AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) TERSTANDAR SEBAGAI UPAYA PREVENTIF HIPERLIPIDEMIA: Uji Praklinik Secara *In Vivo* Pada Mencit Yang Diinduksi Poloxamer

Skripsi



Oleh :

RR. LIZA ANISA MIRAWATI

07613075

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

AGUSTUS 2011

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) TERSTANDAR SEBAGAI UPAYA PREVENTIF HIPERLIPIDEMIA: Uji Praklinik Secara *In Vivo* Pada Mencit Yang Diinduksi Poloxamer

SKRIPSI

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

Oleh :

RR. LIZA ANISA MIRAWATI

07613075

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

AGUSTUS 2011

SKRIPSI

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) TERSTANDAR SEBAGAI UPAYA PREVENTIF HIPERLIPIDEMIA: Uji Praklinik Secara *In Vivo* Pada Mencit Yang Diinduksi Poloxamer

Yang diajukan oleh:

RR. LIZA ANISA MIRAWATI
07613075

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Asih Triastuti, M. Pharm., Apt.	Dimas Adhi Pradana, M.Sc., Apt.

SKRIPSI

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) TERSTANDAR SEBAGAI UPAYA PREVENTIF HIPERLIPIDEMIA: Uji Praklinik Secara *In Vivo* Pada Mencit Yang Diinduksi Poloxamer

Oleh:

RR. LIZA ANISA MIRAWATI

07613075

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 12 Agustus 2011

Ketua penguji: Asih Triastuti, M.Pharm., Apt. ( )

Anggota penguji:

1. Dimas Adhi Pradana, M.Sc., Apt. ( )
2. Dr. drh. Puji Astuti, MP ( )
3. Dr. rer. nat. Nanang Fakhrudin, S.F., 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 dan sepanjang sepengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, Agustus 2011

Penulis,



Rr. Liza Anisa Mirawati

MOTTO

“ Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan ;
Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan),
kerjakanlah dengan sunguh-sungguh (urusan) yang lain.”

-Q.S. Al-Insyirah: 6 dan 7-

“Kesuksesan mendatangi mereka yang tidak takut gagal”

-Winston Churchill-

Jangan menyerah di persimpangan, jangan tergoda untuk mengambil jalan yang lebih mudah

-Prof. Yohanes Surya, Ph.D-

Kebahagiaan adalah mereka yang berani bermimpi dan berani berkorban demi mewujudkannya

-Leon Joseph-

“Our greatest glory is not in never falling, but in rising every time we fall”

-Confucious-

“Berlelah-lelahlah, manisnya hidup terasa setelah berjuang”

-Imam Syafi’i-

“Man jadda wajadda”

Untuk mereka yang kusayangi,

Bapak, Ibu, serta Kakakku untuk dukungan, doa, dan cintanya sepanjang waktu

KATA PENGANTAR

بسم الله الرحمن الرحيم

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini yang berjudul **Aktivitas Ekstrak Etanol Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) Terstandar Sebagai Upaya Preventif Hiperlipidemia: Uji Praklinik Secara *In Vivo* Pada Mencit Yang Diinduksi Poloxamer.** Skripsi ini merupakan salah satu syarat kelengkapan untuk menyelesaikan program S1 Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah memberikan bantuan, dorongan, serta pengarahan-pengarahan untuk membimbing penulis dalam penulisan skripsi sebagai berikut:

1. Asih Triastuti, M.Pharm., Apt. selaku Pembimbing Utama atas segala kesabaran, waktu, saran, sumbangan pemikiran, arahan, dan bimbingan dalam penyusunan skripsi dari awal hingga akhir.
2. Dimas Adhi Pradana, M.Sc., Apt. selaku Pembimbing Pendamping atas segala kesabaran, waktu, saran, masukan, arahan, dan bimbingan dalam penyusunan skripsi dari awal hingga akhir.
3. Yandi Syukri, M.Si., Apt., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
4. Muhammad Hatta Prabowo, M.Si., Apt., selaku Ketua Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia.
5. Bapak Sumarno, selaku Laboran dari Labroratorium Farmakologi Universitas Islam Indonesia atas dukungan, bantuan dan bimbingan praktek penelitianya.
8. Seluruh staf Laboratorium Prodi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, atas bantuan dan kerjasamanya.
9. Segenap civitas akademika Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang secara tidak langsung telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

10. Almamamterku Universitas Islam Indonesia Yogyakarta yang mendidik dan memberikan ilmu pengetahuan.
11. Orang tuaku tercinta yang telah membesarkan, mendidik, membimbing, menyayangi, dan mendoakan.
12. Kakakku yang selalu mendukung dan mendoakan.
13. Untuk rekan penelitianku Ani Agustina, Eka Yuliana, Endah Ayu Prawitasari, dan Nurul Isnaeni, terimakasih atas semua bantuan dan semangatnya.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Terima kasih atas segala bantuan, dukungan, dan doa kalian.

Semoga Allah membalas kebaikan mereka dengan segala anugerah, rahmat, dan hidayah-Nya. Penulis menyadari, bahwa penyusunan karya tulis ini masih jauh dari sempurna karena tidak terlepas dari banyaknya kekurangan yang ada. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat diperlukan oleh penulis. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat memberikan dedikasi tinggi terhadap pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang kefarmasian.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, Agustus 2011

Penulis

Rr. Liza Anisa Mirawati

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR..... vii
DAFTAR ISI..... ix
DAFTAR GAMBAR..... x
DAFTAR TABEL..... xi
DAFTAR LAMPIRAN..... xii
INTISARI..... xiii
ABSTRACT..... xiv
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..... 4
B. Landasan Teori..... 18
C. Hipotesis..... 19
BAB III. METODE PENELITIAN
A. Bahan dan Alat
1. Bahan..... 20
2. Alat..... 20
B. Cara Kerja
1. Preparasi ekstrak..... 21
2. Skema penelitian..... 21
3. Jalannya penelitian..... 22
4. Metode analisis serum..... 26
C. Analisis hasil..... 27
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN
A. Hasil..... 28
B. Pembahasan..... 28
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN..... 39
DAFTAR PUSTAKA..... 40
LAMPIRAN..... 43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun dan buah mahkota dewa..... 4
Gambar 2. Tanaman mahkota dewa..... 4
Gambar 3. Struktur dasar flavonoid..... 5
Gambar 4. Jalur biosintesis kolesterol..... 12
Gambar 5. Struktur lovastatin..... 13
Gambar 6. Struktur simvastatin..... 13
Gambar 7. Struktur pravastatin..... 14
Gambar 8. Struktur fluvastatin..... 14
Gambar 9. Struktur atorvastatin..... 14
Gambar 10. Alur penelitian..... 21
Gambar 11. Perlakuan hewan uji..... 26
Gambar 12. Buah mahkota dewa..... 29
Gambar 13. Serbuk kering mahkota dewa..... 30
Gambar 14. Ekstrak kental mahkota..... 30
Gambar 15. Hasil uji kualitatif flavonoid..... 32
Gambar 16. Reaksi kompleks pembentukan flavonoid-aluminium chloride..... 33
Gambar 17. Grafik rata-rata konsentrasi kolesterol dan trigliserida..... 34
Gambar 18. Mekanisme P-407 menginduksi hiperkolesterolemia..... 36

DAFTAR TABEL

Tabel I. Hasil standardisasi ekstrak..... 31

Tabel II. Hasil uji aktivitas antihiperlipidemia..... 34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman mahkota dewa..... 43

Lampiran 2. Surat keterangan pembelian hewan uji..... 44

Lampiran 3. Surat keterangan *Ethical Clearance*..... 45

Lampiran 4. Surat keterangan uji flavonoid ekstrak buah mahkota dewa..... 46

Lampiran 5. Surat keterangan hasil uji flavonoid ekstrak buah mahkota dewa..... 47

Lampiran 6. Hasil uji kadar air dan viskositas ekstrak..... 48

Lampiran 7. Data konsentrasi trigliserida..... 49

Lampiran 8. Data konsentrasi kolesterol..... 50

Lampiran 9. Perhitungan dosis..... 51

Lampiran 10. Data pengolahan SPSS hasil konsentrasi kolesterol dan trigliserida..... 54

Lampiran 11. Brosur reagen kolesterol..... 62

Lampiran 12. Brosur reagen kolesterol..... 64

Lampiran 13. Dokumentasi penelitian..... 66

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) TERSTANDAR SEBAGAI UPAYA PREVENTIF HIPERLIPIDEMIA: Uji Praklinik Secara *In Vivo* Pada Mencit Yang Diinduksi *Poloxamer*

INTISARI

Phaleria macrocarpa atau mahkota dewa merupakan salah satu obat tradisional yang sedang berkembang yang diduga berpotensi sebagai antihiperlipidemia. Penggunaan obat antihiperlipidemia modern atau sintetis memang terbukti efektif dalam menurunkan kadar lipid dalam darah. Tidak semua efek samping yang ditimbulkan dari penggunaan obat sintetis ini dapat ditoleransi oleh pasien. Banyak masyarakat yang kini beralih menggunakan tanaman herbal seperti mahkota dewa. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak mahkota dewa terstandar sebagai terapi preventif pada hiperlipidemia. Sebanyak 25 ekor mencit galur swiss berumur ± 2 bulan dibagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari kelompok normal (aquadest), kelompok kontrol (aquadest), kelompok referen (simvastatin 10 mg/kgBB), dan 2 kelompok uji yang masing-masing diberi ekstrak mahkota dewa terstandar dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB. Perlakuan dilakukan selama 14 hari dan pada hari terakhir mencit dipuasakan kemudian semua kelompok kecuali kelompok normal diinduksi dengan poloxamer 400 mg/kgBB secara intraperitoneal. Hari berikutnya, semua hewan uji dibedah untuk diambil darahnya melalui vena lateral lalu dilakukan analisis penetapan kadar kolesterol dan trigliserida. Analisis statistik dilakukan menggunakan SPSS 16 dengan *one way Anova* level signifikasi 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa berdasar parameter kadar kolesterol dan trigliserida, ekstrak mahkota dewa dosis 200 mg/kgBB berbeda signifikan dengan kelompok kontrol ($p<0,05$). Untuk ekstrak mahkota dewa dosis 100 mg/kgBB menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol ($p<0,05$) hanya berdasar parameter kolesterol. Dapat disimpulkan bahwa dalam penelitian ini ekstrak mahkota dewa dengan dosis 200 mg/kgBB dapat menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida.

Kata kunci: hiperlipidemia, *Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl., poloxamer

ACTIVITIES OF STANDARDIZED ETHANOLIC EXTRACT CROWN OF GOD (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) AS PREVENTIVE FOR HYPERLIPIDEMIA: Preclinical Study *In Vivo* in Poloxamer-Induced Mice

ABSTRACT

Phaleria macrocarpa or crown of god is one of the remedies that suspected of developing potentially as antihiperlipidemia. The use of modern antihiperlipidemia or synthetic drugs are proven effective in lowering blood lipid levels. Not all side effects from use of these synthetic drugs can be tolerated by the patient. Many communities are now switched to using herbs such as crown of the god. The study was conducted to determine the activity of standardized extract crown of god as preventive therapy in hyperlipidemia. A total of 25 mice strains ± 2-month-old Swiss is divided into 5 groups consisting of normal group (distilled water), the control group (distilled water), the reference group (simvastatin 10 mg/ kgBW), and two test groups were given standardized crown of god extracts dose of 100 mg/kgBW and 200 mg/kgBW. The treatment carried out for 14 days and on the last day fasted mice then all groups except the normal group was induced with poloxamer 400 mg/kgBW by intraperitoneal. The next day, all test animals dissected for blood drawn through the lateral vein and performed the analysis of cholesterol and triglyceride assays. Statistical analysis was performed using SPSS 16 with one-way Anova significance level of 95%. The results showed that based on the parameters of cholesterol and triglycerides, the crown of god extract dose of 200 mg/kgBW significantly different from the control group ($p < 0.05$). Crown of god extract dose of 100 mg/kgBW showed significant differences with the control group ($p < 0.05$) only on cholesterol parameters. It can be concluded that in this study crown of god extracts with a dose of 200 mg/kgBW can decrease cholesterol and triglyceride levels.

Key words: hyperlipidemia, *Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl., poloxamer

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Hiperlipidemia merupakan penyebab utama *atherosclerosis* dan kondisi yang berhubungan dengan *atherosclerosis*, seperti penyakit jantung koroner, iskemik pembuluh cerebral, serta penyakit pembuluh darah perifer lainnya. Kondisi ini masih menjadi masalah utama terkait morbiditas dan mortalitas pada usia paruh baya dan geriatri. Insidensi dan banyaknya masalah hiperlipidemia sepertinya akan terus meningkat pada dekade kedepan. Dislipidemia, mencakup hiperlipidemia (hiperkolesterol) dan rendahnya HDL-C, merupakan penyebab utama meningkatnya risiko atherogenik, masalah genetik dan gaya hidup seperti kurangnya aktivitas atau kurang olahraga, diet tinggi kalori, serta kolesterol berkontribusi pada dislipidemia di berbagai belahan dunia[(1)].

Manifestasi klinis hiperlipidemia dapat berupa obesitas atau *overweight* yang menjadi faktor resiko beragam penyakit seperti yang telah disebutkan diatas. Menurut data terbaru dari WHO, secara global pada tahun 2008 kurang lebih 1,5 milyar orang dewasa (usia 20 tahun keatas) mengalami kelebihan berat badan (*overweigh*t). Diperkirakan hingga tahun 2015 kurang lebih 2,3 milyar orang dewasa akan mengalami *overweight* dan lebih dari 700 juta akan mengalami obesitas. Salah satu akibat dari *overweight* atau obesitas yaitu dapat menyebabkan penyakit jantung yang merupakan penyebab utama mortalitas, dengan angka mortalitas kurang lebih 17 juta orang tiap tahunnya di dunia[(2)]. Di Indonesia, menurut data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, prevalensi nasional obesitas umum pada penduduk berusia ≥ 15 tahun adalah 10,3% (laki-laki 13,9%, perempuan 23,8%). Sedangkan prevalensi berat badan berlebih anak-anak usia 6-14 tahun pada laki-laki 9,5% dan pada perempuan 6,4%. Angka ini hampir sama dengan estimasi WHO sebesar 10% pada anak usia 5-17 tahun[(3)].

Terapi hiperlipidemia meliputi pengaturan diet, olahraga, dan penggunaan obat-obatan. Beberapa golongan obat antihiperlipidemia yang dapat digunakan diantaranya yaitu golongan asam nikotinat (niasin), derivat asam fibrat (gemfibrozil, fenofibrat, klofibrat), inhibitor *HMG-CoA reductase* (lovastatin,

pravastatin, simvastatin, fluvastatin, dan atorvastatin), resin pengikat asam empedu (kolestiramin, kolestipol), probukol, dan ezetimibe[1].

Dari beberapa obat yang telah disebutkan sebelumnya, golongan statin merupakan obat yang paling efektif dan memiliki toleransi yang paling baik dalam mengatasi hiperlipidemia. Obat golongan ini merupakan inhibitor kompetitif *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase*, yang mengkatalisis pada awal, dengan membatasi kecepatan biosintesis kolesterol. Dosis lebih tinggi dari statin (atorvastatin dan simvastatin) dapat lebih poten juga untuk mengurangi trigliserida disebabkan dengan peningkatan VLDL. Beberapa statin juga diindikasikan untuk meningkatkan HDL-C[1].

Menurut beberapa laporan, tidak semua pasien bisa mentoleransi efek samping yang ditimbulkan dari obat oral ini seperti sakit kepala, gangguan pencernaan (dispepsia, flatus, konstipasi, nyeri perut), miopati, serta gangguan hepar. Akibatnya, permintaan untuk obat baru antihiperlipidemia semakin meningkat[4,5]. Penggunaan obat antihiperlipidemia modern memang terbukti efektif dalam menurunkan kadar lipid dalam darah namun harga obat-obatan tersebut semakin melambung dan umumnya kurang terjangkau oleh masyarakat, khususnya golongan menengah ke bawah. Penggunaannya dalam jangka panjang dan tidak rasional, dilaporkan dapat menyebabkan gangguan fungsi organ metabolisme seperti ginjal dan hepar[6].

Melihat permasalahan di atas, maka perlu pengobatan alternatif hiperlipidemia yang efektif, lebih terjangkau oleh masyarakat, dan aman digunakan untuk jangka panjang. Pemanfaatan obat tradisional dalam pengobatan belum optimal karena pada umumnya penggunaannya masih dalam lingkup masyarakat turun-temurun dan belum menjadi bagian dari sistem pelayanan kesehatan formal yang menggunakan obat berdasarkan pada bukti-bukti ilmiah yang dapat dipertanggungjawabkan. Di Indonesia sendiri, *Phaleria macrocarpa* atau mahkota dewa merupakan salah satu obat tradisional yang sedang berkembang yang diduga berpotensi sebagai antihiperlipidemia. Daun dan buah mahkota dewa banyak digunakan secara empiris untuk pengobatan penyakit kanker, jantung, liver, diabetes mellitus, hipertensi, reumatik, asam urat, ginjal,

penambah stamina, penyakit kulit, alergi, penurun kolesterol serta obat untuk ketergantungan narkoba[7].

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya pada ekstrak mahkota dewa terbukti dapat mencegah terjadinya *atherosclerosis*[8]. Seperti yang diketahui bahwa atherosclerosis dapat disebabkan oleh adanya hiperlipidemia. Namun, sampai saat ini belum ada penelitian secara spesifik tentang ekstrak mahkota dewa terstandar sebagai preventif hiperlipidemia. Oleh karena itu, penelitian ini mutlak untuk dilakukan.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah dikemukakan di atas, maka penelitian ini diharapkan dapat menjawab permasalahan bagaimana aktivitas ekstrak etanol mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) terstandar sebagai preventif hiperlipidemia pada mencit yang diinduksi poloxamer.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) terstandar sebagai preventif hiperlipidemia pada mencit yang diinduksi poloxamer.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu informasi tentang efek farmakologi buah mahkota dewa terkait dengan aktivitasnya sebagai preventif hiperlipidemia, yaitu mampu menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Informasi tersebut diharapkan dapat menambah khasanah informasi obat alami yang dapat digunakan untuk pengembangan ilmu pengetahuan di bidang kesehatan.

BAB II
STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Mahkota dewa

Dalam taksonomi tumbuhan, tanaman yang memiliki nama dagang mahkota dewa dan nama daerah simalakama (Sumatera/Melayu) atau makuto dewo (Jawa) diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Thymelaeaceae
Suku : Thymelaeceae
Marga : *Phaleria*
Spesies : *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl atau *Phaleria papuana* Warb var. Wichnannii (Val) Back[8].



Gambar 1. Daun dan buah mahkota dewa

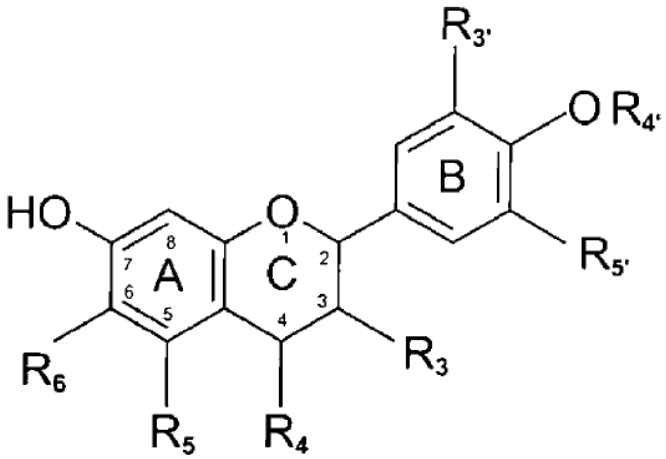


Gambar 2. Tanaman mahkota dewa [9]

Penampilan tumbuhan ini sangat menarik, terutama saat buahnya mulai tua sehingga banyak dipelihara sebagai tanaman hias. Buah mahkota dewa sesungguhnya dapat dimakan, meskipun bijinya mengandung racun. Buah mahkota dewa yang bulat, berwarna hijau ketika muda dan merah marun ketika tua, dengan ukuran bervariasi dari sebesar bola pingpong sampai sebesar apel dengan ketebalan kulit 0,1 – 0,5 mm [11]. Perdu menahun ini batangnya bulat,

permukaan kasar, warnanya cokelat, berkayu dan bergetah, percabangan simpodial. Daun tunggal letaknya berhadapan, bertangkai pendek, bentuknya lanset atau jorong, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan licin, warnanya hijau tua, panjang 7 sampai 10 cm, lebar 2 sampai 5 cm. Bunga keluar sepanjang tahun, letaknya tersebar di batang atau ketiak daun, bentuk tabung, berukuran kecil, berwarna putih dan harum. Bentuknya bulat, diameter 3 sampai 5 cm, permukaan licin, beralur, ketika muda warnanya hijau dan merah setelah masak. Daging buah berwarna putih, berserat, dan berair. Biji bulat, keras, berwarna cokelat. Berakar tunggang dan berwarna kuning kecoklatan[(12)].

Mahkota dewa berasal dari daerah Papua. Tanaman ini terkadang masih dapat dijumpai tumbuh liar di daerah hutan pada ketinggian 10- 1.200 meter di atas permukaan laut dengan curah hujan rata-rata 1.000-2500 mm/tahun. Berdasarkan literatur, diketahui bahwa zat aktif yang terkandung di dalam daun dan buah antara lain alkaloid, terpenoid, saponin, lignan (polifenol) dan flavonoid (gambar 3)[(12)]. Hasil identifikasi lainnya menyebutkan bahwa kandungan kimia dari buah mahkota dewa terdiri dari glikosida fenolik, seperti mahkotasida, mangiferin, kaempferol-3-O-β-d glukosida, asam dodekanoat, asam palmitat, etil stearat, sukrosa[(13)], asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, steroid (sitosterol, stigmasterol, sikloargentenol), benzofenon glikosida, karbohidrat (glukosa)[(14)], dan lignan pinoresinol, lariciresinol, dan matairesinol[(15)].



Gambar 3. Struktur dasar flavonoid[(10)]

Secara empiris, *phaleria macrocarpa* terbukti mampu untuk mengontrol kanker, impotensi, disentri, hemorrhoid, diabetes mellitus, alergi, penyakit jantung dan hepar, gangguan ginjal, penyakit atau gangguan darah, arthritis, reumatik, tekanan darah tinggi, *stroke*, migrain, bermacam penyakit kulit, jerawat, dan kolesterol. Tumbuhan ini mengandung senyawa antihistamin, antioksidan, dan antikanker[16].

2. Metode ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang diinginkan akan larut. Pemilihan sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi berdasarkan atas kemampuannya melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif, seminimal mungkin bagi unsur yang tidak di inginkan[17]. Hasil Ekstraksi yaitu berupa kering, kental dan cair, dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok di luar pengaruh cahaya matahari langsung[18].

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya[19].

3. Ekstrak terstandar

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Disamping memperhatikan sifat fisik dan senyawa aktif dari simplisia harus juga diperhatikan senyawa-senyawa lain yang terdapat dalam simplisia seperti protein, karbohidrat, lemak dan gula, karena senyawa ini akan mempengaruhi tingkat kejenuhan pelarut sehingga akan berpengaruh pula pada proses pelarutan senyawa

aktif. Konsistensi kadar senyawa aktif merupakan syarat mutlak mutu ekstrak yang diproduksi. Oleh sebab itu setiap ekstrak harus distandardisasi[19].

Standardisasi dalam kefarmasian tidak lain adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi syarat standar (kimia, biologi, dan farmasi), termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Persyaratan mutu ekstrak terdiri dari berbagai parameter standar umum dan parameter standar spesifik[19].

a. Parameter organoleptik ekstrak

Tujuan dari uji organoleptik adalah untuk pengenalan awal yang seobyektif mungkin. Pada parameter organoleptik ini digunakan pancaindera untuk mendeskripsikan bentuk (padat, serbuk-kering, kental, cair), warna (kuning, coklat, dan lain-lain), bau (aromatik, tidak berbau, dan lain-lain), dan rasa (pahit, manis, kelat, dan lain-lain)[19].

b. Parameter kadar air

Tujuan dilakukannya uji kadar air ini untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan[19]. Pada penelitian ini uji kadar air menggunakan alat *Moisture Balancer HB43*.

c. Parameter pola kromatogram

Dilakukan penentuan pola kromatogram dalam penelitian ini dimaksudkan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram (KLT). Prinsipnya adalah ekstrak ditimbang, diekstraksi dengan pelarut dan cara tertentu, kemudian dilakukan analisis kromatografi sehingga memberikan pola kromatogram yang khas[19].

d. Parameter kekentalan

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.

4. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Dalam kromatografi lapis tipis hanya membutuhkan penyerap dan cuplikan dalam jumlah yang sedikit dan noda-noda yang terpisahkan dilokalisir pada plat seperti pada lembaran kertas. Setelah pemisahan mudah diperoleh senyawa-senyawa yang terpisah secara individu yaitu dengan jalan mengeroknya dan mengumpulkan tiap-tiap lapisan dalam mana lapisan itu dikerok[(20)].

Metode lapis tipis mempunyai keuntungan yang utama, yaitu membutuhkan waktu yang lebih cepat dan diperoleh pemisahan yang lebih baik. Waktu rata-rata untuk kromatografi lapis tipis dengan panjang 10 cm pada silika gel adalah sekitar 20-30 menit (tergantung sifat fase gerak). Hasil pemisahan yang baik ternyata dari kenyataan bahwa penyerap dalam kromatografi lapis tipis mempunyai kapasitas yang lebih besar bila dibandingkan dengan kertas. Lebih lanjut dan yang sangat penting keuntungan dari sistem serapan ialah bahwa ia dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofobi, seperti lipida-lipida dan hidrokarbon, dimana hal ini sukar dikerjakan dengan kertas. Sekarang pemisahan dengan lapis tipis telah digunakan dalam kebanyakan lapangan-lapangan organik dan beberapa dalam kimia anorganik[(20)].

Sifat-sifat umum dari penyerap-penyerap untuk kromatografi lapis tipis adalah mirip dengan sifat-sifat penyerap untuk kromatografi kolom. Dua sifat yang penting dari penyerap adalah besar partikel dan homogenitasnya, karena adhesi terhadap penyokong sangat tergantung pada mereka. Besar partikel yang biasa digunakan adalah 1 – 25 mikron. Partikel yang butirannya sangat kasar tidak akan memberikan hasil yang memuaskan dan salah satu alasan untuk menaikkan hasil pemisahan adalah menggunakan penyerap yang butirannya halus. Sedangkan pada kolom partikel yang sangat halus akan mengakibatkan aliran pelarut menjadi lambat, pada lapis tipis butiran yang halus memberikan aliran pelarut yang lebih cepat[(20)].

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis lebih baik dikerjakan dengan pereaksi lokasi kimia dan reaksi-reaksi warna. Tetapi lazimnya untuk identifikasi menggunakan harga Rf meskipun harga-harga Rf dalam lapisan tipis kurang tepat bila dibandingkan pada kertas[(20)].

Harga-harga Rf untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standard. Perlu diperhatikan bahwa harga-harga Rf yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan, meskipun demikian daftar dari harga-harga Rf untuk berbagai campuran dari pelarut dan penyerap dapat diperoleh. Pengukuran yang sering dipakai lainnya adalah menggunakan pengertian R_x atau $R_{std}^{(20)}$.

Senyawa standar biasanya memiliki sifat-sifat kimia yang mirip dengan senyawa yang dipisahkan pada kromatogram. Misal perbandingan suatu hidrolisa protein dengan glisin atau alanin. Faktor-faktor yang biasanya mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapis tipis yang juga mempengaruhi harga Rf yaitu:

a. Struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan
b. Sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya (biasanya aktivitas dicapai dengan pemanasan dalam oven, hal ini akan mengeringkan molekul-molekul air yang menempati pusat-pusat serapan dari penyerap). Perbedaan penyerap akan memberikan perbedaan yang besar terhadap harga-harga Rf meskipun menggunakan fase bergerak dan solute yang sama, tetapi hasil akan dapat diulang dengan hasil yang sama, hanya akan diperoleh jika menggunakan penyerap yang sama juga ukuran partikel tetap dan jika pengikat (kalau ada) dicampur hingga homogen
c. Tebal dan kerataan dari lapisan penyerap. Meskipun dalam prakteknya tebal lapisan tidak dapat dilihat pengaruhnya, tetapi perlu diusahakan tebal lapisan yang rata. Ketidakrataan akan menyebabkan aliran pelarut menjadi tak rata pula dalam daerah yang kecil dari plat
d. Pelarut (dan derajat kemurniannya) fasa bergerak. Kemurnian dari pelarut yang digunakan sebagai fase gerak dalam kromatografi lapis tipis adalah sangat penting dan bila campuran pelarut digunakan maka perbandingan yang dipakai harus betul-betul diperhatikan
e. Derajat kejenuhan dari uap dalam mana bejana pengembangan yang digunakan

f. Teknik percobaan. Arah mana pelarut bergerak di atas plat (metode aliran penaikan yang hanya diperhatikan, karena cara ini yang paling umum meskipunteknik aliran penurunan dan mendatar juga digunakan)

g. Jumlah cuplikan yang digunakan. Penetesan cuplikan dalam jumlah yang berlebihan memberikan tendensi penyebaran noda-noda dengan kemungkinan terbentuknya ekor dan efek ketidakseimbangan lainnya sehingga akan mengakibatkan kesalahan-kesalahan pada harga-harga Rf

h. Suhu. Pemisahan-pemisahan sebaiknya dikerjakan pada suhu tetap, hal ini terutama untuk mencegah perubahan-perubahan dalam komposisi pelarut yang disebabkan oleh penguapan atau perubahan-perubahan fase

i. Kesetimbangan. Ternyata bahwa kesetimbangan dalam lapis tipis lebih penting dalam kromatografi kertas, hingga perlu mengusahakan atmosfer dalam bejana jenuh dengan uap pelarut. Suatu gejala bila atmosfer dalam bejana tidak jenuh dengan uap pelarut, bila digunakan pelarut campuran, akan terjadi pengembangan dengan permukaan pelarut yang berbentuk cekung dan fase bergerak lebih cepat pada bagian tepi-tepi daripada di bagian tengah. Keadaan ini harus dicegah[20].

5. Hiperlipidemia

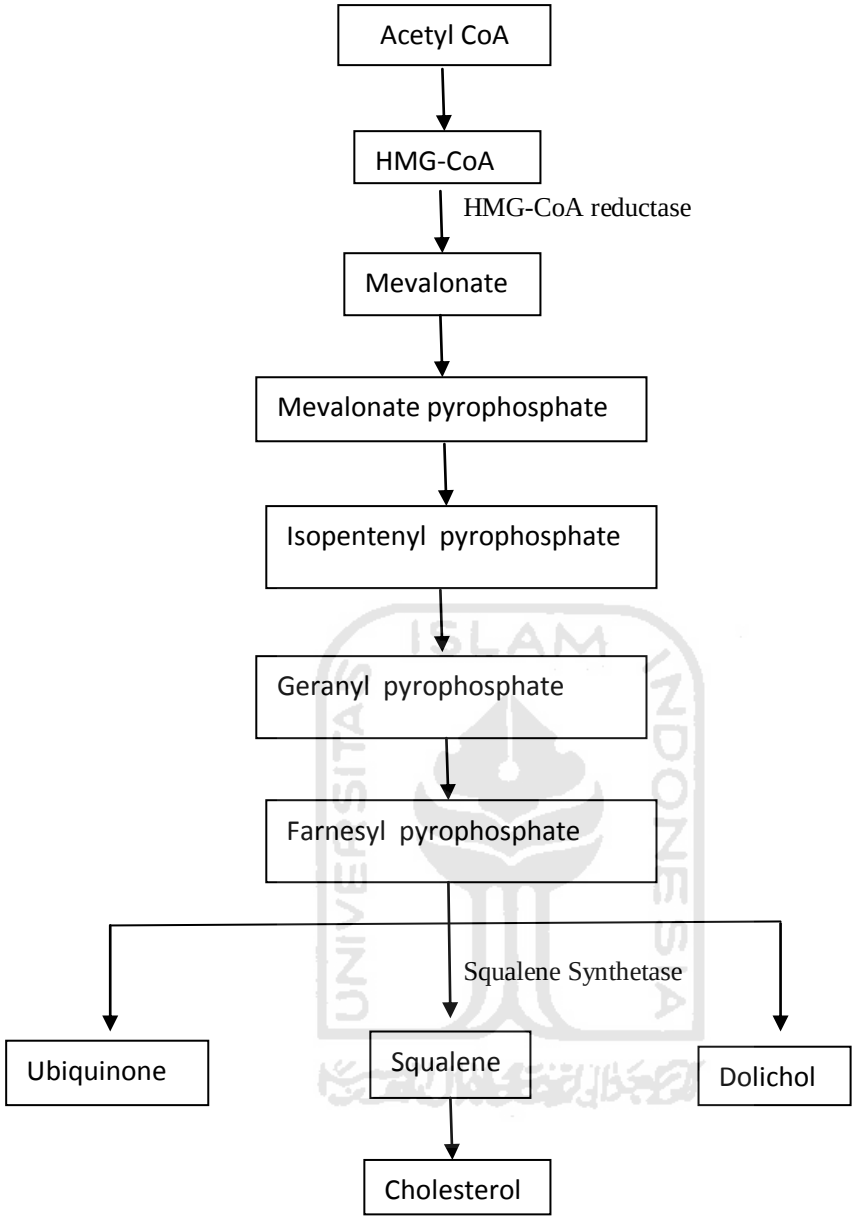
Hiperlipidemia merupakan peningkatan satu atau lebih kolesterol, ester kolesterol, fosfolipid, atau trigliserida[21], atau dapat juga didefinisikan dengan tingginya kadar lemak (kolesterol, trigliserida maupun keduanya) dalam darah. Lemak (disebut juga lipid) adalah zat yang kaya energi, yang berfungsi sebagai sumber energi utama untuk proses metabolisme tubuh. Lemak diperoleh dari makanan atau dibentuk di dalam tubuh, terutama di hati dan bisa disimpan di dalam sel-sel lemak untuk digunakan di kemudian hari. Sel-sel lemak juga melindungi tubuh dari dingin dan membantu melindungi tubuh terhadap cedera. Lemak merupakan komponen penting dari selaput sel, selubung saraf yang membungkus sel-sel saraf serta empedu[22].

Atherosclerosis merupakan penyebab umum terjadinya ischemic heart disease yang mengakibatkan angina, infark miokard (“serangan jantung”), stroke, dan kematian mendadak. Penelitian menunjukkan bahwa komposisi plaq

lebih dari stenosis atau terjadinya penyempitan pembuluh darah adalah faktor kunci untuk memprediksi kerentanan untuk pecah atau mengalami trombosis [23,24]. Salah satu penyebab umum terjadinya atherosclerosis adalah hiperkolesterolemia. *Atherosclerosis* merupakan indikasi penyakit dengan terbentuknya plaq atheroma karena modifikasi tunica intima pada pada pembuluh darah sebagai hasil dari pengendapan kolesterol[25].

Kenyataan menunjukkan bahwa faktor utama penyebab hiperkolesterolemia adalah karena penurunan kapasitas pembersihan kolesterol LDL dari darah dan penderita hiperkolesterolemia turunan (relatif tidak memiliki sel-sel reseptor untuk LDL). Jadi hiperkolesterolemia merupakan refleksi penurunan (abnormal) kapasitas tubuh untuk membuang kolesterol dan atau tidak adanya kapasitas tubuh untuk mengatur produksi endogen dari metabolisme kolesterol[26].

Peningkatan kolesterol intraselular dihasilkan dari katabolisme LDL menghambat aktivitas *3-hydroxy- 3-methylglutaryl koenzim A reduktase* (*HMG-CoA reductase*), enzim pembatas kecepatan biosintesis kolesterol intraselular (gambar 4). Konsekuensi tambahan dari meningkatnya kolesterol intraselular termasuk mengurangi sintesis reseptor LDL, yang membatasi pengambilan kolesterol dari plasma, dan dipercepat aktivitas koenzim-A asil: *acyltransferase cholesterol* (ACAT) untuk memfasilitasi penyimpanan kolesterol dalam sel. Kolesterol LDL juga dapat dibuang ke dalam empedu dan menjadi bagian dari siklus enterohepatik atau mungkin hilang dalam tinja. Lp (a) adalah lipoprotein kaya kolesterol yang sama dengan LDL dalam komposisi dan kepadatan dan dekat dengan homologi fibrinogen; hal ini dilaporkan menjadi faktor risiko independen yang penting dari perkembangan penyakit kardiovaskuler dini[21].



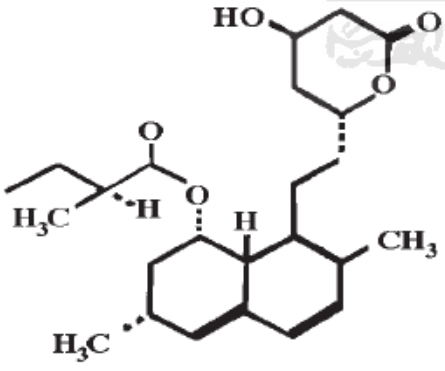
Gambar 4. Jalur biosintesis kolesterol. Enzim yang membatasi kecepatan pada jalur ini adalah *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase)*[21]

Penyakit kardiovaskular menyebabkan 18 juta mortalitas di seluruh dunia pada tahun 2005[27]. Dari angka mortalitas ini, 8 juta (44%) diantaranya terjadi pada usia dibawah 60 tahun dan 80% tejadi pada negara dengan penghasilan (income) yang rendah[27, 28]. Oleh karena itu, *World Health Organization* (WHO) memiliki target untuk menurunkan angka mortalitas dari penyakit kronis ini 2% per tahun sampai tahun 2015[29]. Tujuan ini berdasarkan pada kejadian mortalitas

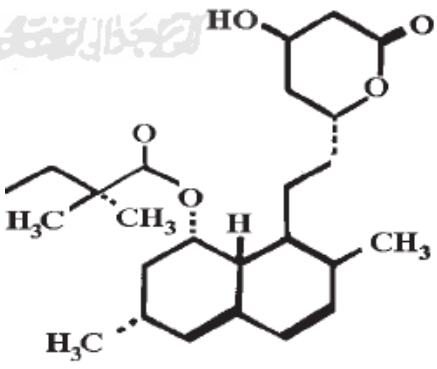
di seluruh dunia akibat kardiovaskuler yang disebabkan oleh beberapa faktor risiko seperti, tekanan darah tinggi, merokok, dan tingginya serum kolesterol total [30, 31].

Prevalensi hiperlipidemia di Indonesia pada wanita lanjut usia lebih tinggi daripada pria. Status gizi lanjut usia dengan hiperlipidemia pada umumnya adalah berat badan lebih (60.4%) dan obesitas (57.1%) pada lanjut usia pria; dan terutama dengan berat badan normal (59.1%) dan berat badan lebih (59.5%) pada lanjut usia wanita. Prevalensi hiperlipidemia diantara lanjut usia pria dan wanita dengan berat badan kurang didapatkan cukup tinggi, masing-masing 38.7% dan 31.6%[32].

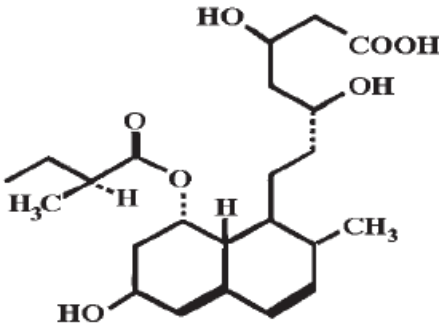
Menurunkan serum kolesterol total adalah strategi yang tepat untuk mengurangi angka kejadian kardiovaskular sebagai manifestasi dari hiperlipidemia. Beberapa obat tersedia untuk terapi hiperlipidemia dan obat yang digunakan adalah obat yang poten, aman, dan memiliki efektivitas tinggi menurunkan kolesterol. Dari data diketahui bahwa obat paling poten yaitu golongan *HMG CoA reductase inhibitor* atau golongan statin seperti lovastatin (gambar 5); simvastatin (gambar 6); pravastatin (gambar 7); fluvastatin (gambar 8); atorvastatin (gambar 9); dan rosuvastatin. Obat-obat tersebut terbukti efektif untuk memperbaiki profil lipid[33].



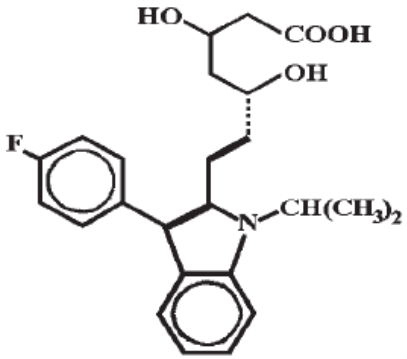
Gambar 5. Struktur Lovastatin[34]



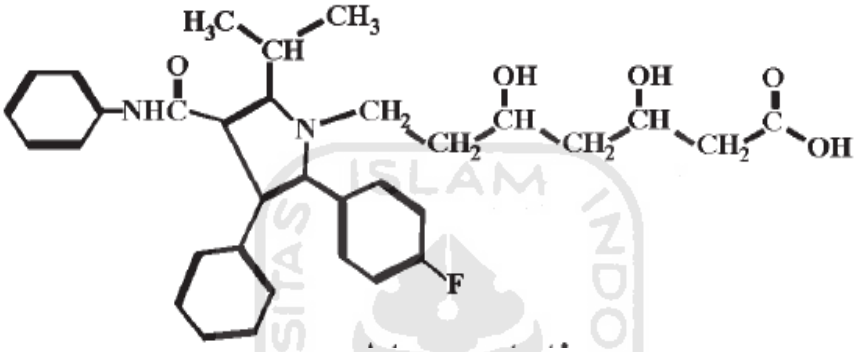
Gambar 6. Struktur Simvastatin[34]



Gambar 7. Struktur Pravastatin(340



Gambar 8. Struktur Fluvastatin(34)



Gambar 9. Struktur Atorvastatin(34)

6. Uji antihiperlipidemia

a. Induksi poloxamer

Atherosclerosis ditandai oleh pengendapan lipid secara progresif dan adanya proses inflamasi. Pada penelitian ini pembuatan mencit hiperlipidemia dilakukan secara induksi kimia dengan menggunakan pluronic F-127 atau poloxamer-407 kemudian untuk terapinya dibandingan antara ekstrak *Phaleria macrocarpa* dengan suatu obat antihiperlipidemia yaitu simvastatin. Poloxamer-407 partikel nano kubik diteliti memiliki potensi distribusi obat oral untuk meningkatkan bioavailabilitas dari simvastatin model obat tidak larut air(35, 36).

Poloxamer-407 ini membentuk gugus ampifilik setelah hidrasi. Gugus polarnya sangat kuat berikatan dengan air, sementara gugus yang lain kluster hidrofobik. Partisi obat antara kedua segmen jaringan polimer diketahui mempengaruhi difusi dan pelepasan obat dari gel poloxamer-407(37). Sifat fisik dari poloxamer yaitu berbentuk granul putih, tak berbau, hambar, memiliki berat jenis 1,76-2,08 g/cm^3 dan titik lebur pada 52-57^o serta dapat larut dalam air, etanol

dan propan-2-ol. Konsentrasi lazim poloxamer 407 sebagai *gelling agent* yaitu 15-50%[38]. Poloxamer-407 konsentrasi 25% memiliki nilai difusi paling besar[37].

Poloxamer 407 secara signifikan menunjukkan peningkatan kolesterol dan trigliserida plasma pada tikus, mencit, dan kelinci. Poloxamer memiliki sifat sebagai surfaktan dan dapat mengaktifkan enzim *HMG-CoA reductase* kemudian menekan reseptor LDL sehingga menyebabkan naiknya kolesterol dalam darah [39, 40].

Baru-baru ini dikembangkan sebuah model hiperlipidemia pada hewan uji yang cepat, nyaman, dan biaya rendah dengan menggunakan Poloxamer 407 (P-407), sebuah senyawa inert dengan toksisitas rendah[41]. P-407 akan menyebabkan hiperlipidemia berkelanjutan selama minimal 25 hari tanpa efek yang nampak pada hewan uji. Aspek menguntungkan dari model ini berkaitan pada hubungan dosis-respons dengan tingkat hiperlipidemia dapat tepat diatur dengan mengubah dosis[42].

b. Panetapan kadar kolesterol dan trigliserida dengan spektrofotometer uv-vis

Spektra uv-vis dapat digunakan untuk informasi kualitatif dan sekaligus dapat digunakan untuk analisis kuantitatif.

1. Aspek kualitatif

Data spektra uv-vis secara tersendiri tidak dapat digunakan untuk identifikasi kualitatif obat atau metabolitnya. Akan tetapi jika digabung dengan cara lain seperti spektroskopi inframerah, resonansi magnet inti, dan spektroskopi massa, maka dapat digunakan untuk maksud identifikasi / analisis kualitatif suatu senyawa tersebut. Data yang diperoleh dari spektroskopi uv dan vis adalah panjang gelombang maksimal, intensitas, efek pH, dan pelarut; yang kesemuanya itu dapat dibandingkan dengan data yang sudah dipublikasikan. Dari spektra yang diperoleh dapat dilihat, misalnya:

i. Serapan (absorbansi) berubah atau tidak karena perubahan pH. Jika berubah, bagaimana perubahannya apakah dari batokromik ke hipsokromik dan sebaliknya atau dari hipokromik ke hiperkromik, dan sebagainya

ii. Obat-obat yang netral misalnya kafein, kloramfenikol; atau obat-obat yang berisi auksokrom yang tidak terkonjugasi seperti amfetamin, siklizin dan pensiklidin [42].

2. Aspek kuantitatif

Dalam aspek kuantitatif, suatu berkas radiasi dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap jika tidak ada spesies penyerap lainnya. Intensitas atau kekuatan radiasi cahaya sebanding dengan jumlah foton yang melalui satu satuan luas penampang per detik. Serapan dapat terjadi jika foton / radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Kekuatan radiasi juga mengalami penurunan dengan adanya penghamburan dan pemantulan cahaya, akan tetapi penurunan karena hal ini sangat kecil dibandingkan dengan proses penyerapan[(42)].

c. Mekanisme pembentukan warna

1) Reagen kolesterol / Fluitest® CHOL (CHOLESTEROL CHOD-PAP)

Kolesterol merupakan steroid dengan kelompok *hydroxyl* sekunder pada posisi C_3. Kolesterol disintesis dalam berbagai tipe jaringan, tetapi sebagian di hepar dan dinding usus. Kurang lebih ¾ kolesterol baru disintesis dan ¼ berasal dari asupan makanan. Pemeriksaan kolesterol digunakan untuk mengetahui resiko *atherosclerosis* dan mendiagnosis adanya gangguan yang meliputi peningkatan kolesterol disertai gangguan metabolisme lipid dan lipoprotein. Metode yang digunakan disini adalah berdasarkan penetapan perubahan *cholestenone* setelah pemotongan secara enzimatik dari ester kolesterol dengan perubahan kolesterol esterase dari kolesterol menjadi kolesterol oksidase kemudian pengukuran dengan reaksi Trinder dari bentuk hidrogen peroksida. Optimasi dari pemotongan ester (>99,5%) mengikuti standardisasi menggunakan standard primer dan sekunder dan perbandingan langsung menggunakan metode referensi CDC dan NIST. Pemeriksaan kolesterol Biocon® memenuhi tujuan dari National Institutes of Health (NIH) kurang dari atau sama dengan 3% untuk kedua presisi dan bias[(43)].

Prinsip mekanisme pewarnaan secara enzimatis dapat dijelaskan sebagai berikut:

Sampel ditambah R1 (reagen kolesterol) dan mulai terjadi reaksi. Kolesterol ditetapkan secara enzimatis menggunakan kolesterol esterase dan kolesterol oksidase.

Cholesterin ester + H_2O $\xrightarrow{\text{cholesterol esterase}}$ *cholesterol* + asam lemak

Kolesterol ester dipotong dengan aksi atau kolesterol esterase menjadi kolesterol bebas dan asam lemak

Cholesterol + O_2 $\xrightarrow{\text{kolesterol oksidase}}$ *cholesten-3-on* + H_2O

2 H_2O_2 + *phenol* + 4-*Aminoantipyrine* $\xrightarrow{\text{peroksidase}}$ *quinoeimine dye* + 4 H_2O

Kolesterol diubah oleh oksigen dengan bantuan kolesterol oksidase menjadi cholest-4-en 3-one dan hidrogen peroksidase. Hidrogen peroksidase membentuk zat warna merah dengan mereaksikan dengan *4-Aminoantipyrine* dan fenol dibawah katalisis dari peroksidase. Intensitas warna secara langsung proporsional dengan konsentrasi kolesterol dan bisa ditetapkan secara fotometri[(43)].

2) Reagen trigliserida / Fluitest® TG (TRIGLYSERIDES GPO-PAP)

Trigliserida merupakan ester dari *trihydric alcohol glyserol* dengan 3 rantai panjang asam lemak. Trigliserida sebagian disintesis di hepar dan sebagian dari asupan makanan.Penetapan trigliserida digunakan dalam diagnosis dan terapi pasien yang mengalami diabetes mellitus, nefrosis, gangguan hepar, gangguan metabolisme lipid, dan penyakit endokrin lainnya. Metode ini berdasarkan uji dari Wahlefeld menggunakan lipoprotein lipase dari mikroorganisme untuk hidrolisis lengkap dan cepat dari trigliserida menjadi gliserol diikuti dengan oksidasi menjadi *dihydroxyacetone phosphate* dan *hidrogen peroksidase*. Hidrogen peroksidase yang dihasilkan kemudian bereaksi dengan *4-aminophenazon dan 4-chlorophenol* dibawah katalisis dari peroksidase membentuk warna merah (reaksi akhir Trinder[(43)].

Prinsip mekanisme pewarnaan secara enzimatis dijelaskan sebagai berikut:

Trigliserida + 3 H_2O $\xrightarrow{\text{LPL}}$ Gliserol + 3 RCOOH

Gliserol + ATP $\xrightarrow[Mg^{2+}]{\text{GK}}$ G-3-P + ADP

$G\text{-}3\text{-}P + O_2 \xrightarrow{GPO} DAP + H_2O_2$

H_2O_2 + 4-*aminoantipyrine* + p-*chlorophenol* $\xrightarrow{POD}$ 4-(p-*benzoquinone-monoimino)-phenazone*+ 2 H_2O + HCL[43].

B. Landasan Teori

Kadar lemak yang abnormal dalam sirkulasi darah (terutama kolesterol) bisa menyebabkan masalah jangka panjang. Resiko terjadinya *atherosclerosis* dan penyakit arteri koroner atau penyakit pembuluh darah arteri meningkat pada seseorang yang memiliki kadar kolesterol total yang tinggi. Kadar kolesterol rendah biasanya lebih baik dibandingkan dengan kadar kolesterol yang tinggi, tetapi kadar yang terlalu rendah juga tidak baik. Kadar kolesterol total yang ideal adalah 140-200 mg/dL atau kurang. Jika kadar kolesterol total mendekati 300 mg/dL, maka resiko terjadinya serangan jantung adalah lebih dari 2 kali[22].

Berdasarkan literatur, beberapa zat aktif yang terkandung di dalam daun dan buah mahkota dewa antara lain alkaloid, terpenoid, saponin, lignan (polifenol) dan flavonoid[12]. Hasil identifikasi lainnya menyebutkan bahwa kandungan kimia dari buah mahkota dewa terdiri dari glikosida fenolik, seperti mahkotasida, mangiferin, kaempferol-3-O-β-d glukosida, asam dodekanoat, asam palmitat, etil stearat, sukrosa[13], asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, steroid (sitosterol, stigmasterol, sikloargentenol), benzofenon glikosida, karbohidrat (glukosa)[14], dan lignan pinoresinol, lariciresinol, dan matairesinol[15]. Efek antioksidan dari beberapa zat aktif tersebut diduga dapat mempengaruhi metabolisme lipid atau dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah.

Penelitian terhadap tanaman ini secara empiris diyakini bermanfaat untuk mengontrol kolesterol. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan sebelumnya, ekstrak mahkota dewa pada dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dapat mencegah terjadinya *atherosclerosis*[9]. Pada penelitian sebelumnya belum dilakukan standardisasi ekstrak yang merupakan serangkaian parameter dan prosedur pengukuran yang hasilnya memenuhi syarat standar (kimia, biologi, dan farmasi), termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian [19].

C. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori tersebut maka dapat disusun suatu hipotesis bahwa ekstrak etanol mahkota dewa (*Phaleria macrocarp*a [Scheff.] Boerl.) terstandar dapat digunakan sebagai upaya preventif hiperlipidemia.

BAB III
METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

a. Bahan ekstraksi

Bahan baku utama (primer) yang diperlukan dalam penelitian ini adalah buah mahkota dewa yang diperoleh dari petani lokal Kulonprogo, Yogyakarta. Bahan lain (sekunder) yang diperlukan untuk proses ekstraksi buah adalah pelarut etanol 70%.

b. Bahan uji hiperlipidemia

Hewan uji yang digunakan adalah 25 ekor mencit jantan galur Swiss umur 1½ bulan dengan bobot badan 20 – 30 gram yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT – UNIT 4) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta (lampiran 2) dan diberi minum *ad libitum,* poloxamer, reagen kolesterol dan trigliserida, aquades, obat simvastatin, *eppendorf*, spuit oral, spuit injeksi, Microtip (*yellow* dan *blue* tip).

2. Alat

a. Alat ekstraksi

Peralatan yang diperlukan untuk ekstraksi adalah seperangkat alat maserasi serta *rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental.

b. Alat uji herbal terstandar

Alat yang digunakan yaitu KLT, *viscometer Brookfield*, dan *Moisture Balancer HB43*

c. Alat uji hiperlipidemia

Alat- alat yang digunakan untuk uji ini adalah timbangan hewan (EK-1200A AND), timbangan analitik bahan (Metler Toledo type 303), *sentrifuge* (Heraeus-Sepatech), kertas timbang, vortex (Maxi-mix, Thermolyne), spektrofotometer uv-vis (Hitachi u-280), kandang mencit, alat- alat gelas (labu takar, gelas beker, gelas ukur, pipet).

B. Cara Kerja

1. Preparasi ekstrak

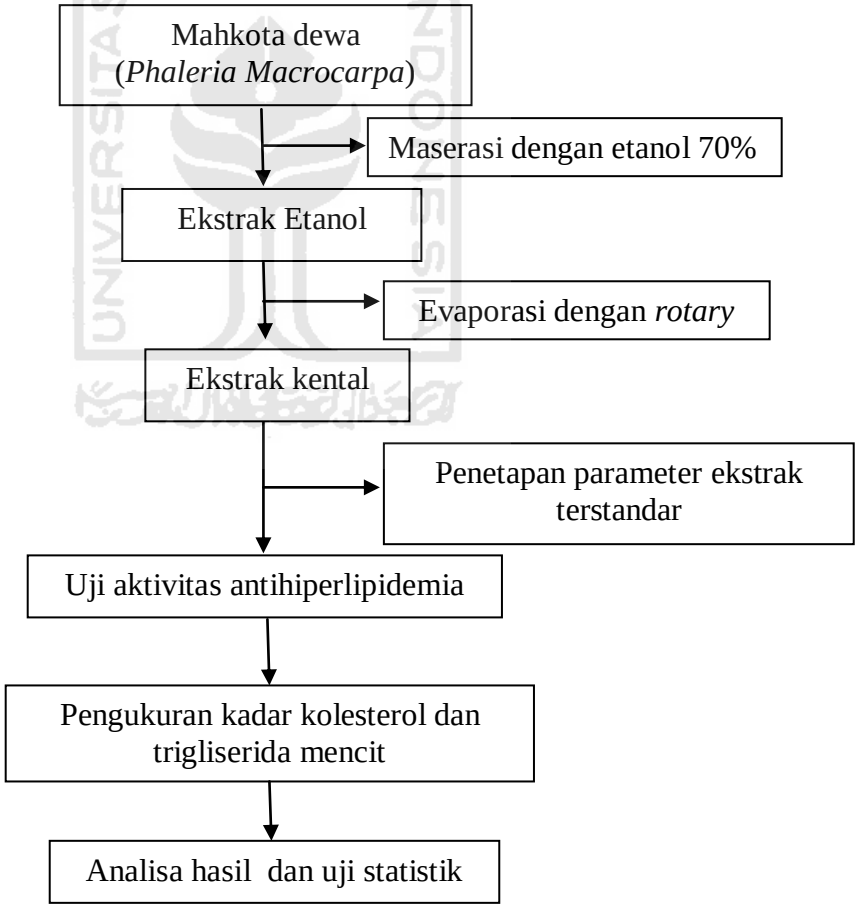
a. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman *Phaleria Macrocarpa* (Scheff.) Boerl. bertempat di Laboratorium Biologi Farmasi, Jurusan Farmasi, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

b. Penyiapan serbuk mahkota dewa

Buah matang mahkota dewa yang dipilih secara acak dicuci dengan air mengalir sehingga bersih dari kotoran dan debu. Bahan yang telah bersih diiris dan bijinya disisihkan, kemudian dikeringkan dalam lemari pengering suhu 45^{o}C. Bahan yang sudah kering, diserbuk dengan menggunakan blender.

2. Skema penelitian



Gambar 10. Alur penelitian

3. Jalannya penelitian

a. Penetapan parameter ekstrak terstandar

1) Uji organoleptis.

Pengamatan secara visual penggunaan pancaindera mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa.

2) Uji kadar air

Uji kadar air dalam penelitian ini menggunakan alat *Moisture Balancer HB43* yang telah dikalibrasi. Ekstrak dengan berat ± 500 mg dimasukkan dalam alat sampai tanda persentase menunjukkan hasil konstan.

3) Uji kekentalan

Uji kekentalan dilakukan dengan menggunakan *viscometer Brookfield*.

4) Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji menggunakan KLT pada ekstrak mahkota dewa dalam penelitian ini untuk mengetahui adanya senyawa aktif flavonoid. Cara yang dilakukan adalah dengan menimbang sampel sebanyak 50 mg, dimasukkan dalam labu lalu dihidrolisis dengan asam sulfat 2 N selama 30 menit. Setelah didinginkan lalu ditambah dietileter, diekstraksi dengan vortex lalu di*sentrifuge*. Kemudian diambil fase eter dan dievaporasi menggunakan gas nitrogen. Sampel sebanyak 10 µl ditotolkan pada plate silika disertakan senyawa pembanding. Plat dimasukkan dalam *chamber* jenuh fase gerak etil asetat:asam formiat:air (100:11:11:27). Dielusi sampai batas atas lalu plate dikeringkan dibawah sinar UV, diuapi dengan amoniak. Semprot dengan vanilin asam klorida, dipanaskan 100^{o}C selama 2 menit. Bercak dapat dilihat dibawah sinar UV 254 nm, 365 nm, dan sinar visibel.

b. Perhitungan Dosis

Dosis yang digunakan adalah 100 mg/kg BB, 200 mg/kg Pembuatan stok didasarkan pada dosis terendah yaitu 100 mg/kgBB dengan asumsi pemberian 0,2 mL untuk mencit 20-30 gram.

1) Dosis Ekstrak Mahkota dewa 100 mg/kgBB

i. Konversi Dosis

Konversi dosis burung puyuh (BB= 90 g)

$$100 \text{ mg/kgBB} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{9 \text{ mg}}{90 \text{ g}}$$

Konversi dosis burung puyuh ke dosis manusia (BB = 70 kg)

$$\frac{9 \text{ mg}}{90 \text{ g}} = \frac{7000 \text{ mg}}{70000 \text{ g}}$$

Konversi dosis manusia ke mencit (BB = 20 g)

$$\frac{7000 \text{ mg}}{70000 \text{ g}} \text{ x } 0{,}0026 = 18{,}2 \text{ mg} / 20 \text{ g}$$

ii. Perhitungan larutan stok untuk 2 hari

20 g ~ 0,2 mL

Volume larutan = 0,2 mL x 6 (mencit) x 2 (hari)

= 2,4 mL

$$\text{Larutan stok} = \frac{18{,}2 \text{ mg}}{0{,}2 \text{ mL}} = \frac{218{,}4 \text{ mg}}{2{,}4 \text{ mL}} = \frac{910 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{0{,}910 \text{ g}}{10 \text{ mL}}$$

iii. Volume pemejanan

Volume pemejanan disesuaikan dengan berat badan mencit.

Misal berat mencit 25 g, maka $Vp = \frac{25 \text{ g}}{20 \text{ g}}$ x 0,2 mL = 0,25 mL

2) Dosis Ekstrak Mahkota dewa 200 mg/kgBB

i. Konversi Dosis

Konversi dosis burung puyuh (BB= 90 g)

$$200 \text{ mg/kgBB} = \frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{18 \text{ mg}}{90 \text{ g}}$$

Konversi dosis burung puyuh ke dosis manusia (BB = 70 kg)

$$\frac{18 \text{ mg}}{90 \text{ g}} = \frac{14000 \text{ mg}}{70000 \text{ g}}$$

Konversi dosis manusia ke mencit (BB = 20 g)

$$\frac{14000 \text{ mg}}{70000 \text{ g}} \text{ x } 0{,}0026 = 36{,}4 \text{ mg / } 20 \text{ g}$$

ii. Perhitungan larutan stok untuk 2 hari

20 g ~ 0,2 mL

Volume larutan = 0,2 mL x 6 (mencit) x 2 (hari)

= 2,4 mL

$$\text{Larutan stok} = \frac{36{,}4 \text{ mg}}{0{,}2 \text{ mL}} = \frac{436{,}8 \text{ mg}}{2{,}4 \text{ mL}} = \frac{1820 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{1{,}82 \text{ g}}{10 \text{ mL}}$$

iii. Volume pemejanan

Volume pemejanan disesuaikan dengan berat badan mencit.

Misal berat mencit 25 g, maka Vp = $\frac{25\ g}{20\ g}$ x 0,2 mL = 0,25 mL

3) Dosis Simvastatin 10 mg/70 kgBB

i. Konversi Dosis

Konversi dosis manusia ke mencit (BB = 20 g)

$$\frac{10 \text{ mg}}{70 \text{ kgBB}} \text{ x } 0{,}0026 = 0{,}026 \text{ mg / } 20 \text{ g}$$

ii. Perhitungan larutan stok untuk 2 hari

Volume larutan = 0,2 mL x 6 (mencit) x 2 (hari)

= 2,4 mL

$$\text{Larutan stok} = \frac{0{,}026 \text{ mg}}{0{,}2 \text{ mL}} = \frac{0{,}312 \text{ mg}}{2{,}4 \text{ mL}} = \frac{1{,}3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}}$$

Bobot per tablet = 100 mg

$$\text{Jadi larutan stok} = \frac{1{,}3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \text{ x } \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} = \frac{1300 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{1{,}3 \text{ g}}{10 \text{ mL}}$$

iii. Volume pemejanan

Volume pemejanan disesuaikan dengan berat badan mencit.

Misal berat mencit 25 g, maka Vp = $\frac{25\ g}{20\ g}$ x 0,2 mL = 0,25 mL

4) Dosis Poloxamer

Dosis penelitian sebelumnya adalah 400 mg/kgBB

$$400 \text{ mg/kgBB} = \frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ g}}$$

$$= \frac{8 \text{ mg}}{20 \text{ g}}$$

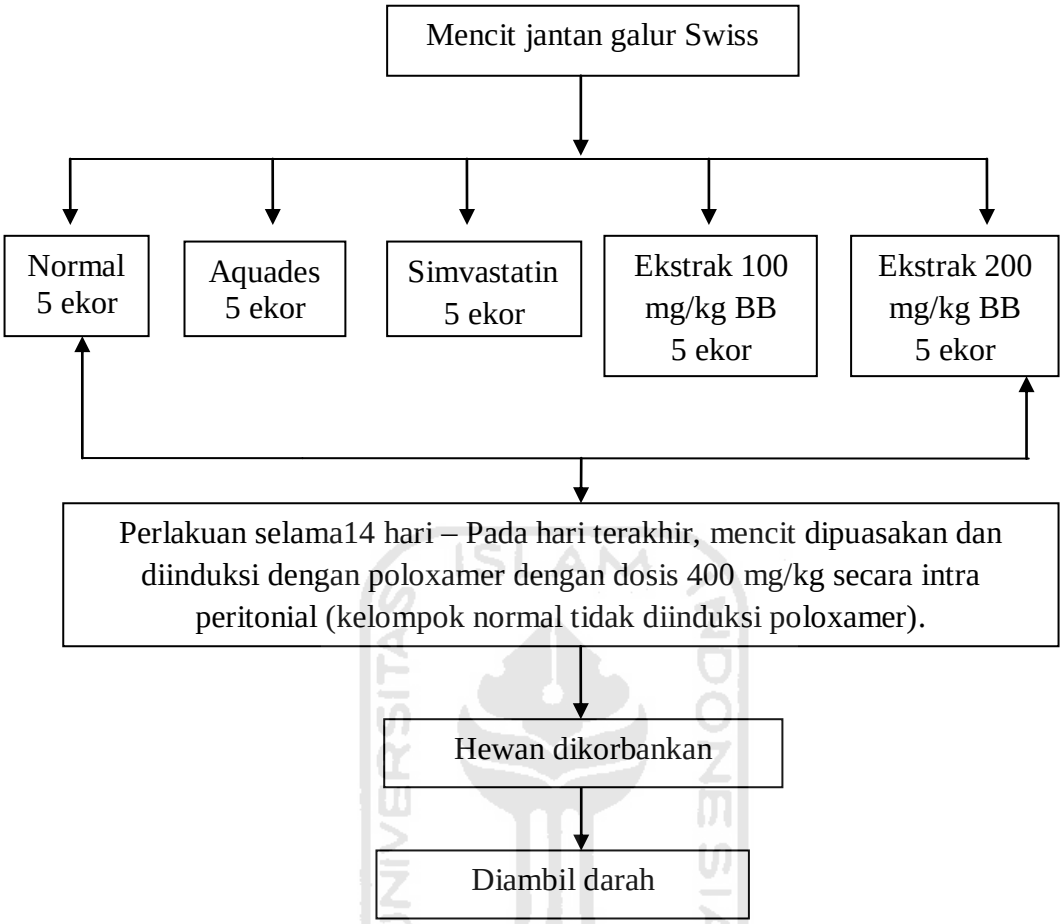
$$= \frac{8 \text{ mg}}{0{,}2 \text{ mL}} = \frac{2 \text{ g}}{50 \text{ mL}}$$

Volume pemejanan beradasar hasil optimasi = 0,5 mL

c. Perlakuan pada hewan uji

Mencit sejumlah 25 ekor dengan berat badan sekitar 20 g – 30 g dikondisikan pada suhu ruangan selama satu minggu untuk proses adaptasi dan diberi makan dan minum *ad libittum*. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan sebagai berikut:

a. Kelompok normal : mencit normal + aquadest
b. Kelompok kontrol : mencit normal + aquadest
c. Kelompok referen : mencit normal + simvastatin 10 mg/kgBB
d. Kelompok perlakuan A : mencit normal + ekstrak mahkota dewa dosis 100 mg/kgBB
e. Kelompok perlakuan B : mencit normal + ekstrak mahkota dewa dosis 200 mg/kgBB



Gambar 11. Perlakuan pada hewan uji

4. Metode analisis serum

Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit, dan diberi perlakuan secara per oral dengan senyawa uji selama 2 minggu. Pada hari terakhir, mencit dipuasakan dan diinduksi dengan poloxamer dengan dosis 400 mg/kgBB secara intraperitonial tetapi pada kelompok normal tidak diinduksi poloxamer. Setelah satu malam dipuasakan (18 jam) setelah induksi poloxamer, mencit dikorbankan dengan cara diberi eter overdosis kemudian dibedah bagian perutnya dan darah diambil dari vena lateral. Darah disentrifus pada 3000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum. Dari serum yang didapat digunakan untuk penetapan kadar total kolesterol dan trigliserida serum.

a. Penetapan kadar kolesterol

Pada tabung reaksi standar / referensi dan tabung reaksi sampel diisi dengan 10 µl serum ditambah 1000 µl reagen kolesterol. Pada tabung reaksi blanko diisi 1000 µl reagen kolesterol. Kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu ±37^{o}C atau pada 20^{o}C sampai 25^{o}C. Dalam 60 menit dibaca absorbansi dari larutan standar / referensi, sampel, dan blanko. Pembacaan absorbansi dilakukan pada spektrofotometri uv-vis pada panjang gelombang 546 nm (500-550 nm). Dari prosedur tersebut dapat diketahui konsentrasi kolesterol yaitu:

$$\text{Konsentrasi kolesterol} = \frac{\Delta\text{absorbansi sampel}}{\Delta\text{absorbansi standar}} \text{ x konsentrasi standar}$$

b. Penetapan kadar trigliserida

Pada tabung reaksi standar / referensi dan tabung reaksi sampel diisi dengan 10 µl serum ditambah 1000 µl reagen trigliserida. Pada tabung reaksi blanko diisi 1000 µl reagen trigliserida. Kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu ±37^{o}C atau pada 20^{o}C sampai 25^{o}C. Dalam 60 menit dibaca absorbansi dari larutan standar / referensi, sampel, dan blanko. Pembacaan absorbansi dilakukan pada spektrofotometri uv-vis pada panjang gelombang 546 nm (500-550 nm). Dari prosedur tersebut dapat diketahui konsentrasi kolesterol yaitu:

$$\text{Konsentrasi trigliserida} = \frac{\Delta\text{absorbansi sampel}}{\Delta\text{absorbansi standar}} \text{ x konsentrasi standar}$$

C. Analisis Hasil

Metode analisis data menggunakan perangkat lunak SPSS 16 pada sistem operasi Windows menggunakan uji *one way* Anova. Metode ini digunakan untuk mengetahui pengaruh masing-masing perlakuan terhadap kadar kolesterol total, dilanjutkan dengan *post-Hoc test.* Kadar kolesterol total serum dikatakan bermakna apabila nilai signifikansi yang dihasilkan kurang dari 0,05 ($p<0,05$) dan tidak memiliki perbedaan yang bermakna jika nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p>0,05$) dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) terstandar sebagai upaya preventif hiperlipidemia pada mencit yang diinduksi poloxamer. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) yang diperoleh Kulonprogo, Yogyakarta. Pengujian ini dilakukan pada mencit jantan galur Swiss. Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini mempunyai berat badan sekitar 20-30 gram yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT – UNIT 4) Universitas Gadjah Mada (lampiran 2). Penelitian ini juga telah memenuhi syarat etik dan mendapatkan surat kelaikan etik (*ethical clearance*) yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta (lampiran 3).

A. Determinasi Tanaman Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.)

Uji determinasi tanaman mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia. Determinasi ini bertujuan untuk membuktikan dan memastikan kebenaran bahwa tanaman dalam penelitian ini adalah jenis tanaman mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.). Determinasi ini dilakukan dengan menggunakan seluruh bagian tanaman, kecuali bagian akarnya. Tanaman buah mahkota dewa dideterminasi menurut cara dalam buku "Flora of Java" sebagai acuan dalam menentukan kunci determinasi. Kunci determinasi yang diperoleh adalah sebagai berikut:

942.b – 941.b – 940.a – 939.a – 938.c – 937.a – 936.b – 935.b - 934.a – 936.b – 935.b - 934.a – 933.b – 877.d – 876.b – 875.b – 874.b - 872.b – 860.b – 858.b – 857.a – 856.b – 855.c – 854.a – 853.b – 852.b – 851.a – 837.c – 836.a – 835.a – 834.a – 833.b – 832.b – 831.b – 830.b – 829.b – 826.b – 825.b – 824.b – 822.b – 821.b – 820.b – 818.b – 816.b – 815.b – 812.b – 811.a – 810.b - 809.b – 808.c – 807.a - 806.b – 805.c – 804.b – 803.b – 802.a – 801.b – 800.b – 799.b – 27.b – 26.b – 25.b – 24.b – 23.b –

22.b – 21.b – 20.b – 19.b – 18.b -17.b – 14.b – 13.b – 12.b – 11.b – 10.b – 9.a – 8.b – 6.b – 5.b – 4.b – 3.b – 2.b -1.b

Dari hasil kunci determinasi diatas dapat dipastikan bahwa buah yang digunakan dalam penelitian ini merupakan buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.).



Gambar 12. Buah mahkota dewa

B. Ekstraksi Buah Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.)

Metode yang digunakan dalam ekstraksi ini adalah metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia kedalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif yang ada didalam sel dengan yang ada diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa berulang terjadi sehingga kesetimbangan antara larutan di luar sel dan di dalam sel[(44)]. Buah mahkota dewa yang digunakan adalah dalam bentuk rajangan tipis yang telah dikeringkan. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terdapat didalam buah mahkota dewa sehingga mencegah pembusukan oleh bakteri. Selain itu, dengan pengeringan bahan akan lebih tahan lama sehingga dapat digunakan dalam waktu tertentu. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi ini adalah etanol 70%. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, meminimalkan pertumbuhan bakteri, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur

dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan relatif lebih sedikit[44].

Hasil ekstraksi didapatkan ekstrak kental berwarna coklat pekat seperti yang disajikan pada gambar 3. Rendemen yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah 27,17% artinya dalam 100 gram serbuk kering buah mahkota dewa didapatkan 27,17 gram ekstrak kental. Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen berguna sebagai perbandingan perolehan ekstrak yang didapat, sehingga kita memperoleh data kebutuhan sampel.



Gambar 13. Serbuk kering mahkota dewa



Gambar 14. Ekstrak kental mahkota dewa / warna *dark skin*[45]

C. Standardisasi Ekstrak Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.)

Standardisasi ekstrak dalam penelitian ini berupa pemaparan secara deskriptif yang bertujuan sebagai parameter untuk menjaga mutu ekstrak. Hasil standardisasi ekstrak mahkota dewa disajikan pada tabel 1.

Tabel I. Hasil standardisasi ekstrak mahkota dewa

Parameter standardisasi	Hasil
1. Organoleptik	warna = coklat pekat / *dark skin*[45] bau = khas aromatik rasa = pahit bentuk = ekstrak kental
2. Kadar air	19,04 ± 1,21 %
3. Viskositas	10338 ± 0,01 cp
4. Kandungan senyawa aktif	flavonoid

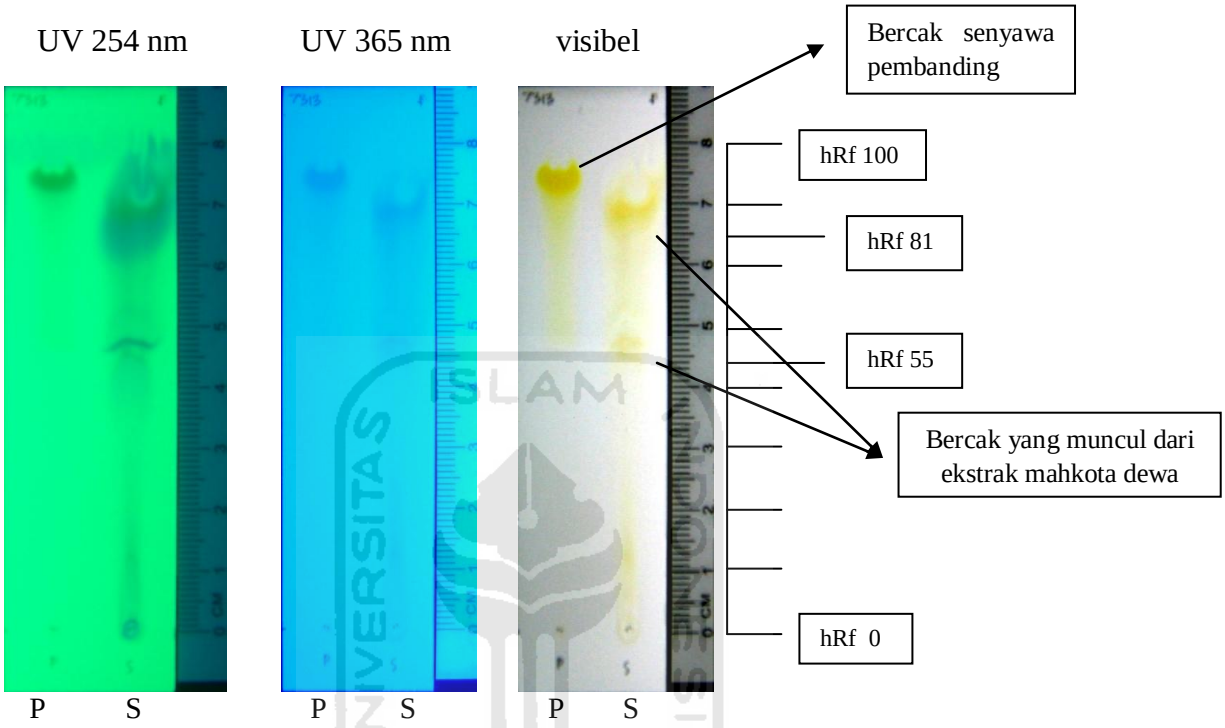
Uji yang pertama kali dilakukan adalah uji organoleptik. Tujuan dilakukannya uji organoleptik adalah untuk langkah pengenalan awal sederhana yang seobyektif mungkin. Pemeriksaan dilakukan dengan melihat secara langsung bagaimana sifat fisik dari ekstrak kental mahkota dewa yang dihasilkan. Dari hasil dapat diketahui bahwa ekstrak mahkota dewa mempunyai bentuk berupa ekstrak kental dengan warna ekstrak *dark skin*[45] atau coklat pekat, dengan bau khas aromatik, dan memiliki rasa pahit.

Penetapan kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan[44]. Parameter penetapan kadar air dilakukan menggunakan alat *Moisture Balancer HB43*. Dari hasil penetapan kadar air terlihat bahwa dalam ekstrak mahkota dewa ini memiliki kadar air yang telah memenuhi syarat yaitu kurang dari 30%.

Untuk melihat kekentalan dari ekstrak mahkota dewa, digunakan rotor nomor S64 dengan kecepatan 50 rpm dihasilkan kekentalan rata – rata 10388 cp. Kekentalan ekstrak akan berpengaruh pada proses homogenitas. Semakin kental ekstrak yang digunakan maka akan semakin kuat ikatan antar partikelnya

Uji standardisasi ekstrak yang terakhir yaitu uji kandungan senyawa aktif. Uji kandungan senyawa aktif ekstrak buah mahkota dewa bertujuan untuk mengetahui dan memastikan apakah didalam ekstrak mahkota dewa ini terkandung senyawa flavonoid yang dicari. Uji ini dilakukan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram menggunakan data baku yang telah ditetapkan. Kandungan kimia ekstrak etanol buah mahkota dewa diuji menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang dilakukan di LPPT-UGM.

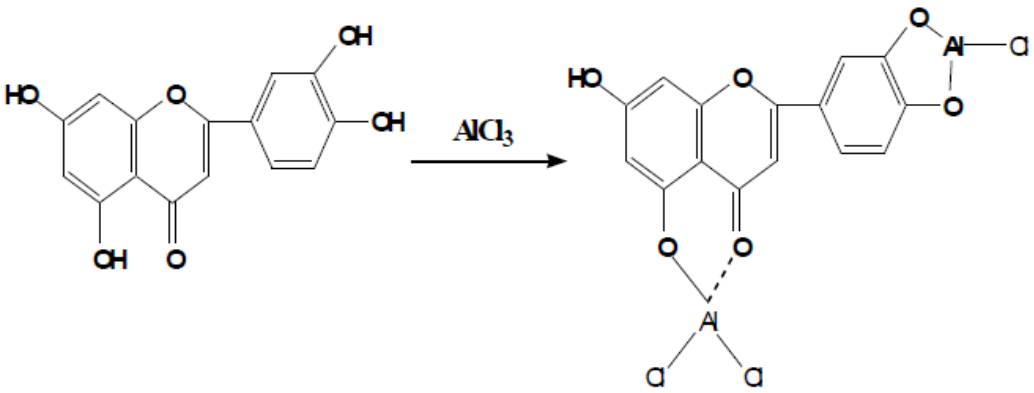
Untuk mendeteksi flavonoid, fase diam yang digunakan adalah silika Gel 60 F_{254} sedangkan fase geraknya menggunakan etil asetat : metanol : asam formiat dengan perbandingan 95 : 5 : 0,5. Hasil yang didapat kemudian dideteksi menggunakan *aluminium chloride* dan diamati dengan sinar UV254 nm, 365 nm dan visibel.



Gambar 15. Hasil uji kualitatif flavonoid pada ekstrak buah mahkota dewa dengan menggunakan KLT

Keterangan
Fase diam : silika Gel 60 F_{254}
Fase gerak : etil asetat : metanol : asam formiat (95 : 5 : 0,5)
Pereaksi : *aluminium chloride*
P : bercak pembanding Quercetin
S : sampel ekstrak mahkota dewa

Dari hasil KLT pada gambar 12 diperoleh warna spot flavonoid di bawah sinar *visible* berwarna kuning. Nilai Rf flavonoid yang terdeteksi yaitu 0,55 dengan hRf 55 dan Rf 0,81 dengan hRf 81. Bercak kuning yang dihasilkan pada plat KLT diatas disebabkan karena ada reaksi antara pereaksi *aluminium chloride* ($AlCl_3$) dengan golongan flavonoid sehingga membentuk kompleks antara gugus hidroksil dan keton yang bertetangga atau dengan gugus hidroksil yang saling bertetangga.



Flavonoid Kompleks flavonoid- *aluminium chloride*

Gambar 16. Reaksi kompleks pembentukan Flavonoid-Aluminium Chloride [52]

Bercak flavonoid yang terdeteksi memiliki hRf 55 dan 81. Hasil pengamatan bercak ekstrak dan pembanding pada sinar UV 254 dan sinar UV 365 menunjukkan warna gelap, sedangkan pada sinar visibel menunjukkan warna kuning untuk bercak flavonoid maupun pembanding. Dari hasil uji kandungan senyawa aktif menggunakan KLT diketahui bahwa dalam ekstrak buah mahkota dewa positif mengandung flavonoid.

D. Optimasi dosis dan metode penelitian

Sebelum dilakukan penelitian maka dilakukan optimasi terlebih dahulu, meliputi optimasi metode dan dosis. Optimasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya reaksi yang ditimbulkan pada hewan uji dengan pemberian dosis ekstrak maupun obat sintetik selama waktu perlakuan 2 minggu. Hewan uji yang digunakan dalam optimasi ini adalah mencit. Sebanyak 15 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok normal, kontrol, simvastatin, ekstrak mahkota dewa dosis 100 mg/kgBB, ekstrak mahkota dewa dosis 200 mg/kgBB. Pemberian obat atau ekstrak mahkota dewa dilakukan pada awal penelitian karena metode penelitian yang digunakan adalah secara preventif. Setelah itu induksi kolesterol dengan poloxamer 400 mg/kgBB dilakukan pada akhir penelitian. Dari hasil optimasi selama 2 minggu menunjukkan bahwa dosis dan metode yang digunakan aman untuk hewan uji sehingga dapat digunakan untuk penelitian.

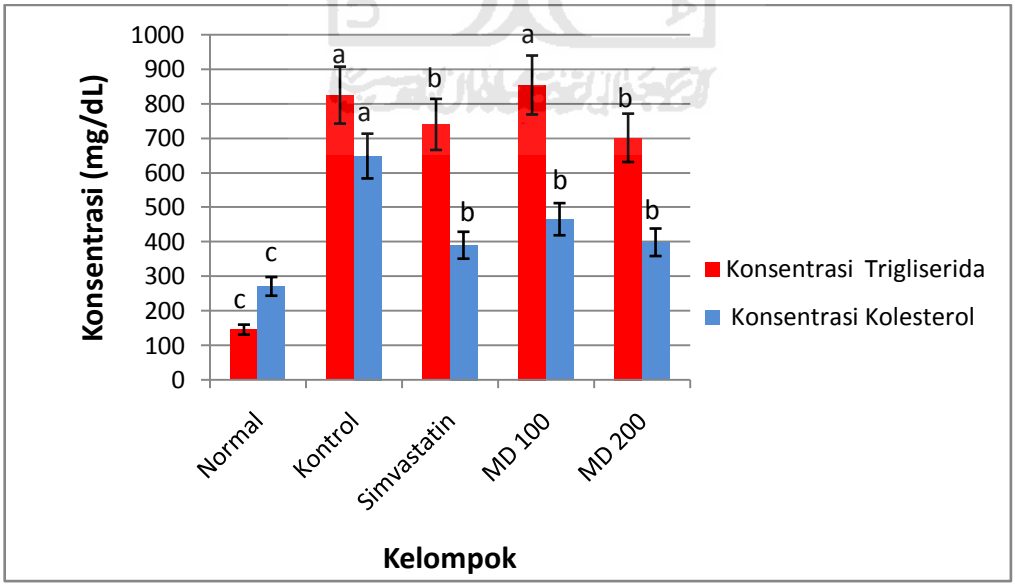
E. Uji Aktivitas Ekstrak Mahkota dewa Ditinjau dari Parameter Trigliserida dan Kolesterol

Terapi preventif pada penelitian ini dilakukan dengan pemberian induksi hiperlipidemia pada akhir penelitian. Setelah itu dilakukan analisis pada serum untuk mendapatkan data absorbansi trigliserida dan kolesterol yang kemudian dihitung menggunakan rumus untuk memperoleh konsentrasi keduanya. Hasil rata-rata konsentrasi trigliserida dapat diamati apada tabel dibawah ini.

Tabel II. Hasil uji aktivitas antihiperlipidemia kadar trigliserida dan kolesterol dalam darah (mg/dL)

Kelompok perlakuan	N	Kadar trigliserida (rata-rata ± SD)	Kadar kolesterol (rata-rata ± SD)
Normal	5	145,40 ± 26,28[c]	270,67 ± 13,42[c]
Kontrol	5	824,45 ± 39,31[a]	648,02 ±112,74[a]
Simvastatin	5	739,65 ± 54,29[b]	389,78 ± 36,06[b]
Ekstrak mahkota dewa 100 mg/kgBB	5	853,71 ± 9,68[a]	465,17 ± 7,37[b]
Ekstrak mahkota dewa 200 mg/kgBB	5	700,79 ± 24,45[b]	398,34 ± 39,34[b]

*Indeks menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p<0,05$) terhadap kelompok lain

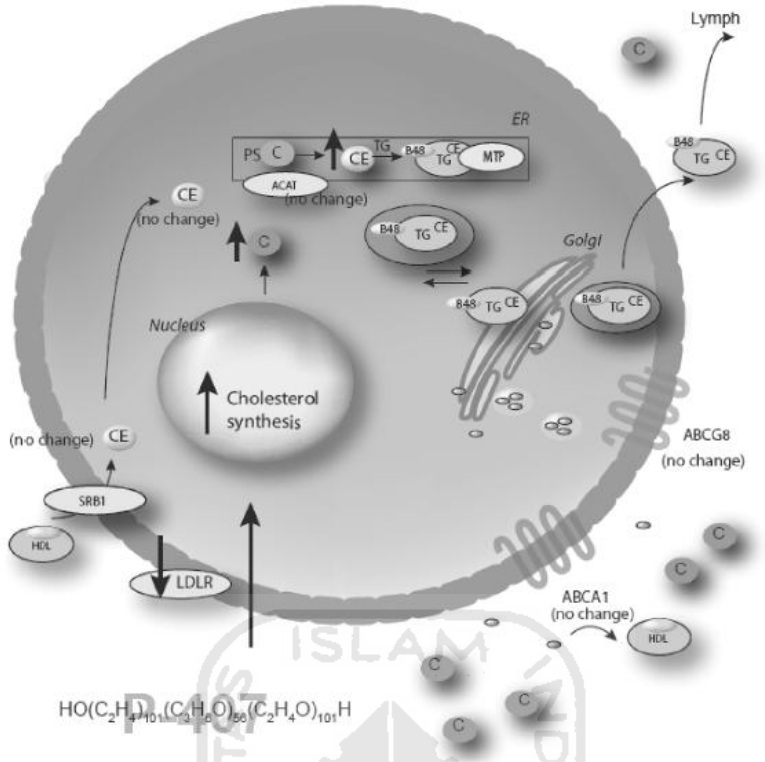


Gambar 17. Grafik rata-rata konsentrasi trigliserida dan kolesterol. Indeks menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p<0,05$) terhadap kelompok lain.

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *one way Anova* (p=0,05) dapat diamati bahwa induksi poloxamer mampu meningkatkan kadar trigliserida dan kolesterol secara signifikan pada kelompok kontrol dibandingkan kelompok normal (tabel II dan gambar 17). Pemberian ekstrak mahkota dewa dosis 200 mg/kgBB terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol maupun trigliserida pada mencit hiperlipidemia. Hal ini ditunjukkan dengan adanya perbedaan yang signifikan antara pemberian ekstrak mahkota dewa 200 mg/kgBB terhadap kelompok kontrol ($p<0,05$). Simvastatin 10 mg/kgBB dengan ekstrak mahkota dewa 200 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p>0,05$), tetapi ada perbedaan signifikan antara simvastatin 10 mg/kgBB dengan kelompok kontrol ($p<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa simvastatin dosis 10 mg/kgBB memiliki kemampuan menurunkan kolesterol maupun trigliserida.

Pada pengukuran trigliserida, ekstrak mahkota dewa dengan dosis 100 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol, hal ini dapat diartikan bahwa dengan dosis 100 mg/kgBB mahkota dewa tidak dapat menurunkan kadar trigliserida. Hal yang berbeda ditunjukkan saat pengukuran kadar kolesterol, dari tabel II dapat diketahui bahwa adanya perbedaan yang signifikan antara ekstrak mahkota dewa 100 mg/kgBB terhadap kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak mahkota dewa dosis 100 mg/kgBB dapat menurunkan kolesterol tetapi tidak dapat menurunkan trigliserida pada mencit hiperlipidemia. Pada gambar 17 terlihat bahwa mahkota dewa dosis 100 mg/kgBB memiliki kadar trigliserida hampir sama dengan kelompok kontrol, sehingga tidak menunjukkan penurunan kadar trigliserida setelah pemberian ekstrak. Hal ini kemungkinan disebabkan kurangnya dosis ekstrak mahkota dewa 100 mg/kgBB karena pada dosis diatasnya, yaitu 200 mg/kgBB, ekstrak mahkota dewa terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol maupun trigliserida.

Induksi hiperlipidemia menggunakan poloxamer 407 (P-407) yaitu suatu hidrofilik triblok kopolimer yang terdiri dari *polyoxyethylene* dan *polyoxypropylene*. Setelah pemberian poloxamer perubahan konsentrasi lipid dapat teramati di jaringan dan plasma yang melibatkan perubahan metabolisme lipid[46].



Gambar 18. Mekanisme Poloxamer-407 menginduksi hiperkolesterolemia. Pemberian P-407 menginduksi aktivitas hepatik *HMG-CoA reductase*, tidak ada aktivitas *cholesterol acyltransferase* (ACAT), namun reseptor LDL dapat ditekan secara signifikan[47].

Berdasarkan gambar 18 menunjukkan bahwa pemberian Poloxamer 407 pada mencit tidak merubah ekspresi hepatik dari *cholesterol acyltransferase* (ACAT). ACAT merupakan enzim yang merubah kolesterol bebas menjadi kolesterol ester untuk penyimpanan di intrasel. Melalui mekanisme kolesterolgenesis poloxamer dapat mengaktifkan enzim *HMG-CoA reductase* dan secara signifikan menekan ekspresi reseptor LDL yang pada akhirnya akan meningkatkan kadar kolesterol dalam plasma. 24 jam setelah pemberian Poloxamer 407 tidak menunjukkan penurunan kadar kolesterol dalam plasma hewan uji[47]. Dari mekanisme tersebut terbukti induksi poloxamer pada penelitian ini berhasil meningkatkan kadar kolesterol dan trigliserida.

Berdasarkan gambar 6, simvastatin dapat menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida. Penggunaan obat simvastatin sebagai *reference* dalam penelitian ini dimaksudkan untuk menghambat aktivitas enzim *HMG-CoA reductase* yang teraktivasi oleh induksi poloxamer. Simvastatin merupakan obat golongan statin

yang memiliki mekanisme penurunan kolesterol dengan menghambat *HMG-CoA reductase*, yaitu enzim yang mengubah *HMG-CoA* menjadi asam mevalonat, prekursor kolesterol[48].

Ekstrak mahkota dewa telah dilakukan analisis secara kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis, terbukti positif mengandung flavonoid. Hampir semua flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Sel dan jaringan tubuh terus-menerus terancam oleh kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dan *reactive oxygen species* (ROS) yang terbentuk selama metabolisme oksigen normal atau dipicu oleh kerusakan secara eksogen. Kerusakan ini mengakibatkan pergeseran muatan sel, perubahan tekanan osmotik, sel mengembang lalu mati. Organisme hidup mengembangkan mekanisme pertahanan / antioksidan dari tubuhnya meliputi *superoxide dismutase*, *catalase*, dan *glutathione peroxidase* serta nonenzim seperti *glutathione*, asam askorbat, dan *α-tocopherol*. Mekanisme lain flavonoid sebagai antioksidan adalah sebagai berikut:

1. Menangkap radikal bebas secara langsung. Flavonoid teroksidasi oleh radikal, menjadi lebih stabil. Dengan kata lain, flavonoid menstabilkan *reactive oxygen species* (ROS) melalui reaksi dengan senyawa reaktif dari radikal. Reaktivitas yang tinggi dari hidroksil flavonoid, radikal dibuat menjadi tidak aktif, menurut persamaan berikut[49]:

Flavonoid (OH) + R •> flavonoid (O •) + RH [50]

*keterangan: R• adalah radikal bebas dan O• adalah oksigen radikal bebas.

Dengan penghilangan radikal, flavonoid dapat menghambat oksidasi LDL sehingga dapat mencegah terjadinya *atherosclerosis*[51].

2. Bereaksi dengan nitrit oksida (NO). Pelepasan nitrit oksida penting untuk mengatur dilatasi pembuluh darah, tetapi untuk konsentrasi yang lebih tinggi dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif. Ketika flavonoid digunakan sebagai antioksidan maka radikal bebas akan ditangkap, tidak bereaksi lama dengan NO sehingga mengurangi kerusakan[51].

3. Menghambat aktivitas *xanthine oxidase*. *Xanthine oxidase* adalah sumber oksigen radikal bebas. Dalam fase reperfusi *xanthine oxidase* bereaksi dengan oksigen, melepaskan superoksida radikal bebas. Flavonoid akan menghambat aktivitas *xanthine oxidase* sehingga mengurangi kerusakan oksidatif[51].

4. Immobilisasi leukosit. Pada kondisi normal leukosit bergerak dengan bebas di dalam dinding endotel. Saat terjadi inflamasi dan iskemia, endotel melepaskan mediator dan faktor komplemen yang menyebabkan adhesi leukosit pada dinding endotel, sehingga leukosit mmengalami imobilisasi kemudian menstimulus degranulasi neutrofil. Akibatnya, oksidan dan mediator inflamasi dilepaskan dan menyebabkan kerusakan jaringan. Flavonoid disini mengurangi jumlah leukosit yang mengalami imobilisasi[51].

5. Interaksi dengan enzim lain. Flavonoid dapat mengurangi pelepasan peroksidase. Reduksi ini menghambat *reactive oxygen species* (ROS) oleh neutrofil dengan mengganggu aktivasi α_1-antitrypsin. Efek flavonoid lainnya pada sistem enzim adalah menghambat metabolisme asam arakhidonat. Pelepasan asam arakhidonat merupakan awal respon inflamasi. Oleh karena itu, flavonoid dapat dikatakan sebagai antiinflamasi dan antitrombogenik[51].

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak buah mahkota dewa terstandar dosis 200 mg/kgBB mampu menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida secara signifikan ($p<0,05$). Aktivitas berbeda ditunjukkan oleh ekstrak buah mahkota dewa dosis 100 mg/kgBB, yaitu mampu menurunkan kadar kolesterol secara signifikan ($p<0,05$) tetapi tidak mampu menurunkan kadar trigliserida secara signifikan ($p>0,05$).

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, peneliti menyarankan:

1) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk penambahan durasi perlakuan.
2) Perlu penambahan parameter standardisasi ekstrak lainnya agar informasi tentang ekstrak terstandar lebih lengkap.

DAFTAR PUSTAKA

(1) Goodman, S. L., and Gilman, A., 2006, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Ed, McGraw-Hill, New York, 35:1-8.

(2) Anonim, 2011, Obesity and Overweight, *available at* http://WHO.int (diakses 10 Februari 2011).

(3) Anonim, 2009, Obesitas Dan Kurang Aktivitas Fisik Menyumbang 30% Kanker, *available at* www.indonesia.go.id (diakses tanggal 27 Januari 2011).

(4) Strong, K., Mathers, C., Leeder, S., Beaglehole, R., 2005, Preventing Chronic Diseases: How many lives can we save ?, *Lancet*, 366:1578-82.

(5) Xie, W., Wang, W., Su, H., Xing, D., Cai1, G., Du, L., 2007, *Hypolipidemic Mechanisms of Ananas comosus L. Leaves in Mice: Different From Fibrates but Similar to Statins*, 103, 267 – 274.

(6) Anonim, 2010, Hiperlipidemia, *available at* http://digilib.ubaya.ac.id (diakses tanggal 10 Januari 2011).

(7) Winarto, W. P., 2003, *Mahkota Dewa Budi Daya dan Pemanfaatan untuk Obat*, Penebar Swadaya, Jakarta.

(8) F. A., Ermilda, R. M., Widya, D. J., Rusdi, M., Netty, 2006, Anti-*Atherosclerotic Effect and Liver Toxicity of Ethanolic Extract of Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl Fruit on Japanese Quail*, 1-2.

(9) Nurhayati, I., 2004, *Conservation of Asian-Native Medicinal Plants on the University Campus*, 1-2.

(10) Gross, Myron, 2004, *Flavonoids and Cardiovascular Disease*, Molecular Epidemiology and Biomarker Research Laboratory, Department of Laboratory Medicine and Pathology, School of Medicine, Division of Epidemiology, School of Public Health, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, USA, 24.

(11) Harmanto, N., 2003, *Conquering Disease in Unison with Mahkota Dewa Phaleria macrocarpa*, First edition, PT. Mahkotadewa Indonesia, Jakarta, 14.

(12) Dalimartha, S., 2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*, Puspa Swara, Jakarta.

(13) Zhang, Y. B., Xu, X. J., Liu, H. M., 2006, Chemical Constituents from Mahkota dewa, *Journal of Asian Natural Products Research*, Vol. 8, No. 1–2, 119–123.

(14) Simanjuntak, P., 2008, Identifikasi Senyawa Kimia dalam Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*), Thymelaceae, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. vol. 6, No. 1.

(15) A., Saufi , 2008, *Stereochemistry of lignans in Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl., Germany, 63(1-2):13-6.

(16) Harmanto, N., 2002, *Mahkota Dewa: Obat Pusaka Para Dewa*, Agro Media, Jakarta.

(17) Harmanto, N., 2005, *Mahkota Dewa Obat Pusaka Para Dewa [A Medicine the Legacy of the Gods]*, 6th Edition, Agro Media Pustaka, Jakarta.

(18) Ansel, H., 1989, *Pengantar Bentuk Sedian Farmasi*, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
(19) Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
(20) Sastrohamidjojo, H., 2002, *Kromatografi*, Edisi kedua, Liberty, Yogyakarta.
(21) DiPiro, J. T., Talbert, R. T., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., Posey, L. M., 2005, *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, Sixth Ed, McGraw-Hill Book, New York, 429-432.
(22) Anonim, 2009, Kolesterol, *available at* http://www.bit.lipi.go.id/ (diakses 10 Januari 2011).
(23) Fayad, Z.A., Fuster, V., 2001, *Clinical Imaging of The High Risk or Vulnerable Atherosclerotic Plaque*, 305-316.
(24) Fuster, V., Fayad, Z.A., Badimon J. J., 1999, Acute Coronary Syndrome*: Biology*, *Lancet* 353 (Suppl. 2) (1999), pp. SII5-SII9.
(25) Guyton, A.C., and Hall, J.E., 2006, *Text Book of Medical Physiology*, Elsevier, Sounders.
(26) Linder, M.C., 1992, *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan Pemakaian secara Klinis*, UI Press, Jakarta, 61-66, 607-608.
(27) Abegunde, D. O., Mathers, C. D., Adam, T., Ortegon, M., Strong, K., 2007, The Burden and Costs of Chronic Diseases in Low-Income and Middle-Income Countries, *Lancet*, 370:1929-38.
(28) Anonim, 2004, *Preventing Chronic Diseases: A Vital Investment: WHO Global Report*, World Health Organization, Geneva.
(29) Ezzati, M., 2004, *Comparative Quantification of Health Risks Global and Regional Burden of Disease Attributable to Selected Major Risk Factors*, World Health Organization, Geneva.
(30) Yusuf, S., Hawken, S., Ôunpuu, S., Dans, T., Avezum, A., Lanas, F., 2004, Effect of Potentially Modifiable Risk Factors Associated with Myocardial Infarction in 52 Countries (The INTERHEART study): Case-Control Study. *Lancet*, 364:937-52.
(31) Kamso, S., Purwantyastuti, Rumawas, P. S. Y., Lukito, W., 2005, Nutritional Status of Hyperlipidemics Elderly in Indonesia According to Body Mass lndex (Study in Four Indonesian Big Cities), *avalaible at* http://www.lontar.ui.ac.id//opac/themes/libri2/detail.jsp?id=105706&lokasi=lokal (diakses tanggal 27 Januari 2011).
(32) Baigent, C., Keech, A., Kearney, P. M., Blackwell, L., Buck, G., Pollicino, C., 2005, Efficacy and Safety of Cholesterol-Lowering Treatment: Prospective Meta-Analysis of Data from 90,056 Participants in 14 Randomised Trials of Statins, *Lancet* , 366:1267-78.
(33) Strong, K., Mathers, C., Leeder, S., Beaglehole, R., 2005, Preventing Chronic Diseases: How many lives can we save ?, *Lancet*, 366:1578-82.
(34) Stancu, Camelia, 2001, Statins: mechanism of action and effect, *J.Cell.Mol.Med*. Vol 5, No 4.
(35) Joo, W., Ryu, H. J., Oh, J. H., 2010, *The Influence of Sam-Chil-Geun (Panax Notoginseng) on the Serum Lipid Levels and Inflammations of Rats with Hyperlipidemia Induced by Poloxamer-407*, 504.
(36) Arissandi, S. N. D., 2009, Pengaruh Basis Gel Poloxamer dan Karbopol terhadap Penyembuhan Luka Bakar Gel Ekstrak Etanol Umbi Wortel

(*Daucus carota* L.) pada Kulit Punggung Kelinci, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

(37) Rowe, R. C., 2006, *The Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association,UK.

(38) Wasan, K., M., Subramanian, R., Kwong, M., Poloxamer 407-mediated Alterations in The Activities of Enzymes Regulating Lipid Metabolism in Rats, *J Pharm Pharmaceut Sci*, 189.

(39) Leon, C., Wasan, K., M., Sachs-Barrable, K., Johnston, T. P., 2006, Acute P-407 Administration to Mice Causes Hypercholesterolemia by Inhibiting Cholesterogenesis and Down Regulating Low Density Lipoprotein Receptor Expressions, *Pharmaceutical Research*, 23 (7):1597-1607.

(40) Wout, Z., Pec, A., Maggiore, J., Williams, R., Palicharla, P., Johnston, T. P., 1992, *Poloxamer 407-Mediated Changes in Plasma Cholesterol and Triglycerides Following Intraperitoneal Injections of Rats*, 46:192.

(41) Palmer, K. W., Emeson, E. E., Johnston, P. T., 1997, *Poloxamer 407-Induced Atherogenesis in The C57BL: 6 Mouse*, 116.

(42) Gandjar, G. I., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 240-241.

(43) Tietz, N. W., 1995, *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 130-131.

(44) Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, Hal 19, 21.

(45) C. S. McCamy, H. Marcus., 1976, "A Color-Rendition Chart", *Journal of Applied Photographic Engineering*, 2(3). 95–99.

(46) Johnston, T. P., 2004, The P-407-induced murine model of dosecontrolled hyperlipidemia and atherosclerosis: a review of findings to date. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 43.

(47) Leon, Carlos., 2006, Acute P-407 Administration to Mice Causes Hypercholesterolemia by Inducing Cholesterolgenesis and Down-Regulating Low-Density Lipoprotein Receptor Expression, *Pharmaceutical Research*, Vol. 23, No. 7

(48) A, Corsini., S, Bellosta., 1999, New insights into the pharmacodynamics and pharmacokinetic properties of statins, *Pharmacol. Ther.*, 84: 413-28.

(49) LG, Korkina., 1997, Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol.*, 439:175–82.

(50) EJ, Middleton., 1998, Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv Exp Med Biol*.

(51) Nijveldt, Robert J., 2001, Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications *Am J Clin Nutr .,74*:418–25.

(52) Rahayu, D.S., 2009, Antioxidant Activity Determination in the Extract Ethanol Ketapang's Leave (Terminalia catappa L) by 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) Method, *available at* http://eprints.undip.ac.id (diakses tanggal 1 Agustus 2011).

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman mahkota dewa

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JURUSAN FARMASI FMIPA UII
BAGIAN BIOLOGI FARMASI

SURAT KETERANGAN

Nomor:26/UII/Jur Far/det/II/2011

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

Nama	:	Rr.Liza Anisa Mirawati
NIM	:	07613075
Pada tanggal	:	4 Maret 2011

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

Tanaman tersebut:

Phaleria macrocarpa, Scheff&Boerl (mahkota dewa)

Demikian surat keterangan ini di buat untuk dipergunakan semestinya.

Yogyakarta, 4 Maret 2011
Bagian Biologi Farmasi
Kepala,

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

Lampiran 2. Surat keterangan pembelian hewan uji

UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU
(LPPT – UGM)
Bidang Layanan Penelitian Pra – Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan
Jl. Agro Karang Malang Kampus UGM
Telp. (0274) 7497705, FAX. (0274) 546868, e-mail: lppt_info@mail.ugm.ac.id

SURAT KETERANGAN
NO : 187/LP3HP/19/V/2011

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama	:	Dr. drh. Pudji Astuti, MP.
NIP	:	19601012 198703 2 001
Jabatan	:	Kabid Unit Pra Klinik – LPPT UGM.

Menerangkan bahwa ;

Nama	**:**	**Rr. Liza Anisa Mirawati**
NIM	**:**	**07613075**
Instansi	**:**	**Fak. MIPA Jurusan Farmasi UII**

Pada bulan Mei 2011 membeli Mencit putih (*Mus musculus* L.) jantan galur *Swiss* usia 1½ bulan sejumlah 30 (Tiga puluh) Ekor dari Unit Pra- Klinik LPPT Universitas Gadjah Mada

Hewan tersebut dalam keadaan masih Fertil dan tidak terinfeksi penyakit sehingga tidak menularkan penyakit.
Menurut keterangan dari yang bersangkutan hewan tersebut akan digunakan sebagai hewan percobaan Penelitian yang dilaksanakan di Fakultas MIPA jurusan Farmasi Universitas Islam Indonesia.

Demikian surat keterangan ini dibuat, semoga dapat dipergunakan sebagaimana mestinya. dan atas kerjasama yang baik diucapkan terima kasih.

Yogyakarta, 20 Mei 2011
Kabid Unit Pra – Klinik,

Dr. drh. Pudji Astuti, M. P.
NIP : 19601012 198703 2 001

Lampiran 3. Surat keterangan kelayakan etika hewan uji (*Ethical Clearance*)

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

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
(Ethical Clearance)

Nomor: KE/FK/ 403 /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 Mahkota *Dewa (Phaleria Macocarpa* (Sceff) Boerl) Terstandar Sebagai Terapi Preventif Hiperlipidemia Pada Mencit Yang Diinduksi *Poloxamer*
Peneliti utama	:	RR. Liza Anisa Mirawati
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

Ning/EC'11

Lampiran 4. Surat keterangan uji flavonoid ekstrak buah mahkota dewa

	LEMBAR KERJA UJI KIMIA LABORATORIUM PENGUJIAN "LPPT-UGM"	DP/5.10.2/LPPT

Nama sampel	Ekstrak Mahkotadewa	No. Pengujian	
Kode sampel	112-01-001-7313	Tanggal Diterima	22-06-2011
Tanggal Pengujian	23-06-2011	Tanggal Selesai	24-06-2011
Suhu Ruangan	25°C	Kelembaban	
Metode Uji	TLC		

Uji Flavonoid :

1. Timbang sampel sebanyak 50 mg.
2. Masukkan ke dalam labu, hidrolisis dengan asam sulfat 2 N selama 30 menit.
3. Dinginkan, lalu tambahkan dietileter, ekstraksi dengan vortex, kemudian disentrifuge.
4. Ambil fase eter, evaporasi dengan gas nitrogen.
5. Spting sampel sebanyak 10 µl pada plate silika, sertakan pembanding rutin.
6. Masukkan plate ke dalam chamber jenuh fase gerak etil asetat - asam asetat - asam formiat - air (100-11-11-27).
7. Eluasikan hingga batas.
8. Keringkan plate, amati di bawah sinar UV, uapi dengan amoniak.
9. Semprot dengan vanillin asam chlorida
10. Panaskan 100°C selama 2 menit.

TIDAK TERKENDALI

Ref. :
Wagner, H., Plant Drug Analysis a Thin Layer Chromatography Atlas, Springer-Verlag, 1984, p. 164.

Diperiksa/Disetujui Oleh :	Dikerjakan Oleh :
	Anif Usman

Lampiran 5. Surat keterangan hasil uji flavonoid ekstrak buah mahkota dewa



UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU

RDP/5.10.01/LPPT
Rev. 1
Halaman 1 dari 1

LAPORAN HASIL UJI

Nomor : 5438/LPPT-UGM/U/VII/2011

Laporan hasil pengujian dibuat untuk	:
Nama	: Rr. Liza Anisa Mirawati
Institusi	: Farmasi - Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia
Nomor sampel	: 112-01-001-7313
Nama sampel	: Ekstrak mahkota dewa
Jumlah sampel	: 1
Parameter uji	: Flavonoid
Metode	: Thin Layer Chromatography
Tanggal terima sampel	: 20 Juni 2011
Tanggal pengujian	: 23 Juni 2011

HASIL UJI

Parameter uji	Hasil kualitatif
Flavonoid	Positif

Yogyakarta, 8 Juli 2011
Manajer Teknik,

Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt.

Hasil pengujian ini berlaku hanya untuk sampel yang diujikan
Tidak diperkenankan untuk menggandakan dokumen ini tanpa seijin LPPT-UGM

Lampiran 6. Hasil uji kadar air dan viskositas

Tabel I. Hasil uji kadar air ekstrak mahkota dewa

Replikasi	% kadar air
I	19,8 %
II	17,65 %
III	19,68 %
Rata-rata	19,04 %
SD	1,21
CV	6,34

Tabel II. Hasil uji viskositas ekstrak mahkota dewa

Replikasi	Viskositas (cp)
I	10342
II	10462
III	10210
Rata-rata	10338
SD	0,01
CV	1,45

Lampiran 7. Data konsentrasi trigliserida

Kelompok	Absorbansi TG	Absorbansi Standar	Konsentrasi Standar (mg/dL)	Konsentrasi TG	Ket
Normal	0,177	0,211	200	167,77	Rata-rata
	0,162	0,211	200	153,55	145,40
	0,122	0,211	200	115,64	
	0,18	0,211	200	170,62	STDEV
	0,126	0,211	200	119,43	26,28
Kontrol	0,911	0,211	200	863,51	Rata-rata
	0,893	0,211	200	846,45	824,45
	0,802	0,211	200	830,33	
	0,876	0,211	200	821,80	STDEV
	0,867	0,211	200	760,19	39,31
Simvastatin	0,764	0,211	200	724,17	Rata-rata
	0,844	0,211	200	800,00	739,65
	0,733	0,211	200	694,79	
	0,838	0,211	200	793,94	STDEV
	0,723	0,211	200	685,36	54,29
MD 100	0,911	0,211	200	863,39	Rata-rata
	0,905	0,211	200	857,82	853,71
	0,890	0,211	200	844,03	
	0,889	0,211	200	842,65	STDEV
	0,908	0,211	200	860,66	9,68
MD 200	0,931	0,211	200	693,84	Rata-rata
	0,732	0,211	200	727,96	700,79
	0,768	0,211	200	680,57	
	0,765	0,211	200	725,24	STDEV
	0,713	0,211	200	676,34	24,45

Lampiran 8. Data konsentrasi kolesterol

Kelompok	Absorbansi Chol	Absorbansi Standar	Konsentrasi Standar (mg/dL)	Konsentrasi Chol	Ket
Normal	0,391	0,313	200	249,84	Rata-rata
	0,432	0,313	200	276,04	270,67
	0,415	0,313	200	265,18	
	0,443	0,313	200	283,07	STDEV
	0,437	0,313	200	279,23	13,42
Kontrol	1,042	0,313	200	665,81	Rata-rata
	0,825	0,313	200	527,44	648,02
	1,175	0,313	200	750,80	
	1,191	0,313	200	760,76	STDEV
	0,837	0,313	200	535,28	112,74
Simvastatin	0,537	0,313	200	343,13	Rata-rata
	0,632	0,313	200	403,83	389,78
	0,566	0,313	200	361,66	
	0,642	0,313	200	410,22	STDEV
	0,673	0,313	200	430,03	36,06
MD 100	0,716	0,313	200	457,51	Rata-rata
	0,739	0,313	200	472,20	465,17
	0,729	0,313	200	465,81	
	0,740	0,313	200	472,54	STDEV
	0,716	0,313	200	457,80	7,37
MD 200	0,619	0,313	200	395,53	Rata-rata
	0,587	0,313	200	375,08	398,34
	0,703	0,313	200	449,20	
	0,546	0,313	200	348,88	STDEV
	0,662	0,313	200	423,00	39,34

Lampiran 9. Perhitungan dosis

1. <u>Perhitungan dosis ekstrak mahkota dewa</u>

- Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB → Dosis tersebut menurut penelitian sebelumnya dipejankan pada burung puyuh dengan berat rata-rata 90 gram.
- Pada penelitian ini hewan uji yang digunakan adalah mencit, sehingga perlu dilakukan konversi dosis terlebih dahulu.

a) Dosis 100 mg/kgBB

❖ ***Konversi Dosis***

→ Konversi dosis burung puyuh (BB= 90 g)

$$100\ \text{mg/kgBB} = \frac{100\ \text{mg}}{1000\ \text{g}} = \frac{9\ \text{mg}}{90\ \text{g}}$$

→ Konversi dosis burung puyuh ke dosis manusia (BB = 70 kg)

$$\frac{9\ \text{mg}}{90\ \text{g}} = \frac{7000\ \text{mg}}{70000\ \text{g}}$$

→ Konversi dosis manusia ke mencit (BB = 20 g)

$$\frac{7000\ \text{mg}}{70000\ \text{g}} \times 0{,}0026 = \mathbf{18{,}2\ mg\ /\ 20\ g}$$

❖ ***Perhitungan larutan stok untuk 2 hari***

20 g ~ 0,2 mL

Volume larutan = 0,2 mL x 6 (mencit) x 2 (hari)

= 2,4 mL

$$\text{Larutan stok} = \frac{18{,}2\ \text{mg}}{0{,}2\ \text{mL}} = \frac{218{,}4\ \text{mg}}{2{,}4\ \text{mL}} = \frac{910\ \text{mg}}{10\ \text{mL}} = \mathbf{\frac{0{,}910\ g}{10\ mL}}$$

❖ ***Volume pemejanan***

Volume pemejanan disesuaikan dengan berat badan mencit.

Misal berat mencit 25 g, maka $Vp = \frac{25\ g}{20\ g} \times 0{,}2\ \text{mL} = \mathbf{0{,}25\ mL}$

b) Dosis 200 mg/kgBB

❖ ***Konversi Dosis***

→ Konversi dosis burung puyuh (BB= 90 g)

$$200 \text{ mg/kgBB} = \frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{18 \text{ mg}}{90 \text{ g}}$$

→ Konversi dosis burung puyuh ke dosis manusia (BB = 70 kg)

$$\frac{18 \text{ mg}}{90 \text{ g}} = \frac{14000 \text{ mg}}{70000 \text{ g}}$$

→ Konversi dosis manusia ke mencit (BB = 20 g)

$$\frac{14000 \text{ mg}}{70000 \text{ g}} \text{ x } 0{,}0026 = \textbf{36,4 mg / 20 g}$$

❖ ***Perhitungan larutan stok untuk 2 hari***

20 g ~ 0,2 mL

Volume larutan = 0,2 mL x 6 (mencit) x 2 (hari)

= 2,4 mL

$$\text{Larutan stok} = \frac{36{,}4 \text{ mg}}{0{,}2 \text{ mL}} = \frac{436{,}8 \text{ mg}}{2{,}4 \text{ mL}} = \frac{1820 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{\mathbf{1{,}82\ g}}{\mathbf{10\ mL}}$$

❖ ***Volume pemejanan***

Volume pemejanan disesuaikan dengan berat badan mencit.

Misal berat mencit 25 g, maka $Vp = \frac{25\ g}{20\ g}$ x 0,2 mL = **0,25 mL**

2. <u>Perhitungan Dosis Simvastatin 10 mg/kgBB</u>

❖ ***Konversi Dosis***

→ Konversi dosis manusia ke mencit (BB = 20 g)

10 mg / 70 kgBB x 0,0026 = **0,026 mg /20 g**

❖ Perhitungan larutan stok untuk 2 hari

Volume larutan = 0,2 mL x 6 (mencit) x 2 (hari)

= 2,4 mL

Larutan stok = $\frac{0{,}026\ \text{mg}}{0{,}2\ \text{mL}} = \frac{0{,}312\ \text{mg}}{2{,}4\ \text{mL}} = \frac{1{,}3\ \text{mg}}{10\ \text{mL}}$

Bobot per tablet = 100 mg

Jadi larutan stok = $\frac{1{,}3\ \text{mg}}{10\ \text{mL}} \times \frac{100\ \text{mg}}{10\ \text{mg}} = \frac{1300\ \text{mg}}{10\ \text{mL}} = \mathbf{\frac{1{,}3\ g}{10\ mL}}$

❖ ***Volume pemejanan***

Volume pemejanan disesuaikan dengan berat badan mencit.

Misal berat mencit 25 g, maka Vp = $\frac{25\ g}{20\ g} \times 0{,}2\ \text{mL} = \mathbf{0{,}25\ mL}$

3. <u>Perhitungan Dosis Poloxamer</u>

Dosis penelitian sebelumnya adalah 400 mg/kgBB

400 mg/kgBB = $\frac{400\ \text{mg}}{1000\ \text{g}}$

$= \frac{8\ \text{mg}}{20\ \text{g}}$

$= \frac{8\ \text{mg}}{0{,}2\ \text{mL}} = \mathbf{\frac{2\ g}{50\ mL}}$

Lampiran 10. Data pengolahan SPSS hasil konsentrasi kolesterol dan trigliserida

Data SPSS Trigliserida

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
	Kelompok	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Konsentrasi	Normal	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Kontrol	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Simvastatin	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	MD 100	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	MD 200	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Konsentrasi	Normal	.238	5	.200*	.841	5	.168
	Kontrol	.273	5	.200*	.901	5	.415
	Simvastatin	.241	5	.200*	.850	5	.196
	MD 100	.264	5	.200*	.845	5	.179
	MD 200	.241	5	.200*	.850	5	.196

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Oneway

Descriptives

Konsentrasi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Normal	5	1.4540E2	26.28206	11.75369	112.7685	178.0355	115.64	170.62
Kontrol	5	8.2446E2	39.30848	17.57929	775.6481	873.2639	760.19	863.51
Simvastatin	5	7.3965E2	54.28854	24.27857	672.2439	807.0601	685.36	800.00
MD 100	5	8.5371E2	9.68146	4.32968	841.6889	865.7311	842.65	863.39
MD 200	5	7.0079E2	24.44875	10.93381	670.4329	731.1471	676.34	727.96
Total	25	6.5280E2	266.86035	53.37207	542.6475	762.9565	115.64	863.51

Test of Homogeneity of Variances

Konsentrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.182	4	20	.013

ANOVA

Konsentrasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1685648.254	4	421412.064	358.672	.000
Within Groups	23498.483	20	1174.924		
Total	1709146.737	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Konsentrasi

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Kontrol	-679.05400*	21.67878	.000	-743.9250	-614.1830
	Simvastatin	-594.25000*	21.67878	.000	-659.1210	-529.3790
	MD 100	-708.30800*	21.67878	.000	-773.1790	-643.4370
	MD 200	-555.38800*	21.67878	.000	-620.2590	-490.5170
Kontrol	Normal	679.05400*	21.67878	.000	614.1830	743.9250
	Simvastatin	84.80400*	21.67878	.007	19.9330	149.6750
	MD 100	-29.25400	21.67878	.665	-94.1250	35.6170
	MD 200	123.66600*	21.67878	.000	58.7950	188.5370
Simvastatin	Normal	594.25000*	21.67878	.000	529.3790	659.1210
	Kontrol	-84.80400*	21.67878	.007	-149.6750	-19.9330
	MD 100	-114.05800*	21.67878	.000	-178.9290	-49.1870
	MD 200	38.86200	21.67878	.405	-26.0090	103.7330
MD 100	Normal	708.30800*	21.67878	.000	643.4370	773.1790
	Kontrol	29.25400	21.67878	.665	-35.6170	94.1250
	Simvastatin	114.05800*	21.67878	.000	49.1870	178.9290
	MD 200	152.92000*	21.67878	.000	88.0490	217.7910
MD 200	Normal	555.38800*	21.67878	.000	490.5170	620.2590
	Kontrol	-123.66600*	21.67878	.000	-188.5370	-58.7950
	Simvastatin	-38.86200	21.67878	.405	-103.7330	26.0090
	MD 100	-152.92000*	21.67878	.000	-217.7910	-88.0490

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

Homogeneous Subsets

Konsentrasi

Tukey HSD

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Normal	5	1.4540E2		
MD 200	5		7.0079E2	
Simvastatin	5		7.3965E2	
Kontrol	5			8.2446E2
MD 100	5			8.5371E2
Sig.		1.000	.405	.665

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Data SPSS Kolesterol

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
	Kelompok	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Konsentrasi	Normal	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Kontrol	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Simvastatin	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	MD 100	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	MD 200	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Konsentrasi	Normal	.255	5	.200*	.902	5	.419
	Kontrol	.241	5	.200*	.844	5	.175
	Simvastatin	.252	5	.200*	.928	5	.582
	MD 100	.241	5	.200*	.835	5	.152
	MD 200	.135	5	.200*	.989	5	.976

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Oneway

Descriptives

Konsentrasi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Normal	5	2.7067E2	13.41547	5.99958	254.0145	287.3295	249.84	283.07
Kontrol	5	6.4802E2	112.73904	50.41843	508.0340	788.0020	527.44	760.76
Simvastatin	5	3.8977E2	36.06319	16.12795	344.9956	434.5524	343.13	430.03
MD 100	5	4.6517E2	7.36783	3.29500	456.0236	474.3204	457.51	472.54
MD 200	5	3.9834E2	39.33850	17.59271	349.4928	447.1832	348.88	449.20
Total	25	4.3439E2	136.40649	27.28130	378.0890	490.7006	249.84	760.76

Test of Homogeneity of Variances

Konsentrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
12.396	4	20	.000

ANOVA

Konsentrasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	383391.857	4	95847.964	30.346	.000
Within Groups	63169.689	20	3158.484		
Total	446561.547	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Konsentrasi

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Kontrol	-377.34600*	35.54425	.000	-483.7077	-270.9843
	Simvastatin	-119.10200*	35.54425	.024	-225.4637	-12.7403
	MD 100	-194.50000*	35.54425	.000	-300.8617	-88.1383
	MD 200	-127.66600*	35.54425	.014	-234.0277	-21.3043
Kontrol	Normal	377.34600*	35.54425	.000	270.9843	483.7077
	Simvastatin	258.24400*	35.54425	.000	151.8823	364.6057
	MD 100	182.84600*	35.54425	.000	76.4843	289.2077
	MD 200	249.68000*	35.54425	.000	143.3183	356.0417
Simvastatin	Normal	119.10200*	35.54425	.024	12.7403	225.4637
	Kontrol	-258.24400*	35.54425	.000	-364.6057	-151.8823
	MD 100	-75.39800	35.54425	.250	-181.7597	30.9637
	MD 200	-8.56400	35.54425	.999	-114.9257	97.7977
MD 100	Normal	194.50000*	35.54425	.000	88.1383	300.8617
	Kontrol	-182.84600*	35.54425	.000	-289.2077	-76.4843
	Simvastatin	75.39800	35.54425	.250	-30.9637	181.7597
	MD 200	66.83400	35.54425	.359	-39.5277	173.1957
MD 200	Normal	127.66600*	35.54425	.014	21.3043	234.0277
	Kontrol	-249.68000*	35.54425	.000	-356.0417	-143.3183
	Simvastatin	8.56400	35.54425	.999	-97.7977	114.9257
	MD 100	-66.83400	35.54425	.359	-173.1957	39.5277

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

Homogeneous Subsets

Konsentrasi

Tukey HSD

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Normal	5	2.7067E2		
Simvastatin	5		3.8977E2	
MD 200	5		3.9834E2	
MD 100	5		4.6517E2	
Kontrol	5			6.4802E2
Sig.		1.000	.250	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 11. Brosur reagen kolesterol

Fluitest® CHOL

CE

CHOLESTEROL CHOD-PAP

Intended use:
Enzymatic in vitro test for the quantitative determination of cholesterol in human serum and plasma.

Summary:
Cholesterol is a sterole with a secondary hydroxyl group in the C_3 position. It is synthesized in many types of tissue, but particularly in the liver and intestinal wall. Approximately three quarters of cholesterol is newly synthesized and a quarter originates from dietary intake.
Cholesterol assays are used for screening for atherosclerotic risk and in the diagnosis and treatment of disorders involving elevated cholesterol levels as well as lipid and lipoprotein metabolic disorders.
Cholesterol analysis was first reported by Liebermann in 1885 followed by Burchard in 1889. In the Liebermann-Burchard reaction, cholesterol forms a blue-green dye from polymer unsaturated carbohydrates in an acetic acid/acetic anhydride/concentrated sulfuric acid medium. The Abell and Kendal method is specific for cholesterol, but is technically complex and requires the use of corrosive reagents. In 1974, Roeschlau and Allain described the first fully enzymatic method.
This method is based on the determination of Δ^4 cholestanone after enzymatic cleavage of the cholesterol ester by cholesterol esterase conversion of cholesterol be cholesterol oxidase, and subsequent measurement by the Trinder reaction of the hydrogen peroxide formed. Optimization of ester cleavage (>99.5%) allows standardization using primary and secondary standards and a direct comparison with the CDC and NIST reference methods. The Biocon® cholesterol assay meets the 1992 National Institutes of Health (NIH) goal of less than or equal to 3% for both precision and bias.

Test principle:
Enzymatic colorimetric test.
Sample, addition of R1 (cholesterol reagent) and start of reaction.
Cholesterol is determined enzymatically using cholesterol esterase and cholesterol oxidase.

Cholesterol ester + H_2O —(Cholesterol esterase)→ Cholesterol + fatty acids

Cholesterol esters are cleaved by the action of cholesterol esterase to yield free cholesterol and fatty acids

Cholesterol + O_2 —(Cholesterol oxidase)→ Cholestenone + H_2O_2

2 H_2O_2 + Phenol + 4 - Aminoantipyrine —(Peroxidase)→ quinoneimine dye + 4 H_2O

Cholesterol is converted by oxygen with the aid of cholesterol oxidase to cholest-4-en 3-one and hydrogen peroxide.
Hydrogen peroxide created forms a red dyestuff by reacting with 4-aminoantipyrine and phenol under the catalytic action of peroxidase. The color intensity is directly proportional to the concentration of cholesterol and can be determined photometrically.

Reagent concentration:

R1:

Pipes buffer, pH 6.9	90 mmol/l
Phenol	26 mmol/l
Cholesterol oxidase	200 U/l
Cholesterol esterase	300 U/l
Peroxidase	1250 U/l
4-Aminoantipyrine	0.4 mmol/l

R4:
(Art.# 4248, #4245, (4241, #4242)

Cholesterol	200 mg/dl (5.17mmol/l)

Preparation and stability:
Reagent and standard are ready for use
The unopened reagents are stable:
up to expiry date at +2°C to +8°C.
Onboard stability: R1 28 days(Hitachi)
Opened, the reagents are stable:
4 weeks at + 20°C to + 25°C
12 weeks at + 2°C to + 8°C

Specimen
Collect serum using standard sampling tubes.
Heparinized or EDTA plasma. Do not use citrate, oxalate or fluoride-plasma.
Stability: 5-7 days at +2°C to +8°C
3 months at -20°C
Fasting and nonfasting samples can be used.

Centrifuge samples containing precipitate before performing assay.

Notes:
For in vitro diagnostic use.
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:
Criterion: Recovery within ±10% of initial value.
Icterus: No significant interference up to an index I of 8 Bilirubin: (approximate concentration: 8 mg/dl bilirubin)
Hemolysis: No significant interference up to an index H of 450 (approximate hemoglobin concentration: 450 mg/dl).

Testing procedure:
Materials provided
- Working solutions as described above.

Additional materials required
- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

Manual procedure :

Wavelength:	Hg 546 nm (500-550nm)
Temperature:	+25/+30/+37°C
Cuvette:	1 cm light path
Zero adjustment:	one reagent blank per series only

	Blank	Sample/Calib./Stand.
Sample Calib./Stand.	—	10 µl
R1	1000 µl	1000 µl

Mix. Incubate 5 min. at +37°C or 10 min. at +20°C to +25°C.
Within 60 minutes read absorbance of calibrator and sample against reagent blank.

Calculation:

$\frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Calib./Stand.}} \times \text{Calib./Stand. conc.} = \text{Cholesterol conc.}$

Measuring/reportable range:
3-800 mg/dl (0.08-20.7 mmol/l)
Determine samples having higher activities via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute the samples with 0.9% NaCl-solution or distilled/deionized water (e.g. 1 + 2). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. factor 3).

Expected values:
Clinical interpretation according to the recommendations of the European atherosclerosis Society.

		Lipid metabolic disturbance
Cholesterol Triglycerides	below 200 mg/dl	No
Cholesterol	200 – 300 mg/dl	yes if HDL-Cholesterol below 35 mg/dl
Cholesterol Triglycerides	above 300 mg/dl	Yes

(BD-GB-CHOL-04/1)

Fluitest® CHOL

CE

CHOLESTEROL CHOD-PAP

Recommendations of the NCEP Adult Treatment Panel for the following risk-cutoff thresholds for the US American population
Desirable cholesterol level: <200 mg/dl
Borderline high cholesterol: 200-239 mg/dl
High cholesterol: >240 mg/dl
Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the cholesterol results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.
At least two measurements of cholesterol on separate occasions should be made before any medical decision is made, since a single point total cholesterol measurement may not represent a patient's usual cholesterol concentration.

Analytical sensitivity (lower detection limit)
Detection limit: 3 mg/dl (0.08 mmol/l)
The lower detection limit represents the lowest measurable cholesterol concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:
Reproducibility was determined using controls. The following results were obtained:

	within run		
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	% CV
Control serum 1	103	1.35	1.32
Control serum 2	158	0.98	0.62
Control serum 3	180	0.99	0.56

	Between day		
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	% CV
Control serum1	124	1.71	1.38
Control serum 2	162	3.13	1.93
Control serum 3	186	1.97	1.06

Method comparison:
A comparison of the Biocon Fluitest CHOL (y) with a commercial obtainable assay (x) gave following result:
y = 1.006 x + 0.258 ; r = 0.999

Quality control:
Human Control Sera:

Contronorm®	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath®	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320
Human Lipid Control Serum		
Contropath® L	5 x 3 ml	#1303

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:
Standardization:
The Cholesterol method was calibrated against the isotope dilution/mass spectrometry. This complies with the requirements of the National Institute of Standards and Technology (NIST).
for Hitachi-systems:
S1: 0.9% NaCl
S2: Bio Cal® E Art.#1430 or Bio Cal® Art. # 1420
Calibration frequency
Two point calibration is recommended
- after reagent lot change
- as required following quality control procedures

Presentation:

#	6 x 20 ml R1 1 x 5 ml R4
#	2 x 100 ml R1 1 x 5 ml R4
#	4 x 100 ml R1 1 x 6 ml R4
#	4 x 50 ml R1 1 x 5 ml R4
#	18 x 50 ml R1

Disposal:
Please note the legal regulations

Literature:

1. Abell L. et al. Standard Methods in Clinical Chemistry 1958; 26,2.
2. Allain C.C. et al. Clin Chem 1974;20:470
3. Babiok W. et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790
4. Burchard H. Beitrage zur Kenntnis der Cholesterine. Dissertatio Rostock 1889.
5. Cohn J.S., McNamara J.R., Schaefer E.J.. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the plasma of Human Subjects a Measured in the fod and Fasted States. Clin. Chem 1988;34:2456-2459
6. Glick M.R., Ryder K.W., Jackson SA.. Graphical Comparisons Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474
7. Greiniing H., Gressner A.M. eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie. 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995
8. Liebermann C. Ber Dtsch chem Ges 1885; 18:1803
9. Passing H., Babiok W. A New Biomatrical Procedure for Testin the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720
10. Pisani T., Gebski C.P., Leary E.T. et al. Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch. Pathol Lab Med 1995;119:1127
11. Recommendations for Improving Cholesterol Measurement. A Report from the Laboratory Standardization Panel of the Natio Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, February 1990
12. Roeschlau P. et al. Z Klein Chem Klein Biochem 1974;12:226
13. Second Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation a Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. NIH Publikation No. 93-3095, September 1993
14. Siedel J. Hägele E.O., Ziegenhorn J. et al. Clin Chem 1983;29:1075.
15. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journa 1987;8:77
16. Thomas, L., Labor und Diagnose, 5th. ed. (1998)
17. Tietz N.W. eds.. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3.Auaflage.Philadelphia, Pa. W.B. Saunders Company, 1995:130-131
18. Wiebe D.A., Bement J.T.. Clin Chem. 1994;30:352

Lampiran 12. Brosur reagen trigliserida

Fluitest® TG

CE

TRIGLYCERIDES GPO-PAP

Systeminformation:
Hitachi 911: ACN 806
Hitachi 917: ACN 781

Intended use:
Enzymatic in vitro test for the quantitative determination of triglycerides in human serum and plasma.

Summary:
Triglycerides are esters of the trihydric alcohol glycerol with 3 long-chain fatty acids. They are partly synthesized in the liver and partly ingested in food.
The determination of triglycerides is utilized in the diagnosis and treatment of patients having diabetes mellitus, nephrosis, liver obstruction, lipid metabolism disorders and numerous other endocrine diseases. The enzymatic triglycerides assay as described by Eggstein and Kreutz still requires saponification with potassium hydroxide. Numerous attempts were subsequently made to replace alkaline saponification by enzymatic hydrolysis with lipase. Buccolo and David tested a lipase/protease mixture; Wahlefeld used an esterase from the liver in combination with a particularly effective lipase from Rhizopus arrhizus for hydrolysis.
This method is based on the work by Wahlefeld using a lipoprotein lipase from microorganisms for the rapid and complete hydrolysis of triglycerides to glycerol followed by oxidation to dihydroxyacetone phosphate and hydrogen peroxide. The hydrogen peroxide produced then reacts with 4-aminophenazone and 4-chlorophenol under the catalytic action of peroxidase to form a red dyestuff (Trinder endpoint reaction).

Test principle:
Enzymatic colorimetric test:

$$\text{Triglycerides} + 3H_2O \xrightarrow{LPL} \text{Glycerol} + 3RCOOH$$

$$\text{glycerol} + ATP \xrightarrow{GK,\ Mg^{2+}} \text{G-3-P} + ADP$$

$$\text{G-3-P} + O_2 \xrightarrow{GPO} \text{DAP} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + 4\text{-aminoantipyrine} + p\text{-chlorophenol} \xrightarrow{POD} 4\text{-(p-benzoquinone-monoimino)-phenazone} + 2H_2O + HCl$$

Reagent concentration:

R1:

Pipes buffer pH 7.8	50 mmol/l
p-Chlorophenol	2 mmol/l
Lipoprotein lipase	150000 U/l
Glycerokinase	800 U/l
Glycerol - 3 - P- oxidase	4000 U/l
Peroxidase	440 U/l
4-Aminoantipyrine	0.7mmol/l
ATP	0.9mmol/l
$Mg2^+$	40 mmol/l
Na-cholat	0.20 mmol/l
Potassium-Hexacyanoferrat(II)	1µmol/l

R4:
(Art.-#5748, #5745, #5741, #5712)
Glycerol equivalent to a concentration of 200 mg/dl (2.28 mmol/l) Triglycerides

Preparation and stability:
R1: Ready for use.
R4: Ready for use.
Unopened kit components:
up to the expiry date at +2°C to +8°C.
Onboard stability R1 14 days (Hitachi)
Stability
3 weeks at +20°C to +25°C
Coloration of the reagent (reagent blank at 546 nm, 1 cm >0,2) indicates a contamination or damage by storage at higher temperatures.

Specimen:
Collect serum using standard sampling tubes.
Heparinized or EDTA plasma.
Stability:
5 - 7 days at +2°C to 8°C
3 months at -20°C
Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:
For in vitro diagnostic use. Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:
Criterion: Recovery within ±10% of initial value.
Icterus: No significant interference up to an index I of 22 (approximate 22 mg/dl bilirubin).
Hemolysis: No significant interference up to an index H of 625 (approximate hemoglobin concentration: 625 mg/dl).
Lipemia (Intralipid): The Index L correlates with sample turbidity but not with triglycerides level. Extremely lipemic samples (triglycerides greater than 3000 mg/dl) can produce a normal result. Dilute such samples 1+4 with saline (0.9%) and multiply the result by 5 or run the test with decrease a sample volume on Roche/Hitachi 911.

Testing procedure:
Materials provided
• Working solutions as described above
Additional materials required
• Calibrators and controls as indicated below
• 0.9% NaCl

Manual procedure:

Wavelength:	546 nm (500-550 nm)
Temperature:	+37°C
Cuvette:	1 cm light path
Zero adjustment:	Reagent blank/ one reagent blank per series only

	Blank	Sample/Calib./Stand.
Sample/Calib./Stand.	---	10 µl
R1	1000 µl	1000 µl

Mix, measure after incubating at +37°C for 5 min or at +20°C to +25°C for 10 min. Within 60 min. read absorbance of sample against reagent blank.

Calculation:

$$\frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Calib./Stand.}} \times \text{Calib./Stand. conc.} = \text{Triglycerides conc.}$$

Measuring /reportable range:
3 - 1000 mg/dl (0.05 - 11.4 mmol/l)
Determine samples with higher concentrations via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute samples with 0.9% NaCl (e.g. 1+4). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 5).

Expected values:
Clinical according to the recommendation of the European Arteriosclerosis Society:

		lipid metabolism disorder
Cholesterol / Triglycerides	<200 mg/dl	no
Cholesterol	200 – 300 mg/dl	yes if HDL-CHOL < 35 mg/dl
Cholesterol / Triglycerides	> 300 mg/dl / > 200 mg/dl	yes

Expected values according to NCEP
Normal value < 200 mg/dl (2.30 mmol/l)

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the triglycerides results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

(BD-GB-TG-04/1)

Fluitest® TG

CE

TRIGLYCERIDES GPO-PAP

System information:
Hitach 911: ACN 906
Hitach 917: ACN 781

Intended use:
Enzymatic in vitro test for the quantitative determination of triglycerides in human serum and plasma

Summary:
Triglycerides are esters of the trihydric alcohol glycerol with 3 long-chain fatty acids. They are partly synthesized in the liver and partly ingested in food.
The determination of triglycerides is utilized in the diagnosis and treatment of patients having diabetes mellitus, nephrosis, liver obstruction, lipid metabolism disorders and numerous other endocrine diseases. The enzymatic triglycerides assay as described by Eggstein and Kreutz still required saponification with potassium hydroxide. Numerous attempts were subsequently made to replace alkaline saponification by enzymatic hydrolysis with lipase. Buccolo and David tested a lipase/protease mixture; Wahlefeld used an esterase from the liver in combination with a particularly effective lipase from Rhizopus arrhizus for hydrolysis.
This method is based on the work by Wahlefeld using a lipoprotein lipase from microorganisms for the rapid and complete hydrolysis of triglycerides to glycerol followed by oxidation to dihydroxyacetone phosphate and hydrogen peroxide. The hydrogen peroxide produced then reacts with 4 aminophenazone and 4-chlorophenol under the catalytic action of peroxidase to form a red dyestuff (Trinder endpoint reaction).

Test principle:
Enzymatic colorimetric test:

$$\text{Triglycerides} + 3H_2O \xrightarrow{LPL} \text{Glycerol} + 3RCOOH$$

$$\text{glycerol} + ATP \xrightarrow[Mg^{2+}]{GK} \text{G-3-P} + ADP$$

$$\text{G-3-P} + O_2 \xrightarrow{GPO} \text{DAP} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + 4\text{-aminoantipyrine} + p\text{-chlorophenol} \xrightarrow{POD} 4\text{-(p-benzoquinone-monoimino)-phenazine} + 2H_2O + HCl$$

Reagent concentration:

R1:

Pipes buffer pH 7.9	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	0.7mmol/l
ATP	0.3mmol/l
Mg^{2+}	40 mmol/l
Na-cholat	0.20 mmol/l
Potassium-Hexacyanoferrat(II)	1µmol/l

R4:
(Art. #5748, #5715, #5741, #5747)
Glycerol equivalent to a concentration of 200 mg/dl (2.26 mmol/l) Triglycerides.

Preparation and stability:
R1 Ready for use
R4 Ready for use
Unopened kit components:
Up to the expiry date at +2°C to +8°C.
Onboard stability: R1 14 days (Hitachi)
Stability:
3 weeks at +20°C to +25°C.
Coloration of the reagent (reagent blank at 546 nm: 1cm >0,2) indicates a contamination or damage by storage at higher temperatures.

Specimen:
Collect serum using standard sampling tubes.
Heparinized or EDTA plasma.
Stability
5 - 7 days at +2°C to +8°C
3 months at -20°C
Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:
For in vitro diagnostic use. Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - Interference:
Criterion: Recovery within ±10% of initial value.
Icterus: No significant interference up to an index I of 22 (approximate 22 mg/dl bilirubin).
Hemolysis: No significant interference up to an index H of 625 (aproximate hemoglobin concentration: 625 mg/dl).
Lipemia (Intralipid): The index L correlates with sample turbidity but not with triglycerides level. Extremely lipemic samples (triglycerides greater then 3000 mg/dl) can produce a normal result. Dilute such samples 1+4 with saline (0.9%) and multiply the result by 5 or run the test with decrease a sample volume on Roche/Hitachi 911.

Testing procedure:
Materials provided
- Working solutions as described above

Additional materials required
- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

Manual procedure:

Wavelength:	546 nm (500-550 nm)
Temperature:	+37°C
Cuvette:	1 cm light path
Zero adjustment:	Reagent blank/ one reagent blank per series only

	Blank	Sample/Calib./Stand.
Sample/Calib./Stand.	---	10 µl
R1	1000 µl	1000 µl

Mix, measure after incubating at +37°C for 5 min. or at +20°C to +25°C for 10 min. Within 60 min. read absorbance of sample against reagent blank.

Calculation:

$$\frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Calib./Stand.}} \times \text{Calib./Stand. conc.} = \text{Triglycerides conc.}$$

Measuring /reportable range:
3 - 1000 mg/dl (0.05 - 11.4 mmol/l)
Determine samples with higher concentrations via the rerun function. On instruments without rerun function: manually dilute samples with 0.9% NaCl (e.g. 1+4). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 5)

Expected values:
Clinical according to the recommendation of the European Arteriosclerosis Society

		lipid metabolism disorder
Cholesterol / Triglycerides	<200 mg/dl	no
Cholesterol	200 – 300 mg/dl	yes if HDL-CHOL < 35 mg/dl
Cholesterol / Triglycerides	> 300 mg/dl / > 200 mg/dl	yes

Expected values according to NCEP
Normal value < 200 mg/dl (2.30 mmol/l)

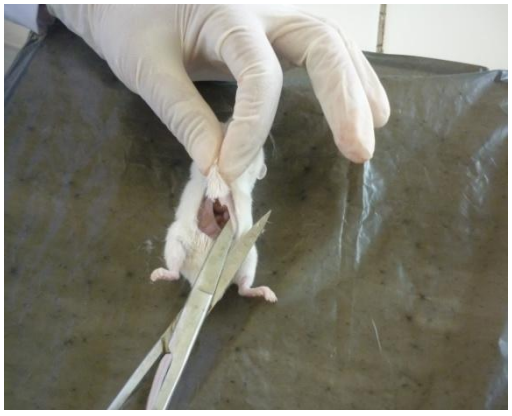
Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the triglycerides results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

(BD-GB-TG 04/1)

Lampiran 13. Dokumentasi penelitian



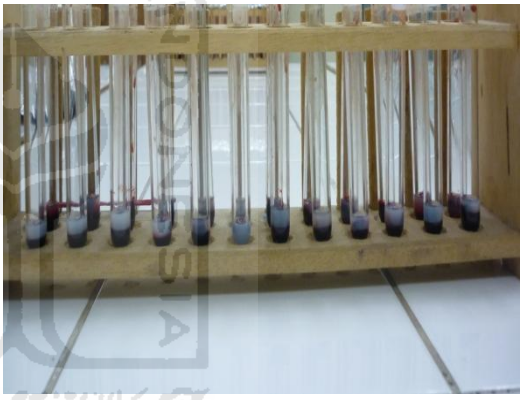
Gambar 1. Hewan uji (mencit) dikorbankan



Gambar 2. Pembedahan hewan uji



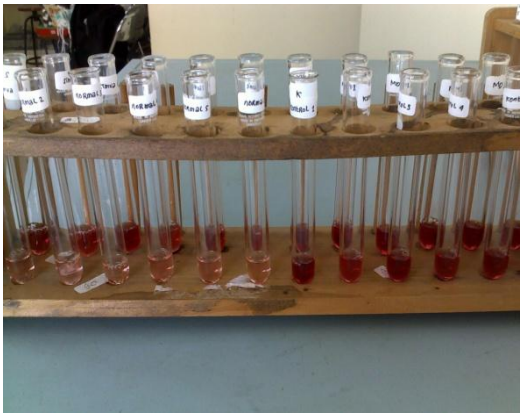
Gambar 3. Pengambilan darah mencit



Gambar 4. Darah didiamkan ± 30 menit sebelum di sentrifuge



Gambar 5. Proses sentrifugasi



Gambar 6. Serum setelah ditambah reagen akan dibaca pada spektrofotometri