



UJI IN VITRO PENURUNAN KADAR KOLESTEROL OLEH
SARI KEDELAI HASIL FERMENTASI *Lactobacillus casei* subsp.
casei R-35 DAN *Streptococcus thermophilus* (SOYGHURT) PADA
BEBERAPA WAKTU INKUBASI

MUHARRAMAH SHAHIBU

H 511 97 026

PERPUSTAKAAN PUSAT UNIV. HASANUDDIN	
Tgl. Terima	08-01-03
Asal/Dari	Fak MIPA
Banyaknya	1 (Sampel) 20P
Harga	Hediah
No. Inventaris	03/01/08/007
Tgl. P. 11/03	



JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2002



SKRIPSI

OLEH :
MUHARRAMAH SHAHIBU
H511 97 026



JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2002



**UJI IN VITRO PENURUNAN KADAR KOLESTEROL OLEH
SARI KEDELAI HASIL FERMENTASI *Lactobacillus casei* subsp.
casei R-35 DAN *Streptococcus thermophilus* (SOYGHURT) PADA
BEBERAPA WAKTU INKUBASI**

OLEH :
MUHARRAMAH SHAHIBU
H511 97 026

**Skripsi untuk melengkapi tugas dan memenuhi
syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2002**



**UJI IN VITRO PENURUNAN KADAR KOLESTEROL OLEH SARI
KEDELAI HASIL FERMENTASI *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35
DAN *Streptococcus thermophilus* (SOYGHURT) PADA BEBERAPA
WAKTU INKURASI**

MUHARRAMAH SHAHIBU

H 511 97 026

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama

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

Pembimbing Pertama

(Dr. Elly Wahyudin, DEA)
NIP. 130 580 783

Pembimbing Kedua

(Dra. Sartini, M.Si)
NIP. 131 696 792

Pada tanggal 15 Agustus 2002

UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah mencurahkan rahmat, hidayah dan karunia-Nya sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir (Skripsi) sebagai prasyarat untuk menyelesaikan studi di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak sedikit rintangan dan hambatan yang dihadapi, namun dengan segala usaha dan bantuan dari berbagai pihak skripsi dapat terselesaikan. Oleh karena itu pada kesempatan ini, perkenankanlah penulis untuk menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada :

- Bapak Drs. M. Natsir Djide, MS selaku Pembimbing Utama,
- Ibu Dr. Elly Wahyudin, DEA selaku Pembimbing Pertama dan
- Ibu Dra. Sartini, MSi selaku Pembimbing Kedua

yang dengan ikhlas telah meluangkan waktu untuk memberikan pikiran, tenaga, saran dan nasehat kepada penulis dalam penyelesaian skripsi ini.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada :

1. Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
2. Bapak Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
3. Bapak/Ibu pimpinan Laboratorium di lingkungan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam khususnya jurusan Farmasi.



4. Bapak /Ibu Dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam khususnya jurusan Farmasi.
5. Seluruh staf dan karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam khususnya jurusan Farmasi.
6. Rekan-rekan mahasiswa jurusan farmasi FMIPA khususnya angkatan 97.
yang telah memberikan bantuannya selama penulis menuntut ilmu di Universitas Hasanuddin utamanya dalam penyelesaian tugas akhir ini.

Rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada ayahanda Drs. Shahibu Muhsin dan ibunda Lael Akbar atas cinta, kasih sayang dan do'anya yang senantiasa mengiringi perjalanan penulis. Untuk saudara-saudaraku, Moes, Adhie, Dhia, Nunung dan Oemi yang telah membuat hari-hariku ceria dan kepada temanku Kak Ughie, Eka, Aswad, Ale*, Endhah, Uci, dan khususnya Linching yang telah bersamaku melewati suka dan duka, terima kasih atas segala bantuannya selama ini.

Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya bagi kita semua dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan Ilmu Pengetahuan di masa mendatang.

Makassar, Juli 2002

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang penurunan kadar kolesterol oleh *soyghurt* sebagai hasil fermentasi *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 secara *in vitro* pada beberapa variasi waktu inkubasi dengan tujuan untuk menentukan waktu inkubasi yang memberikan kemampuan penurunan kadar kolesterol yang paling tinggi. Penelitian ini menggunakan lima waktu inkubasi yang berbeda yaitu 0, 30, 60, 120 dan 240 menit. Kemampuan penurunan kadar kolesterol didasarkan pada pengukuran penurunan kadar kolesterol dalam larutan setelah penambahan *soyghurt* menggunakan metode Rudel dan Morris. Serapannya diukur dengan spektrofotometer UV-VIS Hitachi U2000. Dari hasil pengukuran serapan, waktu inkubasi yang paling tinggi ditentukan dengan persamaan linear yang diperoleh dari kurva kolesterol standar. Dari beberapa waktu inkubasi yang diuji memperlihatkan persentase penurunan kadar kolesterol sebagai berikut : pada waktu 0 menit adalah 12,18%, waktu 30 menit adalah 29,45%, waktu 60 menit adalah 36,70%, waktu 120 menit adalah 50,57% dan waktu 240 menit adalah 19,12%. Semua hasil ini memperlihatkan kemampuan penurunan kadar kolesterol yang berbeda nyata. Kesimpulan dari penelitian ini adalah waktu inkubasi yang memperlihatkan persentase penurunan kadar kolesterol paling tinggi adalah pada 120 menit yaitu 50,57%.

ABSTRACT

In vitro test about reduction cholesterol level by *soyghurt* as the fermentate product of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 at some variation of incubation times have investigated. The purpose of this investigation is to find out which incubation time that can give the highest ability in reducing cholesterol level. This investigation used five different incubation times, they were 0, 30, 60, 120 and 240 minutes. The ability of reduction cholesterol level were based on the measurement of reduction cholesterol level in solution after addition *soyghurt* by using Ruddel and Morris method. The absorption of cholesterol measured by using UV-VIS Spectrophotometer. With the absorbent value, the highest incubation time was determined by linear equation that obtained from cholesterol standard curve. From all incubation times that were tested showed the percentage of reduction cholesterol level as followed : at 0 minutes was 12,18%, at 30 minutes was 29,45%, at 60 minutes was 36,70%, at 120 minutes was 50,57% and at 240 minutes was 19,12%. All these result showed abviously different abilities in reducing cholesterol level. The conclusion of this investigation was the incubation time that showed the highest percentage of reduction cholesterol level was 50,57% at 120 minutes.

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
UCAPAN TERIMA KASIH	ii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II POLA PENELITIAN	4
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	7
III.1 Kolesterol	7
III.2 Pengangkutan kolesterol	8
III.3 Hubungan antara kolesterol dan aterosklerosis	10
III.4 Faktor-faktor pendorong terjadinya aterosklerosis ..	11
III.5 Teknologi fermentasi makanan	14
III.6 Fermentasi asam laktat	15
III.7 Probiotik	16
III.8 Uraian Sari Kedelai	19

III.9 Uraian <i>Soyghurt</i>	21
III.9.1 Metode Pembuatan <i>Soyghurt</i>	22
III.9.2 Manfaat <i>Soyghurt</i> Bagi Kesehatan	23
III.10 Bakteri Asam Laktat	25
III.11 Analisa Kolesterol	29
BAB IV PELAKSANAAN PENELITIAN	31
IV.1 Alat dan bahan	31
IV.1.1 Alat-alat yang digunakan	31
IV.1.2 Bahan-bahan yang digunakan	31
IV.2 Cara Kerja	32
IV.2.1 Penyiapan Alat dan Bahan	32
IV.2.2 Pembuatan Sari Kedelai	32
IV.2.3 Penyiapan Mikroba	33
IV.2.3.1 Pembuatan medium MRS-agar	33
IV.2.3.2 Pembuatan medium starter	34
IV.2.3.3 Peremajaan bakteri	34
IV.2.3.4 Pembuatan kultur bakteri	35
IV.2.4 Pembuatan <i>Soyghurt</i>	35
IV.2.5 Pengujian Penurunan Kadar Kolesterol Secara In Vitro	35
IV.2.6 Pembuatan Kurva Standar	36
IV.2.7 Pengukuran Sampel	37

IV.2.8 Perhitungan Persentase Penurunan Kadar	
Kolesterol	37
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	39
V.1 Hasil Penelitian	39
V.2 Pembahasan	39
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	42
VI.1 Kesimpulan	42
VI.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1	Komposisi susu kedelai dan susu sapi tiap 100 gr	20
2	Persentase penurunan kadar kolesterol	39
3	Hasil perhitungan kurva standar analisa kolesterol menggunakan persamaan kurva baku	48
4	Nilai absobansi pengukuran penurunan kadar kolesterol oleh <i>Soyghurt</i> pada beberapa waktu inkubasi	51
5	Perhitungan statistik penurunan kadar kolesterol oleh <i>Soyghurt</i> pada beberapa waktu inkubasi	52
6	Hasil perhitungan persentase penurunan kadar kolesterol ..	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1	Skema Kerja Pembuatan Sari Kedelai	46
2	Skema kerja penentuan persentase penurunan kadar Kolesterol oleh <i>Soyghurt</i> pada beberapa waktu Inkubasi	47
3	Kurva standar analisa kolesterol	49
4	Kurva hubungan antara waktu inkubasi dengan persentase penurunan kadar kolesterol	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Perhitungan statistik	52
2	Contoh perhitungan persentase penurunan kadar Kolesterol	57



BAB I

PENDAHULUAN

Kolesterol adalah suatu lemak yang berwarna kuning berupa seperti lilin yang sangat penting dalam pembentukan membran sel dan merupakan prekursor biosintesa hormon steroid dan asam empedu. Tubuh memerlukan kolesterol untuk memproduksi hormon seks, hormon korteks adrenal, vitramin D dan garam empedu (1).

Kolesterol berasal dari dua sumber yaitu kolesterol yang diproduksi oleh tubuh terutama dalam hati dan kolesterol yang terdapat dalam makanan yang berasal dari hewan seperti daging dan organ sapi, kambing, unggas (ayam, bebek, angsa, kalkun), ikan, makanan laut, susu serta hasil olahannya (2)

Kolesterol merupakan lemak yang sangat penting bagi tubuh tetapi jika berlebihan dapat berdampak negatif yaitu dapat menyebabkan arterosklerosis yang merupakan pemicu timbulnya berbagai penyakit metabolik seperti diabetes mellitus, hipertensi, stroke dan penyakit jantung koroner yang merupakan penyebab kematian utama di negara-negara barat (3).

Untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah dapat digunakan sejumlah obat antikolesterol seperti Inhibitor Reduktase Koenzim Hidroksi Metil Glutaril untuk jenis obat-obat yang termasuk dalam kelompok asam fibrat. Tetapi pemakaian obat-obat antikolesterol sering tidak begitu responsif dan tidak banyak gunanya apabila diet dan latihan jasmani tidak dilakukan secara optimal (3), selain itu efek

samping yang tidak diinginkan dari senyawa tersebut menyebabkan timbulnya kecemasan dalam penggunaannya untuk pengobatan.

Bakteri asam laktat adalah organisme yang memfermentasi gula untuk menghasilkan asam laktat. Telah disarankan bahwa mengkonsumsi bakteri asam laktat dalam jumlah tertentu dapat memberikan keuntungan terhadap manusia. Bakteri asam laktat biasa ditemukan dalam produk susu yang difermentasi seperti yoghurt (4). Beberapa penelitian melaporkan bahwa mengkonsumsi produk fermentasi susu yang mengandung bakteri asam laktat dapat menurunkan kadar kolesterol darah (5). Metode ini lebih alamiah dibandingkan dengan penggunaan obat-obatan dalam menurunkan resiko penyakit jantung koroner.

Kedelai merupakan salah satu sumber makanan yang paling sehat di dunia. Pada oktober 1999, The Food and Drug Administration mengumumkan bahwa kedelai dapat menurunkan kolesterol dan resiko penyakit jantung. Protein dan isoflavonoid yang terdapat pada kacang kedelai di dalam sari kedelai dapat menurunkan 9,3% kolesterol serum, 12,9% LDL-kolesterol serum dan 10,5% trigliserida serum (6).

Untuk itu mengkonsumsi sari kedelai yang difermentasikan dengan bakteri asam laktat mungkin baik untuk terapi penurunan kadar kolesterol sangat ditentukan baik oleh strain bakteri asam laktat yang digunakan maupun masa inkubasinya.

Dari hasil penelitian Mufidah (2000) menunjukkan bahwa bakteri asam laktat strain *Lactobacillus casei* subsp *casei* R-35 yang diisolasi dari fermentasi susu memperlihatkan kemampuan mengikat kolesterol lebih tinggi (7). Dan hasil

penelitian Niluh Made Sulistyawati (2001) menunjukkan bahwa pada waktu inkubasi 60 menit bakteri asam laktat, *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaris* pada yoghurt memiliki kemampuan menurunkan kolesterol paling tinggi (8).

Berdasarkan hasil-hasil penelitian tersebut, maka dianggap perlu untuk melakukan penelitian uji in vitro penurunan kadar kolesterol oleh sari kedelai hasil fermentasi bakteri asam laktat pada beberapa waktu inkubasi, dengan harapan di samping dapat bermanfaat dalam pengobatan hiperkolesterolemia dapat juga sebagai diversifikasi makanan probiotik. Permasalahannya adalah pada waktu inkubasi berapa *soyghurt* memberikan efek penurunan kolesterol yang paling tinggi.

Penelitian ini bermaksud untuk mengetahui kemampuan sari kedelai hasil fermentasi bakteri asam laktat (*soyghurt*) dalam menurunkan kadar kolesterol dengan tujuan untuk menentukan waktu inkubasi yang memberikan kemampuan pengikatan kolesterol yang paling baik dari sari kedelai yang difermentasikan dengan bakteri *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 dan *Streptococcus thermophilus*.

BAB II

POLA PENELITIAN

II.1 Penyiapan Alat dan Bahan

Alat-alat dan bahan-bahan yang akan digunakan disiapkan sesuai kebutuhan.

II.1.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dan disterilkan sesuai dengan petunjuk buku-buku resmi

II.1.2 Pembuatan Sari Kedelai

Dibuat sari kedelai sesuai dengan prosedur pembuatannya.

II.1.3 Pembuatan Medium

Medium MRS agar (Mann-Rogosa dan Sharpe) dibuat sesuai dengan prosedur pembuatan

II.1.4 Pembuatan Starter

Medium starter dibuat sesuai dengan prosedur pembuatannya.

II.2 Pengambilan dan Penyiapan Bahan Penelitian

II.2.1 Pengambilan Bahan penelitian

Bahan penelitian berupa kacang kedelai diperoleh dari pasar Terong Makassar. Bakteri-bakteri yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin dalam bentuk biakan murni.

II.2.2 Peremajaan Bakteri

Bakteri diremajakan dengan menginokulasikannya pada medium MRS Agar miring dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

II.2.3 Pembuatan Kultur Bakteri

Bakteri yang telah diremajakan diinokulasikan pada medium starter dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

II.2.4 Pembuatan *Soyghurt*

Soyghurt dibuat dengan menfermentasikan sari kedelai dengan bakteri asam laktat dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 jam hingga terbentuk gumpalan.

II.3 Pengujian Penurunan Kadar Kolesterol Secara In Vitro

Soyghurt dengan pengikatan kolesterol diinkubasi pada suhu 37°C dengan waktu inkubasi yang bervariasi. Kemudian disentrifus pada kecepatan 4000 rpm selama 5 menit, kolesterol yang terdapat pada supernatan ditentukan berdasarkan Metode Rudel dan Morris.

II.4 Pembuatan Kurva Standar

Kurva standar dibuat sebagai pembanding dengan ug/ml kolesterol sebagai absis dan nilai serapan sebagai ordinat.

II.5 Pengukuran Sampel

Sampel yang telah dibuat diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 553 nm.

II.6 Perhitungan Persentase Penurunan Kadar Kolesterol

Perhitungan ini dilakukan untuk mengetahui waktu yang paling baik untuk menurunkan kadar kolesterol.

II.7 Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis sidik ragam menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Jika terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

II.8 Hasil dan Pembahasan

Pembahasan dilakukan berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian.

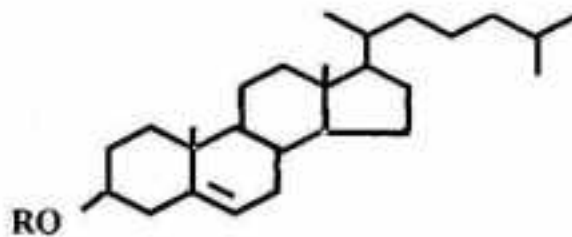
II.9 Pengambilan Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan hasil penelitian, analisis data dan pembahasan yang disesuaikan dengan maksud dan tujuan penelitian.

BAB III TINJAUAN PUSTAKA

III.1 KOLESTEROL

Kolesterol merupakan lemak yang berwarna kuning, bentuknya lembut dan mirip lilin. Kolesterol tersebar luas dalam semua sel tubuh tetapi khususnya dalam jaringan saraf. Kolesterol adalah salah satu sterol yang penting dan terdapat banyak di alam dengan struktur sebagai berikut:



R = H, kolesterol bebas
RO = gugus asam lemak, kolesterol terikat

Kolest-sen-3- β -ol

Gambar 2. Struktur Kolesterol

Kolesterol sangat penting bagi tubuh, terutama untuk memproduksi :

1. Hormon seks (yang sangat penting bagi perkembangan dan fungsi organ seksual).
2. Hormon korteks adrenal (sangat penting bagi metabolisme dan keseimbangan garam di dalam tubuh).

3. Vitamin D (tanpa vitamin D kita tidak bisa menyerap kalsium untuk tubuh kita).
4. Garam empedu (yang membantu usus menyerap lemak).
5. Membentuk dinding sel dan berbagai jaringan tubuh (1).

Kolesterol sebenarnya secara alamiah dibentuk di dalam tubuh, terutama di dalam hati, kira-kira 1.000 miligram (mg) / hari. Kolesterol juga bisa berasal dari makanan hewani seperti daging dan organ sapi, kambing, unggas (ayam, bebek, angsa, kalkun); ikan dan makanan laut lain seperti udang-udangan, kerang dan kepiting; dan susu serta hasil olahannya. Kolesterol tidak terdapat dalam bahan makanan yang berasal dari tumbuhan seperti buah-buahan, sayuran, kacang-kacangan atau minyak tumbuhan seperti minyak kelapa, minyak sawit, minyak jagung dan minyak kedelai (2).

III.2 PENGANGKUTAN KOLESTEROL

Kolesterol agar dapat diangkut dalam sistem sirkulasi, maka susunan molekul kolesterol perlu dimodifikasi dalam bentuk kompleks lipoprotein. Tiap kompleks yang terbentuk memiliki inti yang mengandung trigliserida dan ester-ester kolesterol, serta dikelilingi oleh fosfolipid, kolesterol non-ester dan apolipoprotein yang bersifat polar pada permukaan sehingga menyebabkan molekul tersebut dapat larut dalam air (9).

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 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 perjalanannya 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 dan steroid (9, 10)

III.3 HUBUNGAN ANTARA KOLESTEROL DAN ATEROSKLEROSIS

Aterosklerosis adalah penyakit dari intima arteri, terutama arteri besar yang menimbulkan lesi lemak yang disebut plak ateromatosa pada permukaan dalam arteri (10).

Aterosklerosis ditandai oleh penumpukan ester kolesterol dan lipid lain dalam dinding arteri, terutama pada pembuluh yang mengalirkan darah dari jantung sehingga terjadi penyempitan lumen pembuluh dan membatasi aliran darah serta elastisitas pembuluh darah (11).

Aterosklerosis bukanlah penyakit yang baru dikenal, tetapi sejak dahulu kala sudah diketahui. Pembuluh darah mummy Mesir, lebih dari 3500 tahun yang lalu, ternyata telah mengidap penyakit itu. Otopsi pertama yang dilakukan oleh Long di tahun 1931, menunjukkan adanya tanda-tanda pengapuran pada pembuluh koroner seorang wanita berusia 50 tahun. Kemudian otopsi yang dilakukan oleh Enos pada 200 serdadu yang mati muda dalam perang Korea yang muram itu (Usia mereka rata-rata 22 tahun), ternyata lebih dari 50 % menunjukkan tanda-tanda pengapuran pada pembuluh koronernya, walaupun

mereka tidak mempunyai keluhan sama sekali. Bahkan 2% diantaranya sudah mengalami penyumbatan total (3,11).

Terjadinya aterosklerosis diawali oleh terjadinya luka pada permukaan dinding pembuluh darah arteri, terutama 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 deposit 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 (10, 11).

III.4 FAKTOR-FAKTOR PENDORONG TERJADINYA ATEROSKLEROSIS

Faktor-faktor resiko yang dapat mendorong terjadinya aterosklerosis dapat dibedakan menjadi 2 faktor yaitu faktor endogen dan faktor lingkungan.

1. Faktor Endogen

a. Umur

Seperti kebanyakan penyakit kronik lainnya, kecepatan insiden aterosklerosis meningkat dengan bertambahnya umur.

b. Jenis Kelamin

Dalam hal ini, wanita memiliki faktor resiko yang lebih kecil bila dibandingkan dengan pria.

c. Faktor Keturunan

Kadar lipid dalam darah dan tekanan darah berada dibawah kontrol genetik dan pengaruh lingkungan.

d. Hiperlipidemia

Suatu kelainan yang menunjukkan tingginya kadar kolesterol atau trigliserida atau keduanya dalam darah. Total kolesterol dalam darah dinyatakan merupakan faktor resiko utama terhadap aterosklerosis dibanding umur dan jenis kelamin. Hiperlipidemia mungkin terjadi sebagai manifestasi kedua dari penyakit lain seperti diabetes mellitus dan hipotirodisme.

e. Tekanan Darah Tinggi

Orang dengan tekanan darah rendah memiliki resiko kecil terhadap terjadinya aterosklerosis, baik pada pria maupun wanita untuk semua umur.

f. Kegemukan

Merupakan faktor resiko untuk hipertensi dan diabetes yang akhirnya berpengaruh walaupun tidak langsung terhadap terjadinya aterosklerosis.

g. Tipe Personaliti

Aspek perilaku dan emosi dari seseorang seperti pemarah, tidak pernah puas, tidak sabar, adalah faktor yang mendorong terjadinya faktor resiko.

2. Faktor Lingkungan

a. Kebiasaan Merokok

Studi di Amerika dan Inggris menunjukkan bahwa pria dengan kebiasaan merokok memiliki resiko meninggal lebih besar dengan serangan jantung.

b. Aktifitas Fisik

Suatu hipotesis menyatakan bahwa aktifitas fisik akan meningkatkan konsentrasi HDL sehingga dapat mencegah resiko penyakit jantung, namun hal ini baru sebatas teori saja.

c. Stres

Stres yang berlebihan dapat mengakibatkan terjadinya penyempitan pembuluh darah sehingga meningkatkan faktor resiko (12).

III.5 TEKNOLOGI FERMENTASI

Teknologi fermentasi merupakan ilmu dan teknik terapan yang saat ini berkembang pesat. Teknologi fermentasi menerapkan secara terpadu cabang-cabang ilmu mikrobiologi, biokimia, kimia, keteknikan, biologi molekular dan genetika. Teknologi fermentasi telah membuka lembaran baru dalam upaya manusia untuk memanfaatkan bahan-bahan yang murah harganya bahkan tidak berharga menjadi produk-produk yang bernilai tinggihan berguna bagi kesejahteraan umat manusia. Lebih lanjut lagi kemajuan-kemajuan yang dicapai dibidang teknologi fermentasi telah memungkinkan manusia untuk memproduksi berbagai jenis produk yang tidak dapat atau sulit diproduksi melalui proses kimia (13).

Teknologi fermentasi mempunyai bidang cakupan yang luas, yaitu mulai dari teknik produksi makanan fermentasi, minuman beralkohol, produksi biomassa (inokulum, protein sel tunggal), produksi asam-asam organik, asam-asam amino, enzim, vitamin, antibiotika dan sebagainya sampai pada teknik penanganan limbah (13).

Berbagai jenis makanan dan minuman yang diproduksi melalui proses fermentasi telah lama dikenal dan digemari. Pada dasarnya produk-produk fermentasi makanan dan minuman dapat dikelompokkan menjadi :

1. Produk makanan dengan nilai gizi tinggi,
2. Produk makanan hasil proses fermentasi asam,



3. Produk dimana etanol merupakan hasil utama proses fermentasi, dan
4. Produk fermentasi yang dikonsumsi sebagai saus dan penyedap makanan (13).

III.6 FERMENTASI ASAM LAKTAT

Berbagai jenis makanan produk fermentasi asam telah dikenal sejak manusia mulai mengumpulkan dan berupaya menyimpan makanan. Secara alamiah susu akan segera mengalami proses fermentasi, sehingga dapat dipastikan bahwa susu asam telah merupakan bagian dari menu sehari-hari sejak manusia berupaya memperoleh susu hewan. Asam yang terbentuk akan melindungi susu dari proses pembusukan oleh organisme yang tidak diinginkan (13).

Fermentasi asam masih merupakan salah satu metode paling praktis untuk pengawetan, bahkan fermentasi asam dapat meningkatkan sifat-sifat organoleptik dan mutu gizi sayur-sayuran, biji-bijian dan campuran susu. Daging dan hasil-hasil laut juga dapat diawetkan melalui proses fermentasi asam, jika produk-produk ini dikombinasikan dengan sayur-sayuran, biji-bijian atau susu (13).

Beberapa manfaat dari makanan produk fermentasi asam adalah :

1. Makanan menjadi resisten terhadap mikroba pembusuk dan berkembangnya toksin pada makanan.

2. Kemungkinan makanan sebagai media mikroba patogen berkurang.
3. Makanan menjadi awet.
4. Makanan mengalami perubahan flavour yang digemari dan sering meningkatkan nilai gizinya (13).

III.7 PROBIOTIK

Konsep probiotik telah digunakan sejak tahun 1900-an tetapi baru benar-benar menggelinding setelah Lily dan Sillwel menggunakannya pada tahun 1965. Ketika itu mereka mengartikan istilah probiotik sebagai stimulasi terhadap pertumbuhan suatu mikroba oleh mikroba lain. Dengan kata lain, probiotik merupakan lawan kata antibiotika (14).

Sekarang istilah probiotik berarti suatu preparat yang terdiri dari mikroba hidup, yang dimasukkan ke dalam tubuh manusia atau ternak secara oral. Mikroba hidup itu diharapkan mampu memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan manusia atau ternak dengan cara memperbaiki sifat-sifat yang dimiliki mikroba alami yang tinggal di dalam tubuh manusia yang dimaksud (14).

Mikroba alami yang ada dalam saluran pencernaan mempunyai peran yang sangat penting bagi kesehatan dan kebugaran tubuh seseorang. Karena alasan itu, teknik probiotik diterapkan untuk meningkatkan kesehatan saluran pencernaan serta imunitas tubuh (14).

Bakteri-bakteri yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh adalah bakteri yang melakukan peranan yang sangat berguna dalam aspek gizi dan pencegahan penyakit. Mereka mampu memproduksi zat gizi esensial seperti vitamin dan asam organik yang kemudian diserap dari usus, dimanfaatkan oleh epitelium dinding usus dan organ vital tubuh lainnya, seperti hati. Asam organik yang diproduksi mereka mampu memiliki kemampuan menekan pertumbuhan kuman patogen dalam usus, diantaranya dengan cara menurunkan pH isi usus (14).

Untuk menjaga kesehatan seseorang, perlu selalu dijaga keseimbangan flora usus. Jika terjadi ketidakseimbangan perlu dikembalikan pada keadaan normal yaitu melalui terapi bakteri secara oral (Oral bakterio-therapy) atau melalui menu seimbang (14).

Teknik terapi bakteri oral biasanya menggunakan strain bakteri usus dari bakteri asam laktat, seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria*. Kedua jenis mikroba itu dapat memulihkan kembali keseimbangan flora usus hingga mencapai kondisi normal, serta menghasilkan pengaruh yang menguntungkan (14).

Berbagai keuntungan yang dapat diperoleh melalui terapi bakteri oral antara lain penurunan atau penekanan proses pembusukan dalam usus, sehingga mencegah terjadinya konstipasi dan penyakit penuaan, pencegahan dan pengobatan diare, termasuk diare yang ada kaitannya dengan antibiotik,

menstimulasi sistem imunitas tubuh, dan meningkatkan ketahanan tubuh terhadap infeksi (14).

Pada waktu-waktu awal, perkembangan probiotik dimulai dengan menggunakan strain yang biasa digunakan dalam proses fermentasi susu untuk konsumsi manusia. Kemudian baru disadari bahwa akan lebih baik dan lebih tepat bila bakteri yang digunakan dipilih dari strain bakteri yang secara alamiberasal dan berdomisili dalam usus manusia. Artinya selain bakteri asam laktat dapat pula digunakan strain bakteri usus lainnya baik secara individu maupun kombinasi dari beberapa strain (14).

Di negara maju telah dikembangkan suatu pedoman yang memuat kriteria yang ketat dalam seleksi pemilihan agar mendapatkan strain yang aman dan memiliki fungsi probiotik yang tepat. Pilihan selalu jatuh pada bakteri asam laktat (14).

Alasan menggunakan bakteri asam laktat karena jenis bakteri itu jarang sekali bersifat patogen. Secara tradisional bakteri asam laktat yang banyak digunakan adalah *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria*. Sekarang semakin banyak perhatian para ilmuwan diarahkan untuk menggunakan mikroba lainnya. Beberapa mikroba yang telah banyak diteliti dan digunakan dalam probiotik diantaranya adalah *Lactobacillus casei* (14).

III.8 URAIAN SARI KEDELAI

Sari kedelai adalah salah satu hasil olahan kedelai yang dihasilkan dengan cara mengekstraksi kedelai kemudian diencerkan sampai mempunyai penampakan yang mirip susu sapi, sehingga juga dikenal sebagai susu kedelai. Kacang kedelai yang dikenal sekarang termasuk famili Leguminosae, sub famili Papilionidae, genus *Glycine* dan spesies *max*, sehingga nama latinnya dikenal sebagai *Glycine max* (15).

Kedelai dalam pemanfaatannya digunakan selain untuk mencukupi kebutuhan protein juga digunakan sebagai pengganti/substituen protein hewani bagi penderita gangguan ginjal yang dianjurkan mengikuti diet rendah protein. Hasil penelitian menyebutkan efek perlindungan kedelai terhadap ginjal berkaitan dengan komposisi asam amino protein kedelai, kandungan isoflavon genistein dan daidzein, kemampuan untuk menurunkan kadar lemak dan sifatnya sebagai antioksidan. Dari hasil penelitian bahwa kedelai juga bermanfaat untuk menurunkan kadar kolesterol, menurunkan resiko kanker payudara atau *prostat* dan membantu memperingan gejala *post menopause* (16, 17, 18).

Susu (sari) kedelai mempunyai nilai gizi yang hampir sama dengan susu sapi, oleh karena itu susu (sari) kedelai dapat digunakan sebagai pengganti susu sapi untuk orang-orang yang alergi terhadap susu hewani yaitu

orang-orang yang tidak mempunyai enzim laktase dalam sistem pencernaannya sehingga tidak dapat mencerna laktosa dalam susu sapi (19).

Persyaratan mutu untuk susu (sari) kedelai yang terpenting adalah kadar protein minimal 3 %, kadar lemak 3 %, kadar total padatan 10 %. Kandungan mikroba tidak boleh lebih 300 koloni/gram, serta tidak mengandung bakteri koli.

Dipandang dari segi gizi, susu (sari) kedelai yang dibuat dengan kadar protein 3 % mempunyai nilai gizi mendekati susu sapi. Protein efisiensi rasio (PER) susu kedelai adalah 2,3 sedangkan PER susu sapi 2,5. Kedelai mengandung provitamin A dan karoten yang tinggi (243 g/100 g) serta vitamin B kompleks, kecuali Vitamin B12 yang tidak ada sama sekali. Kandungan mineralnya terutama kalsium rendah, kira-kira 19,5 % saja karena itu dianjurkan penambahan atau fortifikasi mineral dan vitamin pada susu (sari) kedelai yang diproduksi oleh industri besar (15, 19).

Tabel 1. Komposisi Susu Kedelai dan Susu Sapi tiap 100 g (19)

KOMPOSISI	SUSU KEDELAI	SUSU SAPI
Energi (K kal)	41,00	61,00
Protein (g)	3,50	3,20
Lemak (g)	2,50	3,50
Karbohidrat (g)	5,00	4,30
Kalsium (mg)	50,00	143,00
Fosfor (g)	45,00	60,00
Besi (g)	0,70	1,70
Vitamin A (si)	200,00	130,00
Vitamin B (mg)	0,80	0,03

Vitamin C (mg)	2,00	1,00
Air (g)	87,00	88,33

Sumber : Direktorat Gizi Depkes RI

Pemanfaatan kacang kedelai untuk bahan makanan, selain tahu dan tempe, masih terbatas di Indonesia karena berbagai hal, diantaranya baunya yang langu dan dapat menyebabkan flatulensi, yaitu menumpuknya gas-gas dalam perut. Terbentuknya gas disebabkan oleh oligosakarida yang mengandung ikatan alfa-galaktosida. Pada umumnya terdapat tiga senyawa oligosakarida yang menyebabkan flatulensi yaitu raffinosa, stakiosa dan verbaskosa.

Banyak usaha yang telah dikerjakan untuk menghilangkan oligosakarida dalam kacang-kacangan yang biasa dikonsumsi. Di antara usaha tersebut yang paling umum adalah perendaman yang diikuti proses fermentasi seperti pada pembuatan tempe, kecap, tauco dan *soyghurt* (20).

III.9 URAIAN SOYGHURT

Susu (sari) kedelai mengandung unsur-unsur yang hampir sama dengan susu sapi. Oleh karena itu, susu (sari) kedelai dapat di fermentasikan menjadi *soyghurt*. Meski keduanya hampir sama, namun ada perbedaan kecil yaitu jenis karbohidrat dalam susu kedelai (sari) berbeda dengan karbohidrat dalam susu sapi. Karbohidrat dalam susu (sari) kedelai terdiri dari golongan oligosakarida dan polisakarida sukar digunakan secara langsung sebagai

sumber energi maupun sumber karbon oleh kultur bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Karena adanya masalah ini, maka untuk membuat *soyghurt* harus ditambahkan sumber gula terlebih dulu ke dalam susu (sari) kedelai untuk digunakan oleh kedua bakteri di atas sebagai sumber energi untuk pertumbuhan sebelum menfermentasikan oligosakarida dan polisakarida dalam susu (sari) kedelai. Sumber gula yang ditambahkan antara lain sukrosa, glukosa, laktosa, fruktosa atau dengan penambahan susu bubuk skim (15).

III.9.1 Metode Pembuatan *Soyghurt*

Selain susu sapi yang dapat difermentasikan menjadi yoghurt, bahan lain yaitu susu (sari) kedelai dapat di fermentasikan menjadi susu kedelai fermentasi yang dikenal dengan nama *soyghurt* yang dihasilkan dari fermentasi oleh campuran simbiotik dua tipe bakteri asam laktat yang tidak berbahaya, yaitu *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Jika digunakan bersama maka kecepatan produksi asam lebih tinggi bila dibandingkan dengan menumbuhkan kedua mikroba tersebut secara sendiri-sendiri (20).

Proses pembuatan *soyghurt* secara skematis adalah sebagai berikut: susu (sari) kedelai dipasteurisasi pada suhu 80° – 90°C selama 20 menit atau pada suhu 100°C selama 10 menit. Kemudian

ditambahkan sumber gula (glukosa, sukrosa, laktosa, fruktosa atau susu skim) sebanyak 4-5 %. Gelatin juga sering ditambahkan (tidak mutlak) sebanyak 1 % supaya stabil dan baik teksturnya. Untuk menambah aroma dapat ditambahkan pengaroma (flavour) seperti vanili, orange, strawberry atau lemon. Hasil campuran ini didinginkan sampai 43°C kemudian diinokulasikan starter campuran bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* (1:1) sebanyak 2,5 % dari volume susu kedelai. Inkubasi dilakukan pada suhu 45°C selama 3-4 jam atau pada suhu dingin (sekitar 2°C) dan dipasteurisasi pada suhu 65°C selama 30 menit. *Soyghurt* tahan disimpan pada suhu ruang (28°-30°C) asal belum dibuka (15, 19).

III.9.2 Manfaat *Soyghurt* Bagi Kesehatan

Makanan probiotik bisa berbentuk susu fermentasi, yoghurt, *soyghurt*, mentega, keju, sari buah, dan susu formula yang difortifikasi dengan bakteri asam laktat. Manfaat probiotik dapat dicapai bila probiotik melekat pada sel mukosa usus, karenanya untuk memperoleh manfaat ini orang harus terus-menerus mengkonsumsinya (21).

Penelitian tentang manfaat yoghurt bagi kesehatan terus dilakukan. Susu fermentasi diketahui mengandung bakteri asam laktat yang mampu meningkatkan kerja enzim galaktosidase yang

memudahkan pencernaan laktosa dalam usus, meningkatkan kualitas nutrisi, menurunkan tingkat kolesterol darah, dapat menghambat perkembangan beberapa sel kanker dan mengatasi diare. Penelitian lain menunjukkan bahwa bakteri yang hidup dapat meningkatkan sistem imun dan memproduksi antibiotika, sehingga potensial dalam melindungi tubuh terhadap organisme yang berbahaya seperti virus (21).

Selain istilah probiotik dikenal juga istilah prebiotik yang merupakan kelompok oligosakarida seperti raffinosa, stakiosa, galakto-oligosakarida, inulin serta beberapa jenis peptida dari protein yang tidak dapat dicerna di lambung sehingga mencapai usus. Prebiotik merupakan nutrisi yang sesuai bagi bakteri asam laktat sehingga bisa meningkatkan jumlah bakteri asam laktat dalam usus. Prebiotik secara alami terdapat pada biji-bijian, sayuran dan buah. Produk olahan kedelai seperti tahu, tempe, tauco, dan *soyghurt* kaya akan prebiotik. Kombinasi probiotik dan prebiotik untuk meningkatkan kesehatan tubuh disebut sinbiotik (21).

Soyghurt merupakan produk serbaguna yang menyehatkan karena kaya nutrisi, mengandung protein, vitamin dan berbagai mineral penting, terlebih lagi bila *soyghurt* difortifikasi/diperkaya

dengan penambahan vitamin dan mineral yang tidak terkandung dalam susu (sari) kedelai yang dibuat *soyghurt* tersebut.

Pada oktober 1999, Food and Drug Administration (FDA) mengumumkan bahwa kedelai dapat menurunkan kolesterol dan resiko penyakit jantung. Namun tidak hanya itu kegunaan dari kedelai. Kedelai telah dihubungkan dengan penurunan resiko kanker payudara dan kanker prostat, meringankan gejala-gejala menopause. Kedelai juga rendah lemak saturasi, mengandung banyak serat dan merupakan sumber protein yang besar (22).

III.10 BAKTERI ASAM LAKTAT

Kelompok mikroba yang paling penting dan beragam yang berhubungan dengan makanan dan manusia adalah bakteri. Bakteri asam laktat merupakan suatu kelompok bakteri yang berguna bagi manusia. Bakteri asam laktat ini menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir dari metabolisme gula. Asam laktat yang dihasilkan tersebut akan menurunkan nilai pH lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam. Hal ini juga menghambat pertumbuhan dari beberapa jenis mikroba lain (4).

Secara alami bakteri asam laktat banyak dijumpai diberbagai habitat seperti makanan fermentasi, buah-buahan dan saluran pencernaan manusia

dan ternak. Bakteri asam laktat tidak bersifat patogen dan aman untuk meningkatkan kesehatan baik manusia maupun ternak (4)

Berdasarkan sifat fermentasinya, bakteri asam laktat dapat digolongkan menjadi dua yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Golongan homofermentatif adalah bakteri asam laktat yang hanya menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir metabolisme gula, sedangkan golongan heterofermentatif adalah bakteri asam laktat yang memberikan hasil akhir lain selain asam laktat seperti etanol, asetat dan CO₂ (4).

Beberapa spesies yang penting dalam kelompok bakteri asam laktat, adalah *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Leuconostoc devtranicum*

Uraian Umum Bakteri yang Digunakan

a. *Streptococcus thermophilus* (23)

Klasifikasi bakteri :

Divisio	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Sub bangsa	: Eubacterineae
Suku	: Lactobacteriaceae
Sub suku	: Streptococceae

Genus : *Streptococcus*

Spesies : *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus merupakan bakteri berbentuk bulat yang hidup secara berpasangan atau membentuk rantai pendek dan panjang yaitu tergantung dari spesies dan kondisi pertumbuhannya. Bakteri ini bersifat homofermentatif dan beberapa spesies memproduksi asam laktat secara cepat pada kondisi anaerobik. Oleh karena itu, bakteri ini sering digunakan dalam pengawetan makanan terutama untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembentuk racun. Kebanyakan spesies bakteri ini bersifat proteolitik, dan biasanya bersifat lipolitik

b. *Lactobacillus casei* (*L. casei*) (24, 7)

Nama *L. casei* pertama kali digunakan pada tahun 1919. Dari nama nomenklaturnya 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 mesofilik. *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.

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.11 ANALISA KOLESTEROL

Kolesterol dan sterol-sterol lain dalam jaringan terdapat sebagai campuran alkohol bebas dan ester asam lemak rantai panjangnya. Prosedur penentuan kandungan kolesterol dalam suatu sampel meliputi pengukuran kedua fraksi tersebut secara terpisah atau kolesterol total. Umumnya dilakukan ekstraksi dengan pelarut-organik seperti petroleum eter, heksan, kloroform atau isopropil alkohol ; dapat pula dilakukan pengendapan kolesterol bebas dengan penambahan volume yang sama digitonin (1g/L dalam etanol 96%), endapan dapat dicuci dengan aseton sebelum kolesterol dipecah dari kompleks dengan penambahan asam asetat glasial, asam asetat anhidrat atau piridin.

Meskipun metode kuantitatif penentuan kolesterol akan mengukur kolesterol total dan dapat dilakukan secara langsung terhadap ekstrak pelarut organik, diperlukan tahap hidrolisis ester baik dengan cara merefluks dengan

1,0 mol/L KOH dalam etanol 96% atau dengan pemutusan enzimatis menggunakan kolesterol ester hidrolisa, tetapi tidak semua tahap tersebut dilakukan dalam semua prosedur. Penentuan kolesterol total dan kolesterol bebas dengan reagen besi (III) klorida dilakukan dengan mereaksikan kolesterol dalam alikuat pelarut ekstraksi. Reagen O-ftaladehid untuk pemeriksaan kolesterol dapat pula digunakan untuk sampel-sampel biologi dan mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan dengan pemakaian besi (III) klorida yaitu lebih mudah dibuat, pembentukan warnanya cepat dan sempurna, serta warna tersebut stabil dan tidak sensitif terhadap cahaya. Keuntungan lainnya adalah reagen tersebut relatif spesifik untuk kolesterol, tidak terdapat absorbansi pada 550 nm dengan adanya kolesterol dan sterol non kolesterol (25).

BAB IV

METODE PENELITIAN

IV.1 Alat dan Bahan

IV.1.1 Alat-alat yang digunakan :

1. Alat liofilisasi
2. Alat-alat gelas laboratorium
3. Blender
4. Inkubator
5. Mikropipet
6. Neraca analitik (Chyo)
7. Oven
8. Otoklaf
9. Sentrifus
10. Spektrofotometer UV-VIS (Hitachi U2000)
11. Vibrator (VF2)

IV.1.2 Bahan-bahan yang digunakan :

1. Air suling
2. Asam asetat glasial p.a (E-Merck)
3. Asam sulfat p.a (E-Merck)
4. Bakteri *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35
5. Bakteri *Streptococcus thermophilus*

6. Etanol (E-Merck)
7. Gelatin
8. Glukosa
9. Heksan p.a (E-Merck)
10. Kacang kedelai
11. Kalium hidroksida p.a (E-Merck)
12. Kolesterol (Kimia Farma)
13. Medium MRS Broth
14. Medium starter
15. O-phtalaldehid

IV.2 Cara Kerja

IV.2.1 Penyiapan Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan detergen, kemudian dibilas dengan air suling dan dikeringkan. Untuk alat-alat gelas disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Untuk alat-alat logam disterilkan dengan cara dipijarkan pada api bunsen.

IV.2.2 Pembuatan Sari Kedelai (15)

Kacang kedelai direndam dalam air selama 8 jam, kemudian dicuci dan direbus. Kacang kedelai yang sudah bersih digiling dengan penambahan air panas (1:8) menggunakan *blender* dan disaring untuk memisahkan fase cair berupa sari kedelai dari fase padat yaitu ampas. Sari kedelai, kemudian dididihkan pada suhu 100°C selama 20 menit.

IV.2.3 Penyiapan Mikroba

IV.2.3.1 Pembuatan Medium MRS-Agar

Komposisi :

Pepton	10	g
Ekstrak daging	5	g
Ekstrak khamir	5	g
Glukosa	20	g
Dikalium hidrogen fosfat	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	12	g
Air suling hingga	1000	ml

pH 6,5

Cara pembuatan :

Semua bahan ditimbang, dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu dilarutkan dalam air suling hingga volume 800 ml. Dicek pH 6,5, kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan

dalam otoklaf pada suhu 121⁰C, tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

IV.2.3.2 Pembuatan Starter

Komposisi :

Ekstrak ragi	5	g
Laktosa	5	g
Glukosa	5	g
CaCO ₃	0,2	g
Air suling hingga	1000	ml
pH 4,0		

Cara Pembuatan :

Semua bahan ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan air suling hingga volume 800 ml, lalu dicek pH 4. Dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121⁰C tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

IV.2.3.3 Peremajaan Bakteri

Biakan bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 diremajakan dengan cara menginokulasikan secara aseptis 1 ose masing-masing biakan

bakteri pada medium MRS-Agar dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

IV.2.3.4 Pembuatan Kultur Bakteri

Kultur bakteri dibuat dengan menginokulasikan masing-masing 5 ose biakan bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 yang telah diremajakan pada tabung reaksi yang berisi 12,5 ml medium starter. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

IV.2.4 Pembuatan Soyghurt

Sari kedelai sebanyak 500 ml ditambahkan gelatin 5 g, kemudian dipasteurisasi pada suhu 90°C selama 30 menit. Soyghurt dibuat dengan menginokulasikan 12,5 ml kultur bakteri pada 500 ml sari kedelai dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 jam.

IV.2.5 Pengujian Penurunan Kadar Kolesterol Secara In Vitro

Sebanyak 10 mg soyghurt yang telah diliofilisasi disuspensikan dalam 2 ml larutan kolesterol-etanol (dibuat dengan melarutkan 1,5 mg kolesterol dalam 10 ml etanol 60%). Kemudian dikocok dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 0, 30, 60, 120 dan 240 menit. Kemudian disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit, kolesterol yang tidak terikat ditentukan berdasarkan Metode Rudel dan Morris.

IV.2.6 Pembuatan Kurva Standar

Dibuat larutan stok standar kolesterol dengan cara dipipet 0,2 ml larutan kolesterol (dibuat dengan melarutkan 2 mg kolesterol dalam 2 ml etanol 96 %), dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup, kemudian ditambahkan 0,6 ml KOH 33 % dan 5 ml etanol 96 % dan dikocok sempurna. Tabung ditutup dan disimpan dalam tangas air suhu 60°C selama 15 menit. Setelah dingin, ditambahkan 5 ml heksan dan dikocok sampai tercampur sempurna, kemudian ditambah 3 ml air suling, tabung ditutup dan dikocok dengan vibrator selama 2 menit hingga tercampur sempurna. Lapisan heksan yang diperoleh digunakan sebagai larutan standar. Dipipet larutan standar masing-masing 200, 250, 300, 350 dan 400 μ l, dimasukkan ke dalam tabung uji, pelarut heksan diuapkan. Ditambahkan 2 ml O-phtalaldehid 0,05%, larutan dikocok hingga tercampur sempurna. Setelah dibiarkan 10 menit ditambahkan 1 ml asam sulfat pekat dan dikocok dengan vibrator hingga tercampur sempurna, 90 menit setelah itu dibaca serapannya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 553 nm. Kemudian dibuat kurva standar dengan absis adalah μ g kolesterol dan ordinat adalah nilai serapannya.

IV.2.7 Pengukuran Sampel

Penentuan kolesterol yang terdapat dalam supernatan ditentukan dengan metode Rudel dan Morris, yaitu 0,2 ml supernatan dengan 0,6 ml KOH 33 % dan 5 ml etanol 96 % dalam tabung tertutup dan dikocok sempurna. Tabung ditutup dan disimpan dalam tangas air suhu 60°C selama 15 menit. Setelah dingin ditambahkan 5 ml heksan dan dikocok sampai tercampur sempurna, kemudian ditambah 3 ml air suling, tabung ditutup dan dikocok dengan vibrator selama 2 menit hingga tercampur sempurna. Lapisan heksan dipipet 2 ml ke dalam tabung uji, pelarut diuapkan. Ditambahkan 2 ml O-phtalaldehid 0,05%, larutan dikocok hingga tercampur sempurna. Setelah dibiarkan 10 menit ditambahkan 1 ml asam sulfat pekat dan dikocok dengan vibrator hingga tercampur sempurna, 90 menit setelah itu dibaca serapannya pada panjang gelombang 553 nm, digunakan kurva standar untuk menentukan konsentrasi kolesterol yang tidak terikat.

IV.2.8 Perhitungan Persentase Penurunan Kadar Kolesterol

Dapat ditentukan dengan rumus :

$$A = \frac{C - B}{C} \times 100 \%$$



Dimana :

A = % Penurunan Kolesterol

B = Jumlah rata-rata kolesterol dalam supernatan setelah perlakuan

C = Jumlah rata-rata kolesterol awal

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

V.1. Hasil Penelitian

Dari hasil pengukuran pengaruh waktu inkubasi terhadap penurunan kadar kolesterol diperoleh data sebagai berikut :

Tabel 2. Persentase Penurunan Kadar Kolesterol

Waktu inkubasi (menit)	Penurunan kadar kolesterol ($\mu\text{g/ml}$)	Penurunan kadar kolesterol (%)
0	33,409	12,18
30	80,792	29,45
60	100,667	36,70
120	138,742	50,57
240	52,450	19,12

V.2. Pembahasan

Penentuan penurunan kadar kolesterol oleh sari kedelai hasil fermentasi *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 dan *Streptococcus thermophilus* (*soyghurt*) ini dilakukan dengan menggunakan lima variasi waktu inkubasi yaitu 0, 30, 60, 120 dan 240 menit.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa *soyghurt* dapat menurunkan kolesterol secara *in vitro*. Penurunan ini dapat disebabkan oleh kacang kedelainya sendiri dan juga oleh bakteri asam laktat didalamnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Baraas (1994) bahwa kedelai merupakan bahan dasar pembuatan *soyghurt* yang mengandung zat disebut β -sitostreol (11) dan niasin yang mampu menurunkan kolesterol total dan kolesterol LDL serta menaikkan kolesterol HDL. Selain itu, menurut Abbey (2000) protein kedelai kaya akan isoflavon yakni genistein dan daidzein yang dapat meningkatkan aktivitas reseptor LDL kolesterol (17).

Dari hasil pengukuran memperlihatkan bahwa penurunan kadar kolesterol terjadi segera setelah penambahan *soyghurt* pada larutan kolesterol (0 menit) dan terus mengalami penurunan seiring dengan peningkatan waktu inkubasi hingga pada waktu inkubasi 120 menit yaitu sebesar 50,57%, namun peningkatan waktu inkubasi hingga 240 menit menyebabkan kadar kolesterol kembali naik sebesar 19,12%. Hal ini dapat terjadi kemungkinan karena sari kedelai dan bakteri asam laktat yang terdapat di dalam *soyghurt* telah mengalami kerusakan sehingga setelah waktu inkubasi ditingkatkan 240 menit kemampuan *soyghurt* dalam menurunkan kadar kolesterol berkurang. Lebih jauh, kemampuan bakteri asam laktat dalam menurunkan kadar kolesterol diduga terjadi karena selama pertumbuhannya menyerap sejumlah kolesterol ke

dalam selnya, mampu menghambat enzim biosintesis kolesterol di hati serta mampu mendekonyugasi asam empedu sehingga lebih mudah diekskresikan.

Hasil analisis sidik ragam dari pengaruh waktu inkubasi terhadap jumlah kolesterol yang dapat diikat memperlihatkan nilai F_{hitung} (14,89) yang lebih besar dari nilai F_{tabel} (3,48) pada taraf 5%, berarti terdapat pengaruh yang berbeda nyata khususnya waktu inkubasi 120 menit memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap semua waktu inkubasi. Setelah dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) antara semua waktu inkubasi diperoleh hasil yang tidak berbeda nyata pada waktu inkubasi 60 dan 30 menit, 240 dan 0 menit serta 30 dan 240 menit karena pada rentang waktu inkubasi tersebut kemampuan *soyghurt* dalam mengikat sejumlah kolesterol tidak berbeda jauh sehingga setelah dilakukan analisa statistik pada taraf 5% memberikan hasil yang non signifikan artinya memperlihatkan penurunan kolesterol yang tidak berbeda nyata.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisa statistik, maka dapat disimpulkan :

1. Pengaruh penurunan kadar kolesterol secara in vitro oleh sari kedelai hasil fermentasi *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 dan *Streptococcus thermophilus* (*soyghurt*) pada beberapa waktu inkubasi terhadap persentase penurunan kadar kolesterol memberikan hasil yang berbeda nyata.
2. Waktu inkubasi yang memperlihatkan persentase penurunan kadar kolesterol paling tinggi adalah pada 120 menit sebesar 50,57%.

VI.2 Saran

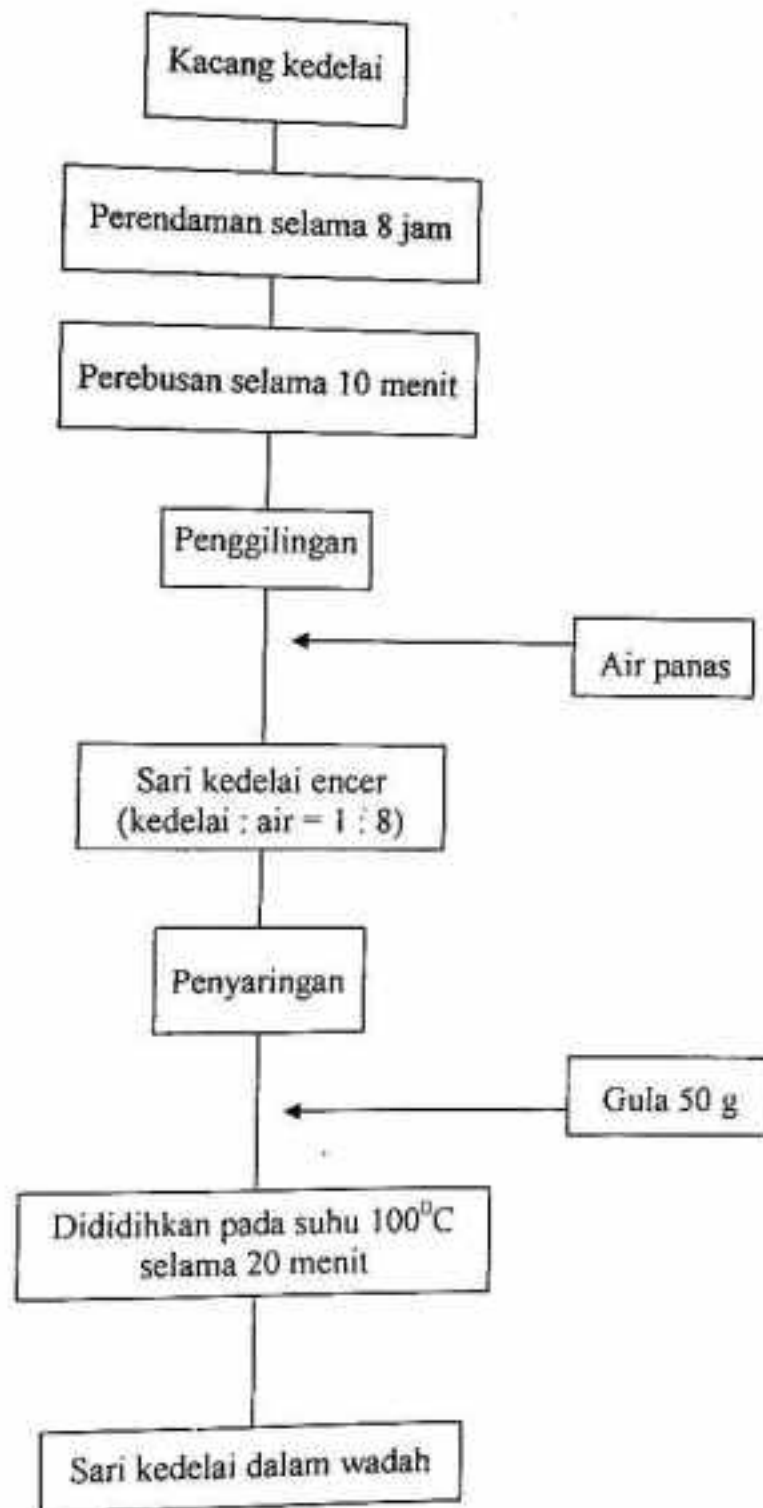
Sebaiknya dilakukan uji efek penurunan kadar kolesterol oleh *soyghurt* secara in vivo untuk melihat secara langsung penurunan kolesterol dalam darah.

DAFTAR PUSTAKA

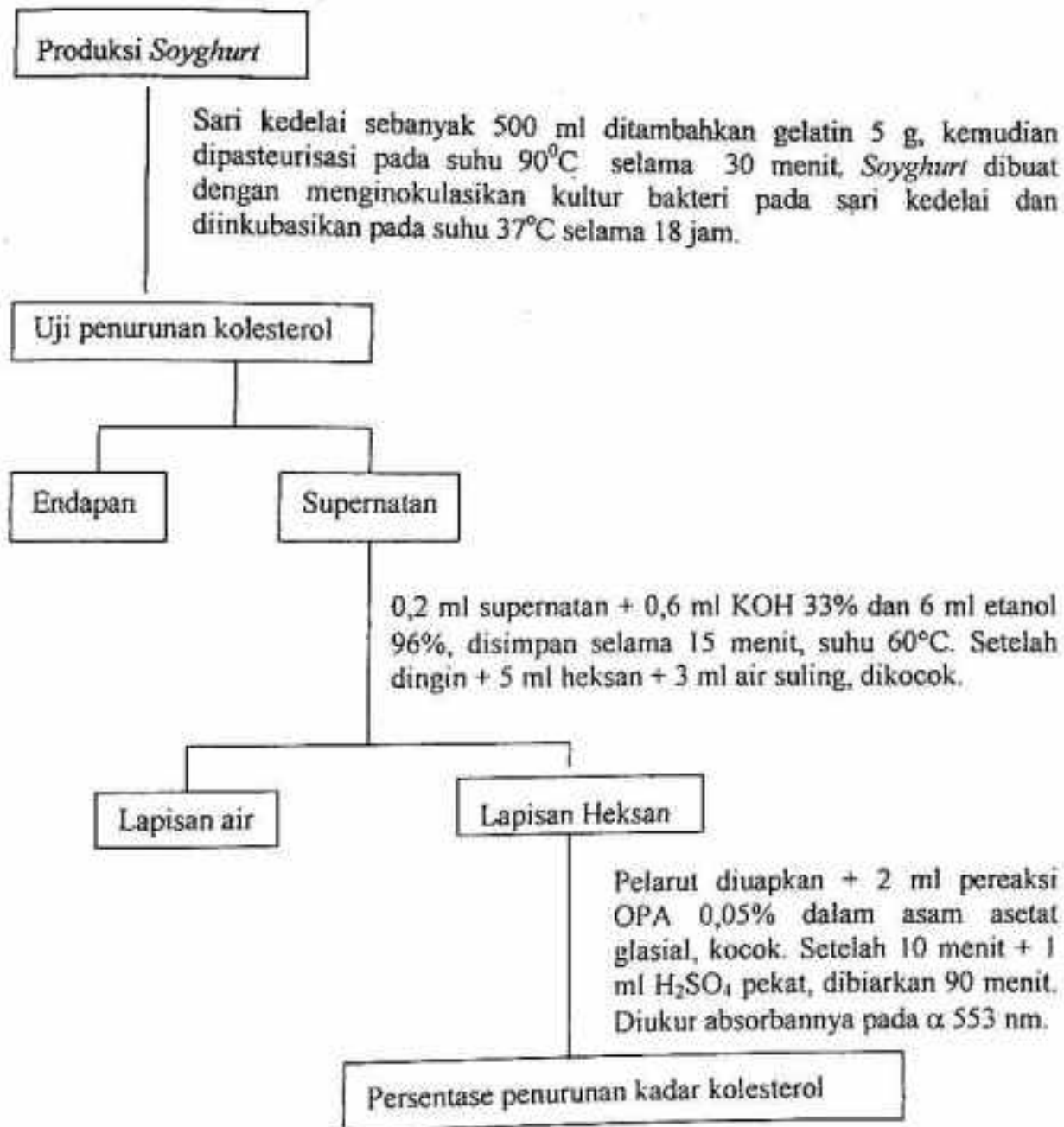
1. Dirga Pirantima, (1998), "Kolesterol Yang Perlu Diketahui", <http://www.citysearch.com>, 1
2. Sihombing, J., (1999), "Makan Enak dan Tetap Sehat", Kompas Cyber Media, <Http://www.kompas.com>, 1
3. Nurul Huriyah Astuti, (2000), "Medika Online, Mengenai Lipid Menyiasati Penyakit", <Http://www.pdat.co.id/medika>
4. Salminen, S., (1998), Lactid Acid Bacteria, Microbiology and Functional Aspects", Second Edition, University of Turku, Turku, Finland, 103
5. Fardiaz, S., (2001), "Kefir, Susu Asam Berkhasiat", Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor, 4, <Http://www.yahoo.com>
6. Anderson, J.W., (1998), "Soy Protein and Risk for Coronary Heart Disease", <Http://www.soyfood.com>
7. Mufidah, (2000), "Pengikatan Kolesterol oleh Beberapa Strain Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Dadih", Tesis Magister, 32-37
8. Sulistyawati, N.M., (2001), "Uji In Vitro Penurunan Kolesterol pada Beberapa Waktu Inkubasi oleh *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaris* dalam Yoghurt". Jurusan Farmasi, UNHAS, Makassar

9. Speight, T.M., (1987), "Avery's Drug Treatment. Principles and Practice of Clinical Pharmacology and Therapeutics", third Edition, ADIS Press, Aucland 594-597.
10. Guyton, A.C., (1994), "Buku Ajar Fisiologi Kedokteran", Bagian III, Edisi 7, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 152-154.
11. Baraas, F., (1994), "Menekan Serangan Jantung dengan Menekan Kolesterol", PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 1-3
12. Taylor, K.B., (1983), "Clinical Nutrition", McGraw-Hill Book Company, Pennsylvania, 231-240.
13. Rahman, A., (1992), "Teknologi Fermentasi", Penerbit Arcan, Universitas Pangan dan Gizi IPB, Bogor, 1-24.
14. Winarno, F.G., (1997), "Probiotik dan Keamanan Pangan", Kompas Online, [Http://www.kompas.com](http://www.kompas.com)
15. Koswara, S., (1995), "Teknologi Pengolahan Kedelai menjadi Makanan Bermutu", Pustaka Sinar Harapan, Jakarta, 75 - 76
16. The Connection Berita Gizi dan Kesehatan Khusus Kedelai (2000)., *Kedelai dan Kesehatan Ginjal*, American Soybean Association, Jakarta.
17. Abbey, M., (2000)., *Kedelai dan Kesehatan Jantung*, Prosiding Seminar Manfaat Kesehatan Kedelai, American Soybean Association, Jakarta, 7 - 9.
18. Suzanne, H., (2000)., *Kedelai dan Pencegahan Penyakit - Potensi Lain Apa yang Dimiliki ?*. Prosiding Seminar Manfaat Kesehatan Kedelai. American Soybean Association, Jakarta, 10.

19. Koswara, S., (1998), "Susu Kedelai Tak Kalah dengan Susu Sapi",
[Http://www.indonesia.com/intisari/](http://www.indonesia.com/intisari/)
20. Winarno, F.G., (1997), "Kimia Pangan dan Gizi", PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 248 – 253.
21. Tim Kompas, "Probiotik dan Prebiotik untuk Kesehatan", harian Kompas, Minggu 27 Januari 2002
22. -----, (2000), "Whitewave – So, What Can Soy Do For Me",
[Http://www.soyfoods.com](http://www.soyfoods.com), 1
23. Fardiaz S., (1992), "Mikrobiologi Pangan I", P T. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 23 – 24.
24. Danones World, (2000), "Some Characteristic of *L. casei*",
<http://www.danonenewsletter.com.eng/news5/titre5.html>
25. Rudel, L.L. and Mories, M.D.,(1973), "Determination of Cholesterol Using o-ptalaldehyd, Journal of Lipid Research, (14), 364 –366



Gambar 1. Skema Kerja Pembuatan Sari Kedelai

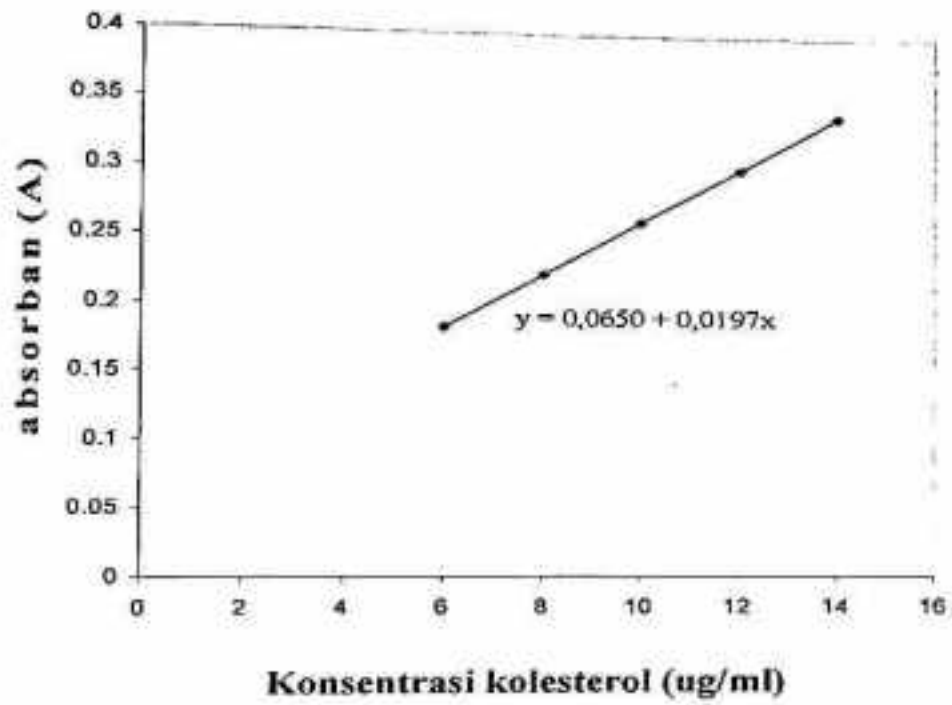


Gambar 2. Skema Kerja Penentuan Persentase Penurunan Kadar Kolesterol oleh *Soyghurt* pada Beberapa Waktu Inkubasi

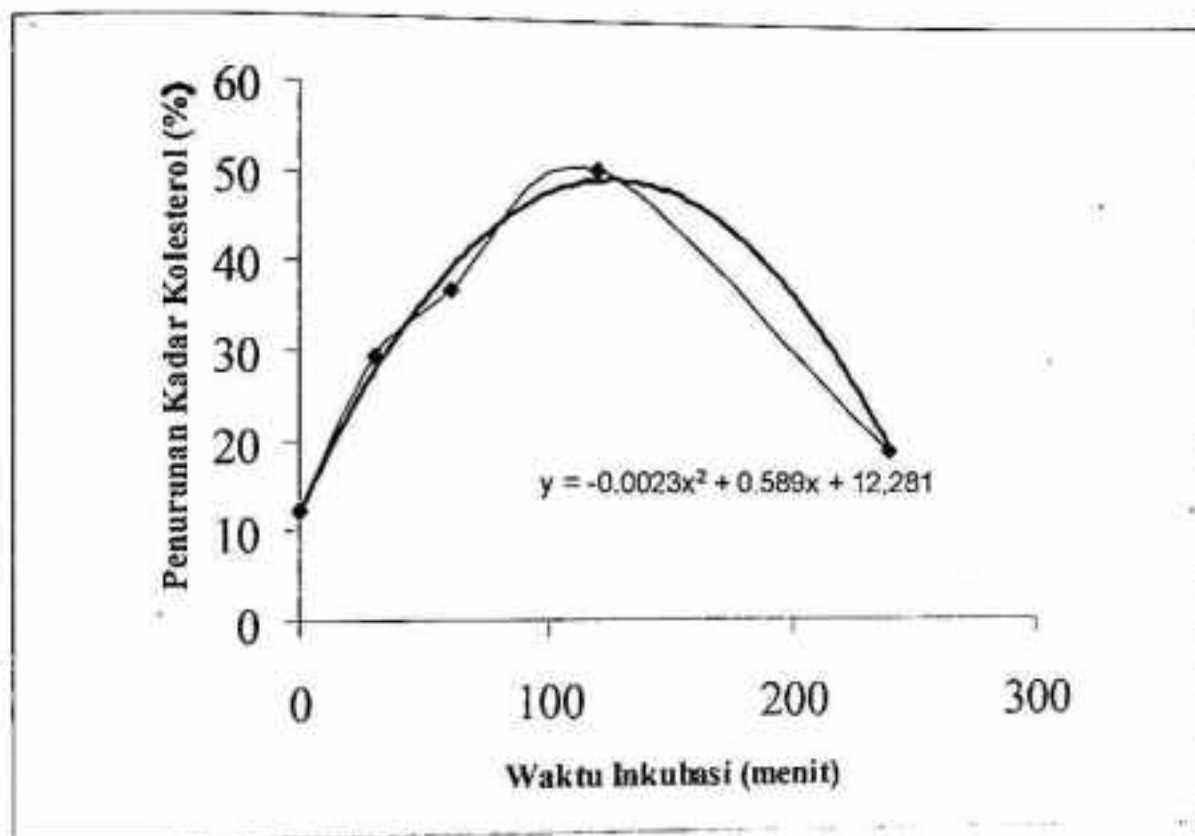
Tabel 3. Hasil Perhitungan Kurva Standar Analisa Kolesterol Menggunakan Persamaan Kurva Baku

x (μg)	y (A)
6	0,156
8	0,240
10	0,289
12	0,304
14	0,321

- x = Konsentrasi
 y = Serapan (absorban)
 a = Perpotongan garis dengan sumbu y
 b = Kemiringan garis
 $y = a + bx$
 $y = 0,0650 + 0,0197x$
 $r = 0,9366$



Gambar 3. Kurva Standar Analisa Kolesterol



Gambar 4. Kurva Hubungan antara Waktu Inkubasi dengan Persentase Penurunan Kadar Kolesterol

Tabel 4. Nilai Absorbansi Penurunan Kadar Kolesterol oleh *soyghurt* pada beberapa Waktu Inkubasi

Waktu (menit)	Replikasi			Total	Rata-rata
	I	II	III		
0	0,250	0,267	0,280	0,797	0,266
30	0,211	0,234	0,240	0,685	0,228
60	0,192	0,213	0,233	0,638	0,213
120	0,179	0,183	0,186	0,548	0,183
240	0,237	0,252	0,263	0,752	0,251

LAMPIRAN I
PERHITUNGAN STATISTIK

Tabel 5. Perhitungan Statistik Penurunan Kadar Kolesterol ($\mu\text{g/ml}$) oleh *Soyghurt* pada Beberapa Waktu Inkubasi

	Waktu inkubasi (menit)					Total	Rata-rata
	0	30	60	120	240		
I	53,292	102,792	126,892	143,392	69,792	496,160	99,232
II	31,717	73,592	100,242	138,317	50,767	394,635	78,927
III	15,217	65,992	74,867	134,517	36,792	327,385	65,477
Jumlah total						1218,18	
Rata-rata umum						81,212	

Sumber Keceragaman (SK) adalah :

1. Perlakuan
2. Kesalahan atau Galat
3. Total Percobaan

Perhitungan Derajat Bebas (DB)

1. DB Perlakuan = jumlah replikasi perlakuan - 1 = 4 - 1 = 3
2. DB Total = jumlah keseluruhan replikasi perlakuan - 1 = 15 - 1 = 14
3. DB Galat = DB total - DB perlakuan = 14 - 3 = 11

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

1. JK Perlakuan

$$\begin{aligned} \text{JK perlakuan} &= \frac{(100,226)^2 + (242,376)^2 + \dots + (157,351)^2}{3} - \frac{(1218,18)^2}{15} \\ &= 20402,229 \end{aligned}$$

2. JK Total

$$\begin{aligned} \text{JK total} &= (53,292)^2 + (31,717)^2 + \dots + (36,792)^2 - \frac{(1218,18)^2}{15} \\ &= 23828,298 \end{aligned}$$

3. JK Galat = JK total - JK perlakuan

$$\begin{aligned} &= 23828,298 - 20402,299 \\ &= 3425,999 \end{aligned}$$

Perhitungan Kuadrat Rata-rata (KR)

$$1. \text{ KR Perlakuan} = \frac{\text{JK perlakuan}}{\text{DB perlakuan}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{20402,299}{4} \\
 &= 5100,575 \\
 2. \text{ KR Galat} &= \frac{\text{JK galat}}{\text{DB galat}} \\
 &= \frac{3425,999}{10} \\
 &= 342,599
 \end{aligned}$$

TABEL ANAVA

SK	DB	JK	KR	Fh	Ft
Perlakuan	4	20402,299	5100,575	14,89	5% = 3,48
Galat	10	3425,999	342,599	14,89	1% = 5,99
Total	14	23828,298			

Keterangan : $F_h > F_t = \text{Signifikan}$

Analisis lanjutan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{Rumus umum nilai BNT} = t_{\alpha/2, N-a} \sqrt{\frac{2 \text{ KR galat}}{n}}$$

Dimana :

α	=	Taraf signifikan yang dikehendaki (5% / 1%)
N	=	Banyaknya data pada RAL
a	=	Banyaknya taraf perlakuan
N - a	=	Derajat bebas galat
KR galat	=	Kuadrat rata-rata galat
n	=	Banyaknya replikasi

$$\text{BNT } 5\% = 0,05 / 2, 14 - 4 \sqrt{\frac{2 \times 342,599}{3}}$$

$$= 2,228 \times 15,11$$

$$= 33,66$$

$$\text{BNT } 1\% = 0,01 / 2, 14 - 4 \sqrt{\frac{2 \times 342,599}{3}}$$

$$= 3,169 \times 15,11$$

$$= 27,06$$

Hasil Uji BNT

Waktu (menit)	0 (A)	30 (B)	60 (C)	120 (D)	240 (E)
Rata-rata	33,409	80,792	100,667	138,742	52,450



Waktu inkubasi (menit)	Selisih	Taraf 5%
D - A	105,333	SS
D - B	57,950	SS
D - C	38,075	SS
D - E	86,292	SS
C - A	67,258	SS
C - B	19,875	NS
C - E	48,217	SS
E - A	19,041	NS
B - A	47,383	SS
B - A	28,342	NS

Keterangan :

SS = Sangat signifikan

NS = Non signifikan



LAMPIRAN II
CONTOH PERHITUNGAN PERSENTASE PENURUNAN KADAR
KOLESTEROL

Contoh perhitungan persentase penurunan kadar kolesterol dari rumus :

$$A = \frac{C - B}{C} \times 100\%$$

Dimana :

A = % penurunan kadar kolesterol

B = Jumlah rata-rata kolesterol dalam supernatant setelah perlakuan

C = Jumlah rata-rata kolesterol dalam supernatant pada control

Dari persamaan regresi diperoleh :

$$y = 0,0650 + 0,0197x$$

$$B = (y - 0,0650) / 0,0197$$

Konsentrasi kolesterol dalam supernatan = konsentrasi kolesterol x fp

$$= X \times 25$$

Tabel 6. Hasil Perhitungan Persentase Penurunan Kadar Kolesterol

Waktu (menit)	Serapan (A) (nm)	Kontrol (K)	X_A (μg)	X_k (μg)	$X_A \times 25$ (B)	$X_k \times 25$ (C)	B rata-rata	C rata-rata
0	0,250	0,278	9,391	10,812	234,775	270,300	254,658	288,067
	0,267	0,281	10,254	10,964	256,350	274,100		
	0,280	0,317	10,914	12,792	272,850	319,800		
30	0,211		7,411		185,275		207,275	288,067
	0,234		8,579		214,475			
	0,240		8,883		222,075			
60	0,192		6,447		161,175		187,400	288,067
	0,213		7,513		187,825			
	0,233		8,528		213,200			
120	0,179		5,787		144,675		149,325	288,067
	0,183		5,990		149,750			
	0,186		6,142		153,550			
240	0,237		8,731		218,275		235,617	288,067
	0,252		9,492		237,300			
	0,263		10,051		251,275			
							206,855	288,067

$$\begin{aligned} A &= \frac{C - B}{C} \times 100\% \\ &= \frac{288,067 - 206,855}{288,067} \\ &= 28,19\% \end{aligned}$$