

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Peningkatan kadar kolesterol total dalam sirkulasi di atas normal merupakan tanda adanya gangguan metabolisme lipid yang disebut hiperkolesterolemia. Menurut Duntas & Brenta (2018), kadar kolesterol total yang normal adalah kurang dari 200 mg/dL. Saat ini, hiperkolesterolemia masih meluas. Di seluruh dunia angka kejadian hiperkolesterolemia sekitar 45%, di Asia Tenggara 30%, dan di Indonesia 35%. Di Indonesia, 38,2% penduduk berusia 65-74 tahun mengalami kelebihan kolesterol, sedangkan penduduk berusia di atas 75 tahun memiliki kadar kolesterol yang sedikit lebih rendah (Hadriyati *et al.*, 2023).

Menurut Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskuler Indonesia (2017) pada tahun 2017 prevalensi hiperkolesterolemia karena kolesterol total >200 mg/dl sebesar 39,8%. Apabila tidak dilakukan penanganan yang baik penderita hiperkolesterolemia akan mengalami penyakit kardiovaskular yang merupakan pembunuh nomor 1 di dunia (Elon & Polancos, 2015).

Jantung koroner merupakan penyakit yang menyerang pembuluh darah dan menyebabkan serangan jantung. Serangan jantung terjadi karena arteri tersumbat hingga menyebabkan terhambatnya saluran oksigen dan nutrisi ke jantung. Tetapi, penyakit yang paling umum adalah penyakit kronis aterosklerosis. Aterosklerosis disebabkan oleh penyempitan pembuluh darah untuk dialirkan ke otot jantung, hal ini terjadi karena tertimbunnya kolesterol atau protein lain yang berasal dari makanan yang masuk ke dalam tubuh dan mengakibatkan pembuluh darah koroner menjadi tegang. (Ciccacci *et al.*, 2021).

Penanggulangan atau terapi hiperkolesterolemia dapat dilakukan secara farmakologi dan non farmakologi. Secara farmakologi mengkonsumsi obat penurun kolesterol salah satunya golongan obat-obatan dengan akhiran"-statin". Golongan statin merupakan golongan obat antikolesterol lini pertama yang paling sering digunakan. Golongan statin terdiri dari simvastatin, rosuvastatin, atorvastatin dan lovastatin. Golongan obat tersebut bekerja dengan cara melalui penghambatan HMG-KoA reduktase sebagai enzim pembatas laju dalam jalur biosintesis pembentukan kolesterol dari dalam hati (Ward *et al.*, 2019).

Secara non farmakologi dapat dibantu dengan mengkonsumsi makanan yang dapat membantu menurunkan kolesterol secara molekuler meliputi serat larut seperti beta-glucan, yang ditemukan dalam gandum, oat, dan barley. Beta-glucan dapat membentuk lapisan seperti gel di saluran pencernaan yang menangkap kolesterol dan membantu mengeluarkannya dari tubuh sebelum diabsorpsi. Selain itu, asam lemak omega-3, yang banyak terdapat dalam ikan berlemak seperti salmon, sarden, dan mackerel, dapat mengurangi kadar trigliserida dan meningkatkan kolesterol HDL (kolesterol baik). Ini membantu mengurangi risiko penyumbatan arteri. Juga, lemak tak jenuh tunggal dalam minyak zaitun dapat meningkatkan keseimbangan antara kolesterol LDL dan HDL dalam darah, sehingga menjaga kesehatan jantung. (Zou *et al.*, 2022).

Saat ini pengobatan kolesterol juga dikembangkan dengan terapi komplementer menggunakan bahan alam. Salah satu tanaman alternatif yang dapat digunakan sebagai antikolesterol dan juga memiliki aktivitas antioksidan adalah pakcoy, nanas, dan seledri. Adanya antioksidan akan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Salah satu mekanisme antioksidan dalam menghambat pembentukan kolesterol yaitu dengan menghambat sintesis kolesterol melalui enzim *3-hydroxy-3methylglutaryl Coenzym A* (HMG CoA) reduktase (Yunarto *et al.*, 2019).

Di dalam buah nanas terkandung enzim bromelin yang dapat mengurangi akumulasi lipid di hati. Enzim bromelin juga dikatakan dapat menurunkan kolesterol total, kolesterol ester dan trigliserida, asam lemak bebas serta gliserol di hati (Chen *et al.*, 2022). Menurut penelitian Putri dkk. (2013), buah nanas juga mengandung vitamin C tingkat tinggi (24%), niasin dan mirisetin dapat meningkatkan performa profil lipid melalui produksi empedu melalui ekskresi kolesterol ekstrahepatik dan juga kandungan polifenol yang terkandung dalam buah nanas dapat melindungi sel – sel tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas serta kandungan enzim bromeolin yang mampu menurunkan kadar kolesterol dengan memecah lemak di usus, yang membantu membersihkan saluran pencernaan dan usus (Zuhrawati, 2014). Menurut Juliarti (2021), bahwa pakcoy memiliki kandungan vitamin C dan vitamin B yang berperan sebagai antioksidan dan juga terkandung vitamin E dalam jumlah yang sangat tinggi yang dapat mencegah oksidasi kolesterol jahat di dalam pembuluh darah. Menurut penelitian Saputra & Fitria (2016), pakcoy mengandung vitamin C yang terkait dengan metabolisme kolesterol dan fitosterol, yang menurunkan kadar kolesterol darah, dan berperan penting dalam pencegahan aterosklerosis. Menurut penelitian Harsa dkk. (2022), bahwa seledri mengandung flavonoid, tannin dan saponin dengan mekanisme kerja yaitu bekerja dengan mengurangi aktivitas HMG – CoA kolesterol reduktase dan dinyatakan mempunyai efek dalam menurunkan kolesterol LDL, yang dapat menyebabkan peningkatan kolesterol LDL serum darah yang signifikan dan meningkatkan konversi kolesterol menjadi asam empedu.

Berdasarkan uraian latar belakang diatas masih sedikit sekali penelitian terkait tanaman diatas terkait dengan manfaatnya sebagai antikolesterol dan juga aktivitasnya sebagai antioksidan, Oleh karena itu, penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan mengkombinasikan ketiga tanaman tersebut menjadi inovasi sebuah *Healthy Juice* yang di uji cobakan pada hewan coba terkait dengan potensinya sebagai antioksidan dan antikolesterol.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang diatas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

- 1) Apakah kombinasi *healthy juice* pokcoy, nanas dan seledri berpotensi dalam menurunkan kadar kolesterol total terhadap model mencit hiperkolesterolemia dibandingkan kontrol negatif ?
- 2) Apakah terdapat perbedaan bermakna dari kombinasi *healthy juice* pokcoy, nanas dan seledri antara formula I dan formula II dalam menurunkan kadar kolesterol total terhadap model mencit hiperkolesterolemia
- 3) Apakah kombinasi *healthy juice* pokcoy, nanas dan seledri berpotensi sebagai antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antikolesterol dari kombinasi *healthy juice* pakcoy, nanas, dan seledri terhadap model mencit hiperkolesterolemia.

1.3.2 Tujuan khusus

- 1) Untuk mengetahui potensi dari kombinasi *healthy juice* pakcoy, nanas, dan seledri dalam menurunkan kadar kolesterol total terhadap model mencit hiperkolesterolemia.
- 2) Untuk mengetahui potensi dari kombinasi *healthy juice* pakcoy, nanas, dan seledri sebagai antioksidan dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil).



1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Penelitian ini merupakan upaya penggalian informasi ilmiah dan dapat digunakan dalam menambah pengetahuan serta wawasan masyarakat mengenai besarnya potensi pengobatan alternatif khususnya dalam pemanfaatan bahan herbal yang di inovasikan dalam bentuk *healthy juice*.

1.4.2 Manfaat praktis

Diharapkan penelitian ini setelah melalui beberapa uji dapat memberikan informasi serta manfaat kepada masyarakat bahwa kombinasi *healthy juice* dapat dipergunakan untuk antioksidan serta antikolesterol.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pakcoy (*Brassica chinensis* L.)

Pakcoy (*Brassica chinensis* L.) merupakan jenis sayur-sayuran dalam famili Brassicaceae. Pakcoy (*Brassica chinensis* L.) mempunyai sistem akar tunggang dengan cabang akar berbentuk bulat panjang memanjang 30 sampai 50 cm, Batang pakcoy (*Brassica chinensis* L.) mempunyai batang yang sangat pendek dan beruas-ruas sehingga hampir tidak terlihat. Batang ini menopang dan membentuk daun. Pakcoy (*Brassica chinensis* L.) tidak membentuk krop, memiliki daun halus dan tidak berbulu. Tangkai daun, urat dan daunnya lebar dan kuat mirip sawi hijau, namun daunnya lebih tebal dibandingkan sawi (Damayanti *et al.*, 2019).

Ekstrak kasar dan fraksi dari bagian buah pakcoy memiliki aktivitas antioksidan yang kuat pada enzim glutathion peroksidase (GPx), superoksida dismutase (SOD) dan total antioksidan (TAS) dalam sampel darah tergantung konsentrasi (Jan, 2018). Selain itu, efek antikolesterol yang dimiliki oleh ekstrak etanol 70% pakcoy ditunjukkan dengan nilai EC₅₀ sebesar 20,76 ppm. Kemampuan dalam menurunkan kolesterol disebabkan karena adanya metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, dan tanin yang ketiganya memiliki gugus karbonil C=O yang dapat mengikat gugus hidroksil pada kolesterol sehingga memungkinkan untuk dapat menurunkan kadar kolesterol (Andriani & Anggraini, 2023).



Sumber: CABI (2019, Gambar 2.4)

Gambar 2.1 Tanaman Pakcoy

2.1.1 Klasifikasi tanaman pakcoy

Berdasarkan pustaka, berikut klasifikasi dari tanaman pakcoy:

Kingdom : *Plantae*
 Divisi : *Spermathophyta*
 Kelas : *Dicotyledonae*
 Ordo : *Rheadales*
 Famili : *Brassicaceae*
 Genus : *Brassica*
 Spesies : *Brassica chinensis* L. (Damayanti *et al.*, 2019)



2.1.2 Kandungan kimia tanaman pakcoy

Sawi hijau banyak mengandung vitamin B, vitamin C dan beta-karoten yang berperan sebagai antioksidan serta terkandung zat besi, kalsium dan fosfor (Juliarti, 2021). Sawi pakcoy memiliki aktivitas antioksidan sebesar 8,148 ppm merupakan antioksidan kuat. Antioksidan memiliki peran sebagai antikolesterol dengan bekerja menghambat HMG-CoA dan meningkatkan HDL serum, hal ini ditunjukkan dengan adanya penelitian oleh (Andriani *et al.*, 2023) bahwa Ekstrak sawi pakcoy (*Brassica*

chinensis) berpotensi sebagai antikolesterol yang dilihat dari hasil nilai EC50 sebesar 20,76 ppm pada ekstrak etanol 70% dan ekstrak etanol 96% sebesar 29,10 ppm.

2.2 Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.)

Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) merupakan salah satu buah tropis Indonesia yang paling terkenal oleh karena keunggulannya. Nanas tumbuh baik pada ketinggian sampai 500 m dpl pada daerah yang mendapat sinar matahari cukup. Ciri khas buah nanas adalah berbentuk taji, tepinya runcing dan ada pula yang tidak berduri. Buahnya bulat panjang dengan daging buah berwarna kuning muda. Di Indonesia, nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) merupakan salah satu buah yang banyak digemari. Nanas tumbuh hampir di seluruh wilayah Indonesia karena iklimnya yang tropis dan tersedia setiap saat sepanjang musim (Wijana *et al.*, 2014)

Ekstraksi buah nanas dengan metode maserasi, pada uji antioksidan diperoleh nilai IC50 sebesar 0,1 µg/mL terklasifikasi ke dalam aktivitas antioksidan sangat kuat. Kemudian, mahkota dari nanas yang mengandung bromelin sebagai enzim proteolitik menghasilkan nilai IC50 sebesar 3624 µg/mL yang berperan dalam aktivitas antioksidan kategori sedang (Chabib *et al.*, 2023; Saptarini *et al.*, 2019). Efek dari ekstrak buah nanas terhadap profil lipid pada hewan coba dikatakan dapat menurunkan kadar LDL, trigliserida, dan kolesterol total, dan dosis ekstrak nanas yang dianjurkan untuk meningkatkan profil lipid adalah sekitar 4 gram per kapita per hari, yang hampir merupakan dosis normal (Putri *et al.*, 2013).



Sumber: CABI (2019, Gambar 2.5)

Gambar 2.2 Buah Nanas

2.2.1 Klasifikasi buah nanas

Klasifikasi dari tanaman nanas adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
 Divisi : *Spermatophyte*
 Kelas : *Angiospermae*
 Sub Kelas : *Monocotyledonae*
 Ordo : *Farinosae*
 Family : *Bromeliaceae*
 Genus : *Ananas*
 Spesies : *Ananas comosus* (L.) Merr. (Nugraheni, 2016).

2.2.2 Kandungan kimia buah nanas

Nanas mengandung banyak vitamin C, niasin, kalsium, fosfor, magnesium, zat besi, natrium, kalium, dekstrosa, sukrosa, polifenol dan enzim bromeoline, menjadikannya obat yang ampuh untuk menghentikan penyebaran penyakit serius seperti tumor dan aterosklerosis (penyempitan pembuluh darah). Vitamin C, niasin, dan Myricetin diprediksi mampu memperbaiki profil lipid (Putri *et al.*, 2013). Nanas mengandung bromeolin yang membantu memecah lemak di usus sehingga membantu membersihkan

saluran pencernaan dan usus (Zuhrawati, 2014). Ekskresi kolesterol ekstra hepatic dibentuk oleh Vitamin C guna memperbaiki profil lipid, yang mengarah pada pembentukan cairan empedu. Niasin dalam dosis tinggi mempunyai efek anti dislipidemia, Niasin dapat menurunkan kolesterol dan asam lemak bebas dalam darah. Niasin mengurangi sintesis trigliserida dengan menghalangi aliran lemak ke hati, ditandai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Putri *et al.*, 2013) bahwa bagi tikus putih jantan dyslipidemia, ekstrak nanas dapat menurunkan kadar LDL, trigliserida dan kolesterol total, serta meningkatkan kadar HDL. Dosis ekstrak nanas yang diperlukan untuk memperbaiki profil lipid hingga mendekati normal yaitu dosis 4 g per ekor per hari.

2.3 Seledri (*Apium graveolens* L.)

Tanaman seledri berwarna hijau, tidak berkayu, beralur, bercabang dan dapat tumbuh setinggi hampir satu meter. Daunnya juga tipis majemuk, lebar atau melebar dari pangkal, dengan sebagian besar atau seluruh tangkai daun. Tangkai daun tiap daun berukuran 1-2,7 cm. bunga seledri biasanya soliter, dengan batang berbeda dan kelopak lateral tersembunyi di bawahnya. Akar merupakan akar dengan serabut yang letaknya menyamping pada kedalaman sampai 30 cm dari permukaan tanah (Oktaviani *et al.*, 2020).



Sumber: CABI (2019, Gambar 2.6)

Gambar 2.3 Tanaman Seledri

2.3.1 Klasifikasi tanaman seledri

Kingdom : *Plantae*
 Sub Kingdom : *Tracheobionta*
 Divisi : *Spermatophyta*
 Subdivisi : *Angiospermae*
 Kelas : *Dicotyledonae*
 Ordo : *Apiales*
 Famili : *Apiaceae*
 Genus : *Apium* L.
 Spesies : *Apium graveolens* L. (Oktaviani *et al.*, 2020).

2.3.2 Kandungan kimia tanaman seledri

Metabolit sekunder seperti kalsium, zat besi, vitamin A, vitamin B1, vitamin C, fosfor, glikosida, apin dan apiol dapat ditemukan pada seledri. Tannin, saponin, furocoumarin, minyak atsiri, alkohol seskuiterpen, dan asam lemak juga merupakan zat lain yang ditemukan dalam seledri tidak kurang banyaknya (Oktaviani *et al.*, 2020). Flavonoid yang terkandung dalam seledri merupakan inhibitor terhadap enzim HMG-CoA reduktase sehingga dapat menurunkan sintesis kolesterol, serta tannin dan saponin yang terkandung memiliki mekanisme kerja yang sama yaitu bekerja dengan mengurangi aktivitas HMG – CoA kolesterol reduktase dan Kolesterol LDL dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL dan meningkatkan konversi kolesterol menjadi asam empedu (Harsa dkk, 2022).

2.4 Kolesterol

2.4.1 Definisi kolesterol

Kolesterol adalah lemak yang ditemukan di sel-sel tubuh atau aliran darah. Hal ini diperlukan untuk produksi hormon dan pembentukan dinding sel, namun kadar kolesterol yang berlebihan dalam darah dapat menyebabkan penyakit jantung koroner dan stroke. Hati memproduksi lebih dari 80% kolesterol tubuh secara alami. Makanan yang dikonsumsi seperti daging, telur dan susu hanya menyumbang 20% dari total kolesterol. Kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida merupakan bagian dari kolesterol total. Tiga kategori kadar kolesterol total: normal <200 mg/dL; ambang batas tinggi >200 – 239 mg/dL; dan ambang batas tinggi >240 mg/dL (Husein *et al.*, 2020).

2.4.2 Klasifikasi kolesterol

2.4.2.1 Kolesterol total

Jumlah kolesterol yang dibawa oleh seluruh partikel pembawa kolesterol di dalam darah disebut kolesterol total. Total kolesterol yang dapat dikatakan normal yaitu kurang dari 200 miligram per desiliter atau mg/dL (Putri *et al.*, 2013).

2.4.2.2 HDL (*High Density Lipoprotein*)

HDL merupakan lipoprotein dengan berat jenis yang tinggi. Diproduksi dari lemak endogenous di hati dan memiliki kadar protein yang tinggi, serta lemak total rendah. HDL sering disebut kolesterol baik karena memiliki kandungan kolesterol yang lebih rendah dibandingkan LDL dan fungsinya untuk mengikis kolesterol. HDL membawa kelebihan kolesterol dari seluruh jaringan tubuh ke hati. Jadi HDL adalah lipoprotein yang membantu menghilangkan kelebihan kolesterol dari jaringan (Putri *et al.*, 2013).

2.4.2.3 LDL (*Low Density Lipoprotein*)

Karena memiliki sifat aterogenik, LDL merupakan kolesterol jahat karena mudah menempel pada dinding bagian dalam pembuluh darah dan mengurangi pembentukan reseptor LDL. Akibatnya kadar kolesterol LDL akan meningkat. Mekanisme utama

katabolisme LDL adalah receptor mediated endositosis pada sel seperti hati maupun sel lain. Ester kolesterol dari inti LDL dihidrolisis, menghasilkan pembentukan kolesterol bebas, yang diperlukan untuk sintesis hormon steroid dan membran sel (Putri *et al.*, 2013).

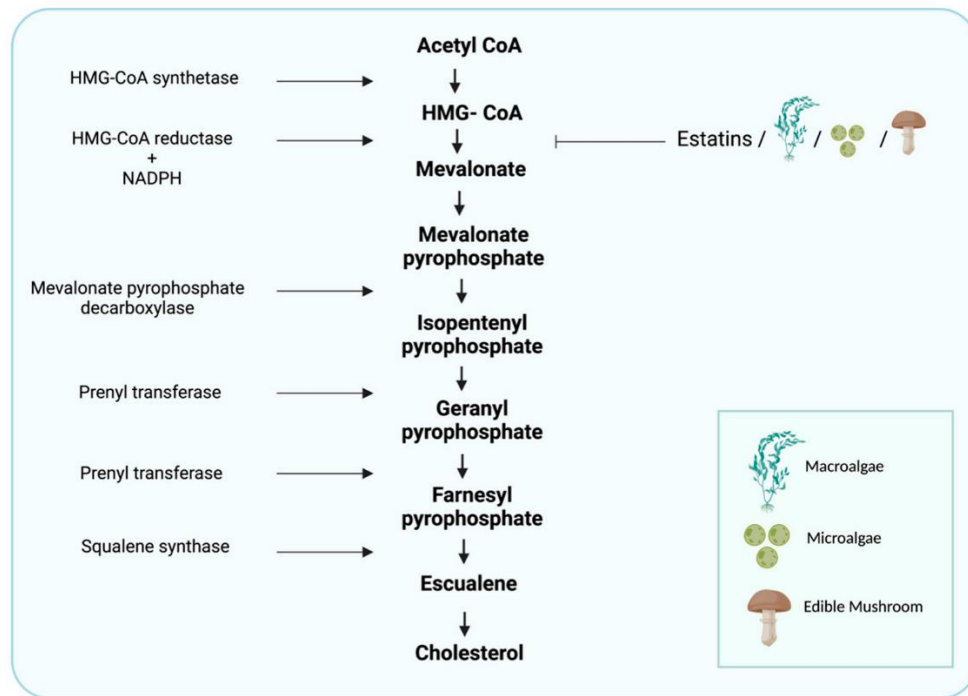
2.4.2.4 Triglicerida

Lemak dan gliserol dari makanan yang merangsang insulin atau dari asupan kalori berlebihan akibat asupan makanan berlebihan membentuk trigliserida. Kelebihan kalori kemudian diubah menjadi trigliserida, yang kemudian disimpan di bawah kulit sebagai lemak (Putri *et al.*, 2013).

2.4.3 Biosintesis kolesterol

Semua sel tubuh mampu menghasilkan kolesterol. Namun, sumber utama kolesterol dalam tubuh manusia adalah hati dan usus. yang diproduksi oleh tubuh sendiri. Tak hanya itu, korteks adrenal, testis, ovarium (organ-organ yang menghasilkan hormon steroid), aorta, dan kulit banyak memproduksi kolesterol (Xing *et al.*, 2015).

Kolesterol disintesis dari asetil-KoA melalui serangkaian reaksi di dalam sitosol dimana terjadi pembentukan asetil-KoA berkondensasi membentuk asetoasetil-KoA membentuk 3-Hidroksil-3-Metilglutaril-KoA (HMG-KoA). Enzim HMG-KoA reduktase yang digunakan dalam pembentukan mevalonat mengendalikan seluruh sintesis kolesterol. Kolesterol yang berasal dari makanan, partikel LDL di jaringan ekstrahepatik (kecuali usus), dan asam empedu di usus menghambat aktivitas HMG-KoA reduktase di hati. Selain itu, hati dipengaruhi oleh hormon tertentu seperti insulin dan tiroid yang meningkatkan aktivitasnya, serta glukokortikoid yang menurunkan aktivitasnya.



Sumber: Eilam et al (2022, Gambar 2.1)

Gambar 2.4 Biosintesis Kolesterol

Kemudian, mevalonat mengalami fosforilasi membentuk mevalonat pirofosfat. Dengan cara dekarboksilasi dari rangkaian proses mevalonat, menghasilkan produk akhir pada tahap ini yaitu isopentenil pirofosfat. Tahap tersebut melibatkan molekul isopentenil pirofosfat membentuk geranil piroposfat. Kondensasi selanjutnya dari senyawa ini membentuk farsenil pirofosfat akan diubah menjadi skualen dengan bantuan katalis enzim skualen sintase. Dari skualen tersebut kemudian diubah menjadi eskualen hingga terbentuknya kolesterol.

2.5 Golongan Obat Statin

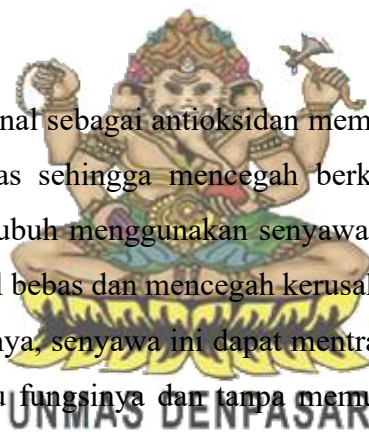
High-Intensity Statin	Moderate-Intensity Statin	Low-Intensity Statin
Atorvastatin 40–80 mg	Atorvastatin 10–20 mg	Simvastatin 10 mg
Rosuvastatin 20–40 mg	Rosuvastatin 5–10 mg	Pravastatin 10–20 mg
	Simvastatin 20–40 mg	Lovastatin 20 mg
	Pravastatin 40–80 mg	Fluvastatin 20–40 mg
	Lovastatin 40 mg	Pitavastatin 1 mg
	Fluvastatin XL 80 mg	
	Fluvastatin 40 mg bid	
	Pitavastatin 2–4 mg	

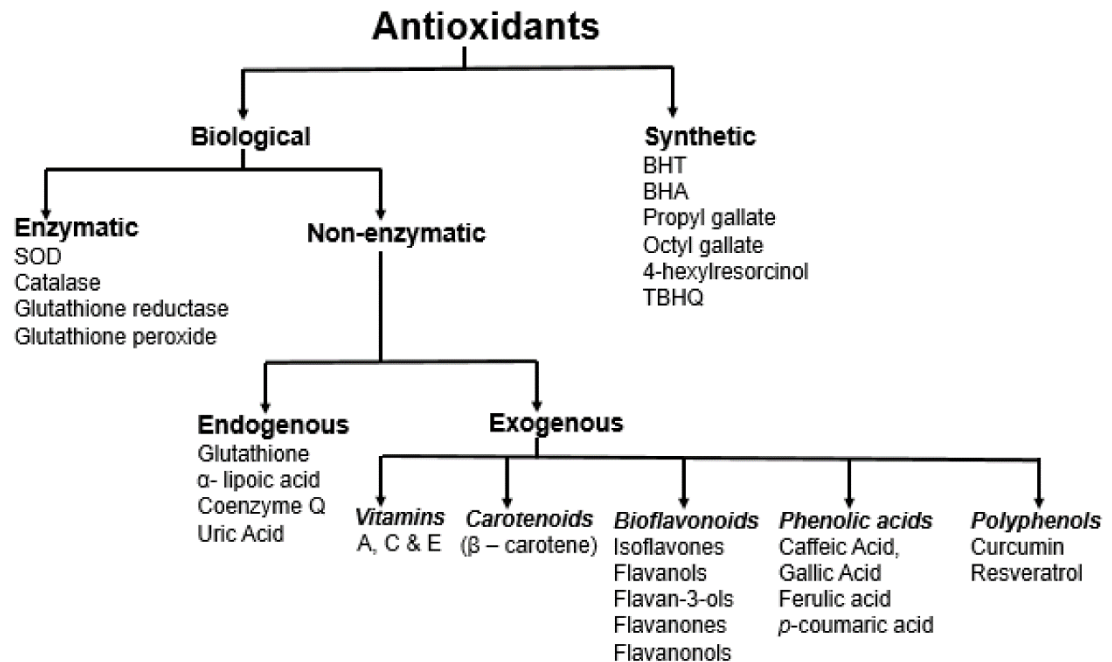
Sumber: Ross et al (2016, Gambar 2.2)

Gambar 2.5 Klasifikasi Golongan Obat Statin

2.6 Antioksidan

Senyawa yang dikenal sebagai antioksidan memiliki kemampuan menangkap atau menetralkan radikal bebas sehingga mencegah berkembangnya penyakit degeneratif seperti karsinogenesis. Tubuh menggunakan senyawa antioksidan sebagai substansinya untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan sel normal, protein dan lemak. Karena struktur molekulnya, senyawa ini dapat mentransfer elektron ke molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan tanpa memutus reaksi berantai radikal bebas (Werdhasari, 2014).





Sumber: Werdhasari (2014, Gambar 2.3)

Gambar 2.6 Klasifikasi Antioksidan

Antioksidan dapat dikategorikan secara luas ke dalam kelompok: (i) alami dan sintetis; (ii) polar dan non-polar; (iii) enzimatik dan non-enzimatik; (iv) endogen dan eksogen; dan (v) melalui mekanisme yang terlibat (Mironczuk-Chodakowska *et al.*, 2018). Antioksidan memiliki aktivitas berdasarkan tiga mekanisme, terdiri dari transfer atom hidrogen, transfer elektron tunggal, dan khelasi logam (Kotha *et al.*, 2022). Antioksidan endogen terutama enzim, seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathione reduktase (GR), dan glutathione peroksidase (GPx). Di sisi lain, antioksidan endogen non-enzimatik, seperti glutathione dan asam lipoat, merupakan produk dari metabolisme tubuh (Comert & Gokmen, 2018; Fierascu *et al.*, 2018). Antioksidan pertahanan lini pertama (enzimatik) mengubah superoksida reaktif dan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Antioksidan non-enzimatik dapat bertindak sebagai pertahanan lini kedua melawan ROS dengan menonaktifkan radikal dan oksidan secara cepat. Antioksidan enzimatik selanjutnya bertindak sebagai pertahanan lini ketiga yang terlibat

dalam detoksifikasi dan pembuangan. Antioksidan makanan, seperti vitamin, karotenoid, polifenol, flavonoid, dan bioflavonoid, merupakan antioksidan eksogen yang memiliki aktivitas *in vivo*.

2.7 Hubungan Aktivitas Antioksidan dan Kolesterol

Kolesterol adalah molekul yang dapat menjadi masalah ketika terlalu banyak mengendap dalam arteri, meningkatkan risiko penyakit jantung. Oksidasi LDL adalah salah satu tahap awal pengendapan kolesterol di dinding yang dapat menyebabkan aterosklerosis. Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat membantu melindungi sel – sel tubuh dari kerusakan yang disebabkan reaksi oksidatif (Yunarto *et al.*, 2019)

Adanya antioksidan akan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Salah satu mekanisme antioksidan dalam menghambat pembentukan kolesterol yaitu dengan menghambat sintesis kolesterol melalui enzim *3-hydroxy-3methylglutaryl Coenzym A* (HMG CoA) reduktase dan penghambatan absorpsi kolesterol yang diperantai enzim lipase. Peningkatan aktivitas dari enzim lipase mempengaruhi peningkatan lipolisis trigliserida dalam jaringan adipose (Yunarto *et al.*, 2019).

2.8 Mencit Putih Jantan (*Mus Musculus*)

Mencit merupakan salah satu hewan yang sering dipakai untuk percobaan. Penggunaan mencit sebagai model laboratorium berkisar 40%. Mencit banyak digunakan sebagai hewan laboratorium karena memiliki kelebihan seperti siklus hidup relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta sifat produksi dan karakteristik reproduksinya mirip hewan mamalia lain, seperti sapi, kambing, domba, dan babi (Nugroho, 2018).



Sumber: Yusuf (2022, Gambar 2.7)

Gambar 2.7 Mencit Putih Jantan

Adapun klasifikasi mencit menurut Yusuf (2022) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
 Class : Mamalia
 Ordo : Rodentia
 Famili : Muridae
 Genus : Mus
 Spesies : Mus musculus



Mencit jantan lebih banyak digunakan dalam penelitian karena aktif dalam beraktivitas, selain itu, mencit jantan juga tidak dipengaruhi oleh hormonal sebagaimana mencit betina (Nugroho, 2018). Pemilihan jenis kelamin jantan lebih didasarkan pada pertimbangan bahwa mencit jantan tidak mempunyai hormon estrogen, jikalau ada hanya dalam jumlah yang relatif sedikit serta kondisi hormonal pada jantan lebih stabil jika dibandingkan dengan mencit betina, karena pada mencit betina mengalami perubahan kondisi hormonal pada masa-masa tertentu seperti pada masa siklus estrus, masa kehamilan dan menyusui yang dapat mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji tersebut. Selain itu tingkat stress pada mencit betina lebih tinggi dibandingkan dengan mencit jantan yang mungkin dapat mengganggu pada saat pengujian (Oktiansyah, 2015).

2.9 Metode CHOD – PAP

Metode pemeriksaan untuk pengukuran kadar kolesterol menurut standar *World Health Organization* (WHO) adalah kolorimetrik enzimatik CHOD – PAP (*Cholesterol Oxidase-Peroxidase Aminoantipyrine Phenol*). Prinsip pemeriksaan dari metode ini yaitu kolesterol ester diurai menjadi kolesterol dan asam lemak menggunakan enzim kolesterol *esterase*. Kolesterol yang terbentuk kemudian diubah menjadi *Cholesterol – 3 – one* dan hidrogen peroksida oleh enzim kolesterol oksidase. Hidrogen peroksida yang terbentuk beserta fenol dan 4-aminoantipirin oleh peroksidase diubah menjadi zat berwarna merah. Intesitas warna yang terbentuk sebanding dengan kadar kolesterol dalam sampel dan diukur pada panjang gelombang 500 nm atau 546 nm (Verawati *et al.*, 2017).

Kelebihan dari metode CHOD – PAP antara lain hasil yang lebih akurat dan merupakan metode yang direkomendasikan oleh WHO atau merupakan gold standar untuk pengujian karena penggunaan sampel serum atau plasma. Kekurangan alat ini termasuk waktu evaluasi yang lama dan biaya yang relative tinggi (Rahman *et al.*, 2021)

2.10 Metode Penelitian Eksperimen

Penelitian eksperimen atau percobaan (*experimental research*) adalah suatu penelitian dengan melakukan kegiatan percobaan (*experiment*), yang bertujuan untuk mengetahui gejala atau pengaruh yang timbul, sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu atau eksperimen. Ciri khusus dari penelitian eksperimen adalah adanya percobaan atau *trial* atau *intervensi*. Percobaan itu berupa perlakuan atau intervensi terhadap suatu variabel. Dari perlakuan tersebut diharapkan terjadi pengaruh atau perubahan terhadap variabel yang lain (Notoatmodjo, 2013)

Tujuan utama penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki kemungkinan saling berhubungan sebab akibat dengan cara mengadakan intervensi atau mengenakan perlakuan kepada satu atau lebih kelompok eksperimen, kemudian hasil (akibat) dari intervensi tersebut dibandingkan dengan kelompok yang tidak dikenakan perlakuan

(kelompok kontrol). Rancangan penelitian eksperimen dikelompokkan menjadi tiga, yaitu (Notoatmodjo, 2013) :

1. Rancangan praeksperimen (*pre experimental design*)
2. Rancangan eksperimen sungguhan (*true experimental design*)
3. Rancangan eksperimen semu (*quasi experimental design*)

2.11 Uji Statistik

Uji statistik merupakan salah satu cabang ilmu matematika yang mampu membantu banyak kehidupan manusia baik dalam bidang bisnis, pendidikan maupun pengambilan keputusan atau kesimpulan. Statistik merupakan sekumpulan cara atau aturan yang berkaitan dengan pengumpulan data, pengolahan atau analisis data yang diperoleh dalam bentuk angka. Dalam sebuah penelitian statistik sangat penting karena berkaitan dengan penarikan kesimpulan dari hipotesis penelitian (Robin Bastian Waruwu *et al.*, 2022).

Metode statistika dibagi menjadi dua kelompok, yaitu statistika deskriptif dan statistika inferensial. Statistik deskriptif merupakan statistik yang digunakan untuk menggambarkan atau menganalisis hasil penelitian, mempelajari ukuran nilai pengamatan (data). Statistika inferensial mencakup semua metode yang berhubungan dengan analisis Sebagian data (sampel) untuk kemudian sampai pada kesimpulan mengenai keseluruhan data induknya (populasi). Terdapat dua macam bagian statistik inferensia yaitu analisis parametrik dan non-parametrik (Muhid, 2019).

2.11.1 Statistik Parametrik

Analisis statistik parametrik digunakan untuk menganalisis data dengan syarat bahwa sampel harus terdistribusi normal yang diambil secara random, variabel yang digambarkan berupa skala interval atau rasio. Maka dari itu terlebih dahulu dilakukan uji normalitas. Beberapa uji normalitas yang dapat digunakan adalah *Chi Square*, *Kolmogorov Smirnof*, *Shapiro Wilk*, dan *Jarque Bera*. Pemilihan jenis uji normalitas ditentukan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah jumlah data, seperti alasan pemilihan *Shapiro Wilk* dikarenakan jumlah data yang digunakan < 50 (Muhid, 2019).

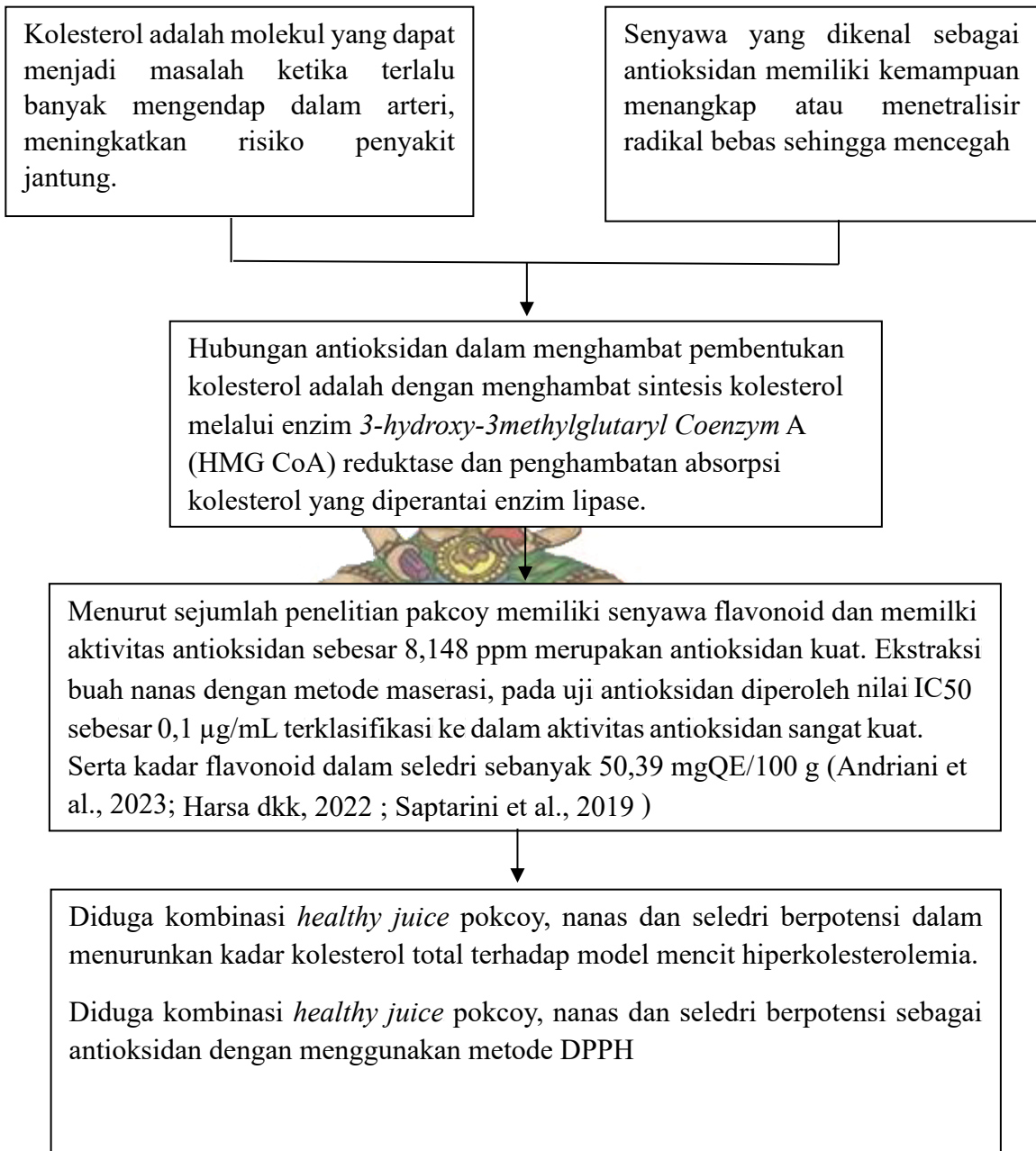
Beberapa jenis uji statistic inferensial dengan mode parametrik adalah *Independent Sample T test*, *Paired Sampel T test*, *One Way ANOVA*, dan *Analisis Regresi*

2.11.2 Statistik Non Parametrik

Metode statistik non-parametrik merupakan metode statistik yang dapat digunakan untuk menganalisis data yang berskala nominal atau ordinal dan tidak terdistribusi normal yang juga merupakan alternatif dari uji parametriknya. Terdapat beberapa jenis uji statistic inferensial dengan mode non-parametrik adalah *Mann-Whitney*, *Wilcoxon*, *Kruskal-wallis*, dan lain – lain (Muhid, 2019).



2.12 Kerangka Konseptual



2.13 Hipotesis

- 1) Diduga kombinasi *healthy juice* pokcoy, nanas dan seledri berpotensi dalam menurunkan kadar kolesterol total terhadap model mencit hiperkolesterolemia dibandingkan kontrol negatif.
- 2) Diduga kombinasi *healthy juice* pokcoy, nanas dan seledri formula I dan formula II tidak memiliki perbedaan yang signifikan.
- 3) Diduga kombinasi *healthy juice* pokcoy, nanas dan seledri berpotensi sebagai anti oksidan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil).

