

**PENGARUH PEMBERIAN SEDUHAN KELOPAK ROSELA (*Hibiscus sabdariffa*)
TERHADAP KADAR KOLESTEROL LDL DARAH TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) DENGAN INDUKSI HIPERKOLESTEROLEMI**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



YULI ARTANTI PATMAWURI

G0005213

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

2009

commit to user

PERNYATAAN

Dengan ini 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 dan disebutkan dalam daftar pustaka.



Surakarta,

Yuli Artanti Patmawuri

NIM. G0005213

ABSTRAK

Yuli Artanti Patmawuri, G0005213, 2009, Pengaruh Pemberian Seduhan Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap Kadar Kolesterol LDL Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dengan Induksi Hiperkolesterolemi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Penyakit kardiovaskuler terutama penyakit jantung koroner akan menjadi penyebab kematian utama di dunia. Kadar kolesterol LDL yang tinggi merupakan faktor resiko terjadinya penyakit jantung koroner. Ekstrak kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) telah dibuktikan mampu menurunkan kadar kolesterol LDL darah dalam berbagai penelitian, namun masyarakat Indonesia lebih sering mengonsumsi kelopak rosela dalam bentuk seduhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL darah tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan desain *Randomized Controlled Trial* (RCT) yaitu *pre test and post test controlled group design*, dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Sebelas Maret Surakarta. Subjek penelitian adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) sebanyak 30 ekor, *strain Wistar*, umur 3 bulan, berat badan kurang lebih 200 gram. Tikus-tikus dibagi menjadi 3 kelompok secara random, masing-masing kelompok terdiri 10 ekor tikus. Semua kelompok diberi pakan tinggi kolesterol. Kelompok I sebagai kontrol, sedangkan kelompok II dan kelompok III sebagai kelompok perlakuan masing-masing diberi seduhan kelopak rosela dengan dosis 36mg/200gram BB/hari dan 54mg/200gram BB/hari. Perlakuan dilaksanakan selama 28 hari. Pengambilan data dilakukan sebelum dan setelah perlakuan yang terakhir dengan mengambil darah tikus putih melalui sinus orbitalis, yang sebelumnya dilakukan puasa selama 12 jam, dan diperiksa kadar kolesterol LDL serum dari ketiga kelompok, kemudian hasilnya dianalisa dengan uji-ANOVA dan uji-t berpasangan.

Hasil dari uji ANOVA menunjukkan bahwa kadar kolesterol LDL darah tikus putih tidak berbeda secara signifikan diantara ketiga kelompok hewan coba dengan nilai $p:0,123$ ($p>0,05$). Hasil uji t berpasangan antara sebelum dan setelah perlakuan pada ketiga kelompok juga menunjukkan tidak ada perbedaan kadar kolesterol LDL yang signifikan

Simpulan penelitian ini adalah pemberian seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis 36mg/200gram BB/hari dan 54mg/200gram BB/hari belum dapat mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL serum tikus putih (*Rattus norvegicus*) secara bermakna ($p>0,05$).

Kata kunci : Seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) – kolesterol LDL – *Rattus norvegicus*

ABSTRACT

Yuli Artanti Patmawuri, G0005213, 2009, The Influence of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Calyces Infusion Administration in LDL Cholesterol Level of White Rats' (*Ratus norvegicus*) Blood with Hypercholesterolemia Induction, Medical Faculty, Sebelas Maret University, Surakarta.

Cardiovascular disease especially coronary heart disease will become the major cause of death throughout the world. High LDL cholesterol level represent risk factor the happening of coronary heart disease. Roselle calyces extract have been proved can reduce the LDL cholesterol level of blood, but Indonesian people more regular consume rosela calyx in form of infusion. The objection of the research is knowing the influence of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyces infusion in preventing the improvement of LDL cholesterol level of white rats' (*Rattus norvegicus*) blood.

This experimental laboratoric research with randomized controlled trial design, pre test and post test controlled group design, had been done in Biochemistry Laboratory of Sebelas Maret University, Surakarta, Indonesia. The research subjects are 30 male white rats, Wistar strain, 3 months old, and about 200 gram weights. Rats were divided into 3 groups, each group consists of 10 rats. All groups were feed with high cholesterol food. Group I as control group, group II and group III was added with roselle calyces 36 mg/200 gram body weight/day and 54 mg/200 gram body weight/day. Triglyceride level of all rat's blood were tested after 28 days treatment. The data collection was conducted before treatment and after the final treatment by taking the blood via orbital sine of rat, which had been fasted for 12 hours, and was examined for the serum cholesterol LDL level in the three groups, and then the result were analysed using ANOVA and t-pairwise tests.

The result of one-way ANOVA test showed no significant difference in blood's LDL cholesterol level between 3 groups, with $p = 0,123$ ($p > 0,05$). The result of t paired test between pre test and post of each group also showed no significant difference in LDL cholesterol level of white rats blood.

The conclusion of this research is the administration of roselle calyces infusion at dosage 36 mg/200 grams BW/day and dosage 54 mg/200 grams BW/day have not yet earned to prevent the improvement of LDL cholesterol level of white rats' (*Rattus norvegicus*) blood significantly ($p > 0,05$).

Keywords : roselle's (*Hibiscus sabdariffa*) calyces infusion – LDL cholesterol – *Rattus norvegicus*

PRAKATA

Penulis mengucapkan puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala kasih karunia, kekuatan, penghiburan dan penyertaan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Seduhan Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap Kadar Kolesterol LDL Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dengan Induksi hiperkolesterolemi”.

Skripsi ini disusun dengan maksud untuk memenuhi salah satu syarat dalam proses untuk memperoleh gelar kesarjanaan dalam bidang kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Segala sesuatu yang telah penulis lakukan dalam upaya menyelesaikan skripsi ini tentunya tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karenanya, dengan rasa hormat dan tulus, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. A.A. Subiyanto, dr., MS., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Sri Wahjono, dr., MKes., selaku Ketua Tim Skripsi beserta Staf Bagian Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Jarot Subandono, dr., MKes., selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan dan saran bagi penulis selama penulisan skripsi ini.
4. Dian Ariningrum, dr., MKes., SpPK., selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan dan saran bagi penulis selama penulisan skripsi ini.
5. Veronika Ika Budiastuti, dr., selaku Penguji Utama yang telah berkenan menguji dan memberi masukan yang berarti dalam penulisan skripsi ini.
6. Kustiwinarni., Dra, Apt., selaku Penguji Pendamping yang telah berkenan menguji dan memberi masukan yang berarti dalam penulisan skripsi ini.
7. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharap saran dan kritik membangun untuk lebih sempurnanya skripsi ini. Semoga penelitian ini bermanfaat bagi ilmu kedokteran pada umumnya dan bagi para pembaca pada khususnya.

Surakarta, Juli 2009

Penulis

DAFTAR ISI

PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR DIAGRAM	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II LANDASAN TEORI	6
A. Tinjauan Pustaka	6
1. Teh Rosela	
a. Deskripsi Tanaman Rosela... ..	6
b. Morfologi Rosela	7
c. Komponen dalam Rosela	8
2. <i>Low Density Lipoprotein (LDL) Cholesterol</i>	9
3. Dislipidemia	
a. Definisi	12
b. Klasifikasi	13
c. Aterosklerosis	14
4. Peranan Rosela dalam Menurunkan Kolesterol LDL	15

commit to user

5. Propiltiourasil	19
B. Kerangka Pemikiran	19
C. Hipotesis	20
BAB III METODE PENELITIAN	21
A. Jenis Penelitian	21
B. Lokasi Penelitian	21
C. Subyek Penelitian	21
D. Teknik Sampling	22
E. Identifikasi Variabel Penelitian	22
F. Definisi Operasional Variabel	23
G. Rancangan Penelitian	29
H. Alat Yang Digunakan	30
I. Bahan Penelitian	30
J. Jalannya Penelitian	31
K. Teknik Analisis Data.....	34
BAB IV HASIL PENELITIAN	36
BAB V PEMBAHASAN	43
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	49
A. Simpulan	49
B. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 1. Karakteristik Lipoprotein	10
Tabel 2. Kadar kolesterol LDL menurut kriteria NCEP III	12
Tabel 3. Klasifikasi dislipidemia menurut <i>European Atherosclerosis Society</i> (EAS)	13
Tabel 4. Klasifikasi dislipidemia menurut <i>World Health Organization</i> (WHO)	13
Tabel 5. Rerata berat badan tikus putih sebelum perlakuan.	37
Tabel 6. Rerata peningkatan berat badan tikus putih selama kurun waktu penelitian (4 minggu)	37
Tabel 7. Rerata kadar kolesterol LDL sebelum dan setelah perlakuan pada tikus putih.	39
Tabel 8. Rerata selisih kadar kolesterol LDL sebelum dan setelah perlakuan	41

DAFTAR DIAGRAM

	Hal
Diagram 1. Rerata Peningkatan Berat Badan Tikus Putih selama Penelitian.	38
Diagram 2. Rerata kadar kolesterol LDL darah tikus putih sebelum dan setelah perlakuan.	40



DAFTAR LAMPIRAN

		Hal
Lampiran 1	Penentuan Dosis Kelopak Rosela untuk Seduhan.	55
Lampiran 2	Data Biologis Tikus.	56
Lampiran 3	Komposisi Pellet.	57
Lampiran 4	Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai Jenis Hewan dan Manusia	58
Lampiran 5	Gambar rosela	59
Lampiran 6	Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus Putih Selama Perlakuan.	60
Lampiran 7	Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol LDL Serum Tikus Putih Sebelum Perlakuan.	61
Lampiran 8	Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol LDL Serum Tikus Putih Setelah Perlakuan	62
Lampiran 9	Selisih Kadar Kolestrol LDL Serum Tikus Putih sebelum dan Setelah Perlakuan	63
Lampiran 10	Uji-ANOVA Berat Badan Tikus Putih Sebelum Perlakuan	64
Lampiran 11	Uji-ANOVA Berat Badan Tikus Putih Kelompok I.	65
Lampiran 12	Uji-ANOVA Berat Badan Tikus Putih Kelompok II	67
Lampiran 13	Uji-ANOVA Berat Badan Tikus Putih Kelompok III	69
Lampiran 14	Uji-ANOVA Berat Badan Tikus Putih Setelah Perlakuan.	71
Lampiran 15	Uji-ANOVA Kadar Kolesterol LDL Serum Tikus Putih Sebelum Perlakuan	73
Lampiran 16	Uji-ANOVA Kadar Kolesterol LDL Serum Tikus Putih Setelah Perlakuan	74
Lampiran 17	Uji-t berpasangan Kadar Kolesterol LDL Serum Tikus putih Sebelum & Setelah Perlakuan.	75
Lampiran 18	Uji-ANOVA Selisih Kadar Kolesterol LDL Serum Tikus Putih Sebelum dan Setelah Perlakuan	77

BAB I

PENDAHULUAN

A.Latar Belakang Masalah

Ancaman penyakit kardiovaskular, terutama Penyakit Jantung Koroner (PJK) semakin terlihat nyata. Meningkatnya ancaman penyakit kardiovaskuler terlihat dalam risiko kematian akibat PJK yang tinggi dan kecenderungan usia pasien yang semakin muda. Penyakit ini biasanya menyerang orang yang berusia diatas 40 tahun, namun pernah tercatat penderitanya berusia 35 tahun bahkan ditemukan kasus dengan penderita berusia 18 tahun. Penyakit Jantung Koroner telah menempati posisi ketiga sebagai penyebab kematian terbanyak di Indonesia sejak tahun 1986, tetapi sejak tahun 1992 hingga sekarang, PJK telah menjadi penyebab kematian nomor satu di Indonesia (Rifki, 2004). *World Health Organization* (WHO) melaporkan bahwa pada tahun 1999 hampir sepertiga penyebab kematian di dunia adalah penyakit kardiovaskuler dan pada tahun 2010 penyakit kardiovaskuler akan menjadi penyebab kematian utama (Trisnohadi, 2008).

Penyakit kardiovaskuler terjadi jika ada penyempitan pembuluh darah jantung oleh timbunan lemak (plak aterosklerotik) sehingga jantung kekurangan oksigen (Setianto, 2003). Aterosklerosis tercatat sebagai penyebab tersering pada PJK. Ciri aterosklerosis adalah pembentukan lesi jaringan-ikat lemak (bercak aterosklerosis) dalam tunika intima, di sekitar lumen pembuluh, disertai degenerasi tunika media dan adventisia (Robbins dan Kumar, 2007).

commit to user

Konsentrasi kolesterol yang tinggi dalam plasma darah (hiperkolesterolemi), terutama dalam bentuk lipoprotein densitas rendah (LDL), adalah faktor terpenting penyebab aterosklerosis (Guyton dan Hall, 1997).

Hiperkolesterolemia menjadi faktor risiko utama PJK di samping hipertensi dan merokok (Djohan, 2004). Seseorang memiliki risiko tinggi terkena PJK jika konsentrasi kolesterol total plasma lebih besar dari 240 mg/dl, nilai plasma kolesterol LDL lebih besar dari 160 mg/dl dan kolesterol HDL lebih kecil dari 35 mg/dl (Hatma, 2003). Kadar kolesterol LDL lebih tepat sebagai penunjuk untuk mengetahui resiko PJK daripada kolesterol total (Djohan, 2004), karena kolesterol LDL yang teroksidasi adalah faktor pencetus dalam pembentukan aterosklerosis (Tsimikas *et al.*, 2007).

Enam golongan obat yang dapat memperbaiki profil lipid telah diproduksi saat ini, namun sering menimbulkan efek samping seperti gangguan pencernaan, gangguan fungsi hati, takikardi, gatal, hiperurisemi, ulkus peptik, intoleransi glukosa, sakit kepala bahkan rhabdomyolisis yang mematikan (Adam, 2007). Nenek moyang kita telah menggunakan berbagai tanaman tradisional sebagai obat untuk mengatasi masalah kesehatan mereka, baik untuk pencegahan maupun penyembuhan suatu penyakit. Selain lebih murah, obat-obat alamiah diyakini tidak memiliki efek samping (Hariana, 2006).

Rosela patut diperhitungkan sebagai obat alami, karena didalamnya banyak terkandung zat-zat yang memiliki efek menurunkan kadar kolesterol (Hirunpanich *et al.*, 2005) dan menghambat pembentukan aterosklerosis (Maryani dan Kristiana, 2008). Dalam 500 mg ekstrak rosela mengandung

commit to user

2.5% antosianin, 1.7% polifenol dan 1.43% flavonoid, dimana ketiga zat aktif tersebut termasuk antioksidan yang dapat mencegah oksidasi LDL (Lin *et al.*, 2007)

Penelitian dilakukan di Thailand mengenai efek hipolipidemik ekstrak rosela menggunakan tikus yang dibuat hiperkolesterolemi. Pada kelompok perlakuan diberikan dosis masing-masing 500mg/kgBB dan 1000mg/kgBB ekstrak rosela selama 6 minggu. Hasilnya secara signifikan dapat menurunkan kolesterol serum sebesar 22% dan 26%; kadar trigliserida serum turun 33% dan 28%; kadar kolesterol LDL serum turun 22% dan 32%, sedangkan kadar kolesterol HDL serum tidak terpengaruh (Hirunpanich, 2005).

Penelitian lainnya mengenai efek pemberian ekstrak rosela terhadap kadar kolesterol serum dengan subjek manusia dewasa yang hiperkolesterolemi telah dilakukan oleh Lin TL di Taiwan. Subjek penelitian dibagi dalam tiga kelompok masing-masing mengonsumsi satu kapsul (500 mg ekstrak rosela), dua kapsul (1000 mg ekstrak rosela) dan tiga kapsul (1500 mg ekstrak rosela) yang diberikan tiga kali sehari selama 4 minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa serum kolesterol turun secara signifikan, dengan dosis optimal dua kapsul (1000 mg) tiga kali sehari atau 3000 mg/hari (Oppel, 2007).

Penggunaan kelopak rosela dalam masyarakat yang populer sebagai teh rosela disajikan dengan cara diseduh, sedangkan penelitian tentang pengaruh pemberian seduhan kelopak rosela untuk menurunkan kadar kolesterol LDL belum pernah dilakukan. Oleh sebab itu peneliti ingin membuktikan ada tidaknya pengaruh pemberian seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*)

commit to user

terhadap kadar kolesterol LDL darah tikus putih (*Rattus novergicus*) dengan induksi hiperkolesterolemia.

B. Perumusan Masalah

1. Adakah pengaruh pemberian seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL darah tikus putih (*Rattus novergicus*) dengan induksi hiperkolesterolemia?
2. Adakah pengaruh perbedaan dosis seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL darah tikus putih (*Rattus novergicus*) dengan induksi hiperkolesterolemia?

C. Tujuan Penelitian

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap kadar kolesterol LDL darah tikus putih (*Rattus novergicus*) dengan induksi hiperkolesterolemia.
2. Untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan dosis seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis yang lebih tinggi dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL darah tikus putih (*Rattus novergicus*).

D. Manfaat Penelitian

1. Aspek Teoritis

Penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dalam menurunkan kadar kolesterol LDL darah tikus putih (*Rattus novergicus*).

2. Aspek Aplikatif

Penelitian ini dapat dijadikan dasar penggunaan teh rosela (*Hibiscus sabdariffa*) sebagai pilihan terapi alternatif untuk menurunkan kadar kolesterol LDL darah yang menjadi faktor risiko penyakit kardiovaskuler, serta sebagai bahan acuan untuk penelitian selanjutnya dalam rangka mencari dosis seduhan kelopak rosela yang tepat, aman dan efektif bagi manusia.

BAB II

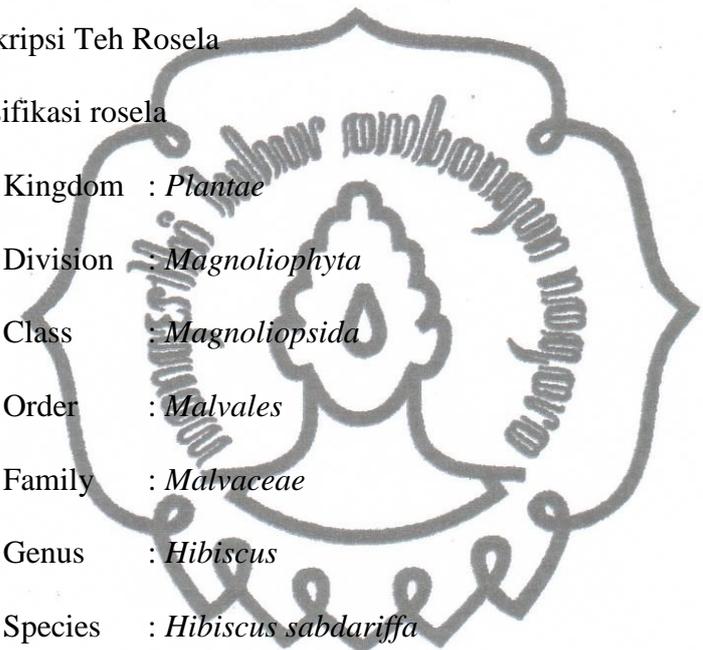
DASAR TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Teh Rosela

a. Deskripsi Teh Rosela

Klasifikasi rosela



Kingdom : *Plantae*
Division : *Magnoliophyta*
Class : *Magnoliopsida*
Order : *Malvales*
Family : *Malvaceae*
Genus : *Hibiscus*
Species : *Hibiscus sabdariffa*

(Anonim, 2008)

Rosela merupakan herba tahunan yang habitat aslinya membentang dari daerah India hingga Malaysia, namun kini telah tersebar luas di daerah tropis dan subtropis seluruh dunia. Rosela dapat tumbuh baik di daerah yang hangat, beriklim tropis ataupun subtropis, dengan ketinggian 0 – 900 meter di atas permukaan laut (dpl). Tanaman ini membutuhkan sinar matahari langsung dan pengairan cukup untuk pertumbuhannya. Curah hujan yang diperlukan selama pertumbuhannya sekitar 182 cm/tahun,

commit to user

namun untuk daerah yang curah hujannya kurang mencukupi dapat diatasi dengan pengairan yang baik. (Maryani dan Kristiana, 2008).

Rosela akan mulai berbunga setelah 4 – 5 bulan dari penanaman, kira-kira 1,5 bulan kemudian rosela siap dipanen untuk diambil kelopaknya. Sesudah pemanenan pertama, rosela masih dapat berbunga pada 4 – 8 bulan berikutnya, asalkan temperatur pada malam hari tidak kurang dari 21⁰C. Curah hujan dan kelembaban yang terlalu tinggi saat bunga mulai muncul sampai masa pemanenan akan mengurangi hasil kelopak bunga, karena rosela sangat peka terhadap suhu dingin (Maryani dan Kristiana, 2008).

Proses pengeringan kelopak rosela dapat dilakukan dengan cara diangin-anginkan, dikeringkan di bawah sinar matahari langsung, atau di oven. Cara pengeringan yang kedua kurang baik karena jika penjemuran terlalu lama, warna kelopak rosela akan menjadi kecoklatan sehingga setelah diolah akan terlihat kurang menarik. Kontaminasi oleh serangga dan jamur sering didapatkan pada pengeringan dengan cara ini. Tempat tumbuh dan proses pengeringan yang dilakukan akan mempengaruhi kualitas zat gizi yang terkandung dalam rosela (Maryani dan Kristiana, 2008).

b. Morfologi

- 1) Habitus : Pohon, tinggi 0,5 – 3 meter
- 2) Habitat : daerah tropis dan subtropis diseluruh dunia
- 3) Akar : Tunggang, putih kecoklatan
- 4) Batang : Bulat, tegak, berkayu, berwarna merah

commit to user

- 5) Daun : Tunggal, bentuknya bulat telur, tulang daun menjari, ujung daun tumpul, pangkal daun berlekuk, tepi daun bergerigi, panjang 6 – 15 cm, lebar 5 – 8 cm, warna hijau. Tangkai daun bulat berwarna merah, panjang 4 – 7 cm.
- 6) Bunga : berupa bunga tunggal, dalam satu bunga terdiri atas 5 helai mahkota yang berbentuk corong, dengan panjang 3 – 5 cm. Tangkai sari merupakan tempat melekatnya kumpulan benang sari berukuran pendek dan tebal, panjangnya sekitar 5 mm dan lebar sekitar 5 mm. Putik berbentuk tabung, berwarna kuning atau merah.
- 7) Kelopak : dalam satu bunga terdiri atas 8 – 11 helai kelopak yang berbulu, panjangnya 1 cm, pangkalnya saling berlekatan dan berwarna merah menyala. Kelopak bunga ini sering dianggap sebagai bunga oleh masyarakat. Bagian inilah yang sering dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan minuman.
- 8) Buah : bentuk kotak kerucut, berambut, terbagi menjadi 5 ruang, warnanya merah.
- 9) Biji : bentuk seperti ginjal, berbulu, panjang 5 mm dan lebar 4 mm. Saat muda warnanya putih setelah tua warnanya menjadi abu-abu.

c. Komponen dalam rosela

Hampir seluruh bagian tanaman ini dapat dimanfaatkan, mulai dari daun, biji, buah dan kelopak. Kelopak rosela adalah bagian yang paling sering dimanfaatkan pada tanaman ini karena menurut DepKes RI No SPP 1065/35.15/05, setiap 100 gram kelopak bunga Rosella mempunyai

kandungan gizi sebagai berikut: protein 1,145 gram, lemak 2,61 gram, serat 12 gram, kalsium 1,263 gram, fosfor 273,2 mg, zat besi 8,98 mg, *malic acid* 3,31%, fruktosa 0,82%, sukrosa 0,24%, karoten 0,029%, tiamin 0,117mg, niasin 3,765 mg, dan vitamin C 244,4 mg (Aisyah, 2008). Kelopaknya juga mengandung beberapa senyawa aktif seperti asam organik : asam sitrat, asam laktat hidroksisitat; senyawa fenol (polifenol): asam *protocatechuic*; derivat flavonoid: gossipetin-3-glukosid, gossipetin-8-glukosid; dan antosianin: *hibiscin*, sianidin-3- β -D-glukosid, *hibiscetin*, *delphinidin* dan sabbaretin (Prommetta *et al.*, 2006); vitamin A, protein dan 18 jenis asam amino (Maryani dan Kristiana, 2008).

2. Low Density Lipoprotein (LDL) Cholesterol

Lipid di dalam tubuh manusia terdiri dari lemak netral yang juga dikenal sebagai trigliserid, fosfolipid, kolesterol dan asam lemak bebas (Guyton dan Hall, 1997). Sifat lipid yang tidak larut air ini membawa permasalahan tersendiri mengenai pengangkutannya. Untuk mengatasinya, tubuh membentuk suatu kompleks antara lipid yang bersifat non polar (trigliserid dan ester kolesterol) yang terletak di bagian inti dengan lipid yang bersifat amfipatik (fosfo lipid dan kolesterol) dan molekul protein yang terletak di bagian permukaannya. Kompleks ini dapat larut dalam air yang dikenal dengan lipoprotein (Mayes, 2003), sedangkan komponen proteinnya disebut dengan apolipoprotein atau apoprotein (Adam, 2007). Lipoprotein bertugas untuk mengangkut lipid dari tempat sintesisnya menuju ke tempat

penggunaannya, sedangkan apolipoprotein bertugas untuk mempertahankan struktur lipoprotein (Suyatna dan Handoko, 2005).

Berikut adalah karakteristik dari jenis-jenis lipoprotein :

Tabel 1. Karakteristik Lipoprotein

Lipoprotein	Densitas	Lipid utama	Diameter (nm)	Apolipoprotein Menurut urutan yang terpenting
HDL	1.21-1.063	Ester kolesterol	7.5-10.5	A-I, A-II, C, E
LDL	1.063-1.019	Ester kolesterol	21.5	B-100
IDL	1.019-1.006	Ester kolesterol	25-30	B-100, C, E
VLDL	< 1.006	Trigliserid	39-100	B-100, C, E
Kilomikron	< 1.006	Trigliserid	60-500	B-48, C, E, A-I, A-II, A-IV
Lp(a)	1.04-1.08	Ester kolesterol	21-30	B-100, Lp (a)

Sumber: Adam, 2007.

Penggolongan di atas berdasarkan proses ultrasentrifusi lipoprotein terdiri atas *High Density Lipoprotein* (HDL), *Low Density Lipoprotein* (LDL), *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL), *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), kilomikron dan liprotein a (Lp(a)). Masing-masing lipoprotein di atas memiliki tugas yang berbeda-beda. VLDL berfungsi mengangkut trigliserid dan kolesterol dari hati menuju sirkulasi ke jaringan ekstrahepatik (Mayes, 2003). Kilomikron bertugas untuk mengangkut kolesterol dan trigliserid yang berasal dari makanan dalam usus menuju saluran limfe kemudian mengikuti aliran darah lewat duktus torasikus. HDL bertugas mengangkut kolesterol dari jaringan perifer ke hati untuk mengurangi penimbunan kolesterol. LDL berfungsi untuk melanjutkan tugas

VLDL dalam pengangkutan kolesterol dan trigliserid dari plasma ke jaringan. Kolesterol LDL merupakan lipoprotein pengangkut kolesterol yang terbesar pada manusia (Suyatna dan Handoko, 2005).

Low Density Lipoprotein (LDL) merupakan derivat dari *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) atau hasil konversi dari *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL). *Very Low Density Lipoprotein* akan segera di hidrolisis oleh lipoprotein lipase setelah keluar dari hati dan masuk ke dalam sirkulasi, sehingga akan kehilangan sebagian trigliserida dan terbentuklah IDL (*VLDL remnant*). *Intermediate Density Lipoprotein* akan mengalami hidrolisis lagi setelah itu barulah terbentuk LDL. *Low Density Lipoprotein* yang terbentuk ini kemudian diambil oleh reseptor LDL dalam hati dan jaringan ekstrahepatik. Dari dalam sirkulasi, LDL akan ditangkap oleh reseptor LDL yang terdapat di permukaan sel. Produksi reseptor LDL terdapat di hepar dan jaringan ekstrahepatik, tetapi dalam hepar terdapat aktivitas reseptor paling tinggi (Mayes, 1999).

Konsentrasi LDL dalam sirkulasi darah ditentukan oleh :

- a. Laju pembentukan LDL, dimana sepertiga dari VLDL yang dibentuk di hepar akan diubah menjadi LDL, sisanya diambil oleh hepar lewat Apolipoprotein E reseptor (Linder, 1992).
- b. Laju pembersihan fraksional, dimana reseptor jaringan hepar dan di luar hepar berafinitas tinggi dan akan menarik LDL melalui HDL yang mengandung Apolipoprotein B-100 (Apo B-100) (Kamaluddin, 1993).

commit to user

Kadar kolesterol LDL yang normal dalam tubuh akan memberikan pasokan kolesterol yang mencukupi ke jaringan. Kolesterol memiliki peran yang penting bagi tubuh seperti sebagai pembentuk struktur membran sel, prekursor semua senyawa steroid di dalam tubuh, seperti kortikosteroid, hormon seks, asam empedu dan vitamin D (Murray *et al.*, 2003).

Berikut ini adalah tabel kadar kolesterol LDL menurut *National Cholesterol Education Program Adult Panel III* (NCEP III).

Tabel 2. Kadar kolesterol LDL menurut kriteria NCEP III

Kadar kolesterol LDL	Interpretasi
< 100	Optimal
100-129	Mendekati optimal
130-159	Diinginkan
160-189	Tinggi
≥ 190	Sangat Tinggi

Sumber: Adam, 2007

Kadar kolesterol LDL yang tinggi di dalam darah memang tidak menimbulkan suatu gejala yang berarti. Hal yang harus diperhatikan dalam tingginya kadar kolesterol dalam darah adalah peranannya dalam etiologi dan perjalanan aterosklerosis (Ganong, 2002). Kaitan erat antara kadar kolesterol LDL yang tinggi dengan aterosklerosis dan penyakit kardiovaskuler yang lain, menjadikan LDL lebih dikenal dengan nama "kolesterol jahat" (Jae, 2005).

3. Dislipidemia

a. Definisi

Dislipidemia adalah kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma.

Kelainan fraksi lipid yang paling utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kenaikan kadar trigliserida serta penurunan kadar HDL (Anwar, 2004).

b. Klasifikasi

- 1) Klasifikasi secara fenotipik melihat perubahan fraksi-fraksi lipid dalam plasma.

Tabel 3. Klasifikasi dislipidemia menurut *European Atherosclerosis Society* (EAS)

	Lipoprotein ↑	Lipid Plasma ↑
Hyperkolesterolemia	LDL	Kolesterol ≥ 200 mg/dl
Dislipidemia campuran (Kombinasi)	LDL dan VLDL	Trigliserida ≥ 200 mg/dl Kolesterol ≥ 240 mg/dl
Hipertrigliseridemia	VLDL	Trigliserida ≥ 200 mg/dl

Sumber : Anwar, 2004

Tabel 4. Klasifikasi dislipidemia menurut *World Health Organization* (WHO)

Fredricson	Klasifikasi generic	Klasifikasi Terapeutik	Peningkatan Lipoprotein
I	Dislipidemia eksogen	Hipertrigliseridemia eksogen	Kilomikron
IIa	Hiperkolesterolemia	Hiperkolesterolemia	LDL
IIb	Dislipidemia kombinasi	- Hiperkolesterolemia endogen - Dislipidemia kombinasi	LDL dan VLDL
III	Dislipidemia Remnant	Hipertrigliseridemia	Partikel-partikel remnant(Beta VLDL)
IV	Dislipidemia Endogen	Hipertrigliseridemia endogen	VLDL
V	Dislipidemia campuran	Hipertrigliseridemia endogen	VLDL dan Kilomikron

Sumber : Anwar, 2004

2) Klasifikasi secara patogenik melihat pada patogenesis atau penyebab terjadinya dislipidemia.

a) Dislipidemia primer

Dislipidemia primer disebabkan oleh predisposisi genetik pada metabolisme lipid. Macam dislipidemia primer yaitu hiperkolesterolemia poligenik, dislipidemia remnant, hiperkolesterolemia familial, hiperlipidemia kombinasi familial, sindroma kilomikron, hipertrigliseridemia familial, peningkatan kolesterol HDL, peningkatan Apolipoprotein B (Anwar, 2004).

b) Dislipidemia sekunder

Dislipidemia sekunder disebabkan gangguan sistemik seperti pada obesitas asupan alkohol berlebihan, diabetes melitus, hipotiroidisme, sindrom nefrotik dan gagal ginjal kronik (Price, 2006). Konsekuensi terpenting dari dislipidemia adalah peningkatan kolesterol serum, terutama lipoprotein densitas rendah (LDL), yang merupakan faktor predisposisi terjadinya aterosklerosis (Price, 2006).

c. Aterosklerosis

Proses aterogenik diawali oleh beberapa bentuk jejas yang terjadi dalam sel endotel. Jejas ini bisa disebabkan oleh stres mekanik seperti hipertensi atau tingginya kadar kolesterol LDL teroksidasi, yang diketahui bahwa bersifat toksik terhadap sel endotel (Gropper *et al.*, 2005). Semakin tinggi kadar kolesterol LDL dalam plasma, maka semakin banyak pula

LDL yang akan mengalami oksidasi dan di tangkap oleh makrofag (Adam, 2006).

LDL yang teroksidasi akan memacu terjadinya disfungsi endotel, pembentukan bercak lemak dan inflamasi yang akan memacu pembentukan plak ateroma. Bila terjadi disfungsi endotel maka LDL dapat memasuki lapisan intima tanpa melalui reseptor. Terjadinya inflamasi akan menarik sel-sel fagosit termasuk makrofag dan monosit masuk dalam dinding pembuluh darah. Makrofag yang memfagosit LDL teroksidasi akan membentuk sel busa yang akan beragregasi dalam lapisan intima membentuk bercak lemak. Makrofag akan melepaskan faktor pertumbuhan yang menyebabkan migrasi otot polos dari lapisan media ke lapisan intima serta memacu proliferasi matriks. Proses ini mengubah bercak lemak menjadi ateroma matur (Price, 2006).

Aterosklerosis dapat terjadi pada arteri di otak, jantung, ginjal, organ vital lainnya, lengan dan tungkai. Jika aterosklerosis terjadi di dalam arteri yang menuju ke otak (arteri karotid) maka dapat terjadi stroke, sedangkan jika terjadi di dalam arteri yang menuju ke jantung (arteri koroner) dapat terjadi PJK (Oentoro, 2007).

4. Peranan Rosela Dalam Menurunkan Kadar kolesterol LDL

Rosela mengandung beberapa bahan aktif yang berfungsi untuk menurunkan kadar kolesterol LDL serum darah, baik secara langsung maupun melalui mekanisme penurunan kolesterol.

a. Vitamin C

commit to user

Kandungan vitamin C dalam 100 gram kelopak rosela adalah 244,4 mg (Aisyah, 2008). Vitamin C berperan meningkatkan kecepatan pembuangan kolesterol dalam bentuk asam empedu, meningkatkan kadar HDL dan meningkatkan pembuangan kotoran. Penyerapan kembali asam empedu dan pengubahannya menjadi kolesterol akan secara otomatis turun, sehingga kadar kolesterol dalam darah turun. Penurunan kolesterol akan menurunkan LDL sebagai pengangkutnya. Peningkatan HDL juga akan meningkatkan pengangkutan LDL ke hati sehingga menurunkan kadar LDL dalam darah.

Vitamin C berperan menjaga keseimbangan (homeostasis) jenis lemak ini di dalam tubuh. Perannya sangat besar pada penurunan kadar kolesterol dan trigliserid yang tinggi, namun vitamin C tidak menurunkan kadar kolesterol dan trigliserid pada orang normal. (Sotyaningtyas, 2007)

b. Niasin

Kandungan niasin dalam 100 gram kelopak rosela adalah 3,765 mg (Aisyah, 2008). Niasin atau vitamin B₃ adalah istilah umum bagi asam nikotinat dan nikotinamid yang termasuk golongan vitamin larut air (Mayes, 2003). Niasin akan mengurangi sekresi apolipoprotein B (apoB), dengan demikian akan menurunkan VLDL dan LDL serum (Davidson, 2003). Mengonsumsi niasin 1 - 1,5 g perhari akan menurunkan kadar kolesterol LDL sebesar 15 - 30% dan kadar HDL meningkat secara nyata (Sotyaningtyas, 2007)

c. Pektin

commit to user

Kandungan pektin sebesar 12 gram dalam 100 gram kelopak rosela (Aisyah, 2008). Pektin adalah salah satu bentuk serat larut air yang dapat menurunkan kadar kolesterol darah (Mayes, 2003). Penurunan kolesterol oleh pektin melalui beberapa mekanisme. Mekanisme yang pertama, pektin mengikat asam empedu dan kolesterol yang akan menghambat pembentukan misel sehingga menurunkan absorpsi kolesterol. Melalui proses ini ekskresi asam empedu dan kolesterol dalam feses akan meningkat sehingga menurunkan asam empedu yang masuk dalam siklus enterohepatik, maka absorpsi kolesterol oleh hati dapat diturunkan. Penurunan jumlah kolesterol dalam hati akan menyebabkan pemindahan LDL dari sirkulasi pembuluh darah. Peningkatan ekskresi asam empedu juga akan memacu penggunaan kolesterol untuk sintesis asam empedu, sehingga hasil akhirnya adalah penurunan kolesterol. Mekanisme kedua yaitu, pektin menggeser jalur asam empedu dari pembentukan *cholic acid* menjadi *chenodeoxycholic acid* yang berfungsi untuk menghambat HMG CoA reduktase yang akan menurunkan sintesis kolesterol dalam hati (Gropper *et al.*, 2005). Penurunan kadar kolesterol akan menurunkan pula kadar LDL sebagai pengangkut kolesterol terbesar.

d. Senyawa fenolik

Senyawa fenolik atau polifenol adalah substansi kimia yang ditemukan dalam tumbuhan, ciri khasnya adalah terdiri dari lebih dari satu macam fenol. Golongan polifenol terdiri atas tannin, lignin dan flavonoid (Anonim, 2008).

commit to user

Polifenol menurunkan absorpsi kolesterol dengan cara berikatan pada *cholesterol carriers* saat melewati membran *brush border*. Mekanisme polifenol dalam menurunkan kadar kolesterol adalah dengan penurunan sekresi apoB yang menurunkan produksi lipoprotein terutama LDL (Zern dan Fernandez, 2005). Polifenol juga menurunkan HMG CoA reduktase, sehingga sintesis kolesterol dalam hati menurun (Kim *et al.*, 2006). Flavonoid dapat menurunkan kadar kolesterol darah dengan cara meningkatkan ekskresi asam empedu (Carvajall-Zarrabal *et al.*, 2005). Komponen senyawa fenolik bersifat polar dan dapat larut dalam air serta memiliki fungsi antara lain sebagai penangkap radikal bebas dan peredam terbentuknya *oxygen singlet* (O^{\cdot}) (Kumalaningsih, 2007).

Antosianin adalah golongan flavonoid yang membuat warna merah, jingga atau biru pada buah dan bunga. Antosianin mengandung antioksidan yang potensial berperan dalam mencegah penyakit jantung koroner dengan kemampuannya menghambat proses oksidasi LDL (Galvano, 2005). Dalam 3 gram ekstrak rosela yang dilarutkan dalam 300 ml air, didapatkan antioksidan sebesar 24% dan antosianin sebesar 51% (Maryani dan Kristiana, 2008).

5. Propiltiourasil (PTU)

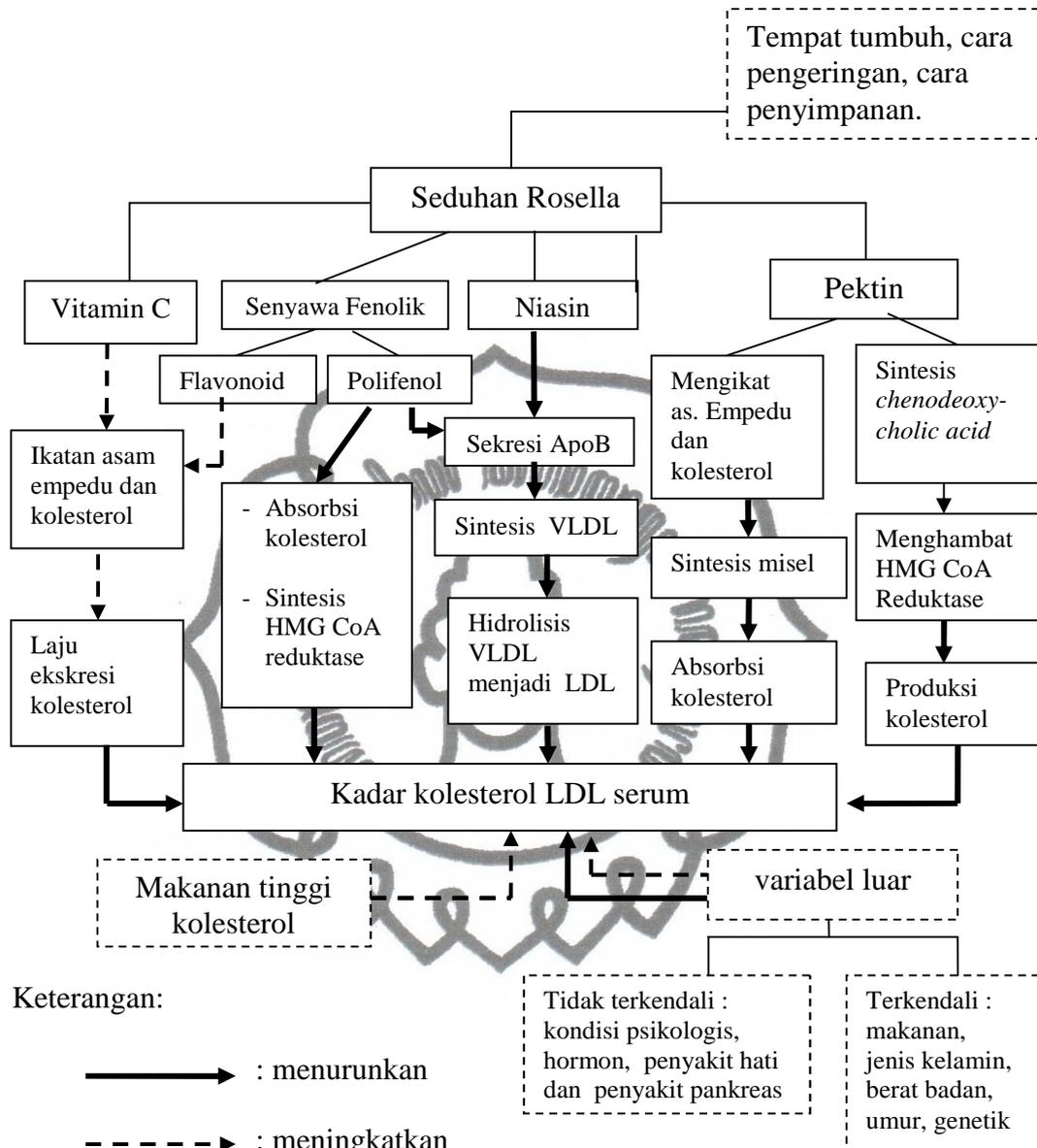
Tikus relatif resisten terhadap perubahan profil lipid dikarenakan tikus cenderung hipertiroid (Murray *et al.*, 2003). Hormon tiroid mengaktifkan hormon sensitif lipase sehingga proses katabolisme lipid dalam tubuh tikus tinggi. Induksi hiperkolesterol dengan pakan hiperkolesterolemik

dipermudah dengan menurunkan aktivitas hormon tiroid tikus putih (Marina, 1994).

Propiltiourasil (PTU) adalah zat kimia yang menekan aktivitas kelenjar tiroid, berupa tablet yang dihaluskan dan dilarutkan dalam air. Propiltiourasil diberikan pada tikus melalui air minumnya dengan konsentrasi PTU sebesar 0,01%, artinya dalam satu liter air terlarut 100 mg PTU. Air minum disediakan dalam tempat air minum dan diberikan *ad libitum* (Phyto medica, 1993).

B. Kerangka pemikiran

Tempat tumbuh, cara pengeringan dan cara penyimpanan rosela akan mempengaruhi kualitas rosela serta kandungan zat aktif yang ada didalamnya. Kandungan zat aktif dalam rosela mempunyai kemampuan menurunkan kadar kolesterol LDL darah dengan berbagai mekanisme. Kolesterol LDL darah tikus putih dipengaruhi oleh pemberian seduhan kelopak rosela, induksi makanan tinggi kolesterol serta berbagai variabel luar, baik variabel luar yang dapat dikendalikan maupun yang tidak dapat dikendalikan



C. Hipotesis

1. Pemberian seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dapat mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL darah tikus putih (*Rattus novergicus*).
2. Pemberian seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis yang lebih tinggi mampu mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL darah tikus putih (*Rattus novergicus*) lebih besar.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *Randomized Controlled Trial* (RCT) yaitu *pretest and posttest control group design* (Murti, 2007).

B. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta (UNS).

C. Subjek Penelitian

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, *strain* Wistar, sehat dan mempunyai aktivitas normal, tidak kawin, berumur kira-kira 3 bulan dengan berat kira-kira 200 gram. Tikus diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
2. Menurut Purawisastra (2001), banyaknya sampel ditentukan dengan menggunakan Rumus Federer, dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Rumus Federer : } (n-1) (t-1) > 15$$

n : besar sampel

t : jumlah perlakuan

Jadi banyaknya sampel yang diperlukan, menurut rumus Federer :

commit to user

$$(n-1)(t-1) > 15 \quad ; t = 3$$

$$\Leftrightarrow (n-1)(3-1) > 15$$

$$\Leftrightarrow 2n-2 > 15$$

$$\Leftrightarrow 2n > 17$$

$$\Leftrightarrow n > 8,5 \quad ; \text{dibulatkan menjadi } 9$$

(Purawisastra, 2001)

Jadi, jumlah sampel harus lebih besar atau sama dengan 9 ekor tikus tiap kelompok. Dalam penelitian ini, setiap kelompok terdiri dari 10 ekor tikus, sehingga banyaknya sampel telah memenuhi.

D. Teknik Sampling

Pengambilan sampel penelitian dilakukan secara *purposive sampling*. Sebanyak 30 ekor tikus putih dengan kriteria tikus jantan, *strain Wistar*, sehat dan mempunyai aktivitas normal, tidak kawin, berumur kira-kira 3 bulan dengan berat kira-kira 200 gram. Subjek penelitian dibagi dalam 3 kelompok secara random, tiap-tiap kelompok terdiri dari 10 ekor tikus. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol sedangkan kelompok 2 dan 3 sebagai kelompok perlakuan.

E. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*)

Skala variabel : ordinal

commit to user

Variabel terikat : Kadar kolesterol LDL darah tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Skala variabel : Rasio

2. Variabel luar

a. Dapat dikendalikan : makanan, genetik, jenis kelamin, umur, berat badan.

b. Tidak dapat dikendalikan : kondisi psikologis (stres), hormon, penyakit hati dan pankreas, kualitas kelopak rosela.

F. Definisi Operasional Variabel

1. Seduhan kelopak rosela

Yang dimaksud seduhan kelopak rosela dalam penelitian ini adalah kelopak kering rosela yang diseduh dengan air panas (suhu 70⁰C), kemudian didiamkan selama 4 menit. Melalui perhitungan dosis kelopak rosela (lampiran 1) diperoleh dosis kelopak rosela yang diberikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan berat \pm 200 gram adalah 36 mg, yang diseduh dengan 3,6 ml *aquadest*. Untuk mengetahui dosis yang lebih efektif dalam menurunkan kolesterol total darah dipakai dosis 1,5 kalinya yaitu 54 mg yang diseduh dengan 3,6 ml *aquadest*. Diukur dengan timbangan digital, dengan skala ukur yang digunakan adalah skala ordinal.

2. Kadar kolesterol LDL darah

Kadar kolesterol LDL dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol LDL yang didapat dengan cara berikut. Setelah masa adaptasi selama 7 hari

(hari ke-7) dan setelah masa perlakuan (hari ke-35) dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol LDL darah tikus dari masing-masing kelompok, dimana tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam. Pemeriksaan dilakukan dengan cara mengambil darah tikus melalui *sinus orbitalis* menggunakan pipet mikro hematokrit. Darah dialirkan melalui pipet mikro hematokrit, kemudian ditampung dalam tabung sentrifuge. Darah dalam tabung sentrifuge dipusingkan selama 15-20 menit dengan kecepatan 3000 rpm maka akan didapatkan serum darah untuk diperiksa kadar kolesterol LDL serum darahnya. Kadar kolesterol LDL yang didapatkan adalah kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan (*pretest*) dan setelah perlakuan (*postest*).

Darah dengan volume 1 mL dapat menghasilkan $\pm 0,5$ mL serum darah. Serum darah yang diperlukan untuk pemeriksaan kolesterol LDL adalah 200 μL (0,2 mL) oleh sebab itu darah yang diambil cukup 1mL saja. Kolesterol LDL darah tikus diukur dengan metode *spectrophotometry*, satuan hasil pengukurannya dinyatakan dalam mg/dl.

Skala variabel : rasio

3. Jenis kelamin

Jenis kelamin merupakan variabel pengganggu yang dapat dikendalikan. Hormon estrogen pada tikus betina dapat berpengaruh terhadap kadar LDL kolesterol dengan menstimulasi pembentukan reseptor LDL pada permukaan sel sehingga meningkatkan proses pembersihan LDL dari serum (Cunanne dan Griffin, 2002). Dalam penelitian ini digunakan

commit to user

tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan supaya sampel bersifat homogen serta menghindari adanya pengaruh hormon esterogen.

4. Umur

Umur hewan coba mempunyai pengaruh penting. Serum kolesterol pada tikus umur 6 minggu akan meningkat, kemudian menurun beberapa minggu. Serum kolesterol mencapai kadar minimum pada umur 12 minggu, setelah itu meningkat lagi (Kritchevsky, 1993). Umur merupakan variabel pengganggu yang dapat dikendalikan dengan cara digunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) berumur 3 bulan untuk membuat sampel homogen dan menghindari peningkatan serum kolesterol karena faktor umur.

5. Berat Badan

Berat badan akan mempengaruhi dosis seduhan kelopak rosela yang digunakan, selain itu adanya perbedaan berat badan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) membuat peningkatan berat badan tidak murni karena perlakuan. Berat badan dapat dikendalikan dengan cara menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang beratnya 200 gram dan dilakukan penimbangan berat badan tikus setiap minggunya untuk mengetahui apakah perlu penyesuaian dosis seduhan kelopak rosela.

6. Makanan

a. Makanan hiperkolesterolemik

Makanan hiperkolesterolemik dalam penelitian ini berdasarkan panduan pengujian fitofarmaka yaitu dengan cara mencampur 5 mL kuning telur itik, 10 mL minyak babi, 1 mL minyak kelapa dan 0,1 gram

commit to user

serbuk kolesterol sehingga didapatkan suatu campuran berbentuk cair (Phyto Medica, 1993). Pemberian makanan hiperkolesterolemik setiap kelompok dibuat sama jenisnya dan dilakukan dua kali sehari pada pukul 07.00 dan 15.00, masing-masing 2,5 mL melalui sonde lambung. Pemberian makanan hiperkolesterolemik bersamaan dengan pemberian seduhan kelopak rosela selama 4 minggu.

b. Makanan standar

Makanan standar dalam penelitian ini berupa pellet (Lampiran 3) diberikan pada tikus dua kali sehari, setiap pagi dan sore hari.

7. Faktor genetik

Faktor genetik berperan dalam menentukan kadar kolesterol, baik dalam jenis reseptor maupun enzim-enzim yang terlibat dalam metabolisme kolesterol. Faktor genetik tidak dapat dikendalikan secara mutlak. Hal ini diatasi dengan pemilihan subjek penelitian yang berasal dari galur yang sama (strain Wistar) dan menggunakan sistem randomisasi sehingga diharapkan distribusi dari faktor genetik ini merata pada tiap kelompok penelitian.

8. Kondisi psikologis

Kondisi psikologis tikus dapat dipengaruhi oleh perlakuan yang berulang kali. Keadaan *stress* dapat memacu produksi hormon epinefrin, norepinefrin, kortikotropin dan glukokortikoid yang akan mengaktifkan hormon peka lipase trigliserid yang memecah trigliserid dan meningkatkan asam lemak bebas (Guyton dan Hall, 1997). Kondisi ini dapat

commit to user

diminimalkan dengan adanya waktu adaptasi sebelum percobaan dan pemisahan subjek penelitian dalam kandang yang terpisah.

9. Hormon

Sistem hormon berpengaruh pada pengaturan kadar kolesterol darah. Dalam keadaan normal, bermacam-macam hormon disekresi dalam tubuh yang nantinya dapat mempengaruhi metabolisme kolesterol darah.

Hormon-hormon yang berpengaruh pada metabolisme kolesterol adalah hormon pertumbuhan (*growth hormon*), tiroid, epinefrin dan norepinefrin, kortikotropin, glukokortikoid dan insulin. Semua hormon diatas sifatnya meningkatkan terjadinya lipolisis, kecuali insulin yang memiliki sifat anti lipolisis (Guyton dan Hall, 1997).

Dalam keadaan normal, tikus putih bersifat hipertiroid. Pengaruh hipertiroid pada tikus putih tersebut minimalkan diberikan propiltiourasil 0,01% pada air minum tikus.

Faktor hormonal ini tidak dapat dikendalikan sepenuhnya, karena sulitnya pendeteksian dini terhadap kelainan hormonal dan pemeriksaan membutuhkan biaya yang besar

10. Kualitas rosela

Tempat tumbuh dan proses pengeringan yang dilakukan akan mempengaruhi kualitas zat gizi yng terkandung dalam rosela (Maryani dan Kristiana, 2008). Pengolahan, pengemasan dan penyimpanan minuman Hibiscus sabdariffa tidak cukup menjaga senyawa aktif di dalamnya. Khasiatnya menghilang seiring warna merah yang memudar karena

commit to user

terjadinya degradasi antosianin oleh sinar matahari secara langsung (Faridah, 2008). Untuk mengendalikannya digunakan kelopak rosela yang dikeringkan secara higienis dengan suhu yang terjaga dan disimpan dalam tempat tertutup yang terlindung dari sinar matahari secara langsung. Kelopak rosela didapat dan dikeringkan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Tawangmangu.

11. Penyakit Hati

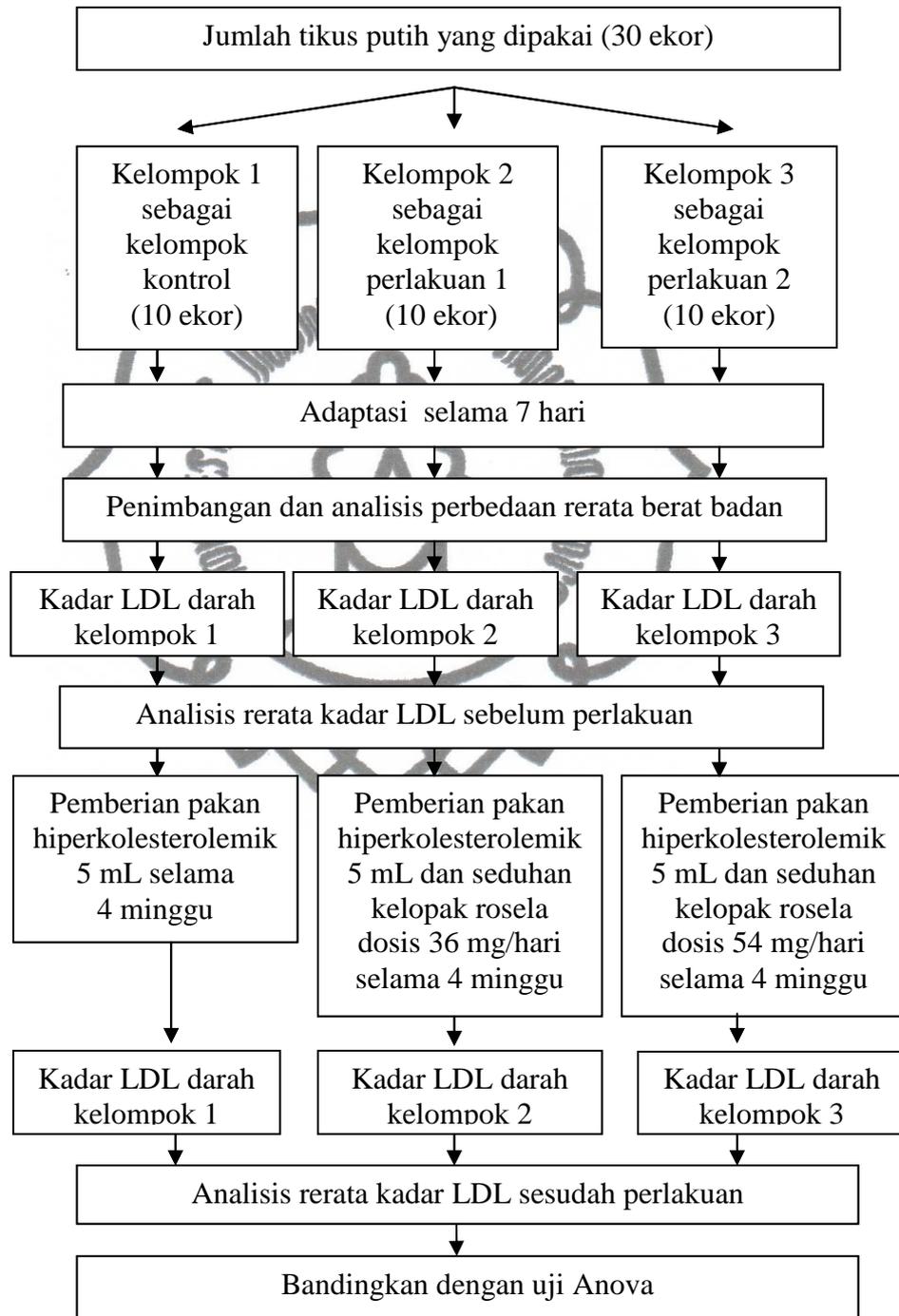
Hati merupakan tempat metabolisme kolesterol terutama dalam menghasilkan asam empedu, selain itu juga merupakan reseptor terbesar bagi LDL. Oleh sebab itu, penyakit hati pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) akan mempengaruhi kadar kolesterol. Penyakit hati merupakan variabel yang tidak dapat dikendalikan karena sulitnya pendeteksian dini dan membutuhkan pemeriksaan dengan biaya besar.

12. Penyakit pankreas

Pankreas merupakan suatu kelenjar endokrin yang memproduksi hormon insulin, glukagon, somatostatin dan polipeptida pankreas (Murray *et al.*, 2003). Penyakit pankreas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) akan mempengaruhi kadar kolesterol, dimana diketahui bahwa insulin memiliki efek anti lipolisis. Penyakit pankreas merupakan variabel yang tidak dapat dikendalikan, karena sulitnya pendeteksian dini dan membutuhkan pemeriksaan dengan biaya besar.

G. Rancangan Penelitian

Rancangan eksperimental murni “*pre and post test controlled group design*”.



commit to user

H. Alat yang digunakan

1. Sonde lambung
2. Pipet mikro hematokrit
3. Rak tabung reaksi
4. Tabung sentrifuge
5. Gelas ukur kecil
6. Spuit 5 mL
7. Pengaduk
8. Saringan
9. Sentrifuge
10. Pemanas water bath
11. Cawan porselin
12. Timbangan
13. Kandang hewan percobaan beserta kelengkapan pemberian makanan
14. *Spectrophotometer* (alat untuk mengukur kadar LDL)

I. Bahan Penelitian

1. Seduhan kelopak rosela
2. Makanan hiperkolesterolemik
3. Makanan standard menggunakan pellet
4. Air minum ditambah propiltiourasil 0,01 %
5. Kolesterol kit dan presipitat LDL (reagen untuk pemeriksaan LDL)

J. Jalannya Penelitian

1. Subjek penelitian dibagi menjadi tiga kelompok secara random sehingga dalam satu kelompok terdiri atas 10 tikus. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol, kelompok 2 dan 3 sebagai kelompok perlakuan.
2. Selama 7 hari subjek penelitian diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium tempat penelitian dan diberi makanan standar secara *ad libitum* untuk tikus yaitu pellet dan akuades. Untuk tikus seberat 200 gr setiap harinya membutuhkan minum sebanyak 20-45 mL air (Smith, 1998).
3. Berat badan subjek penelitian ditimbang. Perbedaan rerata kadar berat badan dianalisis menggunakan uji-Anova. Bila didapatkan perbedaan yang bermakna, maka dicari data berat badan tikus yang jauh di atas atau di bawah rerata untuk dapat diganti dengan data dari tikus yang lain untuk mencapai keadaan homogen. Bila tidak didapatkan perbedaan bermakna dilanjutkan dengan langkah berikutnya. Untuk selanjutnya penimbangan dan analisis perbedaan rerata berat badan dilakukan seminggu sekali untuk mengetahui apakah perlu penyesuaian dosis.
4. Setelah 7 hari semua subjek penelitian diambil darahnya untuk pemeriksaan kadar kolesterol LDL darah sebelum perlakuan (*pretest*). Setiap subjek penelitian dipuaskan dahulu selama 12 jam, sebelum darahnya diambil. Pemeriksaan dilakukan dengan cara mengambil darah tikus melalui *sinus orbitalis* menggunakan pipet mikro hematokrit. Darah dialirkan melalui pipet mikro hematokrit, kemudian ditampung dalam tabung sentrifuge (± 1 mL). Darah dalam tabung sentrifuge dipusingkan selama 15-20 menit

commit to user

dengan kecepatan 3000 rpm maka akan didapatkan serum darah untuk diperiksa kadar kolesterol LDL. Kadar kolesterol LDL yang didapatkan adalah kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan (*pretest*). Kadar kolesterol LDL diukur dengan metode *spectrophotometry*.

5. Melakukan analisis data rerata kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan (*pretest*) diantara ketiga kelompok menggunakan uji-Anova. Bila didapatkan perbedaan yang bermakna, maka dicari data kolesterol LDL yang jauh di atas atau di bawah rerata untuk dapat diganti dengan data dari tikus yang lain untuk mencapai keadaan homogen sebelum perlakuan. Bila tidak didapatkan perbedaan bermakna dilanjutkan dengan langkah berikutnya.
6. Pembuatan seduhan kelopak rosela dilakukan dua kali sehari setiap akan diberikan pada tikus putih. Setelah dikonversi, dosis seduhan kelopak rosela yang akan diberikan pada tikus putih pada penelitian ini adalah sebanyak 36 mg dalam 3,6 ml air panas (70°C). Untuk mengetahui dosis yang lebih efektif dalam menurunkan kadar kolesterol LDL darah dipakai dosis 1,5 kalinya yaitu 54 mg dalam 3,6 ml air panas (70°C). Seduhan kelopak rosela diberikan secara oral menggunakan sonde lambung dengan dosis terbagi dua pada pukul 7.00 dan pukul 15.00 untuk memberikan efek secara maksimal.
7. Pembuatan pakan hiperkolesterolemik Pembuatan pakan hiperkolesterolemik dilakukan dengan cara mencampur 5 mL kuning telur, 10 mL minyak babi, 1 mL minyak kelapa dan 0,1 gram serbuk kolesterol

commit to user

sehingga didapatkan suatu campuran berbentuk cair (Phyto Medica, 1993). Pembuatan pakan hiperkolesterolemik dilakukan tiga hari sekali. Pakan hiperkolesterolemik diberikan secara oral menggunakan sonde lambung dua kali sehari pada pukul 07.00 dan pukul 15.00, masing-masing 2,5 ml. Air minum yang mengandung PTU diberikan secara *ad libitum* selama perlakuan.

8. Pemberian perlakuan yang berbeda bagi masing-masing kelompok yaitu:
- a. Kelompok 1: Kelompok kontrol
Selama 4 minggu diberikan induksi pakan hiperkolesterolemik, masing-masing subjek penelitian diberi 2,5 ml peroral melalui sonde. Pemberian pakan dua kali sehari, pada pagi hari jam 7.00 WIB dan pada sore hari jam 15.00 WIB.
 - b. Kelompok 2: Kelompok perlakuan dengan seduhan kelopak rosela dosis 1 (36 mg)
Selama 4 minggu subjek penelitian diberikan pakan hiperkolesterolemik masing-masing subjek penelitian diberi 2,5 ml ditambah 36 mg seduhan kelopak rosela diberikan peroral melalui sonde pada pagi hari jam 7.00 WIB dan pada sore hari jam 15.00 WIB.
 - c. Kelompok 3: Kelompok perlakuan dengan seduhan kelopak rosela dosis 2 (54 mg)
Selama 4 minggu subjek penelitian diberikan pakan hiperkolesterolemik masing-masing subjek penelitian diberi 2,5 ml ditambah 54 mg seduhan

kelopak rosela diberikan peroral melalui sonde pada pagi hari jam 07.00 WIB dan pada sore hari jam 15.00 WIB.

9. Setelah hari ke-35 (akhir minggu ke-5), semua subjek penelitian diambil darahnya untuk pemeriksaan kadar kolesterol LDL darah setelah perlakuan (*postest*). Semua subjek penelitian dipuasakan dahulu selama 12 jam sebelum diambil darahnya. Pemeriksaan dilakukan dengan cara mengambil darah tikus melalui *sinus orbitalis* menggunakan pipet mikro hematokrit. Darah dialirkan melalui pipet mikro hematokrit, kemudian ditampung dalam tabung sentrifuge. Darah dalam tabung sentrifuge dipusingkan selama 15-20 menit dengan kecepatan 3000 rpm maka akan didapatkan serum darah untuk diperiksa kadar kolesterol LDL. Kadar kolesterol LDL yang didapatkan adalah kadar kolesterol LDL setelah perlakuan (*postest*). Kadar kolesterol LDL diukur dengan metode *spectrophotometry*.
10. Membandingkan rerata kadar kolesterol LDL darah antara ketiga kelompok dengan uji-Anova dan mengolah data hasil pemeriksaan kadar kolesterol LDL darah tikus putih.

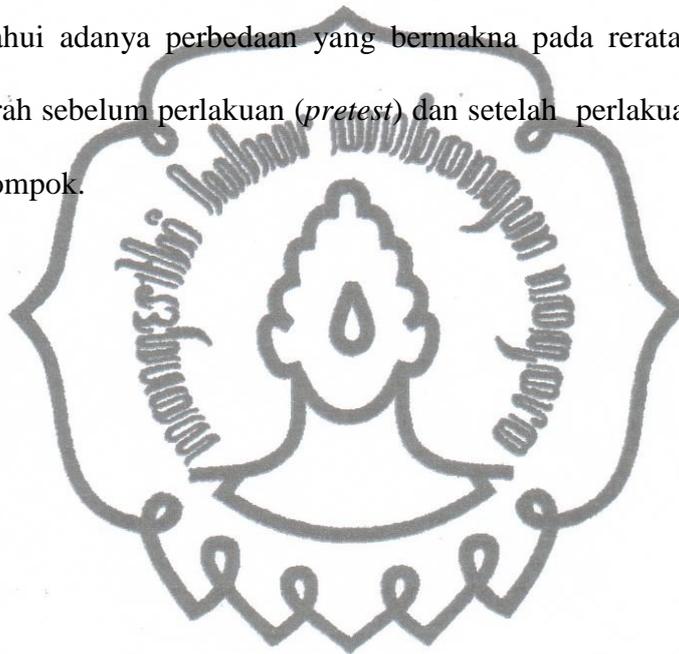
K. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dari masing-masing kelompok, baik sebelum perlakuan (*pretest*) maupun setelah perlakuan (*postest*), dianalisis menggunakan SPSS *for Windows* versi 16 dengan uji-ANOVA. Data yang diolah menggunakan ANOVA *test* harus memenuhi syarat memiliki sebaran yang normal dan kesamaan varian, yang dapat diperiksa dengan uji normalitas

commit to user

dan uji homogenitas varian. Jika didapatkan perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji *post hoc* LSD. Uji ANOVA untuk membandingkan perbedaan rerata lebih dari 2 kelompok sedangkan uji-LSD untuk mengetahui letak perbedaan terkecil antara ketiga kelompok

Dilakukan pula analisis data menggunakan Uji-t dengan tujuan mengetahui adanya perbedaan yang bermakna pada rerata kadar kolesterol total darah sebelum perlakuan (*pretest*) dan setelah perlakuan (*postest*) antara dua kelompok.



BAB IV

HASIL PENELITIAN

Penelitian mengenai pengaruh rosela terhadap kadar kolesterol LDL darah tikus ini dilakukan dengan menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sebanyak 30 ekor dengan strain yang sama yaitu strain *Wistar*, berat badan antara 160-240 gram yang berumur kira-kira 3 bulan dalam keadaan sehat. Tikus-tikus tersebut kemudian dikelompokkan menjadi 3, dimana masing-masing kelompok terdiri atas 10 ekor tikus. Kelompok I merupakan kelompok kontrol (tanpa pemberian seduhan rosela), kelompok II merupakan kelompok perlakuan 1 (diberikan seduhan kelopak rosela 36mg/200gramBB/hari), dan kelompok III merupakan kelompok perlakuan 2 (diberikan seduhan kelopak rosela 54mg/200gramBB/hari). Pengaruh faktor lingkungan diminimalkan dengan memasukkan tikus-tikus dalam kandang, tiap kandang berisi 1 ekor tikus dengan keadaan suhu dan kelembaban ruang yang sama.

Penimbangan dilakukan sebelum penelitian berjalan untuk mengetahui keseragaman berat badan dan rerata berat badan tikus. Hasil penimbangan berat badan tikus putih (lampiran 7) dianalisis secara statistik dan didapatkan rerata berat badan tikus putih. Rerata berat badan tikus putih sebelum perlakuan dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 5. Rerata berat badan tikus putih sebelum perlakuan

Kelompok	Rerata berat badan sebelum perlakuan \pm Simpangan Baku (gram)
I (N=10)	208,25 \pm 7,64
II (N=10)	207,75 \pm 9,89
III (N=10)	207,25 \pm 9,89

Keseragaman berat badan tikus diuji dengan uji homogenitas, didapatkan nilai probabilitas sebesar 0,723 ($p > 0,05$) yang berarti berat badan tikus homogen yang menyatakan bahwa syarat uji ANOVA terpenuhi. Uji ANOVA terhadap rerata data diatas didapatkan nilai $p: 0,971$ ($p > 0,05$), dengan demikian H_0 diterima yang berarti tidak terdapat perbedaan berat badan tikus putih secara signifikan (lampiran 10).

Penimbangan terhadap berat badan tikus juga dilakukan setiap akhir minggu untuk mengetahui apakah diperlukan perubahan dosis seduhan Rosela sekaligus untuk mengetahui adakah pengaruh seduhan rosela terhadap berat badan tikus. Hasil penimbangan berat badan tikus tiap minggu dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 6. Rerata peningkatan berat badan tikus putih selama kurun waktu penelitian (4 minggu) (gram) \pm Simpangan Baku.

Kelompok	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4
I (N=10)	208,25 \pm 7,64	220 \pm 10,54	225,75 \pm 10,28	234 \pm 9,66
II (N=10)	207,75 \pm 9,89	210,5 \pm 9,85	211,75 \pm 7,82	208,75 \pm 10,09
III (N=10)	207,25 \pm 9,89	211,75 \pm 9,43	208 \pm 12,74	208,5 \pm 14,35

Diagram berikut disajikan untuk mengetahui peningkatan berat badan tikus putih selama penelitian :

commit to user

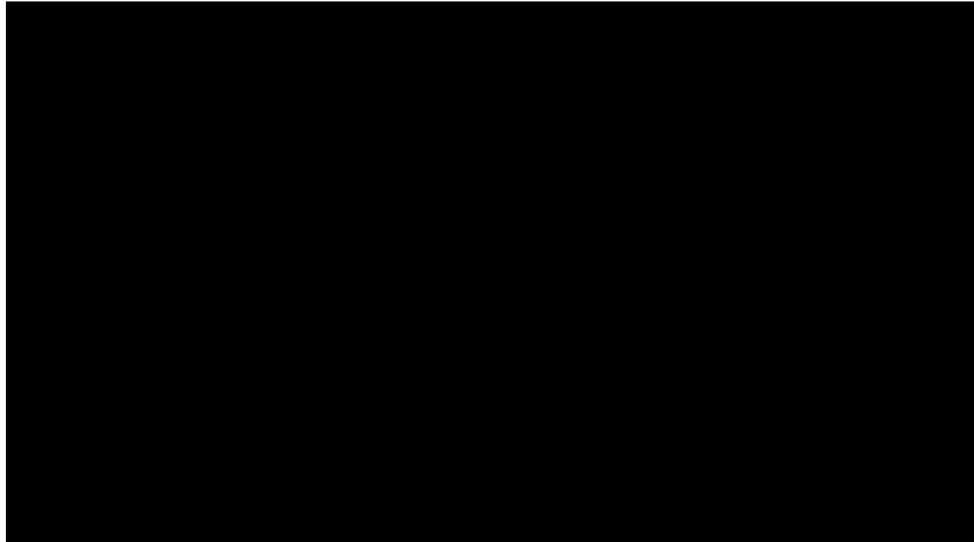


Diagram 1. Rerata Peningkatan Berat Badan Tikus Putih selama Penelitian

Uji ANOVA terhadap hasil penimbangan berat badan tikus kelompok I selama 4 minggu didapatkan nilai probabilitas 0,000 ($p < 0,05$), dengan demikian H_0 ditolak yang berarti terdapat perbedaan berat badan tikus putih secara signifikan (lampiran 11). Hal ini menunjukkan adanya peningkatan berat badan tikus putih kelompok I secara signifikan.

Uji ANOVA terhadap hasil penimbangan berat badan tikus kelompok II selama 4 minggu didapatkan nilai probabilitas 0,785 ($p > 0,05$), sedangkan hasil penimbangan berat badan tikus kelompok III selama 4 minggu didapatkan nilai probabilitas 0,837 ($p > 0,05$) dengan demikian H_0 diterima yang berarti tidak ada perbedaan berat badan tikus putih secara signifikan (lampiran 12 dan 13). Oleh karena itu tidak dilakukan perubahan dosis pemberian seduhan kelopak rosela pada kelompok II dan III.

Berat badan yang homogen sebelum perlakuan menjadi dasar untuk melakukan langkah penelitian berikutnya yaitu adaptasi di lingkungan laboratorium untuk mengurangi stres karena tikus putih berasal dari tempat yang berbeda dengan laboratorium penelitian. Selama 1 minggu tikus putih berada

dalam kandang di lingkungan laboraorium yang diberi pakan berupa pelet BR. Satu minggu kemudian tikus putih dipuasakan 12 jam untuk persiapan pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan. Perlakuan pemberian seduhan kelopak rosela untuk mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL tikus putih dilakukan selama 4 minggu. Seduhan rosela diberikan bersama pakan hiperkolesterolemik dan juga PTU. Akhir minggu ke-4 tikus dipuasakan kembali selama 12 jam untuk persiapan pengambilan sampel darah yang akan diperiksa kadar kolesterol LDL-nya. Rerata hasil pengukuran kadar kolesterol LDL serum dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 7. Rerata kadar kolesterol LDL sebelum dan setelah perlakuan pada tikus putih \pm Simpangan baku (mg/dl)

Kelompok	Rerata kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan \pm Simpangan Baku	Rerata kadar kolesterol LDL setelah perlakuan \pm Simpangan Baku
I (N=10)	20,06 \pm 3,428	90,399 \pm 30,557
II (N=10)	20,83 \pm 4,592	73,004 \pm 35,339
III (N=10)	23,59 \pm 4,624	63,185 \pm 29,827

Keterangan:

Kelompok I : tanpa pemberian seduhan kelopak rosela

Kelompok II : diberikan seduhan kelopak rosela 36 mg/200 gram BB/hari

Kelompok III : diberikan seduhan kelopak rosela 54 mg/200 gram BB/hari

Diagram berikut disajikan untuk mengetahui peningkatan kolesterol LDL darah tikus putih sebelum dan setelah perlakuan :

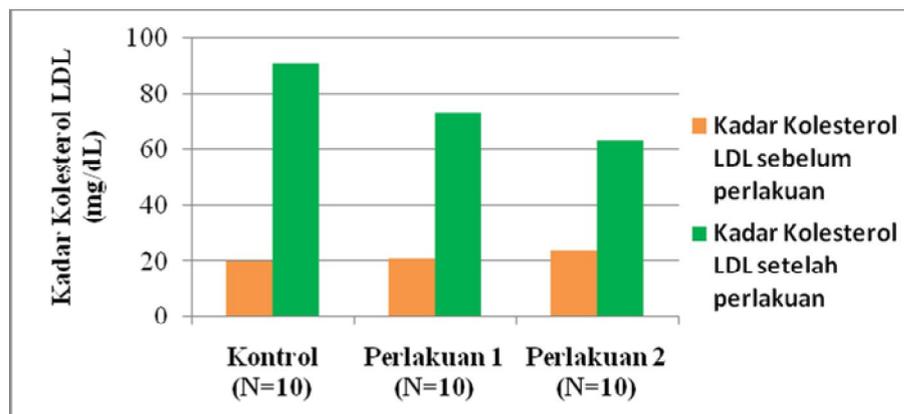


Diagram 2. Rerata kadar Kolesterol LDL darah tikus putih sebelum dan setelah perlakuan (mg/dL).

Uji homogenitas terhadap kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan didapatkan nilai $p: 0,496$ ($p > 0,05$), dengan demikian kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan tidak berbeda secara signifikan antara ketiga kelompok yang menunjukkan terpenuhinya syarat uji ANOVA. Analisis menggunakan uji ANOVA didapatkan $p: 0,168$ ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar kolesterol LDL serum tikus putih pada ketiga kelompok sebelum perlakuan secara signifikan (lampiran 10).

Analisis data kadar kolesterol LDL sebelum dan setelah perlakuan yang diperoleh dari masing-masing kelompok dilanjutkan menggunakan uji t berpasangan (lampiran 17). Hasil yang didapat dari uji t berpasangan yaitu :

- a. Kelompok Kontrol didapatkan $p: 0,000$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan kadar kolesterol LDL serum sebelum dan setelah perlakuan secara signifikan.

- b. Kelompok Perlakuan 1 didapatkan $p : 0,001$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan kadar kolesterol LDL serum sebelum dan setelah perlakuan secara signifikan.
- c. Kelompok Perlakuan 2 didapatkan $p : 0,003$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan kadar kolesterol LDL serum sebelum dan setelah perlakuan secara signifikan.

Selisih kadar kolesterol LDL sebelum dan setelah perlakuan dari masing-masing kelompok didapatkan dari pengurangan kadar kolesterol LDL setelah perlakuan dengan kadar kolesterol LDL sebelum. Rerata selisih kadar kolesterol LDL dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 8. Rerata selisih kadar kolesterol LDL sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok	Selisih kadar kolesterol LDL sebelum dan setelah perlakuan \pm Simpangan Baku (mg/dl)
I (N=10)	70,339 \pm 30,528
II (N=10)	52,217 \pm 35,657
III (N=10)	39,595 \pm 31,039

Dari data yang telah diperoleh dapat diketahui bahwa terjadi peningkatan kadar kolesterol LDL pada semua kelompok. Rerata selisih kadar kolesterol LDL sebelum dan setelah perlakuan dianalisis dengan uji homogenitas didapatkan $p:0,863$ yang menunjukkan bahwa data diatas homogen. Analisis data dilanjutkan menggunakan uji-ANOVA (lampiran 18) dan didapatkan $p = 0,123$ ($p > 0,05$), H_0 diterima sehingga tidak terdapat perbedaan rata-rata peningkatan kadar kolesterol LDL yang signifikan antar kelompok.

Sebagai analisis tambahan, untuk melihat adanya perbedaan antar kelompok data berat badan tikus putih sesudah perlakuan antara kelompok I,

kelompok II, dan kelompok III dilakukan uji ANOVA. Pada uji ini ternyata didapatkan hasil $p=0,000$ ($p<0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan peningkatan berat badan yang signifikan setelah 4 minggu perlakuan. Setelah dilanjutkan dengan uji-LSD didapatkan hasil sebagai berikut :

1. Kelompok I dengan kelompok II didapatkan $p: 0,000$ ($p<0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa rerata berat badan tikus putih pada kelompok I lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok II.
2. Kelompok I dengan kelompok III didapatkan $p: 0,000$ ($p<0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa rerata berat badan tikus putih pada kelompok I lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok III.
3. Kelompok II dengan kelompok III didapatkan $p: 0,962$ ($p>0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan rerata berat badan tikus putih yang signifikan.

BAB V

PEMBAHASAN

Penimbangan berat badan tikus putih dilakukan sebelum perlakuan dengan tujuan untuk mengetahui keseragaman berat badan, status gizi serta kemungkinan adanya penyakit pada tikus putih setelah masa adaptasi, karena hal-hal tersebut dapat menjadi faktor perancu hasil penelitian. Hasil uji homogenitas berat badan tikus putih sebelum perlakuan (lampiran 10) didapatkan nilai probabilitas 0,723 ($p > 0,05$), yang berarti berat badan tikus homogen. Dilakukan uji-ANOVA untuk membandingkan rerata berat badan ketiga kelompok sebelum perlakuan didapatkan nilai $p = 0,971$. Hal ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan berat badan yang signifikan ($p > 0,05$) diantara ketiga kelompok (lampiran 10). Berdasarkan uraian di atas dapat disimpulkan bahwa terdapat keseragaman berat badan tikus putih sehingga penelitian dapat dilanjutkan. Berat badan tikus putih dapat meningkat seiring pemberian pakan hiperkolesterolemik. Dosis seduhan rosela diberikan berdasarkan berat badan tikus, oleh sebab itu untuk mengetahui apakah perlu penyesuaian dosis maka selama penelitian berjalan perlu dilakukan penimbangan berat badan tikus di akhir minggu.

Hasil uji ANOVA terhadap berat badan tikus kelompok I selama 4 minggu didapatkan nilai probabilitas 0,000 ($p < 0,05$), dengan demikian H_0 ditolak yang berarti terdapat perbedaan berat badan tikus putih secara signifikan (lampiran 11).

Hasil uji ANOVA terhadap hasil penimbangan berat badan tikus kelompok II selama 4 minggu, dan dari hasil uji t berpasangan berat badan tikus

commit to user

setiap minggu menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan berat badan tikus yang signifikan (lampiran 12). Berdasarkan hasil tersebut maka tidak dilakukan perubahan dosis pemberian seduhan kelopak rosela pada kelompok II.

Uji ANOVA terhadap hasil penimbangan berat badan tikus kelompok III selama 4 minggu, dan uji t berpasangan berat badan tikus setiap minggu hasilnya menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan berat badan tikus yang signifikan setiap minggunya (lampiran 13). Berdasarkan hasil tersebut maka tidak dilakukan perubahan dosis pemberian seduhan kelopak rosela pada kelompok III.

Rerata kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan didapatkan pada kelompok I sebesar 20,06 mg/dl, kelompok II sebesar 20,83 md/dl, dan kelompok III sebesar 23,59 mg/dl. Analisis statistik terhadap data kadar kolesterol LDL serum tikus putih kelompok I, II, dan III sebelum perlakuan dengan uji homogenitas didapatkan nilai $p:0,496$ ($p>0,05$) yang berarti data homogen, kemudian dilanjutkan menggunakan uji-ANOVA didapatkan hasil $p : 0,168$ ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan kadar kolesterol LDL serum tikus putih pada ketiga kelompok sebelum perlakuan secara signifikan (lampiran 15) yang berarti terdapat keseragaman kadar kolesterol LDL serum tikus putih ketiga kelompok.

Dilakukan kembali pemeriksaan kadar kolesterol LDL serum setelah 4 minggu perlakuan untuk mendapatkan data kadar kolesterol total serum tikus putih setelah perlakuan. Data yang diperoleh mengenai rerata kadar kolesterol LDL setelah perlakuan adalah kelompok I sebesar 90,399 mg/dl, kelompok II

sebesar 73,004 md/dl, dan kelompok III sebesar 63,185 mg/dl. Terjadi peningkatan kadar kolesterol LDL pada ketiga kelompok.

Analisis statistik terhadap data sebelum dan setelah perlakuan dilanjutkan menggunakan uji t berpasangan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Nilai probabilitas uji t berpasangan pada kelompok kontrol sebelum dan setelah perlakuan adalah $p : 0,000$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar kolesterol LDL serum sebelum dan setelah perlakuan secara signifikan. Ini menunjukkan bahwa pakan hiperkolesterolemik berhasil meningkatkan kadar kolesterol LDL tikus putih.

Hasil uji t berpasangan kadar kolesterol LDL darah tikus sebelum dan setelah perlakuan pada kelompok II didapatkan $p : 0,001$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar kolesterol LDL serum sebelum dan setelah perlakuan secara signifikan. Perbedaan yang terjadi karena ada peningkatan kadar kolesterol LDL setelah perlakuan, oleh karena itu diambil kesimpulan bahwa tidak ada pengaruh seduhan kelopak rosela dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL serum tikus putih.

Hasil uji t berpasangan kadar kolesterol LDL darah tikus sebelum dan setelah perlakuan pada kelompok III didapatkan $p : 0,003$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar kolesterol LDL serum sebelum dan setelah perlakuan secara signifikan. Perbedaan yang terjadi karena ada peningkatan kadar kolesterol LDL setelah perlakuan, oleh karena itu diambil kesimpulan bahwa tidak ada pengaruh seduhan kelopak rosela dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL serum tikus putih. Peningkatan dosis seduhan

commit to user

kelopak rosela sebesar 1,5 kali belum mampu mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL.

Berdasarkan data dan hasil analisis statistik diatas, dapat disimpulkan bahwa pemberian seduhan kelopak rosela tidak dapat mencegah kenaikan kadar kolesterol LDL darah tikus putih. Kesimpulan diambil karena terjadinya peningkatan kadar kolesterol LDL yang signifikan antara kolesterol sebelum dan setelah perlakuan pada kedua kelompok perlakuan.

Terjadinya peningkatan kadar kolesterol LDL dalam kelompok perlakuan menunjukkan bahwa seduhan kelopak rosela dengan dosis 36mg/200gram BB/hari dan 54mg/200gram BB/hari pada tikus putih belum dapat mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL darah tikus putih.

Pada penelitian ini peneliti menggunakan dosis seduhan kelopak rosela yang biasa digunakan oleh masyarakat yaitu 2gram/hari atau bila dikonversi untuk tikus dengan berat 200 gram adalah sebesar 36mg/200gram BB/hari, sedangkan untuk mengetahui adakah pengaruh perbedaan dosis digunakan pula dosis 54mg/200gram BB/hari. Pada penelitian yang dilakukan oleh Lin *et al.* pada orang dewasa yang hiperkolesterolemi, dosis optimal ekstrak rosela yang dapat menurunkan kadar kolesterol LDL adalah 3000mg/hari (Oppel, 2007). Bila dikonversi untuk tikus seberat 200 gram adalah $0,018 \times 3000\text{mg/hari} = 54\text{mg}/200\text{ gram BB/hari}$. Namun perbedaan bentuk sediaan rosela antara ekstrak dan seduhan memberikan perbedaan hasil yang signifikan. Hal ini disebabkan karena zat aktif yang terlarut dalam seduhan lebih sedikit daripada zat aktif yang terkandung dalam ekstrak kelopak rosela, dimana dalam seduhan tidak semua zat

commit to user

aktif dapat terlarut sempurna. Kandungan zat aktif yang lebih sedikit dalam bentuk seduhan rosela akan memerlukan waktu penelitian yang lebih lama daripada waktu untuk penelitian menggunakan ekstrak rosela.

Kolesterol LDL sebagai pengangkut kolesterol terbesar, kadarnya dipengaruhi oleh kadar kolesterol dalam tubuh yang terdiri dari kolesterol eksogen (20%) dan endogen (80%) (Pfizer, 2007). Menurut dasar teori, kandungan zat aktif dalam ekstrak rosela berperan dalam menurunkan kolesterol baik endogen (polifenol, niasin dan pektin) maupun eksogen (vitamin C, flavonoid, polifenol dan pektin). Bila dilihat kadar dalam ekstrak dari masing-masing zat aktif memang titik tangkap kerjanya lebih banyak pada kolesterol eksogen, yaitu penyerapan kolesterol dalam saluran pencernaan. Hal ini menunjukkan bahwa yang dipengaruhi adalah sumber kolesterol eksogen, sedangkan kadar kolesterol lebih banyak dipengaruhi oleh kolesterol endogen. Hal ini dapat menyebabkan peningkatan kolesterol yang diikuti oleh peningkatan kolestreol LDL. Namun kandungan zat aktif dalam seduhan rosela belum diketahui mana yang lebih dominan, oleh sebab itu untuk mengetahui perbedaan antara ekstrak dan seduhan rosela, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai zat yang terkandung dalam seduhan rosela.

Kandungan lainnya yaitu polifenol dan flavonoid, lebih berperan sebagai antioksidan yang akan mencegah oksidasi LDL (Naruszewicz *et al.*, 2005) sehingga titik tangkap kerjanya adalah mengurangi LDL yang teroksidasi bukan pada transportasi kolesterol LDL dalam darah. Oleh sebab itu perlu dinilai bagaimana kadar LDL teroksidasinya.

commit to user

Kandungan zat aktif dalam rosela yang dipengaruhi oleh tempat tumbuhnya juga mempengaruhi efek yang dapat ditimbulkan terhadap kadar kolesterol LDL. Dimana rosela yang tumbuh pada daerah yang kurang subur, curah hujan rendah dan pada ketinggian > 900 meter diatas permukaan laut akan mengandung zat aktif yang lebih sedikit.

Kelemahan dalam penelitian ini adalah jumlah sampel yang sedikit pada masing-masing kelompok, yang akan mempengaruhi hasil analisis statistik yang diperoleh, dimana semakin kecil jumlah sampel akan memperbesar simpangan baku yang menyebabkan persebaran data yang luas sehingga mempengaruhi homogenitas data. Hal tersebut mempengaruhi tingkat representativitas penelitian. Kelemahan yang lain adalah adanya variabel-variabel luar yang tidak dapat terkendalikan seperti kualitas seduhan kelopak rosela yang tidak dapat ditentukan secara pasti.

Perubahan berat badan tikus putih selama penelitian juga diamati oleh peneliti. Terjadi peningkatan berat badan tikus putih yang signifikan pada kelompok I, sedangkan pada kelompok II dan kelompok III tidak terjadi peningkatan berat badan. Hasil uji ANOVA terhadap berat badan tikus setelah perlakuan juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan. Perbedaan ini tampak pada perbandingan kelompok I dengan kelompok II dan kelompok I dengan kelompok III, sedangkan kelompok II dan kelompok III tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (lampiran 14). Sehingga dapat diketahui bahwa seduhan kelopak rosela memberikan efek pencegahan peningkatan berat badan tikus putih

commit to user

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Pemberian seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis 36mg/200gram BB/hari dan dosis 54mg/200gram BB/hari belum dapat mencegah peningkatan kadar kolesterol LDL serum tikus putih (*Rattus norvegicus*).

B. Saran

1. Dilakukan penelitian dengan menggunakan dosis seduhan kelopak rosela yang lebih tinggi agar dapat terlihat efek seduhan kelopak rosela terhadap kadar kolesterol LDL serum tikus putih atau menggunakan bentuk sediaan yang berbeda, misalnya jus kelopak segar atau dengan serbuk kering kelopak rosela
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut dengan memperpanjang waktu penelitian.
3. Dilakukan penelitian mengenai kandungan zat aktif dalam seduhan kelopak rosela sehingga dapat dilakukan perbandingan dengan ekstrak rosela.
4. Sebelum dilakukan perlakuan sebaiknya perlu dilakukan pendeteksian dini terhadap penyakit hati dan pankreas pada tikus.

commit to user

5. Penelitian selanjutnya sebaiknya menggunakan jumlah sampel yang lebih besar agar hasil yang didapat lebih bermakna secara statistik karena semakin besar jumlah sampel yang diambil maka akan semakin tinggi pula tingkat representativitasnya.

