

**AKTIVITAS ANTI-ATEROSKLEROSIS EKSTRAK BUAH
BUNI (*Antidesma bunius*) PADA MENCIT BALB/c DENGAN
DIET TINGGI LEMAK : KAJIAN EFEK ANTIOKSIDAN DAN
ANTI KOLESTEROL TERHADAP PENGHAMBATAN
OKSIDASI LDL DAN PENINGKATAN EKSPRESI mRNA
ENZIM PARAOXONASE 1 (PON1) DAN LIPID
TRANSPORTER ABCA1**

**ANTIATHEROSCLEROTIC ACTIVITY OF BUNI FRUIT
(*Antidesma bunius*) EXTRACT IN BALB/c MICE FED WITH
A HIGH FAT DIET: A STUDY ON THE ANTIOXIDANT AND
ANTI-CHOLESTEROL EFFECTS ON LDL OXIDATION, AND
THE INCREASE OF PARAOXONASE 1 (PON1) mRNA
EXPRESSION AND LIPID TRANSPORTER ABCA1**

SURYANI TAWALI



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2018



**AKTIVITAS ANTI-ATEROSKLEROSIS EKSTRAK BUAH
BUNI (*Antidesma bunius*) PADA MENCIT BALB/c DENGAN
DIET TINGGI LEMAK : KAJIAN EFEK ANTIOKSIDAN DAN
ANTI KOLESTEROL TERHADAP PENGHAMBATAN
OKSIDASI LDL DAN PENINGKATAN EKSPRESI mRNA
ENZIM PARAOXONASE 1 (PON1) DAN LIPID
TRANSPORTER ABCA1**

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar Doktor

Program Studi Kedokteran

Disusun dan Diajukan oleh

SURYANI TAWALI

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2018**



DISERTASI

**AKTIVITAS ANTI-ATEROSKLEROSIS EKSTRAK BUAH BUNI
(*Antidesmabunius*) PADA MENCIT BALB/c DENGAN DIET TINGGI LEMAK:
KAJIAN EFEK ANTIOKSIDAN DAN ANTI-KOLESTEROL TERHADAP
PENGHAMBATAN OKSIDASI LDL DAN PENINGKATAN EKSPRESI mRNA
ENZIM PARAOXONASE 1 (PON1) DAN LIPID TRANSPORTER ABCA1**

Disusun dan diajukan oleh

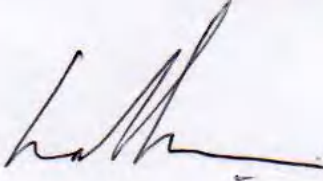
SURYANI TAWALI

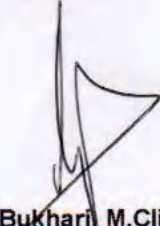
Nomor Pokok P0200314401

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 17 Desember 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat,


Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K)
Promotor


Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK (K) Ko-Promotor


dr. Agussalim Bukhari, M.Clin.Med, Ph.D, Sp.GK (K) Ko-Promotor

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin




dr. Agussalim Bukhari, M.Clin.Med, Ph.D, Sp.GK (K) 
Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : SURYANI TAWALI
Nomor Pokok : P0200314401
Program Studi : Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 3 Desember 2018

Yang menyatakan,

SURYANI TAWALI



DAFTAR TIM PENGUJI

1. Promotor : Prof.Dr.dr.Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K).
2. Ko-Promotor : Prof.dr.Mochammad Hatta, Ph.D,Sp.MK(K).
3. Ko-Promotor : dr.Agussalim Bukhari,M.Clin.Med, Ph.D,Sp.GK(K)
4. Penguji Eksternal: Prof.Dr.Yusminah Hala, MS.
5. Penguji : Prof.dr.Peter Kabo, Ph.D, Sp.JP(K).
6. Penguji : Dr.dr.A.Armyr Nurdin, MSc.
7. Penguji : Dr.dr.Burhanuddin Bahar, MS.
8. Penguji : dr.Upik A. Miskad, Ph.D, Sp.PA (K)
9. Penguji : Prof.dr.Veni Hadju, M.Sc, Ph.D, Sp.GK (K)



PRAKATA

Bismillaahirrahmaanirrahiim. Walhamdullillah washsholatu wassalamu 'ala Rasulillah Shallallahu 'alaihi wasallam. Alhamdulillah bini'matihii tatimmushsholihah. Segala pujian hanya kepada Allah SWT atas rampungnya disertasi ini..

Selesainya disertasi ini adalah juga berkat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terimakasih dan penghargaan kepada yang terhormat Prof.Dr.dr.Suryani As'ad, M.Sc., SpGK(K) selaku promotor karena ditengah-tengah kesibukan beliau senantiasa meluangkan waktu untuk berkonsultasi dan memberikan banyak masukan sehingga kami dapat menyelesaikan disertasi ini. Kepada Prof.dr.Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) selaku ko-promotor yang tidak kenal lelah senantiasa memberikan bimbingan dan nasehat serta bantuan sejak awal perencanaan penelitian, pelaksanaan penelitian di laboratorium, sampai kepada mempublikasikan hasil penelitian. Kami mengucapkan terima kasih kepada dr.Agussalim Bukhari, Ph.D, M.Clin.Med., Sp.GK (K) sebagai ko-promotor yang banyak memberikan masukan dan bantuan sejak awal perencanaan penelitian termasuk dalam hal membantu kami untuk mendapatkan hibah dana sehingga kami dapat menyelesaikan penelitian ini dengan baik.



Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi melalui proyek BPPN 2014/2015 serta Hibah Unggulan Perguruan Tinggi dan Hibah Penelitian Disertasi Doktor yang telah mendukung pembiayaan selama mengikuti Program pendidikan Doktor
2. Rektor, Wakil Rektor Bidang Akademik Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti program pendidikan S3 di Program Pascasarjana UNHAS.
3. Direktur, Wakil Direktur dan Staf Program Pascasarjana UNHAS dan Staf Program Pascasarjana UNHAS.
4. Dekan Fakultas Kedokteran UNHAS Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M-KVR, M.Med.Ed, dan Dekan FK Unhas periode 2014-2018 Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K) atas izin dan dukungannya dalam mengikuti pendidikan S3.
5. Dekan Fakultas Kedokteran UNHAS periode 2010-2013 Prof.dr.Irawan Yusuf, Ph.D. dan Dekan Fakultas Kedokteran UNHAS Periode 2006-2009, Prof.Dr.dr.Idrus Paturusi Sp.B(K) yang telah menerima kami sebagai staf pengajar di Fakultas Kedokteran dan mendukung kami dalam pengembangan ilmu.
6. Ketua Program Studi S3 Kedokteran yang telah berkenan memberikan kami kesempatan mengikuti Pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran.



7. Prof. Dr. Yusminah Hala, M.Sc sebagai penguji eksternal, Prof.dr.Peter Kabo, Ph.D, Sp.JP(K)., Prof.dr.Veni Hadju, M.Sc.Ph.D., Dr.dr. A.Army Nurdin, M.Sc., dan Dr.dr.Burhanuddin Bahar, MS. dr.Upik A.Miskad, Ph.D, Sp.PA sebagai penguji internal yang banyak memberikan masukan dan arahan untuk penyempurnaan disertasi kami.
8. Dr.dr.Burhanuddin Bahar, MS, yang telah memberikan pengajaran mengenai pengolahan dan analisis data.
9. Dr. Upik A. Miskad, Ph.D, Sp.A,, yang banyak memberikan masukan saran dan nasehat selama kami melakukan penelitian dan menyusun disertasi.
10. Ketua Bagian IKM & IKK Fakultas Kedokteran Unhas periode 2018-2022 Dr.dr.Sri Ramadany, M.Kes dan Ketua Bagian IKM & IKK periode sebelumnya Dr.dr.A.Army Nurdin, M.Sc. yang telah memberikan izin untuk menjalani pendidikan S3.
11. Para Senior dan rekan-rekan sejawat di Bagian IKM & IKK Fakultas Kedokteran UNHAS, Prof.Dr.dr.M.Tahir Abdullah, MSPH., dr.Muh. Ikhsan Madjid, MS.PKK, dr. M. Rum, MS., dr.Sultan Buraena, SpOK, dr. Irwin Aras, M.Epid., dr.Sri Asriyani, M.Kes, Sp.Rad.,Dr,dr,Sri Ramadany, M,Kes., dr.Joko Hendarto, DA&E, Dr.dr.A.Alfian Zainuddin, MKM, dr.Firdaus Kasim, M.Sc., dr.Nasriyadi, atas lingkungan kerja yang bersahabat dan penuh persaudaraan.



12. Staf di Program S3 Kedokteran, Pak Akmal, Pak Mumu, Pak Dakhyar, Ibu Nur, dan Ibu Ida dan staf administrasi di Fakultas Kedokteran UNHAS yang sangat membantu dalam proses persuratan dan administrasi.
13. Staf laboratorium Imunologi dan Biomolekuler FK UNHAS Bapak Romi Usman, Pak Mus Gebaru, Pak Wani, dan Ibu Syamsiah yang sangat membantu dalam pelaksanaan penelitian di laboratorium.
14. Staf laboratorium Biofarmaka Fakultas Farmasi UNHAS Ibu Dewi dan Ibu Desi yang sangat membantu dalam menganalisis ekstrak buah buni.
15. Teman-teman seperjuangan mahasiswa S3 angkatan 2014 Kedokteran, Khairi, Ika, Ida, Kak Rosdianah, Ibu Salmah, Ibu Yudith, Ibu Dudun (Almarhumah), Liong Boy, Oom Chief (Syarief), Kak Igun, Imam, Pak Akbar, Pak Suradi dan Pak Basir, atas motivasi, bantuan dan kebersamaannya.
16. Teman-teman pengajian akhawat FK Unhas, Ustadzah Hafsah, ustadzah Muli, Ustadzah Syarifah, Bu Titin, dr.Pia, dr.Uleng, dr.Amma, dr.Inna, dr.Tenri, dr.Asti, Bu Ida, Bu Yetti, Wana, dr.Citra, Kia, Vera. Terima kasih dukungan dan kebersamaannya.
17. Teman-teman angkatan 94 kedokteran semuanya (Appraksia).

Terima kasih.



18. Terkhusus para akhawat 94 Jun, Ida, Anty, Erny, Ela, Najma, Mia, Hira, Asra, Fitri, Narti, Marni, Hera, Hasridah. Kebersamaan dalam kebaikan
19. Kedua orangtua kami tercinta ayahanda H. Tawali Tassiabeng (alm) dan Ibunda Hj, Hadidjah Tontjing, terima kasih yang tak terhingga atas kasih sayang, jerih payah dan perjuangan dan penderitaannya dalam membesarkan dan mendidik kami. Terima kasih atas doa-doanya untuk keberhasilan kami. Kepada kedua mertua Bapak Bustam Yapi, SH dan Ibu Ludiah terima kasih atas kasih sayang dan doanya untuk kami. Kakak kami Dra.Haliaty Tawali, Prof.Dr.Ir.Abu Bakar Tawali, Ir.Darmawaty Tawali, Muh.Hamdan Tawali, SE, Ir. Zaenab Tawali, Mardiah Tawali, S.Si, M.Si, adik kami Abidah Tawali, Amd. Saudara Ipar Drs. Burhanuddin, Prof.Dr.Ir.Meta Mahendradatta, Ir.Taju Mustafa, Amiruddin, dan Pranoto, Amd. Wahyudi Bustam, S.Pd., dan Fitriani S.Pd. Dahlia, S.Pd., dan Ambo Ala, ST dan seluruh keluarga besar kami yang senantiasa membantu dalam segala hal dan senantiasa berdoa untuk kebaikan kami.
20. Kepada suami tercinta, Ilham Bustam, S.Sos., M.Si., terima kasih yang tak terhingga atas kasih sayang, dukungan, kesabaran, semangat, dan doanya selama kami menempuh pendidikan.

Kepada buah hati kami tercinta ananda Muhammad Luthfi Ilham, terima kasih atas doa dan ibadahnya dan dukungannya yang



menjadi wasilah kemudahan selama ibu menyelesaikan proses pendidikan dan ananda Raihanah Lathifah Ilham atas kegembiraan dan kebahagiaan yang diberikan setiap hari. Kepada kedua anakku Khadijah Ilham dan Fathimah Ilham yang kebersamaannya dengan kami hanya sebelas dan delapan hari selalu menjadi penyemangat untuk berbuat lebih baik.

21. Semua pihak yang telah membantu kami yang tidak bisa kami sebutkan namanya satu persatu. Terima kasih. Semoga Allah membalas kebaikan Bapak/Ibu/Saudara/(i) dengan kebaikan yang lebih banyak.

Semoga disertasi ini menjadi amal kebaikan yang diterima disisi Allah SWT dan memberikan manfaat. Aamiin.

Makassar, 2 Desember 2018

Suryani Tawali



ABSTRAK

SURYANI TAWALI. *Aktivitas Antiaterosklerosis Estrak Buah Buni (Antidesma Bunius) pada Mencit BLAB/c dengan Diet Tinggi Lemak: Kajian Efek Antioksidan dan Antikolesterol terhadap Penghambatan Oksidasi LDL dan Peningkatan Ekspresi mRNA Paraoxonase 1(PON1) dan Lipid Transporter ABCA1 (dibimbing oleh Suryani As'ad, Mochammad Hatta, dan Agussalim Bukhari).*

Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antiaterosklerosis estrak buah buni (*antidesma bunius*).

Progresivitas aterosklerosis diukur menggunakan petanda yaitu: total kolesterol, kolesterol *high density lipoprotein* (HDL), *oksidised low density lipoprotein* (LDL), *ekspresi messenger ribonucleid acid* (mRNA) *enzim paraoxonase 1* (PON1), dan ekspresi mRNA *ATP binding cassette transporter A1* (ABCA1). Penelitian dilakukan menggunakan hewan coba mencit BALB/c dengan desain penelitian *pretest* dan *posttest control group*. Progres aterosklerosis diakselerasi dengan pemberian diet tinggi lemak (40% lemak). Hewan coba mencit dibagi dalam empat kelompok. Kelompok I, II, dan III diberikan diet tinggi lemak ad libitum bersamaan dengan pemberian intervensi: Kelompok I diberikan ekstrak buah buni dosis 300 mg/kgBB/hari; kelompok II diberikan simvastatin dosis 6 kg/kgBB/hari; kelompok III tidak diberikan intervensi tambahan. Adapun, kelompok IV diberikan diet kontrol (10% lemak) tanpa intervensi tambahan. Masa perlakuan berjalan selama dua belas minggu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah buni 300 mg/kgBB/hari selama dua belas minggu menghambat proses aterosklerosis pada mencit BALB/c yang diberi diet tinggi lemak melalui penghambatan peningkatan konsentrasi total kolesterol dan oksidised LDL, serta meningkatkan ekspresi mRNA PON1 dan ekspresi lipid transporter ABCA1. Namun, ekstrak buah buni tidak menyebabkan perubahan yang bermakna pada kolesterol HDL.

Kata kunci: ekstrak buah buni, *antidesma bunius*, antiaterosklerosis, antioksidan, ox-LDL, oksidised LDL, mRNA PON1, mRNA ABCA1



ABSTRAK

SURYANI TAWALI. *Aktivitas Antiaterosklerosis Estrak Buah Buni (Antidesma Bunius) pada Mencit BLAB/c dengan Diet Tinggi Lemak: Kajian Efek Antioksidan dan Antikolesterol terhadap Penghambatan Oksidasi LDL dan Peningkatan Ekspresi mRNA Paraoxonase 1(PON1) dan Lipid Transporter ABCA1* (dibimbing oleh Suryani As'ad, Mochammad Hatta, dan Agussalim Bukhari).

Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antiaterosklerosis estrak buah buni (*antidesma bunius*).

Progresivitas aterosklerosis diukur menggunakan petanda yaitu: total kolesterol, kolesterol *high density lipoprotein* (HDL), *oksidised low density lipoprotein* (LDL), *ekspresi messenger ribonucleid acid* (mRNA) *enzim paraoxonase 1* (PON1), dan ekspresi mRNA *ATP binding cassette transporter A1* (ABCA1). Penelitian dilakukan menggunakan hewan coba mencit BALB/c dengan desain penelitian *pretest* dan *posttest control group*. Progres aterosklerosis diakselerasi dengan pemberian diet tinggi lemak (40% lemak). Hewan coba mencit dibagi dalam empat kelompok. Kelompok I, II, dan III diberikan diet tinggi lemak ad libitum bersamaan dengan pemberian intervensi: Kelompok I diberikan ekstrak buah buni dosis 300 mg/kgBB/hari; kelompok II diberikan simvastatin dosis 6 mg/kgBB/hari; kelompok III tidak diberikan intervensi tambahan. Adapun, kelompok IV diberikan diet kontrol (10% lemak) tanpa intervensi tambahan. Masa perlakuan berjalan selama dua belas minggu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah buni 300 mg/kgBB/hari selama dua belas minggu menghambat proses aterosklerosis pada mencit BALB/c yang diberi diet tinggi lemak melalui penghambatan peningkatan konsentrasi total kolesterol dan oksidised LDL, serta meningkatkan ekspresi mRNA PON1 dan ekspresi lipid transporter ABCA1. Namun, ekstrak buah buni tidak menyebabkan perubahan yang bermakna pada kolesterol HDL.

Kata kunci: ekstrak buah buni, *antidesma bunius*, antiaterosklerosis, antioksidan, ox-LDL, oksidised LDL, mRNA PON1, mRNA ABCA1



DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	vi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	
1. Latar Belakang	1
2. Rumusan Masalah	5
3. Tujuan Penelitian	6
4. Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Aterosklerosis	9
1. Metabolisme lemak dan proses aterosklerosis	12
2. Proses oksidasi LDL	14
3. HDL dan <i>Reverse Cholesterol Transport</i>	14
4. Gen dan enzim paraoxonase 1 (PON1)	16
5. Penelitian tentang senyawa fenol dan PON1	19
6. ABCA1	20
7. Penelitian tentang senyawa fenol dan ABCA1	22
B. Buni (<i>Antidesma bunius</i>)	
1. Deskripsi	23
2. Klasifikasi	24
Penelitian pada tanaman buni	25
Senyawa-senyawa Fenol dari Tumbuhan (<i>Plant Phenolics</i>)	26
Senyawa flavonoid	28



2. Antosianin	28
D. Radikal Bebas Sebagai Pemicu Penyakit jantung Dan pembuluh darah	29
E. Kerangka Teori dan Kerangka Konsep	32
F. Hipotesis Penelitian	34
G. Variabel Penelitian	34
H. Definisi Operasional Variabel	35
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Desain Penelitian	39
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	39
C. Subyek Penelitian	39
D. Alat dan Bahan	41
E. Tahap Penelitian	
1. Pembuatan ekstrak buah buni	44
2. Pengukuran kandungan total fenol	46
3. Pengukuran total antosianin	46
4. Pengukuran kemampuan antioksidan	47
5. Perlakuan subyek penelitian	48
F. Pengukuran Variabel	
1. Pengukuran kadar fraksi lipid darah	49
2. Ekstraksi RNA	53
3. Analisis ekspresi mRNA PON1	55
4. Analisis ekspresi mRNA ABCA1	56
G. Analisis Data	57
H. Alur Penelitian	58
I. Etika Penelitian	59
BAB IV HASIL PENELITIAN	60
A. Hasil Penelitian	
Ekstrak buah buni	60
Intake makanan	61
Berat badan mencit	62



4. Kolesterol total	65
5. Kolesterol HDL	66
6. Oxidised-LDL	67
7. Ekspresi mRNA PON1	69
8. Ekspresi mRNA ABCA1	70
B. Pembahasan	71
1. Ekstrak buah buni dan aterosklerosis	86
2. Keterbatasan penelitian	92
3. Kelebihan penelitian	93
C. Ringkasan Penelitian	93
BAB V PENUTUP	
A. Simpulan	95
B. Saran	95
DAFTAR PUSTAKA	97
LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Komposisi diet tinggi lemak dan diet kontrol	43
2. Kandungan ekstrak buah buni	60
3. Rata-rata intake makanan perhari hewan coba	62
4. Perubahan berat badan mencit selama periode intervensi	64
5. Konsentrasi kolesterol total sebelum dan sesudah intervensi	65
6. Konsentrasi kolesterol HDL sebelum dan sesudah intervensi	67
7. Konsentrasi Oxidised-LDL sebelum dan sesudah intervensi	68
8. Ekspresi mRNA PON1 sebelum dan sesudah intervensi	69
9. Ekspresi mRNA ABCA1 sebelum dan sesudah intervensi	70



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. <i>Reverse Cholesterol Transport</i>	16
2. PON1, Maturasi HDL dan <i>RCT</i>	18
3. ABCA1, ABCG1, SRBI, LCAT and CETP	21
4. Buah buni (<i>Antidesma bunius</i>)	25
5. Perubahan berat badan mencit selama fase intervensi	63
6. Ringkasan mekanisme kerja ekstrak buni pada aterosklerosis	90



DAFTAR LAMPIRAN

No	Halaman
1. Rekomendasi persetujuan etik	107
2. Hasil uji normalitas data intake makanan	108
3. OneWay ANOVA dan Post Hoc tes untuk intake makanan	109
4. Normality test , ANOVA, dan t test untuk berat badan	110
5. Normality test dan paired t test untuk total kolesterol	112
6. Normality test dan paired t test untuk HDL	114
7. OneWay ANOVA dan Post Hoc untuk perubahan HDL	115
8. Normality test dan paired t test untuk Ox_LDL	116
9. Normality test dan paired t test untuk ekspresi PON1	117
10. Dokumentasi penelitian	119



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

ABCA1	:	<i>ATP Binding Cassette Transporter A1</i>
CE	:	Cholesteryl ester
CD36	:	Cluster-differentiation 36
CD40L	:	CD 40 Ligand
CD 154	:	Cluster differentiaton 154
Ct	:	Cycle threshold
DM	:	Diabetes Mellitus
DPPH	:	Diphenyl picryl hydrazyl
ELISA	:	Enzyme Linked Immunosorbant Assay
GF	:	Growth Factor
H ₂ O ₂	:	Hidrogen peroksida
HCl	:	Hidrochloric acid
HDL	:	<i>High Density Lipoprotein</i>
HFD	:	High Fat Diet
ICAM-1	:	Intracellular adhesion molecule-1
IF γ	:	Interferon gamma
kDa	:	kilo dalton
LCAT	:	Lecithin Cholesterol Acyl transferase
LDL	:	<i>Low Density Lipoprotein</i>
MCP-1	:	Monocyte chemoattractant protein-1
M-CSF	:	Monocyte Colony Stimulating Factor
mRNA	:	messenger Ribonucleic Acid
O ₂ ⁻	:	Superoxide
OH ⁻	:	Radikal hidroksil
Ox-LDL	:	Oxidised LDL
PCR	:	Polymerase Chain reaction
	:	Penyakit Jantung Koroner
	:	Enzim Paraoxonase 1
	:	Peroxisome Proliferato-activated Receptor α



PPAR σ	:	Peroxisome Proliferato-activated Receptor σ
PPAR γ	:	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ
RCT	:	<i>Reverse Cholesterol Transport</i>
RNS	:	reactive Nitrogen Species
ROO $^{\cdot}$:	Peroksida
ROS	:	Reactive Oxygen Species
RT-PCR	:	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
SMCs	:	Smooth muscle cells
SOD	:	Superoxide Dismutase
SRB1	:	Scavenger Receptor B1
TG	:	Trigliserida
TNF α	:	Tumor necrosis factor α
UV	:	Ultra Violet
VCAM1	:	Vascular Adhesion Molecule-1
VLDL	:	Very Low density lipoprotein
WHO	:	World Health Organization



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit jantung dan pembuluh darah masih merupakan pembunuh nomor satu didunia. Dari laporan WHO 2011, 64% kematian disebabkan oleh penyakit non infeksi, dan 48% dari penyebab kematian akibat penyakit non infeksi disebabkan oleh penyakit jantung dan pembuluh darah (Mendis *et al.*, 2011). Di Indonesia sendiri menurut laporan tersebut, 64% kematian disebabkan oleh penyakit non-infeksi yang juga didominasi oleh penyakit jantung dan pembuluh darah (WHO, 2011).

Penyakit kardiovaskuler didasari oleh proses atherosclerosis pada pembuluh darah. Proses ini merupakan proses yang kompleks yang dimulai pada sejak umur muda mengalami progressivitas tanpa disadari yang dipicu oleh berbagai faktor resiko seperti diet, aktivitas fisik, infeksi, stress psikologik, merokok, penyakit lain seperti DM, faktor lingkungan (polusi) dan juga faktor genetik (Deanfield *et al.*, 2007; Lusis 2000, Mendis *et al.*, 2011).

Proses atherosclerosis pada pembuluh darah yang menjadi dasar terjadinya berbagai penyakit kardiovaskuler dimulai dengan stimulasi

vaskuler yang kemudian yang berlanjut dengan pembentukan sel
n berakhir dengan terbentuknya plak aterosklerosis (Gimbrone



and Garcia-gardena, 2016). Konsentrasi *Low Density Lipoprotein (LDL)* yang tinggi dalam sirkulasi meningkatkan resiko pembentukan plak atherosclerosis. Sebaliknya kadar plasma HDL yang tinggi merupakan faktor protektif terhadap atherosclerosis. Fungsi protektif HDL terhadap atherosclerosis adalah sebagai dengan melindungi LDL dari proses oksidasi. Karena dari LDL teroksidasilah maka proses aterosklerosis dimulai.

Enzim paraoxonase (PON1) yang merupakan komponen protein dalam molekul HDL merupakan komponen yang dianggap paling berperan dalam fungsi antioksidasi terhadap LDL (Mackness *et al.*, 1991; Shih *et al.*, 1998; Tward *et al.*, 2002; Mackness and Mackness, 2004). Selain itu HDL merupakan molekul yang berperan penting dalam transport balik kolesterol (*Reverse Cholesterol Transport = RCT*) dalam membersihkan lemak di perifer untuk dibawa ke hati dan jaringan yang membutuhkan kolesterol. HDL / *Apo A1 lipid poor lipoprotein* mengambil kolesterol ester pada sel-sel perifer (termasuk makrofag *foam cell*) salah satunya melalui ikatan dengan *ATP-Binding Cassette Protein A1 (ABC A1)* pada sel makrofag (Boes *et al.*, 2009, Burke *et al.*, 2010; Ishigami *et al.*, 2018).

ABCA1 adalah salah satu transporter lemak yang menyalurkan kelebihan kolesterol dari sel perifer membentuk HDL yang akan membawanya ke hati untuk dikeluarkan melalui empedu dan proses

. ABCA1 menyalurkan kolesterol dari sel perifer ke molekul *Apo-poor* membentuk *nascent HDL* (Oram 2002; Ishigami *et al.*,



2018). Selanjutnya *nascent HDL* akan terus mengambil lemak di perifer dengan ikatan pada transporter lain diantaranya ABCG1 dan SRB1 (Yvan-Charvet *et al.*, 2010; Shen *et al.*, 2018).

Penelitian-penelitian eksperimental baik menggunakan hewan coba maupun pada manusia memperlihatkan efek positif jus maupun ekstrak tanaman dan komponen senyawa fenolnya terhadap konsentrasi HDL, enzim PON1 dan transporter lemak ABCA1. Penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh Gouedard *et al.* (2004) menunjukkan bahwa senyawa polifenol menyebabkan peningkatan ekspresi mRNA PON1. Polifenol dari buah delima juga meningkatkan ekspresi mRNA enzim PON1 dan melindungi HDL dan LDL dari oksidasi (Khateeb *et al.*, 2010). Penelitian di China berupa suplementasi antosianin dari blueberry pada 122 subyek hiperkolesterolemik meningkatkan konsentrasi HDL, menurunkan konsentrasi LDL, meningkatkan aktivitas enzim PON1 dan meningkatkan effluks kolesterol (Zhu *et al.*, 2014). Martini *et al.* (2017) dalam *review* 76 artikel penelitian yang dipublikasi antara tahun 2000 sampai 2016 dimana 11 merupakan penelitian *in vitro*, 44 pada hewan coba dan 26 adalah penelitian eksperimental pada manusia, melaporkan bahwa senyawa polifenol berperan penting dalam modulasi enzim PON1 dan selanjutnya mencegah oksidasi HDL dan LDL.

Beberapa penelitian juga membuktikan peranan senyawa-senyawa

tumbuhan dalam meningkatkan konsentrasi dan ekspresi transporter lemak ABCA1 antara lain : (1) Penelitian *in vitro* pada



makrofag mencit membuktikan bahwa senyawa flavonoid quercetin menyebabkan peningkatan ekspresi mRNA ABCA1 dan menyebabkan peningkatan efflux kolesterol dari makrofag ke HDL (Chang *et al.*, 2012); (2) Ekstrak daun *Hisbiscus sabdariffa* secara *in vitro* mengurangi oksidasi LDL dan pembentukan sel busa melalui jalur transporter ABCA1 (Chen *et al.*, 2013); (3) Erythrodiol sebagai komponen senyawa dalam minyak zaitun meningkatkan ekspresi mRNA ABCA1 secara *in vitro* (Wang *et al.*, 2017); dan (4) Penelitian pada 13 pasien pre hipertensi dengan desain *randomised controlled cross-over trial* menunjukkan bahwa pemberian minyak zaitun dengan konsentrasi senyawa polifenol yang tinggi (956 mg/kg) menyebabkan peningkatan konsentrasi ABCA1, SRB1, PPAR α , PPAR γ , PPAR δ and CD36 dibandingkan dengan pemberian minyak zaitun dengan kandungan polifenol sedang (289 mg/kg)(Farras *et al.*, 2013).

Salah satu tanaman lokal yang mempunyai kandungan senyawa polifenol yang relative tinggi terutama golongan antosianin adalah buah buni (*Antidesma bunius*). Namun buah ini belum dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia secara luas. Buah buni merupakan buah lokal di negara-negara Asia Tenggara dan Australia. (Orwa *et al.*, 2009)

Di Thailand Utara, penelitian tentang kandungan senyawa polifenol pada buah buni oleh Butkhup dan Samappito menemukan bahwa buah buni ini mempunyai kandungan flavonoid yaitu; catechin, procyanidin B1,

procyanidin B2 serta asam organik dalam jumlah yang cukup banyak.

(Butkhup and Samappito, 2008a; 2008b).



Dari uraian pada latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk melihat potensi peran buah buni dalam pencegahan dan penghambatan proses aterosklerosis melalui mekanisme: (1). Peningkatan ekspresi enzim yang terikat pada HDL yaitu enzim paraoxonase 1 (PON1) untuk mencegah oksidasi LDL dan (2) Efflux kolesterol dari sel perifer dalam system *Reverse Cholesterol Transport* melalui peran transporter lemak yaitu *ATP Binding Cassette transporter A1 (ABCA1)*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Seberapa besar kandungan total fenol dan total antosianin ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*).
2. Seberapa besar kemampuan antioksidan ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*).
3. Apakah pemberian ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) menyebabkan penurunan total kolesterol pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak?
4. Apakah pemberian ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) menyebabkan peningkatan kolesterol HDL pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak?



5. Apakah pemberian ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) dapat mengurangi oksidasi LDL pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak?
6. Apakah pemberian ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) dapat meningkatkan ekspresi mRNA enzim paraoxonase 1 (PON1) pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak?
7. Apakah pemberian ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) dapat meningkatkan ekspresi mRNA ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1) pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah buni terhadap proses aterosklerosis pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak.

2. Tujuan Khusus

Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengukur kandungan total fenol dan total antosianin ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*).

Mengukur kemampuan antioksidan ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) secara *in vitro*.



3. Menguji kemampuan ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) dalam menurunkan kadar kolesterol total pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak.
4. Menguji kemampuan ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) dalam meningkatkan kadar kolesterol HDL pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak.
5. Menguji kemampuan ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) dalam mengurangi oksidasi LDL pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak.
6. Menguji kemampuan ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) dalam meningkatkan ekspresi mRNA enzim paraoxonase 1 (PON1) pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak.
7. Menguji kemampuan ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) dalam meningkatkan ekspresi mRNA ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1) pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Keilmuan

- a. Konsep mengenai mekanisme kerja ekstrak berdasarkan parameter dan aktivitas yang diujikan dapat dijadikan acuan bagi studi mengenai potensi bahan alam tumbuhan dalam menghambat proses aterosklerosis.



- b. Metode pembuatan ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*), dapat dijadikan acuan metode ekstraksi bahan alami sejenis, sehingga memperkaya khasanah keilmuan dalam proses ekstraksi bahan alami.

2. Manfaat Praktis

- a. Pengembangan produksi buah buni dalam bentuk ekstrak untuk menjaga agar kandungan senyawa polifenol antosianin lebih terkonsentrasi sehingga dapat dimanfaatkan dalam bentuk produk yang tahan lama dengan kandungan senyawa yang bermanfaat tetap terjaga.
- b. Tanaman buni (*Antidesma bunius*) merupakan tanaman asli Indonesia yang budidaya dan pemanfaatan semakin terpinggirkan, sehingga pengembangan ekstrak buah buni sebagai suplemen untuk mencegah dan memperlambat proses aterosklerosis dapat meningkatkan nilai tambah dari tanaman tersebut yang akan menunjang peningkatan pemanfaatannya.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Aterosklerosis

Aterosklerosis adalah penyakit inflamasi kronik yang ditandai oleh penebalan dinding pembuluh darah akibat akumulasi lipid, infiltrasi sel monosit yang berubah menjadi makrofag ke dalam tunika intima arteri-arteri besar yang memfagositosis sel lemak membentuk sel busa (foam sel) yang selanjutnya menjadi proses inflamasi kompleks yang melibatkan sel-sel T dan komponen inflamasi lainnya dan jaringan fibrosa serta proliferasi sel-sel otot polos pembuluh darah membentuk lesi yang lebih kompleks berupa plak dengan *fibrous cap* yang menyebabkan penyempitan lumen pembuluh darah (Libby, 2002; Lusis 2000; Glass and Witztung 2001). Ruptur dan thrombosis oleh plak tersebut menyebabkan komplikasi berupa infark miokard dan stroke (Glass and Witztung, 2001).

Proses ini merupakan proses yang kronik yang dapat dimulai sejak masa kanak-kanak tanpa gejala (Deanfield *et al.*, 2007). Dimulai dengan pembentukan *fatty streak* pada bagian dalam endotel (tunika intima) yaitu akumulasi makrofag yang memfagosit LDL yang disebut sebagai sel busa

(*foam cells*). Low density lipoprotein (LDL) yang merupakan alat transport dalam bentuk ester kolesterol tidak begitu mudah mengalami oksidasi jika berada dalam plasma (Glass &Witztung 2001). Namun jika



LDL masuk ke tunika intima pembuluh darah proses oksidasi lebih mudah terjadi akibat berbagai faktor. Ekses radikal bebas di dalam tubuh akibat stress oksidatif yang disebabkan oleh faktor eksogen (infeksi, polusi, dll) maupun faktor endogen seperti peningkatan metabolisme tubuh yang menghasilkan banyak radikal bebas yang tidak dapat dinetralkan oleh system antioksidasi endogen (*Superoxid dismutase =SOD, catalase, glutathione peroxidase, dll*) menginisiasi dimulainya reaksi oksidasi LDL.

Radikal bebas tersebut akan bereaksi dengan LDL membentuk *minimally-oxidized LDL*. Proses ini terjadi dengan bantuan enzim 12/15 *Lipoxygenase*. *Minimally oxidized LDL* merangsang sel endotel untuk mengeluarkan *Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1)* dan *growth factors* serta molekul-molekul proinflamasi lainnya. MCP-1 dan GF menarik monosit dan sel limfosit T yang berada di sirkulasi untuk mendekati dinding pembuluh darah. Ox-LDL merangsang sel endotel untuk mengekspresikan VCAM-1 dan ICAM-1 serta P-Selectin dan E-Selectin. Monosit dan limfosit terikat pada ICAM-1 dan VCAM-1 dan berikatan dengan MCP-1 melalui ekspresi CCR2 pada membrane monosit. Monosit masuk ke tunika intima dan berubah menjadi makrofag dan mengekspresikan *scavenger receptor* dan memfagosit ox-LDL menjadi sel busa (*foam cells*). Makrofag tidak dapat memfagosit LDL normal, namun jika terjadi perubahan ekstensif pada molekul LDL oleh

oksidasi (*highly oxidized LDL*), maka Makrofag yang telah si melalui *scavenger* reseptornya melakukan fagositosis terhadap



ox-LDL dimana telah terjadi perubahan pada komponen Apo B100. (Kaperonis *et al.*, 2006; Herman and Moncada, 2005; Glass and Witztung 2001)

Fatty streaks yang terbentuk oleh kumpulan *foam cells* terjadi akibat aktivasi sel T dan sel-sel pada pembuluh darah yang menghasilkan sitokin-sitokin (TNF α , IF γ), mediator fibrogenik dan GF yang menyebabkan migrasi dan proliferasi sel otot polos (SMCs) dan pembentukan matriks ekstraseluler disekitar sel otot polos tersebut, hal ini terjadi pada lesi aterosklerotik pada tahap lanjut. Interaksi CD40 dan CD40L (CD 154) sangat berperan pada proses ini. Pada awalnya interaksi CD40 dan CD40L merupakan hal yang sangat penting pada proses imun respon yang melibatkan sel T dan sel B. Namun kemudian ditemukan bahwa sel makrofag, sel endotel, dan sel otot polos juga mengekspresikan CD40. Interaksi CD40 dan CD40L mengakibatkan peningkatan sekresi sitokin proinflamasi, enzim pendegradasi matriks ekstra seluler, dan molekul adhesi (Lusis, 2000). Sel otot polos tunika media mengeluarkan enzim yang mendegradasi elastin dan kolagen sebagai respon terhadap stimulasi inflamasi. Degradasi ini memungkinkan sel otot polos melakukan penetrasi dan migrasi ke area sub intima. Pada saat yang bersamaan sel otot polos mengeluarkan mediator-mediator inflamasi yang menyebabkan makin banyaknya monosit yang terekrut ke arah lesi aterosklerotik dan

ini berlangsung terus menerus membentuk *vicious cycle*: migrasi sub intima, proliferasi, overproduksi jaringan fibrosa yang



menyebabkan penebalan dinding intima arteri. (Kaperonis *et al.*, 2006; Herman and Moncada, 2005; Glass and Witztung 2001) Makrofag teraktivasi juga mengeluarkan enzim matrix metalloproteinase yang juga mendegradasi matrik ekstra seluler pada dinding arteri sehingga memperkuat pembentukan "*fibrous cap*" pada lesi aterosklerotik. Makrofag dapat mengalami apoptosis pada bagian tengah lesi yang disebut sebagai "*necrotic core*". (Libby, 2002). Jika lesi tersebut rapuh sehingga membentuk thrombus yang dapat menimbulkan penyumbatan pembuluh darah yang lebih kecil, lebih distal yang menyebabkan stroke ataupun PJK.

1. Metabolisme lemak dan proses aterosklerosis (Nelson and Cox, 2008)

Lemak yang dikonsumsi akan diserap oleh enterosit dan dibawa oleh alat transport lemak yang disebut sebagai lipoprotein. Karena lemak merupakan senyawa nonpolar sehingga menyulitkan dalam pengangkutan dalam plasma darah yang bersifat polar, sehingga untuk distribusinya didalam darah dibentuk suatu senyawa yang dapat larut dalam air yang terdiri dari lipid nonpolar yaitu triasilgliserol (trigliserida) dan ester kolesterol, lipid amfipatik yaitu fosfolipid dan kolesterol dan protein (apoprotein) yang keseluruhannya ini membentuk *lipoprotein*. Kilomikron

kan lipoprotein yang membawa lemak dari makanan di usus ke jaringan tubuh dan hati dalam bentuk lemak trigliserida untuk



digunakan sebagai bahan bakar. Kilomikron mempunyai molekul protein yang disebut sebagai apo B-48, apo-E, dan apo-C. Apo-E berikatan dengan LDL reseptor pada hati untuk menyalurkan trigliserida. Pada jaringan lemak kilomikron melalui apo-C melepaskan trigliserida dan dengan bantuan enzim lipoprotein lipase, trigliserida dipecahkan oleh jaringan lemak membentuk asam lemak dan gliserol untuk digunakan.

Very Low Density Lipoprotein (VLDL) dibentuk di dalam hati dan berfungsi membawa lemak dari hati dalam bentuk trigliserida ke seluruh tubuh. Apo protein pada VLDL adalah Apo-B100, apo-C, dan apo-E. Jika trigliserida yang dibawa oleh VLDL berkurang hingga tersisa 30%, VLDL berubah menjadi IDL (intermediate density lipoprotein). Lipoprotein ini terus melanjutkan transport lemak ke seluruh tubuh. Jika trigliserida pada IDL berkurang hingga tersisa 10% , IDL kehilangan apo-C dan apo-E yang tertinggal adalah apo-B100 dan IDL berubah menjadi low density lipoprotein (LDL). LDL merupakan lipoprotein dengan komponen kolesterol (ester kolesterol) yang terbesar sehingga merupakan sumber kolesterol. Kolesterol dibutuhkan pada membrane sel, pembentukan hormone terutama cortisol dan testosterone. LDL berikatan dengan LDL reseptor pada hati melalui apo-B100, namun afinitasnya lebih rendah dibandingkan dengan ikatan LDL-R pada apo-E, sehingga half time LDL di dalam darah lebih rendah dibandingkan dengan kilomikron dan VLDL.



High density lipoprotein (HDL) diproduksi di hati dan berperan dalam membersihkan kelebihan kolesterol pada sel-sel perifer.

2. Proses oksidasi Low Density Lipoprotein (LDL)

Low Density Lipoprotein (LDL) teroksidasi atau disebut juga “*modified LDL*” merupakan senyawa yang merupakan awal dari rangkaian proses aterosklerosis. LDL yang tidak teroksidasi tidak akan difagosit oleh makrofag dalam pada keadaan ini proses pembentukan sel busa tidak terjadi (Glass and Witztum, 2001). Radikal bebas dan molekul-molekul prooxidant dalam tubuh baik yang dihasilkan oleh proses-proses metabolisme maupun yang berasal dari luar tubuh menyebabkan dimulainya reaksi oksidasi LDL (Kaperonis *et al.*, 2006; Herman and Moncada, 2005; Glass & Witztung, 2001).

3. HDL dan *Reverse Cholesterol Transport (RCT)* (Zheng and Aikawa, 2012; Kratzer *et al.*, 2014; Cho 2009, JAMA 2014)

High Density Lipoprotein (HDL) diproduksi di hati dan berperan membersihkan eksese kolesterol pada sel-sel perifer. Yang dikenal dengan istilah *Reverse Cholesterol Transport (RCT)*. HDL merupakan lipoprotein

ukuran kecil sekitar 7-17 nm yang terdiri dari : (1) Lapisan luar fosfolipid dan kolesterol bebas yang diikat oleh apolipoprotein. Setiap molekul HDL terdiri dari 2-7 apolipoprotein. Bagian inti HDL

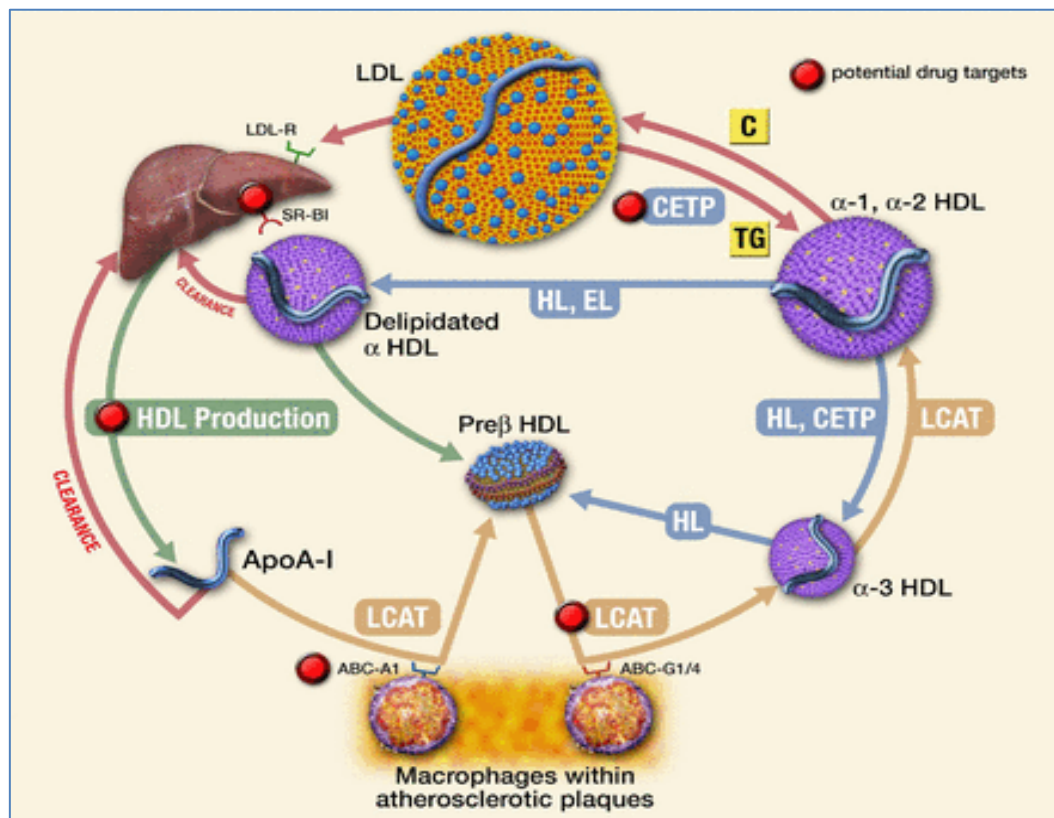


merupakan tempat untuk ester kolesterol (CE) dan trigliserida (TG). Struktur dan komposisi HDL berubah-ubah tergantung fase biogenesis dari HDL itu sendiri yang terjadi dengan bantuan enzim-enzim dan reseptor-reseptor tertentu. Apo A-I yang merupakan protein utama HDL disintesis di hati (70%) dan di usus (30%) membentuk *Apo-A1 Lipid poor* (discoidal HDL/ pre β HDL/ *nascent* HDL). Nascent HDL ini mengambil kolesterol bebas pada sel-sel perifer dan juga mengambil ester kolesterol dari makrofag yang memfagosit *oxidised LDL* melalui transporter ABC A1 (*ATP binding cassette transporter A1*). Oleh enzim *lecithin cholesterol acyl transferase (LCAT)*, kolesterol bebas pada nascent HDL diubah menjadi mature HDL (HDL 2 dan HDL3/ *spherical HDL*) dan berkumpul pada inti HDL. *Mature HDL* masih terus mengambil kolesterol ester dari makrofag melalui transporter ABC G1 sehingga volume HDL makin membesar. HDL yang telah penuh berisi ester kolesterol akan membawa kolesterol ester ke hati dan secara langsung memberikan ester kolesterol kepada sel-sel hepatosit melalui ikatan antara reseptor pada hepatosit yaitu SRB1 dan ligannya pada HDL yaitu Apo A-1. Secara tidak langsung, HDL matur melalui *Cholesterol ester transport protein (CETP)* akan melakukan pertukaran dengan VLDL dan LDL, dimana ester kolesterol pada HDL diberikan kepada VLDL dan LDL, dan trigliserida pada VLDL dan LDL diberikan kepada HDL. Selanjutnya,

dan LDL akan membawa ester kolesterol kepada sel hepatosit melalui ikatan antara LDL reseptor pada hepatosit dengan Apo B.



Selanjutnya sel-sel hepatosit akan mengekskresikan kolesterol ester ke dalam empedu dan dikeluarkan melalui usus.



Gambar 1. *Reverse Cholesterol Transport* (Zheng and Aikawa, 2012)

4. Gen dan enzim paraoxonase 1 (PON1)

Klaster gen paraoxonase (PON) terdiri dari *paraoxonase1* (PON1), *paraoxonase 2* (PON2), dan *paraoxonase 3* (PON3). Ketiga gen ini berlokasi pada lengan panjang kromosom 7. Di antara klaster gen paraoxonase ini, PON1 yang paling banyak dipelajari saat ini, sementara

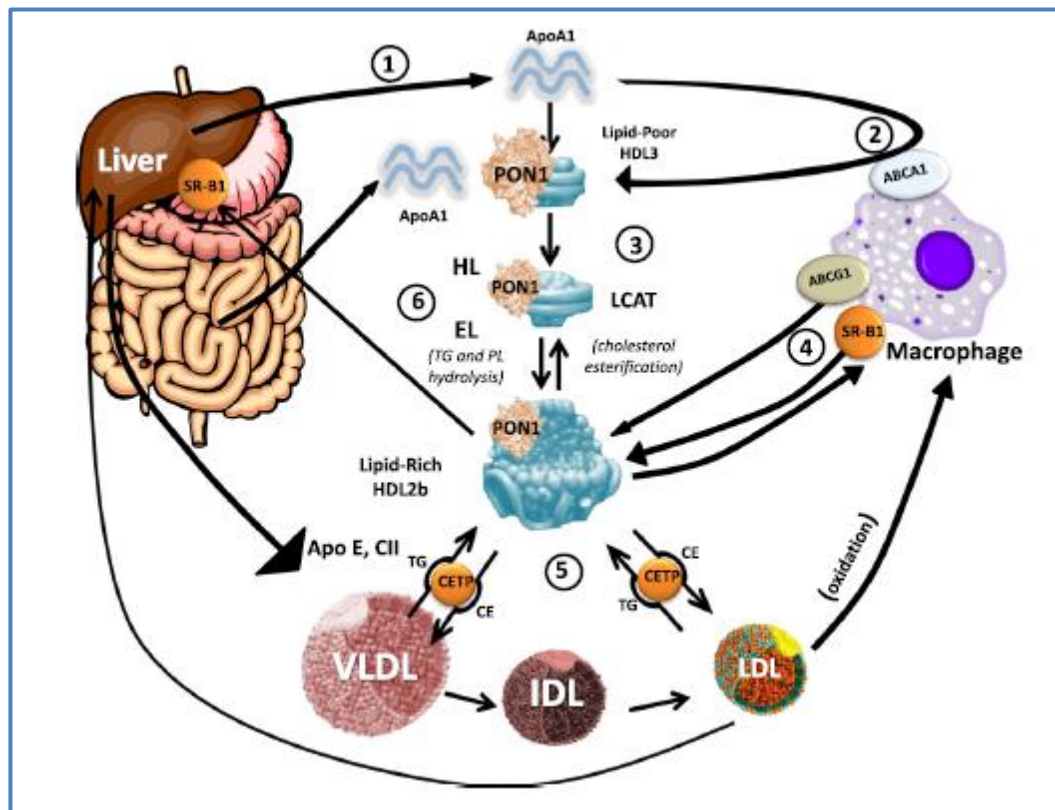
mengetahui mengenai PON2 dan PON3 masih relatif sedikit (Precourta et al., 2005).



PON1 merupakan enzim *calcium-dependent* esterase yang mengkatalisis reaksi hidrolisis senyawa-senyawa organofosfat. Enzim ini banyak terdapat pada jaringan-jaringan hati, ginjal, usus, dan serum dan berikatan terutama dengan partikel HDL. Namun PON1 dalam jumlah yang sedikit ditemukan juga pada VLDL dan kilomikron (Gugliucci and Menini, 2015). PON1 merupakan protein yang terdiri dari 354 asam amino dengan berat molekul 354 kDa. Enzim ini terdapat pada mamalia, namun tidak ditemukan pada ikan, burung dan hewan invertebrate. PON1 berasal dari kata *paraoxon* yaitu salah satu senyawa organofosfat yang dihidrolisis oleh PON1. Senyawa organofosfat merupakan senyawa yang toksik terhadap enzim-enzim esterase lainnya seperti *acetylcholinesterase* dan *pseudocholinesterase*, sehingga enzim ini melindungi system saraf pada tubuh akibat paparan senyawa organofosfat (Li *et al.*, 2003).

Peranan PON1 pada metabolisme lemak dikaitkan dengan proses aterosklerosis. Paraoxonase, mediator kunci dari fungsi antioksidan HDL. Aktivitas antioksidan HDL sebagian besar merupakan kontribusi dari enzim PON1-nya. Lebih jauh, beberapa penelitian epidemiologi memberikan bukti persuasif peran PON1 sebagai ateroprotektif melalui penghambatan oksidasi LDL dan pembentukan lesi aterosklerosis (Mackness and Mackness, 2013).





Gambar 2. PON1, Maturasi HDL dan Reverse Cholesterol Transport (RCT) (Gugliucci and Menini, 2015)

Percobaan pada mencit transgenic PON1 menunjukkan penurunan lesi atherosklerosis (Tward *et al.*, 2002), sebaliknya pada mencit yang minim PON1 dalam serumnya rentan terhadap atherosclerosis (Shih *et al.*, 1998). Jumlah dan aktivitas PON1 dalam plasma secara signifikan berpengaruh terhadap risiko terkena penyakit kardiovaskular akibat aterosklerosis. Kemungkinan besar ini dimediasi oleh sifat antioksidan pada LDL dan / atau makrofag. Efek HDL dalam

meningkatkan peroksidasi lipid LDL dipertahankan lebih lama daripada antioksidan dan karena itu bisa lebih protektif. Saat ini penelitian-penelitian sudah sampai pada tahapan pemahaman fungsi biokimia dasar



PON1 dan penemuan kemungkinan modulator dari aktivitasnya. PON1 menghidrolisis hidroperoksida lipid dan merupakan laktonase yang poten. Salah satu substrat alami adalah tiolakton homocysteine, mediator dalam kerusakan LDL yang berhubungan dengan hyperhomocysteinemia. Studi kasus-kontrol aktivitas PON1 dan penyakit jantung koroner (PJK) telah menunjukkan hubungan yang jelas antara PJK dan aktivitas PON1 serum rendah. Hubungan ini telah diperkuat lebih lanjut oleh publikasi dari studi prospektif pertama yang menunjukkan aktivitas PON1 serum rendah yang merupakan prediktor independen dari peristiwa CHD baru. Kegiatan PON1 bisa menjadi target untuk intervensi farmakologis. PON1 juga menurun selama peradangan dan bersifat atheroprotektif pada model hewan hiperkolesterolemia (Gugliucci and Menini, 2015).

5. Penelitian tentang senyawa fenol dari tumbuhan dan enzim paraoxonase 1 (PON1)

Penelitian *in vitro* yang dilakukan of Gouedard dkk menunjukkan bahwa senyawa polifenol menyebabkan peningkatan ekspresi mRNA PON1 (Gouedard dkk, 2004). Polifenol dari buah delima juga meningkatkan ekspresi mRNA enzim PON1 dan melindungi HDL dan LDL dari oksidasi (Khateeb *et al.*, 2010). Penelitian di China berupa suplementasi antosianin dari blueberry pada 122 subyek hiperkolesterolemik meningkatkan konsentrasi HDL, menurunkan konsentrasi LDL, meningkatkan aktivitas enzim PON1 dan meningkatkan kolesterol (Zhu *et al.*, 2014). Martini *et al.* (2017) dalam review 76

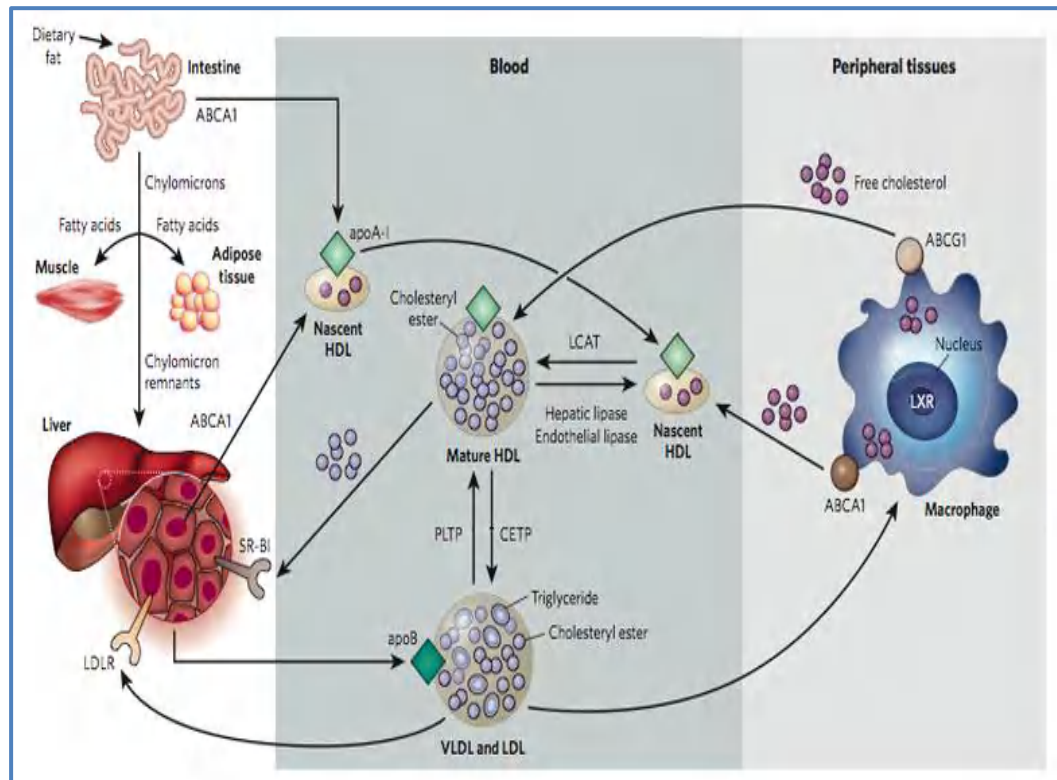


artikel penelitian yang dipublikasi antara tahun 2000 sampai 2016 dimana 11 merupakan penelitian *in vitro*, 44 pada hewan coba dan 26 adalah penelitian eksperimental pada manusia, melaporkan bahwa senyawa polifenol berperan penting dalam modulasi enzim PON1 dan selanjutnya mencegah oksidasi HDL dan LDL.

6. Adenosin triphosphate (ATP) binding cassette transporter A1 (ABCA1)

ABCA1 merupakan protein integral pada membrane sel yang terdiri dari 2261 asam amino, dan merupakan bagian dari transporter ABC yang menggunakan ATP sebagai sumber energi dalam transport lemak dan metabolit-metabolit lainnya. ABCA1 terdiri dari dua bagian yang sama yang dihubungkan dengan ikatan kovalen. Setiap bagian memiliki sebuah NBD (*nucleotide binding domain*) yang mengandung 2 peptida yang dikenal dengan nama Walker A dan Walker B yang selalu ditemukan pada protein yang menggunakan ATP. ABCA1 mempunyai domain transmembran yang terdiri dari enam heliks. ABCA1 baik secara langsung maupun tidak langsung memediasi transport kolesterol dan fosfolipid dari sel-sel perifer ke sel hati (Oram 2003). Fungsi ABCA1 sebagai eksporter lemak dari sel diketahui setelah ditemukannya suatu keadaan yang disebut sebagai penyakit Tangier dimana ketiadaan gen ABCA1 menyebabkan defisiensi berat HDL sehingga terjadi penimbunan sterol makrofag jaringan. (Oram, 2003).





Gambar 3. ABCA1, ABCG1, SRBI, LCAT, dan CETP dalam Reverse Cholesterol Transport (Rader and Daugherty, 2008)

HDL merupakan molekul yang berperan penting dalam transport balik kolesterol (*Reverse Cholesterol Transport = RCT*) dalam membersihkan lemak di perifer untuk dibawa ke hati dan jaringan yang membutuhkan kolesterol. HDL / *Apo A1 lipid poor lipoprotein* mengambil kolesterol ester pada sel-sel perifer (termasuk makrofag *foam cell*) melalui ikatan dengan *ATP-Binding Cassette Protein A1 (ABC A1)* pada sel makrofag (Boes *et al.*, 2009; Burke *et al.* 2010; Ishigami *et al.*, 2018).

adalah salah satu transporter lemak yang menyalurkan kelebihan kolesterol dari sel perifer membentuk HDL yang akan membawanya ke



hati untuk dikeluarkan melalui empedu dan proses lainnya. ABCA1 menyalurkan kolesterol dari sel perifer ke molekul Apo-A1 *lipid poor* membentuk *nascent HDL* (Oram 2002; Ishigami *et al.*, 2018). Selanjutnya *nascent HDL* akan terus mengambil lemak di perifer dengan ikatan pada transporter lain diantaranya ABCG1 dan SRB1 (Yvan-Laurent *et al.*, 2010; Shen *et al.*, 2018).

7. Penelitian tentang senyawa fenol dari tumbuhan dan ABCA1

Beberapa penelitian membuktikan peranan senyawa-senawa polifenol tumbuhan dalam meningkatkan konsentrasi dan ekspresi transporter lemak ABCA1 antara lain: (1) Penelitian *in vitro* pada makrofag mencit membuktikan bahwa senyawa flavonoid quercetin menyebabkan peningkatan ekspresi mRNA ABCA1 dan menyebabkan peningkatan efflux kolesterol dari makrofag ke HDL (Chang *et al.*, 2012); (2) Ekstrak daun *Hisbiscus sabdariffa* secara *in vitro* mengurangi oksidasi LDL dan pembentukan sel busa melalui jalur transporter ABCA1 (Chen *et al.*, 2013); (3) Erythrodiol sebagai komponen senyawa dalam minyak zaitun meningkatkan ekspresi mRNA ABCA1 secara *in vitro* (Wang *et al.*, 2017); dan (4) Penelitian pada 13 pasien pre hipertensi dengan desain *randomised controlled cross-over trial* menunjukkan bahwa pemberian minyak zaitun dengan konsentrasi senyawa polifenol yang tinggi (956

menyebabkan peningkatan konsentrasi ABCA1, SRB1, PPAR α ,



PPAR γ , PPAR δ and CD36 dibandingkan dengan pemberian minyak zaitun dengan kandungan polifenol sedang (289 mg/kg)(Farras *et al.*, 2013).

B. Buni (*Antidesma bunius*)

1. Deskripsi

Tanaman buni merupakan tanaman asli Asia Tenggara dan Australia. Tumbuh sebagai tanaman liar di hutan maupun dijadikan sebagai tanaman pekarangan dengan tinggi sekitar 3 sampai 8 meter, bahkan bisa mencapai 30 meter. Dapat tumbuh pada ketinggian 0 sampai 1200 m di atas permukaan laut. Kayu tanaman buni termasuk kuat, dan merupakan tanaman yang biasa digunakan untuk reforestasi hutan karena kemampuan akar yang cukup kuat untuk menahan air. Serat kayu cukup kuat dan telah diteliti untuk membuat kertas dan karton. Daun tanaman buni digunakan sebagai penawar bisa ular, dan dari fungsi inilah nama *Antidesma bunius* berasal. (Orwa, 2009).

Di Indonesia penduduk menyebut buah ini dengan beberapa nama: di Sunda disebut *huni* di Jawa disebut *wuni*; di Sulawesi Selatan di kenal dengan nama bu'ne; penduduk Malaysia mengenal buni dengan sebutan *buni* atau *berunai*; di Filipina disebut *bignai*, di Thailand *mao luang*, di Laos *kho lien tu*; di Vietnam *choi moi*; penduduk Aborigin di Queensland menyebutnya *moi-kin* dan *chunka*; dalam bahasa Inggris dikenal dengan nama *bignay fruit*, *Chinese laurel*, *currant tree*, *nigger's cord*, dan *under tree* (Orwa 2009).



Buah buni berukuran kecil dengan diameter sekitar 8 mm dengan berat rata-rata per buah buni yaitu 0,64 gram dan bergerombol seperti buah anggur Orwa, 2009; Butkhup, 2008b). Buah buni mirip dengan cranberry, pada saat mentah berwarna hijau kekuningan kemudian berubah menjadi merah terang dan pada saat matang berwarna ungu kehitaman dengan rasa yang cukup asam dan sedikit manis. Buah buni dapat dimakan seperti buah segar lainnya. Di beberapa tempat di Indonesia, konsumsi dan pengolahan buah buni masih mengikuti kebiasaan turun temurun antara lain dibuat rujak, dan campuran dalam masakan ikan. Namun secara umum buah ini relatif belum dikonsumsi secara luas seperti buah mangga, papaya dan jambu, karena rasanya yang sedikit asam dan bagi beberapa orang meninggalkan rasa sepat di lidah. (Orwa, 2009).

2. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman buni (Orwa, 2009)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malpighiales
Family	: Phyllanthaceae
Genus	: Antidesma
Species	: <i>Antidesma bunius</i>





Gambar 4. Buah buni (*Antidesma bunius*) (Orwa, 2009)

3. Penelitian Pada Tanaman Buni

Beberapa penelitian mengenai kandungan tanaman buni telah dilakukan di berbagai negara. Di Thailand, penelitian oleh Butkhup dan Samappito (2008) menemukan bahwa buah buni mempunyai kandungan polifenol terutama golongan flavonoid yaitu catechin, procyanidin B1 dan procyanidin B2 yang cukup tinggi (Butkhup and Samappito, 2008; Samappito and Butkhup, 2008b). Selain flavonoid, buah buni juga mengandung cukup banyak asam fenol (organic) dengan komponen utama: asam tartrat, asam askorbat dan asam sitrat dan asam benzoat

Samappito and Butkhup, 2008a).



Jika dibandingkan dengan penelitian Butkhup dan Samappito (2008a) yang menemukan bahwa kandungan antosianin buah buni yang diekstrak menggunakan pelarut methanol dalam air yang ditambahkan dengan HCl 0,1 M yaitu 141,96 mg/100 gram buah buni segar, maka penelitian oleh Amelia dkk memperlihatkan bahwa ekstraksi menggunakan etanol dan 3% asam sitrat menghasilkan konsentrasi antosianin yang paling tinggi yaitu 510 -580 mg/100 gram buah buni segar , disusul oleh pelarut air ditambah 3% asam sitrat yaitu sekitar 500 mg/ 100 gram buah buni segar. Penggunaan asam kuat HCl untuk mengatur keasaman justru memberikan hasil ekstrak buah buni dengan kandungan antosianin yang rendah yaitu 80 mg/ 100 gram buah segar (Butkhup and Samappito, 2011; Amelia dkk, 2013).

C. Senyawa-senyawa Fenol Dari Tumbuhan (*Plant Phenolics*)

Seperti diketahui metabolit primer pada tumbuhan seperti gula, asam amino, asam lemak, dan asam nukleat, diperlukan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Sedangkan metabolit-metabolit sekunder berfungsi untuk menjaga 'plant survival' dalam menghadapi perubahan-perubahan iklim dan cuaca. Polifenol merupakan senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan. Terdapat beberapa ribu

golongan fenol yang dihasilkan oleh tumbuhan. Secara logi, senyawa fenol dari tumbuhan didefinisikan sebagai "Metabolit-



metabolit sekunder pada tumbuhan yang terdiri dari sedikitnya dua cincin fenil yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil, termasuk derivat-derivatnya (contohnya: golongan ester dan glikosida), yang dihasilkan melalui jalur shikimate/ phenylpropanoid, yang masing-masing memenuhi serangkaian fungsi fisiologis pada tumbuhan” (Lattanzio, 2013).

Senyawa-senyawa fenol terdiri dari bentuk-bentuk monomer, dimer, dan polimer

Berdasarkan struktur dan jumlah cincin aromatikny, senyawa fenol diklasifikasikan menjadi beberapa kelas:

1. C₆ (*simple phenol, benzoquinones*),
2. C₆—C₁ (*phenolic acid*),
3. C₆—C₂ (*acetophenone, phenylacetic acid*),
4. C₆—C₃ (*hydroxycinnamic acid, coumarin, phenylpropanes, chromones*),
5. C₆—C₄ (*naphthoquinones*),
6. C₆—C₁—C₆ (*xanthonnes*),
7. C₆—C₂—C₆ (*stilbenes, anthraquinones*),
8. **C₆—C₃—C₆ (*flavonoids, isoflavonoids, neoflavonoids*)**,
9. (C₆—C₃—C₆)_{2,3} (*bi-, triflavonoids*),
10. (C₆—C₃)₂ (*lignans, neolignans*),
11. (C₆—C₃)_n (*lignins*),
2. (C₆)_n (*catechol melanins*), dan
3. (C₆—C₃—C₆)_n (*condensed tannins*).



1. Senyawa flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan senyawa golongan bio-polifenol terbesar, dengan struktur dasar berupa dua buah cincin aromatis yang dihubungkan oleh jembatan dengan tiga karbon. Senyawa flavonoid terdiri dari beberapa subklas yang dibedakan berdasarkan oleh jembatan yang menghubungkan antara kedua cincin aromatis dan juga oleh derajat oksidasi setiap jembatan tersebut. Subklas tersebut antara lain : 1. Flavanol (monomer : catechin, epicatechin; oligomer dan polimer yaitu proantocianidin yang biasa juga disebut tannin) senyawa ini yang banyak ditemukan pada tanaman teh, coklat, buah anggur, dan wine; 2. Flavanon misalnya hesperetin pada tanaman jeruk; 3. Flavon contohnya luteolin pada tanaman thyme, rosemary, dan oregano; 4. Isoflavon misalnya genistein pada kedelai; 5. Flavonol contohnya quercetin pada bawang merah dan kebanyakan buah dan sayuran; 6. Anthocyanin contohnya cyanidin pada buah beri-beriaian berwarna merah, biru, dan ungu.(De Pasqual *et al.*, 2011)

2. Antosianin (Teissedre, 2013; Bhagwat *et al.*, 2013; De-Pascual *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2006)

Antosianin merupakan *water-soluble pigment* yang berwarna merah, ungu, atau biru tergantung pH. Antosianin termasuk senyawa dalam kelas flavonoid. Antosianin merupakan bentuk glukosida antosianidin. Pada tumbuhan antosianin berfungsi sebagai



“sunscreen” yang melindungi sel-sel tumbuhan dari kerusakan akibat cahaya dengan menyerap sinar UV biru-hijau, sehingga melindungi jaringan dari foto inhibisi atau *hight-light stress*. Antosianidin banyak terdapat dalam tumbuhan berwarna seperti anggur dan tanaman berry. Antosianidin yang utama ada 6 yaitu: cyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin dan petunidin. Namun antosianidin ini biasanya ditemukan dalam bentuk glikosidanya yaitu antosianin. Antosianidin dapat berkonyugasi dengan asam-asam organik membentuk asam fenol. Misalnya konyugasi dengan asam hidroksisinamat menghasilkan asam p-kumarat dan asam kafeat. Monomer, dimer dan dari golongan flavonoid lain dapat menghasilkan derivat antosianidin. Contohnya catechin dan epicatechin yang merupakan monomer dari tannin (flavan 3 ols) membentuk polimer procyanidin, sementara gallocatechin dan epigallocatechin dapat membentuk prodelphinidin. Tannins merupakan subkelas flavonoid yang mempunyai jumlah senyawa paling beragam.

D. Radikal Bebas Sebagai Pemicu Penyakit Jantung, Dan Pembuluh Darah

Radikal bebas secara alamiah dihasilkan dalam proses fisiologis dalam tubuh. Jumlah radikal bebas akan bertambah jika tubuh bekerja melebihi kapasitasnya. Selain itu radikal bebas ini dapat juga berasal dari makanan yang tidak sehat, bahan kimia, paparan sinar ultraviolet, asap

dan polusi udara. Radikal bebas yang diantaranya disebut juga oksigen reaktif (Reactive Oxygen Species = ROS) dan spesies



nitrogen reaktif (Reactive Nitrogen Species = RNS) karena sifatnya yang tidak stabil akan berusaha menstabilkan dirinya melalui proses oksidasi yang pada akhirnya dapat merusak jaringan tubuh. Pada keadaan normal radikal bebas ini dinetralisir oleh antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh sendiri (Andreyev *et al.*, 2005). Antioksidan endogen ada yang bekerja secara langsung terhadap radikal bebas di antaranya yaitu enzim *Superoxide Dismutase = SOD*, *Gluthathione reductase/peroxidase*, *Catalase*, dan yang bekerja secara tidak langsung yaitu dengan mengurangi potensi oksidan seperti enzim-enzim golongan *quinone reductase* yang mengurangi potensi reaksi yang menghasilkan radikal bebas (Hollman *et al.*, 2011). Namun jika jumlah radikal bebas dalam tubuh berlebihan, tubuh tidak dapat menetralsir semua radikal bebas tersebut. Oleh karena itu diperlukan antioksidan tambahan dari luar tubuh untuk menetralsir radikal bebas ini agar tidak menyebabkan kerusakan di dalam tubuh. Penelitian-penelitian telah menunjukkan efek antioksidan berbagai tumbuh-tumbuhan. Senyawa yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan yang mempunyai efek antioksidan adalah senyawa golongan polifenol. Dan bagian terbesar senyawa polifenol dengan sifat antioksidan adalah golongan flavonoid. (De Pasqual-Teresa *et al.*, 2011)

Pada anthocyanin, struktur fenoliknyalah yang berperan dalam aktivitas antioksidan, yaitu kemampuan gugus fenol tersebut untuk

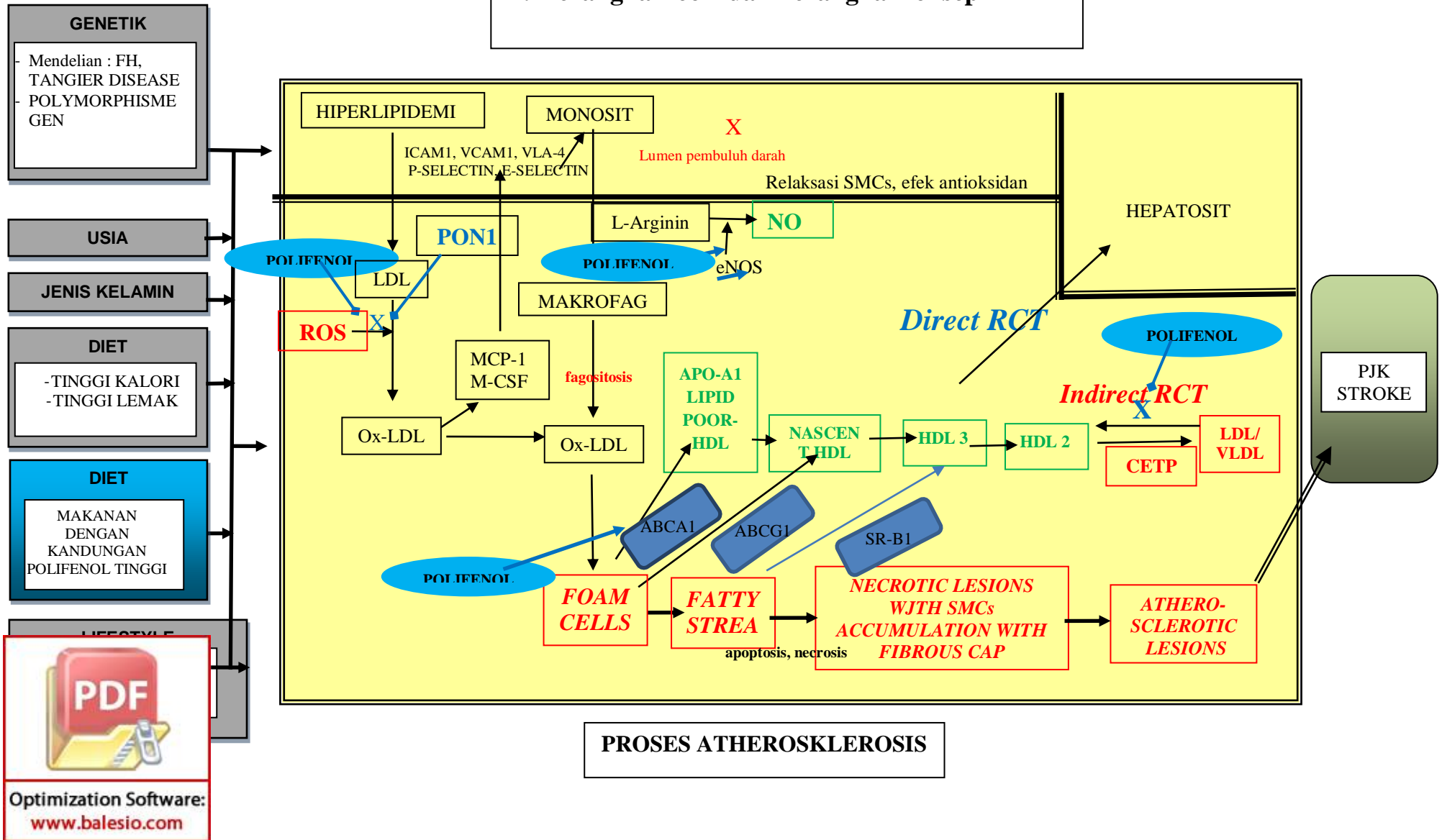
menetralsir radikal bebas (ROS=Reactive Oxygen Species) seperti superoksida (O_2^-), singlet oksigen (1O_2), peroksida (ROO^{\cdot}), hydrogen

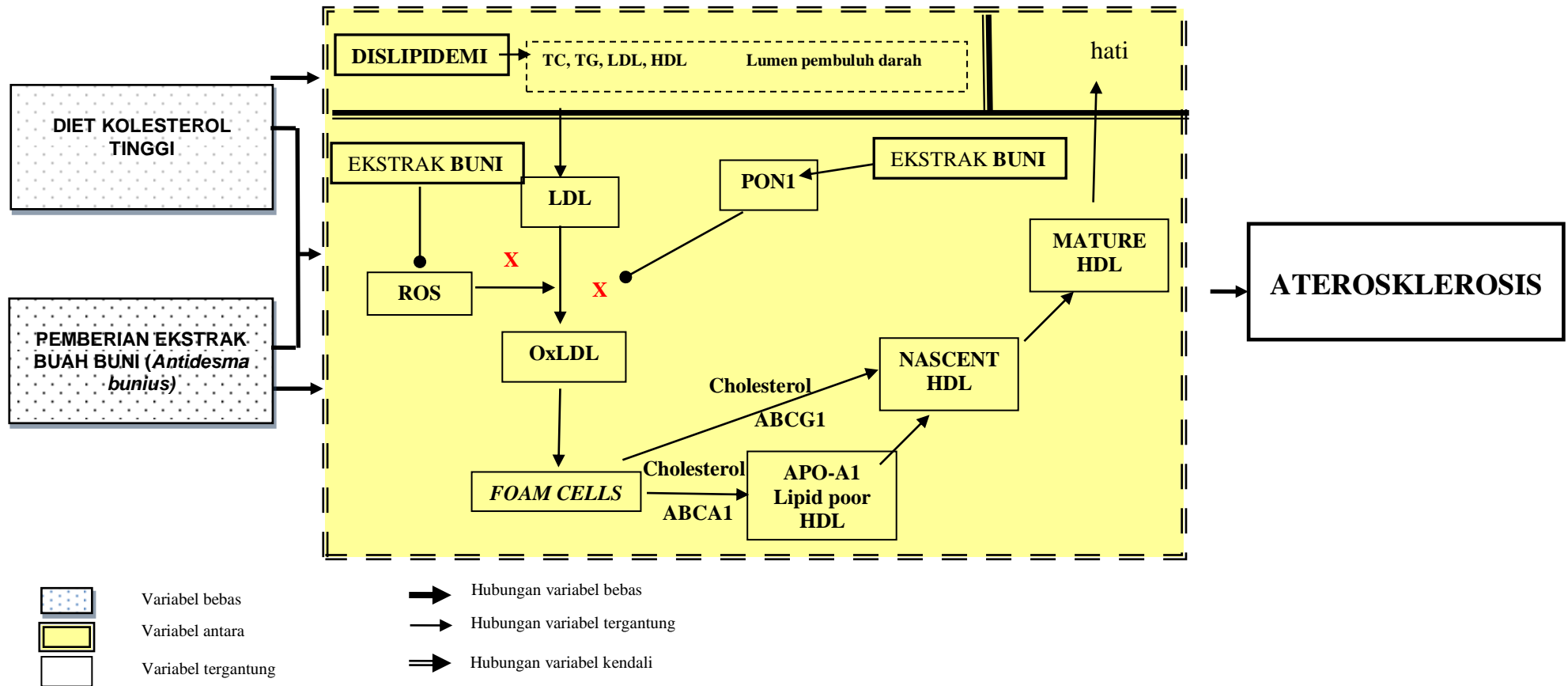


peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksi (OH.). Kemampuan antioksidan anthocyanin ini telah dibuktikan dalam berbagai penelitian. (Wang and Stoner, 2008).



E. Kerangka Teori dan kerangka Konsep





E. Hipotesis Penelitian

1. Pemberian ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) menurunkan konsentrasi total kolesterol pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak.
2. Pemberian ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) meningkatkan konsentrasi kolesterol HDL pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak.
3. Pemberian ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) menghambat oksidasi LDL pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak.
4. Pemberian ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) meningkatkan ekspresi mRNA enzim paraoxonase 1 (PON1) pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak
5. Pemberian ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) dapat meningkatkan ekspresi mRNA ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1) pada mencit BALB/c yang diberi asupan tinggi lemak.

F. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Pemberian ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*).



2. Variabel terikat

Mekanisme yang memperantarai efek penghambatan proses aterosklerosis oleh kandungan ekstrak buah buni (*Antidesma bunius*) dan statin yang diuji meliputi aktivitas hipolipidemik yang dilihat dari profil fraksi lipid darah (trigliserida, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol), konsentrasi oxidized-LDL, ekspresi mRNA enzim paraoxonase 1 (PON1) dan transporter ABCA1.

G. Defenisi Operasional Variabel

1. Ekstrak buah buni

Ekstrak buah buni diperoleh dengan mengekstraksi buah buni dengan pelarut etanol 70% dalam suasana asam (Nicoaue *et al.*, 2007).

2. Dosis ekstrak buah buni & simvastatin yang diberikan

Untuk buah buni sendiri belum pernah dilakukan penelitian intervensi baik pada hewan coba maupun manusia. Penentuan dosis ekstrak buah buni yang diberikan berdasarkan acuan penelitian sebelumnya pada tanaman dengan acuan kandungan antosianin. Penelitian-penelitian intervensi menggunakan jus buah-buahan, ekstrak buah dalam bentuk serbuk dengan kandungan antosianin si. Penelitian di China menggunakan ekstrak beras hitam (*Oryza dica L*) pada mencit transgenic ApoE deficient (ApoE^{-/-}) dengan



dosis 300 mg/kg BB/ hari dengan kandungan antosianin pada ekstrak tersebut yaitu 42,3% (130 mg antosianin/ kgBB/hari) memperlihatkan efek protektif terhadap plak aterosklerosis (Xia *et al.*, 2006). Pada penelitian yang dilakukan oleh Mazza *et al.*(2002) pada manusia menggunakan 100 gram ekstrak blueberry liar yang mempunyai kandungan 1200 mg antosianin. Sebaliknya pada penelitian menggunakan jus cranberry kandungan antosianin pada jus yang diberikan pada subyek manusia hanya 2,1 mg (Duthie *et al.*, 2006) mungkin hal ini disebabkan karena kandungan zat aktif pada cranberry tidak hanya difokuskan pada antosianin, namun juga pada zat aktif lainnya. Pada penelitian-penelitian sebelumnya ditemukan kadar antosianin dalam 100 gram buah buni segar berkisar antara 302.03 - 496.26 mg (Bukhari dkk, 2015) dan 500 - 580 mg (Amelia dkk, 2013). Pada penelitian ini digunakan dosis ekstrak buah buni 300 mg/kgBB mencit. Sebagai kontrol positif digunakan simvastatin dengan dosis 6 mg/kgBB/hari (Mufidah, 2011; Nair and Jacob, 2016; Sparrow *et al.*, 2001)

3. Kandungan total fenol ekstrak buah buni

Kandungan total senyawa fenol pada ekstrak buah buni yang diukur berdasarkan metode Folin-Ciocalteu yang dinyatakan dalam satuan persen.



4. Kandungan total antosianin ekstrak buah buni

Kandungan senyawa antosianin pada ekstrak buah buni yang diukur berdasarkan metode pH diferensial yang dinyatakan dalam satuan persen.

5. Aktivitas antioksidan *in vitro* ekstrak buah buni

Kemampuan senyawa aktif di dalam ekstrak buah buni untuk mengikat radikal bebas DPPH (1,1, diphenyl-2-picryl-hydrazil), berdasarkan pengukuran serapan senyawa. Anti radikal akan mendonorkan elektronnya kepada radikal DPPH yang semula berwarna ungu akan berubah menjadi senyawa tidak berwarna. Kemampuan antioksidan ekstrak buah buni dinyatakan dalam satuan *ppm (part per million)* IC_{50} (lihat pada bab metode penelitian).

6. Diet tinggi lemak

Diet tinggi lemak (*High fat diet = HFD*) adalah pemberian diet dengan proporsi lemak tinggi. Salah satu tujuan pemberian diet lemak tinggi (HFD) pada hewan coba adalah untuk menginduksi proses aterosclerosis pada pembuluh darah.

7. Profil lipid darah

Profil fraksi lipid darah hewan uji yang terdiri dari kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL, dan kolesterol LDL, dengan satuan ng/dl diukur menggunakan *mouse ELISA kit* untuk masing-masing komponen lipid.



8. Kadar oxidised-LDL

Kadar oxidised LDL adalah konsentrasi LDL yang teroksidasi pada darah hewan uji yang diukur menggunakan mouse ELISA kit.

9. Ekspresi mRNA enzim Paraoxonase 1 (PON1)

Ekspresi mRNA enzim paraoxonase 1 (PON1) diukur menggunakan metode RT-PCR.

10. Ekspresi mRNA transporter ATP Binding cassette A1 (ABCA1)

Ekspresi mRNA enzim paraoxonase 1 (PON1) diukur menggunakan metode RT-PCR.

