

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Pemberian Pakan Aterogenik, Perbedaan Intake Pakan, dan Berat Badan dengan Jumlah Sel Busa pada Kelompok Perlakuan

Terdapat 9 kelompok tikus dalam percobaan yaitu Normal Diet (K -), Kontrol positif/HFD 3 bulan (K+), kontrol positif/HFD 1 bulan, Kelompok EKM A1, A2, A3, dan Kelompok EKM B1,B2,B3. Dalam percobaan peneliti memberikan dua jenis pakan yang berbeda. Pakan pertama yang diberikan adalah pakan yang ditetapkan sebagai pakan standar normal. Pakan yang kedua adalah pakan dengan komposisi yang sama dengan diet standard dengan adanya tambahan kolesterol dan minyak babi yang mewakili bahan pangan dengan kadar lemak tinggi (*High Fat Diet*). Kelompok dengan diet standard adalah kelompok kontrol negatif yang digunakan untuk membandingkan antara rerata jumlah sel busa (*foam cell*) yang dimiliki oleh tikus dengan diet standard dengan tikus yang menerima HFD dan tikus yang menerima HFD dan juga antioksidan *Xanthone* dari kulit manggis *Garcinia mangosteen L.* dengan dosis tertentu. Kelompok dengan pemberian HFD saja adalah kelompok yang mewakili terjadinya Aterogenesis dan berperan sebagai pembanding untuk melihat perbedaan jumlah sel busa dengan kelompok yang menerima *Xanthone Garcinia mangosteen L.* sebagai antioksidan eksternal.

Jika diperhatikan dari tabel rerata berat badan tikus dalam berbagai kelompok perlakuan, dapat dilihat bahwa terdapat kenaikan berat badan tikus yang signifikan selama pemberian diet standard dan HFD. Berat badan tikus dengan diet normal dan diet HFD menunjukkan pola peningkatan selama masa berlangsung

penelitian. Pada akhir penelitian, tampak bahwa kenaikan berat badan terbesar terdapat pada kelompok dengan pemberian HFD yang menandakan bahwa pemberian diet tinggi kolesterol atau diet atherogenik memberi pengaruh pada peningkatan deposisi lemak visceral pada hewan coba yang menerima HFD tersebut. Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa deposisi lemak yang sangat meningkat

Intake pakan dari hewan coba pada tiap-tiap kelompok perlakuan juga memberikan pengaruh pada tingginya deposisi lemak visceral pada hewan coba. Kelompok dengan pemberian diet standard memiliki intake pakan yang cenderung konstan jika dibandingkan dengan kelompok dengan pemberian HFD. Hal ini menyebabkan intake pakan pada kelompok dengan diet standard adalah lebih besar secara keseluruhan jika dibandingkan dengan intake pada kelompok dengan HFD. Namun, jika berat badan hewan coba dengan diet standard dan HFD dibandingkan, dapat terlihat bahwa walaupun intake pakan pada hewan coba HFD adalah lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok diet standard, terjadi deposisi lemak yang lebih besar akibat akumulasi kolesterol yang lebih tinggi dari paparan HFD secara terus-menerus.

Peningkatan jumlah berat badan (BB) dan intake pakan tikus kemudian dibandingkan dan dicari korelasinya dengan jumlah sel busa yang dimiliki oleh tiap-tiap kelompok perlakuan. Pada tabel rerata jumlah sel busa pada tikus model Atherogenik, didapatkan bahwa jumlah sel busa pada kelompok Normal Diet atau kelompok kontrol negative (K-) adalah rerata terkecil dari jumlah sel busa pada semua kelompok perlakuan. Dapat disimpulkan bahwa meskipun terdapat pola peningkatan BB dan intake pakan pada hewan coba selama masa penelitian, jenis

pakan yang diberikan berpengaruh pada timbulnya proses atherosklerosis yang menandakan adanya kerusakan vaskuler pada pembuluh darah. Jumlah sel busa pada diet normal adalah yang paling sedikit jika dibandingkan dengan rerata sel busa pada kelompok lain, yang menandakan bahwa dalam kondisi normal, sel busa tetap dapat terbentuk dan walaupun jumlahnya paling sedikit dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain, jumlah yang ada harus dibandingkan dengan jumlah yang paling sedikit pada kelompok yang menerima dosis *Xanthone*.

Diet hiperkolesterol atau *High Fat Diet* (HFD) yang diberikan pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) memberikan perbedaan yang cukup signifikan pada rerata jumlah sel busa pada masing-masing hewan coba pada kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif (DM). Pemberian HFD selama berturut-turut menyebabkan terjadinya paparan stres oksidatif yang terus-menerus pada kelompok kontrol positif (HFD). Pakan HFD yang diberikan pada hewan coba dalam kelompok kontrol positif (HFD) merupakan pakan yang mengandung lemak tak jenuh dengan konsentrasi tinggi sehingga sangat berpotensi dalam meningkatkan tingkat stres oksidatif dalam tubuh hewan coba. Lemak tak jenuh adalah jenis lemak yang rentan terhadap berbagai macam proses-proses oksidatif yang terjadi dalam tubuh.

Jika dilihat dari jumlah sel busa kelompok kontrol negatif (K-) memiliki jumlah sel busa yang lebih sedikit daripada kelompok EKM 800 mg/kgBB. Hal ini disebabkan kelompok EKM 800 mg/kgBB menerima diet tinggi lemak yang tidak diberikan pada kelompok kontrol negative (K-). Penurunan jumlah sel busa tiap kelompok EKM juga terlihat menurun setiap peningkatan dosis pemberian EKM mulai dari yang terkecil 200 mg/kgBB hingga terbesar 800 mg/kgBB . Hal ini

menunjukkan bahwa *Xanthone* memiliki peran tertentu dalam proses atherosklerosis dalam kondisi Aterogenik. Pemberian diet tinggi kolesterol dan lemak jenuh secara kontinu menyebabkan terjadinya gangguan pada baik metabolisme lemak maupun karbohidrat. Metabolisme lemak yang terganggu akan menyebabkan peningkatan LDL dan penurunan HDL yang nantinya akan bersumber pada displipidemia dimana terjadi proses atherosklerosis dengan inflamasi kronis yang menyebabkan terjadinya disfungsi endotel dan menyebabkan timbunan sel busa. (Mendizabal, Lloren, dan Nava, 2013).

Pengaruh pemberian HFD yang menginduksi kerusakan vaskuler ini terlihat dari jumlah sel busa yang terdapat pada kelompok kontrol positif (HFD) yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan jumlah sel busa pada kelompok kontrol negatif. Walaupun jumlah sel busa pada kelompok kontrol negatif hanya berbeda sedikit dengan jumlah sel busa pada kelompok kontrol positif (HFD), terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil analisis dengan uji *One Way ANOVA* sebagai akibat pengaruh pemberian pakan yang diterima oleh kedua kelompok. Kelompok dengan pemberian HFD yang kontinu cenderung untuk mengalami kerusakan vaskuler yang lebih besar. Pada kelompok kontrol negatif yang menerima diet standard, kerusakan vaskuler tersebut tetap terjadi sebagai proses alamiah pada tubuh dimana radikal bebas diproduksi dalam kadar normal (Rizzo, *et al.*, 2010). Hanya saja, kerusakan vaskuler pada kelompok kontrol negatif terjadi pada skala yang lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (HFD) karena adanya paparan yang lebih kecil terhadap agen pro-inflamasi yang menginduksi proses atherosklerosis pada kondisi Atherogenesis.

Perbedaan pada jumlah sel busa pada kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif (HFD) yang terdapat pada penelitian ini dapat terjadi sebagai akibat pemberian HFD sejalan dengan beberapa penelitian lainnya mengenai efek HFD terhadap kondisi pembuluh darah hewan coba.. Ditemukan bahwa setelah pemberian HFD selama 8 minggu, terdapat perbedaan bermakna pada rerata jumlah sel busa pada kelompok kontrol negatif jika dibandingkan dengan kelompok dengan HFD ($p < 0,001$). Hal ini diperkuat, pemberian HFD pada mencit ApoE KO menginduksi reaksi inflamasi kronis dan hiperlipidemia yang mendasari terjadinya kerusakan sel otot aorta jantung. (Kun Ling Ma, *et al.* 2013)

Berdasarkan data jumlah sel busa, jumlah sel busa pada kelompok kontrol + (HFD) dan kelompok dengan EKM menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan pola penurunan jumlah sel busa yang dapat diamati dengan semakin besarnya dosis EKM yang diberikan. Jumlah rata-rata sel busa pada kelompok EKM 800 mg/kgBB adalah jumlah rata-rata sel busa yang mendekati rerata sel busa pada kelompok kontrol negatif. Menurut sarah, aorta pada yang hewan kelompok dengan HFD menunjukkan peningkatan yang signifikan secara statistik ($p < 0,05$) terjadi penebalan intima dan ruang dalam intima tunika dan tunika media. Ruang ini memiliki awalnya berisi tetesan lemak yang terlarut selama hematoksilin eosin & prosedur pewarnaan. Ada laporan bahwa telah menemukan bahwa ketika diet kolesterol 2% diberikan kepada kelinci percobaan, aorta hewan diet kolesterol tinggi menunjukkan ruang dalam tunika intima dan tunika media. Hal ini menunjukkan bahwa diet kolesterol memiliki dampak yang signifikan terhadap metabolisme lipid dan pengembangan aterosklerotik lesi. Peningkatan ruang dapat dikaitkan dengan

radikal bebas yang dapat merusak membrane dan DNA dari sel-sel endotel dalam intima tunika dan sel-sel otot polos di media tunika. Oleh karena itu, jelas bahwa diet kolesterol tinggi meningkat secara signifikan tingkat komposisi lipid di aorta. Secara teoritis, asli LDL-C memiliki pengaruh yang kecil langsung pada penting fungsi dalam sel dalam dinding arteri. Namun, ketika LDL-C dimetabolisme oleh sel endotel, yang komponen normal antioksidan yang habis, fosfolipid tak jenuh ganda diubah menjadi reaktif Asam lemak hidroksil, lysophosphatidyl kolin adalah terbentuk, dan protein dalam apolipoprotein B100 bagian modifikasi kovalen menjalani dan fragmentasi. Selain itu, lipoprotein (a) menginduksi pembentukan oksigen radikal bebas dalam monosit. Dengan demikian, dioksidasi lipoprotein dan antioksidan menurun bisa bertanggung jawab atas stres oksidatif pada kolesterol kelompok. Ini juga bisa disebabkan oleh peningkatan tingkat radikal oksigen, yang dikenal untuk menghasilkan endotel cedera sel.

6.2 Perbandingan Dosis dan Korelasi antara Pemberian *Xanthone Garcinia mangosteen L.* dengan Jumlah Sel Bus pada Tikus Model dengan diet Aterogenik

Perbandingan jumlah sel busa pada kelompok-kelompok yang menerima diet Aterogenik dan juga EKM menunjukkan bahwa ada pengaruh dari pemberian dosis *Xanthone* tertentu terhadap rerata jumlah sel busa yang nampak pada pembuluh darah aorta hewan coba. Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (HFD), semua kelompok EKM memiliki rerata jumlah sel busa yang lebih rendah yang menunjukkan bahwa *xanthone* berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel busa pada pemberian HFD yang terus-menerus. Demikian pula pengaruh *Xanthone*

terhadap rerata sel busa kelompok EKM terlihat jika jumlah sel busa terendah dari kelompok EKM dibandingkan dengan kelompok Normal Diet (K-). Kelompok EKM dengan rerata sel busa terendah adalah kelompok EKM 800 mg/kgBB. Namun, jumlah sel busa kelompok tersebut lebih tinggi dari kelompok diet standard sebagai akibat adanya pengaruh dari pemberian diet hiperkolesterol (HFD) yang kontinu yang tidak dialami oleh tikus pada kelompok kontrol negatif. Jumlah sel busa pada kelompok EKM 800 mg/kgBB yang mendekati diet normal menunjukkan kemampuan dari PsP sebagai antioksidan yang poten untuk mereduksi jumlah sel busa mendekati normal dalam kondisi tingginya stres oksidatif yang ditimbulkan oleh HFD.

Jumlah sel busa pada kelompok-kelompok EKM menunjukkan pola penurunan yang signifikan. Pada kelompok ini., tampak bahwa jumlah sel busa menurun jika kelompok EKM 200, 400, dan 800 mg/kgBB dibandingkan satu dengan yang lain. Grafik hasil data juga menunjukkan adanya pola penurunan yang dapat diamati dengan jelas. Dengan adanya pola penurunan tersebut, dapat diasumsikan bahwa pemberian dosis *Xanthone* yang semakin besar menyebabkan penghambatan proses atherogenik yang semakin besar pula. Hal ini dapat disimpulkan dari pola penurunan jumlah sel busa yang menunjukkan proses inhibisi dari inflamasi kronis dalam kondisi Aterogenik.

Analisis data berdasarkan uji *One Way ANOVA* juga menunjukkan adanya pengaruh signifikan dari pemberian dosis-dosis *Xanthone* terhadap rerata jumlah sel busa pada kelompok-kelompok perlakuan. Hasil yang signifikan dari analisis uji *One Way ANOVA* ($p=0,009$) menunjukkan adanya perbedaan dari pemberian dosis *Xanthone* terhadap jumlah sel busa jika dibandingkan dengan kelompok lainnya

yang tidak menerima *Xanthone*. Dari hasil uji Post Hoc metode Tukey LSD, kesimpulan yang bisa diambil adalah kelompok kontrol positif memang memiliki rerata jumlah sel busa yang berbeda jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.. Dari hasil uji Post Hoc Metode Tukey LSD, pemberian *Xanthone Garcinia mangosteen L.* dengan dosis 200 mg/kgBB memberikan efek yang kurang bermakna karena hasil analisis perbedaan rerata sel busa juga tidak signifikan antar kelompok EKM 200, EKM 400, dan EKM 800. Dapat disimpulkan bahwa pemberian *Xanthone Garcinia mangosteen L.* memberikan hasil yang bermakna terhadap penurunan jumlah sel busa yang dimulai pada dosis 800 mg/kgBB

Uji korelasi dengan metode Pearson untuk mengetahui pengaruh variabel independen (pemberian *Xanthone Garcinia mangosteen L.*) terhadap variabel dependen (jumlah sel busa) menunjukkan adanya korelasi yang kuat antara pemberian PsP dengan rerata jumlah sel busa pada kelompok perlakuan ($r = -0,559$). Kekuatan korelasi yang kuat antara pemberian PsP dengan reduksi rerata jumlah sel busa dapat disebabkan karena adanya pola linier yang dapat diamati pada penurunan jumlah sel busa pada kelompok-kelompok yang menerima dosis *Xanthone*. Hubungan yang signifikan antara pemberian *Xanthone Garcinia mangosteen L.* terhadap penurunan jumlah sel busa juga bisa diamati dari hasil uji korelasi Pearson dengan $p = 0,020$

Jika diamati dari tabel korelasi Pearson yang dilakukan untuk menganalisis kekuatan korelasi antara kelompok perlakuan, didapatkan bahwa kelompok kontrol negatif tidak berbeda bermakna dan memiliki korelasi sangat kuat dengan kelompok yang menerima HFD dan juga dosis *Xanthone* 800 mg/kgBB. Kesimpulan tersebut

dapat diambil dari nilai p yang tidak signifikan ($p=1,000$) dan r yang sangat besar ($r=1,000$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *Xanthone Garcinia mangosteen L.* memang menyebabkan penurunan jumlah sel busa dalam jumlah besar yang menyebabkan kelompok dengan dosis terbesar memiliki kemiripan jumlah dengan kelompok yang menerima diet normal.

6.3 Implikasi Terhadap Bidang Kedokteran

Potensi atau manfaat dari *Xanthone* dari kulit buah manggis *Garcinia mangosteen L.* terhadap proses aterosklerosis yang terjadi pada seseorang dengan diet tinggi lemak dapat dibuktikan dengan hasil penelitian mengenai sel busa tersebut. Dari hasil penelitian ini, dapat ditarik kesimpulan bahwa ada penurunan jumlah sel busa yang semakin meningkat seiring dengan peningkatan dosis *Xanthone*. *Xanthone Garcinia mangosteen L.* berperan dalam menekan terjadinya kerusakan vaskuler yang merupakan tanda adanya proses aterosklerosis yang diinduksi oleh aktivasi dari berbagai mediator inflamasi sebagai akibat dari perlekatan LDL-teroksidasi pada dinding pembuluh darah. Tanda-tanda kerusakan vaskuler yang dapat muncul pada proses aterosklerosis adalah timbulnya lesi plak yang berkembang menjadi sel busa dan plak aterosklerosis.