

TESIS

EFEKTIVITAS PEMBERIAN JUS TOMANJER TERHADAP PERUBAHAN PROFIL LIPID DAN PENURUNAN KADAR MALONDIALDEHID TIKUS PUTIH (*Rattus Norvegicus*) GALUR WISTAR JANTAN YANG DIBERI MINYAK JELANTAH



MOHAMAD RIZKI LAMATENGGO
P062221026



KONSENTRASI BIOKIMIA DAN BIOLOGI MOLEKULAR
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDIN
2024

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN JUS TOMANJER TERHADAP
PERUBAHAN PROFIL LIPID DAN PENURUNAN KADAR
MALONDIALDEHID TIKUS PUTIH (*Rattus Norvegicus*) GALUR
WISTAR JANTAN YANG DIBERI MINYAK JELANTAH**

TESIS

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

MOHAMAD RIZKI LAMATENGGO

P062221026

Kepada

SEKOLAH PASCASARJANA

PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

TESIS

EFEKTIVITAS PEMBERIAN JUS TOMANJER TERHADAP
PERUBAHAN PROFIL LIPID DAN PENURUNAN KADAR
MALONDIALDEHID TIKUS PUTIH (*Rattus Norvegicus*) GALUR
WISTAR JANTAN YANG DIBERI MINYAK JELANTAH

MOHAMAD RIZKI LAMATENGGO

P062221026

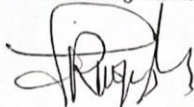
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada tanggal Tujuh
bulan Agustus tahun Dua Ribu Dua Puluh Empat dan dinyatakan telah
Memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Ilmu Biomedik
Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama,



Dr. dr. Syahrirujita, M.Kes. Sp.THT-KL
NIP. 196812301998032001

Pembimbing Pendamping,

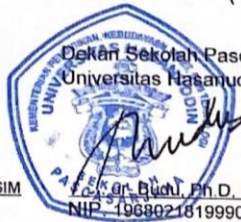


Dr. dr. Ika Yustitia, M.Sc
NIP. 197701212003122003

Ketua Program Studi S2
Ilmu Biomedik,



Prof. dr. Rahmawati Minhalat, Ph.D. Sp.PD-KHOM.FINASIM
NIP. 196802181999032002



Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin

Prof. dr. Budhi, Ph.D. Sp.M(K), M.Med. Ed
NIP. 196802181999032002

**PERNYATAAN KEASILIAN TESIS DAN
PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Efektivitas Pemberian Jus Tomanjer Terhadap Profil Lipid dan Penurunan Kadar Malondialdehid Tikus Putih (*Rattus Norvergicus*) Galur Wistar Jantan yang Diberi Minyak Jelantah" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing Dr. dr. Syahrijuita, M.Kes, Sp.THT-KL., sebagai Pembimbing Utama dan Dr. dr. Ika Yustisia, M.SC., sebagai Pembimbing Pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Gazzetta Medica Italiana, Arch Sci Med-5656 Vol 183, DOI: 10.23736/S0393-3660.24.05656-0 sebagai artikel dengan judul "Effectiveness of Grape, tomato, and orange juice combination in improving lipid profile and reducing malodialdehyde: *in-vivo* study in dyslipidemia rat model". Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, Agustus 2024

Yang menyatakan,



Mohamad Rizki Lamatenggo

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Puji Syukur kehadiran Allah SWT., yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas limpahan berkat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini yang berjudul **“EFEKTIVITAS PEMBERIAN JUS TOMANJER TERHADAP PERUBAHAN PROFIL LIPID DAN PENURUNAN KADAR MALONDIALDEHID TIKUS PUTIH (*Rattus Norvegicus*) GALUR WISTAR JANTAN YANG DIBERI MINYAK JELANTAH”** yang sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan studi di Program Studi Ilmu Biomedik, Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran dan kritikan yang membangun dari segala pihak. Penulis juga menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih yang tulus kepada **Dr. dr. Syahrjuita, M.Kes, Sp.THT** selaku Pembimbing Utama dan **Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc**, selaku Pembimbing Pendamping, serta kepada Tim Penguji tesis saya **Dr. dr. Nurahmi, M.Kes, Sp.PK(K)**, **dr. Ilhamuddin Azis, M.Si, M.Kes, Ph.D, Sp.KJ**, dan **Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok (K)** yang telah memberi kesediaan waktu, saran serta bimbingan sejak masa perkuliahan hingga penyusunan hasil penelitian ini.

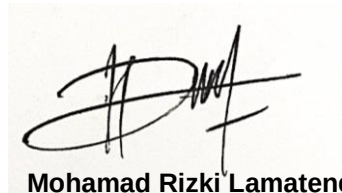
Pada kesempatan ini pula penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Orang tua tercinta, atas doa tulus, kasih sayang, kesabaran, dan dukungan semangat maupun materi selama ini.
2. Kedua mertua tercinta, atas doa tulus, kasih sayang, kesabaran, dan dukungan semangat maupun materi selama ini
3. Istri dan kedua anak tercinta, atas doa tulus, dan yang selalu setia menemani pada setiap proses pendidikan
4. Kepala Laboran Laboratorium Hewan, Fakultas Olahraga dan Kesehatan Jurusan Farmasi, Universitas Negeri Gorontalo yang sudah banyak membantu dalam proses penelitian Tesis ini.
5. Dr. dr. Syahrjuita, M.Kes, Sp.THT-KL, selaku pembimbing utama sekaligus ketua konsentrasi kimia klinik yang senantiasa memberikan bantuan, bimbingan, motivasi dan dukungan kepada penulis sehingga tesis ini dapat terselesaikan.
6. Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc selaku pembimbing pendamping yang senantiasa memberikan bantuan, bimbingan, motivasi dan dukungan kepada penulis sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

7. Kepala Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS beserta staf yang telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel untuk penelitian ini.
8. Semua Dosen dan Staf Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang senantiasa memberikan bimbingan dan saran serta bantuan selama penulis menjalani masa perkuliahan sampai pada penyusunan tesis ini.
9. Seluruh keluarga tercinta yang tidak dapat penulis sebut satu persatu, yang senantiasa memberikan semangat, bantuan, motivasi pada penulis dalam menyelesaikan proses pendidikan magister ini.
10. Teman – teman S2 Ilmu Biomedik angkatan 2022, yang saya banggakan atas semua ilmu dan bantuannya selama proses perkuliahan.
11. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis tulis satu persatu yang telah memberikan dukungan dan bantuan yang sangat berarti kepada penulis.

Akhir kata penulis ucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil secara langsung maupun tidak langsung. Penulis berharap tesis ini dapat memberikan sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang Ilmu Biomedik khususnya konsentrasi Biokimia dan Biologi Molekuler di masa mendatang.

Makassar, 15 Agustus 2024



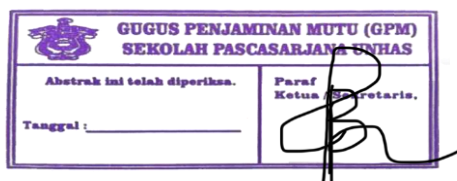
Mohamad Rizki Lamatenggo
Penulis

ABSTRAK

MOHAMAD RIZKI LAMATENGGO. Efektivitas Kombinasi Jus Anggur, Tomat, dan Jeruk dalam Meningkatkan Profil Lipid dan Mengurangi Malondialdehid: Studi In Vivo pada Model Tikus Dislipidemia (dibimbing oleh Syahrijuita Kadir, dan Ika Yustisia).

Minyak goreng, termasuk minyak goreng bekas, dapat memicu produksi radikal bebas. Antioksidan dalam buah-buahan dapat menstabilkan radikal bebas. Penelitian ini menyelidiki efek jus anggur, tomat, dan jeruk terhadap profil lipid dan kadar malondialdehid (MDA) secara in vivo. Desain eksperimen dilakukan pada 20 tikus *Rattus norvegicus* yang dibagi menjadi tiga kelompok: Kelompok P1 menerima 2 ml air suling, P2 menerima 2 ml minyak goreng bekas dan air suling, dan P3 menerima 2 ml minyak goreng bekas dan jus buah. Semua kelompok diberi perlakuan selama 14 hari. Profil lipid dan kadar MDA diukur menggunakan metode spektrofotometer. Kadar kolesterol kelompok P3 signifikan dibandingkan kelompok P2 ($58,20 \pm 8,23$ mg/dL vs. $139,75 \pm 107,88$ mg/dL, $p=0,043$) dan tidak signifikan dengan kelompok P1 ($58,20 \pm 8,23$ mg/dL vs. $54,00 \pm 2,91$ mg/dL, $p=0,992$). Kolesterol LDL pada P3 signifikan dibanding kelompok P2 ($26,60 \pm 9,07$ mg/dL vs. $115,00 \pm 7,87$ mg/dL, $p<0,001$), dan kelompok P1 tidak signifikan ($26,60 \pm 9,07$ mg/dL vs. $39,00 \pm 11,51$ mg/dL, $p=0,155$). Kolesterol TG pada P2 lebih tinggi dibandingkan P1 ($100,25 \pm 18,91$ mg/dL vs. $39,60 \pm 6,35$ mg/dL, $p=0,155$). Kadar MDA pada P3 signifikan dibanding kelompok P2 ($0,56 \pm 0,05$ mg/dL vs. $0,62 \pm 0,13$ mg/dL, $p<0,001$) dan tidak signifikan dengan P1 ($0,56 \pm 0,05$ mg/dL vs. $0,79 \pm 0,06$ mg/dL). Jus anggur, tomat, dan jeruk secara signifikan mengurangi kadar trigliserida, kolesterol LDL, dan MDA pada tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diberi makan minyak goreng.

Kata kunci: biopolimer, karbonisasi, kekeringan, nutrisi tanah, rhizosfer

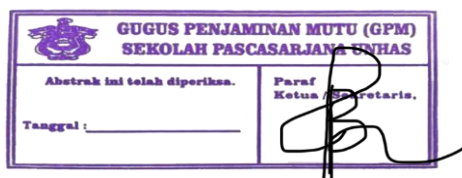


ABSTRACT

MOHAMAD RIZKI LAMATENGGO. Effectiveness of Grape, Tomato, and Orange Juice Combination in Improving Lipid Profile and Reducing Malondialdehyde: In Vivo Study in Dyslipidemia Rat Model (supervised by Syahrijuita Kadir and Ika Yustisia).

Cooking oil, including used cooking oil, can trigger the production of free radicals. Antioxidants in fruits can stabilize free radicals. This study investigates the effects of grape, tomato, and orange juice on lipid profile and malondialdehyde (MDA) levels in vivo. An experimental design was conducted on 20 *Rattus norvegicus* rats divided into three groups: Group P1 received 2 ml of distilled water, P2 received 2 ml of used cooking oil and distilled water, and P3 received 2 ml of used cooking oil and fruit juice. All groups were treated for 14 days. Lipid profile and MDA levels were measured using the spectrophotometer method. The cholesterol levels in group P3 were significantly different from those in group P2 (58.20 ± 8.23 mg/dL vs. 139.75 ± 107.88 mg/dL, $p=0.043$) and not significantly different from group P1 (58.20 ± 8.23 mg/dL vs. 54.00 ± 2.91 mg/dL, $p=0.992$). LDL cholesterol in P3 was significantly lower than in P2 (26.60 ± 9.07 mg/dL vs. 115.00 ± 7.87 mg/dL, $p<0.001$), and not significantly different from P1 (26.60 ± 9.07 mg/dL vs. 39.00 ± 11.51 mg/dL, $p=0.155$). TG cholesterol in P2 was higher than in P1 (100.25 ± 18.91 mg/dL vs. 39.60 ± 6.35 mg/dL, $p=0.155$). MDA levels in P3 were significantly different from those in P2 (0.56 ± 0.05 mg/dL vs. 0.62 ± 0.13 mg/dL, $p<0.001$) and not significantly different from P1 (0.56 ± 0.05 mg/dL vs. 0.79 ± 0.06 mg/dL). Grape, tomato, and orange juice significantly reduced triglyceride, LDL cholesterol, and MDA levels in male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) fed with cooking oil.

Keywords: biopolymer, carbonization, drought, soil nutrition, rhizosphere



DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMA KASIH.....	iii
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan penelitian.....	8
1.3.1 Tujuan Umum	8
1.3.2 Tujuan Khusus.....	8
1.4 Manfaat Penelitian	8
1.7 Konsep Penelitian	12
1.8 Hipotesis Penelitian.....	12
Gambar 14. Alur penelitian	14
BAB II METODE PENELITIAN.....	15
2.1 Tempat dan Waktu Penelitian	15
2.1.1 Waktu Penelitian	15
2.1.2 Lokasi Penelitian	15
2.2 Desain Penelitian	15
2.3.1. Populasi Penelitian	16
2.3.2. Sampel Penelitian	16
4.5 Variabel Penelitian	17
4.5.1 Identifikasi variabel	17
4.6 Hubungan antar variabel.....	17
4.6 Alat dan Bahan Penelitian	18
4.6.1 Alat penelitian	18
4.6.2 Bahan penelitian	18

4.7	Prosedur Penelitian.....	18
4.7.1	Prosedur pembuatan jus buah-buahan.....	18
4.7.2	Pembuatan minyak jelantah.....	18
4.7.3	Perlakuan hewan coba	18
4.7.4	Prosedur pemeriksaan profil lipid.....	20
4.7.5	Prosedur pemeriksaan MDA.....	21
BAB III	HASIL PENELITIAN	22
4.1	Karakteristik Awal Sampel Penelitian	22
4.2	Hasil Pengukuran Profil Lipid Pada Kelompok Perlakuan	22
4.3	Hasil Pengukuran Kadar MDA Pada Kelompok Perlakuan.....	24
BAB IV	PEMBAHASAN	26
4.1	Karakteristik Awal Sampel Penelitian	26
4.2	Perbedaan Kadar Profil Lipid Antar Kelompok Perlakuan	26
4.3	Perbedaan Kadar MDA Antar Kelompok Perlakuan	28
4.4	Keterbatasan Penelitian.....	29
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	30
5.1	Kesimpulan.....	30
5.2	Saran.....	30
DAFTAR PUSTAKA.....		31

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
1. Hasil pengukuran berat badan awal masing-masing kelompok	26
2. Hasil pengukuran profil lipid pada setiap kelompok perlakuan	27
3. Hasil pengukuran kadar MDA pada setiap kelompok perlakuan	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
1. Mekanisme perubahan profil lipid yang diinduksi minyak nabati yang dipanaskan Kerangka Teori	7
2. penghambatan farmakologis sumber spesies oksigen reaktif (ROS) spesifik (biru) dan strategi antioksidan tidak langsung (hijau)	8
3. Mekanisme antioksidan senyawa bioaktif	8
4. Peroksidasi lipid makanan dan polifenol yang bertindak sebagai antioksidan di dalam lumen lambung	9
5. Bioaktif utama polifenol	11
6. Kerangka teori	15
7. Kerangka konsep	16
8. Alur Penelitian	18
9. Skema rancangan penelitian	19
10. Hubungan antar variabel	21

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minyak goreng yang paling sering digunakan di Indonesia adalah minyak dari kelapa sawit. Minyak kelapa sawit cukup ideal dari segi harga dan ketersediaan (Kementrian Perdagangan RI, 2017). Rata-rata nasional konsumsi minyak goreng kelapa sawit per kapita per provinsi pada periode tahun 2017-2019 sebesar 8,69 kg/kapita/tahun (Sekretariat Jendral Pertanian, 2020). Ada kecenderungan tinggi masyarakat menggunakan kembali minyak goreng dalam memasak untuk menghemat biaya penyiapan makanan (Ilyas, 2018).

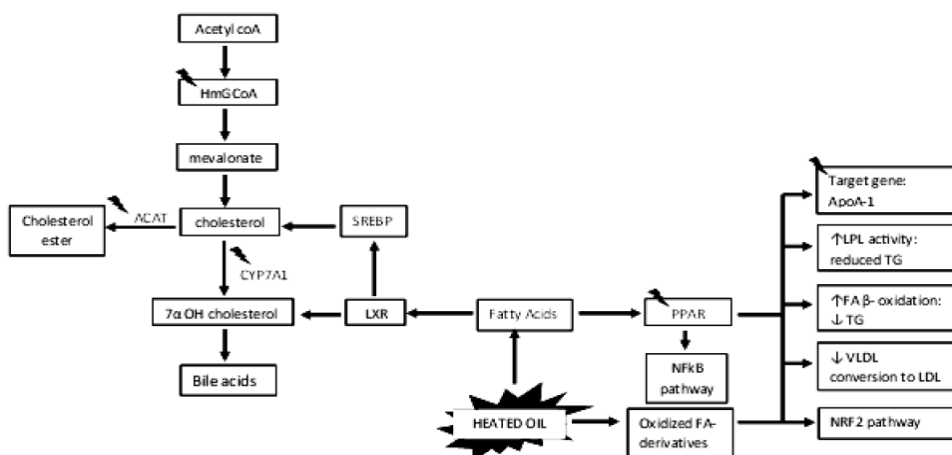
Minyak goreng yang digunakan berulang kali menghasilkan *saturated fatty acid* dan dapat berubah warna yang disebut sebagai minyak jelantah (Mustakim et al., 2020). Penggunaan minyak goreng secara kontinyu dan berulang-ulang pada suhu tinggi (160-180 °C) disertai adanya kontak dengan udara dan air pada proses penggorengan akan mengakibatkan terjadinya reaksi kimia seperti oksidasi berbagai asam lemak dan triasilgliserol, pembentukan senyawa polimer atau siklik, hilangnya senyawa volatil dan pembentukan hidrokarbon aromatik polisiklik. Selama proses pemanasan kandungan *unsaturated fatty acid* ganda minyak kelapa sawit menurun sedangkan *saturated fatty acid* meningkat (Szabo et al., 2022). Ketika derajat ketidakjenuhan asam lemak semakin besar, maka semakin rentan terhadap peroksidasi lipid (Subermaniam et al., 2014). Minyak sawit pada dasarnya bebas kolesterol, kaya antioksidan, dan mengandung asam lemak esensial yang berperan penting dalam menjaga kesehatan. Namun penggorengan berkali-kali menyebabkan oksidasi, polimerisasi, dan denaturasi minyak sehingga terjadi berubah ikatan rangkap pada minyak (Gupta et al., 2014).

Minyak jelantah merupakan limbah dari penggunaan minyak goreng. Penelitian pada model hewan, enzim antioksidan SOD dan GPx serta kandungan glutathione mengalami penurunan pada hewan yang diberi diet tinggi lemak dan kolesterol dibandingkan hewan yang diberi pakan normal minyak kelapa. Status antioksidan semakin menurun dengan pemberian minyak kelapa yang dipanaskan seperti yang ditunjukkan oleh penurunan aktivitas enzim antioksidan. Konsentrasi pengurangan glutathione di hati, jantung dan ginjal menurun secara signifikan pada hewan yang diberi makan lemak tinggi dan kolesterol yang diberi minyak kelapa bila dibandingkan dengan tikus yang diberi diet normal yang diberi minyak kelapa. Pemberian minyak kelapa yang dipanaskan dibandingkan dengan minyak kelapa segar secara signifikan menurunkan konsentrasi glutathione tereduksi pada hewan yang diberi makan kolesterol. Hiperkolesterolemia dapat menghasilkan spesies oksigen reaktif dan radikal bebas lainnya yang meningkatkan TBARS dan menurunkan aktivitas enzim SOD

dan GPx (Chacko and Rajamohan, 2018). Ketika minyak goreng dipanaskan pada suhu tinggi, produk beracun, seperti hidroperoksida dan aldehida, terbentuk, diserap oleh makanan, dan kemudian diserap ke dalam sistem pencernaan dan dimasukkan ke dalam sirkulasi sistemik setelah dikonsumsi. Radikal bebas yang dihasilkan selama proses penggorengan dapat merusak lipid dengan memicu peroksidasi lipid. Malondialdehid (MDA), salah satu produk akhir oksidasi sekunder utama dari PUFA peroksidasi (XF, Leong et al., 2012).

Peroksidasi lipid pada awalnya dapat dicegah dengan antioksidan. Namun pemanasan yang berulang-ulang pada akhirnya menurunkan kandungan antioksidan pada minyak. Akibatnya, sisa antioksidan dalam minyak tidak akan mampu memberikan efek perlindungan terhadap radikal bebas dan kerusakan oksidatif. Penurunan antioksidan alami seperti senyawa fenolik dan tokoferol diamati ketika minyak zaitun murni dan minyak bunga matahari dipanaskan berulang kali (Leong et al., 2015).

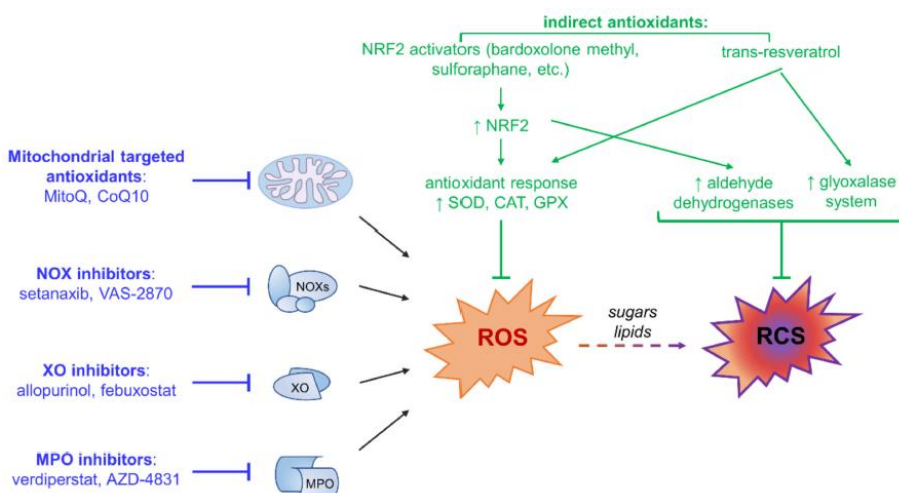
Pemanasan yang berulang-ulang dapat menyebabkan angka peroksida minyak berdampak negatif terhadap profil lipid darah (peningkatan kolesterol total dan LDL serta penurunan HDL darah) bahkan dapat menyebabkan hiperlipidemia. Hiperlipidemia kronis akan menyebabkan penumpukan LDL, sehingga dapat teroksidasi oleh efek radikal bebas yang mengaktifkan oksida nitrat. Oksidasi termal minyak goreng menghasilkan radikal bebas dimana penelitian pada tikus menunjukkan bahwa tikus yang diberi minyak jelantah terjadi peningkatan kadar kolesterol dalam darah (Perumalla Venkata and Subramanyam, 2016). Hasil studi menunjukkan bahwa tikus yang diberi makanan kaya lemak kolesterol secara signifikan mempengaruhi tingkat lipid dan status antioksidan pada hewan percobaan. Hasilnya menunjukkan bahwa pemanasan berulang pada minyak kelapa meningkatkan kadar lipid dan stres oksidatif pada tikus yang diberi makan kolesterol. Konsentrasi kolesterol HDL serum meningkat secara signifikan pada hewan yang diberi makan lemak dan kolesterol tinggi dibandingkan dengan hewan yang diberi makanan normal. (Adam et al., 2008) telah melaporkan bahwa terdapat tren peningkatan kolesterol total serum, kolesterol LDL, trigliserida dan tren penurunan kolesterol HDL pada hewan yang diberi minyak panas dan kolesterol. (Awney, 2011) mengamati bahwa tikus jantan yang diberi minyak kedelai teroksidasi termal mengalami peningkatan kadar kolesterol total dan LDL dengan penurunan kadar HDL.



Gambar 1. Mekanisme perubahan profil lipid yang diinduksi minyak nabati yang dipanaskan. Sumber: (Masbah et al., 2017)

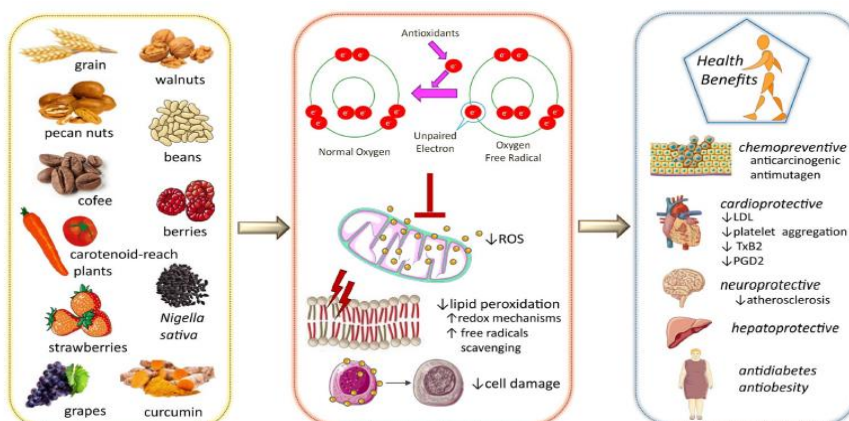
Degradasi oksidatif minyak nabati yang dipanaskan terbukti menghasilkan nilai peroksida yang lebih tinggi dan peningkatan kadar MDA plasma (Subermaniam et al., 2014). Adanya reaksi oksidatif dipicu oleh perlakuan panas, sistem pertahanan antioksidan tubuh secara aktif ditantang oleh radikal bebas yang terdapat dalam minyak jelantah. Penggorengan sebanyak 3 kali pada minyak sawit olein, minyak kacang tanah, minyak beku, dan minyak nabati buatan lokal yang telah dimurnikan dan dihilangkan baunya juga menunjukkan peningkatan yang signifikan pada konsentrasi malondialdehid. Produksi ROS yang berlebihan melalui beberapa mekanisme dapat mendorong proses peroksidasi lipid (Suhartono et al., 2015).

Antioksidan adalah molekul yang mampu menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel. Antioksidan sangat penting untuk menjaga kesehatan dan kesejahteraan yang optimal (Haddad et al., 2016). Antioksidan dapat didefinisikan sebagai zat yang keberadaannya dalam konsentrasi yang relatif tinggi secara signifikan menghambat laju oksidasi lipid, protein, karbohidrat dan DNA. Antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD) bertindak sebagai donor elektron yang kuat; menyumbangkan atom hidrogen untuk berpasangan dengan elektron tidak berpasangan pada radikal bebas. Dengan demikian, antioksidan mengubah radikal bebas reaktif menjadi zat tidak aktif (Madi et al., 2016). Antioksidan menjadi senyawa atau zat bioaktif yang dapat berfungsi untuk mencegah, mengurangi reaksi oksidasi, memutus, memblokir, menghentikan, dan menstabilkan radikal bebas (Sinaga et al., 2017).



Gambar 2. Penghambatan farmakologis sumber spesies oksigen reaktif (ROS) spesifik (biru) dan strategi antioksidan tidak langsung (hijau). Sumber: (Iacobini et al., 2021).

Penelitian dan bukti farmakologi terkini menunjukkan bahwa berbagai antioksidan alami yang terdapat dalam beberapa buah, biji-bijian, makanan, dan produk alami memiliki efek peningkatan kesehatan yang berbeda-beda (Rahaman et al., 2023).

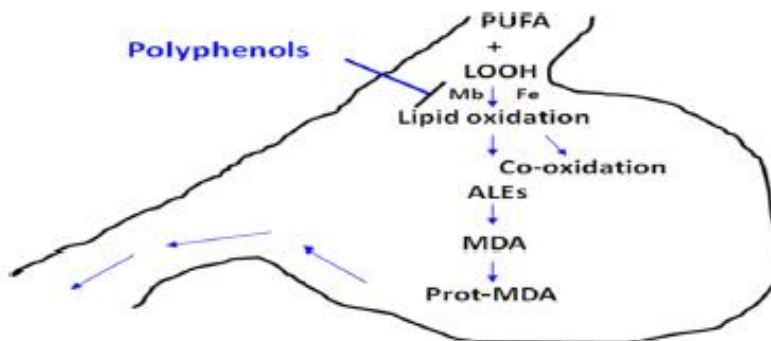


Gambar 3. Mekanisme antioksidan senyawa bioaktif. Sumber: (Rahaman et al., 2023).

Antioksidan banyak terkandung dalam buah-buahan yang dapat menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas (Khan et al., 2020). Saat ini, jus

buah menjadi sangat populer karena konsumen mengaitkannya dengan produk sehat, sehingga konsumsinya meningkat selama beberapa tahun terakhir (Odriozola-Serrano et al., 2022). Jus buah mempunyai kandungan flavonoid, dan vitamin seperti asam askorbat (vitamin C), tokoferol (vitamin E) dan β -karoten yang merupakan senyawa bioaktif dengan aktivitas antioksidan. Kandungan senyawa tersebut membuat jus buah-buahan dinyatakan dapat menghambat reaksi berantai pembentukan MDA (Suhartono et al., 2015). Tingginya aktivitas antioksidan yang terkandung dalam bahan alami berpotensi membantu dalam mengurangi efek stres oksidatif (Ramakrishna et al., 2017).

Penelitian sebelumnya dilakukan oleh (Tijjani et al., 2020) yang meneliti sifat hipolipidemik dari lima buah-buahan yaitu jambu biji (*Psidium guajava*), pawpaw (*Carica papaya*), pisang (*Musa acuminata*), apel (*Pyrus malus*) dan nanas (*Ananas comosus*) menggunakan tikus yang diberi makanan dengan Diet Lipid Tinggi (HLD) dalam kondisi eksperimental. Hasil menunjukkan bahwa memberi makan tikus percobaan dengan Diet Lipid Tinggi meningkatkan kadar kolesterol total, LDL, dan trigliserida dan menurunkan HDL. Jus nanas secara signifikan menurunkan kadar kolesterol total, LDL, dan trigliserida. Kelompok yang diberi perlakuan jambu biji, pisang dan apel menghasilkan peningkatan HDL.



Gambar 4. Peroksidasi lipid makanan dan polifenol yang bertindak sebagai antioksidan di dalam lumen lambung. Sumber: (Kanner et al., 2012)

Senyawa fenolik merupakan fitokimia paling melimpah yang terdapat dalam buah anggur setelah gula dan asam. Fitonutrien utama pada buah anggur adalah antosianin, tanin, flavonol, katekin, procyanidin, dan epikatekin galat. Antosianidin (11,5–29,8 mg/100 g berat buah) adalah pigmen pewarna dengan beragam sifat yang memberikan warna merah pada anggur. Tanin adalah senyawa fenolik dengan berat molekul besar yang memberikan warna kuning, coklat dan merah selain bertanggung jawab atas rasa sepat dan pahit pada buah (Kanagarla et al., 2013). Flavonoid, antioksidan kuat, dalam anggur adalah 3-O-glukosida, quercetin-3-O-glukosida, quercetin dan myricetin. Selain itu, anggur

juga kaya akan polifenol. Flavan-3-ol dan turunannya merupakan polifenol utama pada buah anggur. Selain itu, fenolik dominan lainnya yang terdapat dalam anggur adalah katekin, epikatekin, epikatekin-3-O-gallate, prosianidin (B1-B5), dan prosianidin C1 (Kanagarla dkk., 2013).

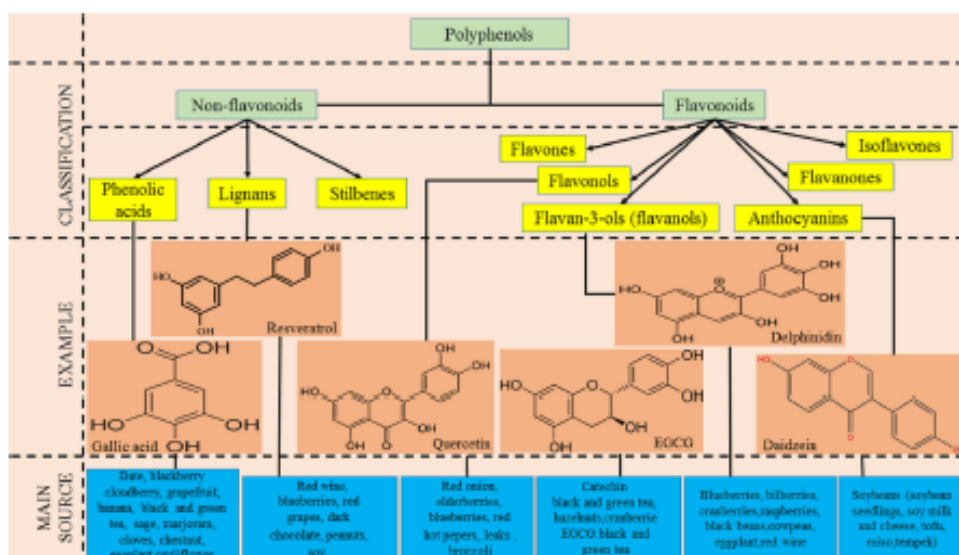
Beberapa sumber utama molekul antioksidan yang terkandung pada buah ini adalah asam askorbat, vitamin E, karotenoid, flavonoid, asam fenolik yang terlibat dalam mencegah berbagai macam penyakit. Vitamin yang paling umum ditemukan dalam buah tomat adalah vitamin C, yang bermanfaat bagi sistem kekebalan tubuh dan meningkatkan penyerapan zat besi dan kalsium dan vitamin E, yang melindungi lipid membran tak jenuh ganda dari serangan radikal bebas dan meningkatkan respons imun humoral dan seluler; serta vitamin B kompleks, yang penting untuk nafsu makan normal, penglihatan yang baik, kesehatan kulit, sistem saraf, dan pembentukan sel darah merah. Di antara semua karotenoid dalam tomat matang, likopen adalah yang paling melimpah dan bertanggung jawab atas warna merah pada buah ini (Bianchi, et al. 2023).

Nutrisi terpenting dalam buah jeruk adalah asam askorbat, vitamin penting yang larut dalam air. Kandungan vitamin C pada jeruk dan paling tinggi di antara semua buah-buahan. kandungan asam askorbat pada buah jeruk meningkat seiring dengan kematangan buah. Selain vitamin C, vitamin A adalah satu-satunya vitamin yang terdapat dalam jumlah cukup banyak pada buah jeruk dalam bentuk karotenoid. Selain itu, vitamin E dalam jumlah kecil juga disediakan oleh buah jeruk (Lado, et al, 2014). Buah jeruk juga merupakan sumber terkonsentrasi flavonoid. Flavanoid jeruk termasuk quercetin dan myrecetin. Buah jeruk mengandung kelas flavonoid paling umum yang dikenal sebagai flavanon. Naringin, salah satu flavanon penting, bertanggung jawab atas rasa pahit buah jeruk bersama dengan quercetin. Beberapa manfaat kesehatan telah dikaitkan dengan naringin, termasuk antioksidan, penghambat trigliserida mikrosomal yang mentransfer protein dan asetil-koenzim A asetiltrans-ferase, dan berperan dalam mengatur enzim sitokrom P450 (Shulman, et al. 2011).

Aktivitas antioksidan tomat, apel, nanas dan jeruk diteliti dengan hasil bahwa aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada jus jeruk dan aktivitas terendah terdapat pada jus apel. Konsentrasi senyawa fenolik total tertinggi terdapat pada jus jeruk, sedangkan nilai terendah terdapat pada jus tomat. Selain itu, asam askorbat (vitamin C) dapat mencegah kerusakan DNA akibat radikal bebas, menghindari disfungsi sel dan menurunkan adhesi leukosit yang diinduksi LDL (Odriozola-Serrano et al., 2022). Kandungan fenolik, pigmen, dan vitamin C menunjukkan korelasi positif dengan aktivitas antioksidan (Šeregelj et al., 2023). Polifenol, terutama terdapat dalam buah anggur (jus anggur dan anggur merah), mencegah oksidasi LDL. Polifenol adalah senyawa bioaktif yang mengandung lebih dari 8000 molekul berbeda dan dibagi menjadi 2 kategori utama yaitu flavonoid dan non-flavonoid, yang selanjutnya diklasifikasikan menjadi 4

subkelas termasuk stilbena, lignan, asam fenolik dan polifenol lainnya. Polifenol dikonsumsi sebagai glukosida yang dideglikosilasi dan kemudian diubah menjadi bentuk aglikon, untuk memfasilitasi penyerapan melintasi epitel usus. Penyerapan polifenol terjadi dalam konsentrasi kecil dan terutama bergantung pada struktur molekul dan keanekaragaman mikrobioma usus. Selanjutnya metabolisme polifenol mula-mula terjadi di usus halus dan selanjutnya di hati dibantu oleh berbagai enzim. Senyawa bioaktif utama adalah flavonoid, stilbenes, asam fenolik, lignan dan turunannya lainnya (Gambar 5) (Behl et al., 2020).

Studi menunjukkan pengaruh jus mangga, pepaya, dan pisang terhadap kadar malondialdehyde (MDA) selama paparan Cd secara in vitro. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan kadar MDA yang signifikan antara ketiga jus buah tersebut. Jus buah-buahan dapat menghambat reaksi berantai pembentukan MDA. Ketiga jus buah memiliki aktivitas anti-lipid peroksidasi yang berhubungan dengan adanya antioksidan, seperti flavonoid, dan vitamin seperti asam askorbat (vitamin C), tokoferol (vitamin E) dan β -karoten (Suhartono et al., 2015).



Gambar 5. Bioaktif utama polifenol. Sumber: (Behl et al., 2020)

Peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang efek pemberian jus anggur, tomat dan jeruk (Tomanjer) terhadap profil lipid dan kadar MDA tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka rumusan masalah ini terkait dengan efektivitas pemberian jus anggur, tomat dan jeruk (Tomanjer) terhadap

perubahan profil lipid dan penurunan kadar malondialdehid tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini yaitu untuk mengetahui efektivitas pemberian jus Tomanjer terhadap perubahan profil lipid dan penurunan kadar malondialdehid tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini yaitu :

1. Mengenalisis pengaruh pemberian Tomanjer dalam menurunkan kadar trigliserida pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.
2. Mengenalisis pengaruh pemberian jus Tomanjer dalam menurunkan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.
3. Mengenalisis pengaruh pemberian jus Tomanjer dalam meningkatkan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.
4. Mengenalisis pengaruh pemberian jus Tomanjer dalam menurunkan kadar kolesterol total pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.
5. Mengenalisis pengaruh pemberian jus Tomanjer dalam menurunkan kadar malondialdehid pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Menambah informasi untuk mengembangkan ilmu pengetahuan tentang potensi antioksidan jus buah-buahan terhadap stres oksidatif akibat konsumsi minyak jelantah.
2. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan penelitian potensi antioksidan jus buah-buahan terhadap berbagai penyakit yang disebabkan oleh stres oksidatif.
3. Hasil penelitian ini dapat memberikan edukasi kepada masyarakat tentang bahaya minyak jelantah bagi kesehatan.

1.5 Novelty dan Penelitian Pendukung

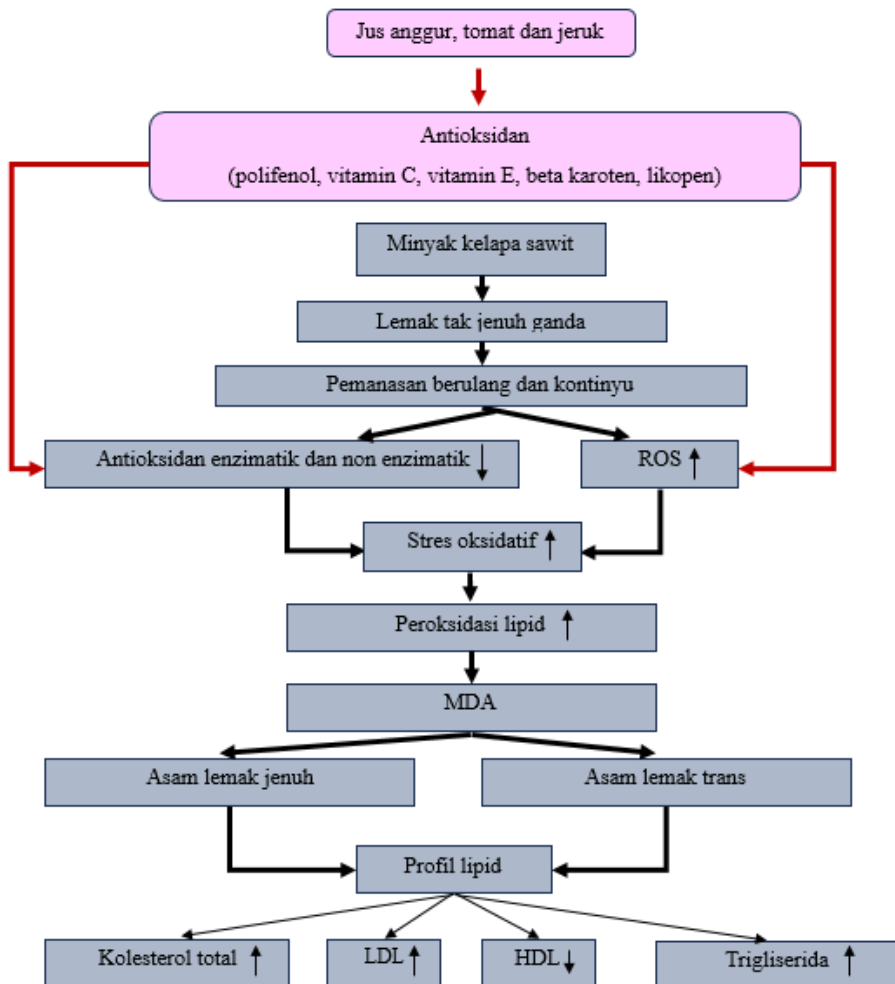
Sebagai bentuk adanya kebaruaran (novelty) diantara penelitian ini dengan penelitian sebelumnya, adapun penelitian tersebut adalah sebagai berikut:

- a. Penelitian yang dilakukan oleh Abete, et al (2013) dengan judul "*A Regular Lycopene Enriched Tomato Sauce Consumption Influences Antioxidant Status of Healthy Young-Subjects: A Crossover Study*". Hasil penelitian menunjukkan bahwa tomat merupakan faktor potensial dalam mengurangi kadar biomarker stres oksidatif serum. Untuk mendukung peran likopen dalam mencegah penyakit terkait stres oksidatif, telah dibuktikan bahwa konsumsi saus tomat yang kaya likopen menghasilkan penurunan kadar kolesterol LDL teroksidasi. **Persamaan** pada penelitian ini adalah salah satu buah pada jus Tomanjer adalah buah jeruk yang efektif dalam menurunkan kadar kolesterol LDL teroksidasi. **Kebaharuannya** adalah peneliti mengkombinasi beberapa buah selain buah jeruk, yaitu penambahan buah anggur dan tomat. Sedangkan parameter pengujiannya selain kadar LDL, peneliti juga menguji kadar HDL, kolesterol total dan trigliserida serta MDA. Selain itu, peneliti juga menggunakan minyak jelantah untuk menurunkan profil lipid dan meningkatkan MDA.
- b. Penelitian yang dilakukan oleh Odriozola-Serrano, et al (2022) dengan judul. Hasil penelitian menunjukkan Aktivitas antioksidan tomat, apel, nanas dan jeruk diteliti dengan hasil bahwa aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada jus jeruk dan aktivitas terendah terdapat pada jus apel. Konsentrasi senyawa fenolik total tertinggi terdapat pada jus jeruk, sedangkan nilai terendah terdapat pada jus tomat. Selain itu, asam askorbat (vitamin C) dapat mencegah kerusakan DNA akibat radikal bebas, menghindari disfungsi sel dan menurunkan adhesi leukosit yang diinduksi LDL. Kandungan fenolik, pigmen, dan vitamin C menunjukkan korelasi positif dengan aktivitas antioksidan. **Kesamaannya** adalah pada jus tomanjer juga menggunakan buah jeruk dan tomat, namun tidak menggunakan buah nanas dan apel. Salah satu parameter ujinya adalah kadar LDL. **Kebaharuannya** adalah sampel jus buah yang digunakan selain buah jeruk dan tomat, juga menggunakan buah anggur. Selain itu, selain pengujian LDL, peneliti juga menguji kadar HDL, kolesterol total dan trigliserida serta MDA. Selain itu, peneliti juga menggunakan minyak jelantah untuk menurunkan profil lipid dan meningkatkan MDA.
- c. Penelitian yang dilakukan oleh Masbah, et al. (2017) dengan judul. Polifenol dapat meningkatkan profil lipid. Flavonoid yang diekstraksi dari *Stellera chamaejasme* L. dengan dosis 400 mg/kg menyebabkan peningkatan HDL-C serum sekaligus menurunkan kadar LDL-C, kolesterol total, dan trigliserida pada model hewan yang diberi pakan tinggi lemak. diet. flavonoid

menyebabkan peningkatan ekspresi mRNA hati dari Kolesterol 7 α -hidroksilase1 (CYP7A1), dan reseptor teraktivasi proliferasi peroksisom (PPAR). Dalam penelitian pada hewan yang berbeda, asupan polifenol anggur menghasilkan penurunan yang signifikan dalam konsentrasi trigliserida plasma dan VLDL meskipun tidak ada efek yang diamati pada konsentrasi kolesterol total plasma. **Kesamaannya** adalah salah satu buah yang digunakan pada jus Tomanjer adalah buah anggur dan dilakukan pengujian profil lipid. **Kebaharuannya** adalah buah yang digunakan selain anggur adalah jeruk dan tomat. Selain pengukuran profil lipid, peneliti juga melakukan pengukuran kadar MDA. Selain itu, peneliti juga menggunakan minyak jelantah untuk menurunkan profil lipid dan meningkatkan MDA.

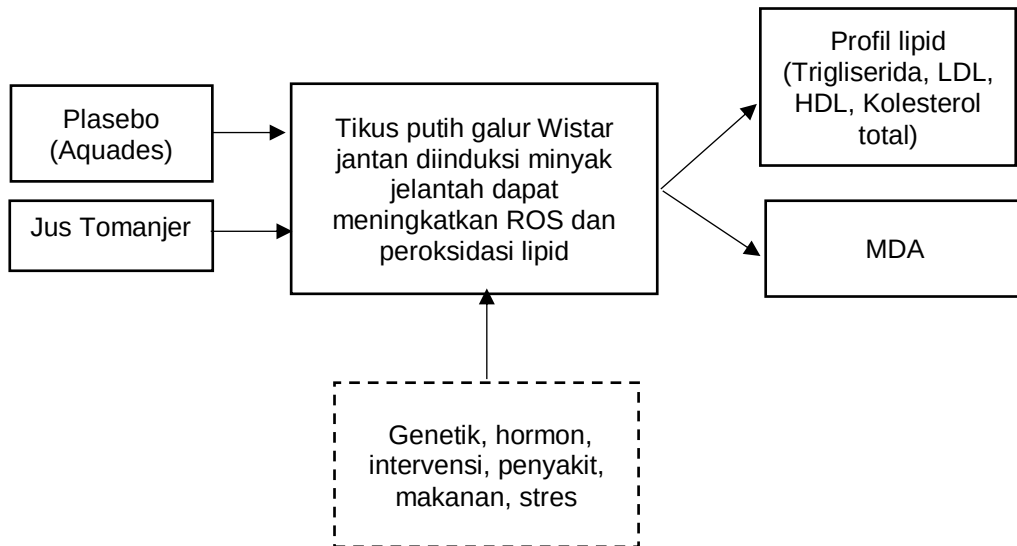
- d. Penelitian yang dilakukan oleh Tijjani et al. (2020). yang meneliti sifat hipolipidemik dari lima buah-buahan yaitu jambu biji (*Psidium guajava*), pawpaw (*Carica papaya*), pisang (*Musa acuminata*), apel (*Pyrus malus*) dan nanas (*Ananas comosus*) menggunakan tikus yang diberi makanan dengan Diet Lipid Tinggi (HLD) dalam kondisi eksperimental. Hasil menunjukkan bahwa memberi makan tikus percobaan dengan Diet Lipid Tinggi meningkatkan kadar kolesterol total, LDL, dan trigliserida dan menurunkan HDL. Jus nanas secara signifikan menurunkan kadar kolesterol total, LDL, dan trigliserida Kelompok yang diberi perlakuan jambu biji, pisang dan apel menghasilkan peningkatan HDL. **Kesamaannya** adalah penelitian terkait efek pemberian jus buah-buahan terhadap profil lipid dan MDA pada tikus yang diinduksi dengan minyak jelantah belum pernah dilakukan sebelumnya. **Kebaharuannya** adalah penelitian tersebut tidak meneliti dampaknya terhadap MDA. Peneliti melakukan penelitian tentang efek pemberian jus anggur, tomat dan jeruk terhadap profil lipid dan kadar MDA tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.

1.6 Kerangka Teori

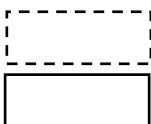


Gambar 6. Kerangka konsep

1.7 Konsep Penelitian



Keterangan:



: Tidak diteliti

: Diteliti

Gambar 7. Kerangka konsep

1.8 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian yang dibuat berdasarkan kerangka pikiran diatas adalah sebagai berikut:

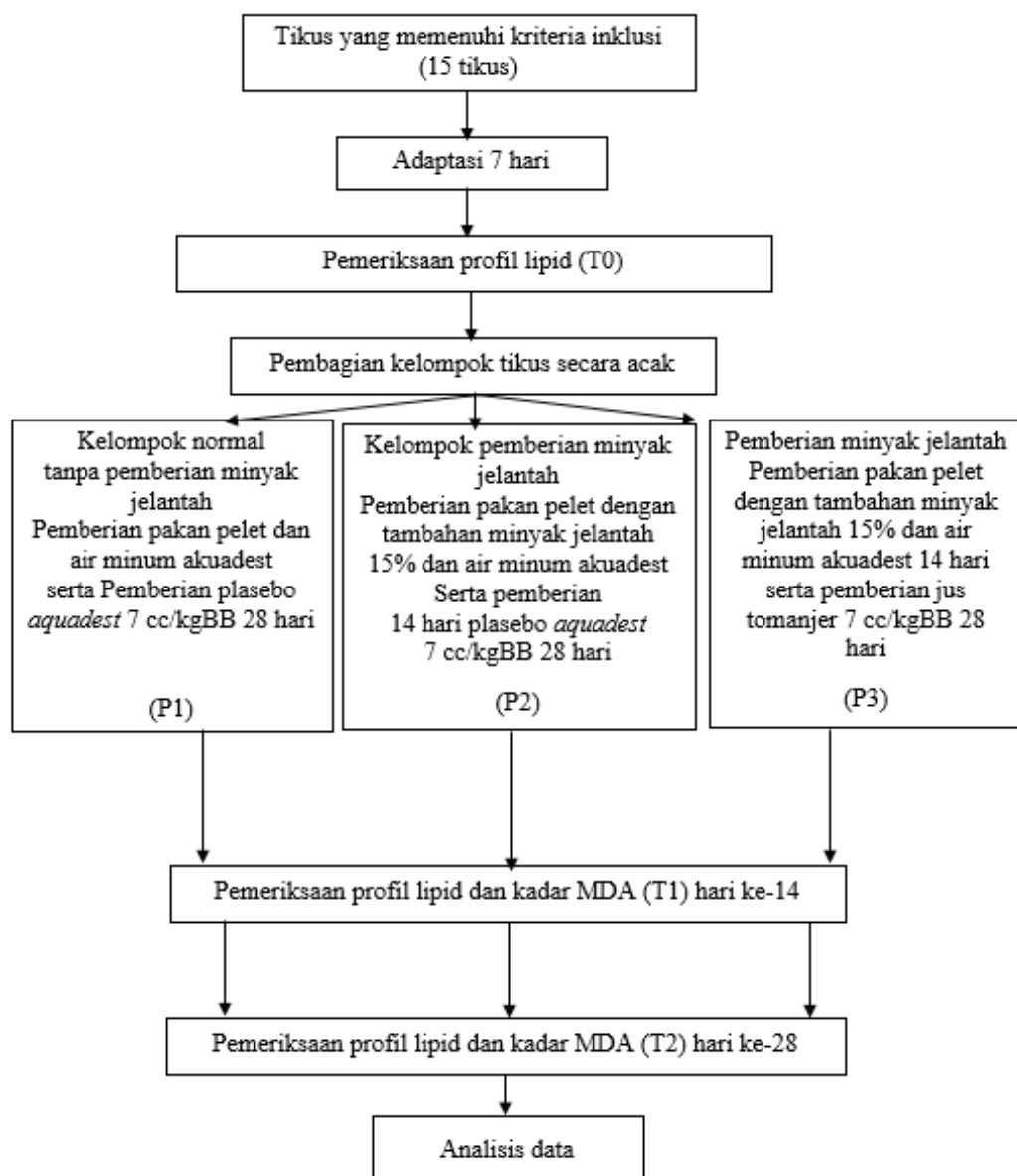
- Pemberian jus tomanjer dapat menurunkan kadar trigliserida pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.
- Pemberian jus tomanjer dapat menurunkan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.
- Pemberian jus tomanjer dapat meningkatkan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.
- Pemberian jus tomanjer dapat menurunkan kadar kolesterol total pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.

- e. Pemberian jus tomanjer dapat menurunkan kadar malondialdehid pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar jantan yang diberi minyak jelantah.

1.9 Definisi Operasional

- a. Jus buah-buahan adalah penghancuran buah-buahan yang telah dibersihkan kulitnya dengan menggunakan blender lalu diperas airnya menggunakan sapu tangan yang dibuat di Laboratorium Biomedik Terpadu, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan airnya (jus buah) disimpan pada refrigerator dengan suhu 15°C. Jus buah diberikan dengan sonde kepada hewan coba pada dosis 7 ml/kgBB 1 kali sehari selama 14 hari karena beberapa penelitian telah signifikan pada hasil yang diperoleh.
- b. Minyak Jelantah adalah minyak hasil olahan kelapa sawit yang telah dipanaskan berulang sebanyak 5 kali pada suhu 180°C selama 10 menit tanpa penggorengan bahan makanan tertentu. Beberapa penelitian menjelaskan bahwa penggunaan minyak jelantah dilakukan berulang 2-5 kali.
- c. Plasebo akan diberikan sebanyak 2 ml kepada kelompok normal dan kelompok minyak jelantah kontrol melalui sonde 1 kali per hari, selama 14 hari.
- d. Profil lipid adalah pengukuran beberapa parameter lipid serum, yang diukur dilaboratorium dengan acuan penilaian berdasarkan NCEP ATP III diantaranya yaitu:
 - 1. Trigliserida
 - a) Normal : < 150 mg/dL
 - b) Tidak normal : ≥ 150 mg/dL
 - 2. *Low Density Lipoprotein* (LDL)
 - a) Normal : < 130 mg/dL
 - b) Tidak normal : ≥ 130 mg/dL
 - 3. *High Density Lipoprotein* (HDL)
 - a) Normal : ≥ 40 mg/dL
 - b) Tidak normal : < 40 mg/dL
 - 4. Kolesterol total
 - a) Normal : < 200 mg/dL
 - b) Tidak normal : ≥ 200 mg/dL
- e. Kadar MDA. Pemeriksaan kadar MDA yang dilakukan dengan metode pengukuran malondialdehid didasarkan pada reaksi reagen kromogenik N-methyl-2-phenylindole (NMPI). Supernatan diukur menggunakan spektrofotometer UV-vis pada kedua kelompok saat *pre test* dan *post test* dengan satuan μM/l.

1.10 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur penelitian

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

2.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini berjalan selama 16 minggu dengan penjelasan sebagai berikut:

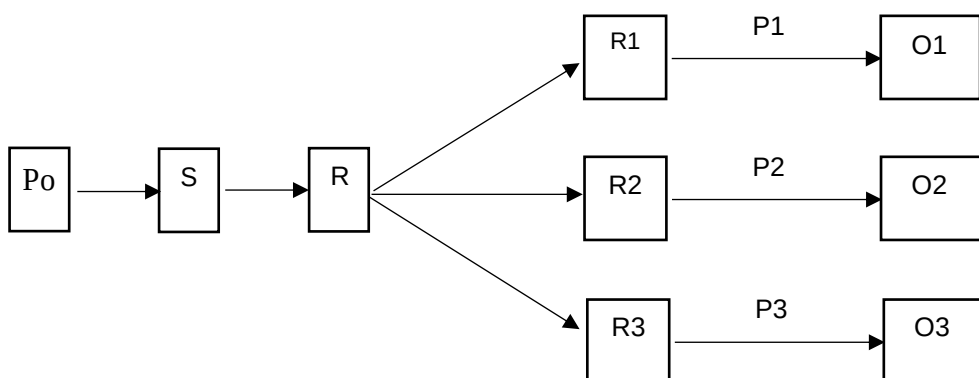
1. Minggu I - IV: pembuatan proposal
2. Minggu V–VIII: pengajuan *ethical clearance* ke komisi etik, persiapan alat dan bahan penelitian serta sampel hewan coba
3. Minggu IX-XII: proses penelitian hewan coba dimulai dengan adaptasi hewan coba selama 7 hari; pemberian minyak jelantah; pemeriksaan kadar trigliserida, LDL, HDL, kolesterol total dan MDA sebelum pemberian jus buah-buahan dan plasebo; perlakuan pemberian jus buah-buahan dan plasebo selama 14 hari; pemeriksaan kembali kadar trigliserida, LDL, HDL, kolesterol total dan MDA setelah 14 hari pemberian jus buah-buahan dan plasebo
4. Minggu XIII - XVI: pengolahan data dan pembahasan

2.1.2 Lokasi Penelitian

Proses penelitian yang terdiri dari pembuatan dan analisis jus buah-buahan, pemeliharaan hewan coba, perlakuan kepada hewan coba serta uji profil lipid (trigliserida, LDL, HDL dan kolesterol total) dan MDA dilaksanakan di Unit Laboratorium Biomedik Terpadu (LBT) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

2.2 Desain Penelitian

Penelitian eksperimental ini menggunakan metode *randomized pretest-posttest control group design* dengan 3 kelompok.



Gambar 9. Skema rancangan penelitian

Keterangan:

- Po : Populasi
 S : Sampel
 R : Randomisasi
 R1 : Observasi profil lipid dan MDA kelompok tikus normal *pretest*
 R2 : Observasi profil lipid dan MDA kelompok tikus minyak jelantah kontrol *pretest*
 R3 : Observasi profil lipid dan MDA kelompok tikus minyak jelantah perlakuan *pretest*
 O1 : Observasi profil lipid dan MDA kelompok tikus normal *posttest*
 O2 : Observasi profil lipid dan MDA kelompok tikus minyak jelantah kontrol *posttest*
 O3 : Observasi profil lipid dan MDA kelompok tikus minyak jelantah perlakuan *posttest*
 P1 : Perlakuan pada kelompok tikus normal dengan pemberian plasebo *aquadest* 2 ml selama 14 hari
 P2 : Perlakuan pada kelompok tikus minyak jelantah kontrol dengan pemberian plasebo *aquadest* 2 ml selama 14 hari
 P3 : Perlakuan pada kelompok tikus minyak jelantah dengan pemberian jus buah-buahan 2 ml selama 14 hari

2.3. Populasi dan Sampel Penelitian

2.3.1. Populasi Penelitian

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi merupakan populasi dari penelitian ini.

1. Kriteria inklusi
 - a. Usia 2 – 3 bulan
 - b. Berat badan 180 – 200 gram
2. Kriteria *drop out* adalah Tikus mati saat penelitian

2.3.2. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah populasi yang memenuhi kriteria inklusi. Besar sampel yang diperlukan dalam penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus estimasi nilai E Anova untuk empat kelompok:

$$10 < N - t < 20$$

$$10 < N - 3 < 20$$

$$13 < N < 23$$

Keterangan:

N = banyak sampel keseluruhan

t = banyaknya kelompok

Berdasarkan perhitungan dengan rumus diatas maka diperoleh jumlah sampel total untuk seluruh kelompok adalah antara 13 dan 23. Maka untuk jumlah sampel per kelompok adalah antara 4,3 dan 7,6. Dalam hal ini diambil sampel penelitian masing-masing kelompok sejumlah 5. Kemudian dengan memasukkan kemungkinan adanya sampel yang mati selama perlakuan sebesar 20%, maka jumlah kebutuhan sampel secara keseluruhan adalah sebagai berikut:

$$N/(1-20\%)=12/0,8=15$$

Oleh karena itu, jumlah sampel total keseluruhan yang diperoleh adalah sebanyak 18 ekor. Adapun jumlah sampel per kelompok adalah 6 ekor.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Identifikasi variabel

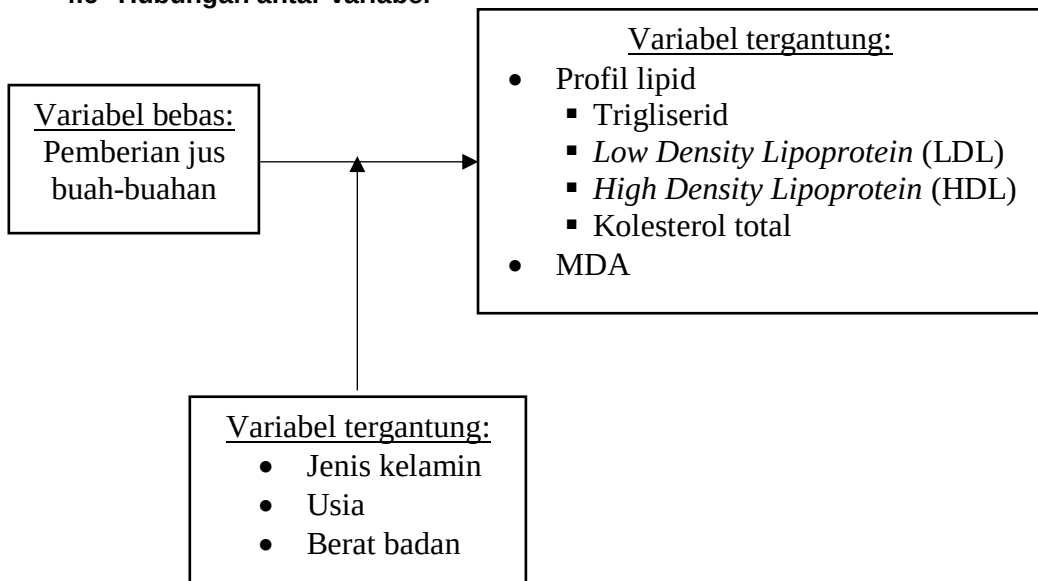
Variabel dalam penelitian ini terdiri dari variabel bebas, variabel tergantung serta variabel kendali

4.5.2 Klasifikasi variabel

Variabel penelitian diklasifikasikan menjadi:

1. Variabel bebas: pemberian jus buah-buahan
2. Variabel tergantung: trigliserida, *Low Density Lipoprotein* (LDL), *High Density Lipoprotein* (HDL), kolesterol total dan malondialdehid
3. Variabel kendali: Jenis kelamin, usia, dan berat badan.

4.6 Hubungan antar variabel



Gambar 10. Hubungan antar variabel

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, tempat minum, tempat makan, sekam sebagai alas, sonde, timbangan digital, spuit 1 cc, dan 3 cc, rak tabung reaksi, tabung reaksi, pipet mikro dan mikrotube, blender, *rotary vaccum evaporator*, kertas saring *Whatman*, buku dan alat pencatatan data, botol kaca tempat penyimpanan ekstraksi, spektrofotometer atau ELISA reader, sarung tangan, kamera digital untuk dokumentasi, spektrofotometer UV-vis

4.6.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan standar dengan sonde *aquadest* larutan etanol 70%, *N-methyl-2-phenylindole*, ketamin, xylazine, minyak jelantah, buah anggur, tomat dan jeruk

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Prosedur pembuatan jus buah-buahan

Kulit buah dibuang. Daging buah jeruk, tomat dan anggur diblender secara terpisah menggunakan mesin blender. Buah yang telah dihaluskan dituangkan ke dalam saputangan (bahan pakaian) putih bersih dan diperas untuk mendapatkan sari sari yang digunakan dalam wadah yang bersih dan steril. Sari buah dicampur dengan perbandingan volume 1:1:1 antara anggur, tomat dan jeruk. Campuran sari buah diaduk secara merata pada suhu kamar. Sari buah kemudian disimpan dalam lemari es pada suhu 15°C. Ketika akan digunakan, maka dibiarkan hingga suhu ruang (25-30°C) (Lim, et al. 2019; Avika, et al. 2021).

4.7.2 Pembuatan minyak jelantah

Pembuatan minyak jelantah dilakukan dengan memanaskan 100 mL minyak kelapa sawit dalam wajan logam pada temperatur 180°C (suhu penggorengan) dan proses pemanasan berlangsung selama 10 menit. Pada penelitian ini hanya dilakukan pemanasan tanpa penggorengan bahan makanan tertentu untuk menghindari potensi penambahan senyawa aktif seperti α -tokoferol, kelembapan dan komponen pangan lainnya serta serapan minyak dari bahan penggorengan. Setelah dipanaskan, minyak didinginkan selama 5 jam untuk memastikan telah mencapai suhu kamar. Minyak (10 mL) dimasukkan ke dalam tabung dan ditutup dengan aluminium foil dan disimpan pada suhu -20°C sampai dianalisis. Kemudian proses pemanasan diulangi dengan sisa minyak. Proses ini diulangi sebanyak lima kali (Abdullah, et al. 2015; Fairroosa, et al., 2019).

4.7.3 Perlakuan hewan coba

1. Sebanyak 20 hewan coba diadaptasi selama 7 hari di dalam kandang berukuran 40 cm x 30 cm x 18 cm (1 ekor / kandang), diberikan makanan standar makanan hewan pengerat sebanyak dengan kandungan protein

20 – 25%, lemak 5%, karbohidrat 40 – 45%, serat kasar kira-kira 5%, abu 4 – 5% vitamin dan mineral. Pakan standar diberikan kepada hewan model sebanyak 10 gram per hari dengan sonde dan diberi minum secara *ad libitum*.

2. Hewan coba dibagi menjadi 2 kelompok secara acak masing-masing 5 ekor pada kelompok normal dan 10 ekor pada kelompok perlakuan, kemudian dipuasakan dulu selama 24 jam. Kelompok perlakuan diberikan minyak jelantah diformulasikan dengan menimbang minyak jelantah dalam jumlah yang diketahui ke dalam palet kunyah tikus (1:4 b/b) dan mencampurkannya secara merata. Formulasi tersebut diberikan selama 14 hari sebelum dimulainya penelitian dan total 28 hari masa percobaan dengan air *ad libitum*. Kadar MDA diperiksa pada seluruh kelompok (T0). Pengambilan serum dari darah dilakukan melalui *canthus medial sinus orbitalis* dengan sebelumnya dianestesi dengan ketamin 20 mg/kgBB dan xylazine 5 mg/kgBB.
3. Pada kelompok yang diberi minyak jelantah dibagi masing-masing menjadi dua kelompok secara acak, masing-masing berjumlah 5 sampel.
4. Pemberian minyak jelantah dilakukan dengan menambahkan minyak jelantah ke pakan standar dan diaduk rata agar homogen. Pakan uji dibuat dengan mencampurkan minyak jelantah dengan pelet tikus komersial biasa hingga mengandung 15% minyak jelantah. Sebanyak 15 g minyak jelantah ditambahkan ke dalam 85 g pelet tikus dan dicampur secara manual dan disimpan semalaman pada suhu kamar untuk menyerap minyak nabati.
5. Setiap hari tikus diberi makan pakan standar hewan coba berbentuk pelet dan diberi minum air aquadest untuk kelompok yang tidak diberi minyak jelantah dan diberi makan pelet yang mengandung minyak jelantah dengan sonde dan diberi minum air aquadest untuk kelompok yang diberi minyak jelantah. Pemberian minyak jelantah dilakukan selama 14 hari (Feleke et al., 2022). Setelah 14 hari, diperiksa kembali profil lipid dan kadar MDA yang diambil melalui *canthus medial sinus orbitalis* (T1).
6. Pada kelompok kontrol diberikan plasebo *aquadest* 2 ml selama 14 hari pada pagi hari jam 09.00 WITA.
7. Pada kelompok perlakuan diberikan jus buah-buahan dengan dosis 7 ml/kgBB pada jam 09.00 WITA selama 14 hari.
8. Setelah selesai perlakuan dengan jus buah, tikus dianestesi dengan ketamin 20 mg/kgBB dan xylazine 5 mg/kgBB hewan coba dari tiap kelompok diperiksa kembali profil lipid dan kadar MDA yang diambil melalui *canthus medial sinus orbitalis* (T2).
9. Setelah percobaan berakhir, tikus percobaan dikembalikan ke Unit Laboratorium Terpadu, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

4.7.4 Prosedur pemeriksaan profil lipid

Profil lipid yang diuji meliputi kolesterol total, trigliserida, HDL dan LDL menggunakan prosedur standar yang dijelaskan sebagai berikut:

1. Pemeriksaan kolesterol total

Metode : Enzimatis fotometer CHOD PAP

Prinsip : Kolesterol ditentukan setelah hidrolisa enzimatis dan oksidasi. Indikator quinoneimine terbentuk dari hidrogen peroksida dan 4-aminoantipyrine dengan adanya phenol dan peroksidase.

Alat : Tabung reaksi, rak tabung, mikropipet, tip, tissue, fotometer.

Reagen : Reagen kerja kolesterol.

Sampel : Serum/plasma

Cara kerja :

 - 1) Disiapkan tabung reaksi bersih dan kering
 - 2) Dipipet dengan mikropipet, masukkan dalam tabung reaksi yaitu blanko, reagen standar dan sampel
 - 3) Campur dan inkubasi selama 10 menit pada suhu 20 – 25°C atau 5 menit pada suhu 37°C.
 - 4) Baca pada fotometer dengan panjang gelombang 546 nm.
2. Pemeriksaan kadar HDL kolesterol

Metode : End Point

Tujuan : Mengetahui kadar HDL kolesterol dalam serum

Prinsip : Kilomikron, VLDL, dan LDL diendapkan dengan menambahkan asam fosfotungstic dan ion magnesium untuk sampel. Setelah disentrifugasi hanya meninggalkan supernatan HDL. Kadar kolesterol ditentukan menggunakan enzimatis kolesterol FS sehingga pada supernatant hanya tersisa HDL.

Alat : Tabung reaksi, Mikropipet, Tip, Tissue, Fotometer,

Bahan : Reagen presipitat

Cara kerja :

 - 1) Persiapkan presipitat, reagen dan sampel dihomogenkan dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang, selanjutnya selama 20 menit 2500 rpm.
 - 2) Presipitat dan sampel dihomogenkan dan inkubasi selama 10 menit dengan suhu ruang atau 5 menit dengan suhu 37°C.
 - 3) Kemudian ukur absorbansi dengan foto meter dalam 45 menit. Dengan panjang gelombang 546 nm.
3. Pemeriksaan Trigliserida

Metode : Colorimetric Enzimatis

Prinsip : Penentuan Trigliserida setelah pemisahan enzim dengan lipoprotein lipase dengan quinonemine sebagai indikator yang

dihasilkan dari 4-Aminoantipyrin dan 4-Cholophenol dan Hydrogen peroxide. Menurut reaksi katalitik dari enzim peroksidase.

Alat : Tabung reaksi, Centrifuge, Tip, Mikropipet, Waterbath, Tissue, Fotometer

Cara kerja :

Blanko, standar dan sampel diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang dan dibaca pada fotometer dengan panjang gelombang 546 nm.

4. Pemeriksaan LDL

Metode : Enzimatik fotometer CHOD PAP

Prinsip : Low Density Lipoprotein (LDL) diendapkan dengan penambahan heparin. High Density Lipoprotein (HDL) dan Very Low Density Lipoprotein (VLDL) tetap berada dalam supernatan setelah sentrifugasi. Konsentrasi kolesterol LDL dihitung sebagai selisih kolesterol total dan kolesterol dalam supernatan.

Metode : Enzimatik fotometer CHOD PAP

Alat : Mikropipet, tip biru, tip kuning, tabung reaksi, rak tabung, sentrifuse, fotometer

Bahan : Serum ,Reagen kolesterol, reagen precipitat dan reagen standar

Cara kerja :

- 1) Persiapan presipitat, reagen dan standar serta sampel homogenkan dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang, selanjutnya selama 20 menit 2500 rpm.
- 2) Presipitat, reagen kolesterol dan standar dihomogenkan dan inkubasi selama 10 menit dengan suhu ruang atau 5 menit dengan suhu 37°C.
- 3) Kemudian ukur absorbansi dengan foto meter dalam 45 menit. Dengan panjang gelombang 546 nm.

4.7.5 Prosedur pemeriksaan MDA

Metode pengukuran malondialdehid didasarkan pada reaksi reagen kromogenik N-methyl-2-phenylindole (NMPI) dengan MDA pada suhu 45°C. Prosedur dimulai dengan menambahkan 10 mL probucol. Setelah 200 ml sampel dan 600 ml reagen R1 (NMPI dalam asetonitril) ditambahkan, sampel dicampur dengan menggunakan vortex. Sebanyak 150 ml asam klorida ditambahkan ke masing-masing tabung reaksi, dicampur kembali dengan menggunakan vortex dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu 45°C. Setelah inkubasi, sampel disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan absorbansi dibaca pada 586 nm menggunakan spektrofotometer UV-vis (Astari et al., 2017).