

BAB 6**PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini, tikus dibagi dalam sembilan kelompok dengan delapan kelompok diberi diet tinggi lemak sedangkan satu kelompok dengan pemberian diet normal. Pada tiga kelompok EKM A, diet tinggi lemak diberikan bersamaan dengan pemberian ekstrak kulit manggis selama tiga bulan. Pada tiga kelompok EKM B, pemberian diet tinggi lemak diberikan selama tiga bulan dengan pemberian ekstrak kulit manggis pada bulan kedua dan ketiga.

Diet tinggi lemak yang diberikan merupakan campuran dari PAR-S yang merupakan bahan dasar pembuatan pelet, tepung terigu, asam kolat sebagai komponen untuk meningkatkan LDL dan menurunkan HDL, minyak babi, telur bebek, minyak kambing, dan minyak kelapa sebagai sumber kolesterol penginduksi pembentukan plak pada dinding pembuluh darah (Murwani *dkk*, 2012). Komposisi pakan tinggi lemak sesuai dengan penelitian sebelumnya (Murwani *dkk*, 2012) dengan persentase PAR-S 50%, tepung terigu 25%, asam kolat 0,2%, minyak babi 10% , telur bebek 2 butir, minyak kambing 0,1%, dan minyak kelapa 2%. Pemberian diet tinggi lemak pada masing-masing kelompok tidak membedakan kadar komposisi bahan-bahan penyusunnya.

Berdasarkan data yang telah didapat, terjadi kenaikan berat badan pada setiap kelompok. Peningkatan berat badan tikus dapat disebabkan karena kandungan asam lemak trans (TFA) yang terdapat pada lemak

babi, minyak kelapa, dan lemak kambing. Peningkatan asupan TFA berlebih akan menyebabkan peningkatan kadar trigliserida serum. Peningkatan tersebut menggambarkan peningkatan mobilisasi asam lemak dari penyimpanan pada jaringan adipose yang menyebabkan akumulasi trigliserida hati dan jaringan tubuh mengalami ketidakseimbangan antara sintesis dan lipolisis. Ketidakseimbangan tersebut menyebabkan peningkatan berat badan pada tikus (Trisviana, 2012).

6.1. Kadar IL-6 Pada Tikus Yang Diberi Diet Normal

Berdasarkan hasil pengukuran kadar IL-6 pada serum darah tikus, didapatkan kadar IL-6 pada kelompok ND (pemberian diet normal) adalah sebesar 8.3 ± 5.2 pg/ml. Berdasarkan penelitian sebelumnya, kadar IL-6 normal pada tikus tidak lebih dari $1.001 - 1.15$ pg/ml (Ridker *dkk*, 2000), sehingga kadar IL-6 pada kelompok ND melebihi rerata normal. Berdasarkan uji statistik, kelompok ND memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok HFD 1 bulan ($p=0.000$), namun tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok HFD 3 bulan ($p=0.259$).

Kadar IL-6 pada kelompok ND cenderung lebih tinggi dibandingkan kelompok HFD 3 bulan (6.4 ± 7.5 pg/mL) dan kelompok HFD 1 bulan (1.6 ± 2.2). Hal ini bertentangan dengan teori yang menyatakan bahwa konsumsi makanan tinggi lemak dapat meningkatkan kadar IL-6 melalui peningkatan masa jaringan adiposa yang menyebabkan peningkatan produksi faktor proinflamasi salah satunya adalah IL-6 (Greenberg *dkk*, 2006). Belum diketahui secara pasti

penyebab kadar IL-6 pada kelompok ND (kontrol negatif) lebih tinggi dibandingkan kelompok HFD 3 bulan dan HFD 1 bulan (kontrol positif). Menurut Faisal Baraas (2003), konsumsi diet tinggi karbohidrat juga dapat meningkatkan jumlah deposit lemak pada jaringan adiposa dalam bentuk trigliserida. Pada umumnya glukosa akan 30% disimpan sebagai trigliserida (Tsalissavrina, 2006). Seperti yang dikatakan sebelumnya bahwa peningkatan jumlah sel adiposa dapat meningkatkan produksi IL-6 sebagai pro-inflamasi. Sehingga pada penelitian ini, kelompok ND belum dapat dijadikan standar sebagai kontrol negatif.

6.2. Kadar IL-6 Pada Tikus Yang Diberi Diet Tinggi Lemak

Diet tinggi lemak merupakan diet komposisi pakan tikus yang ditambahkan kolesterol dan atau asam kolat. Diet tinggi lemak yang digunakan pada penelitian ini tersusun atas PAR-S, tepung terigu, asam kolat, minyak babi, telur bebek, minyak kambing, dan minyak kelapa. Diet tinggi lemak ini diberikan pada kelompok positif dan kelompok perlakuan. Pada penelitian ini terdapat dua kelompok yang dijadikan sebagai kontrol positif, yaitu kelompok HFD 3 bulan dan kelompok HFD 1 bulan. Pada kedua kelompok tersebut terdapat perbedaan yang signifikan dengan $p=0.000$. Kelompok HFD 3 bulan (6.4 ± 7.5 pg/ml) memiliki kadar IL-6 lebih tinggi dibandingkan kadar IL-6 pada kelompok HFD 1 bulan (1.6 ± 2.2 pg/ml). Hal tersebut dikarenakan perbedaan lama pemberian makanan tinggi lemak pada kedua kelompok tersebut. Kelompok HFD 3 bulan mendapatkan perlakuan pemberian diet tinggi lemak lebih lama dibandingkan kelompok HFD 1 bulan, sehingga peningkatan jaringan adiposa pada kelompok HFD 3 bulan lebih tinggi dibanding kelompok

HFD 1 bulan. Semakin banyaknya jaringan adiposa yang terbentuk, maka semakin banyak pula IL-6 yang dihasilkan (Maggio *dkk*, 2006). Beberapa faktor proinflamasi diproduksi didalam jaringan adiposa seperti IL-6 dan TNF- α . Seiring bertambahnya sel adiposa maka akan terjadi peningkatan jumlah makrofag. Makrofag pada sel adiposa memiliki pengaruh dalam produksi sitokin pro-inflamasi pada jaringan adiposa. Peningkatan jaringan adiposa sangat mempengaruhi konsentrasi IL-6 dalam plasma yang mana jaringan adiposa berkontribusi sebesar 30% total IL-6 dalam tubuh (Greenberg, 2006), Dengan Komposisi diet tinggi lemak yang sama, sehingga dapat disimpulkan bahwa diet tinggi lemak yang diberikan sudah sesuai dan kedua kelompok tersebut dapat dijadikan sebagai kontrol positif.

6.3. Kadar IL-6 Pada Tikus Yang Diberi Ekstrak Kulit Manggis Bersamaan Dengan Diet Tinggi Lemak

Berdasarkan hasil pengukuran kadar IL-6 pada kelompok EKM A, didapatkan adanya peningkatan kadar IL-6 pada setiap peningkatan dosis ekstrak kulit manggis yang diberikan. Pada kelompok EKM A1 (dosis 200 mg/kgBB) didapatkan rerata kadar IL-6 sebesar 1.9 ± 1.0 pg/ml, pada kelompok EKM A2 (dosis 400 mg/kgBB) sebesar 3.1 ± 8.5 pg/ml, sedangkan pada kelompok EKM A3 (dosis 800 mg/kgBB) sebesar 4.7 ± 2.7 pg/ml. Pada Uji statistik, perbedaan signifikan kadar IL-6 antar kelompok EKM A hanya terdapat pada kelompok EKM A1 terhadap kelompok EKM A 3 dengan nilai $p=0.022$. Jika dibandingkan dengan kontrol positif, kadar IL-6 pada ketiga kelompok tersebut lebih rendah. Berdasarkan uji statistik dengan kelompok HFD 3 bulan sebagai

pembandingan, terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok EKM A1 dengan $p=0.000$ dan pada kelompok EKM A2 dengan $p=0.004$.

Pada kelompok EKM A (ekstrak kulit manggis diberikan bersamaan dengan diet tinggi lemak), didapatkan peningkatan kadar IL-6 serum pada setiap peningkatan dosis pemberian ekstrak kulit manggis. Namun kadar IL-6 pada ketiga kelompok tersebut lebih rendah dibandingkan kadar IL-6 pada kelompok kontrol positif. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis bersamaan dengan pemberian diet tinggi lemak dapat menurunkan kadar IL-6. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, menyatakan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis dapat menurunkan kadar IL-6 (Huang *dkk*, 2014). Ekstrak kulit manggis memiliki senyawa-senyawa anti-inflamasi seperti xanthone, mangostin, garsion, flavonoid, dan tannin. Senyawa utama xanthone seperti α -mangsteen dan γ -mangosteen memiliki peran sebagai senyawa anti-inflamasi (Orozco, 2013). Senyawa α -mangsteen dan γ -mangosteen menurunkan kadar IL-6 melalui penghambatan LPS dalam menginduksi ekspresi IL-6, namun mekanisme tersebut sangat tergantung dengan dosis pemberian ekstrak kulit manggis (Bumrungpert, 2010). Jika dibandingkan, dapat dilihat bahwa peningkatan dosis ekstrak kulit manggis yang diberikan bersamaan dengan diet tinggi lemak dapat meningkatkan kadar IL-6 serum. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa dosis efektif dalam menurunkan inflamasi sebesar 200 mg/kgBB. Penelitian tersebut juga menyatakan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis ≥ 250 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar IL-6 serum pada tikus. Peningkatan tersebut diawali dengan peningkatan

SGOT dan SGPT dalam hepar yang memicu terjadinya inflamasi melalui peningkatan sitokin pro-inflamasi, salah satunya adalah IL-6. (Kosem, 2012). Pada saat dilakukan peningkatan dosis terhadap pemberian ekstrak kulit manggis, maka sel-sel hepar akan mengalami peningkatan metabolisme terhadap ekstrak kulit manggis yang diberikan. peningkatan kerja sel-sel hepar secara terus menerus akan menyebabkan kerusakan jaringan hepar. cedera tersebut akan menyebabkan pelepasan enzim *aspartate transaminase* yang terukur dalam serum sebagai SGOT dan enzim *alanin transaminase* yang terukur dalam serum sebagai SGPT (Newman, 2012). Cedera tersebut dapat memicu pengeluaran sitokin proinflamasi seperti IL-6. Berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan bahwa pemberian dosis ekstrak kulit manggis bersamaan dengan pemberian diet tinggi lemak dapat menurunkan kadar IL-6. Dosis efektif untuk menurunkan kadar IL-6 dalam pemberian dosis preventif adalah sebesar 200 mg/kgBB. Peningkatan dosis ekstrak kulit manggis yang diberikan akan meningkatkan kadar IL-6 serum.

6.4. Kadar IL-6 Pada Tikus Yang Diberi Ekstrak Kulit Manggis Setelah Satu Bulan Pemberian Diet Tinggi Lemak

Berdasarkan hasil perhitungan kadar IL-6, didapatkan rerata kadar IL-6 pada kelompok EKM B1 sebesar 5.5 ± 7.3 pg/mL, pada kelompok EKM B2 sebesar 5.2 ± 1.8 pg/mL, dan pada kelompok EKM B3 sebesar 8.5 ± 5.9 pg/mL. Pada kelompok EKM B, terjadi pola peningkatan kadar IL-6 seiring bertambahnya dosis yang diberikan. Terjadi penurunan yang tidak signifikan pada kelompok EKM B2 dengan nilai $p=1.000$, namun

peningkatan yang signifikan pada kelompok EKM B3. Berdasarkan uji statistik didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok EKM B1 terhadap kelompok EKM B3 dengan nilai $p=0.013$ dan kelompok EKM B2 terhadap kelompok EKM B3 dengan nilai $p=0.006$. Jika dibandingkan dengan kelompok HFD 3 bulan sebagai kontrol positif, kadar IL-6 pada kelompok EKM B1 dan Kelompok EKM B2 lebih rendah. Meskipun kadar IL-6 pada kedua kelompok tersebut lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif, namun tidak ditemukan perbedaan yang signifikan pada kelompok EKM B1 ($p=0.901$) maupun kelompok EKM B2 ($p=0.713$). Pada kelompok EKM B3 kadar IL-6 lebih tinggi dibandingkan kelompok HFD 3 bulan, namun tidak berbeda secara signifikan dengan nilai $p=0.175$.

Pada kelompok EKM B (pemberian ekstrak kulit manggis setelah satu bulan pemberian diet tinggi lemak) didapatkan hasil bahwa adanya penurunan kadar IL-6 pada dosis 400 mg/kgBB dan terjadi peningkatan kadar IL-6 pada pemberian dosis 800 mg/kgBB. Pada pemberian dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB, kadar IL-6 kedua kelompok tersebut lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Sedangkan pada kelompok dengan pemberian dosis 800 mg/kgBB, kadar IL-6 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Pada pemberian dosis 400 mg/kgBB didapatkan kadar IL-6 terendah, sedangkan pemberian dosis 800 mg/kgBB didapatkan kadar IL-6 tertinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan pemberian dosis ekstrak kulit manggis ≥ 500 mg/kgBB dapat menyebabkan toksisitas dan peningkatan inflamasi pada hewan coba (Kosem, 2012). Berdasarkan

data tersebut, dapat disimpulkan bahwa dosis efektif untuk menurunkan IL-6 dalam pemberian kuratif adalah sebesar 400 mg/kgBB.

6.5. Perbandingan Kadar IL-6 Pada Semua Kelompok

Berdasarkan uji statistik yang telah dilakukan, terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif (HFD 3 bulan) dengan kelompok EKM A. Perbedaan tersebut terjadi pada dua kelompok yaitu kelompok EKM A1 dengan nilai $p=0.000$ dan kelompok EKM A2 dengan nilai $p=0.004$. Jika dibandingkan kadar IL-6 antar kelompok EKM A, kadar IL-6 pada kelompok tersebut memiliki pola peningkatan pada setiap peningkatan dosis yang diberikan namun masih lebih rendah dibandingkan kadar pada kelompok HFD 3 bulan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis paling efektif adalah sebesar 200 mg/kgBB dalam menurunkan IL-6 serum sebagai tindakan pencegahan inflamasi fase akut. Jika membandingkan kelompok HFD 3 bulan dengan kelompok EKM B, tidak ditemukan adanya perbedaan yang signifikan terhadap ketiga kelompok tersebut. Meskipun tidak ditemukan perbedaan yang signifikan, namun kadar IL-6 pada ketiga kelompok EKM B memiliki pola peningkatan pada setiap peningkatan dosis yang diberikan. Adanya penurunan kadar pada pemberian dosis 400 mg/kgBB meskipun tidak signifikan ($p=1.000$) namun adanya peningkatan yang signifikan pada kelompok EKM B3 dengan nilai $p=0.013$. Kadar IL-6 pada kelompok EKM B1 dan EKM B2 masih lebih rendah dibandingkan kadar IL-6 pada kelompok HFD 3 bulan, sedangkan kadar IL-6 pada kelompok EKM B3 lebih tinggi dibandingkan kelompok HFD 3 bulan. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis sampai 800 mg/kgBB akan meningkatkan kadar

IL-6. Sesuai dengan penelitian sebelumnya, pemberian ekstrak kulit manggis ≥ 500 mg/kgBB sebagai tindakan kuratif selama 3 bulan akan menyebabkan toksisitas (kosem, 2012).

6.6. Kekurangan Penelitian

Kekurangan dari penelitian ini adalah belum bisa mengetahui penyebab pasti kelompok ND (kontrol negatif) memiliki kadar IL-6 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok HFD 3 bulan (kontrol positif). Selain itu, penelitian ini belum bisa menentukan secara spesifik mekanisme toksisitas yang timbul dari pemberian dosis ekstrak kulit manggis 800mg/kgBB setelah satu bulan pemberian diet tinggi lemak.

