

Pengaruh pemberian jus tomat (*Lycopersicum esculentum*) terhadap kadar kolesterol LDL tikus putih

Effect of tomato juice (*Lycopersicum esculentum*) on LDL cholesterol level of white rat

MUH. UMAR AL MOKHTAR, DIAN ARININGRUM, KUSTIWINARNI

Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 2 Desember 2008. Revisi disetujui: 21 Februari 2009.

Abstract. Al Mokhtar MU, Ariningrum D, Kustiwinarni. 2009. Effect of tomato juice (*Lycopersicum esculentum*) on LDL cholesterol level of white rat. *Biofarmasi* 7: 22-30. The prevalence of Coronary Heart Disease (CHD) over the world is very high. Atherosclerosis due to hypercholesterolemia is a predisposing factor of CHD. The role of high dietary of tomato juice is associated with a lowered LDL-cholesterol. Lycopene and naringenin of tomato juice will decrease LDL cholesterol by inhibiting HMG-CoA reductase and upregulating LDL cholesterol receptor in liver. The study aimed to determine the effect of tomato juice on LDL cholesterol in white rat, *Rattus norvegicus*. The study was an experimental laboratory with pre and post-test controlled group design. Thirty-four adult male Wistar rats, 3 months in age and weighing 180-200 grams, were used in the research. They were divided into two groups, group 1 (KI) as control and group 2 (KII) as treatment group of tomato juice, with 17 rats for each group. They were allowed with standard diet for 7 days. During pretest period for 2 weeks, KI and KII were given hypercholesterolemic fed 100 g/BW ad libitum (mixed diet which consisted of standard diet 88.5%, coconut oil 1%, lard oil 10% and 0.5% crystalline cholesterol), egg yolk force-fed by gastric tube 7.5 ml/BW and PTU 0.1% ad libitum. During post-test period for 2 weeks, KI was given the same intervention with pretest period and aquadest force-fed 30 ml/BW as placebo by gastric tube, whereas KII was given the same intervention with KI and tomato juice force-fed 30 ml/BW by gastric tube. The measurement of the level of LDL cholesterol was conducted by using spectrophotometer. Statistical analysis was performed with SPSS Windows 13. Student's t-paired analysis was used for variable that normally distributed. Wilcoxon test was used for variable that skewed. Both statistical analyses were used to determine significant differences, the values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. The effect of tomato juice by 30 ml/BW on LDL cholesterol for 2 weeks in *Rattus norvegicus* was determined. The result of t-paired test obtained showed a significant difference ($p < 0.05$) of LDL cholesterol level before and after treatment on KII. Based on the study, there was an effect of tomato juice 30 ml/BW on LDL cholesterol for 2 weeks in *Rattus norvegicus*.

Keywords: LDL cholesterol, *Lycopersicum esculentum*, *Rattus norvegicus*, tomato juice

PENDAHULUAN

Peningkatan kesejahteraan penduduk dan ketersediaan pangan mengakibatkan perubahan pola konsumsi masyarakat ke jenis-jenis makanan kaya lemak dan rendah serat (Tsalissavrina et al. 2006). Penyakit Jantung Koroner (PJK) merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas, baik di negara maju maupun di negara berkembang (Sargowo 1995). PJK menempati urutan pertama penyebab kematian penduduk di Indonesia.

Aterosklerosis merupakan penyebab utama PJK (Priyana 2007). Aterosklerosis merupakan gangguan pembuluh darah koroner akibat penimbunan plak lipid pada dinding arteri (Tsalissavrina et al. 2006). Proses aterosklerosis umumnya dimulai sejak usia anak-anak. Proses tersebut dimulai dengan pembentukan *fatty streak* pada umur 3 tahun, *fibrous plaque* pada usia remaja, dan menyebabkan komplikasi lesi berupa kalsifikasi dinding pembuluh darah. Proses tersebut sangat dipengaruhi oleh peningkatan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) (Saap 2007).

Peningkatan kadar kolesterol LDL disebabkan oleh peningkatan konsumsi lemak jenuh dan kolesterol (Tsalissavrina et al. 2006). Kolesterol LDL merupakan faktor risiko terpenting dalam proses aterosklerosis dan merupakan sasaran utama pencegahan dan pengobatan PJK (Pusparini 2006).

PJK merupakan masalah kompleks dan multifaktorial, sehingga memerlukan perhatian dan penanganan secara holistik secara farmakologis dan non-farmakologis (Maryanto dan Fatimah 2004). Aspek non-farmakologis merupakan faktor terpenting dalam penanganan penyakit jantung (Waspadji 2006). Salah satu penanganan non-farmakologis adalah konsumsi sayuran dan buah-buahan (Maryanto dan Fatimah 2004).

Berdasarkan hasil penelitian di University of Oulu, konsumsi jus tomat mampu menurunkan kadar kolesterol LDL sebesar 13% (Silaste et al. 2007). Namun, berdasarkan hasil penelitian Briviba et al. (2004) dan Hininger et al. (2001), konsumsi jus tomat tidak menimbulkan efek terhadap penurunan kolesterol LDL teroksidasi dan penurunan lipid peroksidase plasma.

Perbedaan hasil penelitian tersebut terjadi diantaranya karena perbedaan waktu pemberian jus tomat, beberapa zat karotenoid jus tomat yang saling menghambat aktivitas antarkelompok karotenoid lain, aktivitas pH lambung yang berperan mengisomerisasi karotenoid, pengaruh enzim pencernaan dalam melarutkan karotenoid, dan pengaruh hormon tiroid yang mengatur metabolisme lemak (Olson 1994). Hal inilah yang mendasari peneliti untuk meneliti lebih lanjut pengaruh pemberian jus tomat terhadap kadar kolesterol LDL tikus putih.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian jus tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill) terhadap kadar kolesterol LDL tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Pemberian perlakuan dan pengukuran kadar kolesterol LDL tikus putih dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Unit II Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan meliputi kandang beserta kelengkapan pemberian pakan, sonde lambung, tabung mikro kapiler, *sput needle feeding*, timbangan Sartorius, gelas ukur, alat dan tabung sentrifus, rak tabung reaksi, pengaduk, pipet berskala, termometer, blender, dan spektrofotometer (tipe Boehringer 4010).

Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan meliputi 500 gr buah tomat, akuades, larutan propiltiourasil 0,1%, pakan standar *pellet* 21, pakan hiperkolesterolemik yang terdiri dari campuran pakan standar, kuning telur itik, kristal kolesterol, minyak babi, minyak kelapa, dan reagen pemeriksaan kolesterol LDL (merek *Roche Diagnostic cat.no.1489232*).

Jenis penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan *pre and post-test controlled group design*.

Subjek penelitian

Tikus diperoleh dari LPPT Unit II UGM, yaitu berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, Strain Wistar, tidak kawin, sehat dan mempunyai aktivitas normal, serta berumur kurang lebih 3 bulan dengan berat badan 180-200 gram.

Teknik sampling

Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling*. Penentuan besar sampel dilakukan dengan menggunakan rumus Federer (Maryanto dan Fatimah 2004). Tikus putih sebanyak 34 ekor dibagi menjadi dua kelompok. Setiap kelompok terdiri atas 17 ekor tikus putih.

Rumus Federer yang digunakan sebagai berikut:

$$(n - 1) \times (t - 1) > 15$$

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok

t = banyaknya kelompok

$$(n - 1) \times (t - 1) > 15$$

$$(n - 1) \times 1 > 15 \quad (n - 1) > 15 \quad n > 16$$

Dengan demikian, setiap kelompok minimal terdiri atas 17 ekor tikus putih, sehingga jumlah seluruh subjek penelitian sebanyak 34 ekor tikus putih.

Cara kerja

Pembuatan jus tomat

Lima ratus gram buah tomat diperoleh dari pasar, kemudian disortir terlebih dahulu. Buah busuk, terlalu matang, atau ketidaknormalan lainnya harus dipisahkan untuk menjaga kandungan tomat. Setelah itu, tomat dicuci dengan air sampai bersih. Tomat ditimbang sampai beratnya mencapai 350 gram, kemudian tomat di-*blanching* atau dipanaskan dengan direndam dalam 100 ml air panas bersuhu 82-93°C dengan termometer selama 5-10 menit. Pemanasan bertujuan untuk melunakkan bahan dan memudahkan pembレンダーan (Dina dan Hidayat 2005; Gunawan et al. 2004).

Setelah tomat di-*blanching*, tomat kemudian dihancurkan dengan blender selama 15 menit. Setelah 15 menit, hasil pembレンダーan disaring. Ampas hasil penyaringan diencerkan kembali dengan akuades 3-4 kali, kemudian diblender dan disaring lagi sampai didapatkan dosis optimal jus tomat sebanyak 350 ml (Dina dan Hidayat 2005; Gunawan et al. 2004; Trisnawati dan Setyawan 1994).

Kelompok perlakuan diberi jus tomat selama 2 minggu sebanyak 30 ml/kg BB dengan dosis yang terbagi pada pagi (pukul 08.00) dan sore hari (pukul 16.00).

Pembuatan pakan hiperkolesterolemik

Pemberian pakan hiperkolesterolemik dilakukan secara *ad libitum* yang terdiri dari campuran pakan standar, minyak babi, minyak kelapa, dan kristal kolesterol sebanyak 100 gr/kg BB (Maryanto dan Fatimah 2004; Saap 2007), sedangkan pemberian kuning telur itik sebanyak 7,5 ml/kg BB per sonde dilakukan pada pukul 08.00 dan 16.00. Kedua jenis pakan hiperkolesterolemik tersebut diberikan selama 4 minggu. Pemberian pakan hiperkolesterolemik bertujuan agar kondisi hiperkolesterolemia tercapai. Komposisi pakan hiperkolesterolemik tersebut terdiri dari kuning telur itik, lemak hewan, minyak kelapa, dan kristal kolesterol.

Kuning telur itik. Diperoleh dari LPPT Unit II UGM Yogyakarta. Kuning telur berwujud cairan kental. Kuning telur itik diberikan tersendiri per sonde pada semua subjek penelitian.

Lemak hewan. Lemak hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah lemak babi. Lemak babi diperoleh dari LPPT Unit II UGM Yogyakarta. Lemak babi dipanaskan dalam wajan sampai terbentuk minyak babi cair.

Minyak kelapa. Diperoleh dari LPPT Unit II UGM Yogyakarta. Minyak kelapa mengandung lemak jenuh, seperti asam laurat, asam palmitat, dan asam miristat. Minyak kelapa berperan dalam menekan reseptor *mediated clearance* kolesterol LDL, sehingga katabolisme kolesterol LDL menjadi terganggu (Mihardja 1999).

Kristal kolesterol. Diperoleh dari Laboratorium Biokimia UNS dalam bentuk sediaan padat. Kristal kolesterol dihaluskan menjadi serbuk kemudian dicampur dengan pakan standar.

Pengukuran kadar kolesterol LDL

Dalam pengukuran kadar kolesterol LDL perlu diperhatikan kadar trigliserida dan kilomikron. Kadar tersebut masih bertahan dalam plasma apabila tikus putih dipuaskan selama 4-5 jam. Pemeriksaan kadar kolesterol LDL dilakukan setelah tikus putih dipuaskan selama 12 jam. Hal tersebut dilakukan untuk menghindari kekeruhan plasma akibat trigliserida dan kilomikron yang mengganggu pengukuran kolesterol LDL (Rangland et al. 2000; Widijanti et al. 2008).

Dalam penelitian ini dilakukan pengukuran kadar kolesterol LDL dengan mengambil darah tikus putih melalui vena orbitalis dengan menggunakan tabung mikrokapiler sebanyak 1 ml tiap ekor. Darah tikus putih dikumpulkan secara terpisah dalam tabung sentrifugasi tanpa antikoagulan, kemudian diukur kadar kolesterol LDL. Pengukuran kolesterol LDL dilakukan di LPPT Unit II UGM.

Kadar kolesterol LDL diukur secara langsung dengan metode Direk *Homogenous* yaitu 1 ml darah tikus putih disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 15-20 menit untuk memisahkan serum dari darah. Sebanyak 10 µl serum kemudian ditambah dengan 1000 µl reagen pengukuran LDL (merek *Roche Diagnostic cat.no.1489232*). Setelah itu, sampel diinkubasi pada suhu 20-25°C selama 20 menit atau pada suhu 37°C selama 10 menit. Sampel serum dimasukkan ke dalam spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm dengan hasil pembacaan bersatuan mg/dl (Rosari 2004).

Pelaksanaan penelitian

Subjek penelitian dibagi menjadi dua kelompok, masing-masing sebanyak 17 ekor tikus putih. Kelompok I sebagai kelompok kontrol dan kelompok II sebagai kelompok perlakuan. Semua tikus putih diadaptasikan selama 1 minggu di laboratorium dan diberikan pakan standar sebanyak 100 gr/kg BB/hari dan akuades secara *ad libitum* (Herlambang 2007).

Pakan hiperkolesterolemik diberikan kepada semua subjek penelitian sebanyak 100 gr/kg BB secara *ad libitum*, sedangkan pemberian kuning telur itik dilakukan 7,5 ml/kg BB per sonde sebelum perlakuan. Kedua jenis pakan tersebut diberikan selama 2 minggu untuk meningkatkan kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan. Kuning telur itik diberikan pada pagi hari (pukul 08.00) dan sore hari (pukul 16.00). Selain itu, kelompok I dan kelompok II diberikan larutan PTU 0,1% secara *ad libitum*.

Semua tikus putih dipuaskan selama 12 jam setelah 2 minggu. Sampel darah tikus putih kemudian diambil melalui vena orbitalis mata dengan tabung mikrokapiler sebanyak 1 ml setiap ekor, kemudian sampel tersebut dikirim ke UPPT Unit II UGM, Yogyakarta untuk diukur kadar kolesterol LDL, sehingga diperoleh hasil pengukuran kolesterol LDL sebelum perlakuan.

Penelitian dilanjutkan dengan pemberian pakan hiperkolesterolemik dan jus tomat selama 2 minggu. Pakan hiperkolesterolemik diberikan secara *ad libitum* dan kuning telur itik per sonde kepada semua tikus putih, sedangkan jus tomat dan plasebo berupa akuades diberikan dengan dosis yang terbagi pada pagi hari (pukul 08.00) dan sore hari (pukul 16.00) untuk kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, serta dilakukan pengukuran berat badan setiap minggunya untuk penyesuaian dosis. Pemberian pakan dilakukan dengan dosis sebagai berikut.

Kelompok kontrol. Diet hiperkolesterolemik 100 gr/kg BB (campuran pakan standar, minyak kelapa, minyak babi, dan kristal kolesterol) diberikan secara *ad libitum* + kuning telur itik 7,5 ml/kg BB per sonde + plasebo akuades 30 ml/kg BB/hari per sonde + larutan PTU 0,1% secara *ad libitum*.

Kelompok perlakuan. Diet hiperkolesterolemik 100 gr/kg BB (campuran pakan standar, minyak kelapa, minyak babi, dan kristal kolesterol) diberikan secara *ad libitum* + kuning telur itik 7,5 ml/kg BB per sonde + jus tomat 30 ml/kg BB/hari per sonde + larutan PTU 0,1% secara *ad libitum*.

Semua tikus putih subjek penelitian selanjutnya dipuaskan selama 12 jam. Darah tikus putih kemudian diambil dan diukur kadar kolesterol LDL, sehingga diperoleh hasil kolesterol LDL *post-test*. Hasil pengukuran kolesterol LDL *pretest* dan *post-test* selanjutnya dianalisis.

Analisis data

Data berat badan dan kadar kolesterol LDL dari semua subjek penelitian dianalisis secara statistik dengan uji normalitas data *Shapiro Wilk Test* melalui Program SPSS Window 13.0. Pengujian normalitas data tersebut bertujuan untuk menentukan uji statistik yang sesuai dengan kondisi distribusi data yang diperoleh. Apabila distribusi data sesuai dengan kurva *Gaussian* (kurva normal) maka uji statistik dilakukan dengan menggunakan uji statistik parametrik. Uji statistik parametrik yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji-t berpasangan dan independen. Uji-t berpasangan adalah uji yang membandingkan perbedaan rerata masing-masing kelompok, sedangkan uji-t independen adalah uji yang membandingkan perbedaan rerata antarkelompok (Handoko 2007). Namun, apabila distribusi data tidak sesuai dengan kurva *Gaussian* maka uji statistik yang digunakan adalah uji statistik non-parametrik, yaitu uji *Wilcoxon* (Murti 1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini digunakan tikus putih jantan Strain Wistar sebanyak 34 ekor, berumur kurang lebih 3 bulan dengan berat badan 180-200 gram yang dibagi menjadi 2 kelompok. Kelompok I merupakan kelompok kontrol dan kelompok II merupakan kelompok perlakuan, masing-masing sebanyak 17 ekor tikus putih. Kedua kelompok diadaptasikan dalam lingkungan tempat penelitian selama satu minggu. Setiap kelompok ditempatkan di kandang berbeda yang mempunyai faktor lingkungan (suhu dan

kelembapan) sama agar faktor-faktor luar yang mengganggu penelitian dapat dikendalikan seminimal mungkin.

Semua tikus putih ditimbang terlebih dahulu sebelum perlakuan untuk mengetahui rerata berat badan tikus putih. Hasil penimbangan berat badan tikus putih dianalisis secara statistik sehingga diketahui rerata berat badan tikus putih dan simpangan bakunya (SB) (Tabel 1).

Hasil penghitungan berat badan tikus putih dari semua perlakuan dianalisis dengan uji-t independen dan diperoleh nilai $p=0,224$ ($p>0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa berat badan tikus putih antara kelompok I dan II tidak berbeda secara signifikan.

Setelah dilakukan penimbangan berat badan, semua tikus putih diberikan pakan hiperkolesterolemik 100 g/kg BB secara *ad libitum*, kuning telur itik 7,5 ml/kg BB per sonde, dan larutan PTU 0,1% secara *ad libitum* untuk mendapatkan kondisi hiperkolesterolemia selama 2 minggu. Setelah 2 minggu, semua tikus putih dipuasakan selama 12 jam kemudian diperiksa kadar kolesterol LDL untuk mendapatkan data kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan. Sampel darah tikus putih selanjutnya diambil dengan menggunakan tabung mikrokapiler sebanyak 1 ml melalui vena orbitalis. Pemeriksaan kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan sangat penting dilakukan untuk mengetahui keseragaman kadar kolesterol LDL tikus putih dari kedua kelompok.

Data kolesterol LDL sebelum perlakuan antara kedua kelompok dari grafik normalitas data dieliminasi, karena terdapat satu subjek penelitian dengan data kolesterol LDL sebelum perlakuan yang bernilai ekstrim antara kedua kelompok (Gambar 1). Data tersebut dikeluarkan dari analisis statistik berikutnya, sehingga hanya 16 data kolesterol LDL sebelum perlakuan yang diuji-t independen Uji-t independen dilakukan untuk mengukur kadar kolesterol LDL tikus putih antara kelompok I dan II sebelum perlakuan. Dari hasil penelitian diperoleh nilai $p=0,442$. Selanjutnya dengan menggunakan uji-t berpasangan terhadap kelompok II (Tabel 3) diperoleh nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa rerata kadar kolesterol LDL sebelum dan setelah perlakuan pada kelompok II berbeda secara signifikan ($p>0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa kadar kolesterol LDL tikus putih antara kelompok I dan II sebelum perlakuan tidak berbeda secara signifikan.

Setelah diperoleh data kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan, semua tikus putih diberi perlakuan, yaitu kelompok I tetap hiperkolesterolemia dan diberi larutan PTU 0,1% seperti kondisi sebelumnya, sedangkan kelompok II diberi jus tomat 30 ml/kg BB per sonde, di samping mendapatkan perlakuan yang sama dengan kelompok I. Perlakuan tersebut dilaksanakan selama 2 minggu. Kemudian dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol LDL untuk mendapatkan data kolesterol LDL setelah perlakuan.

Eliminasi data kadar kolesterol LDL setelah perlakuan antara kedua kelompok dari grafik normalitas data dilakukan, karena terdapat satu subjek penelitian dengan data kolesterol LDL setelah perlakuan yang bernilai ekstrim antara kedua kelompok, sehingga hanya 16 data

kolesterol LDL setelah perlakuan yang diuji-t independen (Gambar 2).

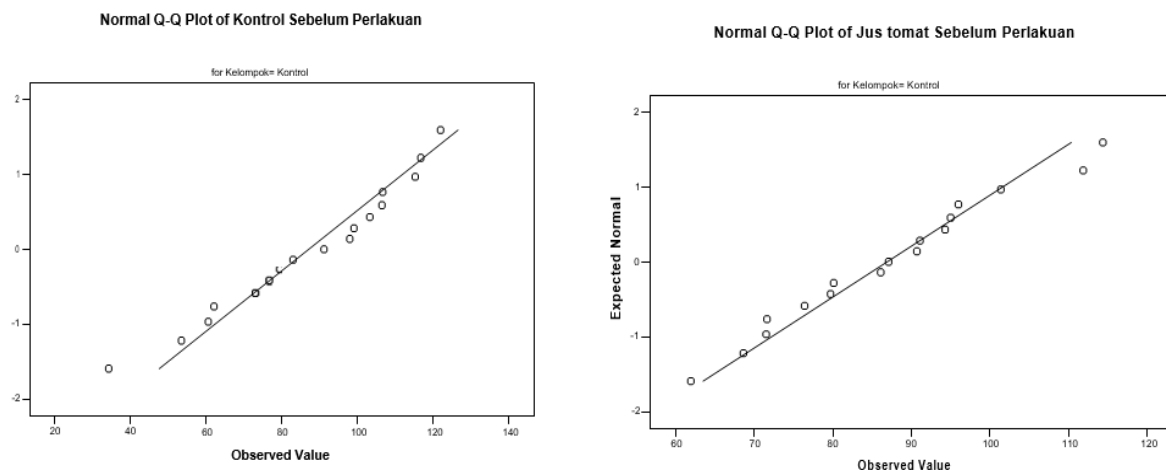
Setelah diperoleh rerata kadar kolesterol LDL tikus putih sebelum dan setelah perlakuan antara kedua kelompok, dapat dibandingkan rerata kadar kolesterol LDL sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok. Analisis dilakukan dengan menggunakan uji-t berpasangan terhadap kelompok I (Tabel 3) dan diperoleh nilai $p=0,250$ ($p>0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa rerata kadar kolesterol LDL pada kelompok I sebelum dan setelah perlakuan tidak berbeda secara signifikan.

Dari penelitian ini diperoleh rerata berat badan tikus putih kelompok I yaitu sebesar $189,71\pm 7,2$ gram dan kelompok II sebesar $193,28\pm 9,4$ gram dari data penimbangan berat badan tikus putih sebelum perlakuan (Tabel 1). Setelah dilakukan analisis statistik dengan uji normalitas *Shapiro Wilk Test*, diperoleh data berat badan tikus putih yang terdistribusi normal pada kelompok I dengan nilai $p=0,224$ ($p>0,05$), dan kelompok II dengan nilai $p=0,101$ ($p>0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data berat badan tikus putih antara kedua kelompok dengan kurva *Gaussian* (kurva normal) tidak berbeda secara signifikan. Oleh karena data berat badan tikus putih terdistribusi normal maka dapat digunakan uji-t independen untuk membandingkan berat badan tikus putih antara kedua kelompok sebelum perlakuan dan diperoleh nilai $p=0,224$ ($p>0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa berat badan tikus putih antara kedua kelompok tidak berbeda secara signifikan. Selanjutnya dilakukan analisis statistik terhadap berat badan yang bertujuan agar data berat badan tikus putih sesuai kriteria inklusi.

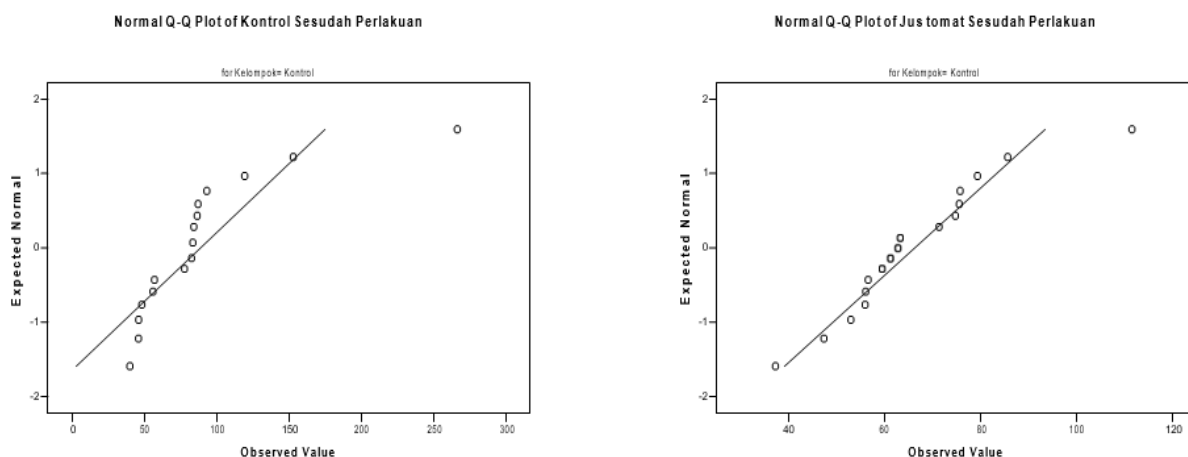
Semua tikus putih yang diuji diberikan pakan hiperkolesterolemik dan larutan PTU 0,1% selama 2 minggu untuk mendapatkan kondisi hiperkolesterolemia sebelum masa perlakuan dimulai (Salter et al. 1991). Setelah 2 minggu, dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol LDL untuk mendapatkan data kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan. Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui keseragaman kadar kolesterol LDL yang akan digunakan. Dari penelitian ini diperoleh rerata kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan pada kelompok I sebesar $90,31\pm 21,40$ mg/dl dan kelompok II sebesar $85,37\pm 13,67$ mg/dl (Tabel 2). Data tersebut menunjukkan bahwa kedua kelompok telah mencapai kondisi hiperkolesterolemia, karena berdasarkan penelitian Matos et al. (2005), rerata kadar kolesterol LDL normal tikus putih adalah $35,04\pm 13,64$ mg/dl. Peningkatan kadar kolesterol LDL pada semua subjek penelitian sebelum perlakuan disebabkan oleh banyak faktor.

Waktu pemberian pakan hiperkolesterolemik

Berdasarkan hasil penelitian Rand dan Queckenbush (2008), waktu pemberian pakan hiperkolesterolemik menentukan siklus diurnal hiperkolesterolemia. Pemberian pakan hiperkolesterolemik pada pukul 08.00 dan 16.00 dapat meningkatkan kapasitas lambung sebanyak 35%. Peningkatan kapasitas lambung memperlama pengosongan lambung, sehingga kondisi hiperkolesterolemia baru tercapai setelah 6 jam.



Gambar 1. Distribusi data kolesterol LDL sebelum perlakuan pada kelompok KI (kiri) dan KII (kanan)



Gambar 2. Distribusi data kolesterol LDL setelah perlakuan pada kelompok KI (kiri) dan KII (kanan)

Efek pakan hiperkolesterolemik

Pemberian pakan hiperkolesterolemik meningkatkan aktivitas ACAT secara signifikan ($p < 0,005$) dan meningkatkan respons hiperkolesterolemia pada kromosom autosom nomor 3, 5, dan 14 secara signifikan ($p < 0,05$) (Asahina et al. 2008; Salter et al. 1991). Peningkatan aktivitas ACAT karena pakan hiperkolesterolemik meningkatkan kejenuhan kadar kolesterol eksogen (Salter et al. 1991).

Selain itu, kejenuhan kadar kolesterol eksogen disebabkan oleh peningkatan respons lokus *Quantitative Trait Locus* (QTL) terhadap pakan hiperkolesterolemik pada kromosom 3, 5, dan 14. Dari ketiga kromosom tersebut, QTL pada kromosom 5 dan 14 mempunyai responsivitas tinggi terhadap pakan hiperkolesterolemik. Dengan penanda genetik *D5Rat95* dan *D14Rat43*, Asahina et al. (2008) menemukan gen *ATP-Binding Cassette transporter A 1* (ABCA 1) pada QTL yang bertanggung jawab mengatur metabolisme lipoprotein dan kolesterol. Berdasarkan hasil penelitian Dolphin (2008), peningkatan ACAT menyebabkan peningkatan sintesis ester kolesterol LDL pada sisterna golgi, vesikel hepar, dan plasma.

Larutan PTU 0,1%

Hormon triiodotironin (T3) meningkatkan ekspresi reseptor kolesterol LDL di hepar sebanyak 25% setelah 4 jam dan 30% setelah 9 jam, sehingga dibutuhkan larutan PTU 0,1% untuk menghambat sintesis hormon T3 yang berakibat menurunkan ekspresi reseptor kolesterol LDL pada permukaan sel hepar (Salter et al. 1991).

Larutan PTU 0,1% dapat menurunkan translasi mRNA menjadi reseptor kolesterol LDL di hepar. Penurunan translasi mRNA menjadi reseptor kolesterol LDL menurunkan ekspresi reseptor kolesterol LDL pada permukaan hepar dan mengakibatkan hepar meningkatkan translasi mRNA menjadi protein γ -aktin, sehingga peningkatan protein γ -aktin terjadi di hepar (Salter et al. 1991).

Analisis statistik dilakukan dengan uji-t independen terhadap kadar kolesterol LDL tikus putih sebelum perlakuan antara kedua kelompok, karena distribusi data kolesterol LDL pada kedua kelompok sebelum perlakuan normal. Dari analisis statistik tersebut, diperoleh nilai $p = 0,442$ ($> 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa rerata kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan antara kedua

kelompok tidak berbeda secara signifikan, sehingga dapat dilanjutkan perlakuan terhadap subjek penelitian, karena kolesterol LDL sebelum perlakuan antara kedua kelompok seragam.

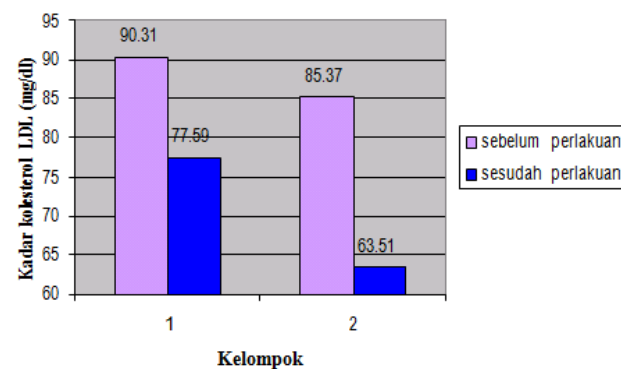
Setelah 2 minggu perlakuan, dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol LDL setelah perlakuan. Setelah diperoleh data kolesterol LDL setelah perlakuan, dilakukan eliminasi data ekstrim pada kelompok I. Hal tersebut dilakukan khususnya pada data kolesterol LDL dari kelompok I setelah perlakuan karena data tersebut terdistribusi tidak normal (Gambar 2). Hal tersebut sesuai dengan uji normalitas *Shapiro Wilk Test* yang menyatakan bahwa distribusi data kadar kolesterol LDL kelompok I setelah perlakuan mempunyai nilai $p=0,000$ ($p<0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa antara kurva data kolesterol LDL kelompok I setelah perlakuan dan kurva *Gaussian* berbeda secara signifikan. Setelah dilakukan eliminasi data kolesterol LDL setelah perlakuan yang ekstrim, kemudian dilakukan uji normalitas terhadap data kolesterol LDL kelompok I setelah perlakuan dan diperoleh nilai $p=0,058$ ($p>0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa antara kurva data kolesterol LDL pada kelompok I setelah perlakuan dan kurva *Gaussian* tidak berbeda secara signifikan, sehingga dapat dibandingkan rerata kolesterol LDL dari kelompok I sebelum dan setelah perlakuan dengan uji-t berpasangan. Dari hasil analisis statistik tersebut, diperoleh nilai $p=0,250$ ($p>0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa rerata kolesterol LDL dari kelompok I sebelum dan setelah perlakuan tidak berbeda secara signifikan. Hal tersebut terjadi karena rerata kolesterol LDL kelompok I setelah perlakuan menurun (Gambar 3).

Pemberian larutan PTU 0,1% menyebabkan perubahan kondisi hipertiroid kelompok I menjadi kondisi eutiroid dan hipotiroid. Berdasarkan hasil penelitian Salter et al. (1991), kondisi eutiroid tikus putih sedikit meningkatkan kadar kolesterol VLDL dan menurunkan kadar kolesterol LDL, sedangkan kondisi hipotiroid kadar kolesterol LDL dan kolesterol VLDL meningkat secara signifikan ($p<0,01$).

Menurut hasil penelitian Riley et al. (1980), pada kondisi eutiroid, pemberian pakan hiperkolesterolemik dan PTU 0,1% menyebabkan usus mensekresikan kolesterol IDL yang membawa *ApoA-I* dan *ApoB*. Saat kolesterol IDL berubah menjadi kolesterol LDL, *ApoA-I* ditukarkan dengan *ApoE* yang berasal dari kolesterol HDL₂₊₃, sehingga kolesterol LDL menjadi jenuh *ApoE*. Peningkatan *ApoE* pada kolesterol LDL menyebabkan kolesterol LDL mudah dikenali oleh reseptor *ApoE* di hepar, sehingga kadar kolesterol LDL menurun (Dolphin 2008). Hal tersebut dibuktikan juga oleh Davidson et al. (1988) bahwa pemberian larutan PTU 0,1% meningkatkan sintesis *ApoE*, menurunkan sintesis asam lemak, menurunkan sekresi trigliserol ke dalam kolesterol VLDL di hepar, meningkatkan lipoprotein lipase, dan meningkatkan katabolisme trigliserol. Kondisi tersebut menurunkan kolesterol LDL (Salter et al. 1991).

Namun, berdasarkan hasil penelitian Swift et al. (2008), pemberian larutan PTU 0,1% tidak menurunkan kecepatan pembersihan sisa semua jenis lipoprotein, baik pada kondisi hipotiroid maupun eutiroid, sehingga profil

lipoprotein plasma tidak berubah. Akan tetapi, pemberian pakan hiperkolesterolemik dan larutan PTU 0,1% pada kondisi hipotiroid menyebabkan pembersihan kolesterol *remnant* VLDL menurun, sehingga kondisi tersebut meningkatkan kolesterol LDL (Dolphin 2008).



Gambar 3. Rerata kadar kolesterol LDL tikus putih sebelum dan sesudah perlakuan (mg/dl).

Tabel 1. Rerata berat badan sebelum perlakuan

| Kelompok | Rerata berat badan sebelum perlakuan (gram) | p |
|-----------|---|-------|
| I (n=17) | 189,71±7,2 | 0,224 |
| II (n=17) | 193,28±9,4 | |

Tabel 2. Rerata kadar kolesterol LDL kedua kelompok tikus putih sebelum dan setelah perlakuan

| Kelompok | Rerata kadar kolesterol LDL (mg/dl) | p |
|--------------------------|-------------------------------------|-------|
| Sebelum perlakuan | | |
| I (n=16) | 90,31 ± 21,40 | 0,442 |
| II (n=16) | 85,37 ± 13,67 | |
| Setelah perlakuan | | |
| I (n=16) | 77,59±29,59 | - |
| II (n=16) | 63,51±12,83 | |

Tabel 3. Rerata kadar kolesterol LDL tikus putih sebelum dan setelah perlakuan pada kelompok I dan II

| Kelompok | Rerata kadar kolesterol LDL (mg/dl) | | p |
|-----------|-------------------------------------|-------------------|-------|
| | Sebelum Perlakuan | Setelah Perlakuan | |
| I (n=16) | 90,31±21,40 | 77,59±29,59 | 0,250 |
| II (n=16) | 85,37±13,67 | 63,51±12,83 | 0,000 |

Pemberian pakan hiperkolesterolemik menyebabkan abnormalitas sekresi lipoprotein dan apolipoprotein di hepar. Pada kondisi hiperkolesterolemia, terjadi peningkatan *ApoA-I* dan *ApoA-IV* serta penurunan *ApoB-240*. Pakan hiperkolesterolemik akan meningkatkan sekresi kolesterol β -VLDL dan HDLc (HDL1). Lipoprotein tersebut hanya mengandung ester kolesterol (Swift et al. 2008).

Kolesterol β -VLDL mengandung lebih dari 60% *Apo-IV* dan sisanya mengandung *ApoA-I*. *Apo-I* dan *Apo-IV* pada kolesterol β -VLDL berfungsi sebagai penukar apolipoprotein dengan *ApoE* yang berasal dari kolesterol HDLc. Pelekatan *ApoE* pada kolesterol β -VLDL menyebabkan kolesterol β -VLDL mudah dikenali oleh reseptor *ApoE* di hepar, sedangkan HDLc sendiri berfungsi sebagai pemberi *ApoE* pada semua macam lipoprotein, termasuk kolesterol LDL. Apabila kolesterol LDL dilekati *ApoE* maka kolesterol tersebut juga mudah dikenali oleh hepar, akibatnya konsentrasi kolesterol LDL menurun (Swift et al. 2008).

Komposisi asam lemak pakan hiperkolesterolemik

Komposisi asam lemak yang terkandung dalam pakan hiperkolesterolemik mempengaruhi kondisi hiperkolesterolemia. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran kandungan asam lemak dari pakan hiperkolesterolemik, karena biaya pemeriksaan mahal, sehingga variabel tersebut tidak dapat dikendalikan. Kandungan asam lemak dari pakan hiperkolesterolemik sangat mempengaruhi kolesterol LDL.

Pada penelitian ini dibuat pakan hiperkolesterolemik dari pakan standar, minyak kelapa, minyak babi, kristal kolesterol, dan kuning telur. Pakan hiperkolesterolemik diberikan secara *ad libitum* yang terdiri atas campuran pakan standar, minyak kelapa, minyak babi, dan kristal kolesterol, sedangkan kuning telur itik diberikan per sonde. Asam palmitat, asam miristat, dan asam laurat yang terkandung dalam pakan hiperkolesterolemik merupakan asam lemak jenuh terpenting untuk meningkatkan kadar kolesterol LDL. Tidak hanya asam lemak jenuh yang terkandung di dalam pakan hiperkolesterolemik, tetapi juga asam lemak tidak jenuh. Asam lemak tidak jenuh mengganggu peningkatan kadar kolesterol LDL.

Penggunaan campuran pakan standar, kuning telur, minyak babi, minyak kelapa, dan kristal kolesterol sebagai pakan hiperkolesterolemik mempunyai beberapa alasan. Berdasarkan hasil penelitian Bartov et al. (2008), penggunaan kuning telur dan kristal kolesterol meningkatkan kadar kolesterol LDL. Hal tersebut dibuktikan secara tidak langsung dengan mengukur sekresi asam empedu tikus putih. Peningkatan sekresi asam empedu dari kolesterol endogen merupakan kompensasi hepar dalam merespons peningkatan kolesterol LDL.

Namun, kuning telur itik selain mengandung kadar kolesterol yang tinggi, ternyata juga mengandung *polyenoic acid*, terutama *di-*, *tri-*, dan *tetraenoic*. *Polyenoic acid* merupakan asam lemak tidak jenuh yang mendepresi kadar kolesterol plasma, sehingga kondisi hiperkolesterolemia tidak tercapai dan menyebabkan penurunan kadar LDL (Bartov et al. 2008). Pada penelitian

ini tikus putih diberikan kuning telur per sonde yang bertujuan agar kandungan asam lemak jenuh tidak teroksidasi oleh udara. Apabila kuning telur itik diberikan secara *ad libitum* maka asam lemak jenuh yang terkandung di dalamnya teroksidasi dan dapat mengganggu efek peningkatan kadar kolesterol LDL. Selain itu, pencampuran kristal kolesterol dengan minyak babi dapat memperlambat penyerapan kristal kolesterol di usus (Bartov et al. 2008). Penggunaan minyak kelapa dan minyak babi sebagai pakan hiperkolesterolemik dikarenakan mengandung asam lemak jenuh yang sangat tinggi, terutama asam miristat, asam laurat, dan asam palmitat (Mihardja 1999).

Metode pengukuran kolesterol LDL

Metode pengukuran kolesterol LDL sangat mempengaruhi kadar kolesterol LDL. Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kolesterol LDL dengan metode Direk *Homogenous* di LPPT Unit IV UGM. Metode tersebut tidak memperhatikan kadar trigliserida dalam pengukuran kolesterol LDL seperti pada metode Indirek berdasarkan formula Friedewald. Berdasarkan hasil penelitian Widijanti et al. (2008), hasil pengukuran kolesterol LDL dengan metode *Direk Homogenous* lebih rendah jika dibandingkan dengan metode Indirek (formula Friedewald) saat kadar trigliserida <400 mg/dl. Kedua pengukuran tersebut menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Hasil pengukuran kadar kolesterol LDL dengan metode *Direk Homogenous* lebih rendah daripada metode Indirek Friedewald, karena pada metode Direk, kolesterol LDL dipisahkan dari kolesterol IDL dan Lp(a). Kolesterol IDL dan Lp(a) yang mempunyai kontribusi meningkatkan hasil pengukuran kolesterol LDL, menjadi tidak ikut terukur (Widijanti et al. 2008).

Polimorfisme Gen Promoter *CYP7A1*

Polimorfisme gen promotor *CYP7A1* mempengaruhi peningkatan enzim 7- α -hidroksilase. Enzim tersebut berpengaruh dalam sintesis asam empedu yang sensitif terhadap peningkatan kadar kolesterol LDL. Pengaturan aktivitas gen promotor *CYP7A1* secara tidak langsung dilakukan oleh *Hepatocyte Nucleus Factor 3* (HNF-3). HNF-3 mengatur gen promotor sekuen DNA di *region* 432 *base pair* (bp) dan 220 bp. Gen promotor tersebut mempunyai efek meningkatkan polimorfisme gen promotor *CYP7A1* di *region* 278 bp. Dengan demikian, regulasi transkripsi mRNA untuk enzim 7- α -hidroksilase dikendalikan oleh HNF-3 (Hofman 2005).

Konversi adenin (A) menjadi sitosin (C) pada sekuen DNA *region* 278 bp menyebabkan variasi dimer basa nitrogen. Variasi dimer yang dihasilkan adalah AA, AC, dan CC. Variasi dimer tersebut sangat penting terhadap pengaruh kadar kolesterol LDL setelah pemberian pakan hiperkolesterolemik (Hofman 2005). Dimer CC sangat sensitif terhadap peningkatan kadar kolesterol LDL. Tikus putih berdimer CC di gen promotor *CYP7A1* menurunkan kolesterol LDL sampai $(-1,44) \pm 1,18$ mmol/dl dibandingkan dengan dimer AA yang menurunkan kolesterol LDL sampai $0,13 \pm 0,14$ mmol/dl dan dimer AC yang menurunkan kolesterol LDL sampai $0,38 \pm 0,99$ mmol/dl. Sensitivitas dimer CC diwujudkan dengan peningkatan

sintesis enzim 7- α -hidroksilase. Enzim tersebut meningkatkan produksi asam empedu dari kolesterol LDL (Hofman 2005).

Peningkatan kolesterol LDL merangsang hepar mengeluarkan *Sterol Regulatory Element Binding Protein* (SREBP). SREBP meningkatkan reseptor kolesterol LDL. Peningkatan reseptor kolesterol LDL menurunkan kolesterol LDL. Selain gen *CYP7A1*, terdapat juga gen *CYP27* dan *IBAT* yang mengatur sintesis asam empedu dari kolesterol endogen (Hofman 2005).

Gen *CYP27* secara normal tidak mempengaruhi sintesis asam empedu dari kolesterol endogen, tetapi apabila kerusakan gen *CYP27* terjadi maka resistensi hepar terhadap enzim 7- α -hidroksilase meningkat, sehingga sintesis asam empedu dari kolesterol endogen dan kolesterol LDL menurun serta meningkatkan kolesterol LDL di plasma. Gen *IBAT* berperan sebagai pengatur absorpsi asam empedu melalui siklus enterohepatik. Gen *IBAT* secara tidak langsung mengatur sintesis asam empedu melalui *negative feed back mechanism* terhadap gen *CYP7A1*, sehingga sintesis asam empedu menjadi terkendali. Peningkatan ekspresi gen *IBAT* menyebabkan penurunan sintesis asam empedu dari kolesterol LDL, sehingga kondisi tersebut meningkatkan kolesterol LDL (Hofman 2005).

Keseimbangan reseptor nukleus di hepar

Keseimbangan reseptor nukleus sel hepar sangat mempengaruhi sintesis asam empedu dari kolesterol endogen dan kolesterol LDL. Reseptor nukleus sel hepar ada 2 macam, yaitu *Liver X Receptor* (LXR) dan *Farnesoid X Receptor* (FXR). LXR merangsang transkripsi gen *CYP7A1*, sehingga sintesis empedu dari kolesterol endogen meningkat. Peningkatan sintesis tersebut mengakibatkan peningkatan reseptor kolesterol LDL di hepar. Peningkatan reseptor kolesterol LDL di hepar menurunkan kolesterol LDL. FXR meningkatkan *Small Heterodimer Partner* (SHP). SHP menyekat *Liver Homolog Receptor-1* (LHR-1). LHR-1 merupakan faktor terpenting yang mengaktifkan transkripsi gen *CYP7A1*. Penyekatan LHR-1 menurunkan sintesis asam empedu dari kolesterol LDL, sehingga kolesterol LDL meningkat (Hofman 2005).

Berdasarkan uji normalitas data *Shapiro Wilk Test*, kadar kolesterol LDL kelompok II sebelum dan setelah perlakuan terdistribusi normal, karena kadar kolesterol LDL kelompok II sebelum perlakuan mempunyai nilai $p=0,887$ ($p>0,05$) dan kadar kolesterol LDL kelompok II setelah perlakuan mempunyai nilai $p=0,298$ ($p>0,05$). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa antara kurva data kolesterol LDL kelompok II sebelum dan sesudah perlakuan dengan kurva *Gaussian* tidak berbeda secara signifikan. Setelah data kolesterol LDL kelompok II sebelum dan setelah perlakuan terdistribusi normal maka dapat dibandingkan dengan uji-t berpasangan dan diperoleh nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa antara rerata kadar kolesterol LDL kelompok II sebelum dan setelah perlakuan berbeda secara signifikan.

Rerata kadar kolesterol LDL kelompok II setelah perlakuan lebih rendah daripada sebelum perlakuan dan

berdasarkan analisis statistik dengan uji-t berpasangan, rerata kadar kolesterol LDL kelompok II sebelum dan setelah perlakuan berbeda secara signifikan (Gambar 3). Hal tersebut menunjukkan bahwa jus tomat mampu menurunkan kadar kolesterol LDL. Efek jus tomat selama penurunan kolesterol LDL dipengaruhi oleh pemanasan tomat, pakan hiperkolesterolemik, asam lambung, garam empedu, dan lipoprotein sebagai transporter karotenoid tomat (Parker et al. 1999).

Pemanasan tomat meningkatkan isomerisasi likopen dan β -karoten menjadi bentuk *cis*. Bioavailabilitas karotenoid seperti likopen dan β -karoten meningkat 50% dan bioavailabilitas flavonol seperti *quercetin* meningkat 17% apabila jus tomat diberikan bersamaan dengan pakan hiperkolesterolemik (Parker et al. 1999), sehingga tikus putih diberikan pakan hiperkolesterolemik berupa kuning telur itik dan jus tomat bersama-sama ke dalam alat sonde lambung. Pemberian jus tomat bersamaan dengan kuning telur itik kepada tikus putih bertujuan agar penyerapan karotenoid jus tomat tercapai dan menimbulkan efek penurunan kolesterol LDL. Hal tersebut telah dibuktikan bahwa kadar kolesterol LDL kelompok II sebelum dan setelah perlakuan berbeda secara signifikan.

Pemanasan tomat selama perlakuan lebih dari 5 menit meningkatkan kehilangan likopen sebanyak 1,1%. Semakin lama pemanasan dan semakin tinggi suhu menghilangkan likopen sebanyak 17,1%. Namun, apabila tomat dipanaskan pada suhu sedang (82-93°C) selama 15 menit dapat meningkatkan kandungan likopen, sehingga pemanasan buah tomat pada suhu sedang dilakukan sebelum pembuatan jus tomat. Pemanasan buah tomat dan pengaruh asam lambung meningkatkan isomerisasi beberapa zat seperti likopen, β -karoten, *quercetin*, kaemferol, dan naringenin (Hedges dan Lister 2005).

Proses pemanasan menyebabkan perubahan bentuk *all trans*-likopen dan β -karoten menjadi bentuk *9-cis* dan *13-cis*. Bentuk *9-cis* dan *13-cis* meningkatkan penyerapan likopen, tetapi bentuk tersebut memperlambat penyerapan β -karoten. Bentuk *quercetin* konjugat berubah menjadi bentuk *quercetin* bebas sebanyak 30%, sehingga bentuk tersebut mempermudah penyerapan. Bentuk naringenin *chalcon* berubah menjadi naringenin glikosida sehingga juga mempermudah penyerapan. Namun, apabila pemanasan buah tomat berlangsung sangat lama dapat melumerkan kulit tomat dan meningkatkan kehilangan 80% *quercetin*, kaemferol, dan naringenin karena ketiga zat tersebut terkandung di dalam kulit tomat (Hedges dan Lister 2005).

Garam empedu membantu penyerapan zat karotenoid tomat di usus karena garam empedu membentuk misel dari pakan hiperkolesterolemik untuk melarutkan zat karotenoid tomat. Metabolisme lipoprotein berperan sebagai transporter karotenoid ke dalam sel-sel tubuh. Kilomikron dan kolesterol LDL sebagai pengangkut utama zat karotenoid, seperti α -karoten, β -karoten, dan likopen (Olson 1994).

Pakan hiperkolesterolemik secara tidak langsung meningkatkan lipoprotein abnormal HDLc yang hanya mengandung ester kolesterol dan *Apo-E*. *Apo-E* dari HDLc diberikan kepada kolesterol LDL, sehingga kolesterol LDL

mudah dikenali oleh hepar (Swift et al. 2008). Dengan demikian, bersamaan dengan katabolisme kolesterol LDL di hepar, terjadi peningkatan akumulasi karotenoid di hepar. Kondisi tersebut menimbulkan efek penurunan kolesterol LDL pada kelompok II.

KESIMPULAN

Pemberian jus tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sebanyak 30 ml/kg BB/hari selama 2 minggu menurunkan kolesterol LDL tikus putih (*Rattus norvegicus*) secara signifikan ($p < 0,05$).

DAFTAR PUSTAKA

- Asahina M, Sato M, Imaizumi K. 2005. Genetic analysis of diet-induced hypercholesterolemia in exogenously hypercholesterolemic rats. *J Lipid Res* 46(10): 2289-2294.
- Bartov I, Reiser R, Henderson. 2008. Hypercholesterolemic effect in female rat of egg yolk versus crystalline cholesterol dissolved in lard. *J Nutr* 103(10): 1400-1405.
- Parker RS, Swanson JE, You JE et al. 1999. Bioavailability of carotenoid in human subjects. *Proc Nutr Soc* 58(1): 155-162.
- Dina PA, Hidayat HN. 2005. Minuman berkarbonasi dari buah segar. Trubus Agrisarana, Surabaya.
- Dolphin PJ. 2008. Serum and hepatic nascent lipoproteins in normal and hypercholesterolemic rats. *J Lipid Res* 22(6): 971-989.
- Gunawan I, Sudrajat SS, Wanandi SI. 2004. Effects of tomato juices consumption on plasma lycopene levels of male light smokers. *Ind J Med* 13: 146-150.
- Handoko P. 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Brokoli Per Oral Terhadap Kadar Glukosa Tikus Putih. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Hedges LJ, Lister CE. 2005. Nutritional attributes of salad vegetables. Crop and Food Research Confidential Report No. 1473. New Zealand Institute, Christchurch, New Zealand.
- Herlambang AB. 2007. Pengaruh Pemberian Jus Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Hofman MK, Princen HM, Zwinderman AH et al. 2005. Genetic variation in the rate-limiting enzyme in cholesterol catabolism (cholesterol 7 α -hydroxylase) influences the progression of atherosclerosis and risk of new clinical events. *Clin Sci (Lond)* 108(6): 539-545.
- Maryanto, Fatimah. 2004. Pengaruh pemberian jambu biji (*Psidium guajava* L.) pada lipidemia serum tikus (*Sprague dawley*) hiperkolesterolemia. *Media Medika Indonesia* 39: 105-111.
- Matos LS, Paula H, Pedrosa LM et al. 2005. Dietary models for inducing hypercholesterolemia in rats. *Braz Arch Biol Technol* 48(2): 203-209.
- Mihardja L. 1999. Pengaruh beberapa diet terhadap hiperlipidemia. *Media Litbangkes* 9: 8-12.
- Murti B. 1994. Penerapan metode statistik non-parametrik dalam ilmu-ilmu kesehatan. Gramedia Pustaka, Jakarta.
- Olson JA. 1994. Absorption, transport and metabolism of carotenoids in humans. *Pur Appl Chem* 66: 1011-1016.
- Priyana A. 2007. Perbandingan antara *high density lipoprotein*, lipoprotein(a), dan *small dense low density lipoprotein* sebagai parameter pertanda risiko penyakit jantung koroner. *Univ Med* 26: 12-17.
- Pusparini. 2006. *Low density lipoprotein* padat kecil sebagai faktor risiko aterosklerosis. *Univ Med* 25: 22-32.
- Rand P, Quackenbush B. 2008. Cholesterol level in hypercholesterolemic rat: Diurnal variation. *Ind J Nutr*.
- Rangland BD, Konrad RJ, Chaffin C et al. 2000. Evaluation of homogeneous direct LDL-cholesterol assay in diabetic patients: Effect of glycemic control. *Clin Chem* 46: 1848-1851.
- Rosari TC. 2004. Pengaruh Pemberian Tempe Terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Minyak Kelapa. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Saap EM. 2007. Perbedaan Penurunan Kadar LDL Kolesterol Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) pada Pemberian Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.) Mentah dan Dimasak. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Salter AM, Hayash R, Al-Senni M et al. 1991. Effects of hypothyroidism and high-fat feeding on mRNA concentrations for the low-density-lipoprotein receptor and on acyl-coA: Cholesterol acyltransferase activities in rat liver. *Biochem J* 276: 825-832.
- Sargowo D. 1995. Proses aterosklerosis sebagai penyebab penyakit jantung koroner: Ditinjau dari konsep patologi molekuler sebagai landasan teori. *Majalah Kedokteran Indonesia* 45: 311-315.
- Silaste ML, Alfthan G, Aro A et al. 2007. Tomato juice decreases LDL cholesterol levels and increases LDL resistance to oxidants. *British J Nutr* 98: 1251-1258.
- Swift L, Soulé PD, Gray ME et al. 2008. Intestinal lipoprotein synthesis. Comparison of nascent Golgi lipoproteins from chow-fed and hypercholesterolemic rats. *J Lipid Res* 25: 1-13.
- Trisnawati Y, Setyawan P. 1994. Tomat pembudidayaan secara komersial. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Tsalissavrina I, Wahono D, Handayani D. 2006. Pengaruh pemberian diet tinggi karbohidrat dibandingkan diet tinggi lemak terhadap kadar trigliserida dan HDL darah pada *Rattus norvegicus* galur Wistar. *Jurnal Kedokteran Brawijaya* 22: 81-89.
- Waspadji S. 2006. Metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Ind J Med* 38: 177-178.
- Widijanti A, Koesmardani R, Hartojo. 2008. Perbedaan kadar kolesterol LDL yang diperiksa dengan Metode Direk (Homogenous LDL-C) dan Metode Indirek (Formula Friedewald). Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.