



**Efek Minyak Atsiri Bawang Putih *Allium sativum* terhadap Jumlah Eritrosit
(Studi Eksperimental pada Tikus Wistar yang Diberi Diet Kuning Telur)**

Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat
dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana
Fakultas Kedokteran

Disusun Oleh :
DESTI JUWITA
NIM : G2A005054

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2009**

HALAMAN PERSETUJUAN

Telah disetujui oleh Dosen Pembimbing, Laporan Akhir Penelitian atas nama mahasiswa:

Nama : Desti Juwita

NIM : G2A005054

Fakultas : Kedokteran

Universitas : Diponegoro

Bagian : Biokimia

Judul : Efek Minyak Atsiri dari *Allium sativum* dan terhadap Jumlah Eritrosit (Studi Eksperimental pada Serum Tikus Wistar yang Diberi Diet Kuning Telur)

Pembimbing : dr. Innawati Jusup, MKes

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi persyaratan dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Semarang, 12 Agustus 2009

Pembimbing

dr. Innawati Jusup, MKes

HALAMAN PENGESAHAN

Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah

Efek Minyak Atsiri Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Jumlah Eritrosit pada Tikus Wistar yang Diberi Diet Kuning Telur

yang disusun oleh:

Desti Juwita

G2A 005 054

telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada tanggal 21 Agustus 2009 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

TIM PENGUJI LAPORAN

Penguji,

Pembimbing,

dr.Henni Kartikawati M.Kes, Sp THT
M.Kes

dr.Innawati Jusup,

NIP. 132163894

NIP. 131993338

Ketua Penguji,

dr. Yosef Poerwoko, M.Kes

NIP. 132163895

DAFTAR ISI

Halaman Persetujuan	i
Halaman Pengesahan	ii
Daftar isi	iii
Abstrak Bahasa Indonesia.....	vii
Abstrak Bahasa Inggris.....	viii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.3.1 Tujuan Penelitian Umum	3
1.3.2 Tujuan Penelitian Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Lipid	5
2.1.1 Definisi dan Fungsi	5
2.1.2 Klasifikasi.....	6
2.1.3 Lipoprotein.....	6
2.1.4 High Density lipoprotein (HDL).....	7

2.1.5 Low Density Lipoprotein (LDL).....	8
2.1.6 Hiperlidemia	9
2.1.7 Induksi hiperlipidemia.....	13
2.1.8 Pemeriksaan Kadar Normal.....	14
2.1.9 Kolesterol.....	15
2.2 Oksidan	16
2.2.1 Definisi.....	16
2.2.2 Sumber	16
2.2.3 Efek Berbahaya Oksidan	17
2.2.4 Pengaruh Oksidan terhadap Eritrosit.....	18
2.2.5 Antioksidan	20
2.2.6 Stress Oksidative.....	21
2.3 Minyak Atsiri.....	22
2.3.1 Definisi dan Komposisi.....	22
2.3.2 Minyak Atsiri Bawang Putih.....	24
2.4 Eritrosit	26
2.4.1 Definisi dan Komposisi.....	26
2.4.2 Perkembangan dan Pembentukan (Eritropoiesis).....	28
2.4.3 Metabolisme.....	30
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	32
3.1 Kerangka Teori.....	32

3.2 Kerangka Konsep.....	33
3.3 Hipotesis.....	33
3.4 Ruang Lingkup Penelitian.....	34
3.4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	34
3.4.2 Lingkup Ilmu.....	34
3.5 Jenis Penelitian.....	34
3.6 Subyek Penelitian dan Sampel.....	35
3.6.1 Subyek Penelitian.....	35
3.6.2 Sampel.....	35
3.7 Variabel Penelitian.....	36
3.7.1 Klasifikasi Variabel.....	36
3.7.2 Definisi Operasional Variabel.....	36
3.7.3 Kriteria Inklusi.....	36
3.7.4 Kriteria Eksklusi.....	37
3.8 Alat dan Bahan	37
3.6.1 Alat	37
3.6.2 Bahan	37
3.9 Prosedur Perlakuan Sampel.....	38
3.9.1 Diet Kuning Telur.....	38
3.9.2 Pemberian Minyak Atsiri Bawang Putih.....	38
3.9.3 Pemberian Perlakuan.....	39

3.10	Prosedur Perhitungan jumlah eritrosit.....	40
3.11	Alur Penelitian.....	41
3.12	Analisa Data.....	41
3.12.1	Analisa Deskriptif.....	42
3.12.2	Analisa Analitik.....	42
BAB 4	HASIL.....	44
BAB 5	PEMBAHASAN.....	47
BAB 6	KESIMPULAN DAN SARAN.....	51

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Jumlah penderita atherosclerosis di era globalisasi dan industrialisasi cenderung meningkat.¹ Penyakit kardiovaskuler ini mencakup penyakit jantung koroner (PJK), cerebral vascular disease (CVD) dan *peripheral vascular disease*.² PJK memiliki angka kejadian yang terus meningkat baik di negara maju maupun negara berkembang dan diketahui juga PJK yang didasari oleh atherosklerosis berkembang menjadi pembunuh utama di Indonesia.^{1,3} Apabila masalah ini tidak segera diambil tindakan yang benar, maka mulai tahun 2015 diperkirakan sekitar 20 juta orang setiap tahun akan meninggal karena penyakit kardiovaskuler.⁴ Hiperlipidemia dianggap sebagai faktor dominan penyebab terjadinya PJK dan saat ini diketahui berhubungan dengan proses inflamasi pembuluh darah.^{5,6}

Penelitian terhadap tikus wistar yang diberi diet kuning telur membuktikan terjadinya peningkatan profil lipid darah yaitu trigliserida, HDL dan LDL.⁷ LDL yang meningkat ternyata mudah teroksidasi membentuk LDL teroksidasi (ox-LDL). LDL yang teroksidasi tersebut akan memicu terjadinya peroksidasi lipid dan selanjutnya mengawali

terjadinya proses inflamasi.⁸ LDL sebagai radikal bebas tersebut dapat mempengaruhi stabilitas dinding eritrosit. Pengaruh radikal bebas dalam proses inflamasi pada perjalanan PJK mendorong banyaknya penelitian terhadap berbagai macam bahanyang berperan sebagai antioksidan.

Upaya pengobatan dan pencegahan penyakit diarahkan pada pemanfaatan tanaman herbal berkhasiat salah satunya bawang putih. Bawang putih memiliki efek positif bagi tubuh manusia, diantaranya adalah sebagai antioksidan, antikarsinogenik, mengurangi agregasi platelet dan anti hiperlipidemia.⁹ Pemberian ekstrak bawang putih selama empat minggu dengan dosis sebesar 1-4% dari total diet sehari mampu menurunkan kolesterol, trigliserid, dan *low density lipoprotein* (LDL) pada serum tikus hiperlipidemia dengan diet tinggi kolesterol^{7,10}. Penelitian lain membuktikan efek antioksidan pada ekstrak bawang putih untuk mencegah cedera endotel oleh LDL teroksidasi menggunakan parameter endotel dalam sirkulasi dimana terdapat penurunan yang signifikan.^{8,10} Penelitian tersebut berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa antioksidan yaitu *diallyl polysulfide*.

Penelitian mengenai bawang putih sudah banyak dilakukan, namun penelitian yang memberikan informasi tentang efek bawang putih dalam bentuk minyak atsiri terhadap jumlah eritrosit pada keadaan

hiperlipidemia belum ada. Hal inilah yang menimbulkan ketertarikan peneliti untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak atsiri.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian minyak atsiri bawang putih pada tikus wistar setelah diberi diet kuning telur dapat mempengaruhi jumlah eritrosit ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek pemberian minyak atsiri bawang putih pada tikus wistar yang diberi diet kuning telur terhadap jumlah eritrosit.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Menghitung jumlah eritrosit pada kelompok tikus wistar setelah diberi diet kuning telur.
- b. Menghitung jumlah eritrosit pada kelompok tikus wistar setelah diberi diet kuning telur dan diet minyak atsiri bawang putih.
- c. Membandingkan jumlah eritrosit pada darah tikus wistar setelah diberi diet kuning telur saja dengan darah tikus wistar setelah diberi diet kuning telur dan minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*).

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Memberikan informasi tentang manfaat minyak atsiri bawang putih terhadap jumlah eritrosit.
- b. Memberikan landasan dalam pembuatan produk dari minyak atsiri bawang putih sebagai sebagai suplemen untuk mencegah aterosklerosis bagi pasien dengan hiperkolesterolemia.
- c. Memberikan landasan bagi penelitian selanjutnya pada manusia.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 LIPID

2.1.1 Definisi Dan Fungsi

Lipid merupakan kelompok heterogen dari senyawa yang lebih berkerabat karena sifat fisiknya dibandingkan sifat kimianya. Lipid merupakan suatu kelompok besar substansi biologik yang mempunyai sifat relatif tidak larut di dalam air dan larut di dalam pelarut nonpolar, seperti metanol, aseton, eter, kloroform, serta benzen.¹¹ Kelarutannya dalam air yang kecil disebabkan karena kekurangan atom-atom yang berpolarisasi (O, N, S, P).¹²

Lipid merupakan konstituen diet yang penting karena selain mempunyai nilai energi yang tinggi, di dalam lemak makanan alami juga terdapat vitamin larut lemak dan asam lemak esensial. Di dalam tubuh, lemak berfungsi sebagai sumber energi yang efisien, isolator panas di dalam jaringan subkutan dan di sekeliling organ tertentu, serta isolator listrik yang memungkinkan perambatan gelombang depolarisasi secara cepat di sepanjang serabut saraf bermielin. Selain itu, gabungan lemak dan protein (lipoprotein) merupakan unsur pembentuk penting pada membran sel dan mitokondria di dalam sitoplasma.¹³ Lipid membran yang khas adalah fosfolipid, glikolipid, dan kolesterol.¹²

Lipid tidak dapat larut dalam plasma darah, kecuali apabila ia berikatan dengan protein tertentu. Oleh karena itu dibutuhkan lipoprotein yang berfungsi mentranspor lipid yang tidak larut dalam air.¹²

2.1.2 Klasifikasi Lipid

Klasifikasi lipid berikut ini merupakan hasil modifikasi klasifikasi Bloor : 1. Lipid sederhana : ester asam lemak dan berbagai alkohol

Contoh : lemak dan malam

2. Lipid kompleks : ester asam lemak yang mengandung gugus lain di samping alkohol dan asam lemak.

Contoh : fosfolipid, glikolipid, lipoprotein

3. Prekursor dan derivat lipid : kelompok ini mencakup asam lemak, gliserol, steroid, hidrokarbon dan vitamin larut lemak.¹²

2.1.3 Lipoprotein

Lipoprotein adalah senyawa yang berbentuk sferis dan mempunyai inti trigliserid dan kolesterol ester yang dikelilingi fosfolipid dan sedikit kolesterol bebas, pada bagian luar dapat ditemukan apoprotein. Terdapat empat kelompok utama lipoprotein yaitu kilomikron, VLDL, LDL dan HDL. Setiap lipoprotein dibedakan dalam ukuran, densitas, komposisi

lemak dan komposisi apoprotein.¹² Hiperlipoproteinemia merupakan suatu keadaan lipoprotein yang berlebihan di dalam darah disebabkan oleh gangguan metabolisme lipoprotein.²⁴

2.1.4 High Density Lipoprotein (HDL)

High Density Lipoprotein (HDL) yang disebut juga α -lipoprotein merupakan molekul lipoprotein yang paling kecil dengan diameter 8-11 nm, mempunyai berat jenis paling besar dengan inti lipid paling kecil.^{12,13,14} Fraksi HDL dalam plasma bervariasi dalam ukuran, bentuk, komposisi, dan muatan listrik pada permukaannya. Partikel HDL bila dilihat dengan mikroskop elektron akan tampak sebagai partikel sferis atau diskoidal. Pada plasma normal kebanyakan berbentuk sferis¹⁶. Unsur lipid yang dominan pada molekul ini adalah kolesterol dan fosfolipid. HDL berfungsi sebagai tempat penyimpanan apolipoprotein C dan apolipoprotein E yang dibutuhkan dalam metabolisme kilomikron dan VLDL.¹³ HDL berperan pada proses *Reverse Cholesterol Transport* (RCT) atau pengangkutan balik kolesterol, di mana HDL dapat meningkatkan efluks kelebihan kolesterol dari jaringan perifer dan mengembalikan ke hati untuk diekskresikan melalui empedu.¹⁶ Selain itu, HDL diduga memiliki efek antiaterogenik, antara lain: menghambat oksidasi *Low Density Lipoprotein* (LDL), menghambat inflamasi endotel, meningkatkan produksi nitrit oksida endotel, meningkatkan bioavailabilitas prostasiklin, dan menghambat koagulasi dan agregasi

platelet. Namun, mekanisme molekular terhadap efek tersebut belum dapat dijelaskan.¹⁶

2.1.5 Low Density Lipoprotein (LDL)

LDL merupakan salah satu lipoprotein yang mengangkut kolesterol dan trigliserida dari hati menuju jaringan perifer. Unsur yang dominan dalam membentuk LDL adalah kolesterol dan fosfolipid. LDL memungkinkan kolesterol dan kolesterol diangkut dalam aliran darah dengan membuatnya larut dalam plasma. Selain itu, LDL mengatur mengatur sintesis kolesterol. LDL mengandung molekul apolipoprotein B-100.¹³ Waktu paruh untuk hilangnya apo B-100 di dalam LDL dari sirkulasi darah adalah dua hari. Berbagai penelitian terhadap fibroblas, limfosit serta sel otot polos pembuluh arteri dan hati yang dibiakan telah memperlihatkan adanya tapak-tapak penglihatan yang spesifik atau reseptor untuk LDL yaitu reseptor LDL (B100,E). Sebanyak 30% LDL akan diuraikan di jaringan ekstrahepatik dan 70% lainnya di hati.^{17,18}

Peningkatan jumlah LDL akibat diet tinggi kolesterol berkaitan dengan kejadian aterosklerosis. LDL yang jumlahnya meningkat akan terikat oleh proteoglikan dan tertahan pada tunika intima kemudian mengalami modifikasi dalam bentuk oksidasi. LDL teroksidasi menyebabkan cedera endotel, akumulasi dan retensi dari makrofag pada endotel, serta menjadi awal dari pembentukan sel busa (*foam cell*).¹⁹ LDL yang teroksidasi juga akan menginduksi endotel membentuk

ekspresi dari molekul adhesi, kemokin, sitokin proinflamasi, dan mediator inflamasi lain pada makrofag dan dinding pembuluh darah yang meningkatkan progresivitas dari foam cell menjadi plak ateroma yang terjadi pada aterosklerosis.¹⁵

2.1.6 Hiperlipidemia

Lipid seperti yang telah disebutkan di atas memiliki banyak manfaat dalam tubuh. Namun, apabila kadar lipid itu berlebihan, ternyata akan memberikan efek samping yang sangat serius, di antaranya ialah kerusakan sel endotel pembuluh darah.⁵ Hiperlipidemia merupakan suatu keadaan meningkatnya konsentrasi semua lipid dalam plasma meliputi hipertrigliseridemia dan hiperkolesterolemia.²⁴ Dislipidemia merupakan kelainan dalam atau jumlah abnormal, lipid dan lipoprotein dalam darah.²⁴

Lipoprotein yang memiliki apoB-100 (VLDL, IDL, LDL) bila terdapat dalam jumlah yang banyak dan dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan deposisi kolesterol dan ester kolesterol pada jaringan ikat dinding pembuluh arteri.¹³ Jaringan otot halus dan jaringan fibrosa di sekitarnya akan berproliferasi membentuk plak. Dengan berjalannya waktu, plak akan bertambah besar. Plak yang bertambah besar ditambah dengan garam kalsium yang ikut mengendap akan menyebabkan atherosklerosis. Atherosklerosis dapat menyebabkan timbulnya penyumbatan pembuluh darah yang dapat berakibat fatal bagi

penderitanya. Plak yang terlepas juga dapat menyebabkan sumbatan pada pembuluh darah. Apabila plak ini menyumbat pembuluh darah yang cukup vital, misalnya pembuluh darah utama otak atau pembuluh darah koroner jantung, maka dapat menyebabkan stroke bahkan kematian mendadak karena serangan jantung.²⁰

Aterosklerosis merupakan penyakit dengan karakteristik lesi pada tunika intima arteri yang menonjol ke dalam lumen yang disebut ateroma.²¹ Aterosklerosis memiliki manifestasi klinis yang berbeda tergantung letak arteri yang terkena sebagai contoh infark miokard dan angina pectoris pada arteri koronaria, stroke pada arteri otak, klaudikasio intermiten dan gangren pada arteri di ekstremitas, dll.²²

Terdapat dua macam faktor risiko untuk aterosklerosis, faktor termodifikasi dan faktor yang tidak termodifikasi. Faktor yang dapat dimodifikasi diantaranya diet tinggi lemak dan kolesterol, hiperkolesterolemia (>190 mg/dL), hipertensi, merokok, kadar HDL yang rendah (<40 mg/dL), kadar homosistein yang tinggi dan obesitas, sedangkan faktor yang tidak dapat dimodifikasi antara lain jenis kelamin, ras, dan riwayat penyakit jantung koroner yang prematur pada keluarga.²³

Beberapa kepustakaan menyebutkan bahwa tahap awal dari aterosklerosis adalah cedera endotel karena infiltrasi dan retensi dari

lipoprotein (terutama yang mengandung apo-B) didalam celah subendotel dari dinding pembuluh darah.^{1,17,20}

Beberapa faktor memiliki kontribusi terhadap cedera endotel yang mengarah pada pembentukan lesi aterosklerosis. Faktor tersebut diantaranya peningkatan kadar LDL, penurunan kadar HDL, stress oksidatif, genetik, obesitas, hipertensi, resistensi insulin, diabetes mellitus, infeksi virus herpes atau *Chlamydia pneumoniae*, defisiensi estrogen, dan usia lanjut.¹ Cedera endotel akan meningkatkan perlekatan leukosit dan platelet pada endotel, permeabilitas endotel, perubahan zat antikoagulan menjadi prokoagulan, perubahan vasodilator menjadi vasokonstriktor, peningkatan sitokin untuk pertumbuhan sel otot polos pembuluh darah.

Salah satu faktor yang memiliki kontribusi besar terhadap cedera endotel adalah LDL. Retensi LDL di subendotel akan menghasilkan proses oksidasi dan selanjutnya internalisasi oleh makrofag melalui reseptor *scavenger*.¹ Internalisasi LDL oleh makrofag akan merangsang pembentukan lipid peroksid dan akumulasi kolesterol ester didalam makrofag membentuk *foam cell*. LDL termodifikasi juga merupakan kemotaktik bagi monosit lain dan dapat meningkatkan ekspresi gen dari *macrophage colony-stimulating factor* (MCSF) dan *monocyte chemotactic protein* (MCP) pada sel endotel. Baik MCSF maupun MCP akan meningkatkan respon inflamasi tubuh dengan meningkatkan

replikasi monosit menjadi makrofag dan menarik monosit baru ke dalam lesi.

LDL teroksidasi ditemukan pada lesi aterosklerosis pada binatang coba dan manusia. Pada percobaan terhadap bintang coba, antioksidan dapat mengurangi ukuran dari lesi aterosklerotik. Antioksidan juga dapat meningkatkan resistensi LDL terhadap proses oksidasi.¹

Respon inflamasi yang berlanjut secara kontinyu akan merangsang proliferasi dari sel otot polos di daerah sekitar lesi untuk membentuk lesi intermediate mengakibatkan peningkatan ketebalan dinding arteri.¹ Lesi intermediat akan berkembang menjadi plak fibrous yakni lapisan rapat tersusun dari gabungan jaringan ikat fibrous dan sel otot polos yang melingkupi inti yang berisi sel nekrotik dan lipid, terutama kolesterol ester. Inti nekrotik terbentuk dari apoptosis dan nekrosis dari makrofag, sel T, dan sel otot polos, aktivitas proteolitik yang meningkat, dan akumulasi lipid. Kumpulan sel yang menyelimuti inti nekrotik akan memacu pertumbuhan plak. Plak tersebut juga mendapat vaskularisasi dari pembuluh darah mikro yang berasal dari vasa vasorum arteri. Aliran darah ini akan memberikan jalan bagi sel inflamasi ke dalam plak. Mikrovaskularisasi ini bersifat rapuh dan mudah mengalami perdarahan yang menyebabkan ruptur plak. Plak lebih lanjut dapat mengalami ulserasi, erosi membentuk fisura dan retakan, yang membuat plak menjadi rentan terhadap perdarahan dan trombosis.¹⁹

Kadar lipid normal sebenarnya sulit dipatok pada satu angka karena normal untuk seseorang belum tentu normal untuk orang lain.¹⁶ Rentang normal untuk kolesterol plasma diperkirakan 120-200 mg/dl, tetapi pada pria terdapat korelasi positif yang jelas antara angka kematian akibat penyakit jantung iskemik dan kadar kolesterol plasma di atas 180 mg/dl.¹⁷ Sementara kadar kolesterol LDL yang diinginkan adalah 130-159 mg/dl. Tidak semua kolesterol bersifat merugikan, kolesterol HDL justru diharapkan kadarnya 60 mg/dl atau lebih karena kolesterol HDL mampu melindungi terhadap berkembangnya aterosklerosis.^{16,18} Kadar kolesterol HDL dipengaruhi banyak faktor, antara lain: genetik, aktivitas fisik, jenis kelamin, diet, obat-obatan, rokok, alkohol, dll.^{6,19,20,21}

2.1.7 Induksi Hiperlipidemia

Sebuah penelitian telah membuktikan bahwa pemberian diet kuning telur *intermitten* dapat menaikkan kadar profil lipid, terutama kadar kolesterol total dan trigliserid, sedangkan kadar LDL. Pemberian diet kuning telur pada tikus sangat mempengaruhi metabolisme kadar kolesterol darah. Diet kuning telur yang kaya kolesterol dan trigliserid diuraikan oleh enzim lipase lambung, setelah sebelumnya diemulsikan oleh garam empedu. Hasil penguraiannya berupa asam lemak bebas dan dua monogliserid dalam bentuk misel dalam usus halus. Oleh epitel usus halus, asam lemak bebas dan monogliserid disintesis kembali menjadi trigliserid dan fosfolipid, kemudian bergabung dengan kilomikron,

diangkut menuju hati dan jaringan. Kecepatan sintesis kolesterol dalam tubuh akan semakin menurun dengan semakin banyaknya kolesterol yang diabsorpsi.⁷

2.1.8 Pemeriksaan Kadar Normal

Menurut klasifikasi WHO yang diambil dari Frederickson, kadar kolesterol normal pada tes plasma tegak adalah 180-250 mg/dl. Sedangkan menurut National Cholesterol Education Programm (NECP) Adult Treatment Panel III (ATP III), kadar lipid serum normal dapat dilihat dalam tabel berikut :

Tabel 1. Kadar Lipid serum Normal NCEP-ATP III

Kolesterol Total

< 200 mg/dl	optimal
200-239 mg/dl	diinginkan
≥ 240 mg/dl	tinggi

Kolesterol LDL

<100 mg/dl	optimal
130-129 mg/dl	mendekati optimal

130-159 mg/dl	diinginkan
160-189 mg/dl	tinggi
≥ 190 mg/dl	sangat tinggi

Kolesterol HDL

<40 mg/dl	rendah
≥ 60 mg/dl	tinggi

2.1.7 Kolesterol

Kolesterol merupakan komponen struktural esensial yang membentuk membran sel serta lapisan eksternal lipoprotein. Kolesterol di dalam plasma mempunyai dua bentuk, dua pertiga bagian sebagai ester dan sisanya merupakan kolesterol bebas. Ester kolesterol merupakan bentuk penyimpanan kolesterol yang ditemukan di sebagian jaringan tubuh dan diangkut sebagai muatan inti hidrofobik lipoprotein.¹³ Hiperkolesterolemia merupakan suatu keadaan kelebihan kolesterol di dalam darah.²⁴

2.2 OKSIDAN

2.2.1. Definisi

Akseptor elektron pada suatu reaksi oksidasi-reduksi.²⁴

2.2.2. Sumber

Sumber oksidan baik endogenous maupun eksogenous terjadi melalui sederetan mekanisme reaksi. Diawali pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), lalu perambatan atau terbentuknya radikal baru (propagasi) dan tahap terakhir (terminasi) yaitu pemusnahan atau perubahan menjadi radikal bebas stabil dan tak reaktif.

Penjelasan mengenai sumber radikal bebas endogenous ini sangat bervariasi. Sumber endogenous dapat melewati autoksidasi, oksidasi enzimatik, fagositosis dalam respirasi, transpor elektron di mitokondria, oksidasi ion-ion logam transisi atau melalui iskemik. Autoksidasi adalah senyawa yang mengandung ikatan rangkap, hidrogen alilik, benzilik atau tersier yang rentan terhadap oksidasi oleh udara. Contohnya lemak yang memproduksi asam butanoat, berbau tengik setelah bereaksi dengan udara. Oksidasi enzimatik menghasilkan oksidan asam hipoklorit. Di mana sekitar 70-90% konsumsi O_2 oleh sel fagosit diubah menjadi superoksida dan bersama dengan OH serta HOCl membentuk H_2O_2 dengan bantuan bakteri. Oksigen dalam sistem transpor elektron menerima 1 elektron membentuk superoksida. Ion logam transisi, yaitu

Co dan Fe memfasilitasi produksi singlet oksigen dan pembentukan radikal OH melalui reaksi Haber-Weiss : $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{OH} + \text{OH} + \text{Fe}^{3+}$. Sumber eksogenous oksidan yakni berasal dari luar sistem tubuh.

2.2.3 Efek berbahaya oksidan

Saat ini ditemukan bahwa ternyata radikal bebas berperan dalam terjadinya berbagai penyakit. Hal ini dikarenakan radikal bebas adalah spesies kimia yang memiliki pasangan elektron bebas di kulit terluar sehingga sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat, atau DNA. Reaksi antara radikal bebas dan molekul itu berujung pada timbulnya suatu penyakit.

Efek oksidatif radikal bebas dapat menyebabkan peradangan dan penuaan dini. Oksigen reaktif yang dihasilkan dapat meningkatkan kadar LDL (low density lipoprotein) yang kemudian menjadi penyebab penimbunan kolesterol pada dinding pembuluh darah. Akibatnya timbulah atherosklerosis atau lebih dikenal dengan penyakit jantung koroner.

Tipe radikal bebas turunan oksigen reaktif sangat signifikan dalam tubuh. Oksigen reaktif ini mencakup superoksida (O_2^-), hidroksil (ROO^\bullet), hidrogen peroksida (H_2O_2) , singlet oksigen (O_2), oksida nitrit (NO^\bullet), peroksinitrit (ONOO^\bullet) dan asam hipoklorit (HOCl).

2.2.4 Pengaruh oksidan terhadap eritrosit

Oksidan yang mungkin terbentuk di dalam sel eritrosit adalah superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal peroksil (ROO^\bullet).

Superoksida di dalam eritrosit terbentuk karena proses autooksidasi Hb (pada manusia terjadi hampir 3% autooksidasi Hb per hari) menjadi metHb. Di jaringan lain, oksidan ini terbentuk akibat kerja berbagai enzim, seperti sitokrom P-450 reduktase, santin oksidase dan NADPH-oksidase.²⁵

Ion Fe^{2+} dari Hb sangat rentan terhadap oksidasi oleh oksidan, misalnya O_2 , dimana terbentuk metHb yang tidak mampu mengangkut oksigen. Pada keadaan normal hanya dijumpai sedikit metHb di dalam darah karena eritrosit memiliki sistem efektif untuk mereduksi kembali Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} .

Pada eritrosit dan beberapa jaringan, enzim glutathion peroksidase yang mengandung Selenium (Se) mengkatalisasi penguraian H_2O_2 dan hidroksiperosida lipid oleh glutathion (GSH) sehingga lipid membran sel menjadi aman dan oksidasi Hb menjadi metHb dapat dicegah.

NADPH yang dihasilkan oleh reaksi yang dikatalisasi oleh Glukosa-6-fosfat dehidrogenase di dalam jalur pentosaphosphat memegang peranan penting dalam menyuplai *reducing equivalent* pada eritrosit dan hepatosit. Satu-satunya jalur atau rangkaian reaksi yang

menghasilkan NADPH adalah jalur Pentosa phosphat. Maka eritrosit sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif bila terdapat gangguan (misalnya defisiensi enzim G6dehidrogenase) pada jalur penghasil NADPH ini. Salah satu fungsi NADPH adalah mereduksi GSSG menjadi GSH yang dikatalisis oleh enzim Glutathion Reduktase.

Pada defisiensi Glukosa-6-Phosphat (G6PD), eritrosit tidak amampu menyediakan NADPH yang cukup bagi reduksi GSSG dan GSH yang seterusnya mengganggu proses penetralan H_2O_2 dan radikal oksigen lainnya. Senyawa-senyawa ini dapat menyebabkan ;

1. Oksidasi gugus SH kritis dan protein
2. Peroksidasi lipid pada membran eritrosit yang seterusnya mengalami lisis
3. Gugus SH dan Hb teroksidasi dan protein yang mengalami presipitasi di dalam eritrosit membentuk Heinz bodies. Adanya Heinz bodies menunjukkan bahwa eritrosit sedang menderita stress oksidatif

Peroksidasi (autooksidasi) lipid akibat kontak dengan oksigen dapat menyebabkan kerusakan sel atau jaringan tubuh. Efek merusak ini diawali oleh pembentukan radikal bebas (ROO, RO, OH) yang terjadis sewaktu terjadinya reaksi pembentukan peroksida dan asam lemak yang terdapat di dalam struktur molekul polyunsaturated fatty acid (PUFA).

Peroksidasi lipid ini merupakan suatu rantai reaksi yang tidak putus-putusnya menghasilkan radikal bebas.²⁶

2.2.5 Antioksidan

Senyawa – senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan (scavenging), menahan pembentukan ataupun meniadakan efek spesies oksigen reaktif disebut antioksidan.²⁵ Menurut Kochar dan Rossel (1990) antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid atau dalam arti khusus merupakan zat yang dapat menunda maupun mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid.

Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diizinkan yaitu butil hidroski anisol (BHA), butil hidroksitoluen (BHT), propil galat dan tokoferol. Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen, senyawa antioksidan yang sudah terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan serta senyawa antioksidan tersebut merupakan antioksidan yang diisolasi dari sumber alami.

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen.

Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan priemer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi lemak dan minyak. Radikal-radikal antioksidan yang terbentuk pada reaksi tersebut dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipid baru.

Besar antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan menjadi prooksidan. Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji.

2.2.6 Stess Oksidative

Pada keadaan normal terdapat balans antara Pro-oksidan dan Anti-oksidan, maka keadaan ini disebut oxydative stress. Jika oxydative stress berlangsung berat dan lama yang selanjutnya merupakan penyebab timbulnya keganasan, inflamasi, atherosklerosis, penuaan, iskemia dan hemolisis.

Menurut hasil penelitian, LDL yang etroksidasi lebih mudah dan cepat diambil oleh makrofag dan foam cell jika dibanding dengan LDL normal. Keadaan ini mendorong terjadinya atherosklerosis

2.3 MINYAK ATSIRI

2.3.1 Definisi dan Komposisi

Minyak atsiri (*essential oil*) yang dikenal juga dengan nama eteris atau minyak terbang (*volatile oil*) adalah senyawa yang bersifat volatile sehingga menimbulkan bau khas dari tanaman penghasilnya. Minyak atsiri juga dikenal dengan sebutan minyak terbang, essential oil, atau volatile oil. Minyak ini dapat dihasilkan dari tiap bagian tanaman (daun, bunga, buah, biji, batang/ kulit, dan akar).²⁷ Minyak atsiri yang baru diekstraksi biasanya tidak berwarna atau berwarna kekuning-kuningan. Jika minyak atsiri lama berada di udara terbuka, terkena cahaya, dan pada suhu kamar, maka minyak atsiri tersebut dapat mengabsorbisi oksigen di udara sehingga menghasilkan warna minyak yang lebih gelap, bau minyak berubah dari bau wangi alamiahnya dan minyak lebih kental dan pada akhirnya membentuk sejenis resin. Minyak atsiri dapat menguap pada suhu kamar dan penguapannya semakin besar seiring dengan kenaikan suhu. Umumnya minyak atsiri larut dalam alkohol encer yang konsentrasinya kurang dari 70%, tetapi tidak larut dalam air. Daya larut tersebut akan lebih kecil jika minyak atsiri mengandung fraksi terpen dalam jumlah besar.^{27,28}

Sifat minyak atsiri ditentukan oleh persenyawaan kimia yang terdapat di dalamnya, terutama persenyawaan tak jenuh (terpena), ester, asam, dan aldehida serta beberapa jenis persenyawaan lainnya. Perubahan sifat kimia minyak atsiri dapat dipengaruhi oleh beberapa proses, antara lain oksidasi, hidrolisa polimerisasi (resinifikasi), dan penyabunan.

Secara umum minyak atsiri terdiri atas unsur-unsur karbon (C), hidrogen (H), dan oksigen (O), kadang-kadang terdiri atas nitrogen (N) dan belerang (S). Selain itu minyak atsiri juga mengandung komponen yang tidak dapat menguap yaitu resin dan lilin, tetapi dalam jumlah yang kecil. Berdasarkan komposisi kimia dan unsur-unsurnya minyak atsiri dibagi dua, yaitu : *hydrocarbon* dan *oxygenated hydrocarbon*. *Hydrocarbon* memiliki unsur-unsur hidrogen (H) dan karbon (C). Jenis hidrokarbon yang terdapat dalam minyak atsiri sebagian besar terdiri atas : monoterpena (2 unit isoprena), seskuioterpena (3 unit isoprena), diterpena (4 unit isoprena), politerpena, parafin, olefin, dan hidrokarbon aromatik. Sedangkan *oxygenated hydrocarbon* mengandung unsur-unsur karbon (C), hidrogen (H), dan oksigen (O).²⁷

Sebagian besar minyak atsiri umumnya diperoleh dengan penyulingan dengan menggunakan uap atau disebut juga hidrosetilasi. Penyulingan dapat didefinisikan sebagai pemisahan komponen-komponen suatu campuran dari dua jenis cairan atau lebih berdasarkan

perbedaan tekanan uap dari masing-masing tersebut. Dalam industri minyak atsiri dikenal 3 macam metode penyulingan, yaitu: 1) penyulingan dengan air (water distillation) 2) penyulingan dengan air dan uap (water and steam distillation) 3) penyulingan dengan uap langsung (steam distillation).

2.3.2 Minyak Atsiri Bawang Putih

Komponen utama bawang putih tidak berbau, disebut kompleks sativumin, yang diabsorpsi oleh glukosa dalam bentuk aslinya untuk mencegah proses dekomposisi. Dekomposisi kompleks sativumin akan menghasilkan bau khas yang tidak sedap dari *allyl sulfide*, *allyl disulfide*, *allyl mercaptane*, *alun allicin*, dan *alliin*. Komponen kimia ini mengandung sulfur, yang merupakan komponen penting dalam kandungan bawang putih. Bila dilakukan penyulingan uap dengan suhu 100° C pada bawang putih akan didapatkan minyak atsiri bawang putih dengan kandungan utama *diallyl disulfide* (DADS) atau dalam bentuk teroksidasi disebut dengan *allicin*.²⁹ Fungsi fisiologis yang dimiliki oleh *allicin* sangat luas yaitu sebagai antioksidan, antikanker, antitrombotik, antiradang, menurunkan tekanan darah dan kolesterol darah. Fungsinya sebagai antioksidan memiliki peranan penting dalam mencegah pembentukan radikal bebas baik secara invitro maupun invivo. *Allicin* menghambat lipoksigenase dan siklooksigenase (enzim yang menghambat aktivasi marker inflamasi berupa prostaglandin dan

tromboksen) yang mengakibatkan berkurangnya reaksi inflamasi. Menurunnya reaksi inflamasi pada endotel pembuluh darah akan menurunkan pembentukan radikal bebas superoksid dan pada akhirnya oksidasi LDL terhambat.

Pemberian minyak atsiri bawang putih yang setara dengan 1 gram bawang putih segar/kg BB/hari akan menurunkan kadar kolesterol, trigliserid serum, *pre β -lipoprotein* (VLDL), dan *β -lipoprotein* (LDL) serta meningkatkan *α -lipoprotein* (HDL), sehingga menurunkan rasio LDL : HDL. Bahan aktif yang berperan pada proses-proses tersebut adalah campuran *allyl propyl disulphide*, *diallyl disulphide*, dan bahan-bahan lain yang mengandung sulfur, tetapi yang paling diketahui mekanisme kerjanya adalah *diallyl disulphide* (DADS).²⁹

Senyawa DADS merupakan suatu *disulphide-oxyde* tidak jenuh.²⁹ DADS dapat menghambat kerja enzim 3-Hidroksi-3-metilglutaril-KoA (HMG-KoA) reduktase.⁵ Enzim HMG-KoA reduktase berperan sebagai katalisator dalam biosintesis kolesterol. Enzim ini berperan mengubah HMG-KoA menjadi mevalonat, yang selanjutnya akan mengalami dekarboksilasi membentuk unit isoprenoid. Unit isoprenoid akan bergabung membentuk skualen. Selanjutnya skualen akan dikonversi menjadi lanosterol dan akhirnya lanosterol akan dikonversi lagi menjadi kolesterol. Penghambatan terhadap HMG-KoA reduktase menyebabkan penurunan sintesa kolesterol dan meningkatkan jumlah reseptor LDL.²⁶

Hal ini menyebabkan kadar LDL plasma menurun dan terjadi supresi terhadap produksi apo B-100.²⁷ Produksi apo B-100 berhubungan terbalik dengan produksi apo A-1, sehingga supresi terhadap produksi apo B-100 akan menyebabkan kenaikan kadar apo A-1.^{21,27} Apo A-1 bila berikatan dengan fosfolipid dan kolesterol dalam jumlah minimal akan membentuk pre- β HDL yang selanjutnya akan menjadi HDL matur, sehingga kenaikan apo A-1 dapat menyebabkan kenaikan kadar HDL. Mekanisme ini juga dimiliki oleh obat-obatan golongan statin.²⁶

2.4 ERITROSIT

2.4.1 Definisi

Darah beredar dalam suatu sistem pembuluh darah yang pada hakekatnya tertutup. Darah terdiri atas unsur-unsur padat, yaitu eritrosit, leukosit serta trombosit, yang tersuspensi di dalam media cair yang disebut plasma.¹³ Peranan fundamental yang dimiliki darah untuk mempertahankan homeostasis dan kemudahan memperoleh darah, memiliki makna bahwa penelitian terhadap unsur-unsur pembentuk darah mempunyai makna yang penting.

Sel darah merah memiliki fungsi utama yang relatif sederhana, dan terdiri atas fungsi untuk menyampaikan oksigen kepada jaringan dan membantu mengeluarkan karbondioksida serta proton yang terbentuk oleh metabolisme jaringan. Jadi, sel darah merah memiliki struktur yang jauh lebih sederhana dibandingkan dengan kebanyakan sel manusia yang

lain dan pada dasarnya tersusun dari sebuah membran yang mengelilingi larutan hemoglobin (protein ini membentuk sekitar 95% dari protein intrasel pada sel darah merah).¹³ Di dalam sel darah merah tidak terdapat organel intrasel seperti mitokondria, lisosom atau aparatus golgi. ATP disintesis dari glikolisis dan merupakan unsur yang penting dalam sejumlah proses yang membantu sel darah merah mempertahankan bentuk bikonkafnya di samping dalam pengaturan transportasi ion dan air yang mengalir masuk serta keluar sel. Bentuk bikonkaf akan meningkatkan rasio sel darah merah terhadap volumenya sehingga memperlancar pertukaran gas. Sel darah merah mengandung komponen sitoskeletal yang memainkan peranan penting dalam menentukan bentuknya. Ukuran eritrosit 7,2 mikron, tidak memiliki inti dengan sitoplasma berwarna keunguan. Bentuknya bulat dari samping, di bagian sentral terdapat cekungan yang disebut *central pallor*. Sifat dindingnya fleksibel serta semipermeabel dimana permeabel untuk air, anion dan kation serta impermeabel untuk Hb. Di bagian luar terdiri atas membran yang melindungi Hb, protein dan enzim sedangkan di dalamnya terdiri dari lapisan glukoprotein dan fosfolipid.¹³

Eritrosit tersusun dari 61% air, 28% Hb, 7% lemak serta 3-4% karbohidrat, elektrolit, enzim dan protein metabolit. Hemoglobin merupakan konjugasi protein yang terdiri atas empat molekul hem dan satu molekul globin. Heme terdiri dari protoporfirin dan Fe^{++} , sedangkan globin terdiri dari empat inti pirol dan enzim.²⁵

2.4.2 Pembentukan dan Perkembangan (Eritropoiesis)

Sel darah merah berasal dari hemositoblas yang kemudian berkembang secara berurutan menjadi proeritroblas, basofilik eritroblas, polikromatik eritroblas, orthokromatik eritroblas, retikulosit dan pada akhirnya menjadi eritrosit dan membelah secara mitosis. Proses keseluruhan yang meliputi perkembangan dan pembentukan dinamakan eritropoiesis.

Jumlah eritrosit yang normal pada laki-laki adalah 4,6-6,2 juta/ μ L, pada wanita 4,2-5,4 juta/ μ L. Lama hidup eritrosit yang normal adalah 120 hari, ini berarti bahwa kurang dari 1% populasi eritrosit akan digantikan setiap harinya. Lama hidup eritrosit dapat memendek secara dramatis pada untuk mengimbangi pemecahan eritrosit yang cepat tersebut dengan cara meningkatkan eritrosit muda yang baru di dalam sirkulasi darah.

Produksi eritrosit diatur oleh eritropietin yang merupakan glikoprotein dengan 166 asam amino (massa molekul sekitar 34kDa). Jumlahnya dalam plasma dapat diukur dalam radioimunoassay. Eritropoietin terutama disintesis oleh ginjal dan dilepaskan ke dalam aliran darah sebagai respon terhadap keadaan hipoksia: dari dalam darah, eritropoietin akan menuju ke sumsum tulang. Dalam sumsum tulang, eritropoietin mengadakan interaksi progenitor eritrosit lewat sebuah reseptor yang spesifik. Reseptor tersebut adalah protein transmembran

yang terdiri atas dua subunit yang berbeda dan sejumlah domain. Eritropoietin berinteraksi dengan progenitor eritrosit yang dikenal sebagai BFU-E (burst forming unit erythroid) dan menyebabkan progenitor tersebut berproliferasi serta berdiferensiasi.

Di samping eritropoietin, sejumlah besar faktor pertumbuhan yang bersifat hematopoietik telah diidentifikasi dalam beberapa tahun terakhir ini. Seperti halnya eritropoietin, sebagian besar faktor pertumbuhan yang berhasil diisolasi adalah glikoprotein, bekerja sangat aktif secara *in vivo* serta *in vitro*, mengadakan interaksi dengan sel targetnya lewat reseptor permukaan sel yang spesifik dan akhirnya mempengaruhi ekspresi gen yang dengan cara demikian akan mendorong proses diferensiasi. Dua faktor pertumbuhan yang mendapat perhatian khusus adalah G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor) dan GM-CSF (Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor). G-CSF merupakan faktor pertumbuhan yang relatif spesifik yang terutama menginduksi granulosit. GM-CSF mempengaruhi sejumlah sel progenitor dan menginduksi granulosit, makrofag serta eosinofil.

Proses terbentuknya eritrosit berawal dari hemositoblas (sumsum tulang) hingga sel masak menuju aliran darah terdiri dari tiga fase yaitu :

- a. Proses Pembelahan (mitosis)

Pada keadaan normal terjadi pada sumsum tulang

b. Proses pemasakan (maturasi)

c. Proses pembebasan

Dari sumsum tulang dibebaskan masuk ke dalam pembuluh darah kemudian menembus lapisan endotel pembuluh darah secara diapedesis (proses hampir sama di lien).

Seluruh proses eritropoiesis dalam sumsum tulang diperlukan waktu 7 hari. Terdapat tiga ciri perkembangan sel darah merah yaitu penyusutan ukuran sel, perubahan warna sitoplasma dan perubahan inti.³¹

2.4.3 Metabolisme eritrosit

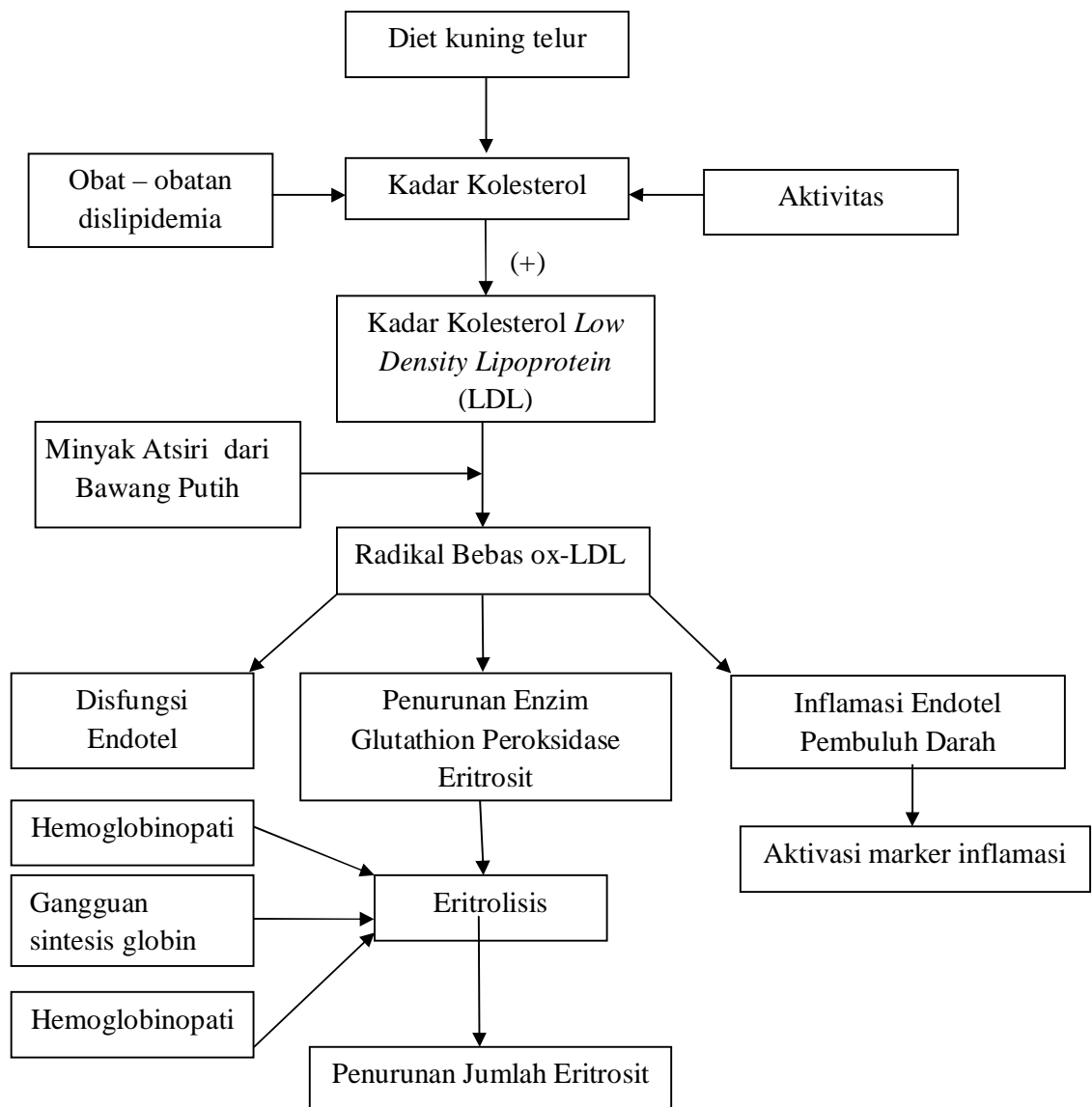
Eritrosit sangat bergantung pada glukosa sebagai sumber energinya dimana membrannya mengandung pengangkut glukosa dengan afinitas yang sangat tinggi. Glikolisis yang menghasilkan laktat adalah tapak produksi ATP. Karena eritrosit tidak memiliki mitokondria, tidak ada produksi ATP oleh fosforilasi oksidatif. Eritrosit memiliki berbagai pengangkut yang mempertahankan keseimbangan ion dan air. Produksi 2,3-bisfosfoglisarat melalui reaksi yang berhubungan erat dengan glikolisis sangat penting dalam mengatur kemampuan Hb untuk mengangkut oksigen. Lintasan pentosa fosfat bekerja dalam eritrosit (lintasan ini memetabolisme kurang lebih 5-10% dan aliran total glukosa) dan menyintesis NADPH. Anemia hemolitik yang disebabkan defisiensi aktifitas glukosa-6-fosfat dehidrogenase lazim ditemukan. Glutathion

tereduksi (GSH) merupakan unsur yang penting dalam metabolisme eritrosit dan hal ini sebagian karena kerjanya dalam melawan kerja peroksida yang potensial beracun. Eritrosit dapat menyintesis GSH dan membutuhkan NADPH untuk mengembalikan glutathion teroksidasi(G-S-S-G) kembali tereduksi. Besi pada Hb harus dipertahankan dalam keadaan ferro, jika diberikan ferri akan direduksi menjadi ferro oleh kerja sistem methemoglobin reduktase yang bergantung NADH dan meliputi enzim sitokrom b₅ reduktase serta sitokrom b₅. Sintesis glikogen, asam lemak, protein, dan asam nukleat tidak terjadi dalam eritrosit akan tetapi beberapa lipid misalnya kolesterol dalam membran eritrosit dapat bertukar dengan lipid plasma yang bersesuaian. Eritrosit mengandung enzim metabolisme nukleotida tertentu misalnya adenosin deaminase, pirimidin nukleotidase dan jika terjadi defisiensi enzim ini ikut terlibat dalam beberapa kasus anemia hemolitik. Bila eritrosit mencapai akhir usia hidupnya, globin akan diuraikan menjadi asam amino (yang akan digunakan kembali dalam tubuh), besi dilepaskan dari heme dan juga akan digunakan kembali dan komponen tetrapirrol pada heme diubah menjadi bilirubin yang utama diekskresikan ke dalam usus lewat empedu.¹³

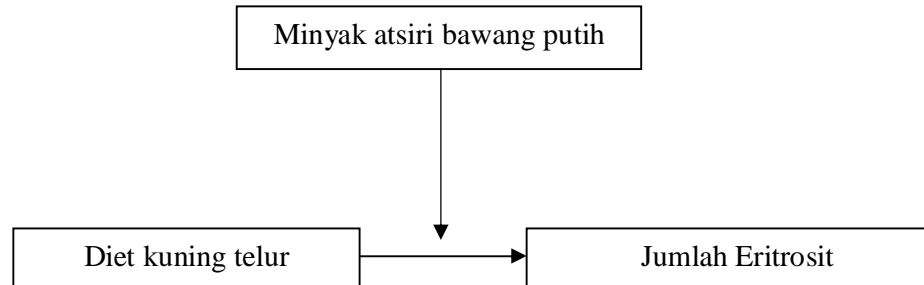
BAB 3

METODOLOGI

3.1 KERANGKA TEORI



3.2 KERANGKA KONSEP



3.3 HIPOTESIS PENELITIAN

Pemberian minyak atsiri bawang putih akan meningkatkan jumlah eritrosit pada tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

3.4. RUANG LINGKUP PENELITIAN

3.4.1. Tempat dan Waktu Penelitian

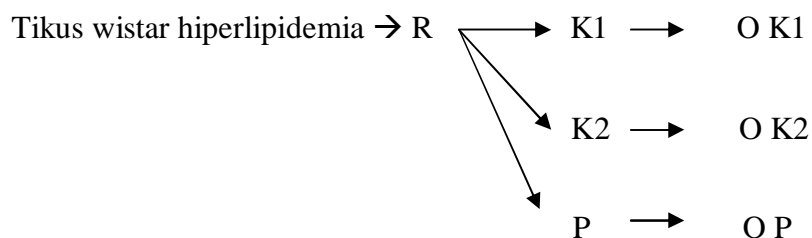
Penelitian ini berlangsung selama 6 minggu. Pemeliharaan hewan coba, pembuatan diet kuning telur dilakukan di laboratorium Biokimia Universitas Diponegoro Semarang. Pembuatan minyak atsiri bawang putih dilakukan di laboratorium Kimia Universitas Diponegoro Semarang. Penghitungan eritrosit dilakukan di laboratorium swasta berizin Semarang.

3.4.2. Lingkup Ilmu

Penelitian ini termasuk dalam lingkup ilmu Biokimia dan Kimia.

3.5. JENIS PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan dua kelompok, yaitu satu kelompok eksperimental dan satu kelompok kontrol, dengan randomisasi sederhana. Penelitian dilakukan hanya pada *post test*, dengan membandingkan hasil penghitungan jumlah eritrosit pada kelompok eksperimental dan kontrol.



Keterangan:

R : Randomisasi

K 1 : Kontrol Negatif (diet standar)

K2 : Kontrol Positif (diet kuning telur)

P : Kelompok perlakuan dengan member diet standard an minyak atsiri bawang putih

O K : Hasil pemeriksaan jumlah eritrosit pada kelompok kontrol

O P : Hasil pemeriksaan jumlah eritrosit pada kelompok perlakuan

3.6. SUBYEK PENELITIAN DAN SAMPEL

3.6.1. Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah tikus wistar jantan.

3.6.2. Sampel

Jumlah sampel yang digunakan berdasarkan kriteria sampel menurut World Health Organization (WHO), yaitu minimal lima ekor.²⁷ Pada kesempatan ini digunakan dua kelompok sampel dengan jumlah masing-masing lima ekor. Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tujuh ekor tikus tiap kelompok. Terdapat tiga kelompok terdiri dari satu kelompok kontrol dan satu kelompok perlakuan. Jumlah sampel seluruhnya adalah 21 ekor tikus wistar jantan.

3.7. VARIABEL PENELITIAN

3.7.1. Klasifikasi Variabel

a. Variabel Bebas

Pada penelitian ini yang ditetapkan sebagai variabel bebas adalah pemberian minyak atsiri dari bawang putih.

b. Variabel Tergantung

Sebagai variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah eritrosit.

Skala kedua variabel tersebut adalah rasio.

3.7.2. Definisi Operasional Variabel

- a. Diet kuning telur ditentukan sebesar 0,5 – 1% BB tikus atau sekitar 1,5 gram kuning telur lewat sonde lambung setiap hari.
- b. Pemberian minyak atsiri bawang putih per oral adalah pemberian minyak atsiri bawang putih 0,0504 ml lewat sonde lambung setiap hari.

3.7.3. Kriteria Inklusi

- a. Tikus wistar jantan
- b. Berat badan tikus 150-200 gram pada usia 8 minggu
- c. Kondisi sehat (aktif, tidak cacat)

3.7.4. Kriteria Eksklusi

- a. Bobot tikus menurun hingga berat badannya kurang dari 150 gram
- b. Tikus mati dalam masa penelitian
- c. Tikus mengalami diare selama penelitian berlangsung

Bila ada tikus yang *drop-out*, diganti dengan tikus lain sesuai kriteria inklusi, sehingga jumlah tikus sesuai dengan yang diinginkan.

3.8. ALAT DAN BAHAN

3.8.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan, timbangan elektronik AND, *blood analyzer*, tabung reaksi, pipet *ependorf*, pipet mikrohematokrit, sonde lambung dan ketel penyulingan.

3.8.2. Bahan

- a. Hewan coba berupa tikus jantan galur Wistar, dari PHP Yogyakarta, memenuhi kriteria inklusi. Mendapat pakan standar BR-2 dan minum secara *ad libitum*.
- b. Bahan perlakuan berupa :
 - kuning telur yang dipisahkan dari putihnya dengan cara mengocok perlahan
 - minyak atsiri bawang putih yang didapat dengan teknik penyulingan uap

3.9. PROSEDUR PERLAKUAN SAMPEL

3.9.1. Diet kuning telur

Pembuatan diet kuning telur dilakukan dengan cara: 1) memisahkan kuning telur dari putihnya, 2) membuat emulsi kuning telur dengan cara mengocok perlahan, 3) menimbang emulsi kuning telur. Diet kuning telur ditentukan sebesar 0,5-1% BB tikus atau sekitar 1,5 gram, diberikan lewat sonde lambung setiap hari.

3.9.2. Pemberian minyak atsiri bawang putih

Pembuatan minyak atsiri bawang putih dilakukan dengan cara penyulingan uap: 1) umbi bawang putih yang digunakan adalah umbi bawang putih segar sebanyak satu kg, 2) dicuci hingga bersih kemudian dirajang, 3) dimasukkan dalam dandang dan disuling dengan uap, 4) suhu penyulingan diatur sedemikian rupa sehingga destilat dapat keluar, 5) pemanasan dihentikan jika sudah tidak terjadi lagi penambahan volume pada lapisan minyak atsiri/ air sudah menjadi jernih (\pm 5-6 jam), 6) penyaringan dengan eter dan Natrium sulfat dehidrat untuk menarik sisa air, 7) dipisah dari eter dengan suhu kamar.

Dosis pemberian minyak atsiri bawang putih didapatkan dari perhitungan dosis sebagai berikut:

- Dosis terapi pada manusia (70 kg): Minyak atsiri yang didapat dari 1 gram sampai 4 gram bawang putih segar/kg BB/hari, setara dengan 70-280 gram/hari.

- Bawang putih segar mengandung kurang lebih 1% minyak atsiri atau sekitar 0,01 ml minyak atsiri dari 1 gram bawang putih segar. Jadi dosis terapi manusia setara dengan 0,7-2,8 ml minyak atsiri/hari.
- Faktor konversi tikus wistar (200 gram) dibanding manusia (70 kg) adalah 0,018.
- Jadi, dosis terapi pada tikus wistar setelah dikonversikan adalah $0,018 \times$ dosis terapi minyak atsiri bawang putih pada manusia setara dengan 0,0126-0,0504 ml/hari.
- Peneliti menggunakan dosis 0,05 ml/tikus/hari yang kurang lebih setara dengan 1 tetes minyak atsiri yang diambil dengan pipet.

3.9.3. Pemberian perlakuan

Penelitian menggunakan 21 ekor tikus wistar. Sampel penelitian yang berjumlah 21 ekor tikus wistar dibagi dalam 3 kelompok, sehingga jumlah sampel tiap kelompok berjumlah 7 ekor. Ikhtisar perlakuan tiap kelompok adalah sebagai berikut:

Kelompok kontrol negatif :

1 minggu I dilakukan adaptasi dan diberi diet standar.

2 minggu II diberi diet standar dan diet kuning telur.

3 minggu II diberi diet standar

Kelompok kontrol positif :

1 minggu I dilakukan adaptasi diberi diet standar

2 minggu II diberi diet standar dan diet kuning telur

3 minggu II diberi diet kuning telur

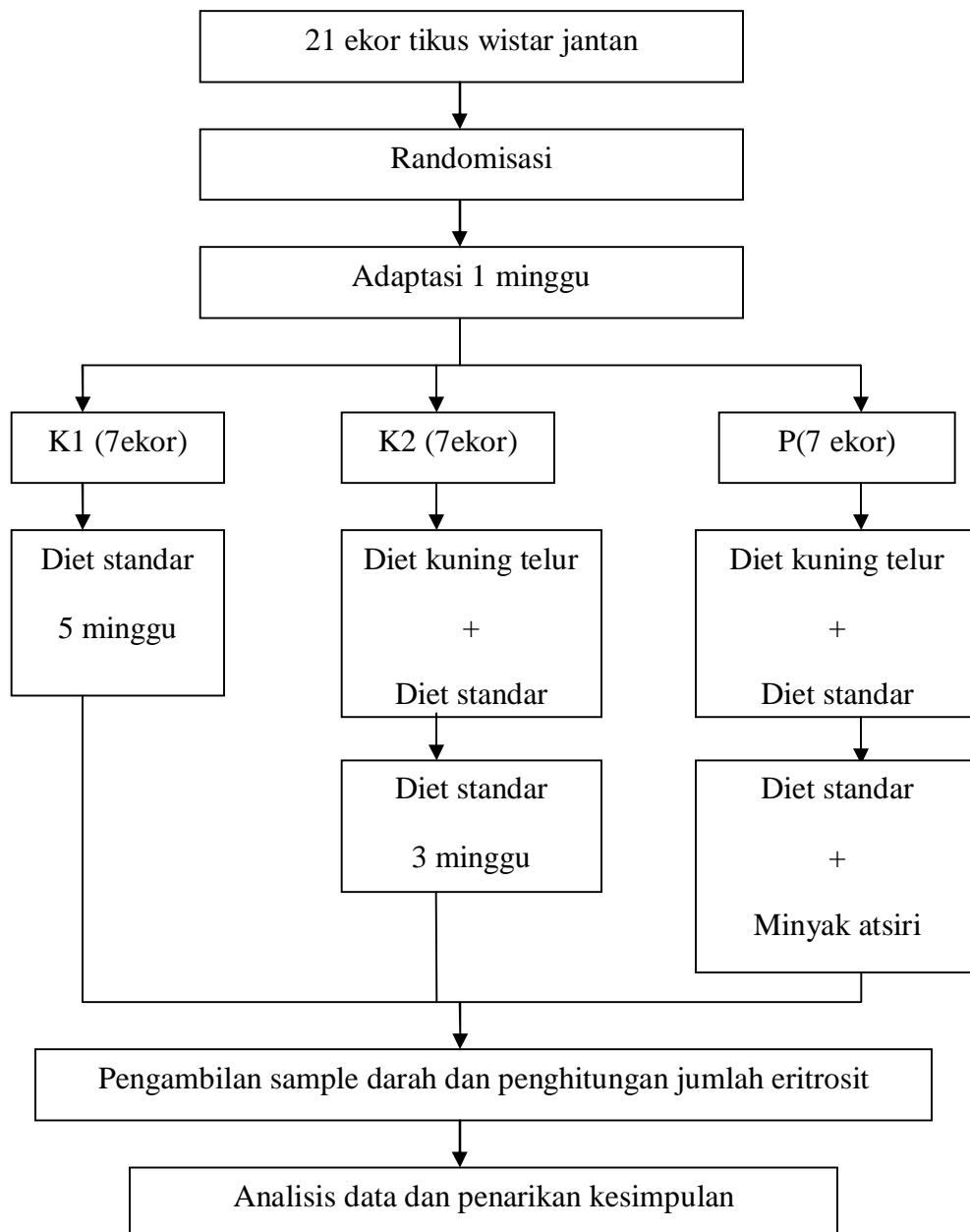
Kelompok perlakuan :

- 1 minggu I dilakukan adaptasi dan diberi diet standar.
- 2 minggu II diberi diet standar dan diet kuning telur.
- 3 minggu II diberi diet standar dan minyak atsiri bawang putih.

3.10. PROSEDUR PENGUKURAN JUMLAH ERIROSIT

Eritrosit dihitung dengan menggunakan *blood analyzer*. Instrumen ini menggunakan metode pengukuran sel yang disebut *Volumetric Impedance*. Pada metode ini, larutan elektrolit (*diluent*) yang telah dicampur dengan sel-sel darah dihisap melalui *aperture*. Ketika darah melalui *aperture*, hambatan antara kedua elektroda tersebut akan naik sesaat dan terjadi perubahan tegangan yang sangat kecil sesuai dengan nilai tahanannya. Kemudian sinyal tegangan tersebut dikuatkan atau diperbesar lalu dikirim ke rangkaian elektronik. Data akan dikoreksi oleh Computer Processing Unit (CPU) dan akan ditampilkan pada layar LCD. Jumlah sinyal untuk setiap ukuran sel disimpan pada memori dalam bentuk histogram. Eritrosit dihitung berdasarkan ukuran tertentu.³³

3.11. ALUR PENELITIAN



3.12. ANALISA DATA

Data hasil penelitian yaitu jumlah eritrosit, setelah *diedit* dan *dikoding*, akan *dientri* ke dalam *file* komputer dengan menggunakan program SPSS for Windows 15.0. Setelah dilakukan *cleaning*, akan dilakukan analisis statistik dengan urutan sebagai berikut:

3.12.1. Analisa Deskriptif

Dilakukan analisis *univariat* dengan pemilihan ukuran penyebaran dan pemusatan data yang akan digunakan dalam analisis data tergantung dari sebaran data yang diperoleh. Sebaran data yang diperoleh normal maka digunakan nilai *mean* sebagai ukuran pemusatan dan standar deviasi sebagai ukuran penyebaran terhadap jumlah eritrosit serum tiap kelompok, serta disajikan dalam bentuk tabel.

3.12.2. Analisa Analitik

Uji hipotesis yang digunakan dalam analisis data penelitian adalah uji hipotesis komparatif variabel numerik terhadap dua kelompok tidak berpasangan.

Data diuji normalitasnya untuk melihat sebarannya sebelum dilakukan uji hipotesis dengan menggunakan uji *Saphiro-Wilk* karena jumlah sampel kecil, sedangkan varians data dinilai dengan menggunakan *uji varians Levene's*. Sebaran data dianggap normal jika $p > 0,05$.

- a. Uji normalitas didapatkan distribusi data normal dilakukan uji hipotesis dengan menggunakan statistik parametrik uji one way anova. Perbedaan dianggap bermakna karena $p < 0,05$.
- b. Hasil sebaran data tidak normal dan varians data tidak sama, dilakukan transformasi terlebih dahulu.³²
- c. Melakukan uji perbedaan untuk ketiga variabel dengan menggunakan uji post hoc.

BAB 4

HASIL

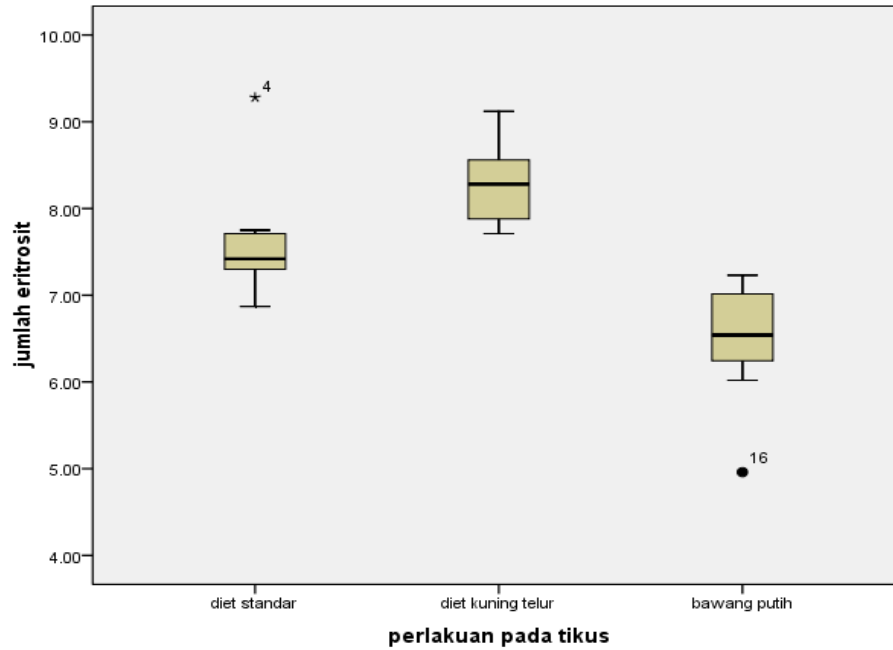
Data jumlah eritrosit dari ketiga kelompok terdistribusi secara normal berdasarkan tes *Shapiro-Wilk* sehingga digunakan *mean* sebagai ukuran pemusatan dan standar deviasi untuk ukuran penyebaran. Deskripsi untuk data jumlah eritrosit tercantum pada tabel 1.

Tabel 1. Analisa deskriptif dari jumlah eritrosit

Kelompok	N	Jumlah eritrosit		Analisa Deskriptif	
		Mean	Standar deviasi	Uji distribusi	Uji homegenitas
Diet standar (K1)	7	7,66	0,77	0,1	0,6
Diet kuning telur (K2)	7	8,28	0,52	0,6	0,6
Diet minyak atsiri (P)	7	6,46	0,79	0,2	0,6
Keterangan				normal	homogen

Uji normalitas terhadap jumlah eritrosit dengan uji normalitas Saphiro Wilk diperoleh hasil bahwa data terdistribusi secara normal dengan nilai $p > 0,05$ setelah dilakukan transformasi data. Kesamaan dari varians data adalah homogen untuk jumlah eritrosit berdasarkan uji Levene's dengan nilai $p = 0,451$ ($p > 0,05$) maka disimpulkan varians data homogen.

Tabel 2. Gambaran sebaran data dalam Box Plot



Uji *One Way Anova* dipilih untuk uji hipotesis karena syarat sebaran data normal dan varians data homogen terpenuhi. Uji tersebut menghasilkan nilai $p = 0,001$ ($p < 0,05$) dan disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan dari jumlah eritrosit antar kelompok.

Tabel 3. Uji Perbandingan Post Hoc dan Uji Hipotesis one way anova

	Diet Standar	Diet Kuning Telur	Diet Minyak Atsiri	Uji one way anova
Diet Standar	-	0,146	0,005	0,001
Diet Kuning Telur	0,146	-	0,000	0,001
Diet Minyak Atsiri	0,005	0,000	-	0,001
Keterangan				Signifikan

Hasil uji post hoc memperlihatkan bahwa jumlah eritrosit kelompok tikus yang diberi diet kuning telur dengan kelompok tikus yang diberi diet standar tidak memiliki perbedaan bermakna $p = 0,146$ ($p > 0,05$) secara statistik walaupun mean kelompok tikus yang diberi diet kuning telur menunjukkan angka lebih besar.

Jumlah eritrosit kelompok tikus yang diberi diet kuning telur lebih tinggi dibandingkan kelompok tikus yang diberi diet minyak atsiri bawang putih dimana perbedaan itu bermakna secara statistik $p < 0,001$ ($p < 0,05$).

BAB 5 PEMBAHASAN

Jumlah eritrosit merupakan salah satu parameter penting untuk menilai kesehatan, mengingat perannya yang sangat besar dalam mengangkut O₂ ke seluruh tubuh. Penelitian ini memperlihatkan bahwa jumlah eritrosit tikus wistar setelah pemberian minyak atsiri bawang putih tidak terbukti meningkat. Hasil uji anova menunjukkan pengaruh yang signifikan dari pemberian minyak atsiri bawang putih terhadap penurunan jumlah eritrosit $p < 0,001$ ($p < 0,05$). Hal tersebut membuktikan bahwa pada penelitian ini pemberian minyak atsiri bawang putih tidak berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menangkal pengaruh buruk radikal bebas ox-LDL sehingga radikal bebas tersebut menyebabkan peningkatan fragilitas eritrosit dan pada akhirnya jumlah eritrosit menurun secara signifikan. Hasil tersebut berbeda dengan hipotesis yang bahwa pemberian minyak atsiri bawang putih dapat meningkatkan jumlah eritrosit karena sifatnya sebagai antioksidan yang mampu menangkal pengaruh buruk ox-LDL dengan menghambat pembentukan ox-LDL tersebut.

Minyak atsiri bawang putih didapatkan dari penyulingan bawang putih pada suhu 100⁰C memiliki kandungan utama diallyl disulfide atau dalam bentuk teroksidasi disebut dengan alicin. Diallyl sulfide telah diketahui berperan sebagai antioksidan yang berperan penting dalam mencegah pembentukan radikal bebas baik secara in vivo maupun in vitro.³⁰ Alicin menghambat lipooksigenase dan siklooksigenase (enzim yang menghambat aktivasi marker inflamasi berupa prostaglandin dan tromboksan) yang mengakibatkan berkurangnya reaksi inflamasi. Menurunnya reaksi inflamasi pada endotel pembuluh darah akan menurunkan pembentukan radikal bebas superoksid dan pada akhirnya oksidasi LDL

terhambat. Terhambatnya proses pembentukn ox-LDL menyebabkan jumlahnya berkurang sehingga pengaruh buruknya yang dapat menyebabkan dinding eritrosit rusak menjadi berkurang.

Namun, hasil penelitian yang menunjukkan kerja dari minyak atsiri bawang putih sebagai oksidan belum terbukti pada penelitian ini. Penurunan jumlah eritrosit yang signifikan tersebut dikarenakan beberapa hal yaitu akumulasi asam lemak jenuh dan tidak jenuh menyebabkan terbentuknya radikal bebas semakin meningkat sehingga dapat mengganggu stabilitas dinding eritrosit, terdapat efek samping dari pemberian minyak atsiri bawang putih yang menyebabkan dinding eritrosit mudah pecah, jumlah eritrosit yang menurun tersebut tidak diikuti kemampuan untuk mempertahankan keberadaannya dalam darah serta kerja enzimatik dari eritrosit oleh enzim katalase dan anhidrase karbonat belum mampu mempertahankan keadaan stabil dari proses eritropoiesis serta sistem antioksidasi yang terdapat pada membran eritrosit hanya bertahan sementara

Banyaknya asam lemak jenuh maupun asam lemak yang tidak jenuh yang tersedia sebagai sumber energi (melalui oksidasi) maupun untuk pertumbuhan menyebabkan sel eritrosit sangat rentan terhadap produk normal metabolisme yang reaktif atau berbahaya seperti radikal bebas serta oksigen yang sangat reaktif yang dikenal sebagai “oksigen singlet “. Radikal bebas tersebut mudah terbentuk dari senyawa seperti asam lemak tidak jenuh yang melepaskan elektronnya dalam proses oksidasi. Radikal bebas dalam jumlah berlebihan dapat merusak membran sel melalui peroksidasi lemak sehingga merusak fungsi sel, merusak protein melalui kerusakan asam amino yang mengandung sulfur, merusak DNA melalui kerusakan basa maupun gugus gula sehingga terjadi mutasi.³³

Sebuah penelitian menyebutkan kandungan lain yang terdapat di dalam minyak atsiri bawang putih yaitu allyl disulfide, allyl mercaptane, allicin dan aliin ternyata berperan dalam merusak dinding sel eritrosit.³⁰ Jumlah eritrosit yang menurun tersebut tidak diikuti kemampuan untuk mempertahankan keberadaannya dalam darah serta kerja enzimatik dari eritrosit oleh enzim katalase dan anhidrase karbonat belum mampu mempertahankan keadaan stabil dari proses eritropoiesis. Selain itu, sistem antioksidasi yang terdapat pada membran eritrosit hanya bertahan sementara, keadaan membran yang terus-menerus berhubungan dengan oksigen dengan adanya pengaruh radikal bebas dari diet kuning telur menyebabkan eritrosit yang stabil dalam darah hanya sebagian kecil saja. Umur eritrosit di dalam darah adalah 120 hari, sedangkan waktu penelitian yang terbatas hanya 3 minggu setelah tikus diberi diet kuning telur belum memberi kesempatan eritrosit untuk melakukan kompensasi melalui pembentukan eritrosit sehingga jumlah eritrosit terus menurun di dalam darah. Hal tersebut yang menjadi alasan jumlah eritrosit turun secara signifikan pada penghitungan di akhir penelitian.

Hasil yang lain dari penelitian ini memperlihatkan bahwa jumlah eritrosit tikus wistar setelah pemberian diet kuning telur tidak menunjukkan penurunan yang bermakna. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada penelitian ini peran diet kuning telur sebagai sumber radikal bebas yang mampu menurunkan jumlah eritrosit belum terbukti. Pemberian diet kuning telur dengan dosis dan jangka waktu tertentu telah terbukti menghasilkan keadaan hiperlipidemia.⁸ Keadaan tersebut meningkatkan terbentuknya radikal ox-LDL yang dapat meningkatkan fragilitas dinding eritrosit dan seharusnya dapat menurunkan jumlah eritrosit.²⁶ Akan tetapi jumlah eritrosit yang tidak berbeda secara signifikan setelah pemberian diet kuning telur menunjukkan adanya kemampuan dinding eritrosit bertahan

dari pengaruh buruk radikal bebas yang berasal dari diet kuning telur. Hal tersebut dikarenakan beberapa zat yang dikandung kuning telur justru memiliki peran mempertahankan stabilitas dinding eritrosit dan mampu menangkal efek buruk radikal bebas yang ada.

Satu kuning telur mengandung 213 kolesterol, 1,79 lemak tak jenuh, karotenoid dan vitamin E.¹⁴ Asam lemak pada kuning telur merupakan sumber asam lemak tak jenuh yang berperan untuk perkembangan sel eritrosit. Asam lemak tak jenuh tersebut berperan sebagai komponen penyusun membran fosfolipid yang berperan dalam stabilitas membran sel eritrosit. Penelitian mengenai karotenoid dan vitamin E menunjukkan bahwa kedua zat tersebut berfungsi mencegah peroksidasi lemak.³⁴ Mekanisme tersebut terjadi dengan cara menon-aktifkan radikal oksigen. Lycopene adalah salah satu jenis karotenoid yang dapat menurunkan oksidasi “ low density lipoprotein “ (LDL). Mekanisme tersebut memungkinkan sel eritrosit tetap stabil walaupun telah terpapar radikal bebas yang berasal dari diet kuning telur, sehingga jumlah eritrosit tidak menurun pada pemberian diet kuning telur.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 KESIMPULAN

Pemberian minyak atsiri *Allium sativum* dengan dosis 0,05 ml per hari tidak terbukti meningkatkan jumlah eritrosit pada tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

6.2 SARAN

Saran peneliti untuk penelitian selanjutnya adalah:

- 1) perlu dilakukan penelitian yang sama dengan menggunakan bawang putih segar
- 2) perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan jumlah sampel yang lebih besar, waktu perlakuan lebih lama dan frekuensi pemberian yang ditingkatkan
- 3) perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan berbagai macam dosis sehingga diperoleh dosis terapi dan dosis toksik dari minyak atsiri bawang putih

DAFTAR PUSTAKA

1. Wijayakusuma H. Menghindari penyakit jantung & stroke, dengan pola hidup sehat. 2005 Jun [cited 2007 Nov 30]. Available from : [URL:http://portal.cbn.net.id/cbprtl/cybermed/detail.aspx?x=Hembing&y=cybermed%7C0%7C0%7C8%7C77](http://portal.cbn.net.id/cbprtl/cybermed/detail.aspx?x=Hembing&y=cybermed%7C0%7C0%7C8%7C77)
2. Makmun L. Penyakit jantung koroner. In: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, K MS, Setiati S, editor. Buku ajar ilmu penyakit dalam jilid III. 4th ed. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2006. p.1664-8.
3. Rosendorf C, editor. Essential cardiology: principles and practice. 2nd ed. Totowa (NJ): Humana Press; 2005. p. 409-18.
4. Worl Health Organisation. Programmes and project cardiovascular diseases. Februari 2007. [cited 5 maret 2008]. Available from URL: http://www.who.int/cardiovascular_disease/en/
5. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. N Engl J Med;2005;352(16):1685-95. Available from : [URL:http://content.nejm.org/cgi/content/full/352/16/1685](http://content.nejm.org/cgi/content/full/352/16/1685)
6. Ross R. Atheroscklerosis-an inflammatory disease. N Engl J Med ;1999;340(2):115-26. Available from : [URL:http://content.nejm.org/cgi/content/full/340/2/115](http://content.nejm.org/cgi/content/full/340/2/115)
7. Prasetyo A, Sadhana U, Miranti IP. Profil lipid dan ketebalan dinding arteri abdominalis tikus wistar pada injeksi inisial adrenalin intra vena (IV) dan diet kuning telur 'intermitten'. Media Medika Indonesiana ;2000; 35:3.
8. Sugihartuti R, Maslachah L. Efek perlindungan sel endothel oleh ekstrak air bawang putih (*Allium sativum* Linn.) pada hiperkolesterolemia. Jurnal Penelitian Media Eksakta [serial

online] 2003 Apr [cited 2007 Dec 12]; 4:1. Available from :

URL:<http://www.journal.unair.ac.id/login/jurnal/filer/J.%20Penelit.%20Med.%20Eksakta%204-1%20April%202003%20%5B06%5D.pdf>

9. Garlic. The George Mateljan Foundation; 2009 [cited 2009 Feb 13]. Available from :
URL:<http://www.whfoods.com/genpage.php?tname=foodspice&dbid=60>
10. Banerjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. *Nutritionj* [serial online] 2002 nov [2009 jan 18]; 1(4):[14 screens]. Available from:
URL:<http://www.nutritionj.com/content/1/1/4>
11. Syukuri S. Kimia Dasar 3. ITB Bandung;1999.p.731
12. Koolman J, Rohm KH. Sadikin M, editor. Atlas berwarna & teks biokimia. Jakarta : Hipokrates;1995. p.42
13. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Bani AP, Sikumbang TMN, editor. Biokimia Harper. 25th ed. Jakarta : EGC;2003. p.254-281
14. High Density Lipoprotein.2007 Dec [cited 2007 Dec 5]. Available from :
URL:http://en.wikipedia.org/wiki/high_density_lipoprotein
15. Garlic. 2007 Sep [cited 2007 Sep 5]. Available From :
URL:<http://en.wikipedia.org/wiki/Garlic>
16. Rader DJ. Molecular regulation of HDL metabolism and function: implication for novel therapies. *The journal of Clinical Investigation* [serial online]2006 Dec [cited 2007 Dec 26]; 116(12):3090-3100. Available from:
URL:<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1679714>
17. Baynes JW, Dominiczek MH. Medicinal biochemistry [book on CD-ROM]. 2nd ed. Elsevier; 2007.p.209-43

18. Adam JMF. Meningkatkan kolesterol-HDL, paradigma baru penatalaksanaan dislipidemia. J Med Nus [cited 2009 Jan 28] 2005; 2666930:100-26. Available from :
URL:[http://med.unhas.ac.id/DataJurnal/tahun2005vol26/Vol26No.3ok./TP-4-1%20%20Meningkatkan%20Kolesterol%20\(John%20Adam\)%20ok.pdf](http://med.unhas.ac.id/DataJurnal/tahun2005vol26/Vol26No.3ok./TP-4-1%20%20Meningkatkan%20Kolesterol%20(John%20Adam)%20ok.pdf)
19. Stepp DW, Ou J, Ackerman AW, Welak S, Klick D, Pritchard KA. Native LDL and minimally oxidized LDL differentially regulate superoxide anion in vascular endothelium in situ. Aipheart [serial online] 2002 Mar [cited 2009 Feb 26]; 283: 750-9.
Available from: URL:<http://aipheart.physiology.org/cgi/reprint/283/2/H750>
20. Guyton, Hall. Setiawan Irawati, editor. Buku ajar fisiologi kedokteran. 9th ed. Jakarta: EGC;1996. p.1088-1090
21. Underwood JCE. Patologi umum dan sistematis. 2nd ed. Jakarta: EGC; 1999. (vol 2).
22. Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editors. Harrison's principles of Internal Medicine. 16th ed. New York: McGraw-Hill; 2005. p. 1425-30.
23. Warrell DA, Cox TM, Firth JD, Benz EJ, editors. Oxford Textbook of Medicine. 4th ed. Oxford University Press; 2003. p. 2798-09.
24. Dorland W. A. Newman. Hartanto H dkk, editor. Kamus Kedokteran Dorland. 29th ed. Jakarta: EGC; 2000.p.1574
25. Lichtman MA., Beutler E, Shigsohn U, Kaushansky K, Kipps TO. Williams hematology [book on CD-ROM]. 7th ed. McGraw-Hill Medical; 2007
26. Lautan, Jansen. Radikal bebas pada eritrosit dan lekosit. Cermin dunia kedokteran 1997;116:49. Available from :URL:<http://Cermin dunia kedokteran/tahun1997vol116/Vol116No49/radikal bebas>

27. Diana S dkk. Minyak sereh. [cited 2007 Dec 5]. Available from :
 URL:<http://www.bpkpenabur.or.id/je;ajah/08/biologi1.htm>

28. Darwatiningsih. Pengaruh sari bawang putih (*Allium sativum*, L.) terhadap kadar kolesterol total, kolesterol-HDL, kolesterol-LDL dan trigliserida serum darah tikus putih (*Rattus norvegicus*). In: Sundari Dian, Dzulkarnain B, Widowati Lucie, Winarno M. Wien, N. Yun Astuti, Adjirni, dkk, editor. Penelitian tanaman obat di beberapa perguruan tinggi di Indonesia IX [serial online] 1998 [cited 2007 Dec 5]. Available from : URL:http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/pt/buku09.pdf

29. Drug effects on HDL: statins. 2000 Feb [cited 2007 Dec 1]. Available from :
 URL:<http://www.lipidsonline.org/slides/slides01.cfm?q=hmg>

30. Sunarto P, Pikir BS. Pengaruh garlic terhadap penyakit jantung koroner. Cermin Dunia Kedokteran [serial online] 1995 [cited 2007 Dec 12]: 102. Available from :
 URL:<http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/09PengaruhGarlic102.pdf/09PengaruhGarlic102.html>

31. Sylvia AP. Patofisiologi. 6th ed. Jakarta:EGC;2002. p.247-55

32. Dahlan S. Seri statistik: statistika untuk kedokteran dan kesehatan uji hipotesis dengan menggunakan SPSS program 12 jam. Jakarta: Arkans; 2004

33. Petunjuk operasional alat analisa hematologi Nihon Kohden Celltac α , MEK-638K.
 Semarang: Laboratorium Ideal

34. Radikal bebas. 2007 Sep [cited 2007 Sep 5]. Available From :
 URL:http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/org_Pengaruh_Garlic_102.pdf

LAMPIRAN 1

Prosedur Penyulingan Minyak Atsiri

A. Bahan dan Alat

1. Bawang putih
2. Akuades
3. Ketel penyulingan

B. Cara Kerja

1. Cuci hingga bersih bawang putih, kemudian rajang
2. Masukkan dalam dandang dan suling dengan uap
3. Suhu penyulingan diatur sedemikian rupa sehingga destilat dapat keluar
4. Hentikan pemanasan jika sudah tidak terjadi lagi penambahan volume pada lapisan minyak atsiri/ air sudah menjadi jernih (\pm 5-6 jam)
5. Saring dengan eter dan Natrium sulfat dehidrat untuk menarik sisa air
6. Pisah dari eter dengan suhu kamar

LAMPIRAN 2

Hasil Perhitungan Jumlah Eritrosit

No.	Nama Kelompok	Jumlah Eritrosit ($10^6/\mu\text{L}$)
1.	Kontrol Negatif 1	7,75
2.	Kontrol Negatif 2	7,38
3.	Kontrol Negatif 3	7,67
4	Kontrol Negatif 4	9,28
5	Kontrol Negatif 5	7,22
6	Kontrol Negatif 6	6,87
7	Kontrol Negatif 7	7,42
8	Kontrol Positif 1	7,71
9	Kontrol Positif 2	8,81
10	Kontrol Positif .3	9,12
11	Kontrol Positif 4	7,94
12	Kontrol Positif 5	8,28
13	Kontrol Positif 6	8,31
14	Kontrol Positif 7	7,28
15	Perlakuan 1	6,85
16	Perlakuan 2	4,96
17	Perlakuan 3	6,02
18	Perlakuan 4	6,54
19	Perlakuan 5	7,23

20	Perlakuan 6	7,18
21	Perlakuan 7	6,47

Keterangan:

- Kontrol Negatif : Tidak diberi minyak atsiri
- Kontrol Positif : Diberi kuning telur
- Perlakuan : Diberi minyak atsiri bawang putih

LAMPIRAN 3

Tabel 1. Hasil validitas data

a. Sebelum transformasi

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
perlakuan pada tik						
jumlah eritros diet standar	7	100.0%	0	.0%	7	100.0%
diet kuning telur	7	100.0%	0	.0%	7	100.0%
bawang putih	7	100.0%	0	.0%	7	100.0%

b. Setelah transformasi

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
perlakuan pada tik						
trans_jumlah_eritrc diet standar	7	100.0%	0	.0%	7	100.0%
diet kuning telur	7	100.0%	0	.0%	7	100.0%
bawang putih	7	100.0%	0	.0%	7	100.0%

Tabel 2. Hasil analisis deskriptif data
a. Sebelum transformasi

Descriptives

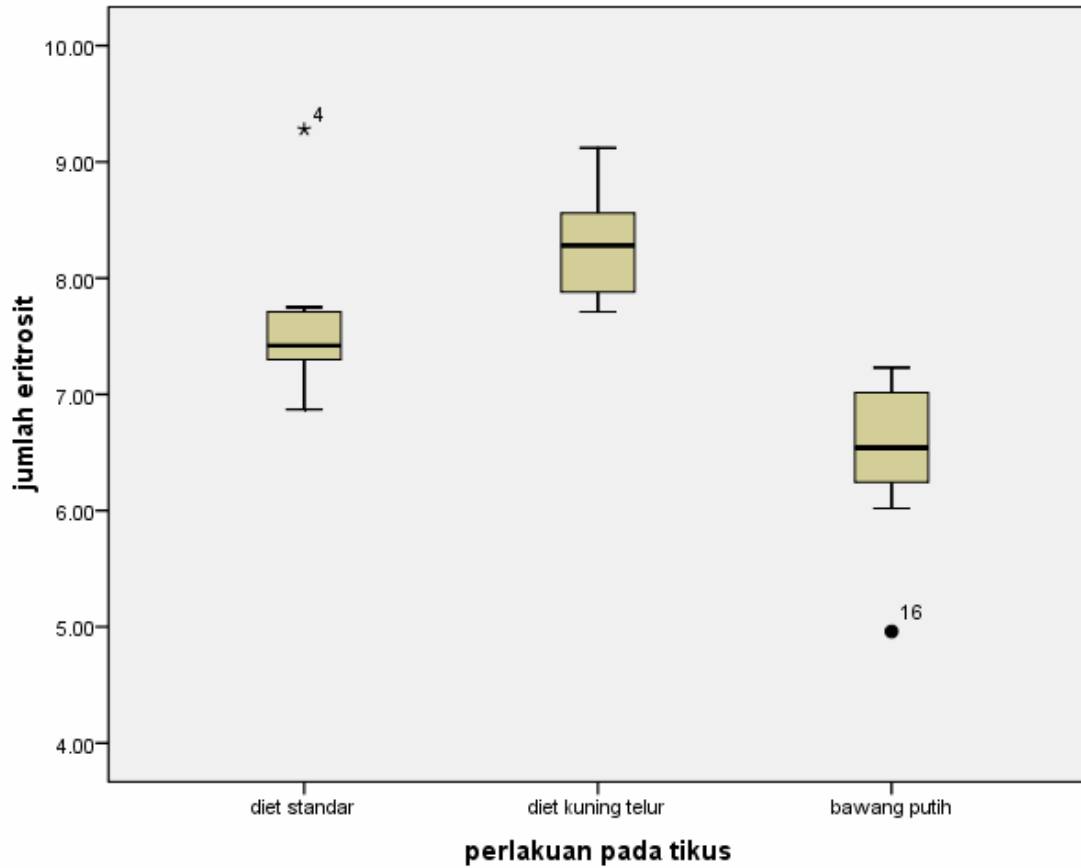
perlakuan pada tikus			Statistic	Std. Error
jumlah eritrosit	diet standar	Mean	7.6557	.29221
		95% Confidence Interval for Mean	6.9407	
		Lower Bound		
		Upper Bound	8.3707	
		5% Trimmed Mean	7.6091	
		Median	7.4200	
		Variance	.598	
		Std. Deviation	.77311	
		Minimum	6.87	
		Maximum	9.28	
		Range	2.41	
		Interquartile Range	.53	
		Skewness	1.860	.794
		Kurtosis	4.249	1.587
	diet kuning telur	Mean	8.2843	.19757
		95% Confidence Interval for Mean	7.8009	
		Lower Bound		
		Upper Bound	8.7677	
		5% Trimmed Mean	8.2698	
		Median	8.2800	
		Variance	.273	
		Std. Deviation	.52271	
		Minimum	7.71	
		Maximum	9.12	
		Range	1.41	
		Interquartile Range	.99	
		Skewness	.651	.794
		Kurtosis	-.815	1.587
	bawang putih	Mean	6.4643	.29734
		95% Confidence Interval for Mean	5.7367	
		Lower Bound		
		Upper Bound	7.1919	
		5% Trimmed Mean	6.5053	
		Median	6.5400	
		Variance	.619	
		Std. Deviation	.78670	
		Minimum	4.96	
		Maximum	7.23	
		Range	2.27	
		Interquartile Range	1.16	
		Skewness	-1.255	.794
		Kurtosis	1.652	1.587

b. Setelah transformasi

Descriptives

perlakuan pada tikus			Statistic	Std. Error
trans_jumlah_eritrosit	diet standar	Mean	.8822	.01565
		95% Confidence Interval for Mean	.8439	
		Lower Bound	.9205	
		Upper Bound		
		5% Trimmed Mean	.8800	
		Median	.8704	
		Variance	.002	
		Std. Deviation	.04141	
		Minimum	.84	
		Maximum	.97	
		Range	.13	
		Interquartile Range	.03	
		Skewness	1.679	.794
		Kurtosis	3.738	1.587
			diet kuning telur	Mean
95% Confidence Interval for Mean	.8925			
Lower Bound	.9426			
Upper Bound				
5% Trimmed Mean	.9169			
Median	.9180			
Variance	.001			
Std. Deviation	.02707			
Minimum	.89			
Maximum	.96			
Range	.07			
Interquartile Range	.05			
Skewness	.577			.794
Kurtosis	-.938			1.587
	bawang putih			Mean
		95% Confidence Interval for Mean	.7551	
		Lower Bound	.8599	
		Upper Bound		
		5% Trimmed Mean	.8109	
		Median	.8156	
		Variance	.003	
		Std. Deviation	.05661	
		Minimum	.70	
		Maximum	.86	
		Range	.16	
		Interquartile Range	.08	
		Skewness	-1.481	.794
		Kurtosis	2.388	1.587

c. Q-Q Plot



Tabel 3. Uji distribusi data dengan Saphiro-Wilk

a. Sebelum transformasi

Tests of Normality

perlakuan pada tikus		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah eritrosit	diet standar	.309	7	.043	.809	7	.050
	diet kuning telur	.195	7	.200*	.924	7	.501
	bawang putih	.217	7	.200*	.892	7	.283

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

b. Setelah transformasi

Tests of Normality

perlakuan pada tik	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
trans_jumlah_eritro diet standar	.289	7	.079	.842	7	.103
diet kuning telur	.184	7	.200*	.930	7	.550
bawang putih	.238	7	.200*	.861	7	.154

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 4. Uji homogenitas data

Test of Homogeneity of Variances

trans_jumlah_eritrosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.832	2	18	.451

Tabel 5. Uji One Way Anova

ANOVA

trans_jumlah_eritrosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.044	2	.022	11.726	.001
Within Groups	.034	18	.002		
Total	.078	20			

Tabel 6. Uji Post Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: trans_jumlah_eritrosit

LSD

(I) perlakuan pada tiku		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(J) perlakuan pada tiku					Lower Bound	Upper Bound
diet standar	diet kuning telur	-.03530	.02320	.146	-.0840	.0134
	bawang putih	.07473*	.02320	.005	.0260	.1235
diet kuning telur	diet standar	.03530	.02320	.146	-.0134	.0840
	bawang putih	.11002*	.02320	.000	.0613	.1588
bawang putih	diet standar	-.07473*	.02320	.005	-.1235	-.0260
	diet kuning telur	-.11002*	.02320	.000	-.1588	-.0613

*. The mean difference is significant at the .05 level.