

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Persentase Diet dan Kenaikan Berat Badan Tikus

Berdasarkan hasil analisis, diketahui bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada kenaikan berat badan antara kelompok kontrol positif (K(+)) dan kelompok kontrol negatif (K(-)) ( $p = 0,917$ ). Padahal, diet K(+) lebih rendah dibandingkan K(-) dengan perbedaan yang bermakna ( $p = 0,000$ ). Hal ini diduga karena diet aterogenik menyebabkan peningkatan deposit lemak pada jaringan adiposa, terutama yang berada di bawah kulit dan rongga abdomen. Lemak berlebihan dalam tubuh yang tidak segera digunakan akan disimpan dalam bentuk trigliserida (TG) di jaringan adiposa, sehingga menyebabkan peningkatan berat badan dan resiko aterosklerosis, karena TG sangat potensial sebagai bahan pembentukan LDL dan VLDL (Tsallissavrina, 2006). Selain itu, Steppan *et al* (2001) dan Takeishi (2013) menyebutkan bahwa peningkatan berat badan akibat diet aterogenik ini juga berhubungan dengan peningkatan kadar resistin di jaringan lemak dan serum tikus. Hal ini didukung oleh Savage *et al* (2001) yang membuktikan bahwa peningkatan resistin ini juga ditemukan pada biopsi adiposa dari subjek manusia dengan obesitas.

Kemudian, hasil analisis menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna kenaikan berat badan antara KPA, KPB, dan KPC. Namun, secara umum ada perbedaan bermakna kenaikan berat badan antara ketiga kelompok tersebut jika

dibandingkan dengan K(+) (kenaikan berat badan K(+) lebih tinggi). Sebaliknya, secara umum tidak ada perbedaan bermakna total diet antara ketiga kelompok tersebut dibandingkan dengan K(+). Fakta ini menunjukkan bahwa dengan jumlah diet aterogenik yang sama, jumlah kenaikan berat badan yang dialami tikus setiap kelompok bisa berbeda. Hal ini didukung oleh hasil analisis korelasi *Spearman* yang menunjukkan bahwa kenaikan berat badan tikus tidak berhubungan dengan diet ( $p = 0,087$ ). Hasil ini diduga akibat pemberian ekstrak biji pare yang diketahui memiliki kemampuan menurunkan absorpsi lemak oleh usus, menekan lipogenesis, meningkatkan lipolisis, dan menurunkan deposisi lemak (Chen, 2004; Huang *et al*, 2008; Nerurkar *et al*, 2009; Oishi *et al*, 2007). Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji pare diduga dapat mengurangi kenaikan berat badan melalui penghambatan absorpsi dan peningkatan metabolisme lemak.

## 6.2 Perbedaan Kadar Resistin Serum Antar Kelompok

Berdasarkan Gambar 5.3, terlihat bahwa rata-rata kadar resistin pada K(+) lebih tinggi dibandingkan dengan K(-) dengan perbedaan yang bermakna ( $p = 0,028$ ). Data tersebut menunjukkan bahwa pemberian diet aterogenik memiliki pengaruh terhadap peningkatan kadar resistin dalam serum tikus. Hal ini didukung oleh hasil penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa resistin berperan dalam progresivitas patogenesis aterosklerosis, baik melalui aktivasi sel endotel, induksi proliferasi VSMC, maupun induksi pelepasan sitokin proinflamasi dan molekul adhesi (Pang dan Le, 2006; Burnett *et al*, 2005; Wen-lan *et al*, 2007; Verma *et al*, 2003; Reilly *et al*, 2005; Fu *et al*, 2006; Anfossi *et al*, 2010; Lee *et al*, 2012).

Dalam penelitian ini, diasumsikan bioaktivitas resistin disebabkan oleh ikatannya terhadap CAP1 pada makrofag, sehingga makrofag teraktivasi dan memproduksi sitokin-sitokin proinflamasi (Lee *et al*, 2012; Reilly *et al*, 2005). Selain itu, resistin juga berikatan dengan TLR4 pada membran sel endotel, sehingga sel endotel teraktivasi dan memproduksi molekul adhesi serta meningkatkan permeabilitas endotel (Jamaluddin *et al*, 2013). Resistin juga dapat mengaktivasi VSMC, begitu juga sebaliknya (Anfossi *et al*, 2010; Wang *et al*, 2010)

Terlepas dari mana resistin diproduksi, perlu ditekankan bahwa terdapat mekanisme *feedback* pada makrofag yang terjadi antar sitokin proinflamasi dan resistin. TNF- $\alpha$  dan IL-6 akan ditangkap kembali oleh makrofag sehingga jalur NF- $\kappa$ B, JAK, STAT3 kembali teraktivasi untuk memproduksi TNF- $\alpha$  dan IL-6 lainnya (Choo *et al*, 2007; Wang *et al*, 2011). Kedua sitokin ini juga diketahui dapat meningkatkan produksi resistin (Ahima dan Goncalves, 2011; Reilly *et al*, 2005; Pang dan Le, 2006), sehingga molekul-molekul proinflamasi semakin banyak. Berdasarkan hal ini, bisa ditarik kesimpulan bahwa resistin merupakan pemicu progresivitas aterosklerosis. Inilah alasan mengapa kadar resistin serum terukur tinggi pada tikus dengan diet aterogenik.

Kemudian, Gambar 5.3 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan rata-rata kadar resistin serum antara KPA dan K(+), justru ada kecenderungan KPA lebih tinggi dibandingkan dengan K(+). Hasil ini diperkirakan karena pemberian ekstrak dengan dosis 150  $\mu$ g/gBB belum memberikan pengaruh bermakna terhadap kadar resistin serum. Begitu pula pada rata-rata kadar resistin KPB bila dibandingkan dengan K(+), tidak terlihat penghambatan yang berarti dengan pemberian dosis 300  $\mu$ g/gBB. Penghambatan yang besar baru tampak pada rata-rata kadar resistin KPC dengan pemberian dosis 500  $\mu$ g/gBB. Namun begitu,

hasil analisis *Mann-Whitney* menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna di antara K(+), KPA, KPB, dan KPC. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya standar deviasi yang besar dalam setiap kelompok. Maka dari itu dibuatlah grafik korelasi (Gambar 5.4), sehingga didapatkan nilai koefisien korelasi (R) sebesar -0,8516, yang berarti pemberian ekstrak biji pare menunjukkan pengaruh yang sangat kuat dalam menghambat peningkatan kadar resistin serum. Walaupun pada dosis 150 µg/gBB dan 300 µg/gBB belum menunjukkan penghambatan bermakna, namun pada dosis 500 µg/gBB ekstrak biji pare terbukti memberikan pengaruh yang kuat dalam menghambat peningkatan kadar resistin serum, bahkan hingga mendekati nilai normal. Hal ini didukung oleh hasil analisis *Mann-Whitney* antara K(-) dan KPC yang menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna di antara dua kelompok tersebut ( $p = 0,347$ ). Melalui persamaan dalam grafik korelasi, diharapkan dapat ditemukan dosis untuk menghambat peningkatan kadar resistin serum dengan lebih optimal. Disimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji pare (*Momordica charantia*) terbukti dapat menghambat peningkatan kadar resistin serum pada tikus dengan diet aterogenik, sehingga hipotesis penelitian terbukti.

Efek yang ditunjukkan dengan pemberian ekstrak biji pare diduga akibat bioaktivitas saponin triterpenoid di dalamnya. Saponin dalam tumbuhan pare terbukti menurunkan proliferasi dan infiltrasi makrofag (Francis *et al*, 2002; Bao *et al*, 2013), serta meningkatkan polarisasi makrofag dan menginhibisi MCSF (Yui *et al*, 2001) sehingga dapat menginhibisi resistin secara tidak langsung. Selain itu, ekstrak pare, biji pare, maupun fraksi saponin juga berpengaruh terhadap aktivitas beberapa jalur intraseluler yang berhubungan dengan produksi resistin dan molekul proinflamasi, antara lain peningkatan AMPK (Bao *et al*, 2013), inhi-

bisi NF- $\kappa$ B dan p38, JNK, MAPK (Kobori *et al*, 2008), dan Cdk2 *pathway* (Kim *et al*, 2006) serta penurunan PPAR $\gamma$  pada jaringan adiposa (Popovich *et al*, 2010).

Walaupun grafik korelasi menunjukkan hubungan yang kuat atas pemberian ekstrak biji pare berbagai dosis dengan kadar resistin serum, terdapat variasi yang besar pada kadar resistin serum tiap sampel, seperti tampak pada Gambar 5.3. Variasi ini dibuktikan oleh hasil analisis *Mann-Whitney* yang menunjukkan bahwa hasil bermakna hanya ditemukan pada perbandingan antara K(+) dengan K(-) ( $p = 0,028$ ), K(-) dengan KPA ( $p = 0,047$ ), K(-) dengan KPB ( $p = 0,009$ ), dan KPB dengan KPC ( $p = 0,016$ ), sementara perbandingan yang lain menunjukkan hasil yang tidak bermakna. Hal ini diduga disebabkan oleh beberapa hal yang dapat dibagi menjadi faktor internal (faktor dari dalam tubuh tikus sampel) dan faktor eksternal (faktor dari luar tubuh tikus sampel). Faktor internal antara lain (1) variasi kadar adiponektin, yang mempunyai efek berlawanan dengan resistin dalam patogenesis aterosklerosis (Hirai *et al*, 2013); (2) berbeda dengan manusia, resistin pada tikus diproduksi secara dominan di jaringan adiposa dan lebih berperan pada patogenesis obesitas dan resistensi insulin, sehingga efek *feedback* terhadap sitokin-sitokin proinflamasi di lesi-lesi atheroma kurang tampak walaupun terbukti ada (Park dan Ahima, 2013; Wan *et al*, 2010); (3) adanya *single nucleotide polymorphism* (SNPs) yang mempengaruhi hingga dua pertiga variasi resistin serum dan bioaktivitasnya di tingkat genetik (Park dan Ahima, 2013); (4) reseptor resistin spesifik sejauh ini belum ditemukan, penelitian yang ada hanya menemukan reseptor fungsional isoform *decorin* pada sel adiposa (Daquinag *et al*, 2011) dan CAP1 pada sel monosit dan derivatnya (Lee *et al*, 2012); dan (5) reseptor spesifik saponin pada sel endotel, khususnya pada lesi atheroma, belum diketahui secara pasti. Faktor eksternal antara lain (1) semen-

tara ekstrak biji pare diberikan, diet aterogenik tetap berlanjut, sehingga diasumsikan penghambatan kadar resistin serum oleh ekstrak biji pare berkompetisi dengan peningkatan kadar resistin serum oleh diet aterogenik; (2) pemilihan sampel berupa serum, karena resistin pada tikus juga ada di area-area jaringan adiposa putih dan area-area dengan kondisi inflamasi lainnya (Kusminski *et al*, 2005), sehingga hal tersebut mempengaruhi kadar resistin di dalam sampel serum; (3) ELISA dilakukan tanpa duplikasi, sehingga standar deviasi rata-rata kadar resistin tinggi; (4) penggunaan ekstrak kasar dari biji pare, memungkinkan ada komponen-komponen yang mempengaruhi bioaktivitas saponin triterpenoid ataupun resistin; dan (5) melalui persamaan korelasi, diharapkan akan diperoleh dosis yang optimal dalam menghambat peningkatan kadar resistin.

Hasil penelitian ini menunjukkan dua hal yang bisa digunakan sebagai dasar pengembangan penelitian untuk mencari agen prevensi progresivitas aterosklerosis baik di tingkat primer, sekunder, maupun tersier, antara lain (1) resistin mempunyai hubungan positif dengan progresivitas aterosklerosis pada tikus Wistar dengan diet aterogenik; (2) ekstrak biji pare mempunyai hubungan negatif terhadap kadar resistin serum pada tikus Wistar dengan diet aterogenik. Berdasarkan studi pustaka, diharapkan penelitian ini bisa dikembangkan di subjek jaringan manusia baik secara *in vivo* maupun *in vitro* untuk uji toksisitas dan uji klinis. Selain itu, diharapkan pengembangan berlanjut ke tingkat molekuler sehingga bioaktivitas resistin dan saponin diketahui secara pasti.