

**EFEK HIPOKOLESTEROLEMIK SUSU FERMENTASI DARI  
*Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 PADA TIKUS JANTAN  
HIPERKOLESTEROLEMIA**

**OLEH:**

**FITRI PURBANDINI  
H51196012**



PERPUSTAKAAN FAKULTAS UNIV. HASANUDDIN	
Tgl. Terima	10/10/02
Asal Dari	MIPA
Banyaknya	1 (satu)
Harga	-
No. Inventaris	0210100150
No. Klas	

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2001**

**EFEK HIPOKOLESTEROLEMIK SUSU FERMENTASI DARI  
*Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 PADA TIKUS JANTAN  
HIPERKOLESTEROLEMIA**

**OLEH :**


**FITRI PURBANDINI  
H51196012**

*Skripsi untuk melengkapi tugas-tugas dan sebagai syarat  
untuk mencapai gelar sarjana*

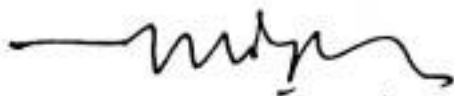
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2001**

**EFEK HIPOKOLESTEROLEMIK SUSU FERMENTASI DARI**  
*Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 PADATIKUS JANTAN  
**HIPERKOLESTEROLEMIA**

Disetujui oleh  
Pembimbing Utama

  
Dr. Elly Wahyudin, DEA  
NIP. 131 570 873

**Pembimbing Pertama**



Drs. M. Natsir Djide, MS  
NIP. 130 785 083

**Pembimbing Kedua**



Dra. Hj. Susanti Said, M.Si  
NIP. 130 369 549

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang efek susu fermentasi dari *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 yang diisolasi dari dadih terhadap kadar kolesterol total darah tikus putih jantan (*Rattus rattus*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek susu fermentasi dari *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 terhadap kadar kolesterol darah tikus putih untuk melengkapi data ilmiah mengenai khasiat susu fermentasi.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan lima belas ekor tikus putih yang dibagi dalam lima kelompok, yaitu terdiri atas dua kelompok kontrol, kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif, serta tiga kelompok perlakuan susu fermentasi dengan konsentrasi 10% v/v, 20%v/v dan 30% v/v. Pada semua kelompok kecuali kelompok kontrol negatif diberikan diet kolesterol tinggi dan air minum yang mengandung propil tiourasil 0,01%. Semua kelompok hewan uji diambil darahnya pada awal perlakuan, awal minggu kedua setelah dibuat hiperkolesterolemia dan akhir minggu ketiga setelah diberi susu fermentasi untuk menentukan kadar kolesterol total darah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa susu fermentasi *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 dapat memberikan efek hipokolesterolemik konsentrasi 10% v/v, 20% v/v, dan 30%v/v. Penurunan kadar kolesterol terbesar diperoleh dari pemberian susu fermentasi dengan konsentrasi 30%v/v. Berdasarkan analisis statistik menggunakan rancangan faktorial menunjukkan bahwa susu fermentasi *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 memberikan efek yang berpengaruh sangat nyata terhadap penurunan kadar kolesterol darah tikus putih. Semakin besar konsentrasi susu fermentasi, semakin besar pula penurunan kadar kolesterol total darah.

## ABSTRACT

A research concerning effect of fermented milk from *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 which has been isolated from dadih on total blood cholesterol level in male rats (*Rattus rattus*) has been conducted. The research was intended to observe the effect of fermented milk of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 administration on total blood cholesterol of rats, which was aimed to complete scientific data of fermented milk of R-35.

This research performed using fifteen rats, which its divided into five groups consist of two control groups and three administrated groups, with concentration of fermented milk are 10%v/v, 20%v/v and 30%v/v. Except the negative control, all of the groups were given high cholesterol diets and drinking water contained propyl tiouracil. And all animal were taken their bloods at first administrated, before the second week which rats have been made hypercholesterolemic and finally at the last day of third week which rats have been given fermented milk.

The result of observation indicated that fermented milk of R-35 showed hypocholesterolemic effect at 10%v/v, 20%v/v and 30%v/v concentration. And the concentration of fermented milk which could lower the blood cholesterol was concentration of 30%v/v. Based on statistical analysis used factorial design, showed that fermented milk of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 might reduced the total blood cholesterol level significantly. As the higher of the concentration of fermented milk of R-35 the total blood cholesterol level was lower.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji hanyalah milik Allah AzzaWa Jalla, atas limpahan nikmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan sebagai salah satu persyaratan wajib untuk memperoleh gelar sarjana pada jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.

Mengawali ucapan terima kasih ini, penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tiada terhingga kepada Bapak *Slamet Sampurno* dan Ibunda *Erni Hastuti* yang telah merawat dan melimpahkan segala kasih sayang, juga buat adik-adikku tercinta *Ariyanti Palupi* dan *Risna Yekti Mumpuni* atas dukungannya selama ini.

Perkenankan penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada Ibu Dr. Elly Wahyudin, DEA sebagai Pembimbing Utama, Bapak Drs. M. Natsir Djide, MS sebagai Pembimbing Pertama dan Ibu Dra. Hj. Ny. Susanti Said, M.Si sebagai Pembimbing Kedua yang telah meluangkan waktu dan pikirannya untuk memberikan bimbingan dan saran yang sangat membantu dalam pelaksanaan penelitian dan penyelesaian skripsi ini.

Selanjutnya penulis mengucapkan yang sebesar-besarnya kepada

1. Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf.
2. Bapak Ketua Jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin.
3. Bapak Drs. Frans A. Rimate selaku Penasehat Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi selama penulis kuliah di Farmasi.

4. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Farmasi yang telah menyumbangkan ilmu dan pengalaman yang tidak ternilai.
5. Staf pegawai dan Laboran/Analisis khususnya kepada Analisis Laboratorium Mikrobiologi Farmasi dan Biofarmasetik, serta kakak-kakak asisten yang banyak membantu dalam penyelesaian studi penulis.
6. *'My Big Pow'*, "I just can't imagine how my life still go on with out your supports and love".
7. Rekan-rekan Mahasiswa Farmasi Angkatan'96 yang manis dan baik, buat Irna, Hasna, Ema, Uni, Ardi, Alwi, Ugi, Eka, dan Shanty terima kasih atas semua bantuan dan perhatiannya selama ini.
8. Teman-teman Salemo Crew atas kebersamaan dalam berbagai suka dan duka serta dukungannya selama ini.

Skripsi ini disusun dengan segala keterbatasan yang dimiliki, sehingga mungkin masih banyak kekurangan-kekurangan dalam penulisan, karena itu dengan senang hati penulis menerima saran dan kritik yang konstruktif untuk kesempurnaan penulisan selanjutnya.

Akhirnya, skripsi ini penulis persembahkan kepada almamater Universitas Hasanuddin tempat penulis menuntut ilmu pengetahuan dan wawasan kemahasiswaan. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi dunia pendidikan terutama dalam bidang kefarmasiaan.

Makassar, Agustus 2001

Penulis

## DAFTAR ISI

	. Halaman
Halaman Judul.....	ii
Halaman Pengesahan.....	iii
Abstrak.....	iv
Abstract.....	v
Ucapan Terima Kasih.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel.....	x
Daftar Lampiran.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II POLA PENELITIAN.....	4
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	
III.1 Uraian Susu Fermentasi.....	6
III.1.1 Susu Untuk Pembuatan Susu Fermentasi.....	8
III.1.2 Proses Fermentasi Susu.....	11
III.1.3 Komposisi Nutrien Susu Fermentasi.....	12
III.1.4 Manfaat Susu Fermentasi Untuk menurunkan Kadar kolesterol darah.....	14
III.2 Uraian Umum Bakteri.....	15



III.3 Kolesterol.....	18
III.3.1 Kaitan Hiperkolesterolemia dengan Aterosklerosis.....	21
III.3.2 Faktor Resiko Aterosklerosis.....	23
III.4 Penentuan Kadar Kolesterol Darah.....	24
<b>BAB IV PELAKSANAAN PENELITIAN</b>	
IV.1 Alat dan Bahan.....	25
IV.2 Pengambilan dan Penyiapan Bakteri.....	28
IV.3 Pembuatan Bahan Penelitian.....	31
IV.4 Penyiapan dan Pemilihan Hewan uji.....	31
IV.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji.....	32
IV.6 Pengumpulan Data.....	32
IV.7 Analisa Data.....	32
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>33</b>
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>39</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>44</b>



## DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Komposisi Rata-rata Susu Sapi Perah.....	8
2. Kandungan Rata-rata Mineral dalam Susu Segar.....	9
3. Komposisi Nutrien Susu Fermentasi.....	12
4. Taksonomi <i>Lactobacillus casei</i> .....	16
5. Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih.....	43
6. Prosentase Penurunan Kadar Kolesterol Darah Tikus.....	44
7. Perbandingan Antar Kelompok Perlakuan.....	49
8. Perbandingan Antar Kelompok Waktu.....	50

## DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
A. Analisis Statistik Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan Susu Fermentasi R-35 menggunakan Rancangan Faktorial.....	45
B. Uji Lanjutan dengan Beda Nyata Terkecil (BNT).....	49



## DAFTAR GAMBAR

No.		Halaman
1.	Rumus Struktur Kolesterol.....	17
2.	Skema Kerja Pembuatan Susu Fermentasi <i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i> R-35.....	51
3.	Uji Efek hipokolesterolemik pada Tikus Jantan.....	52
4.	Histogram Penurunan Kadar Kolesterol Tikus.....	53
5.	Foto Susu Fermentasi.....	54

APPENDIX

The first part of the Appendix contains a list of the names of the persons who have been admitted to the office of the Secretary of the Board of Education since the year 1862. The names are arranged in alphabetical order, and each name is followed by the date of admission. The names are as follows:

1. John A. ...  
 2. ...  
 3. ...  
 4. ...  
 5. ...  
 6. ...  
 7. ...  
 8. ...  
 9. ...  
 10. ...

It will be seen from the above list that the number of persons admitted to the office of the Secretary of the Board of Education has increased steadily since the year 1862. This is due to the fact that the Board of Education has been enlarged from time to time, and the number of Secretaries has increased accordingly.



## BAB I PENDAHULUAN

Telah diketahui selama bertahun-tahun bahwa peningkatan konsentrasi kolesterol serum adalah faktor resiko aterosklerosis dan penyakit jantung koroner yang merupakan penyebab utama kematian di negara-negara barat (1). Saat ini penyakit jantung koroner menjadi penyakit yang ditakuti di Indonesia. Serangan jantung terjadi karena adanya penyempitan pembuluh darah atau aterosklerosis (2).

Aterosklerosis (dalam bahasa Yunani, artinya Atere :bubur; Scler: keras) adalah suatu gangguan dimana arteri-arteri menyempit karena adanya endapan lipida dan kalsium pada bagian dalamnya (ateroma), yang setelah beberapa waktu menyebabkan pengerasan dinding arteri tersebut (3).

Untuk menurunkan kolesterol serum sejumlah obat seperti inhibitor reduktase 3-hidroksi-3-metilglutarilkoenzim A dan obat-obat yang meningkatkan ekskresi asam empedu telah digunakan untuk mengobati penderita hiperkolesterolemik (4). Tetapi efek samping senyawa-senyawa tersebut menimbulkan kecemasan dalam penggunaannya untuk pengobatan (5). Disamping menggunakan obat-obat tersebut konsumsi asam laktat probiotik mungkin suatu metode yang lebih alamiah untuk menurunkan konsentrasi kolesterol serum pada manusia (6).

Beberapa penelitian melaporkan penurunan kolesterol serum selama penggunaan produk makanan yang difermentasi dengan dosis besar (680-5000 ml) tetapi hal ini tidak dapat diterapkan untuk kondisi konsumsi yang lebih realistis (7). Rao, dkk (8), melaporkan efek hipokolesteromik tikus yang diberi susu yang

difermentasikan dengan *Streptococcus thermophilus*. Rhodas, dkk (9), menemukan efek yang sama pada babi hiperkolesterolemia yang diberi makan *L. acidophilus*.

Penelitian Mufidah (2000), secara *in vitro* menunjukkan bahwa bakteri asam laktat strain *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 yang diisolasi dari Dadih susu fermentasi dari Minangkabau memperlihatkan kemampuan mengikat kolesterol sebesar 28,37% (10).

Permasalahan, apakah susu fermentasi yang difermentasikan dengan bakteri *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 dapat menurunkan kadar kolesterol darah. Karena itu telah dilakukan penelitian tentang efek susu fermentasi dengan menggunakan tikus putih jantan. Pada penelitian ini tikus jantan dibagi dalam 5 kelompok, terdiri dari 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Hewan uji dibuat hiperkolesterolemia dengan pemberian diet kolesterol tinggi dan air minum yang mengandung propil tiourasil 0,01% selama 2 minggu. Pada saat yang sama pula diberikan susu fermentasi secara oral dengan dosis 10%, 20%, dan 30% v/v.

Pengukuran kadar kolesterol total darah tikus putih dilakukan sebanyak 3 kali, pertama pada awal perlakuan, kedua setelah pemberian diet kolesterol tinggi, air minum propil tiourasil 0,01%, terakhir setelah pemberian diet kolesterol tinggi dan susu fermentasi. Kadar kolesterol darah ditentukan dengan menggunakan metode enzimatik kolorimetri menggunakan fotometer 4020.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui efek pemberian susu fermentasi dari bakteri *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 terhadap kadar kolesterol darah tikus putih, dengan tujuan memperoleh data ilmiah mengenai efek susu fermentasi.

## BAB II

# POLA PENELITIAN



## BAB II

### POLA PENELITIAN

#### II.1 Penyiapan Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan disiapkan sesuai kebutuhan penelitian

##### II.1.1 Sterilisasi Alat-alat (11)

Alat-alat yang digunakan disterilkan dengan metode masing-masing sesuai dengan petunjuk buku resmi.

##### II.1.2 Pembuatan Medium Peremajaan (12)

Medium dibuat sesuai dengan prosedur pembuatannya

##### II.1.3 Pembuatan Medium Starter (13)

#### II.2 Pengambilan dan Penyiapan Bahan Penelitian

##### II.2.1 Pengambilan Bahan Penelitian

Bahan penelitian adalah bakteri *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R.35 yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Farmasi dalam biakan murni.

##### II.2.2 Peremajaan Bakteri

Bakteri diremajakan dengan menginkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### II.2.3 Pembuatan Starter Susu Fermentasi

Bakteri yang telah diremajakan diinokulasikan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

## II.3 Pembuatan Bahan Penelitian

### II.3.1 Pembuatan Susu Fermentasi

Susu murni difermentasikan dengan bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam hingga menjedal.

### II.3.2 Pembuatan Susu Fermentasi Uji

Susu fermentasi dibuat dalam konsentrasi 10%, 20%, dan 30% v/v.

## II.4 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji (14, 15, 16)

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus rattus*) berbadan sehat dengan aktifitas normal dengan berat badan 200-250 gram.

## II.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji (14)

Tikus putih jantan yang akan digunakan dikarantina dalam kandang untuk menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Tikus putih kemudian dibagi dalam 5 kelompok, terdiri atas 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan.

### II.5.1 Peningkatan Kadar Kolesterol Darah Hewan Uji

Kadar kolestrerol darah hewan uji ditingkatkan dengan pemberian kolesterol tinggi dalam makanan dan air minum yang mengandung propil tiourasil 0,01%

### **II.5.2 Pembuatan Makanan Untuk Diet Kolesterol Tinggi**

Makanan diet kolesterol tinggi dibuat dengan mencampur bahan-bahan: kolesterol 1%, kuning telur 5%, lemak hewan 10%, minyak kelapa 1%, dan makanan standar hingga 100%.

### **II.5.3 Pengambilan Contoh Darah Hewan Uji**

Pengambilan darah dari ekor dilakukan terhadap semua tikus.

### **II.5.4 Penentuan Kadar Kolesterol Darah Hewan Uji**

Pengukuran kadar kolesterol total darah hewan uji menggunakan metode enzimatis yang diukur dengan fotometer 4020 pada panjang gelombang 546 nm.

## **II.6 Pengumpulan Data**

Data dari hasil pengukuran dikumpulkan untuk dianalisa

## **II.7 Analisa Data**

Data dihitung secara statistik.

## **II.8 Pembahasan Hasil Penelitian**

Setelah dilakukan penelitian kemudian dibahas hasilnya

## **II.9 Pengambilan Kesimpulan**

Kesimpulan diambil berdasarkan hasil analisis penelitian

### BAB III

# TINJAUAN PUSTAKA



dan negara-negara Asia Barat. Yogurt dibuat dari susu sapi yang difermentasikan dengan bakteri alami susu, yaitu *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Di daerah Kaukasus, susu fermentasi dikenal dengan nama "Kefir". Kefir merupakan produk susu fermentasi beralkohol dan mempunyai aroma yang khas. Kefir dibuat dari susu kambing atau sapi yang dimasukkan ke dalam kantong kulit dan mengalami fermentasi secara alami oleh bakteri yang ada dalam kantong kulit tersebut.

Di Sumatera Barat, suku Minangkabau mengembangkan susu fermentasi tradisional yang disebut "Dadih" (Dadih). Dadih adalah suatu produk yang sangat berbeda kualitas mikrobanya dan dikonsumsi setiap hari oleh masyarakat yang hidup di daerah tersebut sebagai sumber protein. Produk ini dibuat dari susu sapi atau kerbau yang baru diperah, disaring, kemudian dimasukkan ke dalam tabung bambu segar dan ditutup dengan daun pisang. Susu difermentasikan oleh mikroorganisme pada daun pisang, bambu, dan susu. Fermentasi dilakukan pada suhu kamar sekitar 2 hari hingga terbentuk susu terkoagulasi seperti yogurt.

### **III.1.1 Susu Untuk Pembuatan Susu Fermentasi (20)**

Susu adalah suatu bahan hasil ekskresi dari kelenjar susu hewan yang menyusui anaknya. Berdasarkan kandungannya, susu merupakan makanan yang hampir sempurna dan sebagai satu-satunya sumber makanan yang utama dan alamiah bagi kehidupan hewan menyusui segera setelah lahir.

Komponen susu yang sangat berbeda dengan komponen darah yang merupakan asal sekresi susu. Lemak susu, kasein, dan laktosa yang

disintesis oleh alveoli dalam ambing, tidak terdapat dalam bagian susu yang lain. Komposisi susu dapat sangat beragam tergantung pada beberapa faktor, akan tetapi angka rata-rata untuk semua jenis kondisi dan jenis sapi perah seperti pada tabel di bawah ini:

Tabel 1. Komposisi rata-rata susu sapi perah

Komponen	Jumlah (% b/b)
Lemak	3,90
Protein	3,40
Laktosa	4,80
Abu	0,72
Air	87,10

Sumber: Bukle et al, 1978

Susu banyak mengandung unsur-unsur mineral seperti kalium, kalsium, dan fosfor, serta beberapa 'trace mineral' seperti besi, boron, tembaga, seng, mangan dan silikon. Disamping itu, asam sitrat terdapat dalam susu dan memberikan sifat dapar yang kuat, serta diperkaya dengan vitamin yang larut dalam air dan minyak. Hal ini dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kandungan rata-rata mineral dalam susu segar

Kandungan	Kandungan per 100 gram susu
Kalium	140 mg
Kalsium	124 mg
Klorida	103 mg
Fosfor	96 mg
Natrium	56 mg
Sulfur	25 mg
Magnesium	12 mg
Vitamin A	160 UI
Asam Askorbat	2 mg
Vitamin D	0,5 - 4,4 UI
Vitamin E	80 µg
Tiamin	35 µg
Riboflavin	170 µg
Niasin	80 µg
Asam Pantotenat	350-450 µg
Asam Folat	3-8 µg
Biotin	0,5 µg
Piridoksin	50-100 µg
Sianokobalamin	50 µg

Sumber: Bukle et al, 1978

Di dalam susu juga terdapat enzim fosfatase, lipase, katalase, peroksidase, protease, diastase, amilase, dan laktase. Ada 2 golongan enzim yang paling penting, yaitu enzim yang berfungsi sebagai indikator

perlakuan panas seperti fosfatase dan peroksidase dan enzim-enzim yang menyebabkan kerusakan seperti lipase.

Banyak jenis susu dari berbagai hewan telah digunakan untuk produk susu fermentasi. Namun pembuatan susu fermentasi dalam skala industri menggunakan susu sapi. Susu yang digunakan dapat berupa susu utuh, susu skim atau susu krim. Kriteria bahan dasar susu yang harus dipenuhi untuk menjamin perkembangan kultur, antara lain jumlah bakteri rendah, bebas dari antibiotik dan ketengikan serta tidak terkontaminasi dengan bakteriofage.

### III.1.2 Proses Fermentasi Susu (21, 22, 23)

Secara alamiah, susu umumnya telah ditumbuhi oleh *Lactobacillus sp.* dan *Sterptococcus sp.*, yang pada suhu kamar akan cepat mengubah susu menjadi asam. Fermentasi asam secara spontan ini akan menggumpalkan susu dan mencegah proses pembusukan susu (putrefaction).

Untuk memfermentasikan susu, kultur bakteri diinokulasikan dalam susu yang diperkaya dengan protein susu dan telah dipasteriusasi, kemudian diinkubasi pada suhu 40-44°C selama 4-5 jam.

Selama proses fermentasi bakteri menghasilkan asam laktat dari laktosa susu dan populasi bakteri meningkat 100-10000 dan pada hasil akhir mencapai  $10^9$ /ml. Fermentasi dilakukan sampai mencapai pH sekitar 4,4 - 4,5 dan diikuti dengan terbentuknya flavor yang khas, karena adanya



senyawa-senyawa asam laktat, asam asetat, asetaldehid, diasetil, dan senyawa volatil lain. Pada pH asam maka kasein mengalami koagulasi sehingga terbentuknya gumpalan-gumpalan dan semakin lama semakin banyak.

Susu fermentasi kemudian disimpan pada suhu 4-5°C untuk menghentikan atau memperlambat proses fermentasi. Pada suhu tersebut dapat disimpan sampai 2 minggu. Setelah waktu tersebut derajat keasaman naik sehingga flavornya berubah .

### **III.1.3 Komposisi Nutrien Susu Fermentasi (19, 24, 20)**

Seperti halnya susu, susu fermentasi merupakan produk yang kaya nutrien, mengandung protein serta berbagai vitamin dan mineral. Komposisi susu fermentasi sangat tergantung pada bahan dasar susu dan metabolisme kultur yang spesifik. Perbedaan komposisi nutrien antara susu fermentasi yang dibuat dari susu rendah lemak dan susu utuh dapat dilihat pada tabel 3.

Dalam produk susu fermentasi terjadi perubahan yang nyata dalam kandungan asam amino bebas, jumlahnya beberapa kali lebih banyak daripada susu biasa. Dalam yogurt, kandungan asam amino bebas mencapai 1% dari total protein.

Tabel 3. Komposisi nutrisi susu fermentasi

Nutrien	Susu fermentasi dari	
	Susu lemak rendah	Susu utuh
Protein (g)	7,7	7,7
Karbohidrat (g)	11,0	23,6
Lemak (g)	1,2	4,2
Vitamin A (ug)	13,3	63
Riboflavin (mg)	0,4	0,5
Asam Folat (ug)	26	15
Vitamin B <sub>12</sub> (ug)	0,3	0,2
Vitamin D (ug)	0,02	0,06
Kalsium (mg)	285	240
Fosfor (mg)	240	195
Seng (mg)	0,9	0,8
Energi (kkal)	84	158

Sumber: Bukle et al, 1978

Aktivitas biologi dari asam laktat merubah kadar vitamin dalam susu kecuali vitamin B. Pasteurisasi pada susu sebelum fermentasi dapat merusak vitamin B<sub>6</sub> dan vitamin B<sub>12</sub> sehingga kadarnya turun sekitar 50%, namun vitamin termotabil seperti niasin dan asam pantotenat kadarnya tetap. Beberapa strain bakteri asam laktat menghasilkan dan meningkatkan vitamin B tertentu, terutama asam folat, folinat dan kolin kadarnya naik hingga 100%.

Seperti susu umumnya, susu fermentasi merupakan sumber kalsium dan fosfor yang sangat penting untuk tulang. Bagi pasien dengan

“Laktosa-Maldigesti”, susu fermentasi merupakan sumber yang kaya akan mineral dan mudah untuk dicerna sehingga tidak menimbulkan efek yang merugikan.

#### **III.1.4 Manfaat Susu Fermentasi Untuk Menurunkan Kadar Kolesterol Darah (24, 25, 26)**

Sejak dahulu asam laktat telah dikenal penggunaannya pada pembuatan susu fermentasi dan telah dibuktikan telah memiliki efek fisiologi yang bermanfaat dalam tubuh. Pada awal abad ini, Eli Metchnikoff (1910), menyarankan konsumsi susu yang difermentasikan dengan bakteri asam laktat yang merupakan flora usus manusia seperti *Lactobacilli*, dan telah mengklaim bahwa umur panjang orang Bulgaria karena mereka mengkonsumsi susu tersebut.

Ahmed (1979), mengemukakan bahwa suatu populasi yang mengkonsumsi susu atau yogurt dalam jumlah yang besar mempunyai insiden aterosklerosis yang rendah, selain itu dapat mengisolasi 2 faktor susu yang dapat menurunkan sintesis kolesterol endogen (dalam hati). Pertama asam orotik, prekursor pirimidin yang memblok lintasan sintesis kolesterol, mungkin pada hidrosimetilglutaril koenzim A reduktase, kedua serupa dengan yang pertama, tetapi belum diketahui struktur apa yang diblok dan pada lintasan mana. Adanya faktor lain, yaitu komponen sel bakteri asam laktat yang telah dipikirkan, disamping faktor antikolesterol yang mungkin terbentuk dalam susu. Misalnya susu fermentasi yang dibuat dengan *L. acidophilus* diduga bahwa aksi

penurunan kolesterol disebabkan secara langsung oleh sel bakteri tersebut, tetapi hal ini membutuhkan penelitian lebih lanjut.

Grunewald juga melaporkan bahwa pemberian susu skim acidophilus yang difermentasi selama 4 minggu akan menurunkan kolesterol plasma. Tetapi penelitian Lin, dkk terhadap Lactinex menunjukkan hal yang berbeda, produk tablet yang berisi *L. acidophilus* dan *L. bulgaricus* sekitar  $2.10^6$  bakteri hidup; dari 354 orang yang diberikan sediaan tersebut, tidak ada perbedaan yang terlihat antara Lactinex dengan pemberian plasebo (tidak berisi bakteri) terhadap total kolesterol dan fraksi lipoprotein dalam plasma. Hal ini disebabkan oleh dosis organisme yang diberikan sangat rendah. Dosis ini beberapa kali lebih rendah daripada yang terdapat dalam pemberian yogurt dalam wadah 6 oz sehari.

### III.2 Uraian Umum Bakteri yang Digunakan (27, 28, 10)

*Lactobacillus casei* (*L. casei*) merupakan bakteri asam laktat (BAL) yang ditemukan dalam beberapa produk makanan di seluruh dunia, termasuk susu fermentasi tradisional, misalnya kefir dan laban zeer. *L. casei* biasa digunakan tunggal atau dikombinasikan dengan bakteri asam laktat lain untuk memperoleh sifat organoleptik yang berbeda. Akhir-akhir ini *L. casei* telah digunakan dalam produk susu yang menawarkan aroma yang dan manfaat kesehatannya.

Galur *L. casei* ditemukan secara alami dalam sayur-mayur fermentasi, susu, daging dan juga dalam usus, mulut manusia serta lingkungan. Nama

*L. casei* pertama kali digunakan pada tahun 1919. Dari nama nomenklaturanya dapat diketahui hubungan erat dengan keju, baik casei maupun casein (protein utama dalam susu) berasal dari bahasa latin "*caseus*", yang berarti keju.

*L. casei* merupakan bakteri gram positif dengan bentuk selnya batang kecil. *L. casei* berbeda dengan Lactobacilli lain dalam beberapa hal, yaitu *L. casei* berukuran lebih kecil daripada *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* dan *L. helveticus*, *L. casei* merupakan bakteri asam laktat heterofermentatif fakultatif dan bersifat mesophilik. *L. casei* mampu memfermentasikan sebagian besar karbohidrat dalam fermentasi susu daripada Lactobacilli lain.

Dalam taksonomi, *L. casei* dikenal sebagai salah satu spesies yang terbagi lagi menjadi beberapa subspecies. Klasifikasi ini ditentukan dengan menggunakan teknologi homologi DNA-DNA yang semakin maju. Sekarang *L. casei* dikenal sebagai suatu kelompok spesies dan tiap spesiesnya hampir sama dengan subspecies dapat dilihat pada tabel 4. Menurut Bergey's klasifikasi *Lactobacillus casei* adalah sebagai berikut:

Divisio	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Sub Bangsa	: Eubacterineae
Suku	: Lactobacillaceae
Genus	: Lactobacillus
Spesies	: <i>Lactobacillus casei</i>

Walaupun setiap spesies berbeda dalam beberapa hal seperti suhu pertumbuhan optimal dan kemampuan untuk memfermentasikan karbohidrat spesifik, tetapi secara genetik spesies-spesies ini hampir sama dan semua dikenal sebagai *L. casei*.

Tabel 4. Taksonomi *Lactobacillus casei*

Taksonomi Lama	Taksonomi Baru	Sifat Metabolisme	
		Suhu Pertumbuhan	Fermentasi Gula
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	<i>L. casei</i>	10-40 <sup>0</sup> C	Ribose, Sukrosa, dan D-Turanosa
<i>L. casei</i> subsp. <i>paracasei</i>	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	10-40 <sup>0</sup> C	Memetabolisme sebagian besar gula
<i>L. casei</i> subsp. <i>tolerans</i>	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	10-37 <sup>0</sup> C, tahan hingga 72 <sup>0</sup> C selama 40 min.	Memetabolisme sedikit gula
<i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i>	<i>L. rhamnosus</i>	15-45 <sup>0</sup> C	Rhamnosa

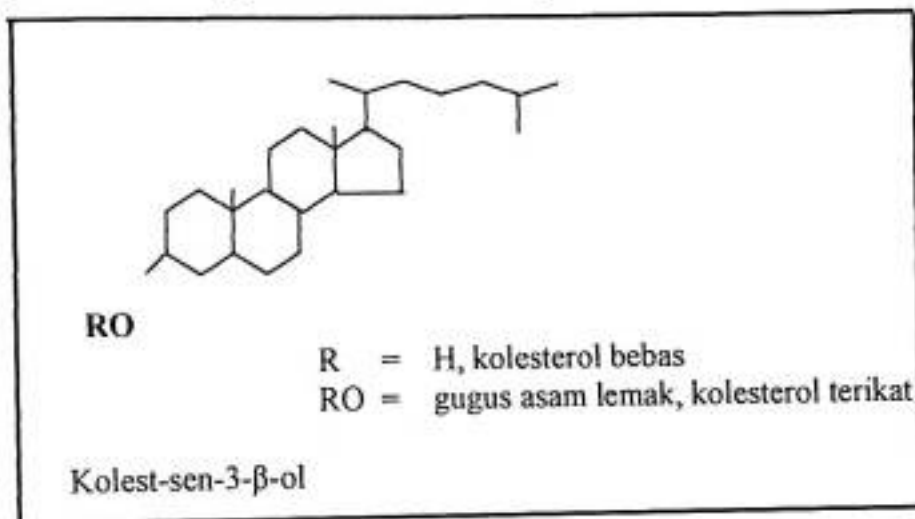
Sumber: Danone news, 1999

Pada tahun 1988, Akiyoshi Hosono dkk., mengisolasi bakteri yang ada dalam dadih dan diperoleh jumlah rata-rata  $4,1 \times 10^8$  bakteri/gram dan yang paling dominan adalah bakteri asam laktat yaitu sebanyak 36 strain. Dan pada tahun 2000, Mufidah melakukan penelitian tentang pengikatan kolesterol secara in vitro oleh bakteri asam laktat yang diisolasi dari dadih. Strain yang memiliki kemampuan mengikat kolesterol secara in vitro yang tinggi adalah *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R-22, *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35, *Leuconostoc paramesentroides* R-51, *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-52, dan *Enterococcus faecalis* subsp. *liquefaciens* R-56. Atas dasar ini,

kemungkinan bakteri-bakteri tersebut dapat juga digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol pada manusia.

### III.3 Kolesterol (29, 30, 31)

Kolesterol merupakan salah satu sterol yang penting dan terdapat banyak di alam dengan rumus struktur sebagai berikut:



Gambar 1. Rumus Struktur Kolesterol

Sekitar 70% kolesterol dalam lipoprotein plasma membentuk ester dengan asam lemak, baik dengan asam lemak jenuh (seperti butirrat, stearat dan palmitat) maupun dengan asam lemak tidak jenuh (seperti oleat dan linoleat). Ester kolesterol terbentuk terutama dalam plasma dibawah pengaruh enzim "*lecithin-cholesterol achyl transferase*" yang dilepaskan oleh hati.

Di samping kolesterol yang diabsorpsi setiap hari dari saluran pencernaan lebih dari seperdua dari jumlah kolesterol yang terdapat dalam tubuh diperoleh dengan biosintesis. Sintesis tersebut berlangsung dalam sitoplasma dan sitokrom, dibentuk dari asetil-koenzim A. Proses ini terdiri atas 5 tahap utama, yaitu:

1. Asetil-koenzim A diubah menjadi 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A,
2. HMG-CoA diubah menjadi mevalonat
3. Mevalonat diubah menjadi molekul dengan struktur seperti isopren, isopentil pirofosfat (IPP), bersamaan dengan pelepasan  $\text{CO}_2$ ,
4. IPP diubah menjadi skualen,
5. Skualen diubah menjadi kolesterol.

Faktor-faktor yang mempengaruhi konsentrasi kolesterol plasma adalah:

1. Kenaikan jumlah kolesterol yang dicerna tiap hari sedikit meningkatkan konsentrasi plasma, karena bila kolesterol naik maka konsentrasi kolesterol akan menghambat salah satu enzim penting untuk pembentukan kolesterol endogen, dengan demikian menimbulkan sistem pengaturan umpan balik intrinsik untuk mengatur konsentrasi kolesterol plasma biasanya tidak berubah lebih dari 15%.
2. Diet lemak jenuh meningkatkan konsentrasi kolesterol darah sebesar 15-25% akibat peningkatan penimbunan lemak dalam hati yang meningkatkan jumlah asetil-koenzim A dalam sel hati untuk menghasilkan kolesterol.
3. Pencernaan lemak yang menjadi asam lemak tidak jenuh yang tinggi biasanya menekan larutan kolesterol darah cukup banyak.
4. Kekurangan hormon tiroid meningkatkan konsentrasi kolesterol darah, dan sebaliknya. Pengaruh ini diduga berkaitan dengan peningkatan metabolisme semua zat lemak yang dipengaruhi oleh tirosin.
5. Kolesterol darah sangat meningkat pada diabetes mellitus yang diduga akibat peningkatan umum metabolisme lemak pada keadaan ini.



6. Hormon estrogen menurunkan kolesterol darah, sedangkan endrogen meningkatkan kolesterol. Sayangnya mekanisme pengaruh ini tidak diketahui.

Agar dapat diangkut dalam sistem sirkulasi, maka susunan molekul kolesterol perlu dimodifikasi dalam bentuk komponen lipoprotein. Tiap komponen yang terbentuk memiliki inti yang menjadi inti trigliserida dan ester-ester kolesterol serat dikelilingi oleh fosfolipid, kolesterol non-ester dan apolipoprotein yang bersifat polar pada permukaan sehingga menyebabkan molekul tersebut dapat larut dalam air.

Dua jalur pengangkutan kolesterol dalam darah adalah:

a. Jalur Eksogen

Trigliserida dan kolesterol dari makanan yang diserap dari usus diangkut oleh kilomikron. Kilomikron akan diangkut dalam saluran limfe lalu ke dalam darah via duktus torasikus. Di dalam jaringan lemak trigliserida dalam kilomikron akan mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase pada permukaan sel endotel sehingga akan dihasilkan asam lemak dan kilomikron remnan. Asam lemak bebas akan menembus endotel dan masuk ke dalam jaringan lemak atau sel otot untuk diubah menjadi trigliserida atau dioksidasi menjadi sumber energi.

b. Jalur Endogen

Trigliserida dan kolesterol yang disintesis oleh hati diangkut secara endogen dalam bentuk VLDL kaya trigliserida. Proses ini diawali dengan sekresi partikel lipoprotein yang dibentuk oleh hati. Modifikasi pembentukan VLDL

(melalui transfer apolipoprotein) menghasilkan VLDL yang sebagian besar terdiri dari trigliserida yang disintesis dalam hati dan sejumlah kecil ester kolesterol. Selama perjalannya melalui darah, VLDL akan mengekstraksi trigliserida dan melepaskan apolipoprotein dan akhirnya membentuk LDL. LDL sebagian besar terdiri dari ester kolesterol yang dikelilingi oleh apoprotein permukaan yaitu apoprotein B. LDL akan mengalami sirkulasi dengan waktu paruh sekitar 2-5 hari sebelum dihilangkan dari sirkulasi melalui pengikatan pada reseptor LDL dalam hati dan jaringan lain untuk digunakan dalam sintesis membran steroid.

### **III.3.1 Kaitan Hiperkolesterolemia dengan Aterosklerosis (31, 32)**

Aterosklerosis ditandai oleh penumpukan ester kolesterol dan lipid lain dalam dinding arteri, terutama pembuluh yang mengalirkan dari jantung sehingga terjadi penyempitan lumen pembuluh dan membatasi aliran darah serta elastisitas pembuluh darah.

Terjadinya aterosklerosis diawali dengan adanya luka pada permukaan dinding pembuluh arteri koroner yang mungkin disebabkan oleh infeksi, iritasi, iskemia, trauma, gesekan tekanan darah pada hipertensi dan sebagainya. Luka tersebut menahan elemen-elemen kolesterol tertentu yang mengambang dalam darah dan membentuk jaringan fibrosa, kemudian terjadi depot kalsium sehingga timbul benjolan yang tidak rata pada permukaan sebelah dalam dinding pembuluh koroner yang disebut ateroma. Kolesterol melekat lapis demi lapis, lambat laun ateroma akan makin menebal

dan mempersempit lumen pembuluh darah koroner sehingga aliran darah menjadi tidak lancar. Otot jantung membutuhkan oksigen agar dapat berfungsi dan oksigen ini dipasok oleh arteri koroner. Jika salah satu cabang arteri tersumbat karena terjadinya aterosklerosis maka bagian dari otot jantung yang biasa dipasok oleh arteri tersebut akan rusak. Peristiwa lain yang terjadi adalah metabolisme dalam sel otot jantung sepenuhnya membutuhkan oksigen, sehingga jika terjadi metabolisme anaerob maka asam laktat akan makin menumpuk dan menimbulkan rasa nyeri hebat di balik tulang dada yang dikenal sebagai serangan jantung.

### III.3.2 Faktor Resiko Aterosklerosis (32, 33)

Faktor resiko adalah semua faktor yang dapat mendorong peningkatan terbentuknya aterosklerosis atau disebut juga *aterogenik faktor*.

Menurut Harrison's (1987), faktor resiko dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

#### 1. *Nonreversible*

- Umur
- Jenis kelamin
- Keturunan, hiperkolesterolemia dapat merupakan faktor genetik.

## 2. Reversible

- Perokok, dari seluruh faktor resiko merokok merupakan peringkat pertama dalam urutan terjadinya pembentukan aterosklerosis
- Tekanan darah tinggi
- Kegemukan

## 3. Potensial atau *Partial-reversible*

- Hiperlipidemia, kenaikan kadar lipid dalam darah dalam hal ini termasuk juga kolesterol dan jenis lemak lainnya.
- Hiperglikemia dan penyakit gula
- Kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) rendah, penurunan kadar HDL menyebabkan kolesterol akan meningkat di dalam darah.

## 4. Faktor lain:

- Kurang bergerak. Berolahraga secara teratur mengurangi kemungkinan aterosklerosis.
- Emosional stres dan *type personality*

### III.4 Penentuan Kadar Kolesterol Total Darah (34, 35)

Reaksi warna dari kolesterol pertama kali dikemukakan oleh Lieberman pada tahun 1385. Empat tahun kemudian, Burchard melaporkan bahwa warna biru hijau yang lebih intensif dihasilkan bila asam asetat anhidrat dan asam sulfat ditambahkan ke dalam larutan kolesterol dalam kloroform.

Sejak saat itu, reaksi Lieberman-Burchard ini digunakan secara luas sebagai reaksi kolorimetri untuk penentuan kadar kolesterol dalam cairan biologis.

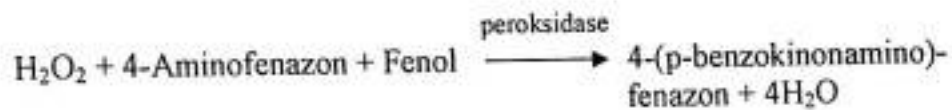
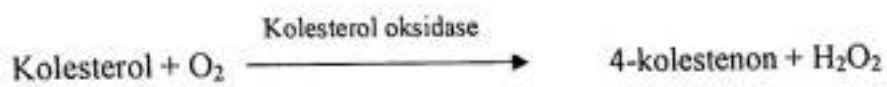
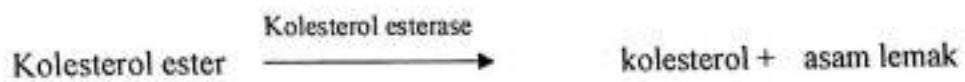
Pengukuran kadar kolesterol total meliputi pengukuran bentuk ester dan bentuk bebasnya. Dua pertiga dari total kolesterol yang ada dalam darah terdapat dalam bentuk ester dan selebihnya dalam bentuk bebas. Hal ini mempunyai pengaruh dalam analisis karena dalam beberapa reaksi kimia, warna yang terbentuk dengan ester kolesterol mempunyai intensitas yang lebih besar dibandingkan kolesterol bebas.

Metode klasik Lieberman-Burchard untuk pengukuran kadar kolesterol dilakukan dengan mengekstraksi kolesterol dengan kloroform dingin kemudian ditambahkan asetat anhidrat, asam asetat dan asam sulfat pekat, menghasilkan kompleks yang berwarna hijau. Metode klasik ini memakan banyak waktu dan mengandung resiko yang tinggi, karena reagen asam kuat yang digunakan mengharuskan agar pengerjaan dilakukan dengan hati-hati, kekurangan lain dari metode ini adalah kolesterol ester dan kolesterol bebas tidak menghasilkan intensitas warna yang sama.

Saat ini metode enzimatik telah digunakan secara luas dan merupakan metode yang paling populer untuk analisis kolesterol. Metode ini dilakukan dalam tiga tahap reaksi enzimatik. Tahap pertama adalah hidrolisis kolesterol ester oleh enzim kolesterol esterase menghasilkan kolesterol bebas. Tahap kedua adalah oksidasi kolesterol (baik kolesterol yang terdapat dalam serum maupun yang dihasilkan dari tahap pertama) oleh enzim kolesterol oksidase, menghasilkan hidrogen peroksida. Tahap ketiga memanfaatkan kemampuan

hidrogen peroksida untuk mengoksidasi senyawa dengan bantuan enzim peroksidase menghasilkan senyawa berwarna yang dapat diukur secara fotometri.

Reaksinya dapat dituliskan sebagai berikut:





11111

# BAB IV PELAKSANAAN PENELITIAN

- Tujuan Penelitian
- Manfaat Penelitian
- Ruang Lingkup Penelitian
- Batasan Penelitian
- Definisi Operasional
- Metode Penelitian
- Teknik Pengumpulan Data
- Instrumen Penelitian
- Uji Validasi Instrumen
- Uji Reliabilitas Instrumen
- Uji Coba Instrumen
- Uji Coba Skala Kecil
- Uji Coba Skala Besar

- Analisis Data
- Penyajian Data
- Kesimpulan
- Saran

**BAB IV**  
**PELAKSANAAN PENELITIAN**

**IV.1 Alat dan Bahan**

**IV.1.1 Alat-alat yang digunakan**

- Batang Pengaduk
- Erlenmeyer
- Fotometer 4020
- Gelas kimia
- Gelas ukur Penangas
- Inkubator
- Laminar Air Flow (LAF)
- Lemari Pendingin
- Labu tentukur
- Neraca analitik (Sartorius)
- Oven (Mettler)
- Pipet skala (Pyrex)
- Tabung reaksi
- Spoit
- Timbangan Hewan (Bekel)
- Timbangan Kasar (Ohaus)



### III.1.2 Bahan-bahan yang digunakan

- Kolesterol
- Minyak Kelapa
- Lemak kambing
- Kuning telur itik
- Propil tiourasil
- Biakan murni *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35
- Medium MRS Agar
- Medium starter
- Alkohol 70%
- Air suling
- Betadine Lotion

## IV.2 Penyiapan Alat dan Bahan

### IV.2.1 Sterilisasi alat-alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan deterjen lalu dibilas dengan air suling. Alat-alat gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat logam disterilkan dengan cara dipijarkan menggunakan lampu spiritus.

#### IV.2.2 Pembuatan Medium Peremajaan

Komposisi medium MRS agar sebagai berikut:

- Pepton 10 g
- Ekstrak daging 5 g
- Ekstrak khamir 5 g
- D (+) glukosa 20 g
- Dikalium hidrogenfosfat 2 g
- Tween 80 1 g
- Diamonium hidrogen sitrat 2 g
- Natrium asetat 5 g
- Magnesium sulfat 0,1 g
- Mangan sulfat 0,05 g
- Agar-agar 12 g
- Air suling 1000 ml

pH 6,5

Semua bahan-bahan ditimbang sesuai perhitungan, kemudian dilarutkan dan dihomogenkan. Disterilkan pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit. Sebelum memadat, medium dimiringkan dan dibiarkan hingga dingin

### IV.2.3 Pembuatan Medium Starter

Komposisi medium starter sebagai berikut:

- Ekstrak ragi 5 g
- Laktosa 5 g
- Glukosa 5 g
- $\text{CaCO}_3$  0,2 g
- Air suling 1000 ml

Bahan-bahan yang akan digunakan ditimbang sesuai perhitungan, kemudian dilarutkan dalam air suling dan dihomogenkan. Medium disterilkan pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 2 jam.

## IV.3 Pengambilan dan Penyiapan Bakteri

### IV.3.1 Pengambilan Bakteri

Bakteri *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi dalam bentuk biakan murni.

### IV. 3.2 Peremajaan Bakteri

Bakteri *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 yang berasal dari biakan murni diambil 1 ose lalu diinokulasikan dengan cara menggoreskan pada medium MRS agar miring, kemudian diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam.

### IV.3.3 Pembuatan Starter Susu Fermentasi

Bakteri yang telah diremajakan diambil 5 ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 12,5 ml medium starter, kemudian diinkubasikan pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam.

#### **IV.4 Pembuatan Bahan Penelitian**

##### **IV.4.1 Pembuatan Susu Fermentasi**

Susu sapi segar sebanyak 500 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dipanaskan hingga 85°C dipertahankan selama 10 menit. Selanjutnya susu didinginkan hingga 45°C dan ditambahkan starter sebanyak 2,5%, dihomogenkan. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam hingga terbentuk susu terkoagulasi. Dicek pH susu fermentasi.

##### **IV.4.2 Pembuatan Susu Fermentasi Uji**

Susu fermentasi diambil sebanyak 10 ml dengan pipet skala dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 ml, dicukupkan volumenya dengan air steril hingga tanda batas. Larutan susu fermentasi dihomogenkan dan disimpan dalam lemari pendingin selama pemberian pada hewan uji. Cara tersebut sama untuk pembuatan larutan susu fermentasi dengan konsentrasi 20% dan 30% dengan memipet sebanyak 20 ml dan 30 ml.

##### **IV.5 Penyiapan dan Pemilihan Hewan Uji**

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus rattus*) jantan berbadan sehat dengan aktivitas normal, umur 2-3 bulan dengan berat badan 200-250 gram. Jumlah tikus sebanyak 15 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok perlakuan.

#### IV.6 Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Tikus putih jantan yang akan digunakan dipelihara dalam kandang percobaan untuk menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Sebelum diberi perlakuan, terlebih dahulu dilakukan pengukuran kadar kolesterol total darah awal terhadap semua tikus putih. Pengambilan darah dilakukan setelah tikus putih dipuasakan selama 18 jam tetapi tetap diberikan air minum. Tikus putih kemudian dibagi secara acak dalam kelompok berikut:

##### 1. Kelompok Kontrol

###### a. Kelompok Kontrol Positif

Tikus putih diberi diet kolesterol tinggi dan air minum yang mengandung propil tiourasil 0,01% selama 3 minggu.

###### b. Kelompok Kontrol Negatif

Tikus putih diberi makanan dan air minum biasa selama 3 minggu tanpa pemberian susu fermentasi.

##### 2. Kelompok Perlakuan

Tikus putih diberi kolesterol tinggi dan air minum yang mengandung propil tiourasil 0,01% selama 1 minggu serta diberi susu fermentasi secara oral selama 2 minggu, kemudian diambil contoh darahnya untuk menentukan kadar kolesterolnya. Pembagian kelompok perlakuan adalah sebagai berikut:

###### a. Kelompok I sebagai kelompok perlakuan susu fermentasi dengan konsentrasi 10%/ bobot badan

- b. Kelompok III sebagai kelompok perlakuan susu fermentasi dengan konsentrasi 20%/ bobot badan.
- c. Kelompok II sebagai kelompok perlakuan susu fermentasi dengan dosis 30%/ bobot badan.

Setelah perlakuan di atas, semua kelompok tikus diambil contoh darahnya pada hari ke-8 setelah tikus dibuat hiperkolesterolemia dan hari ke-22 setelah tikus diberi susu fermentasi R-35 untuk menentukan kadar kolesterolnya.

#### **IV.6.1 Peningkatan Kadar Kolesterol Darah Hewan Uji**

Makanan untuk meningkatkan kadar kolesterol tikus mengandung kolesterol 1%, kuning telur 5%, lemak kambing 10%, minyak goreng 1%, dan makanan standar hingga 100%. Setiap hari tikus diberi campuran makanan tersebut sebanyak 15 g tiap ekor.

#### **IV.6.2 Pembuatan Makanan Diet Kolesterol Tinggi**

Ditimbang sejumlah tertentu kolesterol, kuning telur, lemak kambing, minyak kelapa, dan makanan unggas. Makanan unggas dimasukkan ke dalam minyak kelapa sambil diaduk hingga homogen. Campuran ini kemudian ditambah dengan kolesterol sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga homogen. Ke dalam campuran tersebut berturut-turut ditambahkan kuning telur dan lemak kambing sambil diaduk hingga homogen.

#### IV.7 Pengambilan Contoh Darah Hewan Uji

Contoh darah tikus putih diambil dengan memotong ujung ekor kira-kira 5 mm. Darah yang keluar dibiarkan menetes sendiri hingga diperoleh kira-kira 1 ml dan ditampung dalam tabung reaksi.

#### IV.8 Penentuan Kadar Kolesterol Darah

Contoh darah yang diperoleh disentrifus dengan kecepatan 3000 putaran/menit selama 10 menit. Cairan bagian atas merupakan serum darah dipipet sebanyak 10  $\mu$ l, lalu ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi pereaksi kolesterol sebanyak 500 $\mu$ l. Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar kolesterol total darah dengan menggunakan fotometer 4020 pada panjang gelombang 546 nm.

#### IV.9 Pengumpulan Data

Data dikumpulkan dari hasil pengukuran kadar kolesterol total darah awal, kadar kolesterol total darah setelah pemberian diet kolesterol tinggi, air minum yang mengandung propil tiourasil 0,01%, dan terakhir setelah pemberian susu fermentasi.

#### IV.10 Analisa Data

Penelitian ini menggunakan pola percobaan faktorial 5 x 3 dengan dasar RAL (Rancangan Acak Lengkap) dimana faktor pertama (A) adalah konsentrasi yaitu 10% v/v, 20%v/v dan 30%v/v serta faktor kedua (B) adalah perlakuan yaitu pada saat kadar kolesterol darah tikus normal, setelah hiperkolesterolemia dan setelah pemberian susu fermentasi R-35. Jika terdapat perbedaan nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

# BAB V

## HASIL DAN PEMBAHASAN

1. ...
2. ...
3. ...
4. ...
5. ...



## RAR V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### V.I Hasil

Dari hasil pengukuran sebelum awal perlakuan, pada awal minggu kedua dan pada akhir minggu ketiga diperoleh kadar kolesterol total darah tikus sebagai berikut:

1. Kelompok Kontrol Negatif

Kadar rata-rata kolesterol total darah normal 95 mg/dl, 93,33mg/dl pada awal minggu kedua dan 90,67 mg/dl setelah akhir minggu ketiga. Dan prosentase penurunan kadar kolesterol adalah 2,85%.

2. Kelompok Kontrol Positif

Kadar rata-rata kolesterol total darah normal 94,67 mg/dl, 150,67 mg/dl pada awal minggu kedua dan 143,33 mg/dl setelah akhir minggu ketiga. Prosentase penurunan kadar kolesterol darah sebesar 4,78%.

3. Kelompok Perlakuan Susu Fermentasi 10%

Kadar rata-rata kolesterol total darah awal 104 mg/dl, 144 mg/dl pada awal minggu kedua dan 98,33 mg/dl setelah akhir minggu ketiga. Prosentase penurunan kadar kolesterol total darah sebesar 28,23%.

4. Kelompok Perlakuan Susu Fermentasi 20%

Kadar rata-rata kolesterol total darah awal 98,67 mg/dl, 144 mg/dl pada awal minggu kedua, dan 99 mg/dl setelah akhir minggu ketiga. Prosentase penurunan kadar kolesterol total darah sebesar 31,25%.

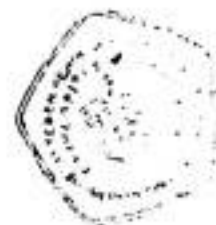
5. Kelompok Perlakuan Susu Fermentasi 30%

Kadar rata-rata kolesterol total darah awal 101,67 mg/dl, 133,33 mg/dl pada awal minggu kedua dan 89 mg/dl setelah minggu ketiga. Prosentase penurunan kolesterol total darah awal sebesar 33,25%.

## V.2 Pembahasan

Bakteri *L. casei* subsp. *casei* R-35 yang diisolasi dari dadih digunakan untuk memproduksi susu fermentasi. Susu fermentasi yang dihasilkan oleh R-35 mempunyai konsistensi dan keasaman mirip yogurt klasik, yaitu berbentuk semi padat serta pH sekitar 4. Tekstur susu fermentasi R-35 sangat lembut sehingga mudah homogen bila dilarutkan. Selama proses fermentasi banyak sekali asam laktat dan zat-zat seperti mineral dan vitamin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat serta juga asam orotik yang diduga mampu berperan sebagai zat antikolesterol.

Dalam penelitian ini digunakan hewan uji tikus putih jantan. Dasar pemilihan hewan uji ini karena tikus sering digunakan dalam penelitian tentang obat-obat hipokolesterolemik dan waktu untuk meningkatkan kadar kolesterol relatif singkat. Penggunaan tikus putih jantan sangat penting untuk keakuratan data sebab pada tikus betina kadar kolesterolnya mudah dipengaruhi oleh hormon sehingga kadarnya tidak tetap. Biasanya tikus kurang responsif terhadap penambahan diet kolesterol saja, sehingga dengan pemberian propil tiourasil dalam air minum dapat meningkatkan kadar kolesterol. Propil tiourasil merupakan antagonis tiroid yang berperan untuk meningkatkan kolesterol secara endogen.



Hasil penelitian menunjukkan penurunan kadar kolesterol darah tikus untuk kelima kelompok perlakuan baik kelompok kontrol maupun kelompok pemberian susu fermentasi R-35. Pada kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan diet kolesterol mengalami penurunan 2,85%, sedangkan kontrol positif yang dibuat hiperkolesterolemia mengalami penurunan kadar kolesterol sebesar 4,87%. Dimana baik kontrol negatif dan kontrol positif tidak diberikan susu fermentasi R-35, hal ini dilakukan untuk mengetahui apakah penurunan kolesterol dapat disebabkan oleh faktor lain yaitu misalnya pada tikus terjadi peningkatan penggunaan energi cadangan dalam tubuh sehingga mempengaruhi kadar kolesterol darah atau dapat juga disebabkan oleh emosional stres yang dialami tikus selama dalam perlakuan. Pada kelompok kontrol, penurunan kolesterol darah tikus pada kelompok perlakuan terjadi karena pemberian susu fermentasi R-35 dan juga karena faktor yang sama dengan kelompok kontrol. Hal ini dapat dilihat pada prosentase penurunan kadar kolesterol darah tikus untuk perlakuan susu fermentasi 10% sebesar 28,23%, perlakuan pemberian susu fermentasi R-35 20% sebesar 31,25%, dan perlakuan susu fermentasi 30% sebesar 33,25%. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa susu fermentasi R-35 dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30% dapat menurunkan kadar kolesterol darah tikus mendekati kadar normal. Dan penurunan kolesterol terbesar terjadi pada susu fermentasi R-35 dengan konsentrasi 30%. Dengan besarnya penurunan kolesterol yang disebabkan oleh susu fermentasi R-35 maka diasumsikan bahwa dengan pemberian susu fermentasi R-35 dapat menurunkan kadar kolesterol darah hingga mendekati kadar kolesterol darah normal. Pendapat Lars Heslet (1997), bahwa



penurunan kadar kolesterol 23% saja dapat mengurangi resiko aterosklerosis sebesar 30-40%. Pada susu fermentasi dengan konsentrasi 10% dapat menurunkan kolesterol sebesar 28,23% jadi dapat mengurangi faktor aterosklerosis sebanyak 3,7%.

Susu fermentasi R-35 yang diberikan pada tikus putih mengandung asam laktat dan zat-zat antikolesterol yang diduga efeknya menghambat enzim biosintesis kolesterol di hati yaitu pada hidroksi-metilglutaril-koenzim A reduktase sehingga kenaikan kadar kolesterol darah yang disebabkan oleh pemberian diet kolesterol tinggi dan air minum yang mengandung propil tiourasil dapat ditekan, hal ini sesuai dengan pendapat Ahmed (1979), bahwa zat antikolesterol yaitu asam orotik yang ada dalam susu fermentasi mampu menurunkan kadar kolesterol darah.

Hasil analisa sidik ragam penurunan kadar kolesterol darah tikus putih menunjukkan bahwa perlakuan sebelum hiperkolesterolemia (normal), setelah hiperkolesterolemia dan setelah pemberian susu fermentasi memberikan hasil yang berpengaruh sangat nyata terhadap penurunan kadar kolesterol darah artinya pemberian susu fermentasi selama 2 minggu dapat menurunkan kadar kolesterol darah untuk semua konsentrasi dan terdapat interaksi yang berpengaruh sangat nyata antara konsentrasi dengan perlakuan. Pemberian susu fermentasi R-35 yang konsentrasinya semakin tinggi, kadar zat-zat yang dikandung oleh susu fermentasi juga semakin besar. Hal ini berpengaruh pada penurunan kadar kolesterol darah tikus, dimana seiring dengan peningkatan konsentrasi susu fermentasi R-35 disertai pula dengan penurunan kolesterol yang semakin besar.

Selain itu konsumsi susu fermentasi secara teratur dan dalam jangka waktu yang lama diyakini dapat mengurangi faktor resiko aterosklerosis, hal ini sesuai dengan pendapat Dr. Manfred Koger dari University of Pennsylvania, susu fermentasi dapat memelihara kesehatan jantung jika diminum dengan teratur.

Berdasarkan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terlihat pada awal minggu semua kelompok perlakuan tidak berbeda nyata. Hal ini berarti bahwa bobot semua tikus yang digunakan cukup seragam dan menunjukkan kadar kolesterol normal. Pada awal minggu kedua (setelah tikus dibuat hiperkolesterolemia) antara kelompok kontrol negatif dengan semua kelompok perlakuan lainnya berbeda sangat nyata. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian diet kolesterol tinggi dan air minum yang mengandung propil tiourasil 0,01% mampu meningkatkan kadar kolesterol darah tikus, dimana dengan pemberian kolesterol tinggi menyebabkan peningkatan absorpsi kolesterol dalam usus sedangkan pemberian propil tiourasil meningkatkan kolesterol melalui sintesis di hati (Tuner, 1996). Pada perlakuan kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan yang diberi susu fermentasi R-35 menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata, hal ini menunjukkan bahwa peningkatan kadar kolesterol pada kelompok positif dan kelompok perlakuan yang diberi susu fermentasi R-35 hampir sama. Pada akhir minggu ketiga (setelah pemberian susu fermentasi) kelompok perlakuan susu fermentasi R-35 menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata dengan kelompok kontrol positif. Hal ini berarti bahwa susu fermentasi R-35 dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30% mempunyai efek terhadap kadar kolesterol darah tikus. Walaupun susu fermentasi R-35 telah

diencerkan menjadi beberapa konsentrasi tetapi perbedaan penurunan kolesterol pada tiga konsentrasi tersebut tidak jauh berbeda. Setelah akhir minggu ketiga, kondisi kadar kolesterol total darah semua perlakuan berbeda nyata dengan kondisi kadar kolesterol pada awal minggu kedua, ini menunjukkan bahwa susu fermentasi R-35 mempunyai efek hipokolesterolemik dan mampu menurunkan kadar kolesterol yang mengalami hiperkolesterolemia menjadi normal kembali.

**BAB VI**  
**KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Susu yang difermentasikan dengan bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 setelah diuji pada tikus ternyata memiliki efek hipokolesterolemik.
2. Efek hipokolesterolemik susu fermentasi R-35 pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30% secara statistik sama efeknya.
3. Penurunan kadar kolesterol total darah terbesar yang disebabkan oleh pemberian susu fermentasi R-35 adalah pada konsentrasi 30%.

#### VI.2 Saran

Dengan melihat efek susu fermentasi R-35 terhadap kadar kolesterol darah tikus maka disarankan untuk melanjutkan penelitian tentang:

1. Kadar ratio HDL/LDL darah.
2. Penelitian tentang pengaruh konsentrasi susu fermentasi R-35 di atas 30% v/v.



## DAFTAR PUSTAKA

1. Barr, D.P., A.M Russ, and H.A Eder, (1951), *Protein-Lipid Relationship In Human Plasma*, In *Atherosclerosis And Related Condition*, American Journal Medication II; 480 – 493.
2. Khomsan. A., (1999), *Kolesterol*, The World Of Tropicana Slim, Volume 25, 10 – 23.
3. Tan, (1990), *Obat-Obat Penting Dan Khasiatnya*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
4. Suckling, K.E., et al, (1991), *Cholesterol Lowering And Bile Acid Excretion In The Hamster With Cholestyramin Treatment*, *Atherosclerosis* 89: 183 – 190.
5. Martin, D.W., et al, (1981), *Cholesterol Mechanism*, In *Harper's Review Of Biochemistry*, Lange Medical Publication, 241 – 242.
6. Erkelen, S.D.W., M.G.A Baggen, J.J Van doormeal, et al, (1988), *Clinical Experience With Simvastatin Compared With Cholestyramine*, *Drugs* 39: 87 – 90.
7. Mann, G.V., (1977), *A Factor In Yogurt Which Lowers Cholesteramia In Man* *Atherosclerosis* 26: 335 – 340.
8. Rao, D.R., C.B. Chawan, S.R. Pulusani, (1981), *Influence Of Milk And Thermophilus Milk On Plasma Cholesterol Levels And Hepatic Cholesterologenesis In Rats*, *Journal Food Science* 46 : 1339 – 1341.
9. Rodhas, B.Z., S.E., Gilliland C.V. Maxwell, (1996), *Hypocholesterolemic Action Of Lactobacillus Acidophilus Atcc 43121 And Calsium In Swine With Hypercholesterolemic Induced By Diet*, *Journal Dairy Science* 79: 2121 – 2128.
10. Mufidah, (2000), *Pengikatan Kolesterol Oleh Beberapa Strain Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Dadih*, Tesis Magister, Program Pasca Sarjana, Universitas Hasanuddin, 37.
11. Dwijoseputro, D., (1990), *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Penerbit Djambatan, Malang, Surabaya.
12. Bacto Laboratory, (1997), *The Bacto Of Culture Medium Ingridients Other Laboratory Service*, Third Edition.

13. Dwyana, Z., (2000), *Teknik Dasar Bioindustri*, Kursus Singkat Teknik Dasar Pemanfaatan Mikroorganisme Dalam Industri Bagi Staf Akademik PTN-INTIM, 26.
14. Kelompok Kerja Ilmiah Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica (1993), *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia Dan Pengujian Klinik*, Yayasan Pengembangan Obat Alam Phyto Medica, 37 – 39.
15. Turner, R.A., (1996), *Screening Methodes In Pharmacology*, Academi Press, London, 259 – 261.
16. Malole, M.B.M, C.S.V. Pramono, (1981), *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan Di Laboratorium*, 67 – 72.
17. Wood, B.J.B., (1995), *Microbiology Of Fermented Food*, Volume I, Elsevier Applied Science Publiser, London And New York, 167 – 173.
18. National Dairy Council, (1991), *The History Of Yogurt*, <http://www.milk.co.uk>.
19. Hosono, A., et al, (1978), *Microbial Flora In 'Dadih', A Tradisional Fermented Milk In Indonesia*, *J. Lebensm\_wiss.u\_tehcnol* 22: 20 – 24.
20. Bukle, K.A., et al, (1978), *Food Science*, Australian Vice Chancellor Comitte Press Pty, Brisbane.
21. Rahman, A., (1992), *Teknologi Fermentasi*, Editor Rianti Bhaktiyani, Penerbit Arcan, Jakarta.
22. Danone World, (1999), *Major Roles Of Lab In Fermentation Of Milk*, <http://www.danonenewsletter.com.fr.eng/news2/titre3html>.
23. Rahayu, K., (1998), *Bahan Pengajaran Mikrobiologi Pangan Dan Gizi UGM*, Yogyakarta, 95 -100.
24. Nahaisi, M.H. (1986), *Lactobacillus acidiphillus: Therapeutic Propertis, Product And Enumeration In Development In Food Microbiology*, Edited By Robinson R.K., Elsevier Applied Science Publisher, London, New York, 154 – 176.
25. Hosono, A., F. Tokita, (1982), *Utilization Of Milk And Nepal Culture Symposium*, Nepal 9: 1 – 7.
26. Linder, M.C., (1976), *Biokimia Nutrisi Dan Metabolisme*, Penerjemah Aminuddin Parakassi, Penerbit Ui Press, Jakarta, 163.
27. Danones World, (2000), *Some Characteristic Of L. casei*, <http://www.danonesnewsletter.com.eng/news5/titre5html>.

28. Usman and A. Hosono, (1999), *Bile Tolerance And Cholesterol Reduction By Enterococcus Faecium, A Candidat Microorganism For The Use Of A Dietary Adjunct In Milk Product.*, *Milchwissensghft* 51 (7): 383 – 385.
29. Guyton, A.C., (1994), *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Bagian II, Edisi 7, Diterjemahkan Oleh Tenjadi K.A., dkk., Penerbit Buku Kedokteran EGC, 142 – 154.
30. Mayes, P.A., (1995), *Sintesis, Pengangkutan Dan Ekskresi Kolesterol*, Edisi ke-22, Editor Ronardy D.H., Penerjemah Hartono A., Penerbit Buku Kedokteran EGC, jakarta, 302 – 303.
31. Speight, T.M., (1987), *Avery's Drugs Treatment. Principles And Practice Of Clinical Pharmacological And Therapeutics*, Third Edition, ANS Press, Auckland, 594 – 597.
32. Suyatna, F.D., T. Handoko, (1995), *Hipolipidemik Dalam Farmakologi Dan Terapi*, Edisi 4, Editor Ganiswara, S.G., dkk, Bagian Farmakologi UI, Jakarta, 364 – 379.
33. Sitepoe, M., (1993), *Kolesterol Fobia, Keterkaitannya Dengan Penyakit Jantung*, PT. Gramedia, Jakarta.
34. Pesce, A.J., L.A. Kaplan, (1987), *Methodes In Clinical Chemistry*, the CV Mosby Company, Washington D.C., 1156, 1160, 1164.
35. Anderson, S.C., S. Cockayne, (1993), *Clinical Concepts And Aplications*, WB. Soudey Company, Philadelphia, 173, 174.