	6 / 11
8.	purplish blue	80	91	166	40.02	10.41	-45.964	7.5 PB	4 / 10.7
9.	moderate red	193	90	99	51.124	48.239	16.248	2.5 R	5 / 10
10.	purple	94	60	108	30.325	22.976	-21.587	5 P	3 / 7
11.	yellow green	157	188	64	72.532	-23.709	57.255	5 GY	7.1 / 9.1
12.	orange yellow	224	163	46	71.941	19.363	67.857	10 YR	7 / 10.5
13.	blue	56	61	150	28.778	14.179	-50.297	7.5 PB	2.9 / 12.7
14.	green	70	148	73	55.261	-38.342	31.37	0.25 G	5.4 / 8.65
15.	red	175	54	60	42.101	53.378	28.19	5 R	4 / 12
16.	yellow	231	199	31	81.733	4.039	79.819	5 Y	8 / 11.1
17.	magenta	187	86	149	51.935	49.986	-14.574	2.5 RP	5 / 12
18.	cyan	8	133	161	51.038	-28.631	-28.638	5 B	5 / 8
19.	white (.05*)	243	243	242	96.539	-0.425	1.186	N	9.5 /
20.	neutral 8 (.23*)	200	200	200	81.257	-0.638	-0.335	N	8 /
21.	neutral 6.5 (.44*)	160	160	160	66.766	-0.734	-0.504	N	6.5 /
22.	neutral 5 (.70*)	122	122	121	50.867	-0.153	-0.27	N	5 /
23.	neutral 3.5 (.1.05*)	85	85	85	35.656	-0.421	-1.231	N	3.5 /
24.	black (1.50*)	52	52	52	20.461	-0.079	-0.973	N	2 /

Cie L*a*b* values use Illuminant D50 2 degree observer sRGB values for illuminate D65.
 © 2005, GretagMachbeth. All rights reserved.