

## BAB 6

## PEMBAHASAN

**6.1 Karakteristik Tikus (*Rattus norvegicus strain wistar*)**

Berdasarkan hasil uji homogenitas berat badan tikus menggunakan uji statistik *Kruskal- Wallis* didapatkan hasil uji homogenitas rata-rata berat badan awal tikus antar kelompok perlakuan menunjukkan hasil yang tidak signifikan yaitu  $p < 0,05$  ( $p = 0,127$ ) dikarenakan rata-rata berat badan tikus kelompok P1 dan P4 lebih besar dari pada kelompok yang lainya dikarenakan setelah melalui pengacakan tikus pada kelompok P1 dan P4 memiliki berat badan yang lebih tinggi tetapi masih dalam rentang kriteria inklusi dan dalam penelitian sampel mempunyai kesempatan yang sama untuk terpilih atau tidak terpilih sebagai sampel sehingga unsur subjektivitas tidak berperan dalam pemilihan sampel (Basit, 2011)

Untuk umur sampel tikus 6-8 minggu dan berat badan tikus awal memiliki berat yang berada pada rentang kriteria inklusi serta warna tikus putih dan kondisi sampel tikus sama minimal tidak berbeda secara signifikan dan segala perubahan yang terjadi pada tikus semata-mata dikarenakan perlakuan yang diberikan pada penelitian.

**6.2 Pengaruh Paparan Asap Rokok terhadap Kadar LDL Tikus Putih (*Rattus norvegicus strain wistar*)**

Berdasarkan uji statistik *Kruskal- Wallis* pada tingkat kepercayaan 95 % hubungan pemaparan asap rokok dan pemberian kombucha coffee terhadap kadar LDL ( $p=0,037$ ) menunjukkan perbedaan kadar LDL yang signifikan. Asap

rokok yang mengandung banyak radikal bebas yang berkontribusi terhadap oksidasi LDL secara *in vitro*, hal ini sesuai dengan pada penelitian dengan menggunakan tikus percobaan yang mendapat paparan asap rokok yang cukup lama, ternyata dapat meningkatkan kadar LDL (Chitra, 2000).

Berdasarkan Gambar 5.2 diketahui bahwa rerata kadar LDL yang paling rendah adalah pada kelompok P<sub>0</sub> (Kontrol negatif), yaitu tanpa paparan asap rokok dan tanpa kombucha coffee dengan rerata kadar LDL sebesar 7,06 mg/dl. Rerata kadar LDL yang tertinggi adalah pada kelompok P<sub>1</sub> (kontrol positif) mg/dl yaitu dengan paparan asap rokok tanpa pemberian kombucha coffee sebesar 22,82 mg/dl.

Pada kelompok P<sub>1</sub> (kontrol positif) memiliki tingkat kadar LDL yang paling tinggi hal ini dikarenakan perlakuan pemberian asap rokok selama 30 hari dan tidak adanya perlakuan intervensi berupa pemberian kombucha coffee sehingga akumulasi kadar LDL dalam darah tikus kelompok P<sub>1</sub> tinggi dan tidak adanya antioksidan yang terdapat dalam kombucha coffee untuk menurunkan kadar LDL yang terakumulasi tersebut.

### **6.3 Pengaruh kombucha coffee terhadap kadar LDL Tikus (*Rattus norvegicus strain wistar*) yang telah Dipapar Asap Rokok**

Dalam Penelitian ini pemberian kombucha *coffee* secara signifikan memberikan efek terhadap kadar LDL tikus wistar, dimana perbedaan dosis kombucha coffee memberikan perbedaan kadar LDL ( $p=0,037$ ). Dengan nilai kadar LDL paling rendah pada kelompok P<sub>2</sub> yakni tikus wistar yang diberikan dosis 2,7 ml per hari dengan satu kali sonde. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Tuti Rahayu *kombucha coffee* dapat menurunkan

kadar kolesterol darah pada tikus putih (*rattus norvegicus L*) yang diberikan dengan berbagai dosis dan frekuensi tertentu.

Penurunan kadar LDL kombucha coffee diduga oleh senyawa katekin Epigalokatekin galat (EGCG) dan kuersetin yang merupakan antioksidan kuat dengan kekuatan 100 kali dan 25 kali lebih tinggi daripada vitamin C dan vitamin E. Senyawa katechin dalam polyfenol yang dikandung *kombucha coffee* dalam bentuk tanin memiliki efek antioksidan kuat untuk menghambat pertumbuhan sel kanker dan mengurangi penimbunan kolesterol dalam darah dan mempercepat pembuangan kolesterol melalui feces, selain itu senyawa katechin mampu bertindak sebagai inhibitor dari *angiotensin Transferase* (enzim penyebab tekanan darah tinggi) dan penangkal radikal bebas (Anik Purborini, 2003), hal ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sho'iratul hukmah (2007) yaitu aktivitas antioksidan katekin dari teh hijau (*Camellia sinensis O.K.var. Assamica (Mast)*) hasil ekstraksi dengan variasi pelarut dan suhu menunjukkan bahwa senyawa katekin memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dengan pelarut etanol yaitu sebesar 70 % dan dengan suhu 40<sup>o</sup> C dan menunjukkan bahwa senyawa katekin berfungsi sebagai antioksidan dan memberikan atom hidroksilnya untuk menstabilkan radikal bebas yang terbentuk dari asam lemak tidak jenuh.

Senyawa phenol mempunyai aktivitas biologi sebagai antioksidan yang poten secara *in vitro* sehingga mampu melindungi DNA, lipid dan protein dengan melawan radikal bebas yang merusak secara *in vivo*, sehingga mampu mengurangi risiko terjadinya penyakit kronik (Lelyana, 2008). Beberapa ahli pangan berpendapat bahwa Adanya tanin yang terdiri dari katekin dan vitamin B3 (*niacin*) dalam *kombucha coffee* dimungkinkan dapat mengubah kadar

kolesterol dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L) dan berdasarkan uji analisis kandungan kombucha *coffee* yang dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada (2006), disebutkan bahwa kombucha *coffee* mengandung senyawa-senyawa kimia yaitu asam asetat, asam laktat, alkohol, kafein, protein, vitamin B2 serta memiliki kadar gula reduksi dan pH dengan tingkat yang berbeda-beda pada lama fermentasi yang berbeda-beda pula, yaitu 0, 6, 12, dan 18 hari (Rahayu, 2005) dan Senyawa-senyawa kimia yang terdapat pada Kombucha Coffee yaitu, vitamin B1 (tiamin), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B3 (niasin), vitamin B12 (sianokobalamin), vitamin C, asam asetat, asam amino, asam glukoronat, asam laktat, alkohol, pH 3,33%, kafein dan tanin. Pada KC juga terdapat senyawa-senyawa asam asetat 10,2 %, asam ascorbat 3,08 mg %, vitamin B1 (tiamin) 0,017 mg %, vitamin B2 (Riboflavin) 0,028 mg %, vitamin B3 (Niasin), vitamin B12 0,772 %, asam amino 7,7 % dan kafein 0,53 mg/l (Rahayu, 2005). Beberapa penelitian mengenai pengaruh kafein terhadap kejadian penyakit kardiovaskular belum menunjukkan hasil yang konsisten. Beberapa penelitian menunjukkan adanya pengaruh negatif antara konsumsi kafein dengan kejadian penyakit kardiovaskular. Dua studi kohort yang dilakukan selama 15 tahun pada 155 594 wanita berusia 30-55 tahun dari *Nurses Health Studies* (NHSs), keduanya tidak menunjukkan hubungan linear antara konsumsi kafein dengan risiko kejadian penyakit kardiovaskular dan Hasil penelitian di Norwegia pada tahun 2004 menunjukkan minum kopi dalam jumlah 480 ml perhari merupakan kontributor utama asupan antioksidan total pada diet penduduk Norwegia.

Sehingga diduga tidak hanya tanin yang berperan dalam penurunan kadar LDL pada tikus yang dipapari oleh asap rokok tetapi beberapa senyawa

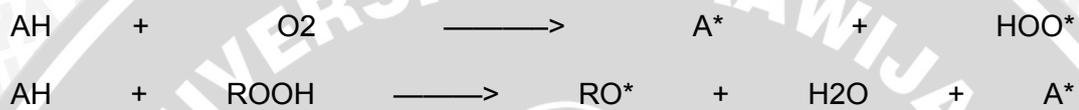
antioksidan lainnya yang terkandung dalam kombucha *coffee* seperti vitamin B3 (niasin), asam askorbat dan asam glukoronat.

Untuk uji statistik lanjut didapatkan perbedaan ditemukan kelompok perlakuan yang signifikan yaitu kelompok  $P_0$  dan  $P_1$  yaitu ( $p= 0,028$ ) dan perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan  $P_0$  dan  $P_4$  yaitu ( $p= 0,028$ ) dimana kadar LDL pada kelompok perlakuan  $P_0$  yaitu sebesar 7,06 mg/dl dan untuk  $p_1$  yaitu sebesar 22,82 mg/dl hal ini disebabkan karena pada perlakuan  $P_0$  atau kontrol positif selama 30 hari tidak diasapi rokok dan tidak diberikan intervensi apapun. Dan untuk  $P_1$  kelompok ini diasapi asap rokok selama 30 hari sebanyak 1 batang per hari dan tidak diberikan intervensi berupa pemberian kombucha *coffee*, sehingga ada perbedaan yang signifikan terhadap kadar LDL dari 2 kelompok perlakuan yaitu  $P_0$  dan  $P_1$ , kadar LDL  $P_1$  lebih tinggi dikarenakan tiap hisapan rokok mempunyai bahan oksidan dalam jumlah yang sangat besar, meliputi aldehida, epoksida, peroksida, dan radikal bebas lain yang mungkin cukup berumur panjang dan bertahan hingga menyebabkan kerusakan alveoli. Bahan lain seperti nitrit oksida, radikal peroksil, dan radikal yang mengandung karbon ada dalam fase gas. Juga mengandung radikal lain yang relatif stabil dalam fase tar. Contoh radikal dalam fase tar meliputi *semiquinone moieties* dihasilkan dari bermacam-macam *quinone* dan *hydroquinone*. Perdarahan kecil berulang merupakan penyebab yang sangat mungkin dari desposisi besi dalam jaringan paru perokok. Besi dalam bentuk tersebut menyebabkan pembentukan radikal hidroksil yang mematikan dari hidrogen peroksida. Juga ditemukan bahwa perokok mengalami peningkatan netrofil dalam saluran napas bawah yang mempunyai kontribusi pada peningkatan lebih lanjut konsentrasi radikal bebas.

Sedangkan untuk P<sub>0</sub> dan P<sub>4</sub> peningkatan kadar LDL yang signifikan dikarenakan yaitu P<sub>0</sub> sebagai kontrol positif yaitu tidak dipapari oleh asap rokok dan tidak diberikan intervensi berupa kombucha coffee dan kadar LDL selama 30 hari yaitu 7,06 mg/dl dan untuk P<sub>4</sub> kadar LDL yaitu 17,28 mg/dl dimana perlakuan pada kelompok ini yaitu diberikan paparan asap rokok 1 batang/hari selama 30 hari dan diberikan kombucha coffee dengan dosis 5,4 ml per hari dengan 2 kali penyondean, penyondean pertama yaitu sebanyak 3 ml, kemudian selang 30 menit -1 jam dilakukan penyondean ke 2 sebanyak 2,4 ml untuk menyesuaikan dengan kapasitas lambung tikus yaitu volume cairan lambung tikus dalam keadaan nyaman penuh adalah  $3,38 \pm 0,52$  ; merenggang  $4,63 \pm 0,44$  dan penuh makanan  $6,63 \pm 0,92$  ( McConnel et.al 2007 dalam Hayati, 2012).

Pada berbagai dosis intervensi kombucha coffee yang diberikan P<sub>2</sub> yang efektif dalam menurunkan kadar LDL daripada perlakuan P<sub>4</sub> yang memiliki dosis yang lebih tinggi. Hal ini dikarenakan walaupun pada P<sub>4</sub> telah diberikan kombucha coffee dengan dosis tertinggi tetapi dosis efektif untuk penurunan kadar LDL terendah terjadi pada perlakuan P<sub>2</sub> dengan dosis 2,7 ml per hari dimana pada perlakuan ini penyondean hanya dilakukan 1 kali sehingga diduga faktor stress pada tikus lebih rendah dibandingkan faktor stres tikus yang penyondean dilakukan 2 kali Hal ini diduga stres yang dialami oleh tikus selama proses penyondean kombucha coffee memberikan kontribusi dalam peningkatan kadar LDL Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Madundo, 2010 hewan coba mengalami tekanan emosional (stres) selama perlakuan sehingga terjadi peningkatan penggunaan energi cadangan dalam tubuh yang mempengaruhi hasil pengukuran kadar kolesterol darah.

Polifenol yang terdapat dalam kombucha coffee dapat bersifat sebagai prooksidan, dan besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik justru sering lenyap, bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan. Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji.



#### **Antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi (Gordon 1990)**

Hal ini didukung oleh Penelitian yang oleh Kansas State Cardiorespiratory Exercise Laboratory Amerika, dilakukan pada binatang dengan berbagai dosis antioksidan dan Hasil penelitian itu telah dipublikasikan dalam sejumlah jurnal, seperti Journal of Applied Physiology, Respiratory Physiology and Neurobiology, Microvascular Research, dan The American Journal of Physiology and Experimental Physiology, Penelitian tersebut menyebutkan bahwa Antioksidan hanya akan berfungsi ketika ada senyawa pro-oksidan (pemicu proses oksidasi) dalam tubuh. Ketika dosis antioksidan dan pro-oksidan tidak seimbang atau kadar antioksidan tinggi sedangkan pro-oksidan rendah, maka tubuh akan membentuk senyawa pro-oksidan untuk menyeimbangkan kadarnya dengan antioksidan, dan hal ini akan membuat sel-sel radikal bebas tidak bisa diperbaiki lagi

Sehingga kadar LDL pada perlakuan P<sub>4</sub> yang memiliki dosis tertinggi yaitu 5,4 ml dalam penurunan kadar LDL tidak seefektif perlakuan P<sub>2</sub> yang memiliki dosis 2,7 ml per hari.

