



**Efek Minyak Atsiri dari Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap  
Persentase Jumlah Neutrofil 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

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

Disusun Oleh :  
DIMAS TRI ANANTYO  
NIM : G2A005057

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2009**

## HALAMAN PERSETUJUAN

Telah disetujui oleh Dosen Pembimbing, laporan akhir penelitian karya tulis ilmiah dari:

Nama : Dimas Tri Anantyo

NIM : G2A005057

Fakultas : Kedokteran

Universitas : Diponegoro

Bagian : Biokimia

Judul : Efek minyak atsiri dari bawang putih (*Allium sativum*) terhadap persentase jumlah neutrofil tikus wistar yang diberi diet kuning telur

Pembimbing : dr Innawati Yusup MKes

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

Semarang, 25 Agustus 2009

Pembimbing

dr Innawati Yusup MKes

NIP. 131 993 338

HALAMAN PENGESAHAN

Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah

Efek Minyak Atsiri dari Bawang putih (*Allium sativum*) terhadap Persentase Jumlah Neutrofil Tikus Wistar yang Diberi Diet Kuning Telur

yang disusun oleh:

Dimas Tri Anantyo

G2A 005 057

telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada tanggal 25 Agustus 2009 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

TIM PENGUJI LAPORAN

Penguji,

Pembimbing,

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

dr. Innawati Jusup, M.Kes

NIP. 13223316

NIP. 131993338

Ketua Penguji,

dr. Yosef Poerwoko, M.Kes

NIP. 132163895

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b><u>ii</u></b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b><u>iii</u></b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRAK BAHASA INDONESIA .....</b>	<b>x</b>
<b>ABSTRAK BAHASA INGGRIS .....</b>	<b><u>xi</u></b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b><u>1</u></b>
1.1.    Latar Belakang Masalah.....	<b><u>1</u></b>
1.2.    Rumusan Masalah .....	<b>3</b>
1.3.    Tujuan Penelitian .....	<b><u>3</u></b>
1.3.1.    Tujuan Umum.....	<b><u>3</u></b>
1.3.2.    Tujuan Khusus .....	<b><u>3</u></b>
1.4.    Manfaat penelitian.....	<b><u>3</u></b>
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1.    Lipid .....	<b>5</b>
2.1.1.    Definisi Dan Fungsi .....	<b>5</b>

2.1.2.	Kadar Normal dan Resiko Hiperlipidemia .....	6
2.1.3.	Induksi Hiperlipidemia.....	7
2.2.	Kolesterol.....	8
2.2.1.	Definisi dan Fungsi .....	8
2.2.2.	Biosintesis Kolesterol.....	8
2.2.3.	Keseimbangan dan Kadar Normal Kolesterol .....	10
2.2.4.	Aspek Klinik Yang Berkaitan Dengan Kolesterol.....	10
2.3.	Lipoprotein .....	11
2.3.1.	Definisi dan Fungsi .....	11
2.3.2.	LDL.....	13
2.4.	Neutrofil.....	13
2.4.1.	Definisi dan Fungsi .....	13
2.4.2.	Faktor Pemicu Perubahan Neutrofil.....	14
2.5.	Minyak Atsiri .....	14
2.5.1.	Definisi dan Fungsi .....	14
2.5.2.	Minyak Atsiri Bawang Putih dan Kandungannya .....	15

<b>BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS .....</b>	<b>18</b>
3.1. Kerangka Teori .....	18
3.2. Kerangka Konsep .....	19
3.2. Hipotesis .....	19
<b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>20</b>
4.1. RUANG LINGKUP PENELITIAN.....	20
4.1.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	20
4.1.2. Lingkup Ilmu .....	20
4.2. JENIS PENELITIAN .....	20
4.3. POPULASI DAN SAMPEL PENELITIAN .....	21
4.3.1. Populasi Penelitian .....	21
4.3.2. Sampel.....	21
<u>4.3.2.1</u> Kriteria Inklusi. ....	21
<u>4.3.2.1</u> Kriteria Eksklusi. ....	22
<u>4.3.2.3</u> Besar Sampel.....	22
<u>4.3.2.4</u> Cara Pengambilan Sampel. ....	22
4.4. VARIABEL PENELITIAN.....	23

4.4.1.	Variabel Bebas .....	23
4.4.2.	Variabel Tergantung.....	23
4.5.	DEFINISI OPERASIONAL VARIABEL.....	23
4.5.1.	Minyak Atsiri.....	23
4.5.2.	Jumlah Neutrofil .....	23
4.6.	ALAT DAN BAHAN .....	23
4.6.1.	Alat.....	23
4.6.2.	Bahan.....	<a href="#">24</a>
4.7.	CARA KERJA .....	<a href="#">24</a>
4.8.	ALUR PENELITIAN.....	<a href="#">26</a>
4.9.	ANALISA DATA .....	27
4.9.1.	Analisa Deskriptif .....	28
4.9.2.	Analisa Analitik .....	<a href="#">28</a>
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>		<b>28</b>
<b>BAB 6 PEMBAHASAN.....</b>		<b>30</b>
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>		<b>34</b>
7.1.	Kesimpulan.....	34

7.2. Saran.....	<a href="#">34</a>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<a href="#">35</a>
<b>LAMPIRAN 1.....</b>	40
<b>LAMPIRAN 2.....</b>	41
<b>LAMPIRAN 3.....</b>	42
<b>LAMPIRAN 4.....</b>	45
<b>LAMPIRAN 5.....</b>	46



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Sintesis Kolesterol.....	10
Gambar 2.2 Lipoprotein. ....	14
Gambar 3 Box Plot trans neutrofil.....	29

# Efek Minyak Atsiri dari Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Persentase Jumlah Neutrofil Tikus Wistar yang diberi diet kuning telur

Dimas Tri Anantyo<sup>a)</sup>, Innawati Jusup<sup>b)</sup>

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Minyak atsiri bawang putih mengandung diallyl disulfide. Dari beberapa literatur dikatakan bahwa senyawa tersebut mampu menekan respon inflamasi dari cedera endotel dengan menghambat pembentukan radikal lipid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek minyak atsiri bawang putih terhadap persentase jumlah neutrofil sebagai penanda inflamasi dari cedera endotel pada tikus wistar.

**Metoda:** Penelitian eksperimental Post Test Only Control Group Design. Sampel terdiri dari 21 tikus wistar 8 minggu yang dibagi menjadi tiga kelompok secara random. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol yang diberi diet standar (K1). Kelompok kedua diberi diet kuning telur dan diet standar (K2). Dan kelompok ketiga diberi diet kuning telur intermiten selama 2 minggu, minyak atsiri bawang putih 0,5 ml dalam 2 minggu, dan diet standar (P).

**Hasil:** Persentase jumlah neutrofil kelompok K2 ( $25,43 \pm 3,154$ ) lebih tinggi dari kelompok K1 ( $24,14 \pm 3,313$ ) tetapi lebih rendah daripada kelompok P ( $40,86 \pm 5,833$ ). Test dengan One way anova menunjukkan perbedaan yang signifikan antar grup ( $p=0,04$ ;  $p<0,05$ ). Test post hoc menunjukkan perbedaan signifikan antara kelompok K 1 dengan kelompok P dan juga pada kelompok K2 dengan kelompok P.

**Kesimpulan:** Minyak atsiri bawang putih dengan dosis 0,05 ml tidak terbukti menurunkan persentase jumlah neutrofil tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

**Kata kunci:** *Allium sativum*, minyak atsiri, persentase jumlah neutrofil

a) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

b) Dosen biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

# The Effects of Essential Oil from Garlic *Allium sativum* on Percentage of Neutrophil Cells Count in Wistar Rats With Egg Yolk Supplement

Dimas Tri Anantyo<sup>a)</sup>, Innawati Jusup<sup>b)</sup>

## **ABSTRACT**

**Background:** The essential oil from garlic contains diallyl disulfide. Litteratures mention that the compound is able to suppress the inflammation response from endothelial cells by inhibiting lipid radical generation. This study aimed to investigate the effects of *Allium sativum* essential oil on percentage of the neutrophil count in wistar rats.

**Methods:** This study was experimental study with post test only control group design. The samples were 21 males 8 weeks wistar rats, that randomly allocated in 3 groups. The first group was control group given by standart diet (K1). The second group was given intermitten egg yolk diet in two weeks and standart diet (K2). And the third group was given intermitten egg yolk diet in two weeks, essentials oils of *allium sativum* 0,05 ml in two weeks, and standart diet (P).

**Result:** Percentage the number of neutrophil group K2 ( $25,43 \pm 3,154$ ) was higher than K1 ( $24,14 \pm 3,313$ ) but lower than P ( $40,86 \pm 5,833$ ). One way anova test between groups were significantly different between groups ( $p=0,04$  ;  $p<0,05$ ). Post Hoc test shows the difference was significant between K1 group and P group, and also K2 group with P group.

**Conclusion:** Garlic essential oils did not decrease percentage of neutrophil cells count on wistar rats which have induced by egg yolk diet.

**Keyword:** *Allium sativum*, essential oil, percentage of neutrophil count

a) Student of medical Faculty Diponegoro University, Semarang

b) Lecturer Biochemistry department of Medical Faculty Diponegoro University, Semarang

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang Masalah

Bawang putih adalah nama tanaman dari genus *Allium* sekaligus nama dari umbi yang dihasilkan. Bawang putih mampu memproduksi minyak atsiri yang bisa diperoleh salah satunya dari proses penyulingan. Di masyarakat luas minyak atsiri bawang putih telah dikenal mengandung beberapa komponen yang bisa dimanfaatkan untuk dunia kesehatan.<sup>5</sup>

Diantara beberapa komponen bioaktif yang terdapat pada bawang putih, senyawa sulfida adalah senyawa yang banyak jumlahnya. Senyawa-senyawa tersebut antara lain adalah *diallyl sulfida* atau dalam bentuk teroksidasi disebut dengan *allysin*. Sama seperti senyawa fenolik lainnya, *allysin* diduga mempunyai fungsi fisiologis yang sangat luas, termasuk diantaranya adalah antioksidan, antikanker, antitrombotik, antiradang, penurunan tekanan darah, dan dapat menurunkan kolesterol darah. Data epidemiologis juga menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara konsumsi bawang putih dengan penurunan penyakit kardiovaskuler, seperti aterosklerosis (penumpukan lemak), jantung koroner, dan hipertensi.<sup>2</sup>

Pada keadaan hiperlipidemia tingginya kadar kolesterol serum dan trigliserida dapat menyebabkan pembentukan arteriosklerosis. Pada pengidap arteriosklerosis, pengedapan lemak ditemukan di seluruh kedalaman tunika intima, meluas ke tunika media. Kolesterol dan trigliserid di dalam darah terbungkus di dalam protein

pengangkut lemak yang disebut lipoprotein.<sup>4</sup> Lipoprotein berdensitas tinggi (*high-density lipoprotein*, HDL ) membawa lemak ke luar sel untuk diuraikan, dan diketahui bersifat protektif melawan arteriosklerosis. Namun, lipoprotein berdensitas rendah (*low density lipoprotein*, LDL) dan lipoprotein berdensitas sangat rendah (*very-low-density lipoprotein*, VLDL) membawa lemak ke sel tubuh, termasuk sel endotel arteri, oksidasi kolesterol dan trigliserid menyebabkan pembentukan radikal bebas yang diketahui merusak sel-sel endotel. Kerusakan sel-sel endotel tersebut akan memacu terjadinya proses inflamasi yang akan mengaktifkan neutrofil sebagai salah satu penandanya. Karena itulah salah satu manifestasi yang ditimbulkan dari keadaan inflamasi tersebut adalah meningkatnya persentase kadar neutrofil dalam darah.<sup>1</sup>

Seluruh mekanisme yang terjadi di atas sangat berkaitan erat dengan proses terbentuknya aterosklerosis yang menjadi salah satu penyakit yang menjadi perhatian serius dewasa ini. Namun sampai sekarang belum pernah dilakukan penelitian yang mengkaji efek minyak atsiri bawang putih yang diduga berpengaruh untuk menghentikan kenaikan persentase jumlah neutrofil pada proses inflamasi yang bisa berakibat terjadinya aterosklerosis. Atas landasan tersebut timbul antusiasme peneliti untuk mengupas lebih lanjut berkaitan dengan manfaat minyak atsiri bawang putih yang diduga memiliki efektivitas sebagai antioksidan penghambat kerja lipid peroksidase dan oksidasi LDL kolesterol pemicu terjadinya proses inflamasi. Sehingga sebagai efek tidak langsungnya, kenaikan persentase jumlah neutrofil yang timbul akibat proses inflamasi pada keadaan hiperlipidemia-pun dapat dihentikan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah minyak atsiri dari bawang putih mempengaruhi persentase jumlah neutrofil tikus wistar yang diberi diet kuning telur?

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh minyak atsiri dari bawang putih terhadap persentase jumlah neutrofil tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Menghitung persentase jumlah neutrofil tikus wistar setelah diberi diet standar.
- b. Menghitung persentase jumlah neutrofil tikus wistar setelah diberi diet kuning telur.
- c. Menghitung persentase jumlah neutrofil tikus wistar setelah diberi diet kuning telur dan diet minyak atsiri bawang putih.
- d. Membandingkan persentase jumlah neutrofil tikus wistar yang diberi diet kuning telur dan diet minyak atsiri bawang putih dengan yang diberi diet kuning telur saja.

### 1.4 Manfaat Penelitian

- a. Membuktikan efektivitas minyak atsiri bawang putih untuk menurunkan persentase jumlah neutrofil pada tikus wistar yang mengalami proses inflamasi akibat hiperlipidemia.
- b. Memberikan informasi yang bermanfaat untuk pembuatan produk kesehatan dengan menggunakan bahan dasar minyak atsiri bawang putih untuk mengatasi kenaikan persentase jumlah neutrofil pada proses inflamasi akibat hiperlipidemia.
- c. Memberikan informasi yang bermakna untuk penelitian selanjutnya.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Lipid

##### 2.1.1 Definisi dan Fungsi

Lipid yang secara biologis penting adalah asam-asam lemak dan derivat-derivatnya, lemak netral (trigliserida), fosfolipid dan senyawa-senyawa terkait serta sterol. Trigliserida terdiri dari tiga asam lemak yang terikat ke gliserol. Asam-asam lemak yang terdapat di alam mengandung jumlah atom karbon genap. Asam-asam lemak ini dapat jenuh (tidak ada ikatan ganda) atau tak jenuh (terdehidrogenasi, dengan aneka jumlah ikatan ganda).<sup>1</sup>

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. Lipid termasuk di dalam kelompok besar substansi biologik yang bersifat relatif tidak larut di dalam air dan larut di dalam pelarut nonpolar, seperti metanol, aseton, eter, kloroform, serta benzen.<sup>2</sup> Kelarutannya dalam air yang kecil disebabkan karena kekurangan atom-atom yang berpolarisasi (O, N, S, P).<sup>3</sup>

Pada sebagian besar lipid yang terdapat di alam terdiri dari 98-99% trigliserid. Trigliserida adalah estergliserol, suatu alkohol trihidrat dan asam lemak yang tepatnya disebut triasilgliserol. Triasilgliserol dalam tubuh merupakan bentuk asam lemak cadangan utama. Sifat fisik trigliserid ditentukan oleh proporsi dan struktur kimia yang membentuknya. Semakin banyak mengandung asam lemak rantai pendek dan ikatan tidak



jenuh semakin lunak dan cair lemak tersebut.<sup>17</sup> Sebagian besar trigliserida dalam makanan dipecahkan oleh lipase pankreas menjadi asam lemak dan 2-monogliserida. Sebagian kecil dalam bentuk digliserid. Setelah masuk ke dalam enterosit (sel pencernaan) asam lemak ini direkombinasi lagi untuk membentuk trigliserid baru. Kemudian trigliserid tersebut terkumpul di dalam retikulum endoplasma yang selanjutnya di dalam apparatus golgi membentuk gelembung yang mengandung kolesterol yang sudah diasorpsi serta fosfolipid. Gelembung ini disebut kilomikron. Kilomikron ini akan membawa trigliserid dalam aliran limfe kemudian masuk ke darah.<sup>4</sup>

### 2.1.2 Kadar Normal dan Resiko 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.<sup>5</sup> 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 kolesteril pada jaringan ikat dinding pembuluh arteri.<sup>6</sup> 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 aterosklerosis. Aterosklerosis 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.<sup>4</sup>

Kadar lipid normal sebenarnya sulit dipatok pada satu angka karena normal untuk seseorang belum tentu normal untuk orang lain.<sup>7</sup> 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. Sementara kadar kolesterol LDL yang diinginkan adalah 130-159 mg/dl.<sup>1</sup>

### 2.1.3 Induksi Hiperlipidemia

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. Penelitian yang dilakukan oleh Awal Prasetyo, Udadi Sadhana, dan Ika Pawitra Miranti telah membuktikan bahwa pemberian diet kuning telur *intermitten* dapat menaikkan kadar profil lipid, terutama kadar kolesterol total dan trigliserid, sedangkan kadar LDL hanya mengalami sedikit peningkatan.<sup>9</sup>

## 2.2 Kolesterol

### 2.2.1 Definisi dan Fungsi

Kolesterol merupakan komponen struktural esensial yang membentuk membran sel serta lapisan eksternal lipoprotein. Selain itu dari sudut biokimia kolesterol memiliki makna penting karena menjadi prekursor sejumlah besar senyawa steroid yang sama pentingnya seperti asam empedu, hormon korteks adrenal, hormon seks, vitamin D, glikosida jantung. Kolesterol merupakan steroid yang banyak dikenal karena hubungannya dengan arterosklerosis.<sup>8</sup>

Kolesterol menjadi komponen struktural penting yang membentuk membran sel dan lapisan eksternal lipoprotein plasma. Lipoprotein mengangkut kolesterol bebas dalam darah. Ester kolesteril yang banyak terdapat dalam jaringan tubuh merupakan bentuk simpanan kolesterol. Dalam jaringan tubuh LDL berperan sebagai perantara dalam pengambilan kolesterol dan ester kolesteril. Kolesterol bebas dikeluarkan dari jaringan oleh HDL untuk diangkut ke dalam hati dan diubah menjadi asam empedu. Kolesterol pula yang menjadi unsur utama pembentukan batu empedu.<sup>10</sup>

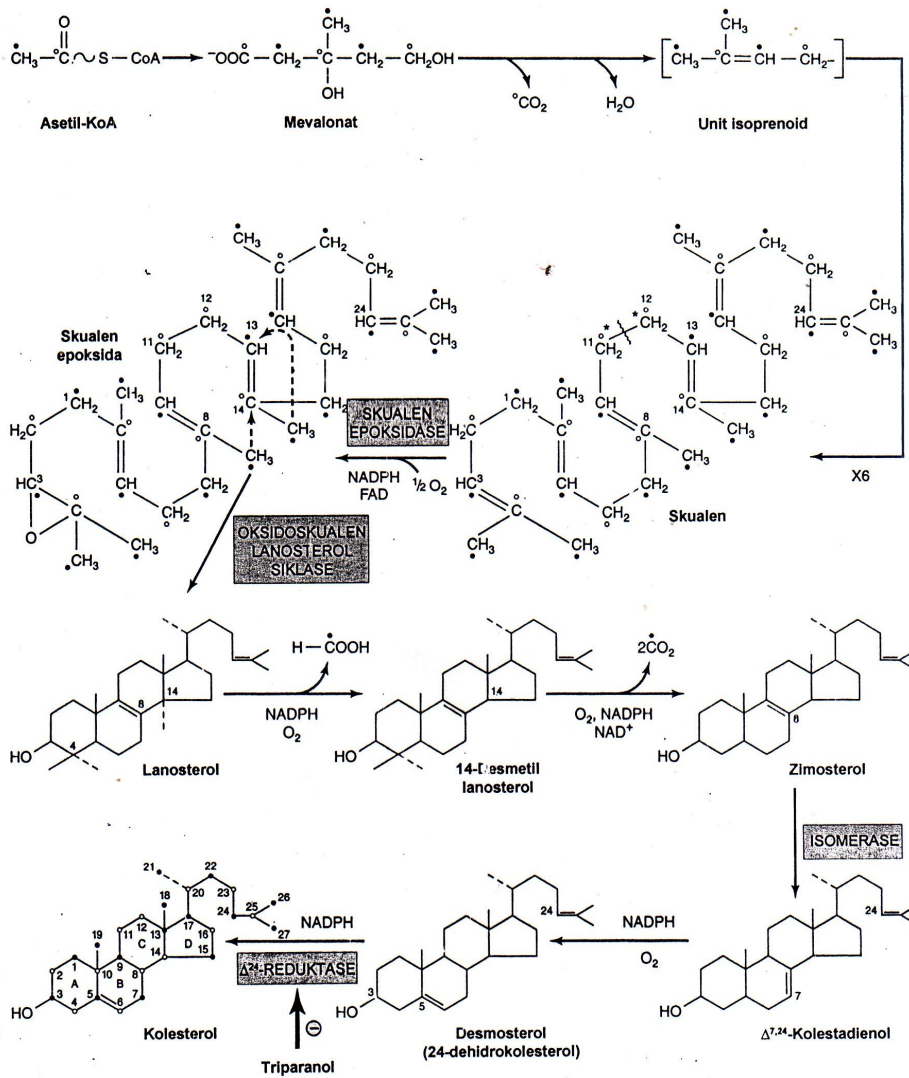
Regulasi sintesis kolesterol dilakukan di dekat awal lintasan, yaitu pada tahap HMG KoA reduktase. Selain itu terdapat mekanisme HMG KoA reduktase di hati dihambat oleh mevalonat melalui mekanisme umpan balik. Sintesis kolesterol juga dihambat oleh LDL-kolesterol yang diambil oleh reseptor LDL.<sup>8</sup>

### 2.2.2 Biosintesis Kolesterol

Biosintesis kolesterol terdiri dari 5 tahap yakni (1) sintesis HMG KoA dari asetil-KoA yang kemudian dengan bantuan enzim HMG KoA reduktase membentuk mevalonat (2) Pembentukan unit isoprenoid dari mevalonat dengan menghilangkan CO<sub>2</sub>. (3) enam unit isoprenoid berkondensasi membentuk intermediet skualen. (4) Siklisasi skualen untuk

menghasilkan senyawa induk, yaitu lanosterol. (5) Kolesterol dibentuk dari lanosterol.<sup>8</sup> Sintesis kolesterol dikendalikan oleh pengaturan enzim HMG-KoA Reduktase (HMG=3-hidroksi-3-metil-glutaril)(10).

Gambar 2.1 Gambar sintesis kolesterol (Mayes PeterA . Sintesis, Pengangkutan dan Ekskresi



Kolesterol in Biokimia Harper edisi 25. 2000)

### 2.2.3 Keseimbangan dan Kadar Normal Kolesterol

Peningkatan kadar kolesterol dapat disebabkan karena berbagai faktor yaitu pengambilan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh reseptor LDL atau reseptor pemangsa HDL. Pengambilan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh proses yang tidak melalui reseptor. Pengambilan kolesterol bebas dari lipoprotein kaya kolesterol oleh membran sel. Peningkatan sintesis kolesterol.. Peningkatan hidrolisis ester kolesterol oleh enzim ester kolesterol hidrolase.<sup>8</sup>

Adapun penurunan kolesterol dapat disebabkan oleh berbagai faktor yaitu penurunan aliran keluar kolesterol dari membran sel ke lipoprotein oleh HDL karena adanya enzim Lesitin Colesterol Asil Transferase (LCAT), aktivitas proses esterifikasi kolesterol oleh enzim AsilKoA Colesterol Asil Transferase (ACAT), dan penggunaan kolesterol untuk sistesis steroida lainnya, misal hormon tertentu dan asam empedu dalam hati.<sup>10</sup>

Nilai normal secara laboratoris dari kolesterol adalah 150-220mg/dL, LDL < 180 mg/dL, HDL > 40 mg/dL, VLDL < 40 mg/dL, ester kolesterol 65-75% dari total kolesterol.<sup>8</sup>

### 2.2.4 Aspek Klinik Yang Berkaitan Dengan Aterosklerosis

Aterosklerosis dapat terjadi pada serebrovaskuler, pembuluh perifer, dan koroner pada jantung. Aterosklerosis koroner banyak berkaitan dengan rasio kolesterol dari LDL : HDL yang tinggi pada plasma darah. Apapun yang menyebabkan peningkatan kadar lipoprotein yang kaya ester kolesterol (sisa dari kilomikron, IDL, maupun LDL) dapat dipastikan akan memperbesar kemungkinan terjadinya aterosklerosis. Sebenarnya proses pengambilan LDL adalah sesuatu yang normal untuk memberikan kolesterol bagi jaringan ekstrahepatik. Dalam jaringan ekstrahepatik ini kolesterol akan dihidrolisis oleh enzim

lipase yang ada dalam lisosom sel. Kolesterol yang diperoleh dengan cara ini akan menekan sintesis kolesterol baru dalam sel. Namun, bila pasokan LDL terus berlangsung melebihi kebutuhan, sel akan mengeluarkan kelebihan kolesterolnya dan akan dibawa oleh HDL untuk dihancurkan dalam hati. Karena itu peningkatan jumlah kolesterol total dalam HDL dan pengurangan kolesterol dalam LDL berguna sebagai terapi penurunan resiko aterosklerosis. Kolesterol berasal dari makanan dan hasil biosintesis dalam sel yaitu bagian retikulum endoplasma dan sitosol sel.<sup>10</sup>

## 2.3 Lipoprotein

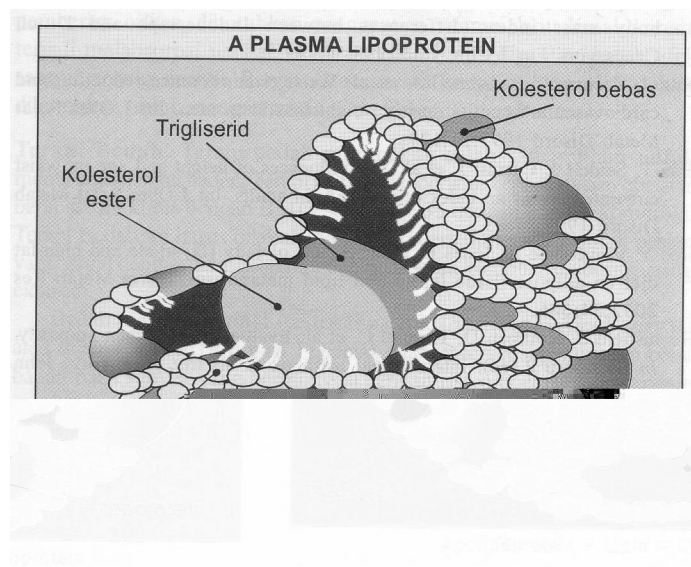
### 2.3.1 Definisi dan Fungsi

Lipid diangkut oleh plasma darah dalam bentuk lipoprotein. Kelompok lipoprotein yang diangkut plasma ada empat yaitu triasilgliserol, fosfolipid, kolesterol, dan ester kolesteril. Selain lipoprotein dalam plasma juga diangkut asam lemak bebas yaitu asam lemak yang tidak mengalami proses esterifikasi. Dalam praktek medik laboratorik, melalui sentrifugasi diperoleh empat macam lipoprotein, yaitu kilomikron, Pre- $\beta$ -Lipoprotein atau Very Low Density Lipoprotein (VLDL),  $\beta$ -Lipoprotein atau Low Density Lipoprotein(LDL), dan  $\alpha$ -Lipoprotein atau High Density Lipoprotein(HDL).<sup>10</sup>

Kilomikron berasal dari penyerapan triasilgliserol dalam usus. Kilomikron terbanyak mengandung triasilgliserol. Pre- $\beta$ -Lipoprotein atau Very Low Density Lipoprotein (VLDL) berasal dari hati dan mempunyai peran mengeluarkan triasilgliserol. Penyusun VLDL terbanyak adalah triasilgliserol.  $\beta$ -Lipoprotein atau Low Density Lipoprotein (LDL) merupakan katabolisme akhir dari VLDL. LDL terbanyak tersusun atas kolesterol.  $\alpha$ -Lipoprotein atau High Density Lipoprotein (HDL) merupakan lipoprotein

yang bertanggungjawab dalam metabolisme VLDL, kilomikron, dan kolesterol. HDL terbanyak tersusun atas fosfolipid.

Untuk metabolisemenya lipoprotein memiliki 3 jalur yaitu jalur metabolisme eksogen, metabolisme endogen dan reverse kolesterol transport. Kedua jalur pertama berhubungan dengan metabolisme kolesterol, LDL dan trigliserid. Sedangkan jalur yang ketiga khusus mengenai metabolisme kolesterol HDL.<sup>11</sup>



Gambar 2.2 (Feher MD , Richmond W. Lipoproteins: structure and functions . In Lipids and Lipids Disorders 2<sup>nd</sup> Bayer. 1996, 6-13)

### 2.3.2 LDL

Arterosklerosis ditandai dengan deposisi kolesterol dan ester kolesterol dari lipoprotein yang mengandung apo B-100 pada jaringan ikat pembuluh arteri. Dengan meningkatnya kadar LDL sering diikuti pembentukan arterosklerosis yang dini dan lebih

berat. Sebagian ahli juga beranggapan bahwa peningkatan rasio LDL :HDL kolesterol merupakan yang paling prediktif terhadap resiko terjadinya penyakit jantung koroner.<sup>8</sup>

LDL sendiri memiliki sifat-sifat sebagai berikut: 1.) Memiliki densitas 1,063-1,019. 2.) Lipid utamanya adalah kolesterol ester. 3.) Diameter 21,5. 4.) Apoprotein menurut urutan yang terpenting adalah B-100.<sup>20</sup>

Faktor makanan dapat berpengaruh terhadap LDL. Dengan mengurangi lemak total dalam makanan , jumlah energi total akan ikut berkurang. Jenis lemak yang dikurangi hendaknya lemak jenuh. Selain itu obat-obatan dislipidemia juga dapat mengatur kadar LDL.<sup>20,21</sup>

## 2.4 Neutrofil

### 2.4.1 Definisi dan Fungsi

Leukosit yang bergranula dan mempunyai inti berlobus adalah granulosit polimorfonuklear, dan neutrofil adalah yang terbanyak di antaranya. Sitoplasma neutrofil mengandung granula halus berwarna ungu atau merah muda. Inti neutrofil terdiri atas beberapa lobus yang dihubungkan oleh benang kromatin halus. Neutrofil terdapat kira-kira 60-70% dari populasi leukosit darah dan mudah ditemukan dalam apusan darah. Neutrofil memiliki sifat kemotaksis, daya lekat pada kompleks imun, dan fagositosis. Neutrofil sering disebut juga neutrocyte dan neutrophilic leukocyte.<sup>12</sup>

### 2.4.2 Faktor Pemicu Perubahan Neutrofil

Batas bawah hitung neutrofil adalah  $2,5 \times 10^9$  /l. Bila kadarnya turun di bawah  $1,0 \times 10^9$  /l pasien cenderung mengalami infeksi berulang. Neutropeni bisa selektif atau terjadi sebagai bagian dari pansitopeni. Neutropeni yang selektif bisa disebabkan oleh



beberapa faktor antara lain obat-obatan(contohnya aminopirin sebagai obat anti radang dan kloramfenikol sebagai obat antibakteri), benigna(ras/familial), infeksi virus(hepatitis), infeksi bakteri ganas(TBC milier). Sedangkan neutropeni sebagai bagian dari pansitopeni dapat disebabkan karena kegagalan sumsum tulang dan splenomegali.<sup>12</sup>

Peningkatan jumlah netrofil melebihi batas normal atau disebut leukositosis neutrofil secara klinik sering ditandai dengan demam yang disebabkan oleh pembebasan pirogen leukosit. Leukositosis neutrofilia bisa dipicu oleh beberapa faktor antara lain peradangan, nekrosis jaringan, karsinoma, perdarahan, hemolisis akut, dan terapi kortikosteroid.<sup>12</sup>

Aterosklerosis yang diperantarai oleh proses inflamasi dan cedera endotel akibat aktivitas lipid peroksidase serta oksidasi LDL kolesterol juga dapat memicu kenaikan persentase jumlah netrofil.

## 2.5 Minyak Atsiri

### 2.5.1 Definisi dan Fungsi

Minyak atsiri, atau dikenal juga sebagai minyak eteris (aetheric oil), minyak esensial, minyak terbang, serta minyak aromatik, adalah kelompok besar [minyak nabati](#) yang berwujud cairan kental pada suhu ruang namun mudah menguap sehingga memberikan aroma yang khas.<sup>14</sup> Minyak atsiri merupakan bahan dasar dari wangi-wangian atau pengobatan alami. Di dalam perdagangan, [sulingan](#) minyak atsiri dikenal sebagai bibit minyak wangi. Para ahli [biologi](#) menganggap, minyak atsiri merupakan [metabolit sekunder](#) yang biasanya berperan sebagai alat

pertahanan diri agar tidak dimakan oleh [hewan](#) ataupun sebagai agen untuk bersaing dengan [tumbuhan](#) lain dalam mempertahankan ruang hidup. Minyak ini dapat dihasilkan dari tiap bagian tanaman (daun, bunga, buah, biji, batang/ kulit, dan akar).<sup>23</sup> 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 mengabsorpsi oksigen di udara sehingga menghasilkan warna minyak yang lebih gelap, bau minyak berubah dari bau wangi alamiahnya dan minyak lebih kental dan 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.<sup>13,14</sup>

### **2.5.2 Minyak Atsiri Bawang Putih dan Kandungannya**

Bawang putih mengandung minyak atsiri, yang diduga bersifat anti bakteri dan antiseptik. Kandungan allicin dan aliin berkaitan dengan daya anti kolesterol. Daya ini mencegah penyakit jantung koroner, tekanan darah tinggi dan lain-lain. Umbi batang diduga mengandung beberapa zat yang berguna untuk kesehatan, diantaranya adalah kalsium yang bersifat sebagai penenang sehingga cocok sebagai pencegah hipertensi, saltivine berguna untuk mempercepat pertumbuhan sel dan jaringan serta merangsang susunan sel saraf, diallylsulfide, alilpropil-disulfida sebagai anti cacing, belerang, protein, lemak, fosfor, besi, vitamin A, B1 dan C.

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).<sup>15</sup>

Pemberian minyak atsiri bawang putih yang setara dengan 1 gram bawang putih segar/kg BB/hari akan menurunkan kadar kolesterol, trigliserid serum, *pre $\beta$ -lipoprotein* (VLDL), dan  *$\beta$ -lipoprotein* (LDL) serta meningkatkan  *$\alpha$ -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 penting adalah *diallyl disulphide* (DADS).<sup>15</sup>

Senyawa DADS merupakan suatu *disulphide-oxyde* tidak jenuh.<sup>15</sup> DADS dapat menghambat kerja enzim 3-Hidroksi-3-metilglutaril-KoA (HMG-KoA) reduktase.<sup>16</sup> 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.<sup>17</sup> Penghambatan terhadap HMG-KoA reduktase menyebabkan penurunan sintesa kolesterol dan meningkatkan jumlah reseptor LDL.<sup>18</sup> Hal ini menyebabkan kadar LDL plasma menurun dan terjadi supresi terhadap produksi apo  $\beta$ -100.<sup>19</sup> Produksi apo  $\beta$ -100 berhubungan terbalik dengan produksi apo  $\alpha$ -1, sehingga

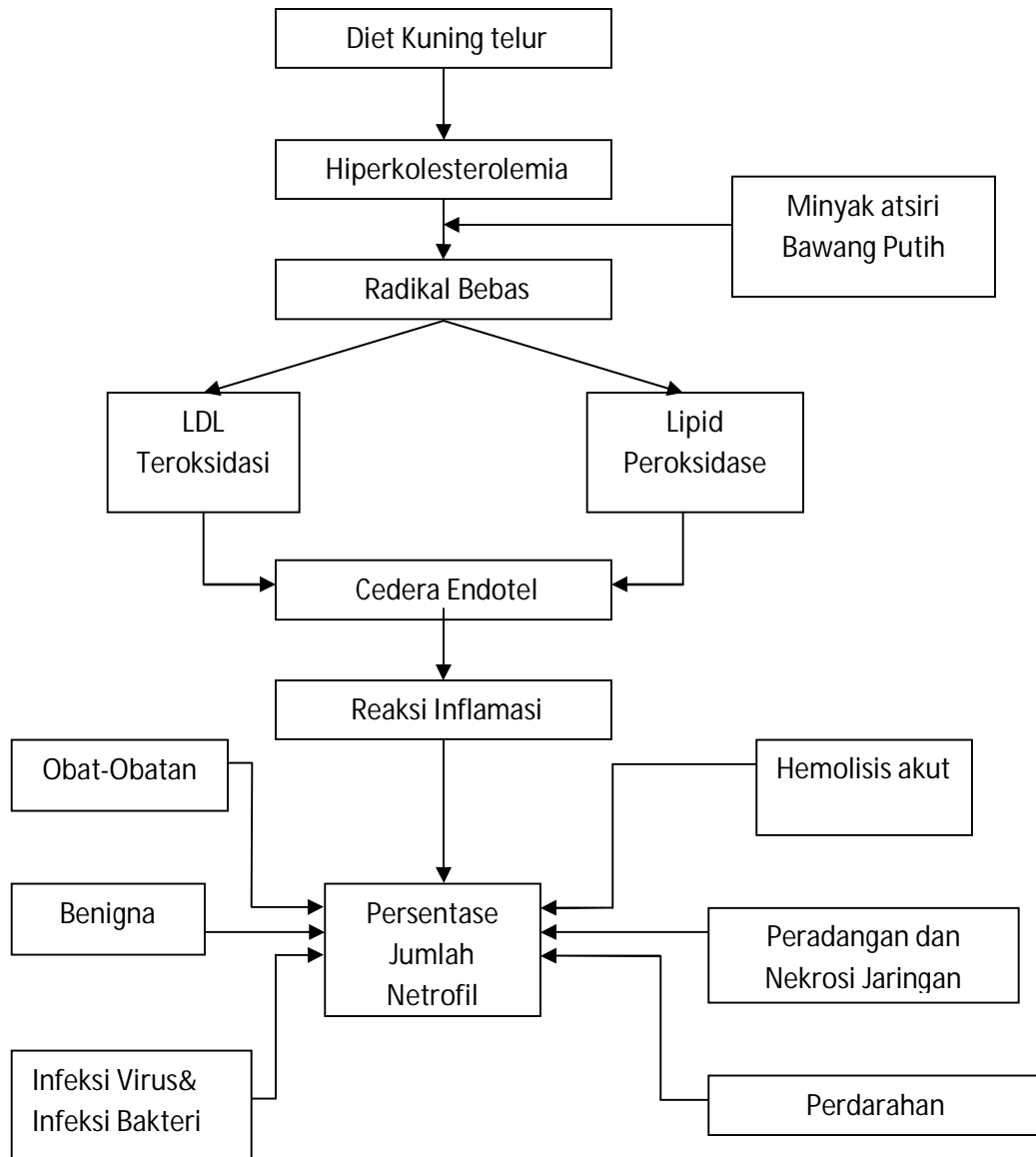
supresi terhadap produksi apo  $\beta$ -100 akan menyebabkan kenaikan kadar apo  $\alpha$ -1.<sup>19</sup> Apo  $\alpha$ -1 bila berikatan dengan fosfolipid dan kolesterol dalam jumlah minimal akan membentuk pre- $\beta$  HDL yang selanjutnya akan menjadi HDL matur, sehingga kenaikan apo  $\alpha$ -1 dapat menyebabkan kenaikan kadar HDL. Mekanisme ini juga dimiliki oleh obat-obatan golongan statin.<sup>13</sup>

## BAB 3

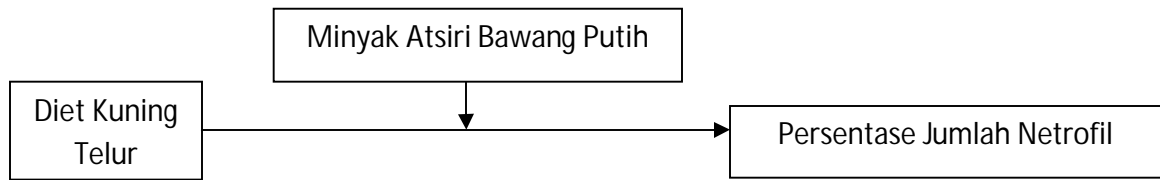
### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN

### HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka teori



3.2 Kerangka konsep



### 3.3 Hipotesis

Minyak atsiri bawang putih berpengaruh terhadap penurunan persentase jumlah neutrofil tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

## BAB 4

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1. RUANG LINGKUP PENELITIAN

##### 3.1.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini berlangsung selama enam 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 persentase jumlah neutrofil dilakukan di laboratorium swasta berizin di Semarang.

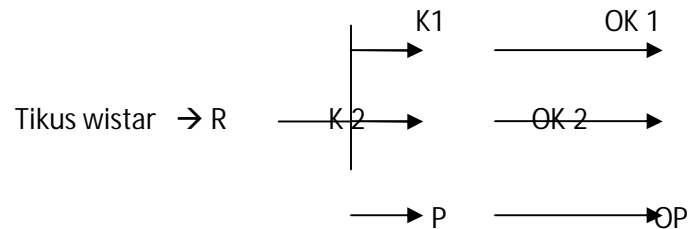
##### 3.1.2. Lingkup Ilmu

Penelitian ini termasuk dalam lingkup ilmu biokimia dan kimia.

### 3.2. JENIS PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental untuk mengetahui efek minyak atsiri *Allium Sativum* terhadap persentase jumlah neutrofil tikus wistar yang diberi diet kuning telur. Rancangan eksperimen yang digunakan untuk penelitian ini adalah *Post Test Only Control Group Design*. Dengan randomisasi sederhana penelitian ini membagi sampel menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Pengukuran dilakukan hanya pada *post test*, dengan membandingkan hasil penghitungan persentase jumlah neutrofil pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan.

Rancangan Percobaan:



Keterangan: R = Randomisasi,

K 1 = Kontrol negatif(diet standar), K 2 = Kontrol positif(diet kuning telur), P = Perlakuan (diet standar + minyak atsiri bawang putih), OK 1: hasil pemeriksaan persentase jumlah neutrofi; pada kelompok kontrol negatif, OK 2: hasil pemeriksaan persentase jumlah neutrofi; pada kelompok kontrol positif, OP = Persentase jumlah neutrofil pada kelompok perlakuan.

### 3.3. POPULASI DAN SAMPEL PENELITIAN



### 3.3.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah semua tikus wistar jantan di Unit Pengembangan Hewan Penelitian (UPHP) Yogyakarta.

### 3.3.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah 21 ekor tikus wistar jantan yang diperoleh dari UPHP Yogyakarta dan dikandangkan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

#### 3.3.2.1 Kriteria Inklusi

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

#### 3.3.2.2 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* selama masa perlakuan, diganti dengan tikus lain sesuai kriteria inklusi, sehingga jumlah tikus sesuai dengan yang diinginkan.

#### 3.3.2.3 Besar Sampel

Besar sampel tiap kelompok berdasarkan kriteria yang digunakan WHO, yaitu minimal lima ekor tiap satu kelompok. Sampel dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Besar sampel dalam penelitian ini adalah tujuh ekor tikus tiap kelompok. Jumlah sampel seluruhnya adalah 21 ekor tikus wistar jantan

#### 3.3.2.4 Cara Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara randomisasi sederhana untuk menghindari bias karena variasi umur dan berat badan. Randomisasi dapat langsung diaplikasikan karena sampel diambil dari tikus wistar yang telah memenuhi kriteria inklusi sehingga dianggap cukup homogen. Dua puluh satu tikus wistar dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari tujuh ekor tikus wistar jantan yang dikandangkan secara terpisah di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

### 3.4. VARIABEL PENELITIAN

#### 3.4.1. Variabel Bebas

Pada penelitian ini yang ditetapkan sebagai variabel bebas adalah pemberian minyak atsiri dari *Allium Sativum*

### 3.4.1. Variabel Tergantung

Sebagai variabel tergantung dalam penelitian ini adalah persentase jumlah neutrofil pada preparat darah tepi tikus wistar jantan. Skala kedua variabel tersebut adalah rasio.

## 3.5 DEFINISI OPERASIONAL VARIABEL

### 3.5.1 Minyak Atsiri

Minyak atsiri *Allium Sativum* berupa larutan minyak yang diperoleh melalui penyulingan uap kemudian diberikan melalui pipet dengan dosis satu tetes setiap hari selama tiga minggu.

### 3.5.2 Jumlah Neutrofil

Neutrofil pada sampel darah diperoleh dari pengambilan darah sebanyak 3cc menggunakan *disposable syringe* pada aorta abdominalis tikus wistar jantan. Sampel darah tersebut akan dibuat preparat darah tepi dan dihitung persentase jumlah neutrofilnya menggunakan metode *differential counting*.

## 3.6. ALAT DAN BAHAN

### 3.6.1. Alat

1. Kandang tikus
2. Tempat pakan dan tempat minum tikus untuk tiap kandang
3. Sonde lambung
4. Timbangan elektronik AND

5. Alat-alat untuk membuat minyak atsiri dari *Allium Sativum*

6. Alat-alat untuk membuat preparat darah tepi dari sampel darah tikus

### 3.6.2. Bahan

1. Makanan tikus wistar yaitu pakan standar *BR-2* dan minuman untuk tikus

2. Kuning telur yang telah dipisahkan dari putih telur

3. Minyak atsiri dari *Allium Sativum* yang didapat dari teknik penyulingan uap

4. Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat preparat darah

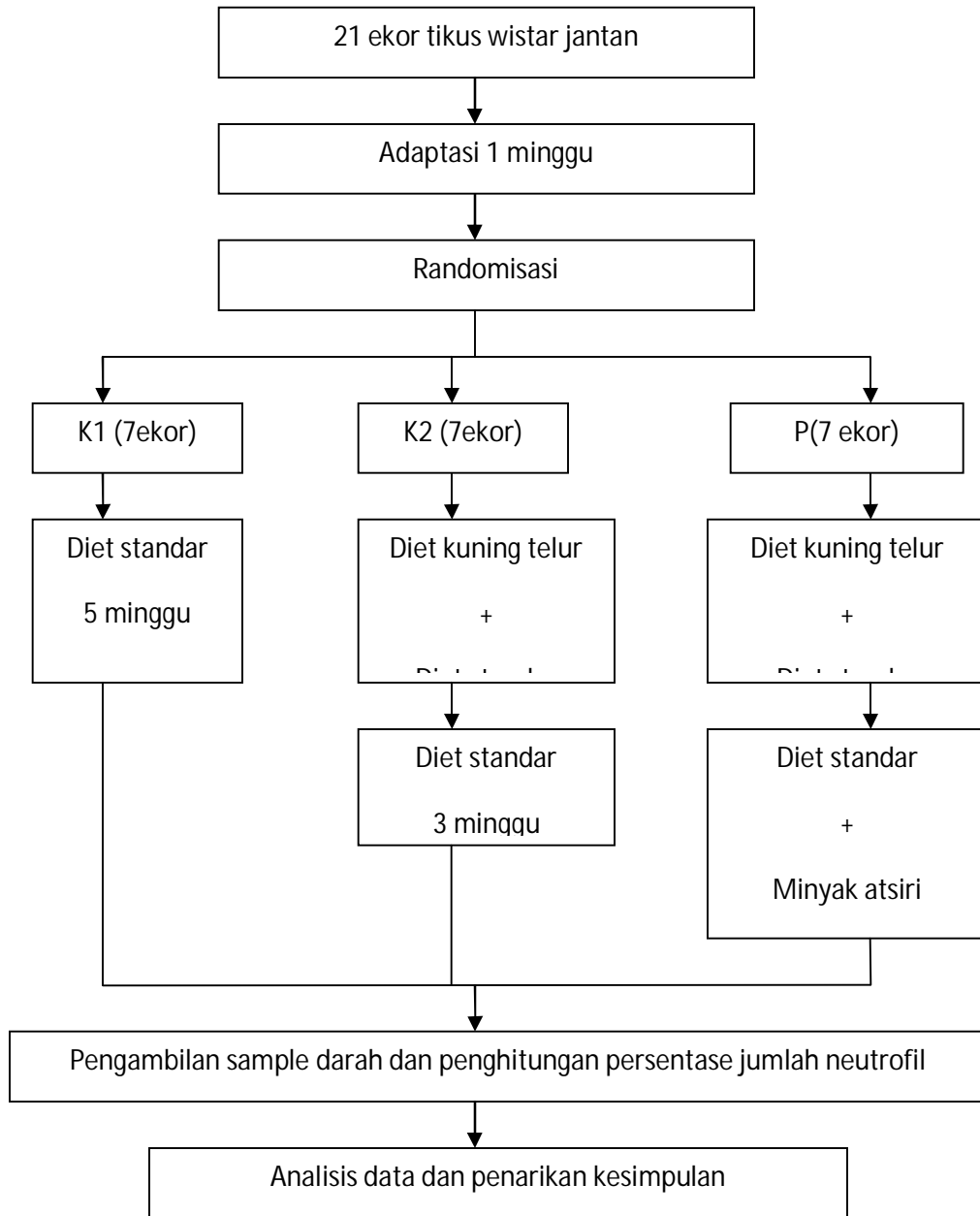
hapus dari sampel darah tikus

### 3.7. CARA KERJA

Pada satu minggu pertama dilakukan proses adaptasi pada tikus wistar. Selama periode ini, 21 tikus wistar diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*. Setelah masa adaptasi selesai, 7 ekor tikus dipilih secara randomisasi menjadi kelompok kontrol negatif (K1) yang selama 6 minggu tetap diberi diet standar. Sedang 14 tikus wistar lain diinduksi hiperlipidemia diet kuning telur dengan dosis 1,5 gram kuning telur melalui sonde lambung setiap hari selama dua minggu. Setelah dua minggu maka akan dilakukan randomisasi untuk mengelompokkan 14 tikus tersebut menjadi dua kelompok yaitu kelompok perlakuan (P) dan kelompok kontrol positif (K2). Selanjutnya selama tiga minggu kemudian, kedua kelompok akan mendapat perlakuan yang berbeda. Pada kelompok kontrol akan diberi pakan standar dan minum *ad libitum* saja sedangkan pada kelompok perlakuan akan mendapat diet standar, minum *ad libitum*, dan minyak atsiri *Allium Sativum* satu tetes melalui pipet. Kemudian tikus pada kedua

kelompok akan diterminasi untuk mengambil sampel darah tepi melalui aorta abdominalis. Sampel tersebut akan dibawa ke laboratorium swasta berizin untuk diperiksa persentase jumlah neutrofilnya.

### 3.8. ALUR PENELITIAN



### 3.9. ANALISA DATA

Data hasil penelitian yaitu persentase jumlah neutrofil, 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:

#### 3.9.1. Analisa Deskriptif

Dilakukan analisis *univariat* dengan menghitung nilai *mean* dan standar deviasi terhadap persentase jumlah neutrofil tiap kelompok, serta disajikan dalam bentuk tabel.

#### 3.9.2. Analisa Analitik

Data diuji normalitasnya dengan menggunakan uji Saphiro Wilk. Sebaran data dianggap normal jika  $p > 0,05$ .

- a. Bila didapatkan distribusi data normal dilakukan uji hipotesis dengan menggunakan statistik parametrik uji t tidak berpasangan. Perbedaan dianggap bermakna jika  $p < 0,05$ .
- b. Bila didapatkan distribusi tidak normal dilakukan uji hipotesis dengan menggunakan uji Mann Whitney . Perbedaan dianggap bermakna jika  $p < 0,05$ . Lalu dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.



## BAB 5

### HASIL PENELITIAN

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

Tabel 1. Analisa deskriptif dari persentase jumlah neutrofil

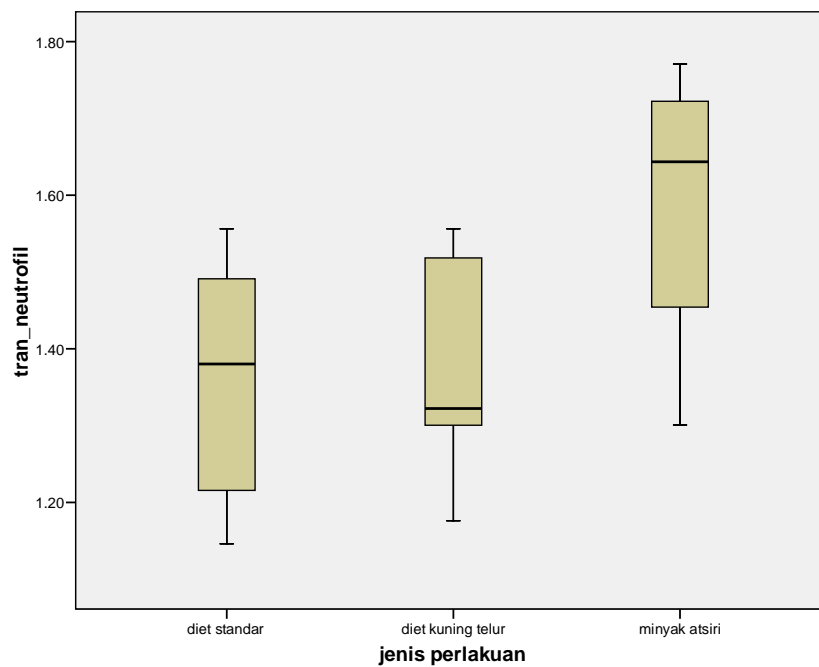
Kelompok	N	Jumlah Neutrofil		P
		Mean	Standar Deviasi	
Diet Standar	7	24,14	8,76	0,44*
Diet Kuning Telur	7	25,43	8,34	
Minyak Atsiri	7	40,86	15,43	

\*P > 0,05 : signifikan

Uji normalitas terhadap persentase jumlah neutrofil dengan uji normalitas Saphiro Wilk diperoleh hasil bahwa data terdistribusi secara normal dengan nilai  $p > 0,05$ . Kesamaan dari varians data adalah tidak homogen untuk jumlah neutrofil berdasarkan uji Levene's dengan nilai

p 0,04 ( $p < 0,05$ ), karena itu dilakukan transformasi data supaya varians data yang didapatkan homogen. Setelah transformasi data didapatkan p 0,74 ( $p > 0,05$ ) maka didapatkan varians data dinyatakan homogen.

Gambar. 3 Box Plot trans neutrofil



Uji *One Way Anova* dipilih untuk uji hipotesis karena syarat sebaran data normal dan varians data homogen terpenuhi. Uji tersebut menghasilkan nilai p 0,04 ( $p < 0,05$ ) dan disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna dari persentase jumlah neutrofil antar

kelompok. Karena terdapat perbedaan yang bermakna dari persentase jumlah neutrofil antar kelompok maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara bermakna. Melalui uji *Post Hoc* didapatkan perbedaan yang bermakna antara persentase jumlah neutrofil kelompok kontrol negatif (diet standar) dengan persentase jumlah neutrofil kelompok perlakuan (minyak atsiri) dengan  $p = 0,02$  ( $p < 0,05$ ). Selain itu juga didapatkan perbedaan yang bermakna antara persentase jumlah neutrofil kelompok kontrol positif (kuning telur) dengan persentase jumlah neutrofil kelompok perlakuan (minyak atsiri) dengan  $p = 0,04$  ( $p < 0,05$ ).

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, data yang dihimpun menunjukkan bahwa persentase jumlah neutrofil pada kelompok kontrol negatif (kelompok tikus yang diberi diet standar) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (kelompok tikus yang diinduksi kuning telur). Hal ini dimungkinkan karena pada proses inflamasi terdapat mekanisme kompleks yang terjadi pada neutrofil.

Mediator kimia berupa leukotriene dan prostaglandins memegang peranan penting untuk invasi ke dalam endotel pada proses inflamasi. Pada proses ini neutrofil mengeluarkan mediator kimia lain yang memberikan sinyal berikutnya untuk merekrut lebih banyak lagi neutrofil dan leukosit untuk turut beraksi dalam proses fagositosis. Dalam tahap ini neutrofil juga mengeluarkan beberapa enzim (*reactive oxygen species*,

*hydrolytic enzymes*, dan lain-lain), yang mempunyai kinerja merusak sel dan jaringan. Karena terjadi perusakan oleh mediator produksi sendiri, neutrofil secara otomatis memberikan mekanisme balik yang menghentikan terbentuknya neutrofil untuk menjadi semakin banyak lagi. Pencegahan tersebut terjadi bilamana biosintesa leukotrine sebagai mediator pro-inflamasi berhenti dan beralih ke biosintesa lipoxin sebagai mediator anti-inflamasi pencegah inflamasi. Semua biosintesa ini terjadi di dalam sel neutrophil.<sup>25</sup>

Proses yang terjadi pada neutrofil untuk menekan peningkatan produksi neutrofil disinyalir memiliki dampak lebih kuat daripada peningkatan neutrofil untuk menunjang proses fagositosis. Landasan itu disinyalir menjadi latar belakang mengapa data yang dihimpun dari penelitian menunjukkan kurangnya kesesuaian dengan hipotesis yang telah diambil sebelumnya, yang menduga akan terjadi peningkatan jumlah neutrofil secara bermakna setelah tikus diinduksi kuning telur sebagai faktor pemicu terjadinya proses inflamasi.

Di samping itu kuning telur mentah yang dijadikan bahan percobaanpun ternyata memiliki kandungan selain kolesterol dan lemak yakni protein, karbohidrat juga antioksidan seperti vitamin E dan selenium,<sup>26</sup> namun belum didapatkan kepustakaan yang menyebutkan antioksidan dalam kuning telur memiliki pengaruh terhadap kadar antioksidan dalam darah. Diduga vitamin E dan selenium berperan dalam memerangi dampak radikal bebas.

Peningkatan asupan kolesterol juga akan meningkatkan produksi HDL. HDL bertanggung jawab atas transpor balik kolesterol dari dinding arteri ke organ hepar.<sup>27</sup> Pada penelitian kali ini tidak dilakukan pemeriksaan kadar HDL untuk membuktikan

apakah kuning telur yang diberikan dapat meningkatkan HDL secara signifikan, namun HDL endogen tikus dapat berpotensi anti hiperkolesterolemik. Diduga pada penelitian ini, HDL tikus mengalami peningkatan dan berpotensi menurunkan sebagian kolesterol sehingga proses pembentukan radikal bebas terhambat.

Minyak atsiri bawang putih telah banyak diteliti mengandung kandungan *dialil disulfide (DADS)* dapat menghambat *HMG KoA reduktase* yang merupakan salah satu enzim yang berperan dalam pembentukan kolesterol. Sehingga pemberian minyak atsiri dapat menghambat reaksi inflamasi yang diakibatkan oleh diet kuning telur. Aksi penghambatan ini akan menyebabkan penurunan jumlah neutrofil sebagai penanda masih berlangsungnya proses inflamasi. Tetapi dari hasil penelitian yang didapat menunjukkan reaksi yang berkebalikan. Jumlah neutrofil pada kelompok perlakuan (kelompok tikus yang diberi minyak atsiri) menunjukkan peningkatan yang bermakna apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (kelompok tikus yang diberi diet standar), dengan ( $p < 0,05$ ).

Minyak atsiri bawang putih ternyata bekerja melalui berbagai mekanisme yang saling mendukung. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis yang dapat menimbulkan efek pada tikus wistar, tetapi menggunakan dosis yang terbukti menimbulkan efek pada manusia sehingga diduga dosis yang diperlukan pada tikus belum cukup untuk menaikkan persentase jumlah neutrofil secara signifikan. Selain itu kemungkinan waktu dua minggu pemberian minyak atsiri belum cukup untuk mendapatkan efek yang diharapkan.

Respon inflamasi dari endotel pembuluh darah membuat endotel mengekspresikan mediator inflamasi seperti *Intercellular Adhesion Molecule (ICAM)*.<sup>28</sup> Ekspresi ICAM banyak terjadi pada endotel dan makrofag pada proses pembentukan atherosklerosis.<sup>29</sup> Peningkatan

ICAM-1 akan mengundang leukosit dan bioaktif darah lainnya termasuk neutrofil menuju tempat lesi. Faktor kemoatraktan maupun molekul adhesi seperti ICAM-1, dan MCP-1 dapat dijadikan target terapi dari pencegahan akumulasi neutrofil dan atherogenesis menggunakan antibodi untuk mediator tersebut.<sup>30</sup> Namun belum ditemukan kepustakaan yang menyebutkan bahwa pemberian minyak atsiri *Allium sativum* mempengaruhi kadar antibodi tersebut.

Minyak atsiri yang mengandung antioksidan DADS, yang ternyata juga memiliki efek hipolipidemik dengan menghambat kerja enzim sterol 4 $\alpha$ -methyl oksidase. Diperkirakan efek hipolipidemik tersebut tidak berpengaruh banyak terhadap penurunan jumlah LDL sehingga LDL yang teroksidasi tetap ada dan proses inflamasi berlanjut sehingga akumulasi neutrofil terus berlangsung.<sup>31</sup>

Faktor lain yang mempengaruhi hasil diatas adalah bahwa antioksidan dalam minyak atsiri hanya mengurangi dampak negatif radikal bebas, dan menurunkan kemungkinan sel untuk teroksidasi. Namun antioksidan tersebut tidak mampu menahan LDL yang terlanjur teroksidasi. LDL teroksidasi akan terus mencederai endotel yang memicu ekspresi MCP-1 sehingga proses akumulasi akan terus berlanjut.

Minyak atsiri *Allium sativum* juga disinyalir memiliki beberapa senyawa yang efeknya bertolak belakang terhadap penurunan jumlah neutrofil pada proses inflamasi. Dari penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, Iranloye B.O memang menyebutkan bahwa pada bawang putih terdapat komponen antiinfeksi yang dapat meningkatkan jumlah neutrofil secara bermakna. Dasar itulah yang kemudian disinyalir menjadi latar belakang ketidaksesuaian antara hipotesis yang diduga sebelumnya dengan data yang dihimpun setelah penelitian.<sup>32</sup>

## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Pada penelitian ini pemberian minyak atsiri bawang putih dengan dosis 0,05 ml tidak terbukti menurunkan persentase jumlah neutrofil tikus wistar yang diberi diet kuning telur. Sehingga minyak atsiri belum terbukti dapat digunakan sebagai antioksidan untuk menurunkan persentase jumlah neutrofil akibat proses inflamasi

#### 7.2 Saran

Dengan melihat kekurangan penelitian yang telah dilakukan, saya menyarankan;

1. Perlu dilakukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis minyak atsiri bawang putih dan lama masa perlakuan yang dapat menaikkan jumlah neutrofil.

2. Perlu dilakukan penelitian yang sama dengan menggunakan ekstrak bawang putih segar.
3. Dilakukan penelitian dengan menggunakan jumlah sampel yang lebih besar, waktu perlakuan lebih lama, dan frekuensi pemberian yang ditingkatkan.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Ganong WF. Buku ajar fisiologi kedokteran. Edisi: 20. Jakarta: EGC. 2001. p.292-296
2. Mayes PA. Sintesis, pengangkutan, dan ekskresi kolesterol. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Bani AP, editors. Biokimia harper. Edisi: 25. Jakarta: EGC; 2000. h. 270-281
3. Koolman J, Röhm KH. Color atlas of biochemistry. 2nd ed. New York; 2005. p. 46 – 56, 172 - 3. Sadikin Moh, editor. Atlas berwarna & teks biokimia. Jakarta : Hipokrates. 1995. p. 42
4. Guyton AC, Hall JE. Buku ajar fisiologi kedokteran edisi: 9. Jakarta: EGC; 1996. h. 1040-1042





12. Lichtman M, Beutler E, Shigsohn U, Kaushanky K, Kipps T O. Williams hematology [book on CD-Room]. 7th ed. McGraw. Hill Medical:2007
13. Drug effects on HDL: statins. 2000 Feb [cited 2007 Dec 1]. Available from :  
[URL:http://www.lipidsonline.org/slides/slide01.cfm?q=hmg-coa+reductase&dpg=5](http://www.lipidsonline.org/slides/slide01.cfm?q=hmg-coa+reductase&dpg=5)
14. Diana S. Minyak sereh. [cited 5 Desember 2007] Available from:  
[URL:http://www1.bpkpenabur.or.id/jelajah/08/biologi1.htm](http://www1.bpkpenabur.or.id/jelajah/08/biologi1.htm)
15. 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>

16. Singh DK, Porter TD. Inhibition of Sterol 4 $\alpha$ -Methyl Oxidase Is the Principal Mechanism by Which Garlic Decreases Cholesterol Synthesis. [Cited 12 Desember 2007].

Available from :

URL: <http://www.jn.nutrition.org/cgi/content/abstract/136/3/759S>

17. Staba JE, Lash L, Staba JE. A Commentary on the Effects of Garlic Extraction and Formulation on Product Composition. *Journal of Nutrition*. 2001; 131:1118S-1119S [cited 5 Maret 2008]. Available from URL:

<http://jn.nutrition.org/cgi/content/full/131/3/1118S>

18. Syamsih IS, Tajudin. Khasiat dan manfaat bawang putih raja antibiotik alami. Bandung: Agromedia Pustaka. 2003: 1-12

19. Miyazaki A, Koieyama T, Shimada Y, Kikuchi T, Ito K, Kasanuki N, et al. Pravastatin Sodium, an inhibitor of hmg-coa reductase , decrease HDL cholesterol by transfer of cholesteryl ester from HDL to VLDL in Japanese white rabbits. Journal of Atherosclerosis and Thrombosis [serial online] 2003 Nov [cited 2007 Dec 1]; 11:1. Available from : [URL:http://sciencelinks.jp/j-east/article/200411/000020041104A0300557.php](http://sciencelinks.jp/j-east/article/200411/000020041104A0300557.php)
  
20. Gurr, MI. Role of fats in food nutrition 2<sup>nd</sup>. 1992 Elviesier Sciences Publisher Ltd. New York 7-51:79-95
  
21. Almatsier S. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta. 2001: 50-72
  
22. World Health Organization. Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicine. Manila : Regional Office for the Western Pasific ;1993. h. 31 – 41
  
23. Dahlan S. Seri statistik: statistika untuk kedokteran dan kesehatan uji hipotesis dengan menggunakan SPSS program 12 jam. Jakarta Arkans; 2004.
  
24. Adult Treatment Panel (ATP) III Guidelines At-A-Glance Quick Desk Reference [Online]. 2001 may [cited 2009 Feb 03]; Available from: [URL:http://www.nhlbi.nih.gov/guidlines/cholesterol/atglance.pdf](http://www.nhlbi.nih.gov/guidlines/cholesterol/atglance.pdf)
  
25. Tripathi K. A review-garlic,the spice of life. Asian J Research Chem 2009; 2:8-13
  
26. Nutrition and callories in egg yolk [Online]. 2008 [cited 2009 aug 03]; Available from:URL:<http://www.calorie-counter.net/egg-calories/egg-yolk.htm>
  
27. Eckardstein AV, Nofer J, Assmann G. High density lipoproteins and Arteriosclerosis. AHA Journals[Online] 2001 [cited 2009 Jan 19]; 21:13. Available from:URL:<http://atvb.ahajournals.org/cgi/content/full/21/1/13>

28. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. NEJM [Online] 1999 Jan [cited 2009 Jan 18]; 340:115-26. Available from: URL:  
<http://content.nejm.org/cgi/content/full/340/2/115>
29. Ohara Y, Peterson TE, Sayegh HS, Subramanian RR, Wilcox JN, Hanson PG. Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. AHA Journals 1995 [cited 2009 Jan 19]; 92:898-903. Available from:URL: <http://circ.ahajournals.org/cgi/content/full/92/4/858>
30. Swirski FK, Pittet MJ, Kircher MF, Aikawa E, Jaffer FA, Libby P, et al. Monocyte accumulation in mouse atherogenesis is progressive and proportional to extent of disease. PNAS [Online] 2006 [cited 2009 Aug 03]; 103:10340-5. Available from : URL: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1502459>
31. Sunarto P, Pikir BS. Pengaruh garlic terhadap penyakit jantung koroner. Cermin Dunia Kedokteran [Online] 1995 [disitasi 12 Des 2007]; 102. Available from :  
URL:<http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/09PengaruhGarlic102.pdf/09PengaruhGarlic102.html>
32. Van Lenten BJ, Hama SY, Beer de FC, Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM, et al. Anti inflammatory HDL becomes pro inflammatory during acute phase response. JCI; 96:2758-67.

## LAMPIRAN 1

### PEMBUATAN MINYAK ATSIRI *Allium sativum*

#### 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 airPisah dari eter dengan suhu kamar

## LAMPIRAN 2

### CARA PENENTUAN DOSIS MINYAK ATSIRI *Allium sativum*

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.

### LAMPIRAN 3

#### PEMBUATAN PREPARAT DARAH HAPUS

##### I. Pengambilan Sampel Darah

Alat :

1. S spuit
2. Tabung reaksi
3. Toples
4. Kapas
5. Papan lilin

6. Jarum

7. Pinset

8. Scapel

Bahan :

1. Ethylen Diamine Tetraacetic Acid (EDTA)

2. Eter

Cara Kerja :

1. Membius tikus yang akan diambil darahnya dengan memasukkan tikus ke dalam toples yang berisi kapas yang dibasahi dengan eter
2. Meletakkan tikus pada papan lilin dan memfiksasi dengan menusukkan jarum pada keempat kaki tikus.
3. Membuka dinding perut luar tikus.
4. Mengangkat peritoneum untuk menemukan aorta abdominalis.
5. Menusukkan jarum spuit pada aorta abdominalis dengan sudut  $45^{\circ}$  kemudian menarik ujung spuit untuk menghisap darah sebanyak 3cc.
6. Memindahkan darah dari spuit ke dalam tabung yang berisi EDTA dan menutup rapat.

## II. Membuat Preparat Darah Hapus

Alat :

1. Obyek glass yang bersih
2. *Spreader* / penggeser
3. Preparat darah dan pengaduk
4. Bak pengecatan
5. Bak pengeringan



6. Timer
7. Gelas ukur

Bahan :

1. Sampel darah EDTA
2. Methanol 90%
3. Larutan Giemsa
4. Air
5. Lacquer

Cara Kerja :

1. Mengambil obyek glass yang bersih, meletakkan satu tetes darah di samping kanan.
2. Menyentuh tetesan darah dengan *spreader*, kemudian darah akan melebar sepanjang *spreader*.
3. Mendorong *spreader* ke arah kiri dengan sudut  $45^{\circ}$ , kemudian mengeringkan di udara.
4. Mengamati kualitas preparat, dinilai baik bila: tipis, rata, ekor tidak robek, bentuk seperti peluru.
5. Memfiksasi dengan methanol 90% selama 10 menit.
6. Membuat larutan giemsa kerja dengan giemsa stock dan buffer sorensen dengan perbandingan 1:9 untuk buffernya.
7. Menggenangi preparat dengan larutan giemsa selama 15 menit.
8. Mencuci dengan air mengalir.
9. Mengeringakan di udara.
10. Mengolesi dengan lacquer setelah kering.

III. Membaca Preparat Darah Hapus

1. Meletakkan preparat darah hapus di bawah lensa obyektif pada deck mikroskop.
2. Mengidentifikasi sel neutrofil menggunakan perbesaran obyektif 40x
3. Menghitung jumlah neutrofil pada 100 sel leukosit
4. Mencatat persentase jumlah neutrofil yang dihitung

#### LAMPIRAN 4

#### KLASIFIKASI LDL, TOTAL, DAN HDL KOLESTEROL

Kadar Lipid serum normal NCEP- Adult Treatment Panel (ATP) III

1. LDL Kolesterol(mg/dL)

<100 Optimal

100-129 Near optimal/above optimal

130-159 Borderline high

160-189 High

>190 Very high

2. Total Kolesterol(mg/dL)

<200 Desirable

200-239 Borderline high

>240 High

3. HDL Kolesterol(mg/dL)

<40 Low

>60 High

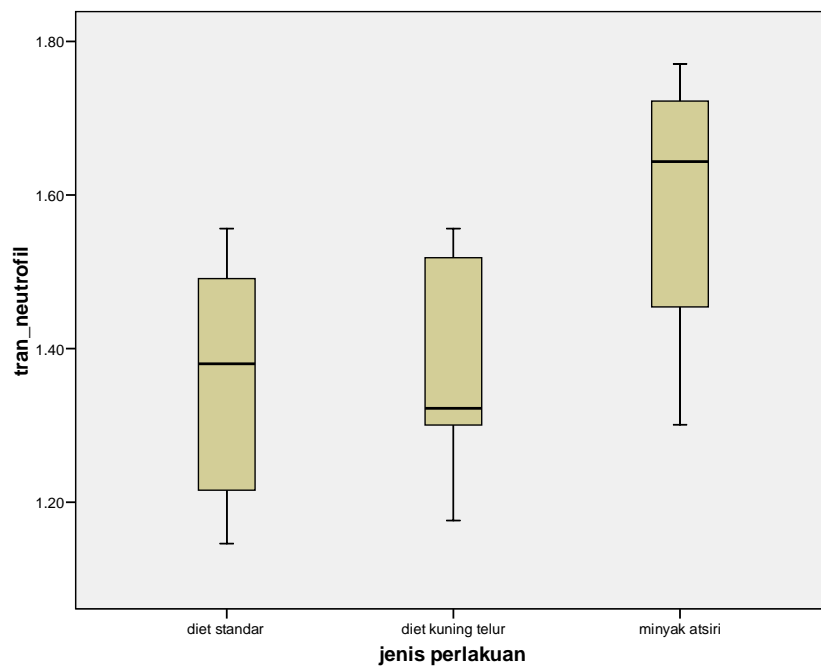
LAMPIRAN 5

Tabel 1. Hasil pemeriksaan jumlah neutrofil tikus wistar

No	K1	K2	P
----	----	----	---

1	18	21	27
2	36	19	48
3	14	21	20
4	15	15	59
5	30	36	58
6	24	34	44
7	32	32	30

Gambar 3. Box Plot trans neutrofil



Tabel 2. Jumlah sample tiap kelompok

**Case Processing Summary**

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
jumlah neutrofil	diet standar	7	100,0%	0	,0%	7	100,0%
	diet kuning telur	7	100,0%	0	,0%	7	100,0%
	minyak atsiri	7	100,0%	0	,0%	7	100,0%

Tabel 3. Analisa deskripsi pengaruh pemberian minyak atsiri terhadap jumlah neutrofil

### Descriptives

jenis perlakuan				Statistic	Std. Error	
jumlah neutrofil	diet standar	Mean		24,14	3,313	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	16,04		
			Upper Bound	32,25		
		5% Trimmed Mean		24,05		
		Median		24,00		
		Variance		76,810		
		Std. Deviation		8,764		
		Minimum		14		
		Maximum		36		
		Range		22		
		Interquartile Range		17		
		Skewness		,109		,794
		Kurtosis		-1,939		1,587
			diet kuning telur	Mean		
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound			17,71		
	Upper Bound			33,15		
5% Trimmed Mean				25,42		
Median				21,00		
Variance				69,619		
Std. Deviation				8,344		
Minimum				15		
Maximum				36		
Range				21		
Interquartile Range				15		
Skewness				,209	,794	
Kurtosis				-2,121	1,587	
	minyak atsiri			Mean		40,86
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	26,59		
			Upper Bound	55,13		
		5% Trimmed Mean		41,01		
		Median		44,00		
		Variance		238,143		
		Std. Deviation		15,432		
		Minimum		20		
		Maximum		59		
		Range		39		
		Interquartile Range		31		
		Skewness		-,102	,794	
		Kurtosis		-1,801	1,587	

Tabel 4. Test normalitas data pengaruh pemberian minyak atsiri bawang putih terhadap jumlah neutrofil

Tests of Normality							
jenis perlakuan		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah neutrofil	diet standar	,187	7	,200*	,917	7	,444
	diet kuning telur	,274	7	,122	,881	7	,231
	minyak atsiri	,188	7	,200*	,919	7	,461

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

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 5. Hasil uji homogenitas varians

**Test of Homogeneity of Variances**

jumlah neutrofil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,688	2	18	,045

**Test of Homogeneity of Variances**

tran\_neutrofil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,309	2	18	,738

Tabel 6. Hasil uji parametrik one way anova

**ANOVA**

tran\_neutrofil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,210	2	,105	3,875	,040
Within Groups	,487	18	,027		
Total	,697	20			

Tabel 7. Hasil uji Post Hoc

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: tran\_neutrofil

LSD

(I) jenis perlakuan	(J) jenis perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
diet standar	diet kuning telur	-,02799	,08793	,754	-,2127	,1567
	minyak atsiri	-,22460*	,08793	,020	-,4093	-,0399
diet kuning telur	diet standar	,02799	,08793	,754	-,1567	,2127
	minyak atsiri	-,19661*	,08793	,038	-,3813	-,0119
minyak atsiri	diet standar	,22460*	,08793	,020	,0399	,4093
	diet kuning telur	,19661*	,08793	,038	,0119	,3813

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



