

BAB 6

PEMBAHASAN

Sampel penelitian yang digunakan dalam tiap penelitian harus sesuai dengan kriteria inklusi untuk memperkecil terjadinya bias. Penelitian ini menggunakan hewan coba *Rattus norvegicus* galur Wistar karena mudah dalam pemeliharaan, tidak mudah sakit dan tidak mudah mati. Jenis kelamin tikus yang dipilih adalah dari jenis kelamin jantan yang menggambarkan penyakit kardiovaskuler yang insidennya lebih banyak dialami oleh kaum pria.

Rerata umur dan berat badan hewan coba tergolong homogen. Secara keseluruhan umur tikus yang digunakan sebagai sampel adalah dalam rentang 5-6 minggu dengan berat badan awal yang homogen. Adanya pengondisian tersebut diharapkan mampu memperkecil kemungkinan terjadinya bias pada hasil penelitian dan hanya perlakuan yang ditentukan (diet normal, diet aterogenik dan ekstrak metanol daun bayam) yang diberikan pada saat penelitian dalam jangka waktu tertentu yang dapat mempengaruhi perubahan yang terjadi pada hewan coba.

Berdasarkan data pada Tabel 5.2 diketahui bahwa rerata asupan pakan terendah terdapat pada kelompok kontrol positif (K+) sedangkan yang tertinggi diantara kelompok perlakuan terdapat pada kelompok perlakuan 2 (P2) kemudian diikuti oleh kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 3 (P3). Walaupun rerata asupan pakan kelompok perlakuan 2 (P2) menunjukkan angka tertinggi tetapi selisih reratanya tidak terlalu besar bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K-).

Adanya perbedaan rerata asupan pakan pada tiap kelompok kemungkinan disebabkan oleh 2 faktor, yaitu pakan tikus dan tikus itu sendiri. Ditinjau dari faktor pakan tikus, adanya perbedaan pemberian pakan aterogenik dan pakan normal pada tikus perlakuan dapat mempengaruhi nafsu makan tikus. Pakan normal memiliki tekstur, aroma dan rasa mendekati pakan tikus yang biasa dikonsumsi tikus sebelum pelaksanaan penelitian sehingga tikus lebih mudah menerima pakan normal untuk dikonsumsi. Sebaliknya, pakan aterogenik memiliki perbedaan komposisi bila dibandingkan dengan pakan normal. Penambahan minyak babi, lemak kambing dan minyak kelapa mengubah tekstur pakan. Selain itu, aroma yang ditimbulkan oleh minyak babi membuat tikus kehilangan nafsu makan. Aroma tidak sedap (tengik) ini timbul karena adanya proses ransidifikasi oksidatif. Minyak babi mengandung banyak asam lemak tak jenuh (Baedori, 2006). Asam lemak tak jenuh cenderung lebih reaktif dibanding asam lemak jenuh dan bereaksi dengan oksigen bebas. Proses ini disebut ransidifikasi oksidatif dengan produk akhir keton dan aldehid yang membuat bau tengik pada minyak babi (Winamo, 2002).

Faktor tikus yang berperan dalam mempengaruhi asupan pakan tikus diantaranya adalah keadaan psikologis tikus. Perubahan keadaan lingkungan tikus selama penelitian membutuhkan proses adaptif yang tidak mudah. Bagi beberapa tikus yang masih belum bisa beradaptasi dengan lingkungan yang baru, walaupun dengan asupan makanan yang komposisinya sama setiap harinya dapat membuat penurunan nafsu makan dan asupan makanan berkurang. Kurang berhasilnya proses adaptif ini juga akan membuat tikus cenderung kurang aktif bergerak. Tikus yang kurang aktif bergerak tentunya tidak akan membutuhkan banyak energi untuk menunjang aktivitasnya, yang nantinya

akan berakibat menurunkan asupan pakan dari tikus tersebut. Sebaliknya tikus yang cenderung aktif bergerak akan membutuhkan banyak energi untuk terus bergerak sehingga membuat asupan pakannya akan cenderung meningkat.

Dalam penelitian ini kelompok diet aterogenik tanpa pemberian ekstrak bayam (K+) diberikan diet selama 8 minggu, begitu pula dengan kelompok diet normal (K-) dan kelompok diet aterogenik dengan pemberian ekstrak bayam (P1, P2, dan P3). Berdasarkan hasil penghitungan ketebalan aorta tikus diketahui bahwa rerata nilai ketebalan aorta tertinggi terdapat pada kelompok diet aterogenik tanpa pemberian ekstrak bayam (P2) yaitu 114,98 μm sedangkan rerata nilai ketebalan aorta terendah terdapat pada kelompok diet aterogenik dan ekstrak bayam dosis 600 mg/kgBB (P3) yaitu 78,33 μm yang mendekati nilai kelompok perlakuan normal (K-) yaitu 80,00 μm . Dari uji statistik *One Way ANOVA* yang diteruskan dengan uji *Tukey HSD* antara kelompok (K+) dan kelompok (K-) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok tersebut ($p = 0,000$).

Peningkatan nilai ketebalan aorta pada tikus sampel terkait dengan pemberian diet aterogenik yang komposisinya terdiri atas diet aterogenik (PARS dan terigu) ditambah dengan kuning telur bebek, minyak babi, minyak kelapa, dan asam kolat yang bertujuan untuk menginduksi peningkatan kolesterol dalam darah yang berakhir pada reaksi pembentukan sel busa yang membentuk plak yang menginduksi penebalan aorta. Pemakaian minyak babi dikarenakan kandungan kolesterolnya lebih tinggi bila dibandingkan dengan minyak hewani lain dan minyak nabati. Kuning telur bebek dan minyak kelapa digunakan sebagai sumber kolesterol tambahan untuk meningkatkan kadar kolesterol pakan. Asam kolat diberikan karena tanpa penambahan asam kolat maka

pemberian diet atherogenik selama 8 minggu tidak akan meningkatkan kadar kolesterol secara bermakna yang berdampak pada peningkatan ketebalan aorta yang tidak bermakna pula (Murwani, 2006).

Komposisi diet atherogenik yang diberikan pada tikus perlakuan menyebabkan ketebalan aorta tikus pada kelompok diet atherogenik lebih tinggi (114,98 μm) bila dibandingkan dengan kelompok diet normal (80,00 μm). Uji statistik terhadap data tersebut juga menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok diet normal dan diet atherogenik ($p = 0,000$). Berdasarkan data dan hasil uji statistik tersebut maka dapat disimpulkan bahwa pemberian diet atherogenik yang dilakukan dalam penelitian ini dapat meningkatkan ketebalan aorta tikus secara signifikan. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pemberian diet atherogenik dalam penelitian sudah mencapai kondisi tingkat ketebalan aorta yang tinggi.

Terjadinya hambatan peningkatan rerata tingkat ketebalan aorta pada tikus perlakuan berkaitan dengan adanya bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak metanol daun bayam. Beberapa kandungan bahan aktif yang diperkirakan dapat mengakibatkan terjadinya hal tersebut diantaranya β -karoten, vitamin C, vitamin E, flavonoid, dan saponin (Akubugwo *et al.*, 2007).

β -karoten mempunyai aktifitas antioksidan yang sangat kuat, dan dapat mengurangi aterosklerosis dengan cara menghambat metabolisme LDL dalam lesi aterosklerosis sekunder, melalui pencegahan oksidasi LDL (Whiting, 2004). Vitamin C mencegah modifikasi LDL dengan cara menetralkan radikal bebas di lingkungan berair (*aqueous milieu*) (Carr *et al.*, 2000). Vitamin E juga memiliki aktifitas antioksidan dan melindungi dinding sel (Akubugwo *et al.*, 2007). Flavonoid memiliki fungsi menghambat pembentukan plak aterosklerosis dengan

meningkatkan sintesis HDL tubuh dan juga sebagai antioksidan (Girija *et al.*, 2011). Saponin memiliki kemampuan sebagai *scavenger* superoksid dengan membentuk *intermediate* hidropersida sehingga dapat mencegah kerusakan bio-molekuler karena radikal bebas (Francis *et al.*, 2007). Oksidasi LDL sangat dipengaruhi oleh radikal bebas yang merupakan agen penyebab pembentukan sel busa yang berakibat pada peningkatan ketebalan aorta.

Ketiga dosis ekstrak metanol daun bayam pada penelitian ini dapat secara signifikan mencegah peningkatan ketebalan aorta tikus sampel. Jadi, dalam penelitian ini dapat dikatakan pemberian dosis sudah sesuai. Penentuan dosis pada penelitian kali ini merujuk pada penelitian Nagar *et al.* (2011) yang menggunakan ketiga dosis tersebut (200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB) untuk mengetahui efek antiinflamasi pada ekstrak metanol daun bayam. Penentuan dosis tersebut sesuai dengan hasil yang diharapkan pada penelitian ini, yaitu hambatan peningkatan ketebalan aorta secara signifikan. Namun, penelitian ini tetap memiliki kelemahan karena beberapa faktor yang kurang terprediksi, misalnya pada proses pengenceran dan ekstraksi.

Pengenceran ekstrak bayam yang awalnya berbentuk gel/pasta juga memiliki resiko karena menggunakan teknik manual dalam prosesnya. Untuk mendapatkan ekstrak bayam cair digunakan penggerus untuk mencampurkan gel dengan aquades. Padatnya gel membuat proses pencampuran menghabiskan waktu yang cukup lama. Selain itu, beberapa gel ekstrak masih belum dapat bercampur dengan baik mengendap di dasar bejana. Hal ini mungkin mengurangi konsentrasi ekstrak yang diberikan pada sampel. Oleh karena itu, proses pengenceran sebaiknya dilakukan secara bertahap dengan jumlah pasta yang lebih sedikit sehingga memudahkan dalam prosesnya.

Walaupun nantinya akan lebih sering melakukan proses pengenceran tetapi dengan proses yang bertahap dan jumlah pasta yang lebih sedikit dapat dipastikan bahwa nantinya seluruh pasta akan terencerkan dengan baik. Dengan demikian dosis yang diinginkan dapat tercapai dengan baik.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan metode maserasi yang menggunakan proses pemanasan pada suhu 40°C . Proses pemanasan tentunya akan mengurangi ataupun merusak kadar vitamin C yang cukup mudah rusak dalam suhu tertentu. Vitamin C akan masih bisa terdeteksi dalam suatu bahan jika pemanasan masih dalam rentang suhu $41-50^{\circ}\text{C}$ (Mulyana, *et al.*, 2006). Jadi pemanasan pada ekstraksi dalam penelitian ini masih menyisakan kadar vitamin C pada ekstrak daun bayam. Sementara itu, untuk zat lain (β -karoten, vitamin E, flavonoid, dan saponin) dapat bertahan dalam suhu yang cukup tinggi (Jean, 1999).

Penghitungan ketebalan aorta tikus menggunakan software corelDraw dengan pengukuran manual setelah sebelumnya diambil dari tikus segera setelah di matikan yang kemudian dibuat preparat histopatologinya. Dalam pengukuran tebal aorta ini tidak ditemukan kendala yang berarti. Jadi, tingkat kesalahan pengukuran sangat minimal.

Penelitian dengan menggunakan ekstrak metanol daun bayam belum pernah dilakukan. Namun, penelitian dengan menggunakan bahan alam lain terhadap ketebalan dinding aorta tikus Wistar model aterosklerosis sudah pernah dilakukan. Diantaranya, penelitian yang dilakukan oleh Sunjaya (2010) tentang efek serbuk daun kelor varietas Nusa Tenggara Timur (NTT) terhadap ketebalan aorta tikus galur wistar yang diberi diet aterogenik. Dari penelitian tersebut, menyebutkan bahwa pemberian serbuk daun kelor Varietas NTT mampu

menurunkan tingkat ketebalan aorta tikus yang diberi diet aterogenik namun tidak terlalu signifikan, yang disebutkan penyebabnya karena pemberian dosis yang kurang tepat. Penelitian lain pernah dilakukan oleh Pradana (2013) dengan menggunakan ekstrak polifenol buah tin. Dari hasil penelitiannya menyebutkan bahwa pemberian ekstrak polifenol buah tin mampu mencegah peningkatan ketebalan aorta tikus model aterosklerosis secara signifikan. Hasil uji statistic hubungan antar dosis menunjukkan hasil yang signifikan ($R = 0,678$) atau efek penghambatannya mencapai 67,8%. Dalam penelitian lain, pemberian *virgin coconut oil* (VCO) terhadap tikus Wistar model aterosklerosis juga menyebutkan bahwa pemberian VCO mampu menurunkan tingkat ketebalan aorta tikus (Ariana, 2006). Namun penelitian ini masih mempunyai kelemahan, jumlah sampel yang digunakan terlalu kecil (16 ekor) yang terdiri dari 2 kelompok perlakuan. Dari uraian beberapa penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak metanol daun bayam lebih efektif dalam mencegah peningkatan ketebalan aorta tikus galur Wistar yang diberi diet aterogenik dengan tingkat penghambatan sebesar 72,6%.