

PEMBERIAN EKSTRAK BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi L.*) UNTUK PENILAIAN KERUSAKAN ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI MINYAK JELANTAH

SKRIPSI

Oleh :

DEVI MEIDAYANTI



FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS LAMPUNG

BANDAR LAMPUNG

2021

ABSTRACT

THE ADMINISTRATION OF STAR FRUIT (*Averrhoa bilimbi* L.) EXTRACT FOR THE CORONARY ARTERY ASSESSMENT OF ALBINO RATS (*Rattus novergicus*) WISAR STRAIN INDUCED BY USED COOKING OIL

By

DEVI MEIDAYANTI

Background: Free radical contained in the used cooking oil is known to cause the coronary artery. Star fruit (*Averrhoa bilimbi* L.) contains many antioxidant such flavonoid, tanin, and saponin which known to reduce coronary artery damage due to the used cooking oil.

Objectives: To determine the effect of star fruit extract (*Averrhoa bilimbi* L.) on the coronary artery histopathology of Wistar white rats induced by used cooking oil.

Methods: Laboratory experimental research with a Post Test-Only Control Group Design pattern. Research using 25 rats which divided into 5 groups, namely K1 (aquades), K2 (used cooking oil), P1, P2, P3 given used cooking oil at a dose of 1,5 mL and extract with different doses (80 mg, 160 mg, and 320 mg) for 28 days.

Results: The results showed that the mean of coronary artery lumen diameter of the rats are K1=121,27 μm ; K2=64,55 μm ; P1=81,79 μm ; P2=98,34 μm ; P3=12,27 μm . Statistical analysis using One Way ANOVA parametric test ($p < 0,05$) followed by the Post-hoc LSD test ($p < 0,05$) showed, that there are significant differences in most groups, except for P1 with P2 groups.

Conclusion: There is an effect of extract of *Averrhoa bilimbi* L. administration on the coronary artery histopathology of albino rats (*Rattus novergicus*) Wistar strain induced by used cooking oil.

Keywords : Star fruit (*Averrhoa bilimbi* L.), Coronary Artery, used cooking oil

ABSTRAK

PEMBERIAN EKSTRAK BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) UNTUK PENILAIAN KERUSAKAN ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI MINYAK JELANTAH

Oleh

Devi Meidayanti

Latar Belakang: Penggunaan minyak jelantah dapat menyebabkan kerusakan pada arteri koronaria karena mengandung radikal bebas. Ekstrak etanol 96% buah Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mengandung flavonoid, tanin, dan saponin yang berfungsi sebagai antioksidan dalam mengurangi kerusakan arteri koronaria akibat minyak jelantah.

Tujuan: Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap gambaran arteri koronaria tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi minyak jelantah.

Metode: Penelitian ini berdesain eksperimental laboratorium dengan pola *Post Test-Only Control Group Design*. Jumlah sampel 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu K1 (akuades), K2 (minyak jelantah 1,5 mL), P1, P2, P3 diberikan minyak jelantah dengan dosis 1,5 mL dan ekstrak belimbing wuluh dengan dosis yang berbeda (80 mg, 160 mg, dan 320 mg/200gr BB) selama 28 hari.

Hasil: Hasil rerata pengukuran diameter lumen arteri koronaria tikus pada K1=121,27 μm ; K2=64,55 μm ; P1=81,79 μm ; P2=98,34 μm ; P3=12,27 μm . Penelitian ini menggunakan uji parametrik One Way ANOVA ($p < 0,05$), dilanjutkan uji *Post-hoc LSD* ($p < 0,05$). Didapatkan perbedaan yang bermakna pada sebagian besar kelompok, kecuali kelompok P1 dengan P2.

Simpulan: Terdapat pengaruh ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap gambaran perbaikan kerusakan arteri koronaria tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur Wistar yang diinduksi minyak jelantah.

Kata kunci: Belimbing Wuluh, Arteri Koronaria, minyak jelantah

PEMBERIAN EKSTRAK BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi L.*) UNTUK PENILAIAN KERUSAKAN ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI MINYAK JELANTAH

**Oleh :
DEVI MEIDAYANTI**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN

Pada

Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

Judul Skripsi

: **UJI HISTOPATOLOGI EKSTRAK BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI MINYAK JELANTAH**

Nama Mahasiswa

: **Devi Meidayanti**

No. Pokok Mahasiswa

: 1718011042

Program Studi

: Pendidikan Dokter

Fakultas

: Kedokteran




Dr. Hendri Busman, M.Biomed
NIP 19590101 198703 1001


Selvi Rahmawati, S.Si., M.Sc.
NIP 19920729 201903 2 020

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, S.K.M., M.Kes.
NIP 19720628 199702 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Hendri Busman, M.Biomed



.....

Sekretaris : Selvi Rahmawati, S.Si., M.Sc.



.....

**Penguji
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA.**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, S.K.M., M.Kes.
NIP 19720628 199702 2 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 29 Maret 2021

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PEMBERIAN EKSTRAK BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) UNTUK PENILAIAN KERUSAKAN ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI MINYAK JELANTAH”** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 4 Agustus 2021

Pembuat Pernyataan



Riwayat Hidup

Penulis dilahirkan di Tanggamus pada tanggal 26 Mei 2000 sebagai anak ke-2 dari 2 bersaudara dari Bapak Margiyono dan Ibu Sugiyanti yang penulis sangat sayangi.

Penulis menyelesaikan Pendidikan Dasar di SDN 1 Semaka Tanggamus pada tahun 2012, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Negeri 1 Pringsewu pada tahun 2015, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMAN 1 Pringsewu pada tahun 2017.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2017 melalui jalur Seleksi Nasional Mahasiswa Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama di FK Unila penulis aktif dalam organisasi FSI sebagai anggota.

Kupersembahkan teruntuk mereka yang ku sayangi

Bapak, Ibuk dan Mba Ica

“...Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal itu amat baik padamu, dan boleh (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal itu amat buruk bagimu; Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.”

(QS.Al-Baqarah ayat 216)

SANWACANA

Alhamdulillah robbil ‘amin puji syukur kepada Allah SWT , berkat rahmat, petunjuk, nikmat sehat dan limpahan kasih sayang penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat beserta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang dinantikan safaatnya di akhirat kelak.

Skripsi penulis dengan judul “Pemberian Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Untuk Penilaian Kerusakan Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Galur Wistar Yang Diinduksi Minyak Jelantah” ini, merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak saran, bimbingan, dukungan dan do’a dari berbagai pihak. Maka penulis beryukur kepada Allah azza wa jalla, Rabb semesta alam yang senantiasa memudahkan dan menguatkan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Tidak lupa dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih kepada:

1. Orang tua tercinta, Bapak Margiyono dan Ibu Sugiyanti yang tidak pernah berhenti mendoakan, mendukung, memberikan semangat dan motivasi penulis.
2. Bapak Prof. Dr. Karomani, M.Si., selaku Rektor Universitas Lampung.
3. Prof. Dr. Dyah Wulan SRW., S.K.M., M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
4. Prof. Dr.dr.Efrida Warganegara, M.kes.,SpMK dan dr. Mukhlis imanto, Sp.THT-KL, M.Kes selaku Pembimbing Akademik atas kesediaan dan kesabarannya memberikan bimbingan, ilmu, kritik, saran, nasehat, motivasi,

arahan yang luar biasa, serta bantuan bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.

5. Bapak Dr. Hendri Busman, M. Biomed selaku pembimbing I atas kesediaan dan kesabarannya memberikan bimbingan, ilmu, kritik, saran, nasehat, motivasi, arahan yang sangat berdedikasi bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
6. Ibu Selvi Rahmawati, S.Si., M.Sc selaku pembimbing II atas kesediaan dan kesabarannya memberikan bimbingan, ilmu, kritik, saran, nasehat, motivasi, bantuan bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
7. Almarhum Prof. Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes.,Sp.PA selaku pembahas atas kesediaan dan kesabarannya memberikan koreksi, kritik, saran, nasehat, motivasi, bantuan untuk perbaikan skripsi penulis.
8. Bapak/ibu guru dan sahabat alumni SMAN 1 Pringsewu, SMP N 1 Pringsewu, SDN 1 Semaka yang selalu memberikan semangat dan doa.
9. Kakak tercinta Resa Yulia Puspita serta keluarga besar yang selalu mendukung dalam menggapai cita-cita, memberikan saran, dorongan dan motivasi.
10. Teman teman VITREOUS dan Sahabat bangku sederet saat masa kuliah yang sejak awal kuliah selalu ada untuk saling mendoakan, membantu, mendukung, dan kebersamai dalam kebaikan.
11. Teman- teman bangku sekolah SD, SMP dan SMA yang selalu mendukung dan kebersamai di bangku sekolah

Daftar Isi

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	vi
Halaman Persetujuan	vii
Daftar Isi.....	xii
Daftar Tabel.....	xiv
Daftar Gambar	xv
Bab I. Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
Bab II. Tinjauan Pustaka	5
2.1 Jantung	5
2.1.1 Anatomi Jantung	5
2.2 Arteri Koronaria.....	7
2.2.1 Anatomi Arteri Koronaria.....	7
2.2.2 Fisiologi Arteri Koronaria	8
2.2.3 Histologi Arteri Koronaria.....	10
2.2.4 Histopatologi Arteri Koronaria	12
2.3 Minyak	13
2.4 Minyak Goreng.....	15
2.5 Minyak Jelantah.....	16
2.6 Patogenesis Aterosklerosis Akibat Minyak Jelantah	20
2.7 Faktor Penyebab Kerusakan Arteri Koronaria	24
2.8 Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi L.</i>).....	25
2.8.1 Taksonomi Belimbing Wuluh (<i>averrhoa bilimbi L.</i>).....	25
2.8.2 Morfologi Dan Kandungan Belimbing Wuluh	26
2.8.3 Manfaat	28
2.9 Tikus Putih (<i>rattus novergicu</i>).....	28
2.10 Kerangka Teori	30
2.11 Kerangka Konsep.....	33
2.12 Hipotesis	33
Bab III. Metode Penelitian	34
3.1 Desain Penelitian	34
3.2 Waktu Dan Tempat Penelitian.....	34
3.3 Populasi Dan Sampel	35
3.3.1 Populasi Penelitian	35

3.3.2 Sampel	35
3.3.3 Kriteria Inklusi.....	36
3.3.4 Kriteria Eksklusi	36
3.4 Alat Dan Bahan Penelitian	36
3.4.1 Alat Penelitian.....	36
3.4.2 Bahan Penelitian.....	37
3.4.3 Alat Dalam Membuat Preparat Histologi	38
3.4.4. Bahan Dalam Pembuatan Preparat Histologi.....	38
3.5 Identifikasi Variabel Dan Definisi Operasional Variabel	39
3.5.1 Identifikasi Variabel	39
3.5.1.1 Variabel Terikat	39
3.5.1.2 Variabel Bebas	39
3.5.2 Definisi Operasional Variabel.....	40
3.6 Prosedur Penelitian	41
3.6.1 Adaptasi Hewan Coba	41
3.6.2 Metode Pembuatan Ekstrak Belimbing Wuluh.....	41
3.6.3 Penentuan Dosis Ekstrak Buah Belimbing Wuluh.....	42
3.6.4 Pembuatan Minyak Jelantah	43
3.6.5 Penentuan Dosis Minyak Jelantah.....	44
3.6.6 Pemberian Ekstrak Buah Belimbing Wuluh Dan Minyak Jelantah.....	44
3.6.7 Prosedur Operasional Pembuatan Preparat.....	45
3.6.8 Alur Penelitian	50
3.7 Analisis Data.....	51
3.8 <i>Ethical Clearance</i>	52
Bab IV Hasil dan Pembahasan.....	53
4.1 Hasil Pengamatan Lumen Arteri Koronaria.....	53
4.1.1 Analisis Lumen Arteri Koronaria.....	58
4.2 Pembahasan	61
Bab V Simpulan dan Saran	67
5.1 Simpulan.....	67
5.2 Saran.....	67
Daftar Pustaka	
Lampiran	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Definisi Operasional Variabel	40
2. Hasil Rekapitulasi Perhitungan Lumen Arteri Koronaria.....	56
3. Uji Normalitas.....	59
4. Uji Homogenitas.....	59
5. Uji <i>One Way Anova</i>	60
6. Uji <i>Post Hoc Lsd</i>	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anatomi Jantung Tampak Depan	6
2. Anatomi Arteri Koronaria	7
3. Gambaran Histologi Pembuluh Darah	11
4. Patogenesis Aterosklerosis	24
5. Belimbing Wuluh.....	26
6. Tikus Putih Galur Wistar.....	30
7. Kerangka Teori	32
8. Kerangka Konsep.....	33
9. Alur Penelitian	50
10. Gambar Lumen Arteri Koronaria Kelompok Kontrol Negatif.....	55
11. Gambaran Lumen Arteri Koronaria Kelompok Kontrol Positif.....	56
12. Gambaran Lumen Arteri Koronaria Kelompok Perlakuan 1.....	56
13. Gambaran Lumen Arteri Koronaria Kelompok Perlakuan 2.....	57
14. Gambaran Lumen Arteri Koronaria Kelompok Perlakuan 3.....	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Persetujuan Etik.....	75
2. Surat Keterangan Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Beelimbing Wuluh.....	76
3. Hasil Pembacaan Preparat.....	77
4. Dokumentasi Selama Penelitian.....	78
5. Gambar Hasil Pembacaan Preparat.....	81
6. Hasil Pengolahan dan Analisis Data.....	86

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minyak goreng termasuk salah satu kebutuhan penting masyarakat di Indonesia. Minyak goreng sering digunakan untuk medium penghantar panas, menambah cita rasa pada makanan, memperbaiki tekstur makanan dan tampilan bahan pangan, serta menambah nilai kalori pada bahan pangan yang digorengnya. (Dewi dan Hijayati, 2012). Karena fungsinya tersebut, konsumsi minyak goreng terus meningkat, baik dalam skala rumah tangga maupun dalam skala industri atau pabrik (Hajar *et al*, 2016). Hal ini di buktikan dengan data Survei Sosial Ekonomi Nasional 2018 yang menyatakan bahwa pertumbuhan konsumsi minyak goreng sawit di skala rumah tangga Indonesia selama tahun 2002-2017 pada umumnya mengalami peningkatan dengan rerata peningkatan sebesar 4,88 % per tahun.

Masyarakat Indonesia pada umumnya menggunakan minyak goreng sebagai media panas untuk menggoreng makanan. Jenis minyak goreng yang banyak digunakan contohnya minyak goreng cair, baik curah maupun dalam kemasan. Minyak goreng selain dapat digunakan untuk menghantarkan panas juga dapat meningkatkan cita rasa dan kelezatan makanan seperti menambah

rasa gurih, renyah pada tekstur dan warna kecoklatan pada makanan serta mampu meningkatkan nilai gizi pada makanan tersebut. Selain itu minyak merupakan sumber asam lemak essensial yang sangat penting terutama asam lemak linoleat dan asam lemak alfa linoleat bagi tubuh.

Harga minyak goreng tidak menetap dan cenderung meningkat setiap tahunnya. Oleh karena pemakaian minyak untuk kebutuhan sehari-hari meningkat serta harganya yang semakin tinggi, maka tidak sedikit masyarakat yang menggunakan minyak goreng secara berulang. Minyak goreng yang digunakan secara berulang biasa disebut sebagai minyak jelantah. Pada pemakaian pertama, minyak goreng memiliki kandungan lemak tak jenuh yang tinggi. Namun jika semakin lama digunakan untuk menggoreng, maka minyak goreng justru akan memiliki kandungan asam lemak jenuh yang tinggi sehingga menyebabkan kerusakan karena proses oksidasi (Khomsan, 2010)

Pemakaian minyak goreng secara berulang akan mengakibatkan deposisi sel lemak didalam organ tubuh sehingga menyebabkan kerusakan pada berbagai organ tubuh seperti jantung, hati, ginjal, dan arteri (Susanti, 2014). Bila terjadi deposisi sel lemak di arteri maka akan terjadi aterosklerosis. Penyumbatan yang terjadi di arteri koronaria jantung dapat menyebabkan penyakit jantung koroner (Rukmini, 2007). Pada suatu penelitian disebutkan bahwa semakin tinggi tingkat penggunaan minyak dalam penggorengan maka akan semakin meningkatkan jumlah nekrosis pada sel otot jantung (Lianda, 2013).

Indonesia merupakan negara dengan berbagai keanekaragaman hayati. Masih banyak masyarakat yang mengandalkan alam untuk memenuhi kebutuhan hidupnya, salah satunya untuk digunakan sebagai obat. Menurut Orwa 2009, belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi Linn*) merupakan salah satu tanaman obat di negara tropis dan subtropis khususnya di Indonesia. Belimbing wuluh mengandung zat vitamin C dan asam oksalat. Ekstrak belimbing wuluh terbukti memiliki kandungan karbohidrat, flavonoid, fenol, glikosida, dan asam amino (Vasanthakumar & Swamy, 2015). Buah belimbing mempunyai kandungan antioksidan yang dapat melindungi arteri dari kerusakan sel endotelnya. Senyawa flavonoid juga memiliki efek antioksidan dengan menghambat berbagai reaksi oksidasi. Semakin tinggi kandungan flavonoid, maka akan semakin tinggi juga potensi antioksidannya.

Oleh karena itu, berdasarkan latar belakang tersebut peneliti ingin mengetahui pengaruh ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi Linn*) terhadap gambaran histopatologi pembuluh darah arteri koronaria tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur Wistar yang diinduksi minyak jelantah.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah yang didapat yaitu :
Apakah ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi Linn*) memberikan perbaikan lumen pembuluh darah arteri koronaria tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur Wistar yang diinduksi minyak jelantah.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) terhadap perbaikan pembuluh darah arteri koronaria tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur Wistar yang diinduksi minyak jelantah.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Manfaat bagi peneliti adalah dapat menerapkan ilmu yang telah diperoleh serta dapat menambah pengalaman dalam melakukan penelitian.
2. Manfaat bagi masyarakat adalah memberikan wawasan pengaruh konsumsi ekstrak buah belimbing wuluh terhadap perbaikan pembuluh darah arteri koronaria tikus yang diinduksi minyak jelantah.
3. Manfaat bagi peneliti selanjutnya adalah dapat menggunakan penelitian ini untuk menjadi landasan penelitian lainnya..

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

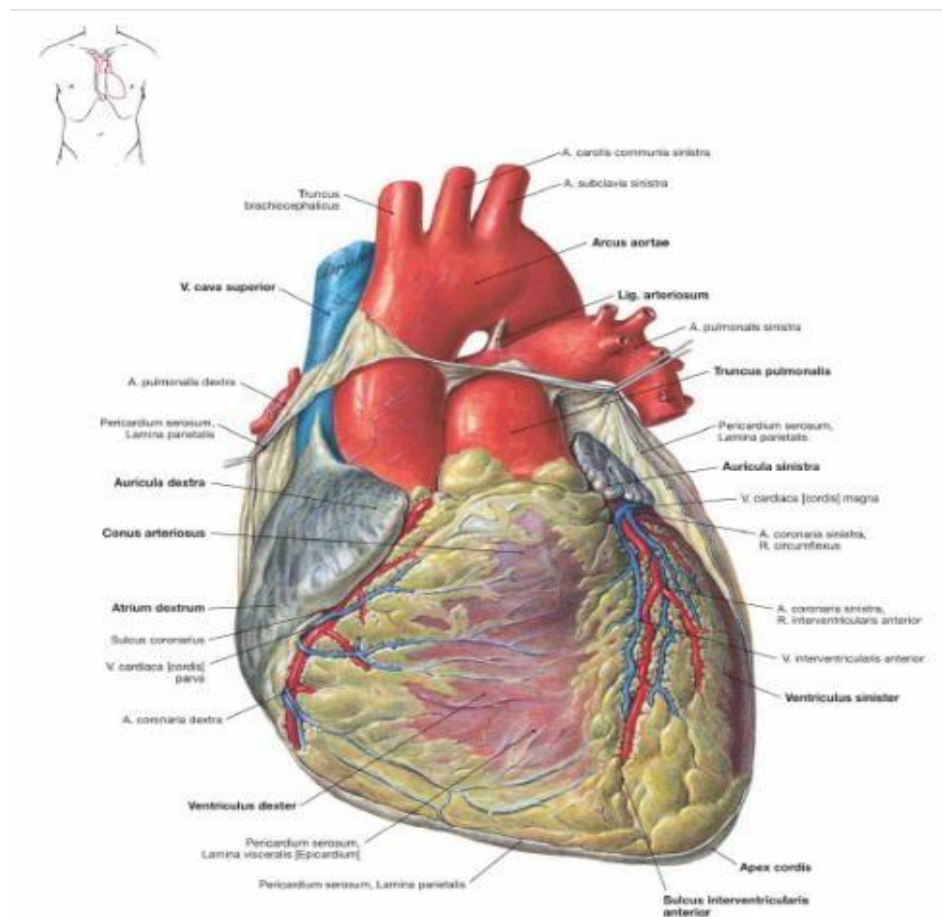
2.1 Jantung

2.1.1 Anatomi Jantung

Jantung merupakan organ berongga dan berotot yang ukurannya sebesar kepalan tangan. Di dalam tubuh manusia jantung terletak di rongga toraks (dada) sekitar garis tengah antara sternum (tulang dada) di sebelah anterior dan vertebra (tulang belakang) di posterior. Jantung memiliki dasar lebar di atas dan meruncing membentuk titik di ujung bagian bawah atau yang disebut dengan apeks. Jantung terletak menyudut di bawah sternum sehingga dasarnya terutama terletak di kanan dan apeks di kiri sternum. Letak jantung di antara dua susunan tulang yaitu tulang sternum dan juga vertebra. Jantung tertekan antara sternum dan vertebra sehingga darah dipompa ke pembuluh darah serta mempertahankan aliran darah di jaringan (Sherwood, 2014)

Dinding jantung mempunyai 3 lapisan yaitu, epikardium, miokardium, dan endokardium. Epikardium merupakan lapisan terluar dan merupakan perikardium serosa bagian viseral yang mempunyai

dinding tipis. Lapisan kedua yaitu miokardium yang terletak diantara epikardium dan endokardium. Miokardium mempunyai dinding tebal serta berisi otot-otot jantung dengan kardiomiosi. Lapisan terakhir adalah lapisan paling dalam yaitu endokardium dengan permukaan internal yang terdiri dari endotelium dan jaringan ikat (Paulsen dan Waschke, 2010). Gambar anatomi jantung seperti yang terlihat pada gambar 1 dibawah ini.

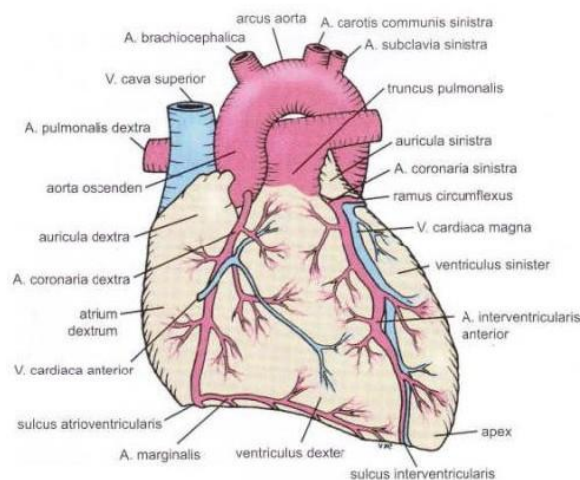


Gambar 1. Anatomi Jantung Tampak Depan Pada Manusia (Paulsen, 2010)

2.2 Arteri Koronaria

2.2.1 Anatomi Arteri Koronaria

Arteri koronaria merupakan arteri yang terletak dibagian proksimal aorta. Pada percabangan pertama aorta terdiri dari arteri koronaria kanan (*Right Coronaria Artery/RCA*) dan arteri koronaria kiri (*Left Coronaria Artery/LCA*). Arteri koronaria kanan berawal dari sinus aorta kanan dan berjalan di sulkus koronaria ke tepi bawah. Cabang utama arteri koronaria kanan adalah arteri marginalis dan arteri desenden posterior. Sedangkan arteri koronaria kiri berasal dari sinus aorta kiri dan bercabang sesudah 1 cm membentuk ramus intraventrikular anterior atau arteri desenden anterior sinistra (LAD) yang berjalan ke apeks jantung dan ramus sirkumfleksa atau arteri sirkumfleksa kiri yang berjalan didalam sulkus koronaria mengelilingi tepi jantung kiri untuk mencapai bagian posterior jantung (Paulsen & Waschke, 2012)



Gambar 2. Anatomi Arteri Koronaria Pada Manusia (Snell, 2008)

2.2.2 Fisiologi Arteri Koronaria

Perdarahan pada jantung berasal dari dua sumber, yaitu epikardium dan miokardium yang diperdarahi oleh arteri koronaria serta cabang-cabangnya serta endokardium yang menerima asupan O₂ dan nutrisi dari kontak langsung dengan darah di dalam ruang jantung. (Guyton & Hall, 2008). Otot jantung atau miokardium menerima sejumlah besar pasokan darah melalui arteri koronaria selama diastole yaitu sekitar 70% hanya sekitar 30% aliran arteri koronaria yang terjadi selama sistol. Hal itu dikarenakan tertekannya cabang-cabang utama arteri koronaria akibat miokardium yang sedang berkontraksi serta pintu masuk ke pembuluh koronaria yang tertutup secara parsial karena katup aorta yang terbuka, akibatnya aliran darah ke sel otot jantung berkurang secara substansial selama sistol (Sherwood, 2014).

Kebutuhan oksigen pada miokardium disuplai secara kontinyu oleh arteri koronaria saat selama aktivitas normal, kebutuhan oksigen miokardium yang naik akan mengakibatkan naiknya aliran arteri koroner. Suplai oksigen miokard bergantung pada oksigen content darah dan coronary blood flow. Oksigen content bergantung pada oksigenasi sistemik dan kadar hemoglobin, sehingga bila tidak anemia atau penyakit paru aliran oksigen koroner cenderung konstan. Bila ada kelainan

maka aliran koroner secara dinamis menyesuaikan suplai oksigen dengan kebutuhan oksigen sel.

Coronary blood flow (Q) berbanding lurus dengan tekanan perfusi (P) dan berbanding terbalik dengan tekanan arteri koroner (R). Namun tidak seperti sistem arteri lain, dimana aliran muncul saat sistol, perfusi koroner predominan mengalir saat diastol. Hal ini karena saat sistolik cabang koroner tertutup oleh katup aorta dan aliran koroner tertutup oleh kontraksi otot. Aliran koroner terbuka saat diastol saat koroner terbuka dan otot jantung relaksasi. Tekanan perfusi digambarkan oleh tekanan diastolik sedangkan resistensi arteri koroner ditentukan oleh tekanan external arteri (miokard) atau faktor intrinsik arteri seperti sumbatan dan lain-lain (Sutoto, 2014)

Sirkulasi koroner meliputi seluruh permukaan jantung, membawa oksigen dan nutrisi ke miokardium melalui cabang-cabang intramiokardial yang ukurannya kecil-kecil. Arteri koronaria adalah cabang cabang pertama dari sirkulasi sistemik. Muara dari arteri koronaria terdapat di sinus valsava dalam aorta, tepatnya diatas katup aorta. Arteria koronaria kiri mempunyai dua cabang besar, yaitu arteri desenden anterior kiri dan arteri sirkumfleksa kiri. Arteri desenden anterior kiri membentuk percabangan septum yang memasok dua pertiga bagian anterior septum dan cabang-cabang diagonal yang

berjalan diatas permukaan anterolateral dari ventrikel kiri, permukaan posterolateral dari ventrikel kiri mendapatkan aliran darah oleh cabang-cabang marginal dari arteri sirkumfleksa. Arteri koronaria dekstra memberikan aliran darah ke atrium kanan, ventrikel kanan dan dinding inferior ventrikel kiri. Arteri sirkumfleksa sinistra memberikan aliran darah pada atrium kiri dan dinding posterolateral ventrikel kiri. Arteri desenden anterior kiri memberikan darah ke dinding depan ventrikel kiri yang masif (Sutoto, 2014)

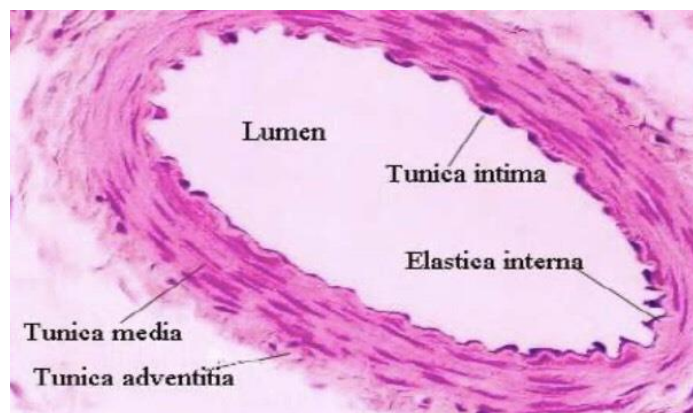
2.2.3 Histologi Arteri Koronaria

Arteri koronaria merupakan salah satu pembuluh darah yang elastis dan berukuran sedang - besar. Pembuluh darah umumnya terdiri dari lapisan atau tunika, antara lain: (Junquiera, 2011)

- a. Tunika intima, Tunika ini memiliki satu lapis sel endotel yang ditopang oleh selapis tipis subendotel jaringan ikat longgar yang terkadang mengandung sel otot polos. Pada arteri, intima dipisahkan dari tunika media oleh lamina elastika interna yang merupakan komponen terluar intima. Lamina ini terdiri dari elastin dan memiliki celah (fenestra) sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat untuk memberikan nutrisi ke sel-sel bagian dalam dinding pembuluh (Junquiera, 2011). Tunika intima

merupakan lapisan paling dalam. Lapisan ini terdiri dari endotel, lapisan subendotel jaringan ikat, dan lamina (membran) elastik interna (LEI) yang memisahkan tunika intima dan tunika media (Eroschenko, 2015).

- b. Tunika media, tunika ini merupakan lapisan tengah, terutama terdiri dari lapisan konsentris sel-sel otot polos yang tersusun secara berpilin. Pada arteri, tunika media memiliki lamina elastika eksterna yang lebih tipis sebagai pemisah dengan tunika adventitia (Junquiera, 2011).
- c. Tunika adventitia, tunika ini merupakan lapisan terluar dan terdiri dari serat kolagen tipe 2 dan elastin (Junquiera, 2011). Tunika adventitia adalah lapisan jaringan ikat yang mengelilingi pembuluh. Lapisan ini mengandung pembuluh darah dan saraf kecil. Pada tunika adventitia, pembuluh darah secara kolektif disebut vasa vasorum (Eroschenko, 2015)



Gambar 3. Gambaran Histologi Pembuluh Darah Arteri Koronaria Pada Manusia (Mescher, 2014)

2.2.4 Histopatologi Arteri Koronaria

Arteri koronaria merupakan pembuluh darah yang terdapat di jantung. Arteri koronaria sangat rentan sekali untuk terjadinya kerusakan akibat faktor-faktor tertentu, baik secara eksogen maupun endogen. Salah satu patologi pada arteri koronaria yaitu disfungsi atau adanya kerusakan endotel pembuluh darah akibat stress oksidatif berulang. Disfungsi endotel dianggap sebagai suatu awalan yang berperan dalam terjadinya kerusakan aterotrombotik yang mengarah kepada munculnya penyakit pembuluh darah seperti hipertensi dan aterosklerosis (Hilma *et al*, 2018). Beberapa penelitian dan literatur menunjukkan bahwa disfungsi endotel disebabkan oleh penurunan bio-availabilitas NO (Nitrit Oxide) yang disebabkan salah satunya oleh stres oksidatif. Apabila terjadi stres oksidatif akibat paparan radikal bebas pada sel endotel pembuluh darah, dapat mengakibatkan kerusakan pada dinding pembuluh darah sehingga permeabilitas dan aktivitasnya meningkat terhadap lipoprotein, leukosit, platelet, dan kandungan plasma lain (Srividya, 2017). Selain itu juga terjadi penimbunan endapan dari lemak, trombosit, neutrofil, monosit, dan makrofag di seluruh kedalaman tunika intima dan akhirnya ke tunika media. Bila dipenuhi oleh lemak, sel tersebut disebut sebagai sel busa (*foam cells*) dan membentuk guratan-guratan lemak (*fatty streak*) serta plak yang tampak secara makroskopik. Perubahan ini dapat

meluas sampai ke bagian dalam tunika media dan penebalan tersebut mengakibatkan lumen pembuluh darah menyempit hingga dapat menyebabkan aliran darah tersumbat. Keadaan dikenal sebagai aterosklerosis (Aziz & Yadav, 2016).

2.3 Minyak

Minyak adalah anggota golongan lipid yaitu lipid netral atau disebut dengan trigliserida. Minyak mengandung asam lemak jenuh yang rendah dan kandungan asam lemak tak jenuh yang tinggi dengan satu atau lebih ikatan rangkap diantara atom-atom karbonnya. Hal tersebut yang menyebabkan minyak mempunyai titik lebur yang rendah. Berdasarkan sumbernya minyak dibagi menjadi dua yaitu minyak hewani dan minyak nabati. Contoh minyak hewani yaitu minyak ikan, lard, sapi dan domba. Sedangkan minyak nabati contohnya minyak kelapa, minyak sawit, minyak kacang, dan minyak zaitun. Minyak yang sering digunakan masyarakat untuk kebutuhan sehari-hari adalah jenis minyak nabati. Menurut Mohdaly *et al* (2017), minyak nabati merupakan minyak yang berperan penting dalam diet manusia serta produksinya terus meningkat sejak satu dekade terakhir dikarenakan jumlah konsumsinya yang besar. Kandungan pada minyak nabati antara lain asam palmitat, asam stearat, asam oleat, dan asam linoleat, kecuali minyak kelapa yang memiliki asam lemak jenuh rantai sedang yang banyak (Almatsier, 2009). Minyak nabati yang banyak dikonsumsi contohnya adalah minyak kelapa

sawit yang berasal dari ekstraksi mesokarp buah kelapa sawit (Yustina & Rahayu, 2014). Minyak adalah ester gliserol, yaitu yang mengandung alkohol trihidrat dan asam lemak. Bila ketiga asam lemak dalam trigliserida sama maka disebut trigliserida sederhana, sedangkan bila berbeda disebut trigliserida campuran (Almatsier, 2009).

Terdapat 2 karakteristik minyak yaitu karakteristik fisik dan karakteristik kimia. Karakteristik fisik meliputi warna, bau, kelarutan, titik cair, titik didih, titik leleh, bobot jenis, viskositas dan indeks bias. Untuk karakteristik kimia meliputi jumlah asam lemak bebas (*Free fatty acid/FFA*), bilangan peroksida (*Peroxide value/PV*), bilangan asap (*Smoke point*) dan komposisi asam lemak (Taufik, 2018). Komponen asam lemak dapat menentukan mutu suatu minyak. Asam lemak juga dapat menunjukkan sifat kimia dan stabilitas minyak. Jika lemak terhidrolisis maka akan menghasilkan satu molekul gliserol dan tiga molekul asam lemak. Jenis asam lemak yang berikatan dengan gliserol akan menentukan bentuknya yaitu padat atau cair.

Asam lemak jika dilihat dari struktur kimianya terdiri atas asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Asam lemak jenuh merupakan asam lemak yang berasal dari minyak atau lemak hewan yang struktur kimianya tidak memiliki ikatan rangkap dengan atom karbon. Asam lemak ini disebut juga sebagai asam lemak dengan rantai tunggal. Asam laurat, asam miristat, asam

palmitat serta asam stearat adalah jenis asam lemak jenuh yang dapat menyumbat pembuluh darah serta menyebabkan stroke. Asam lemak jenuh bersifat lengket pada dinding saluran darah sehingga dapat menyebabkan aterosklerosis (Chalid *et al*, 2008). Selain itu lemak jenuh bersifat stabil dan tidak mudah bereaksi atau berubah menjadi asam lemak jenis lain. Berbeda dengan asam lemak tak jenuh yang memiliki struktur kimia dengan rantai karbon yang tidak dipenuhi oleh hidrogen sehingganya memiliki satu ikatan rangkap atau lebih. Semakin banyak ikatan rangkap maka semakin mudah bereaksi atau berubah menjadi asam lemak jenuh. Asam lemak tak jenuh contohnya linoleat, linolenat, dan arakidonat yang mempunyai efek mencegah aterosklerosis (Almatsier, 2009)

2.4 Minyak Goreng

Minyak goreng digunakan untuk mengolah makanan di masyarakat. Hal ini dikarenakan anggapan mereka bahwa makanan yang digoreng memiliki rasa yang lebih nikmat gurih (Nariko *et al*, 2012). Minyak goreng yang beredar di pasaran sebagian besar berasal dari minyak kelapa sawit yang diproduksi oleh perusahaan minyak dalam skala yang besar. Istilah minyak goreng digunakan untuk minyak yang bersumber dari lemak tumbuhan atau hewan yang dimurnikan dan berbentuk cair pada suhu kamar serta digunakan untuk menggoreng bahan makanan.

Suhu saat pemanasan minyak dapat mempengaruhi mutu suatu minyak tersebut. Semakin tinggi titik asap minyak goreng maka akan semakin baik juga mutu minyak goreng tersebut. Titik asap minyak akan berkurang jika telah digunakan, hal tersebut terjadi karena telah terjadi hidrolisis molekul lemak. Hidrolisis molekul lemak dapat ditekan dengan pemanasan yang tidak terlalu tinggi dari seharusnya (Choe & Min, 2007).

Kualitas minyak goreng ditentukan berdasarkan sifat fisik dan sifat kimianya. Sifat fisik minyak goreng yaitu bau, warna, kelarutan, titik cair dan polimorphism, titik didih, titik pelunakan, *slipping point*, *shot meltingpoint*, bobot jenis, viskositas, indeks bias, titik kekeruhan, titik asap, titik nyala, dan titik api. Sedangkan sifat kimia minyak goreng yaitu reaksi hidrolisis yang mengubah minyak menjadi asam lemak bebas dan gliserol (Ketaren, 2008).

2.5 Minyak Jelantah

Minyak goreng yang sudah berulang kali digunakan tentunya akan mengalami perubahan baik secara fisik maupun secara kimia. Minyak semacam ini disebut juga dengan minyak jelantah. Cara penggorengan yang umum digunakan adalah *deep-fat frying* (Alireza *et al*, 2010). Penggorengan dengan cara ini yaitu merendam pangan dalam minyak pada suhu yang tinggi yaitu sekitar 175-195 derajat celcius selama 5-10 menit (Aladedunye & Przybylski, 2009). Metode penggorengan dengan cara *deep-fat*

frying merupakan metode yang umumnya digunakan pada masyarakat karena mudah digunakan, cepat, murah dan hasil olahannya lebih disukai oleh konsumen (Taufik, 2018).

Proses *deep frying* yang disertai paparan udara akan menyebabkan terjadinya bermacam-macam reaksi. Reaksi yang dapat terjadi antara lain, reaksi hidrolisis, oksidasi, dan polimerasi dari molekul triasilgliserol. Akibat reaksi-reaksi tersebut akan terbentuk produk dekomposisi seperti contohnya *trans-fatty acids*, sehingga akan mempengaruhi kualitas makanan dan kesehatan manusia.(Taufik, 2018). Proses degenerasi minyak selama proses *deep frying* terdiri dari 3 jenis reaksi, yaitu reaksi hidrolisis, oksidasi, dan polimerasi (Choe & Min, 2007)

a. Hidrolisis

Saat reaksi hidrolisis, makanan yang mengandung air dan digoreng akan menyerang ikatan ester dari triasilgliserol sehingga menghasilkan asam lemak bebas. Asam lemak bebas meningkat seiring dengan peningkatan jumlah penggorengan. Reaksi hidrolisis lebih mudah terjadi pada minyak dengan asam lemak rantai pendek dan asam lemak tak jenuh daripada minyak dengan asam lemak rantai panjang dan asam lemak jenuh. Hal ini dapat terjadi karena asam lemak rantai pendek dan asam lemak tak jenuh mudah larut dalam air. Air yang berasal dari makanan akan mudah memasuki asam lemak

rantai pendek dalam minyak goreng.

b. Oksidasi

Reaksi oksidasi adalah reaksi antara oksigen dengan minyak.

Pada reaksi oksidasi terdapat 3 mekanisme oksidasi yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi.

- Inisiasi, yaitu lepasnya hidrogen dari molekul minyak akibat pemanasan pada minyak goreng sehingga terbentuk radikal alkil. Radikal alkil tersebut dapat bereaksi dengan radikal alkil, radikal alkoksi, radikal peroksi untuk membentuk dimer dan polime.
- Propagasi, pada tahapan ini dimulai dengan adanya reaksi radikal alkil dengan oksigen. Sementara radikal alkil sangat cepat apabila bereaksi dengan oksigen lalu menghasilkan radikal peroksi yang selanjutnya menarik atom hidrogen dari asam lemak tak jenuh dan membentuk hidroperoksida dan radikal alkil yang baru. Selanjutnya hidroperoksida terurai menjadi radikal alkoksi dan radikal hidroksi, sementara radikal alkil yang baru bereaksi kembali dengan oksigen untuk menghasilkan radikal peroksi yang baru. Demikian seterusnya sehingga terjadi reaksi rantai radikal bebas. Reaksi rantai radikal bebas terjadi pada tahap propagasi. Radikal peroksi juga akan bereaksi dengan radikal bebas lainnya untuk membentuk

dimer dan polimer.

- Terminasi, terjadi apabila radikal bebas yang terbentuk bereaksi dengan radikal bebas tertentu sehingga terbentuk senyawa non-radikal. Misal radikal alkoksi bereaksi dengan radikal alkoksi lainnya sehingga terbentuk produk non-radikal.

c. Polimerisasi

Dimerisasi dan polimerisasi pada *deep frying* termasuk reaksi radikal. Radikal alkil dapat bereaksi dengan radikal alkil, radikal alkoksi, radikal peroksi untuk membentuk dimer dan polimer. Dimer dan polimer triasilgliserol adalah senyawa yang banyak terbentuk pada proses pemanasan berulang dari minyak goreng. Semakin sering frekuensi penggorengan dan semakin tinggi suhu penggorengan, maka akan semakin meningkatkan jumlah polimer yang terbentuk. Polimer yang terbentuk pada pengolahan secara *deep frying* kaya akan oksigen, hal ini menyebabkan reaksi oksidasi lebih cepat. Adanya polimer juga akan meningkatkan viskositas minyak, mempercepat degradasi lanjut dari minyak serta menghasilkan warna yang tidak diinginkan dan meningkatkan absorpsi minyak ke dalam makanan menjadi semakin tinggi.

2.6 Patogenesis Aterosklerosis Akibat Minyak Jelantah

Minyak goreng yang digunakan secara berulang atau yang disebut minyak jelantah akan meningkatkan asam lemak bebas (Mujadin *et al*, 2014). Radikal bebas merupakan spesies kimiawi dengan satu elektron tak berpasangan di orbital terluar (Robbins & Kumar, 2007). Menurut (Robbins & Kumar, 2007), jejas sel yang diperantarai oleh radikal bebas terjadi melalui tiga reaksi, antara lain:

a. Peroksidasi lipid membran

Ikatan ganda pada lemak tak jenuh (*Polyunsaturated lipid*), membran mudah terkena serangan radikal bebas berasal dari oksigen. Interaksi radikal lemak menghasilkan peroksida yang tidak stabil dan reaktif dan terjadi reaksi rantai autokatalitik.

b. Fragmentasi DNA

Reaksi radikal bebas dengan timin pada DNA mitokondria dan nuklues menimbulkan rusaknya untai tunggal. Kerusakan DNA tersebut memberikan implikasi pada pembunuhan sel dan perubahan sel menjadi ganas.

c. Ikatan silang protein

Radikal bebas mencetuskan ikatan silang protein yang diperantarai sulfhidril, menyebabkan peningkatan kecepatan degradasi atau hilangnya aktivitas enzimatik..

Dalam keadaan normal dan bila berlangsung tidak terlalu lama (kronis), radikal bebas yang terbentuk dapat ternetralisir oleh sistem proteksi tubuh. Namun, apabila jumlah radikal bebas kelompok oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species/ROS*) melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya, misalnya akibat konsumsi minyak jelantah dalam waktu lama, dapat terjadi stres oksidatif pada sel yang dapat merusak struktur DNA dalam sel dan menginduksi terjadinya jejas sel (Mardina *et al*, 2012).

Stres oksidatif sebenarnya merupakan suatu proses yang alami, namun dapat meningkat akibat keadaan tertentu seperti; gaya gesek pulsatil pembuluh darah, iskemia reperfusi, infeksi, polusi khususnya oleh asap rokok, bahan kimiawi, bahan fisika, hipertensi, dislipidemia, obesitas, dan makan berlebihan (Lintong, 2009). Apabila stres oksidatif terjadi berulang kali pada sel endotel pembuluh darah akan mengakibatkan terjadinya disfungsi endotel atau kerusakan pada dinding pembuluh darah sehingga permeabilitas dan adhesivitasnya meningkat dan dapat mempermudah terbentuknya lesi aterosklerotik (Robbins & Kumar, 2007; Lintong, 2009).

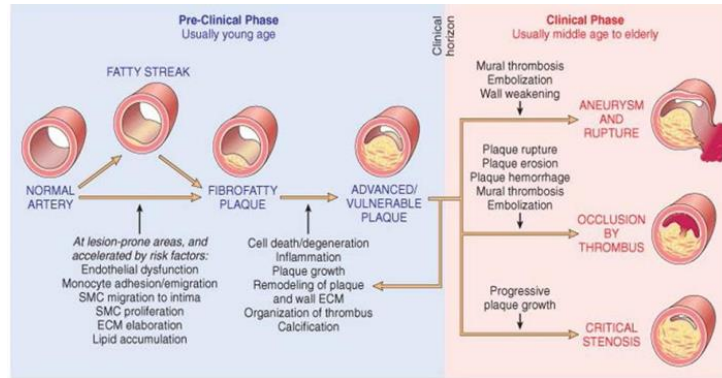
Pada umumnya, aterosklerosis dapat menyerang arteri di seluruh tubuh, akan tetapi aterosklerosis lebih sering terjadi pada pembuluh darah yang elastis dan berukuran sedang hingga besar, misalnya pada arteri koronaria. Aterosklerosis yang terjadi pada arteri koronaria atau aterosklerosis koroner dapat menyebabkan

berbagai komplikasi penyakit jantung lainnya, seperti iskemik ataupun infark miokardium akut yang dapat berujung kematian (Lintong, 2009; Sherwood, 2014).

Patogenesis aterosklerosis merupakan proses interaksi kompleks yang terjadi di endotel. Disfungsi endotel merupakan awal mula proses aterogenesis. Rangsangan biokimiawi atau mekanis dapat menimbulkan *endothelial injury* atau jejas endotel (Hall, 2012). Beberapa penelitian dan literatur menunjukkan bahwa disfungsi endotel disebabkan oleh penurunan bio-availabilitas NO yang disebabkan salah satunya oleh stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang disebabkan oleh peningkatan jumlah reactive oxygen species (ROS) atau reactive nitrogen species (RNS) dibandingkan dengan sistem pertahanan antioksidan endogen tubuh (Afanas'ev, 2011).

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki sekelompok atom atau elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas yang berperan dalam proses biologis sebagian besar berasal dari proses biologis alami yang melibatkan peroksidan ROS dan reactive nitrogen species (RNS). Proses terbentuknya radikal bebas diawali dengan molekul yang tidak memiliki elektron berpasangan mencoba mengambil elektron lain yang berada di sekitarnya. Proses ini disebut oksidasi yang kemudian akan membentuk sebuah molekul radikal bebas baru. Proses ini jika berlangsung terus-menerus akan membentuk sebuah rantai reaksi yang dapat

menghancurkan ribuan molekul lain. Reactive oxygen species secara aktif dapat memengaruhi modifikasi protein dan asam nukleat melalui produksi MAD. Interaksi antara MAD dan sisi amino dari rantai apoprotein B 100 akan membentuk epitop baru yang tidak dikenal oleh reseptor LDL. Oxidatively modified LDL (OxLDL) yang terbentuk tidak lagi dianggap menjadi milik sendiri (*self*) melainkan menjadi milik luar (*nonself*), kemudian akan diingesti oleh monosit atau makrofag menjadi sel busa atau *foam cell* yang berada di intima pembuluh darah. Sel busa yang terbentuk akan menumpuk di bawah dinding pembuluh darah dan membentuk *fatty streak*, bentuk paling dini plak aterosklerotik yang dapat berkembang menjadi plak yang matang dan membuat saluran pembuluh darah menjadi lebih sempit sehingga aliran darah menjadi kurang lancar. Plak aterosklerotik pada dinding pembuluh darah bersifat rapuh dan mudah pecah sehingga dapat mengaktifkan pembentukan bekuan darah yang dapat memperparah penyempitan yang ada sehingga memudahkan terjadinya penyumbatan pembuluh darah secara total. (Sherwood, 2011; Rader & Hobbs, 2005). Proses terjadinya aterosklerosis pembuluh darah diatas disajikan pada gambar 4.



Gambar 4. Patogenesis Aterosklerosis Pada Pembuluh Darah (Kumar, 2013)

2.7 Faktor Penyebab Kerusakan Arteri Koronaria

Definisi faktor risiko aterosklerosis adalah adanya keadaan, kebiasaan atau abnormalitas yang dihubungkan dengan aterosklerosis. Menurut Arif Muttaqin (2009), faktor risiko terjadinya terdapat dua faktor risiko aterosklerosis, yaitu faktor yang tidak dapat diubah dan faktor dapat diubah. Faktor yang tidak dapat diubah meliputi usia, riwayat keluarga, dan jenis kelamin. Sedangkan faktor yang dapat diubah meliputi peningkatan lipid serum (hiperlipidemia), merokok, gangguan toleransi glukosa (diabetes melitus), gaya hidup kurang aktivitas (inaktivitas fisik), stress psikologis, dan hipertensi. Menurut AHA (2007) menyatakan bahwa kerentanan terhadap aterosklerosis koroner meningkat dengan bertambahnya usia. Laki-laki memiliki risiko lebih besar terkena serangan jantung dan kejadiannya lebih awal dari pada wanita. Morbiditas penyakit jantung koroner/PJK pada laki-laki dua kali lebih besar dibandingkan dengan wanita dan kondisi ini terjadi hampir 10 tahun lebih dini pada laki-laki

daripada perempuan. Wanita relatif kebal terhadap penyakit ini sampai mengalami fase menopause, setelah itu menjadi sama rentannya seperti pria. Hormon esterogen dianggap sebagai pelindung imunitas wanita pada usia sebelum menopause.

2.8 Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*)

2.8.1 Taksonomi belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*)

Taksonomi buah belimbing wuluh adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Sub Kingdom : Tracheobionta

Superdivisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Subkelas : Rosidae

Ordo : Geraniales

Famili : Oxalidaceae

Genus : *Averrhoa* Adans- *Averrhoa*

Spesies : *Averrhoa bilimbi Linn* (Alhassan dan Ahmed, 2016)



Gambar 5. Belimbing Wuluh (Kemenkes, 2017)

2.8.2 Morfologi dan Kandungan Belimbing Wuluh

Negara Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alamnya. Masih banyak masyarakat yang mengandalkan alam untuk memenuhi kebutuhan hidupnya salah satunya digunakan untuk obat. Menurut Orwa (2009) salah satu tanaman obat adalah belimbing wuluh yang tumbuh serta banyak dimanfaatkan di negara Asia dan Asia Tenggara contohnya Bangladesh, Indonesia, Filipina, Singapura, Thailand dan India.

Belimbing wuluh dapat hidup pada ketinggian dari 5 sampai dengan 500 mdpl. Untuk menanam tanaman ini sangat mudah dilakukan melalui tanam lewat biji dan diperkirakan 3-4 tahun kemudian sudah berbuah dengan rerata buah pada setahunnya berkisar 1.500 buah. Selain itu belimbing wuluh juga dapat ditanam dengan cara mencangkok. Belimbing wuluh mempunyai bentuk yang lonjong dengan warna hijau muda dan kuning apabila

sudah matang. Belimbing wuluh mempunyai rasa asam serta memiliki banyak kandungan air.

Belimbing wuluh mempunyai banyak manfaat jika dilihat dari kandungannya. Dalam buah belimbing wuluh terkandung sumber fitokimia yang melimpah seperti alkaloid, karbohidrat, fenol, flavonoid, saponin serta tanin.. Kandungan fenol dalam 250 lg/ml adalah 209,25 GAE mg/g. Adanya fenol menandakan bahwa antioksidan juga terkandung pada tanaman tersebut. (Suluvoy & Berlin Grace, 2017). Tannin berkhasiat sebagai antioksidan yang berfungsi dalam menangkal radikal bebas. Selain itu, tannin juga mampu menurunkan gula darah pada pasien diabetes mellitus (Maskam, 2011). Saponin berkhasiat sebagai antioksidan, antiinflamasi, antitusif dan antiekspektoran (Lee dkk., 2015). Saponin juga berkhasiat sebagai anti tumor dan dapat menghambat progresivitas kanker, terutama kanker usus besar (Rohyani dkk., 2014). Flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan langsung dan pembersih radikal bebas, dan memiliki kapasitas untuk memodulasi aktivitas enzim dan menghambat proliferasi sel (Duthie dan Crozier, 2000). Beberapa studi klinis telah menunjukkan bahwa asupan flavonoid melindungi terhadap penyakit jantung koroner. Flavonoid dalam makanan yang dikonsumsi secara teratur dapat mengurangi risiko kematian akibat

penyakit jantung koroner pada pria lanjut usia (Agrawal, 2011)

2.8.3 Manfaat

Di Negara-negara Asia dan Asia Tenggara belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) digunakan untuk tanaman obat tradisional beberapa penyakit infeksi dan noninfeksi. Bagian-bagian dari pohon belimbing sendiri memiliki manfaat seperti daunnya untuk mengobati rasa gatal dan batuk. Dengan cara merebus daun dapat digunakan untuk obat antibakteri, demam, dan diabetes (Alhassan dan Ahmed, 2016).

Selain buah dan daunnya tanaman belimbing wuluh juga memiliki khasiat pada akar dan kulitnya. Masyarakat menggunakan tanaman ini untuk mengobati berbagai penyakit contohnya gatal, bisul, hipertensi, inflamasi, demam, dan batuk rejan (Suluvoy & Berlin Grace, 2017)

2.9 Tikus Putih (*Rattus novergicus*)

Hewan yang sengaja dipelihara dan ditenakan yang bertujuan digunakan sebagai hewan model penelitian untuk mempelajari dan mengembangkan berbagai macam ilmu disebut sebagai hewan percobaan atau hewan laboratorium. Menurut (Lailani *et al*, 2013) tikus putih adalah hewan yang mempunyai kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimia, sistem reproduksi,

pernapasan, peredaran darah dan sistem ekskresinya yang menyerupai manusia. Karena hal tersebut menyebabkan tikus hewan yang representatif dari kelas mamalia. Tikus putih memiliki banyak keuntungan jika digunakan untuk melakukan penelitian, sehingga banyak peneliti yang menggunakan tikus untuk hewan laboratorium.

Keuntungan menggunakan tikus seperti mudah dipelihara walaupun dalam jumlah yang banyak, berkembangbiak dengan cepat, bila dibandingkan dengan mencit lebih besar dan lebih tahan terhadap perlakuan, dapat dimanfaatkan dalam studi kasus karena tikus dapat menderita suatu penyakit contohnya studi nutrisi, tingkah laku, kerja obat dan toksikologi. Menurut Kartika *et al* (2013), galur Sprague Dawley, Wistar, Holdzman dan Long Evans merupakan galur tikus yang banyak digunakan dalam penelitian. Berikut merupakan klasifikasi tikus putih :

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mamalia
Ordo : Rodentia
Subordo : Odontoceti
Familia : Muridae
Genus : Rattus

Spesies : *Rattus novergicus*

(Kartika *et al*, 2013)



Gambar 6. Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Galur Wistar (Akbar, 2010)

2.10 Kerangka Teori

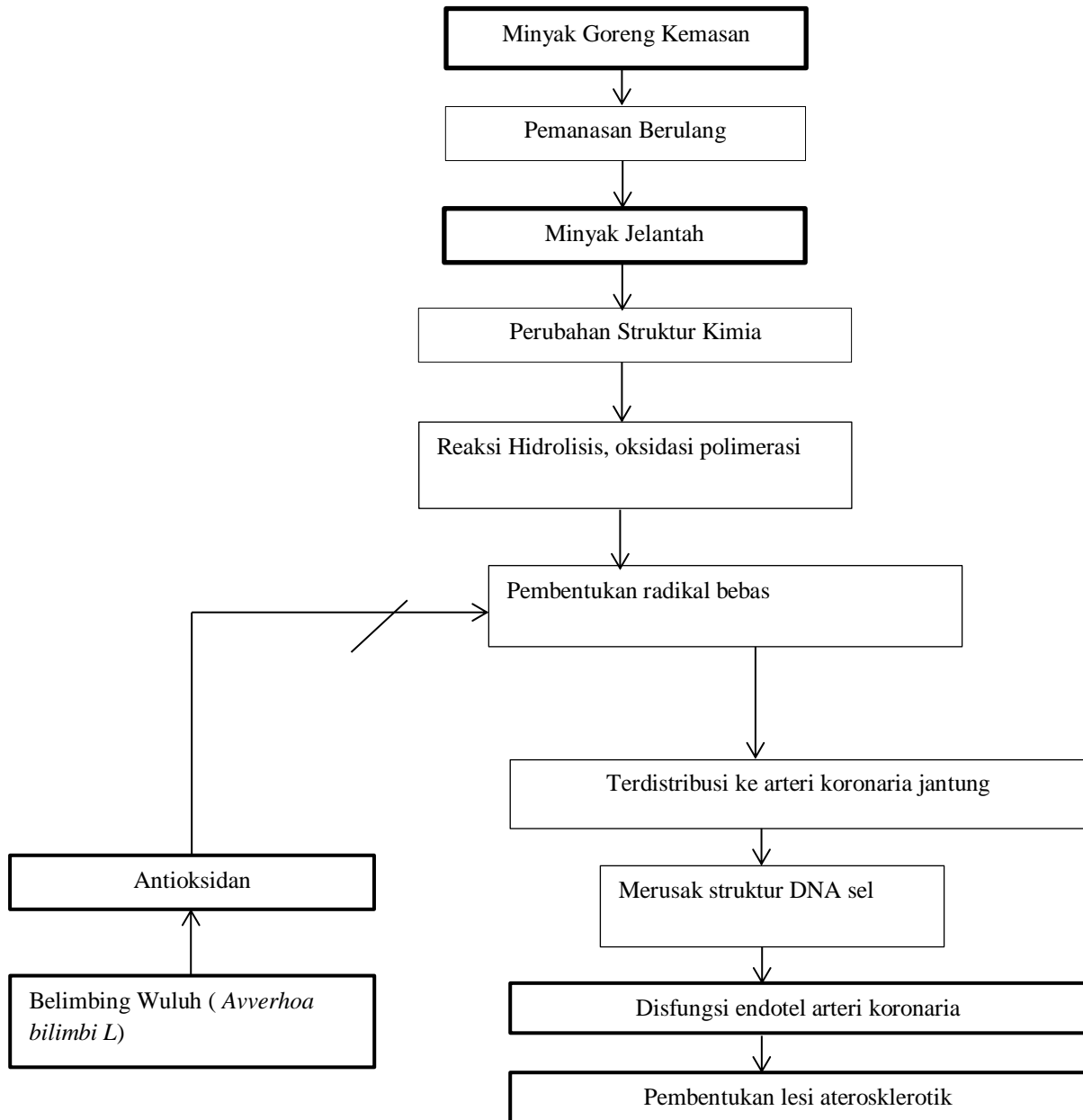
Minyak goreng digunakan untuk mengolah makanan pada umumnya di masyarakat. Hal ini dikarenakan anggapan mereka bahwa makanan yang digoreng memiliki rasa yang lebih nikmat dan gurih (Nariko *et al*, 2012). Minyak goreng yang sudah berulang kali digunakan tentunya akan mengalami perubahan baik secara fisik maupun secara kimia. Minyak semacam ini disebut juga dengan minyak jelantah. Cara penggorengan yang umum digunakan adalah *deep-fat frying*. Proses degenerasi minyak selama proses *deep frying* terdiri dari 3 jenis reaksi, yaitu reaksi hidrolisis, oksidasi, dan polimerasi.

Minyak goreng yang digunakan secara berulang atau yang disebut

minyak jelantah akan meningkatkan asam lemak bebas (Mujadin *et al*, 2014). Radikal bebas merupakan spesies kimiawi dengan satu elektron tak berpasangan di orbital terluar (Robbins & Kumar, 2007). Dalam keadaan normal dan bila berlangsung tidak terlalu lama (kronis), radikal bebas yang terbentuk dapat ternetralisir oleh sistem proteksi tubuh. Namun, apabila jumlah radikal bebas kelompok oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species/ROS*) melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya, misalnya akibat konsumsi minyak jelantah dalam waktu lama, dapat terjadi stres oksidatif pada sel yang dapat merusak struktur DNA dalam sel dan menginduksi terjadinya jejas sel (Mardina *et al*, 2012).

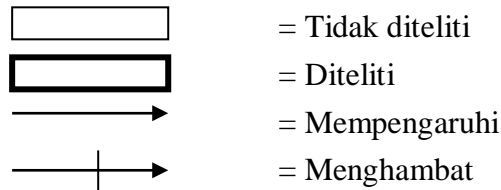
Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah terbentuknya reaksi radikal bebas (peroksida) dalam oksidasi lipid. Radikal bebas merupakan suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Elektron yang tidak berpasangan tersebut akan menyebabkan senyawa ini sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron yang berada di sekitarnya sehingga dapat memicu timbulnya penyakit (Lung & Dika, 2014; Robbins & Kumar, 2007). Belimbing wuluh mempunyai banyak manfaat jika dilihat dari kandungannya. Dalam buah belimbing wuluh terkandung sumber fitokimia yang melimpah seperti alkaloid, karbohidrat, fenol, flavonoid, saponin serta tannin.. Antioksidan fenol dalam

belimbing wuluh sangat tinggi hal ini menandakan fenol menangkap radikal bebas dengan aktivitas antioksidannya.



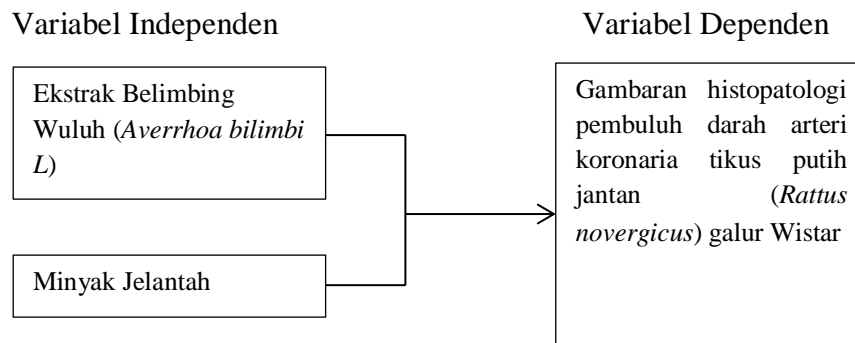
Gambar 7 . Kerangka Teori Uji Histopatologi Ekstrak Belimbing Wuluh (*Avverhoa bilimbi L.*) Terhadap Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Yang Diinduksi Minyak Jelantah

Keterangan :



2.11 Kerangka Konsep

Adapun kerangka konsep dari penelitian ini adalah sebagai berikut :



Gambar 8. Kerangka Konsep

2.12 Hipotesis

H₀ : Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak belimbing wuluh terhadap perbaikan kerusakan pembuluh darah arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang diinduksi minyak jelantah.

H₁ : Terdapat pengaruh pemberian ekstrak belimbing wuluh terhadap perbaikan kerusakan pembuluh darah arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang diinduksi minyak jelantah.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dan menggunakan desain atau rancangan penelitian *posttest only control group design* yang menggunakan hewan coba sebagai objek penelitian. Tidak diadakan *pre test* pada masing-masing kelompok karena pengambilan organ untuk penelitian dilakukan hanya sekali.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Laboratorium Patologi Anatomi dan Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung. Pemberian intervensi hewan coba dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan preparat arteri koronaria hewan coba dan pemeriksaan histopatologi akan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Sedangkan untuk pembuatan ekstrak buah belimbing wuluh dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar berusia 8-10 minggu yang diperoleh dari Institut Pertanian Bogor.

3.3.2 Sampel

Jumlah sampel pada penelitian ini menggunakan 25 tikus putih yang dibagi menjadi 5 kelompok. Ditentukan menggunakan rumus Federer sesuai dengan jenis penelitian yang dilakukan yaitu penelitian eksperimental. Rumus federer dalam penentuan besar sampel untuk uji eksperimental yaitu :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan :

t : Jumlah kelompok perlakuan

n : Jumlah sampel tiap kelompok

Jumlah perlakuan dalam penelitian ini adalah 5 perlakuan, sehingga :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$n \geq 4,75 \approx 5$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, penelitian ini jumlah sampel tiap kelompok menggunakan 5 ekor tikus. Sehingga penelitian ini

menggunakan 25 ekor tikus putih (*Ratus norvergicus*) jantan galur Wistar yang dibagi 5 kelompok.

3.3.3 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada sampel adalah sebagai berikut :

- a. Tikus putih galur wistar
- b. Jantan
- c. BB 200-300 gr
- d. Diperoleh dari tempat biakan yang sama
- e. Berusia 3-4 bulan
- f. Sehat (tidak ada penyakit maupun kelainan anatomis)

3.3.4 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada sampel :

- a. Terdapat penurunan berat badan >10% setelah masa adaptasi di laboratorium
- b. Tikus mati selama masa penelitian

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

- a. Untuk memberikan perlakuan :
 - Kandang tikus
 - Sonde lambung
 - Spuit 3cc dan 1cc
 - Botol minum tikus
 - Tempat makan tikus

- b. Untuk otopsi :
 - Skapel
 - Pinset sirurgis
 - Gunting
 - Botol untuk menyimpan organ
- c. Untuk pemeriksaan histopatologi :
 - Mikroskop cahaya
 - *Object glass* dan *cover glass*
 - Kamera untuk dokumentasi
- d. Untuk hidrodestilasi :
 - Alat kondensor
 - Corong Buchner
 - Gelas ukur, dan pipa aliran uap

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Tikus putih jantan galur Wistar dengan berat badan 200-300 gr sebanyak 25 ekor dan 5 cadangan
- b. Ekstrak buah belimbing
- c. Minyak jelantah
- d. Pellet sebagai makanan tikus
- e. Minuman hewan percobaan (PAM)
- f. Kapas
- g. Hematoksilin Eosin

- h. Air/akuades

3.4.3 Alat Dalam Pembuatan Preparat Histologi

Berikut alat yang digunakan dalam pembuatan preparat histologi :

- a. *Object glass*
- b. *Deck glass*
- c. *Tissue cassette*
- d. *Rottary microtome*
- e. Oven
- f. *Water bath*
- g. *Platening table*
- h. *Staining jar*
- i. Kertas saring
- j. *Autotechnicome processor*
- k. *Staining rack*
- l. Histoplast
- m. *Parrafin dispenser*

3.4.4 Bahan Dalam Pembuatan Preparat Histologi

Berikut adalah bahan yang digunakan dalam pembuatan preparat histologi :

- a. Larutan formalin 10% untuk fiksasi
- b. Alkohol 70%
- c. Alkohol 96%
- d. Alkohol absolut
- e. Xylol

- f. Etanol
- g. Eosin (H&E)
- h. Pewarna Hematoksilin
- i. Entelan

3.5 Identifikasi Variabel Dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Identifikasi Variabel

Terdapat dua variabel dalam penelitian ini yaitu variabel terikat (*Dependent variable*) dan variabel bebas (*Independent variable*)

3.4.1.1 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah perubahan gambaran histopatologi arteri koronaria tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur Wistar yang diinduksi minyak jelantah

3.4.1.2 Variabel Bebas

Pada penelitian ini variabel bebasnya adalah pemberian ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan minyak jelantah yang diberikan kepada hewan coba tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur Wistar selama 28 hari.

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional variabel penelitian ini adalah :

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Variabel Independen					
Ekstrak Buah Belimbing	Buah belimbing wuluh diperoleh dari Langkapura, Bandar Lampung dan diekstrak di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung menggunakan pelarut etanol 96%	100 mg/200 grBB 200mg/200 grBB 400mg/200 g rBB	S spuit 1 cc	Pemberian ekstrak buah belimbing wuluh terhadap: P1: dosis 100mg/200 gr BB/hari selama 28 hari P2 : dosis 200mg/200 gr BB/hari selama 28 hari P3 : dosis 400mg/200 gr BB/hari selama 28 hari (Labibi, 2015)	Kategorik
Induksi Minyak Jelantah	Pemberian induksi minyak jelantah per oral menggunakan sonde dengan dosis 1,5 ml/hari	1,5 ml/hari (Muhartono dkk, 2018)).	Alat ukur dosis	Pemberian minyak jelantah dengan dosis 1,5 ml/hari (Muhartono dkk., 2018)	Kategorik
Variabel Dependen					
Histopatologi arteri koronaria	Gambaran struktur histopatologi arteri koronaria yang diamati secara mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali	Pengukuran dilakukan menggunakan software olympus stream image analysis software	Mikroskop cahaya	Nilai rerata diameter lumen arteri koronaria	Numerik

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Adaptasi Hewan Percobaan

Tikus yang telah diambil dari Institut Pertanian Bogor dimasukan kedalam 5 kandang berbeda sesuai dengan kelompok perlakuan yang berlokasi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Kurang lebih selama 1 minggu tikus diadaptasikan pada lingkungan barunya. Sebelum diintervensi tikus di timbang berat badan terlebih dahulu. Tikus diberi makanan dan minuman menggunakan pelet dan air kurang lebih 1 minggu ini. Kandangnya dibersihkan dari kotoran setiap minggu. Rumus pemberian akuades untuk minuman tikus adalah sebagai berikut :

3.5.2 Metode Pembuatan Ekstrak Belimbing Wuluh

Cara pembuatan ekstrak belimbing wuluh adalah dengan menggunakan metode maserasi yang menggunakan pelarut etanol 96%. Untuk melakukan metode ini adalah dengan cara sebagai berikut :

Langkah pertama adalah pembuatan simplisa (buah dikeringkan). Simplisa dibuat dengan mengeringkan 3 kg buah belimbing wuluh yang sudah dicuci terlebih dahulu lalu dimasukan ke lemari pengering selama 48 jam dengan suhu 45 derajat celcius. Selanjutnya buah belimbing wuluh yang sudah kering digiling dengan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk buah belimbing wuluh kemudian direndam di etanol 96% sebanyak 2 L selama 2-3 hari didalam wadah tertutup. Kemudian campuran antara serbuk

buah belimbing wuluh dan etanol diaduk setiap jam sekali. Setelah direndam, campuran tersebut disaring untuk mendapatkan filtrat hasil perendaman. Filtrat kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* menggunakan suhu 70 derajat celcius sehingga akan terbentuk ekstrak yang agak kental (Putriana, 2018).

Konsentrasi larutan didapatkan dengan cara :

$$C=m/v$$

Massa ekstrak belimbing wuluh dengan piknometer = 28,2397 gr

Massa piknometer = 15,6651 gr

Sehingga massa ekstrak belimbing wuluh = 12,5746 gr

Volume ekstrak belimbing wuluh dalam piknometer = 10mL

$$C=m/v$$

$$= 12,57/10$$

$$= 1,257 \text{ gr/ml}$$

Sehingga didapatkan konsentrasi larutan ekstrak belimbing wuluh sebesar 1,257 gr/mL.

3.5.3 Penentuan Dosis Ekstrak Buah Belimbing Wuluh

Dosis ekstrak buah belimbing wuluh pada penelitian ini berlandaskan pada penelitian Labibi (2015). Penelitian Labibi menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada mencit dari dosis I (5,6 mg/20 g BB mencit) menjadi dosis II (11,2 mg/20 g BB mencit) dan dosis III (22,4 mg/20 g BB mencit) belum dapat memperbaiki kerusakan struktur histologis pada organ mencit seperti hepar dan ginjal

akibat paparan minyak jelantah secara nyata. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, dosis ekstrak belimbing wuluh akan ditingkatkan dengan harapan agar antioksidan yang dihasilkan oleh belimbing wuluh mampu menetralkan kerusakan endotel pembuluh darah arteri koronaria yang diinduksi oleh minyak jelantah.

Dosis awal pada penelitian ini didasarkan atas dosis tertinggi dari penelitian Labibi. Dosis tertinggi ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada mencit yaitu 22,4/20 grBB mencit. Nilai konversi dosis dari mencit (20 g) ke tikus (200 gr) adalah 7 (Laurence & Bacharach, 1964). Sehingga dosis mula-mula ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada berat rata-rata tikus 200-300 gram adalah 156,8 mg/200 grBB tikus atau 160 mg/200 grBB tikus.

Terdapat 3 macam dosis yang akan diberikan pada hewan coba, yaitu 80 mg/200 grBB tikus pada kelompok perlakuan 1, 160 mg/200 grBB tikus pada kelompok perlakuan 2, dan 320 mg/200 grBB tikus pada kelompok perlakuan 3. Ekstrak buah belimbing akan diberikan kepada tikus dengan cara per oral menggunakan sonde lambung. Ekstrak belimbing wuluh akan diberikan selama 28 hari berturut-turut.

3.5.4 Pembuatan Minyak Jelantah

Untuk membuat minyak jelantah diperlukan 1L minyak kelapa sawit lalu dilakukan penggorengan 450 gram tahu dengan panas 150-165 derajat celcius selama 10 menit setelah itu minyak

didinginkan pada suhu ruangan sementara penggorengan tahu sebanyak 8x menggunakan tahu yang baru sehingga menjadi minyak jelantah.

3.5.5 Penentuan Dosis Minyak Jelantah

Pemberian minyak jelantah pada hewan percobaan dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Muhartono *et al* (2018). Penelitian Muhartono *et al* (2018) menunjukkan bahwa adanya degenerasi bahwa dengan dosis sebesar 1,5 ml sudah dapat menimbulkan pengaruh terhadap tubuh hewan coba, sehingga pada penelitian ini peneliti juga memberikan dosis perlakuan sebesar 1,5 ml per hari terhadap tikus dengan berat badan 200-250 gram.

3.5.6 Pemberian Ekstrak Buah Belimbing Wuluh Dan Minyak Jelantah

Untuk pemberian intervensi dilakukan berdasarkan kelompok perlakuan kelima kelompok perlakuan tersebut adalah sebagai berikut :

1. Kelompok K1 digunakan sebagai kelompok kontrol negatif. Kelompok ini hanya diberi akuades peroral sebanyak 2 ml/hari selama 28 hari tanpa diberi minyak jelantah dan ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*)
2. Kelompok K2 adalah kelompok kontrol positif. Pada kelompok ini diberikan minyak jelantah peroral 1,5 ml/hari
3. Kelompok P1 adalah kelompok perlakuan 1 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minyak jelantah peroral 1,5

ml/hari, lalu selang 2 jam diberikan ekstrak buah belimbing wuluh peroral dosis I sebanyak 80 mg/200gr BB tikus

4. Kelompok P2 adalah kelompok perlakuan 2 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minyak jelantah peroral 1,5 ml/hari, selang 2 jam diberikan ekstrak buah belimbing wuluh peroral dosis II yaitu 160 mg/200 gr BB tikus
5. Kelompok P3 adalah kelompok perlakuan 3 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minyak jelantah peroral 1,5 ml/hari selang 2 jam diberikan ekstrak buah belimbing wuluh peroral dosis III yaitu 320mg/200gr BB tikus.

3.5.7 Prosedur Operasional Pembuatan Preparat

Metode teknik pembuatan preparat histopatologi antara lain sebagai berikut :

1. Fixation

Spesimen berupa potongan arteri koronaria yang sudah dipotong secara representatif segera di fiksasi dengan formalin 10 % selama 3 jam lalu dicuci dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali.

2. Trimming

Pada arteri koronaria dikecilkan hingga berukuran kurang lebih 3 mm, kemudian potongan tersebut dimasukkan ke *tissue cassette/embedding*

3. Dehidrasi

Meletakkan *tissue cassette* pada kertas tissue untuk dikeringkan. Lalu dilakukan dehidrasi dengan :

- a. Alkohol 70% selama 0,5 jam
- b. Alkohol 96% selama 0,5 jam
- c. Alkohol 96% selama 0,5 jam
- d. Alkohol 96% selama 0,5 jam
- e. Alkohol absolut selama 1 jam
- f. Alkohol absolut selama 1 jam
- g. Alkohol absolut selama 1 jam
- h. Alkohol xylo 1:1 selama 0,5 jam

4. *Clearing*

Clearing dilakukan untuk membersihkan sisa alkohol dilakukan *clearing* dengan menggunakan *xylo* I dan II masing-masing selama 1 jam.

5. *Impregnasi*

Impregnasi dilakukan dengan menggunakan paraffin selama 1 jam dalam oven ber suhu 65 derajat celcius.

6. *Embedding*

- a. Membersihkan sisa paraffin yang ada pada pan dengan cara memanaskan beberapa waktu di atas api kemudian diusap menggunakan kapas
- b. Memasukkan paraffin cair disiapkan kedalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu diatas 58 derajat celcius.

- c. Kemudian paraffin yang cair dituangkan ke dalam pan
- d. Kemudian memindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak satu sama lainnya kemudian pan dimasukkan ke air.
- e. Paraffin yang berisi potongan arteri koronaria dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4-6 derajat celcius selama beberapa saat.
- f. Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan alat skalpel/pisau hangat.
- g. Kemudian potong menggunakan mikrotom.

7. *Cutting*

Pada proses cutting dilakukan *cutting* di ruangan yang dingin. Pertama tama lakukan pemotongan secara kasar lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron dengan menggunakan *rotary microtome*. Pilih lembaran yang terbaik, lalu apungkan diatas air lalu hilangkan kerutannya. Kemudian lembar jaringan dipindahkan ke *water bath* dengan suhu 60 derajat celcius selama beberapa saat sampai mengembang sempurna. Kemudian lembaran diambil dengan *slide* bersih dengan gerakan menyendok. *Slide* kemudian diletakan di inkubator dengan suhu 37 derajat celcius sampai jaringan melekat semua kira-kira selama 24 jam

8. *Staining* (Pewarnaan) dengan Harris Hematoksilin-Eosin

Saat jaringan melekat sempurna pada slide, pilih *slide* yang terbaik, lalu secara berurutan memasukkan ke dalam zat kimia dibawah ini dengan waktu sebagai berikut :

- a. Dilakukan deparaffinisasi dalam :
 - 1) Larutan *xylol* I selama 5 menit
 - 2) Larutan *xylol* II selama 5 menit
 - 3) Ethanol absolut selama 1 jam
- b. Hydrasi dalam
 - 1) Alkohol 96% selama 2 menit
 - 2) Alkohol 70% selama 2 menit
 - 3) Air selama 10 menit
- c. Pulasan inti dibuat dengan menggunakan :
 - 1) Harris hematoksilin selama 15 menit
 - 2) Air mengalir
 - 3) Eosin selama maksimal 1 menit
- d. Lanjutkan dehidrasi dengan menggunakan :
 - 1) Alkohol 70% selama 2 menit
 - 2) Alkohol 96% selama 2 menit
 - 3) Alkohol absolut 2 menit
- e. Penjernihan
 - 1) *Xylol* I selama 2 menit
 - 2) *Xylol* II selama 2 menit

9. Mounting dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*

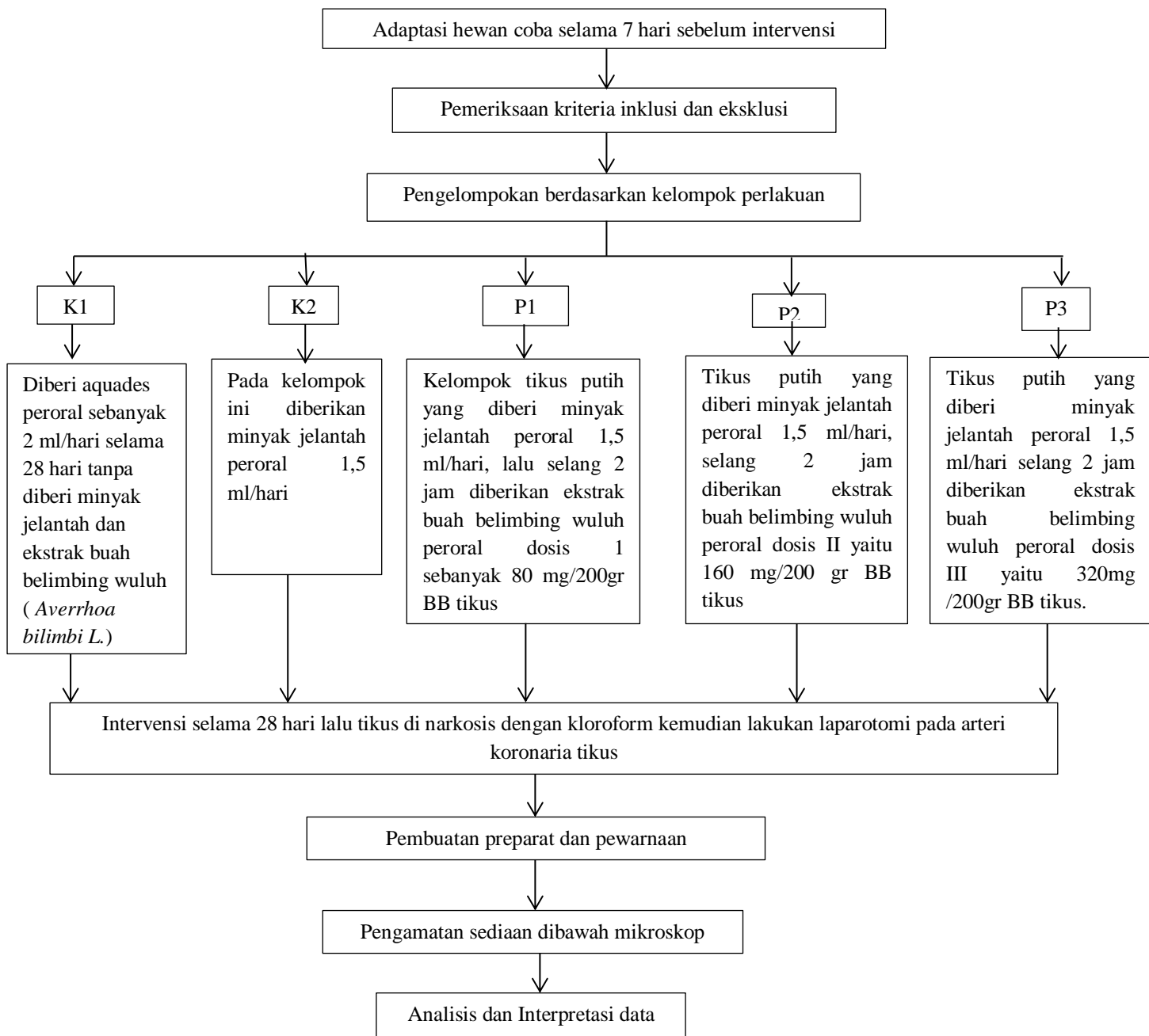
Setelah proses pewarnaan, *slide* ditempatkan di atas kertas tisu lalu ditetesi dengan bahan mounting yaitu entelan dan ditutup dengan *deck glass*, perhatikan jangan sampai terbentuk gelembung udara.

10. Pembacaan *Slide*

Proses pembacaan dilakukan di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, preparat diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dengan bimbingan dosen pembimbing dan ahli patologi

3.5.8 Alur Penelitian

Adapun alur penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :



Gambar 9. Alur Penelitian Uji Histopatologi Pengaruh Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Terhadap Arteri Koronaria Tikus Putih Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Minyak Jelantah

3.6 Analisis Data

Setelah data didapatkan dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop selanjutnya data tersebut diuji dan dianalisis dengan menggunakan program komputer yaitu SPSS. Lalu hasil penelitian di analisis apabila didapatkan data yang terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik one way ANOVA. Namun bila tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik pengujian akan menggunakan uji non parametrik yaitu menggunakan kruskal-wallis.

Untuk menganalisis apakah data terdistribusi normal atau tidak secara statistik dilakukan uji normalitas. Untuk mengukur normalitas, uji yang bisa dilakukan yaitu uji Kolmogorov-Smirnov atau Shapiro-wilk. Karena pada penelitian ini jumlah sampel ≤ 50 maka uji yang dilakukan adalah uji Saphiro-wilk.

Setelah uji normalitas data, untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varian yang sama atau tidak maka dilakukan uji levene. Hipotesis dapat dikatakan diterima ketika nilai $p < 0,05$ atau menolak H_0 . Selanjutnya dilakukan *analisis Post-Hoc Least Significant Differences* (LSD) untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan (Dahlan MS, 2014)

3.7 Ethical Clearance

Peneliti akan memperhatikan kesejahteraan hewan coba dengan memperlakukan hewan coba secara baik sesuai prinsip 3R yaitu *replacement, reduction, dan reframent*. Penelitian ini mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Unila dengan nomor No:143/UN26.18/PP.05.02.00/2021.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap perbaikan kerusakan pembuluh darah arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang diinduksi minyak jelantah.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah :

1. Bagi peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan jangka waktu yang lebih lama dan dengan dosis ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang berbeda.
2. Bagi peneliti selanjutnya disarankan untuk meneliti dengan variasi buah belimbing yang lainnya untuk melihat perbandingan belimbing wuluh yang digunakan dengan variasi belimbing lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Aster JC, Kumar V. 2015. Buku Ajar Patologi Robbins. Edisi 9.
Singapura: Elsevier Saunders.
- Akbar, B. 2010. Tumbuhan Dengan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas. Jakarta: Adabia Press UIN, (1), 1–59.
<https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Akhlaghi M and Brian Band. 2009. Mechanism of flavonoid protection against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 46:309-17
- Choe E, Min D. 2007. Chemistry of deep-fat frying oils. *J Food Sci*. 72(5): 77–86.
- Dahlan MS, 2010. Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.
- Dewi, M. T. I. & Hidajati, N. 2012. Peningkatan Mutu Minyak Goreng Curah Menggunakan Adsorben Bentonit Teraktivasi. *UNESA Journal of Chemistry*, 1, 47-53

- Eckman DM, Stacey RB, Rowe R, Agostino RD, Kock ND. 2013. Weekly Doxorubicin Increases Coronary Arteriolar Wall And Adventitial Thickness. *J. Plos One.* 8(2): 1-6
- Estina, 2016. Jenis dan ciri-ciri tikus laboratorium disertai gambar. Tersedia dari:<https://dokterternak.wordpress.com/2010/11/05/jenis-dan-ciri-ciri-tikus-labolatorium-disertai-gamba/>.
- Gulati, O. P. H. Norsmann, A. Aellig, M. F. Maignam and J. McGunnes.1985. *Arch. Int. Pharmacodyn.*273-323
- Hajar EWI, Mufidah S. 2016. Penurunan Asam Lemak Bebas Pada Minyak Goreng Bekas Menggunakan Ampas Tebu Untuk Pembuatan Sabun. *Jurnal Integrasi Proses.* 6(1): 22-7.
- Junqueira LC, Carneiro J.2011. *Histologi Dasar Teks dan Atlas.* Jakarta: EGC
- Kartika AA, Siregar HCH, Fuah AM. 2013. Strategi Pengembangan Usaha Ternak Tikus (*Rattus Norvegicus*) Dan Mencit (*Mus Musculus*) Di Fakultas Peternakan IPB. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan.* 1(3): 147-54.
- Khomsan A. 2010. *Pangan dan gizi untuk kesehatan.* Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2013. *Penyakit pada pembuluh darah.* Dalam: Asrorudin M, Hartanto H, Darmaniyah N. *Buku Ajar Patologi Robbins.* Edisi 7. Jakarta: EGC
- Kustiyah I, Prasetyo A.2003. Pengaruh berbagai variasi dosis ekstrak morinda

citrifolia terhadap kadar lipid serum dan perkembangan lesi aterosklerosis pada aorta abdominalis tikus wistar. *Media Medika Indonesia*. 38:4

Labibi MH. 2015. Pengaruh ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) terhadap struktur histologis hepar mencit (*Mus musculus*) akibat paparan minyak jelantah [skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran UNS.

Laurence DR, Bacharach AL. 1964. Evaluation of drug activities: pharmacometrics. Volume 1. London: Academic Press.

Lee YY, Park J, Lee E, Lee S, Kim D, Kang JL, dkk. 2015. Anti-inflammatory mechanism of ginseng saponin metabolite Rh3 in lipopolysaccharide-stimulated microglia: critical role of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase signaling pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63(13): 3472-3480. DOI:10.1021/jf506110y.

Mardina S, Mulyasih R, Tamara R, Sururi A. 2020. Pemanfaatan Limbah Rumah Tangga Minyak Jelantah Dengan Ekstrak Jeruk Dalam Perspektif Komunikasi Lingkungan Di Kelurahan Kaligandu. *Journal Solma*.92-101

Maskam MF. 2011. Antioxidant effects of *Rhodomyrtus tomentosa* (kemunting) extract on the development of experimental atherosclerotic-induced New zealand white rabbit [disertasi]. Malaysia: University Of Malaya.

Mescher AL.2014.Histologi dasar junqueira.Jakarta:EGC.hlm.186-8

Muhartono, Yudistira MA, Putri NT, Sari TN, Oktafany. 2018. Minyak jelantah menyebabkan kerusakan pada arteri koronaria, miokardium, dan hepar tikus

- putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*. Jurnal Kedokteran Universitas Lampung. 2(2): 129–135.
- Mujadin A, Jumianto S, Puspitasari RL. 2014. Pengujian Kualitas Minyak Goreng Berulang Menggunakan Metoda Uji Viskositas Dan Perubahan Fisis. Jurnal Al- Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi. 2(4): 229–33.
- Nariko N, Elfidasari D, Perdana AT, Wulandari N, Wijayanti W. 2012. Analisis Penggunaan Dan Syarat Mutu Minyak Goreng Pada Penjaja Makanan Di Food Court UAI. Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi. 1(3): 147–54.
- Nidya T.P.A.2017. Pengaruh Pemberian Minyak Jelantah terhadap Gambaran Histopatologi Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague dawley* [Skripsi].Lampung:Universitas Lampung
- Paulsen F, Waschke J. 2013. Atlas anatomi sobotta jilid 3. Edisi ke-23. Jakarta: EGC.
- Putriana A. 2018. Ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) sebagai ovisida keong mas (*Pomacea canaliculata* L.) [skripsi]. Lampung: Universitas Islam Negeri Raden Intan.
- Prasetyo A, Udadi S. 2006. Aspek Seluler dan Molekuler Aterosklerosis. Media Medika Indonesia. (2)
- Robbins SL, Kumar V. 2007. Buku Ajar Patologi. Edisi Ke-7. Jakarta: EGC.
- Rohyani IS, Aryanti E, Suropto. 2015. Kandungan fitokimia beberapa jenis tumbuhan lokal yang sering dimanfaatkan sebagai bahan baku obat di pulau Lombok. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon. 1(2): 388–391.

<https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010237>

- Rukmini A. 2007. Regenerasi Minyak Goreng Bekas dengan Arang Sekam Menekan Kerusakan Organ Tubuh. Seminar Nasional Teknologi. 24 November. Yogyakarta. Hlm. 1-9.
- Shastri C, Ambalal P, Himanshu J, Aswathanarayana B. 2011. Evaluation of effect of reused edible oils on vital organs of wistar rats. NUJHS. 1(4): 10-5.
- Sherwood L. 2014. Fisiologi manusia: dari sel ke sistem. Edisi ke-8. Jakarta: EGC.
- Snell, R.S., 2008. Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem. Jakarta: EGC.
- Suhatri, Dian Z.P, Elisma. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) Terhadap Aterosklerosis Pada Burung Puyuh Jantan (*Coturnix-coturnix japonica*). Jurnal Farmasi Higea, 6(2):174–183.
- Suluvoy JK, Grace VMB. 2017. Phytochemical profile and free radical nitric oxide (NO) scavenging activity of *Averrhoa bilimbi* L. fruit extract. 3 Biotech. 7(1): 85–95. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0678-9>
- Susianti. 2014. Pengaruh Minyak Goreng Bekas Yang Dimurnikan Dengan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar dan Jantung Tikus. Jurnal Andalas. 37(Suppl 2):S54–60.

Yadav,A., Kumari R, Ashwani Y., Mishra,J.P., Seweta S., Shashi P.2016.
Antioxidants and its functions in human body - A Review. Research in
Environment and Life Sciences. 9(11) 1328-1331

Zhou Z, Yuyang W, Jiang Y, Diao Y, Strappe P, Prenzler P. 2016. Deep-Fried
Oil Consumption In Rats Impairs Glycerolipid Metabolism, Gut
Histology And Microbiota Structure. Journal Of Lipids In Health And
Disease. 15(1): 1-11.