



**Efek Minyak Atsiri dari *Allium Sativum* terhadap
Persentase Jumlah Limfosit 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 :
Elfani Sakinah
NIM : G2A005061

**Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro
Semarang
2009**

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Halaman Pengesahan	iii
Daftar Isi	iv
Abstrak	vii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Penelitian Umum	3
1.3.2. Tujuan Penelitian Khusus	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Lipid	5
2.1.1. Definisi dan Fungsi	5
2.1.2. Hiperlipidemia.....	7
2.1.3. Kolesterol.....	9
2.1.4. LDL.....	10
2.2. Aterosklerosis	11
2.3. Limfosit	14
2.4. Induksi Hiperlipidemia.....	15
2.5. Antioksidan	15
2.6. Minyak Atsiri	18
2.6.1. Definisi dan komposisi.....	18
2.6.2. Minyak Atsiri Bawang Putih	20
2.7. Kerangka Teori	22
2.8. Kerangka Konsep	23
2.9. Hipotesis Penelitian	23
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	24
3.1. Ruang Lingkup Penelitian	24

3.1.1. Ruang Lingkup Keilmuan	24
3.1.2. Ruang Lingkup Waktu	24
3.1.3. Ruang Lingkup Tempat	24
3.2. Jenis Penelitian	24
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian	25
3.3.1. Populasi Penelitian	25
3.3.2. Sampel Penelitian	25
3.3.2.1. Kriteria Inklusi	26
3.3.2.2. Kriteria Eksklusi	26
3.3.2.3. Besar Sampel	26
3.3.2.4. Cara Pengambilan Sampel	26
3.4. Variabel Penelitian	27
3.4.1. Variabel Bebas	27
3.4.2. Variabel Tergantung	27
3.5. Definisi Operasional Variabel	27
3.5.1. Minyak Atsiri <i>Allium sativum</i>	27
3.5.2. Diet Kuning Telur	27
3.5.3. Jumlah Limfosit	28
3.6. Alat dan Bahan	28
3.6.1. Alat	28
3.6.2. Bahan	28
3.7. Prosedur Perlakuan Sampel.....	28
3.8. Cara Kerja	30
3.9. Alur Penelitian	32
3.10. Analisis Data	33
BAB 4 HASIL	34
BAB 5 PEMBAHASAN	36
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	39
DAFTAR PUSTAKA	vi
LAMPIRAN	x

Efek Minyak Atsiri dari Bawang Putih (*Allium Sativum*) terhadap Persentase Jumlah Limfosit Tikus Wistar yang Diberi Diet Kuning Telur

Elfani Sakinah^{a)}, Innawati Jusup^{b)}

ABSTRAK

Latar Belakang : Minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) mengandung diallyl disulfide (DADS). Dari beberapa literatur dikatakan bahwa kedua senyawa tersebut berfungsi sebagai antioksidan yang bekerja dengan cara menangkap radikal hidroksil yang berperan dalam lipid peroksidase. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek anti oksidan pada minyak atsiri bawang putih dalam menurunkan jumlah limfosit sebagai marker inflamasi untuk mencegah progresivitas dari aterosklerosis.

Metoda : Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Sampel terdiri dari 21 ekor tikus wistar jantan 8 minggu yang diberi diet kuning telur intermiten. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol negatif (K1), kelompok kontrol positif (K2), dan kelompok perlakuan (P). Kelompok K1 hanya diberi pakan standar selama penelitian berlangsung. Kelompok K2 dan P diberi pakan standar dan diet kuning telur 1,5 gram secara intermiten selama dua minggu. Setelah itu kelompok K2 diberi pakan standar dan kelompok P diberi minyak atsiri 1 tetes setiap hari selama 3 minggu. Dosis minyak atsiri yang diberikan sebanyak 0,05 ml. Data didapat dari hitung jenis limfosit pada darah tepi. Data diuji dengan *One Way Anova*.

Hasil : Persentase jumlah limfosit pada kelompok P ($57,14 \pm 14,68$) lebih rendah daripada kelompok K1 ($73,14 \pm 7,73$) dan K2 ($72,57 \pm 8,34$). Uji *One Way Anova* antara kelompok kontrol dan perlakuan berbeda bermakna ($p=0,019$, $p < 0,05$).

Kesimpulan : Terjadi penurunan persentase jumlah limfosit pada pemberian minyak atsiri dari *Allium sativum*.

Kata kunci: minyak atsiri, *Allium sativum*, limfosit.

a) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

b) Staf pengajar Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

The Effects of Essential Oil from Garlic (*Allium Sativum*) on Percentage of Lymphocyte Cells Count in Wistar Rats with Egg Yolk Supplement

Elfani Sakinah^{a)}, Innawati Jusup^{b)}

ABSTRACTS

Background : *The essential oil from garlic contains diallyl polysulfide. 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 the lymphocytes count in male wistar rats.*

Methods : *The design of this experimental study was randomized post-test only control group design. The samples were twenty one male Wistar, 8 weeks which got egg yolk diets intermittent. The samples were divided into 3 groups, that were negative control group (K1), positive control group (K2), and treatment group (P). K1 was only given standard diets, K2 and P were given standard diets and 1,5 gram egg yolk diets intermittently for 2 weeks. After that the positive control group (K2) was given standard diets, the treatment group (P) was given garlic's essential oils. The dose of essential oils was 0,05 ml. The data were tested with One Way Anova.*

Result: *Lymphocytes count of treatment group P (57,14±14,68) is lower than K1 (73,14±7,73) and K2 (72,57±8,34) One Way Anova test between control group and treatment group was significantly different ($p=0,019$, $p < 0,05$).*

Conclusion: *Garlic's essential oil in 0,05 ml doses decreases percentage of lymphocyte cells count in wistar rats that given egg yolk diet*

Keywords: *Essential oil, *Allium sativum*, lymphocyte.*

a) Student of Medical Faculty of Diponegoro University Semarang

b) Lecturer in Department of Biochemistry Medical Faculty of Diponegoro University Semarang

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Penyakit kardiovaskuler diperkirakan akan menjadi penyebab utama kematian dalam waktu 15 tahun mendatang, meliputi Amerika, Eropa, dan sebagian besar Asia. Lebih lanjut, prediksi terkini memperkirakan bahwa pada tahun 2020 penyakit kardiovaskular, khususnya aterosklerosis akan menjadi penyebab utama kematian *non accidental*.

Sekarang aterosklerosis tidak lagi dianggap timbul akibat proses penuaan saja. Telah banyak ditemukan faktor-faktor yang saling berkaitan dalam mempercepat proses aterogenik.¹

Tiga faktor biologis yang tidak dapat diubah, yaitu: jenis kelamin, laki-laki, dan riwayat keluarga. Faktor resiko tambahan lain masih dapat diubah, sehingga berpotensi memperlambat proses aterogenik. Salah satu yang dapat diubah adalah peningkatan kadar lipid serum.¹

Kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) kolesterol yang tinggi memperbesar resiko aterosklerotik.² LDL yang terperangkap dalam arteri dapat mengalami proses oksidasi yang progresif dan dilahap oleh makrofag melalui reseptor pemangsa pada permukaan sel.^{1,2} LDL teroksidasi inilah yang berperan sebagai inisiator sekaligus meningkatkan resiko aterosklerosis.³ LDL teroksidasi

mengaktivasi migrasi dan degranulasi sel-sel leukosit yang merupakan langkah awal terjadinya aterosklerosis. Hal ini didukung dengan adanya sel limfosit pada semua stadium lesi aterosklerosis sebagai respon imun seluler. Penelitian sebelumnya mengemukakan bahwa LDL teroksidasi kemungkinan berperan sebagai antigennya.

Upaya pengobatan dan pencegahan penyakit diarahkan pada pemanfaatan tanaman herbal berkhasiat salah satunya bawang putih. Pemberian ekstrak bawang putih selama empat minggu dengan dosis sebesar 1-4% dari total diet sehari mampu menurunkan kolesterol, trigliserid, dan LDL pada serum tikus hiperlipidemia dengan diet tinggi kolesterol.⁴ 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.^{5,6}

Berdasarkan fakta diatas peneliti tertarik untuk membuktikan pengaruh antioksidan dalam minyak atsiri bawang putih terhadap tikus wistar yang diinduksi hiperlipidemi dengan menggunakan limfosit sebagai parameter mediator inflamasi yang terstimulasi oleh LDL teroksidasi.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah pemberian minyak atsiri bawang putih dapat menurunkan persentase jumlah limfosit pada tikus wistar yang diberi diet kuning telur?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

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

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Menghitung persentase jumlah limfosit pada kelompok tikus wistar setelah diberi diet kuning telur.
- b. Menghitung persentase jumlah limfosit pada kelompok tikus wistar setelah diberi diet kuning telur dan diet minyak atsiri bawang putih.
- c. Mengamati adanya perbedaan persentase jumlah limfosit pada tikus wistar yang diberi diet kuning telur dengan tikus wistar yang diberi diet kuning telur dan minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*).

1.4. Manfaat Penelitian

- a. Mengetahui potensi minyak atsiri bawang putih dalam menurunkan persentase jumlah limfosit sebagai mediator peradangan.
- b. Mengetahui manfaat anti oksidan dalam minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dalam mencegah cedera endotel oleh LDL yang teroksidasi.

- c. Memberikan landasan dalam pembuatan produk dari minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) sebagai suplemen untuk mencegah atherosklerosis bagi pasien dengan hiperlipidemia
- d. Memberikan landasan dalam pembuatan produk dari minyak atsiri bawang putih untuk mengontrol reaksi inflamasi dalam darah
- e. Memberikan landasan bagi penelitian herbal selanjutnya pada manusia.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

Pada bab ini akan dijelaskan mengenai hal-hal yang berhubungan dengan penelitian ini, diantaranya adalah keterkaitan hiperlipidemia dengan aterosklerosis dan pengaruh antioksidan dalam minyak atsiri bawang putih.

2.1. LIPID

2.1.1 Definisi Dan Fungsi

Lipid plasma yaitu -kolesterol, trigliserida, fosfolipid, dan asam lemak babas- berasal dari makanan (eksogen) dan dari sintesis lemak (endogen). Kolesterol dan trigliserida adalah dua jenis lipid yang relatif mempunyai makna klinis penting sehubungan dengan aterogenesis.

Suatu molekul dikategorikan dalam lipid bila mempunyai kelarutan yang rendah dalam air, larut dalam pelarut organik (eter, khlorofom), dan terdiri dari C (karbon), H (hidrogen), dan O (oksigen).^{7,8}

Istilah lipid mengacu pada golongan senyawa hidrokarbon alifatik nonpolar dan hidrofob yang esensial dalam menyusun struktur dan menjalankan fungsi sel hidup. Karena nonpolar, lipid tidak larut dalam pelarut polar, seperti air atau alkohol, tetapi larut dalam pelarut nonpolar, seperti eter atau kloroform, metanol, dan aseton, serta benzene.^{8,9} Kelarutannya dalam air yang kecil disebabkan karena kekurangan atom-atom yang berpolarisasi (O, N, S, P).¹⁰

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 essensial.

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.^{11,12} Lipid membran yang khas adalah fosfolipid, glikolipid, dan kolesterol.¹¹ Kolesterol ini adalah lipid dengan rantai karbon siklis yang memiliki gugus hidroksil sehingga bersifat hidrofobik.¹¹

Kolesterol dibawa oleh beberapa lipoprotein yang diklasifikasikan menurut densitasnya. Lipoprotein dalam urutan densitasnya yang meningkat adalah *chylomicron*, *Very Low Density Lipoprotein (VLDL)*, *Low Density Lipoprotein (LDL)* dan *High Density Lipoprotein (HDL)*. Kolesterol dalam jumlah besar terdapat dalam lipoprotein LDL atau membawa hampir 2/3 kolesterol. Lipoprotein sebagai alat angkut lipid yang bersirkulasi dalam tubuh dan dibawa ke sel-sel otot, lemak dan sel-sel lain begitu juga pada trigliserida dalam aliran darah dipecah menjadi gliserol dan asam lemak bebas oleh enzim lipoprotein lipase yang berada pada sel-sel endotel kapiler.¹¹ Reseptor LDL oleh reseptor yang ada di dalam hati akan

mengeluarkan LDL dari sirkulasi. Pembentukan LDL oleh reseptor LDL ini penting dalam pengontrolan kolesterol darah. Di samping itu dalam pembuluh darah terdapat sel-sel perusak yang dapat merusak LDL, yaitu melalui jalur sel-sel perusak yang dapat merusak LDL. Melalui jalur ini (*scavenger pathway*), molekul LDL dioksidasi, sehingga tidak dapat masuk kembali ke dalam aliran darah. Kolesterol yang banyak terdapat dalam LDL akan menumpuk pada dinding pembuluh darah dan membentuk plak. Plak akan bercampur dengan protein dan ditutupi oleh sel-sel otot dan kalsium yang akhirnya berkembang menjadi aterosklerosis.¹¹

Kadar lipid dalam darah yang mempunyai peranan penting dalam pembentukan plak pembuluh darah (ateroma). Kelainan kadar lemak dalam darah yang utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, kenaikan kadar trigliserid serta penurunan kadar kolesterol HDL.

2.1.2. 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 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.⁷ 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.¹³

Kadar lipid normal sebenarnya sulit dipatok pada satu angka karena normal untuk seseorang belum tentu normal untuk orang lain.¹⁴ 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.¹⁵ 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.^{13,14} Kadar kolesterol HDL dipengaruhi banyak faktor, antara lain: genetik, aktivitas fisik, jenis kelamin, diet, obat-obatan, rokok, alkohol, dan lain-lain.⁷

2.1.3 Kolesterol

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.¹⁸

Hiperkolesterolemia berarti bahwa kadar kolesterol terlalu tinggi dalam darah. Kadar kolesterol darah yang tinggi merupakan problema yang serius karena merupakan problem yang serius karena merupakan salah satu faktor risiko yang paling utama untuk terjadinya penyakit jantung koroner (PJK) di samping faktor lainnya yaitu tekanan darah tinggi dan merokok. Kadar kolesterol total darah yang sebaiknya adalah < 200 mg/dl bila > 200 mg/dl berarti risiko untuk terjadinya PJK meningkat.¹⁵

Kadar LDL kolesterol yang meninggi akan menyebabkan penebalan dinding pembuluh darah.² Sehingga kadar LDL kolesterol lebih tepat sebagai petunjuk untuk mengetahui risiko PJK daripada kadar kolesterol saja. Kadar LDL normal adalah kurang dari 130 mg/dl.

2.1.4. LDL

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-100.¹⁹ Lebih kurang 85-

90% LDL yang beredar dipindahkan dari plasma oleh proses transpor dengan perantaraan reseptor. walaupun didistribusikan secara luas pada banyak sel, lebih kurang 75% reseptor LDL terletak dalam hepatosit.

Langkah pertama dalam transpor LDL ini melibatkan pengikatan pada reseptor permukaan sel, diikuti oleh internalisasi endositosis. Dalam sel, kantung endositosis menggabungkan diri dengan lisosom dan molekul LDL didegradasi secara enzimatik, akhirnya dilepaskan kolesterol bebas ke dalam sitoplasma. Kolesterol tidak hanya digunakan oleh sel untuk sintesis selaput tetapi juga diambil bagian dalam hemostasis kolesterol intrasel.²⁰

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.^{18,21}

Aterosklerosis 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 aterosklerosis 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.¹⁸

2.2. Aterosklerosis

Kolesterol, lemak, dan substansi lainnya dapat menyebabkan penebalan dinding pembuluh darah arteri, sehingga lubang dari pembuluh darah tersebut

menyempit, proses ini disebut aterosklerosis. Penyempitan pembuluh darah ini akan menyebabkan aliran darah menjadi lambat bahkan dapat tersumbat sehingga aliran darah pada pembuluh darah koroner yang fungsinya memberi oksigen (O_2) ke jantung menjadi berkurang. Kurangnya O_2 ini akan menyebabkan otot jantung menjadi lemah, sakit dada, serangan jantung bahkan kematian.²²

Dari penelitian-penelitian yang telah dilakukan menunjukkan resiko terjadinya aterosklerosis atau PJK akan meningkat bila kadar kolesterol darah meninggi. Telah dibuktikan pula bahwa dengan menurunkan kadar kolesterol darah seperti juga halnya menurunkan tekanan darah tinggi dan menghindarkan rokok dapat mengurangi resiko tersebut.

Aterosklerosis adalah pengerasan dan penebalan dinding pembuluh darah arteri akibat plak dimulai dari lapisan intima bagian pembuluh darah paling dalam yang kemudian meluas juga ke lapisan media dari pembuluh darah yang terjadi karena proses pengendapan lemak, kompleks karbohidrat dan produk darah, jaringan ikat dan kalsium.²²

Bila plak yang terbentuk dalam pembuluh darah cukup besar, ditambah faktor-faktor resiko aterosklerosis masih terus berlanjut seperti kadar kolesterol tinggi, penyakit kencing manis yang tidak terkontrol, tekanan darah tinggi, merokok, kegemukan, kurang olah raga, stress, maka akan mudah terjadi penyumbatan karena terlepasnya plak yang berakibat fatal pada penderita.

Apabila yang mengalami sumbatan pembuluh darah yang cukup vital misalnya pembuluh darah koroner jantung atau pembuluh darah utama otak, maka dapat menyebabkan kematian mendadak, serangan jantung dan stroke. Oleh sebab itu faktor-faktor resiko yang menyebabkan percepatan pembentukan aterosklerosis harus dikurangi atau dihilangkan. Pada kasus-kasus penderita yang telah mengalami gangguan aterosklerosis yang cukup berat harus dilakukan upaya untuk mengurangi aterosklerosis tersebut sebelum terjadinya gangguan yang lebih fatal.

Aterosklerosis merupakan suatu kelainan inflamasi kronik, dengan karakteristik akumulasi monosit atau makrofag, sel otot polos, dan limfosit di dalam dinding arteri sebagai respon untuk pelepasan molekul proinflamasi. Pembentukan dari plak aterosklerosis memiliki komplikasi di antaranya:

1. Kalsifikasi, yang menyebabkan pembuluh darah menjadi kurang lentur dan mudah pecah;
2. Ulserasi pada permukaan plak, yang dapat menyebabkan kaskade agregasi trombosit yang pada akhirnya dapat membentuk trombus yang akan menyumbat pembuluh darah dan menyebabkan gangguan aliran darah;
3. Pada pembuluh darah yang besar, bagian dari ateroma yang terlepas dapat menyebabkan emboli pada bagian distal pembuluh darah;
4. Ruptur endotel atau kapiler yang memperdarahi plak, yang dapat menyebabkan perdarahan didalam plak;

5. Penekanan plak terhadap tunika media yang dapat menyebabkan terjadinya atrofi dan berkurangnya jaringan elastis sehingga dapat mengakibatkan terbentuknya aneurisma.²²

System imun memiliki peran penting pada pembentukan plak aterosklerosis dan segala komplikasinya. Hal ini dibuktikan dengan ditemukannya limfosit T jenis CD8+ dan CD4+ pada semua stadium lesi. Mekanisme ini melibatkan stimulasi beberapa antigen yang berhubungan dengan patogenesis aterosklerosis.

LDL teroksidasi (oxLDL) merupakan antigen yang paling sering dipelajari dalam aterosklerosis. Jumlah LDL teroksidasi yang meningkat dalam serum dibawa oleh makrofag dan sel otot polos.²³ Yang kemudian menimbulkan akumulasi LDL teroksidasi di dalam plak aterosklerosis.²²

Salah satu system imun yang berperan dalam pembentukan plak aterosklerosis adalah limfosit T. Pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa antigen-pulsed DCs menginduksi peningkatan proliferasi antigen-spesifik limfosit CD8+ di dalam aorta. Hal ini merupakan bukti bahwa sel T dapat diaktivasi oleh antigen, dimana hal ini dapat menginisiasi ataupun menyebabkan progresi dari aterosklerosis.^{23,24}

2.3 Limfosit

Limfosit umumnya terdapat di dalam eksudat dalam jumlah yang sangat sedikit hingga waktu yang cukup lama, yaitu sampai reaksi-reaksi peradangan

menjadi kronis. karena fungsi-fungsi limfosit yang diketahui semuanya berada dalam bidang imunologik.²⁴

Limfosit adalah leukosit mononuklear dalam darah, yang memiliki inti bulat atau oval yang dikelilingi oleh pinggiran sitoplasma sempit berwarna biru yang mengandung sedikit granula.²⁴

Leukositosis menunjukkan peningkatan leukosit yang umumnya melebihi $10.000/\text{mm}^3$. Reaksi leukemoid menyatakan keadaan leukosit yang meningkat disertai peningkatan bentuk imatur yang mencapai $100.000/\text{mm}^3$. Ini akibat respon terhadap infeksi, toksik, dan peradangan serta terjadi juga pada keganasan, terutama payudara, ginjal, paru, dan karsinoma metastatik.²⁴

2.3. Induksi Hiperlipidemia

Penelitian sebelumnya 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. 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.²⁵

2.4 Antioksidan

Secara umum, antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi radikal bebas dalam oksidasi lipid. Antioksidan tetap dinyatakan sebagai senyawa yang dapat memperlambat oksidasi, walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah sekalipun dibandingkan dengan substrat yang dapat dioksidasi.²⁶

Berdasarkan fungsinya antioksidan dapat digolongkan sebagai berikut:

1. Antioksidan primer

Antioksidan primer adalah senyawa yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipid (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipid. Zat-zat ini dapat berasal dari alam maupun buatan. Antioksidan alam antara lain: toko fenol, lesitin, sesamol, fosfasida, dan asam askrobat. Antioksidan buatan adalah senyawa-senyawa fenol, misalnya: butylated hidroxytoluene (BHT).

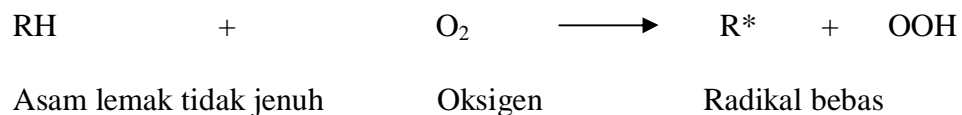
2. Antioksidan sekunder

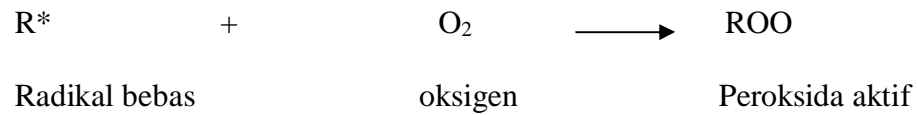
Antioksidan sekunder adalah suatu senyawa yang dapat mencegah kerja peroksidan yaitu faktor-faktor yang mempercepat terjadinya reaksi oksidasi. Antioksidan ini memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil.²⁷ Antioksidan dapat mengurangi formasi radikal bebas oleh LDL teroksidasi.²⁸

Antioksidan ini mempunyai peran penting dalam menghambat reaksi kimia oksidasi, yang dapat merusak makromolekul. Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh 4(empat) macam mekanisme reaksi yaitu: pelepasan hidrogen dari antioksidan; pelepasan elektron dari antioksidan; addisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan; dan pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan.

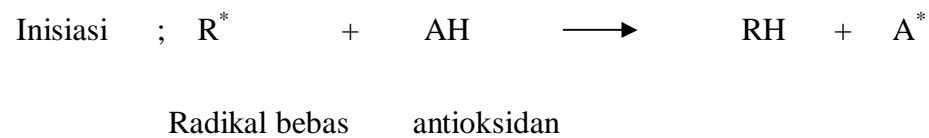
Prinsip kerja dari pada antioksidan dalam menghambat otooksidan pada lemak dapat dilihat sebagai berikut :

Oksigen bebas di udara akan mengoksidaksi ikatan rangkap pada asam lemak yang tidak jenuh. Kemudian radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen sehingga akan menghasilkan peroksida aktif.





Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipid dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi (Gambar 1). Radikal-radikal antioksidan (A^*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipid lain membentuk radikal lipid baru. Radikal-radikal antioksidan dapat saling bereaksi membentuk produk non radikal.



2.6. MINYAK ATSIRI

2.6.1. Definisi dan Komposisi

Minyak atsiri (*essential oil*) yang dikenal juga dengan nama eteris atau minyak terbang (*volatile oil*) merupakan minyak yang dihasilkan dari tanaman. Minyak ini dapat dihasilkan dari tiap bagian tanaman (daun, bunga,

buah, biji, batang/ kulit, dan akar).²³ 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.^{29,10}

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 : hidrokarbon dan hidrokarbon teroksidasi. Hidrokarbon memiliki unsur-unsur

hidrogen (H) dan karbon (C). Jenis hidrokarbon yang terdapat dalam minyak atsiri sebagian besar terdiri atas : monoterpena (2 unit isoprena), seskuiterpena (3 unit isoprena), diterpena (4 unit isoprena), politerpena, parafin, olefin, dan hidrokarbon aromatik. Sedangkan hidrokarbon teroksidasi mengandung unsur-unsur karbon (C), hidrogen (H), dan oksigen (O).²⁹

Berbagai macam minyak atsiri telah digunakan dalam pengobatan sejak lama. Yang menarik dari minyak atsiri adalah dikatakan bahwa aroma spesifik yang terdapat padanya memiliki efek mengobati.

2.6.2. Minyak Atsiri Bawang Putih

Minyak bawang putih memiliki berbagai macam khasiat antara lain menurunkan kolesterol plasma, menghambat agregasi trombosit, meningkatkan aktivitas fibrinolitik, menghambat aterogenesis dan menurunkan tekanan darah, sehingga dapat menurunkan risiko penyakit jantung koroner.⁹

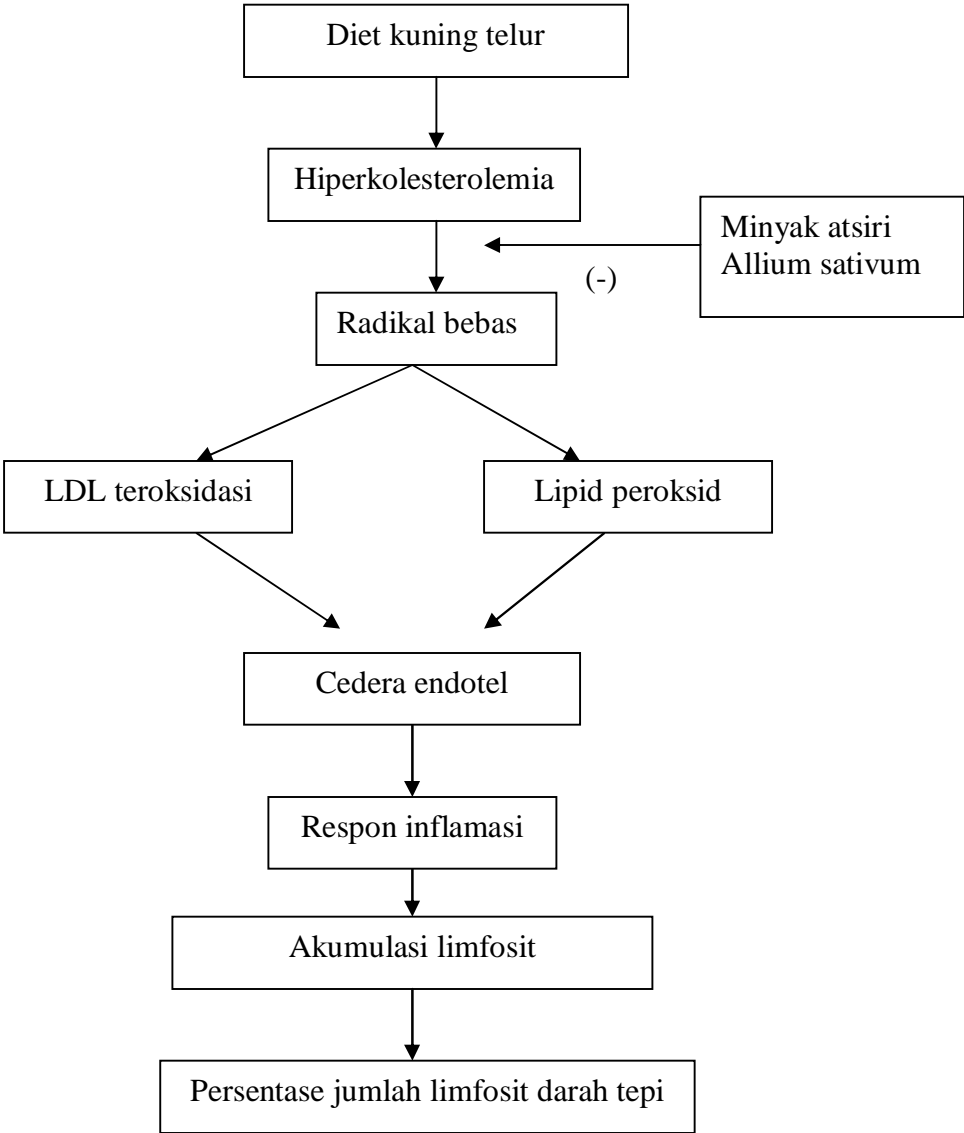
Komponen utama bawang putih tidak berbau, disebut kompleks sativumin, yang diabsorpsi oleh glukosa dalam bentuk aslinya untuk mencegah proses dekomposisi. Dekomposisi kompleks sativumin akan menghasilkan bau khas yang tidak sedap dari *allyl sulfide*, *allyl disulfide*, *allyl mercaptane*, *alun allicin*, 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).⁹

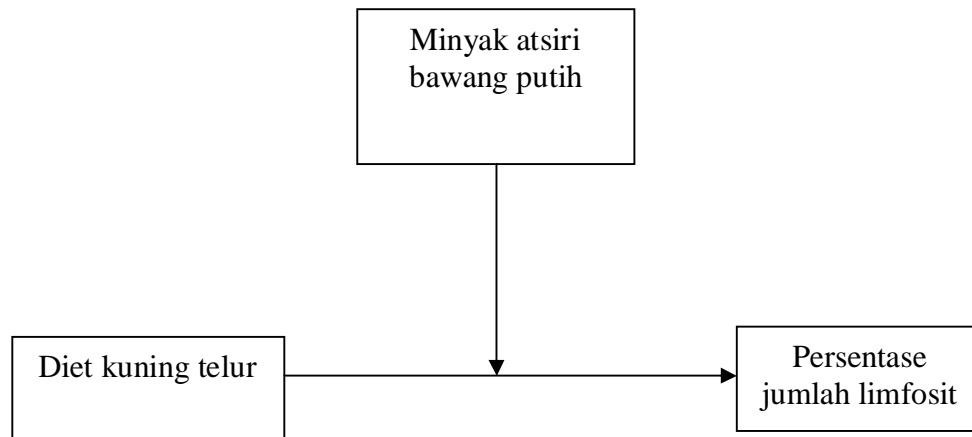
Pemberian minyak atsiri bawang putih yang setara dengan 1 gram bawang putih segar/kg BB/hari akan menurunkan kadar kolesterol, trigliserid serum, *pre β -lipoprotein* (VLDL), dan *β -lipoprotein* (LDL) serta meningkatkan *α -lipoprotein* (HDL), sehingga menurunkan rasio LDL : HDL. Bahan aktif yang berperan pada proses-proses tersebut adalah campuran *allyl propyl disulphide*, *diallyl disulphide*, dan bahan-bahan lain yang mengandung sulfur, tetapi yang paling penting adalah *diallyl disulphide* (DADS).⁹

Senyawa DADS merupakan suatu *disulphide-oxyde* tidak jenuh.⁹ DADS dapat menghambat kerja enzim 3-Hidroksi-3-metilglutaril-KoA (HMG-KoA) reduktase.³⁰ DADS selain memiliki efek sebagai hipolipidemia juga merupakan zat yang berfungsi sebagai antioksidan. DADS diperkirakan bekerja dengan cara menangkap radikal hidroksil yang berperan dalam lipid peroksidasi.^{31,32}

2.7. KERANGKA TEORI



2.8. KERANGKA KONSEP



2.9. HIPOTESIS PENELITIAN

Minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dapat menurunkan persentase jumlah limfosit pada tikus wistar yang telah dibuat hiperlipidemi

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. RUANG LINGKUP PENELITIAN

3.1.1. Ruang Lingkup Keilmuan

Penelitian ini meliputi bidang ilmu biokimia, kimia

3.1.2. Ruang Lingkup Waktu

Penelitian berlangsung 12 minggu, dimana enam minggu pertama dilaksanakan pada Maret-April 2008 untuk kelompok kontrol positif dan perlakuan kemudian dilanjutkan enam minggu pada April-Juni 2009 untuk kelompok kontrol negatif

3.1.3. Ruang Lingkup Tempat

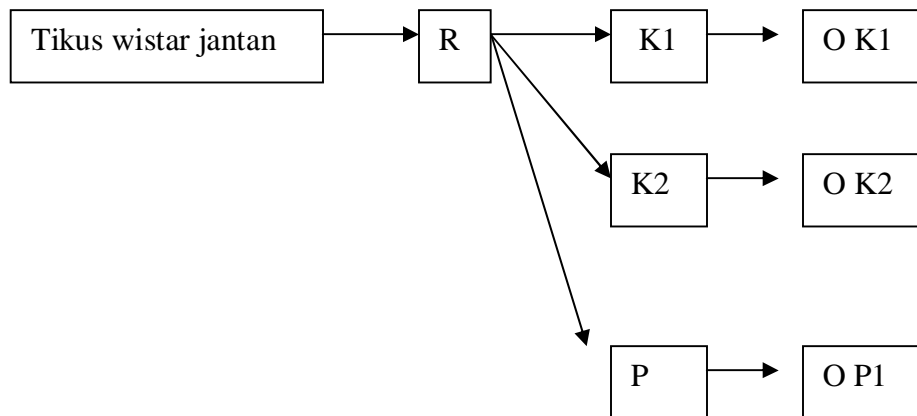
Pemeliharaan hewan coba dan pembuatan diet kuning telur dilakukan di laboratorium Biokimia Universitas Diponegoro Semarang. Pembuatan minyak atsiri bawang putih dilakukan di Badan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITRO) Bogor. Penghitungan jumlah limfosit dilakukan di laboratorium di Semarang.

3.2. JENIS PENELITIAN

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Post Test Only Control Group Design*. Sampel dibagi menjadi dua kelompok dengan menggunakan metode randomisasi sederhana, yaitu kelompok eksperimental dan kelompok kontrol. Pengukuran dilakukan hanya pada *post test*, dengan

membandingkan hasil penghitungan jumlah limfosit pada kelompok eksperimental dan kontrol.

Rancangan Percobaan:



Keterangan: R = Randomisasi, K1 = Kontrol 1 (diet standar), K2= Kontrol 2 (diet kuning telur), P= Perlakuan (diet standar + minyak atsiri bawang putih), O K = Persentase Jumlah limfosit pada K1, O K2 = Persentase Jumlah limfosit pada K2, O P = Persentase Jumlah limfosit pada P

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 untuk kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dan perlakuan, semuanya dikandangan di Laboratorium Biokima Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

3.3.2.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus wistar jantan
2. Berat badan tikus 150-200 gram
3. Usia 8 minggu
4. Kondisi sehat (aktif, tidak cacat)

3.3.2.2. Kriteria Eksklusi

1. Bobot tikus menurun hingga berat badannya kurang dari 150 gram
2. Tikus mati dalam masa penelitian
3. Tikus mengalami diare selama penelitian berlangsung

3.3.2.3. Besar Sampel

Besarnya sampel ditentukan berdasarkan kriteria yang dikemukakan WHO, yaitu minimal lima ekor tikus tiap satu kelompok.²⁷ Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tujuh ekor tikus tiap kelompok. Terdapat tiga kelompok terdiri dari dua kelompok kontrol dan satu kelompok perlakuan. 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 ekor tikus wistar dibagi menjadi tiga kelompok yaitu satu kelompok perlakuan dan dua kelompok kontrol. 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

Sebagai variabel bebas adalah pemberian minyak atsiri dari *Allium sativum*.

3.4.2. Variabel Tergantung

Sebagai variabel tergantung adalah persentase jumlah limfosit pada preparat darah tepi tikus wistar jantan.

Skala kedua variabel tersebut adalah rasio.

3.5. DEFINISI OPERASIONAL VARIABEL

3.5.1. Minyak Atsiri *Allium sativum*

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. Diet Kuning Telur

Diet kuning telur ditentukan sebesar 0,5-1% BB tikus atau sekitar 1,5 gram, diberikan lewat sonde lambung setiap hari.

3.5.3. Persentase Jumlah Limfosit

Limfosit pada sampel darah yang diperoleh dari aorta abdominalis tikus wistar jantan yang dihitung 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 *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 *Allium sativum* yang didapat dengan teknik penyulingan uap
4. Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat preparat darah hapus dari sampel darah tikus

3.7. PROSEDUR PERLAKUAN SAMPEL

3.7.1. 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 6,25 gram/kgBB/hari tikus atau sekitar 1,5 gram/tikus dan diberikan lewat sonde lambung setiap hari.²⁴

3.7.2. 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:

- a. Dosis terapi pada manusia (70 kg): Minyak atsiri yang didapat dari satu gram bawang putih segar/kilogram berat badan/hari, setara dengan 70 gram/hari.
- b. Bawang putih segar mengandung kurang lebih 1% minyak atsiri atau sekitar 0,01 mililiter minyak atsiri dari 1 gram bawang putih segar.

Jadi dosis terapi manusia setara dengan 0,7 mililiter minyak atsiri/hari.

- c. Faktor konversi tikus wistar (200 gram) dibanding manusia (70 kilogram) adalah 0,018.
- d. Jadi, dosis terapi pada tikus wistar setelah dikonversikan adalah $0,018 \times$ dosis terapi minyak atsiri bawang putih pada manusia setara dengan 0,0126 mililiter/hari.

Peneliti menggunakan dosis satu tetes minyak atsiri yang setara dengan 0,05 ml minyak atsiri yang diambil dengan pipet

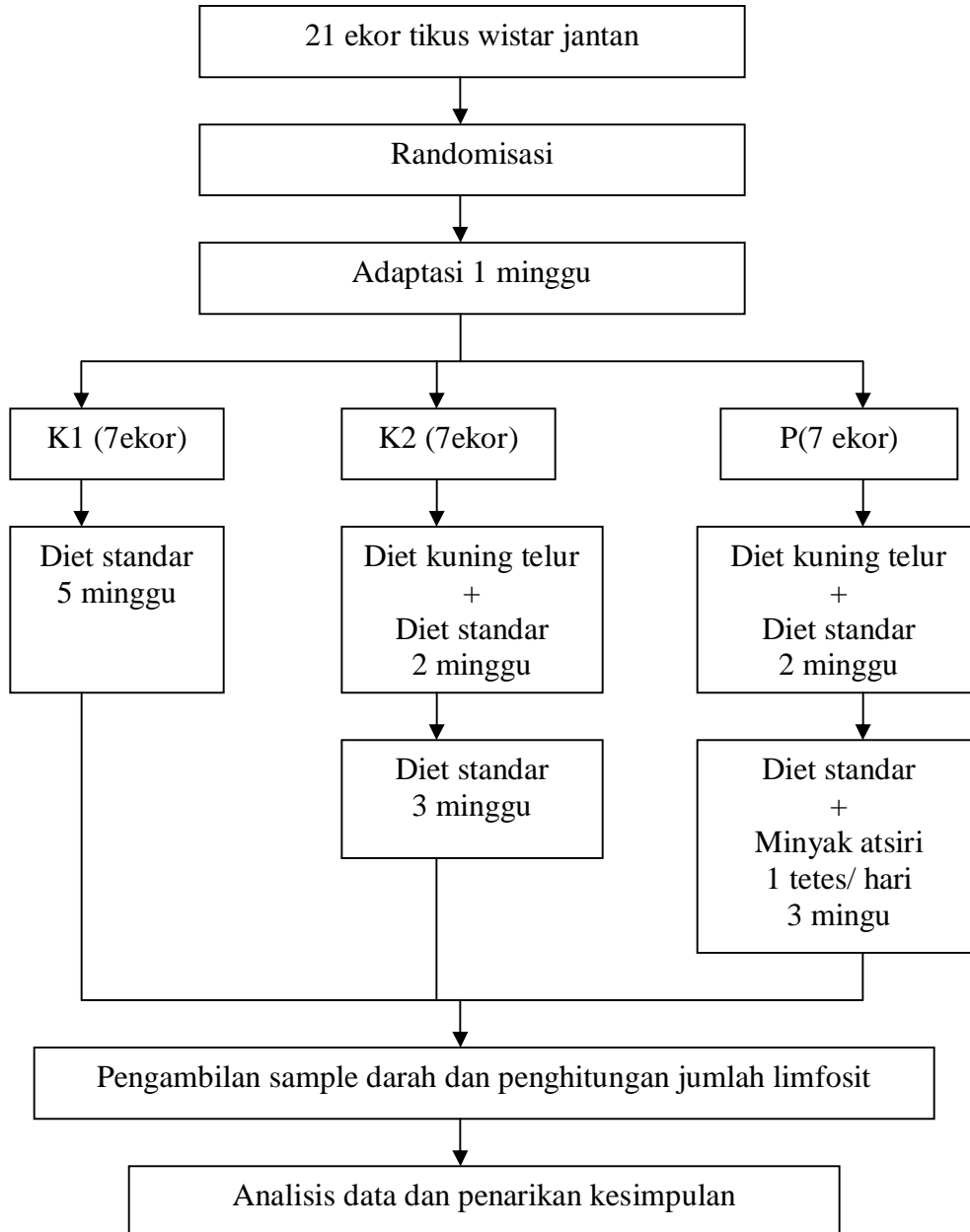
3.8. CARA KERJA

Proses adaptasi dilakukan pada tikus wistar selama 1 minggu sebelum mendapat perlakuan. Selama proses adaptasi, dua puluh satu tikus wistar hanya diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*.

Setelah satu minggu adaptasi, empat belas ekor tikus akan diberi diet kuning telur dengan dosis 1,5 gram kuning telur melalui sonde lambung setiap hari selama dua minggu dan tujuh ekor lainnya (kelompok kontrol 1 K1) hanya diberi diet standar dan minum *ad libitum* sampai penelitian selesai. Setelah dua minggu maka akan dilakukan randomisasi untuk mengelompokkan 14 tikus tersebut menjadi dua kelompok yaitu kelompok perlakuan (P) dan kelompok kontrol 2 (K2). Selanjutnya selama tiga minggu kemudian, kedua

kelompok akan mendapat perlakuan yang berbeda. Pada kelompok K2 akan diberi pakan standar dan minum *ad libitum* saja sedangkan pada kelompok P akan mendapat diet standar, minum *ad libitum* dan minyak atsiri *Allium sativum* satu tetes melalui pipet. Kemudian tikus pada ketiga kelompok akan diterminasi untuk mengambil sampel darah tepi melalui aorta abdominalis. Sampel darah tersebut akan dibawa ke laboratorium swasta berizin untuk diperiksa persentase jumlah limfositnya.

3.8. ALUR PENELITIAN



3.9. ANALISIS DATA

Data yang diperoleh dari ketiga kelompok merupakan data primer yang diproses menggunakan SPSS 15.0 for Windows. Sebelum dilakukan uji hipotesis, dilakukan analisis statistik deskriptif terhadap data yang didapatkan untuk mengetahui karakteristik data. Karena variabel tergantung pada penelitian ini merupakan variabel numerik, parameter karakteristik data yang digunakan berupa ukuran penyebaran data dan ukuran pemusatan data. Sebaran data yang didapat normal, kemudian digunakan mean sebagai ukuran pemusatan dan standar deviasi sebagai ukuran penyebaran. Uji hipotesis yang digunakan dalam analisis data penelitian adalah uji hipotesis komparatif variabel numerik terhadap tiga kelompok tidak berpasangan. Sebelum dilakukan uji hipotesis telah diperiksa normalitas sebaran dan kesamaan varians data. Sebaran data dinilai dengan menggunakan uji normalitas Saphiro-Wilk karena jumlah sampel kecil, sedangkan varians data dinilai menggunakan uji varians Levene's. Uji hipotesis yang digunakan adalah uji One Way Anova untuk data yang sebarannya normal dan variansnya sama.. Hasil uji hipotesis, terdapat perbedaan ($p < 0.05$) maka dinyatakan perbedaan bermakna.²⁸

BAB 4 HASIL

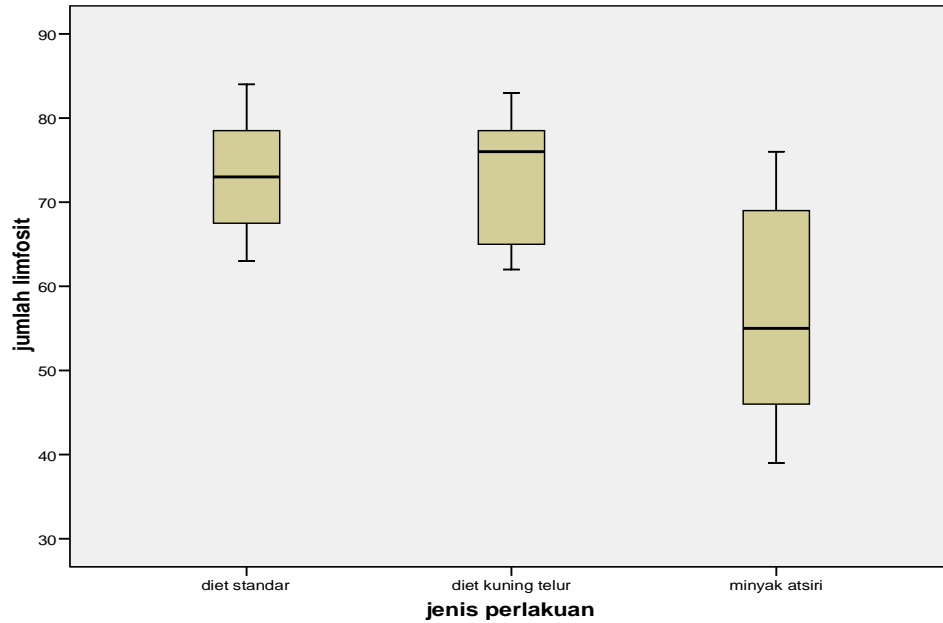
Data jumlah limfosit dari ketiga kelompok terdistribusi secara normal berdasarkan tes *Shapiro-Wilk* sehingga digunakan *mean* sebagai ukuran pemusatan dan standar deviasi untuk ukuran penyebaran. Deskripsi untuk data persentase jumlah limfosit tercantum pada tabel 1.

Uji normalitas terhadap jumlah limfosit dengan uji normalitas Shapiro Wilk diperoleh hasil bahwa data terdistribusi secara normal dengan nilai $p > 0,05$. Kesamaan dari varians data adalah homogen untuk jumlah limfosit berdasarkan uji Levene's dengan nilai $p=0,06$ ($p > 0,05$) maka disimpulkan varians data homogen.

Tabel 1. Hasil perhitungan persentase jumlah limfosit pada tiap kelompok

Kelompok	N	Jumlah Limfosit				
		Mean	Standar Deviasi	Uji Shapiro Wilk	Uji Levene's	Uji Anova
Diet Standar (K1)	7	73,14	7,73	0,9	0,06	0,2
Diet Standar+kuning telur(K2)	7	72,57	8,34	0,2	0,06	0,2
Diet kuning telur+minyak atsiri (P)	7	57,14	14,68	0,4	0,06	0,2

Gambar 1.Boxplot dari Jumlah Limfosit



Uji *One Way Anova* dipilih untuk uji hipotesis karena syarat sebaran data normal dan varians data homogen terpenuhi. Uji tersebut menghasilkan nilai $p=0,02$ ($p<0,05$) dan disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan dari jumlah limfosit antar kelompok.

BAB 5

PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, data yang dihimpun menunjukkan bahwa persentase jumlah limfosit pada kelompok kontrol positif (kelompok tikus yang diinduksi kuning telur) menunjukkan penurunan yang bermakna ($p < 0,05$) apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (kelompok tikus yang diberi diet standar). Hal tersebut dapat terjadi karena peningkatan LDL teroksidasi setelah pemberian diet kuning telur sehingga merusak membran sel limfosit. Selain itu dapat terjadi pula apoptosis limfosit akibat adanya stress oksidan. Sumber lain menyatakan bahwa stress oksidan dapat menimbulkan defek pada sel-sel tubuh, salah satunya adalah limfosit.²³

Keadaan lain yang mempengaruhi data diatas yaitu proses inflamasi yang dimediasi limfosit. Leukotriene dan prostaglandin memegang peranan penting untuk invasi limfosit ke dalam endotel pada proses inflamasi. Akan tetapi, sumber lain menyebutkan limfosit juga mengeluarkan beberapa enzim (*reactive oxygen species, hydrolytic enzymes*, dan lain-lain), yang mempunyai kinerja merusak sel dan jaringan. Dengan terjadinya perusakan oleh mediator produksi sendiri, limfosit secara otomatis memberikan mekanisme balik yang menghentikan terbentuknya limfosit tambahan. Pencegahan tersebut terjadi bilamana biosintesa leukotriene sebagai mediator pro-inflamasi berhenti dan beralih ke biosintesa lipoxin sebagai mediator

anti-inflamasi pencegah inflamasi. Semua biosintesa ini terjadi di dalam sel limfosit.^{23,24}

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,²⁷ 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.³⁰ 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.

Pada penelitian ini juga didapatkan bahwa rata-rata jumlah limfosit kelompok perlakuan (diet kuning telur dan minyak atsiri bawang putih) lebih rendah dibanding kelompok kontrol positif (diet kuning telur saja), dan bermakna secara statistik. Berarti jumlah limfosit menurun secara bermakna pada pemberian minyak atsiri bawang putih dengan diet kuning telur. Hal ini sesuai dengan hipotesis dan

didukung pula oleh penelitian sebelumnya yang menjelaskan bahwa antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid. Antioksidan secara umum didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid.^{27,28} Aksi penghambatan inilah yang menyebabkan penurunan limfosit sebagai mediator inflamasi.

Bahan aktif minyak atsiri bawang putih memiliki kandungan allicin.⁹ Bahan aktif Allicin cukup berperan dalam menurunkan kadar kolesterol buruk dalam darah (LDL kolesterol) dan meningkatkan kolesterol baik (HDL kolesterol).³⁰ Hal ini disebabkan karena bahan aktif tersebut bekerja dalam mengontrol kerja enzim HMG Co A, sehingga sintesa kolesterol di dalam liver terkontrol dengan baik. Antioksidan pada penelitian ini berperan terhadap oksidasi LDL yang diinduksi oleh kuning telur.²⁷

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Pada penelitian ini disimpulkan bahwa pemberian minyak atsiri *Allium sativum* dengan dosis 0,05 ml per hari terbukti menurunkan jumlah limfosit pada tikus wistar yang diberi diet kuning telur. Sehingga minyak atsiri *Allium sativum* terbukti memiliki efek antiinflamasi dengan limfosit sebagai parameteranya.

a. 6.2. Saran

Berdasarkan kesimpulan yang diperoleh, maka rekomendasi yang dapat ditawarkan adalah sebagai berikut:

1. Perlu penelitian lebih lanjut untuk membuktikan efek antiinflamasi minyak atsiri *Allium sativum* dengan menggunakan mediator inflamasi lain sebagai parameteranya.
2. Perlu penelitian lebih lanjut tentang efektivitas dari bawang putih untuk penggunaan pada manusia dalam upaya pencegahan progresivitas dari aterosklerosis.
3. Para tenaga medis terutama peneliti di bidang kedokteran mampu mengembangkan pemanfaatan sumber alam untuk pengobatan herbal dalam pencegahan maupun pengobatan penyakit.

DAFTAR PUSTAKA

1. Price SA, Wilson LM. Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit. 6th ed. Vol 1. Jakarta: EGC; 2006 p. 580 p. 270
2. Mcphee SJ, Papadakis MA, Tierney LM, editors. Current medical diagnosis & treatment 2007. 46th ed. New York: McGraw-Hill; 2007 p. 1266
3. Quilliot D, Walters E, Bonte JP, Fruchart JC, Duriez P, Ziegler O. Diabetes mellitus worsens antioxidant status in patients with chronic pancreatitis1–3. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2005; 81:1117–25. Available from: www.ajcn.org
4. Russel R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999; 15-125
5. Rahmi S, 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>
6. Garlic. 2007 Sep [cited 2009 Jan 19]. Available From :
URL:<http://en.wikipedia.org/wiki/Garlic>
7. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, editors. *Biokimia Harper*. 25th ed. Jakarta : EGC; 2003. p.254-281
8. Koolman J, Röhm KH, Sadikin M, editor. *Atlas berwarna & teks biokimia*. Jakarta : Hipokrates. 1995. p. 42 p. 41
9. Sunarto P, Susetyo PB. Pengaruh garlic terhadap penyakit jantung koroner. *Cermin Dunia Kedokteran* [serial online] 1995 [cited 2009 Jan 19]; 102. Available
from:
<http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/09PengaruhGarlic102.pdf/09PengaruhGarlic102.html>
10. Drug effects on HDL: statins. 2000 Feb [cited 2009 Jan 19]. Available from :
URL:<http://www.lipidsonline.org/slides/slide01.cfm?q=hmgcoa+reductase&dp g=5>
11. Tall AR, Small DM. Current concepts of plasma high density lipoprotein.

New Engl Med 1978; 299: 1232

12. Frank D, Floralpearl AC, Warms JV, Gurin S. Terpenoid intermediates in the biosynthesis of cholesterol. *The Journal of Biological Chemistry* [serial online] 1955 Nov [cited 2009 Jan 19]; 221(1):181. Available from : <http://www.jbc.org/cgi/reprint/221/1/181.pdf>
13. Guyton, Hall. Setiawan I, editor. *Buku ajar fisiologi kedokteran*. 9th ed. Jakarta : EGC. 1996. p.1088-1090
14. John MA. Dislipidemia. In: Sudoyo AW, Bambang S, Idrus A, Simadibrata KM, Setiati S, editors. *Buku ajar ilmu penyakit dalam jilid III*. 4th ed. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2006. p.1948-1954
15. Ganong WF. Widjajakusumah H, Djauhari M, editors. *Buku ajar fisiologi kedokteran*. 20th ed. Jakarta : EGC. 2001. p.292-296
16. Klein HG. Apolipoprotein A-I deficiency (HDL deficiency). [serial online] 2003 [cited 2009 Jan 19]. Available from : URL:<http://www.medizinische-genetik.de/im/show.php?id=81>
17. Agustiningih D. Pengaruh latihan teratur terhadap rasio kolesterol total/HDL-C (high density lipoprotein-cholesterol) wanita pascamenopause. [serial online] 2000 [cited 2009 Jan 19]. Available from : <http://digilib.litbang.depkes.go.id>
18. Mayes PA. Sintesis, pengangkutan, dan ekskresi kolesterol. In Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Biokimia Harper*, Edisi 25. Jakarta: EGC; 2000. p. 270-281
19. John MF, Adam. Dislipidemi. In: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi Idrus, Simadibrata MK, Setiati S, editors. *Buku ajar ilmu penyakit dalam jilid 3*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2006. p.1926-32
20. Robins, Kumar. *Patologi I: Penyakit genetik, hiperkolesterolemia familial*. 4th ed. Jakarta: EGC; 1995. p 114.
21. Almatier S. *Prinsip dasar ilmu gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama; 2001. p. 50-72
22. Milioti N. Article. Antigen-Induced Immunomodulation in the Pathogenesis of

Atherosclerosis. *Clinical and Developmental Immunology*; 2008 available from:
<http://www.hindawi.com/GetArticle.aspx?doi=10.1155/2008/723539&e=html>

23. Mc Phee SJ, Lingoppa VR, Ganong WF, Lange JD, editors. *A Lange medical book: Pathophysiology of disease and introduction to clinical medicine*. 2nd ed. Appleton and Lange. p 268
24. Baldy CM. Coagulation. In: AP, Lorraine MW, eds. *Pathophysiology clinical concepts of disease processes*. 4th ed. St Louis: Mosby Year Book. 1992: 209.
25. 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' (penelitian pendahuluan). *Media Medika Indonesiana* 2000; 35:3
26. Kochar SP, Rossell B. 1990. Detection estimation and evaluation of antioxidants in food system. In : Hudson BJB, editor. *Food Antioxidants, Peran Antioksidan Terhadap Kesehatan Tubuh. Healthy Choice*. 4th ed. Elviesier Applied Science. London: Widjaya, C.H; 2003.
27. Gordon MH. The mechanism of antioxidants action in vitro. In: Hudson BJB, editor. *Food Antioxidants*. Elsvier Applied Science, London: 1990
28. Russel R, Franklin HE, editors. *Atherosclerosis -an inflammatory disease. Mechanisms of disease* [serial online]. 1999 [cited 2009 jan 23]; 340:2. Available from: <http://www.nejm.org>
29. Diana S. Minyak sereh. [cited 2007 Dec 5]. Available from : URL:<http://www1.bpkpenabur.or.id/jelajah/08/biologi1.htm>
30. Singh DK, Porter TD. Inhibition of sterol 4 α -methyl oxidase is the principal mechanism by which garlic decrease cholesterol synthesis. *The Journal of Nutrition* [serial online] 2006 Mar [cited 2007 Dec 12]; 136:759S-764S. Available from : <http://jn.nutrition.org/cgi/content/full/131/3/759s>
31. Diallyl disulfide. 2009 Jan [cited 2009 Feb 5]. Available from : URL:http://en.wikipedia.org/wiki/Diallyl_disulfide
32. Chung LY. The antioxidant properties of garlic compounds: allyl cystein, alliin, allicin, and allyl disulfide. *Journal of Medicinal Food* 2006; 9(2): 205-

213. Available from :
URL:<http://www.liebertonline.com/doi/pdf/10.1089/jmf.2006.9.205>

33. World Health organization. Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicine. Manilla: Regional Office for the Western Pacific; 1993. p. 31-41.
34. Dahlan S. Seri statistik: statistika untuk kedokteran dan kesehatan uji hipotesis dengan menggunakan SPSS program 12 jam. Jakarta: Arkans; 2004

LAMPIRAN 1

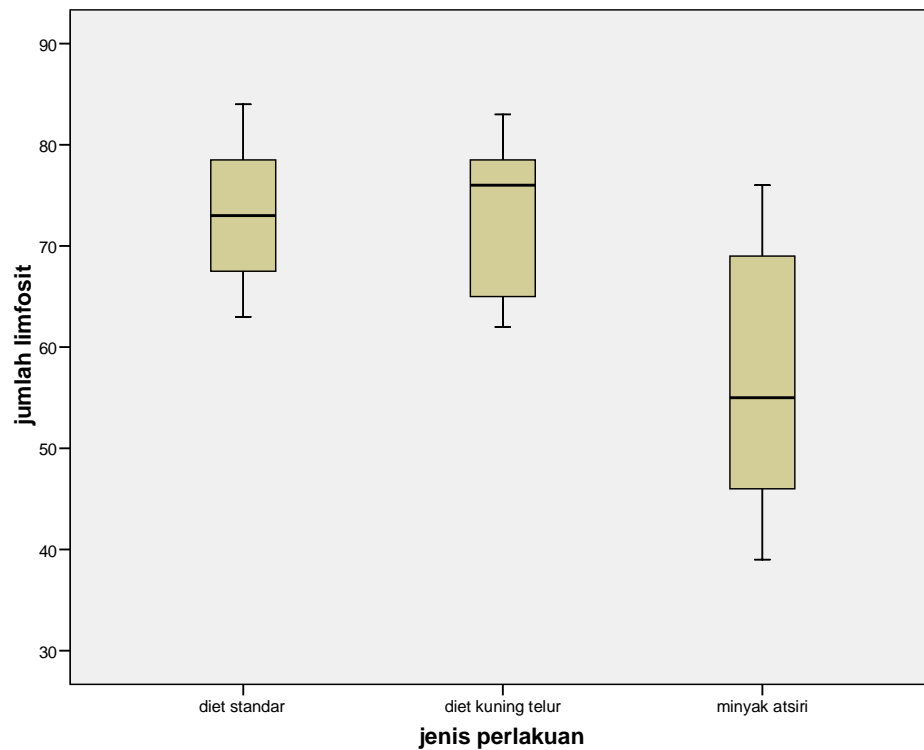
ANALISIS STATISTIK

1.1 Analisis Statistic dari Data Jumlah limfosit

Tabel 1.1.1 Data dari Jumlah limfosit

No	K1	K2	P
1	76	78	70
2	63	79	52
3	84	76	76
4	81	83	40
5	69	62	39
6	73	65	55
7	66	65	68

Gambar 1.1.1 Boxplot dari Jumlah limfosit



Tabel 1.1.2 Tes Normalitas

Tests of Normality

jenis perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah limfosit diet standar	.132	7	.200*	.966	7	.868
diet kuning telur	.246	7	.200*	.879	7	.222
minyak atsiri	.199	7	.200*	.915	7	.435

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

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 1.1.3 Tes Homogenitas Varians Data

Test of Homogeneity of Variances

jumlah limfosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.262	2	18	.062

Tabel 1.1.4 Uji *One Way Anova*

ANOVA

jumlah limfosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1153.524	2	576.762	5.017	.019
Within Groups	2069.429	18	114.968		
Total	3222.952	20			

LAMPIRAN 2

KADAR NORMAL LIPID MENURUT NCEP ATP III

Kolesterol Total

< 200 mg/dL Optimal

200-239 mg/dL Diinginkan

≥ 240 mg/dL Tinggi

Kolesterol HDL (*High Density Lipoprotein*)

< 40 mg/dL Rendah

≥ 60 mg/dL Tinggi

Kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*)

< 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

Trigliserid

< 150 mg/dL Optimal

150-199 mg/dL Diinginkan

200-499 mg/dL Tinggi

> 500 mg/dL Sangat tinggi

LAMPIRAN 3

PEMBUATAN 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

Penentuan dosis kuning telur

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Christina D, Jarot S, dan Kustiwinarni (2009) diet kuning telur ditentukan sebesar 6,25 gram/kg berat badan/hari untuk meningkatkan kadar kolesterol serum tikus wistar. Hewan coba yang digunakan pada penelitian kali ini adalah tikus wistar dengan berat 200 gram. Diet kuning telur menurut hasil konversi adalah 1,25 gram. Pada penelitian ini peneliti menggunakan diet kuning telur sebanyak 1,5 gram untuk tikus wistar dengan berat 200 gram setiap hari diberikan melalui sonde lambung.

LAMPIRAN 4

PEMBUATAN PREPARAT DARAH HAPUS

I. Pengambilan Sampel Darah

Alat:

1. Spuit
2. Tabung reaksi
3. Toples
4. Papan lilin
5. Jarum
6. Pinset
7. Scapel

Bahan:

1. Ethylen Diamine Tetraacetic Acid (EDTA)
2. Eter
3. Kapas

Cara Kerja:

1. Membius tikus yang akan diambil darahnya dengan memasukkan tikus kedalam 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 dan selanjutnya mengangkat peritoneum untuk menemukan aorta abdominalis
4. Menusukkan jarum spuit pada aorta abdominalis dengan sudut 45° kemudian menarik ujung spuit untuk menghisap darah sebanyak 3cc
5. Memindahkan darah dari spuit kedalam tabung yang berisi EDTA dan menutup rapat tabung tersebut

II. Membuat Preparat Darah Hapus

Alat:

1. Obyek glass yang bersih
2. *Spreader*/ penggeser
3. Pipet 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, dan 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° , kemudian mengeringkan di udara, lalu mengamati kualitas preparat, dinilai baik bila: tipis, rata, ekor tidak robek, bentuk seperti peluru
4. Memfiksasi dengan methanol 90% selama 10 menit
5. Membuat larutan giemsa kerja dari giemsa stock dan buffer sorensen dengan perbandingan 1:9 untuk buffernya
6. Menggenangi preparat dengan larutan giemsa selama 15 menit setelah itu mencuci dengan air mengalir, dan mengeringkan di udara
7. Mengolesi dengan lacquer setelah kering

III Membaca Preparat darah Hapus

1. Meletakkan preparat darah hapus dibawah lensa obyektif pada deck mikroskop
2. Mengidentifikasi sel limfosit menggunakan pembesaran obyektif sebesar 40 x
3. Menghitung jumlah limfosit pada 100 sel leukosit dan mencatat hasil pernghitungan

IV Nilai Normal Hitung jenis Limfosit menurut Miller:

Limfosit : 20-40%

