

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica*) untuk menurunkan kadar trigliserida pada tikus (*Rattus norvegicus*) wistar jantan yang diberi diet hiperkolesterol selama 70 hari (10minggu). Tikus yang digunakan sebagai hewan coba berusia 6-8 minggu dengan berat badan 200 gr. Penelitian ini membagi hewan coba dalam 5 kelompok. Kelompok negative yang diberikan diet biasa, sedangkan kelompok control positif diberikan hiperkolesterol, sedangkan kelompok perlakuan diberikan diet hiperkolesterol dengan ekstrak daun beluntas yang diberikan secara sonde dengan dosis berbeda setiap kelompok perlakuannya. Perlakuan 1 mendapat 150 mg/kgBB , kelompok perlakuan 2 mendapat 300 mg/kgBB dan kelompok perlakuan 3 mendapatkan dosis sonde ekstrak daun beluntas sebanyak 600 mg/kgBB. Ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut ethanol 95%, hasil yang didapat adalah ekstrak pekat yang selanjutnya akan dilarutkan dengan aquades agar lebih mudah dikonsumsi oleh hewan coba dengan metode sonde.

6.1 Kadar Trigliserida pada Tikus yang Diberi Diet Normal

Rerata kadar trigliserida pada kelompok negative ($\bar{x} = 76,8$ mg/dL). Pada kelompok ini adalah kelompok yang diberikan diet normal yang terdiri dari adalah confeed PAR-S 225 gr, terigu 100gr dan air 100ml untuk 1 ekor tikus (Murwani *et al.*, 2006). Kadar trigliserida pada kelompok negative ini lebih rendah dibanding dengan kelompok control positif yang kadar trigliseridanya ($\bar{x} = 297$ mg/dL). Jauh

lebih tinggi dibanding kelompok control negative dan merupakan yang paling rendah dalam penelitian ini.

Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Wibowo (2009) mendapatkan hasil kadar trigliserida 83,93 mg/dL pada *Rattus novergicus* yang diberi pakan hiperkolesterolemik terdiri dari kolesterol 1%, kuning telur 5%, lipida hewan 10%, minyak goreng 1 %, ditambah makanan standar sampai 100%. Sedangkan kadar *Rattus novergicus* yang diberi makan standar kadar trigliseridanya 45,22 mg/dL.

Pada penelitian Rachmandiar (2012), kadar trigliserida *Rattus novergicus* strain Wistar jantan yang diberi makanan standar juga lebih rendah dengan rata-rata kadar trigliserida 50 mg/dL dibandingkan dengan yang diberi diet tinggi lemak yang rata-rata kadar trigliseridanya adalah 68,7 mg/dL. Perbedaan kadar trigliserida pada tikus yang diberi diet normal juga terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh Rondonuwu *et al.*, (2013), kadar trigliserida *Rattus novergicus* strain Wistar jantan yang diberi diet standar yang terdiri dari comfeed PARS ,tepung terigu dan didapat rata-rata kadar trigliseridanya adalah 84,8 mg/dL, lebih rendah dibandingkan dengan yang diberi diet aterogenik aterogenik yang terdiri dari PARS, tepung terigu, kolesterol, asam kolat, minyak babi, dan air rata-rata kadar trigliserida yang diperoleh adalah 114,6 mg/dL. Dari berbagai penelitian di atas dapat dikatakan bahwa pemberian diet normal confeed PARS pada hewan coba tidak meningkatkan kadar trigliserida pada hewan coba.

6.2 Kadar Trigliserida pada Tikus yang Diberi Diet Hiperkolesterol

Kadar trigliserida terendah ada pada kelompok negative ($\bar{x} = 76,8$ mg/dL). Sedangkan pada kelompok control positif kadar trigliserida ($\bar{x} = 297$ mg/dL)

menunjukkan peningkatan kadar trigliserida yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa diet hiperkolesterol meningkatkan kadar trigliserida dengan cepat. Sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa peningkatan kadar trigliserida darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) ini disebabkan karena tingginya kandungan asam lemak dan kolesterol dalam minyak babi dan kuning telur bebek. Semua asam lemak pada minyak babi memiliki rantai panjang (lebih dari 12 atom karbon). Minyak babi pada usus *Rattus norvegicus* akan disintesis menjadi trigliserida dan didistribusikan dalam bentuk kilomikron (Gibney *et al.*, 2002). Karena itu, maka kadar trigliserida darah tikus putih (*Rattusnorvegicus*) akan meningkat dengan pemberian pakan hiperkolesterol ini. Selain itu Lemak kambing mengandung asam lemak jenuh rantai panjang yang dapat meningkatkan kadar LDL. Peningkatan asam lemak juga akan menyebabkan peningkatan aktifitas mitokondria yang menghasilkan produk sampingan berupa radikal bebas. Apabila radikal bebas di dalam tubuh tidak ditanggulangi dengan baik, maka dapat menyebabkan kerusakan fungsi dan struktur mitokondria sehingga asupan asam lemak yang terus di *uptake* oleh hati akan mengalami lipogenesis dengan membentuk trigliserida dalam jumlah yang banyak. Kadar trigliserida yang tinggi dapat membahayakan kesehatan karena beberapa lipoprotein yang tinggi kandungan trigliseridanya juga mengandung kolesterol (Wirakusumah, 2005)

Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Kavanagh *et al.* (2007) juga menunjukkan bahwa lemak trans menyebabkan kenaikan berat badan, lemak abdominal dan lemak subkutaneus. Akibat dari kenaikan asam lemak trans adalah peningkatan kadar *low density lipoprotein* (LDL), trigliserol dan lipoprotein, penurunan *high density lipoprotein* (HDL), dan mempengaruhi metabolisme asam lemak bebas yang akan menyebabkan dislipidemia dan arterosklerosis (Sartika, 2009). Pada penelitian ini juga digunakan asam kolat yang berdasarkan

penelitian Mark DB *et al*, 2000, Asam kolat digunakan untuk mempercepat peningkatan jumlah kolesterol sehingga dapat menyebabkan terjadi peningkatan pada kadar trigliserida.

Beberapa studi pada tikus menunjukkan bahwa pemberian diet tinggi lemak trans menyebabkan terjadinya resistensi insulin, peningkatan berat badan, akumulasi massa lemak terutama trigliserida pada organ hati karena terjadi penurunan oksidasi lipid dan peningkatan sintesis asam lemak. Hal ini dapat memicu terjadinya obesitas, sindrom metabolik dan hepatic steatosis dan lipotoksitas (Dorfman *et al.*, 2009).

Berdasarkan teori salah satu faktor yang dapat meningkatkan kadar trigliserida di dalam darah adalah makanan yang tinggi lemak. Semakin banyak kadar lemak yang dikonsumsi maka sintesis trigliserida di dalam tubuh juga akan meningkat. (Murray, 2009 ; Simanjuntak, 2011). Sesuai dengan hasil yang didapatkan dalam penelitian Niza *et al*, 2015, yaitu kadar trigliserida *Rattus novergicus* yang diberi diet aterogenik selama 12 minggu lebih tinggi dibandingkan kadar trigliserida pada *Rattus novergicus* yang diberi diet aterogenik selama 8 minggu. Kadar trigliserida *Rattus novergicus* yang diberi diet selama 8 minggu kadarnya lebih tinggi dari pada kadar trigliserida *Rattus novergicus* yang diberi diet aterogenik selama 5 minggu. Hal yang sama juga terjadi dalam penelitian ini. Pemberian diet hiperkolesterol dengan komposisi serupa dengan diet aterogenik pada penelitian Niza *et al*, (2015) menunjukkan hasil yang tinggi. Penelitian ini dilakukan selama 10 minggu dan hasil dimana control positif ($\bar{x} = 297$ mg/dL) yang sesuai dengan rerata kadar trigliserida pada penelitian Niza (2015) yang menyatakan kadar trigliserida pada tikus minggu ke 8 adalah $\bar{x} = 185$ mg/dL dan pada minggu ke 12 $\bar{x} = 220$ mg/dL. Hal ini menunjukkan pemberian diet hiperkolesterol efektif meningkatkan kadar trigliserida pada hewan coba.

6.3 Kadar Triglicerida pada Tikus yang Diberi Diet Hiperkolesterol dan Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica*)

Pada control negative kadar triglicerida adalah ($\bar{x} = 76,8$ mg/dL) hal ini adalah kadar triglicerida terendah diantara kelompok yang lain. Kadar tertinggi adalah kelompok control positive dimana kadar trigliceridanya ($\bar{x} = 297$ mg/dL) hal ini menunjukkan adanya peningkatan kadar triglicerida yang cukup tinggi yang artinya asupan diet hiperkolesterol berhasil menaikkan kadar triglicerida pada hewan coba. Namun kadar perbedaan antara P1, P2 dan P3 tidak terlalu banyak, dimana P1 ($\bar{x} = 148$ mg/dL), P2 ($\bar{x} = 147$ mg/dL) dan P3 ($\bar{x} = 140$ mg/dL), bila dilihat dari hasil penghitungan kadar triglicerida kelompok P1,P2 sampai P3 menunjukkan penurunan bila dibanding kelompok positif namun tidak lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok control negative. Dengan perbedaan kadar triglicerida pada kelompok perlakuan yang tidak bermakna maka tidak bisa disimpulkan pada dosis berapa ekstrak daun beluntas berhasil menurunkan kadar triglicerida pada hewan coba.

Penurunan kadar triglicerida yang tidak signifikan secara statistic bisa disebabkan karena perlemakan hati akibat pemberian pakan hiperlipidemia selama penelitian (70 hari) padahal pada penelitian ini terjadi kecenderungan penurunan kadar triglicerida bila dibandingkan dengan kelompok hiperkolesterol hal ini menunjukkan beluntas memiliki potensi menurunkan kadar triglicerida namun pada penelitian ini masih belum terjadi penurunan yang maksimal pada kelompok perlakuan. Hal ini serupa dengan penelitian Iqbal, (2008) dimana Konsentrasi lipid hati total kelompok perlakuan (hiperlipidemia, lovastatin, dan ekstrak) tidak menunjukkan perbedaan ($p < 0,005$). Padahal, lovastatin dan ekstrak penurun kolesterol seharusnya menunjukkan konsentrasi lipid hati total

yang lebih rendah daripada kelompok hiperlipidemia. Kemungkinan ini karena keadaan hiperlipidemia yang sudah terlalu parah akibat induksi pakan hiperlipidemia selama 49 hari. Penumpukan lipid di dalam hati bisa jadi disebabkan oleh terhambatnya pembentukan apolipoprotein di dalam hati sebagai penyusun VLDL karena terhambatnya biosintesis protein tersebut. Atau memang regulasi pembentukan VLDL dari hewan coba itu yang lambat. Jadi, bahan bahan lipid tidak dapat diangkut ke luar sehingga terjadi penumpukan lipid di dalam hati (Grundy, 1991).

6.4 Perbandingan Kadar Trigliserida antar Kelompok Perlakuan

Pada penelitian ini tidak ada perbedaan yang tinggi antar kelompok perlakuan dimana P1 ($\bar{x} = 148$ mg/dL), P2 ($\bar{x} = 147$ mg/dL) dan P3 ($\bar{x} = 140$ mg/dL). Tidak terlalu tingginya perbedaan kadar trigliserida pada kelompok perlakuan pada penelitian ini, dikarenakan kemungkinan pemberian ekstrak etanol daun beluntas belum bisa menurunkan kadar trigliserida secara ideal. Hal ini bisa dilihat masih tingginya kadar trigliserida pada kelompok perlakuan meski telah diberikan ekstrak daun beluntas dengan dosis 150 mg/kgBB, 300mg/kgBB dan 600mg/kgBB daya supresinya belum ideal.

Kemungkinan yang mendasari ketidakmampuan ekstrak daun beluntas memberikan efek yang diinginkan adalah kemungkinan terjadinya perlemakan hati. Hal ini sejalan dengan penelitian Iqbal (2008) memberikan induksi pakan tinggi lemak dan pemberian obat serta ekstrak namun kadar trigliserida pada penelitian tersebut tidak mengalami penurunan yang bermakna. Penumpukan lemak di hati ini biasanya dikaitkan dengan adanya obesitas pada hewan coba.

Selain hal tersebut hal lain yang mungkin berkontribusi pada ketidakmampuan ekstrak daun beluntas memberikan efek yang diinginkan adalah dosis yang kurang tepat. Kemungkinan pertama, dosis efektif

antiinflamasi yang digunakan memang memberikan efek terapeutik pada pathway inflamasi sebagai inhibitor COX-1 (Roslida *et al*, 2008), tetapi efeknya tidak dominan pada hewan coba hiperkolesterolemia kronis ini. Seperti yang telah diketahui bersama, dalam hiperkolesterolemia kronis banyak hal yang bersinergi dalam patogenesisnya seperti peroksidasi lipid dan siklus beta oksidasi. Mekanisme mana yang dipengaruhi oleh efek pemberian ekstrak daun beluntas dalam menghambat perjalanan penyakit pada hewan coba hiperkolesterolemia belum teridentifikasi secara jelas. Namun, diduga ekstrak daun beluntas lebih dominan menghambat peroksidasi lipid karena ekstrak daun beluntas memiliki kadar polifenol dan aktivitas antioksidan yang tinggi (Andarwulan *et al*, 2010; Widyawati *et al.*, 2008; Sulaiman *et al.*, 2011) sehingga pemberian dosis efektif antiinflamasi kurang berpengaruh menghambat siklus oksidasi lipid pada hewan coba penelitian ini.

6.5 Relevansi Penelitian Sebelumnya

Penelitian mengenai ekstrak daun beluntas telah banyak dilakukan terutama di daerah Asia Tenggara (Raharjo & Horsten 2001). Pada penelitian terdahulu ekstrak dari daun beluntas diyakini memiliki efek anti oksida, anti ulcer, anti-nociceptive, anti-diuretic, and anti-inflammatory (Sen & Chaudhuri 1991; Choi & Hwang 2005; Biswaset al. 2007; Buapool *et al.* 2013). Pada penelitian *Suriyaphan(2014)* tentang Nutrisi dan Aplikasi daun beluntas di thailand dikatakan bahwa beluntas memiliki potensi sebagai tanaman herbal yang bisa menjadi alternative preventif dari berbagai penyakit. Penelitian ini didasari oleh kebiasaan masyarakat Thailand yang biasa mengkonsumsi daun beluntas sebagai the. terkait dengan potensi anti-inflamasi penghambat LPS yang menginduksi makrofag dan Andarwulan *et al.* (2010) yang menyebutkan potensi antioksidannya yang tinggi. Disebutkan bahwa pada dosis 300mg/kgBB per oral

ekstrak etanol daun beluntas memiliki efek mirip NSAID (Roslida *et al*, 2008). Dengan pelarut air panas, ekstrak daun beluntas memiliki aktivitas inhibisi NO dan PGE2 secara *in vitro* (Srisook *et al.*, 2012). Sementara dengan menggunakan pelarut methanol, pada dosis 100mg/kgBB intraperitoneal mampu menghambat formasi granuloma dan pada dosis 50mg/kgBB intraperitoneal memiliki efek antipiretik (Chaudhuri dan Mahapatra, 1987).

Pada penelitian ini terjadi penurunan kadar trigliserida yang tidak bermakna selain disebabkan karena kemungkinan terjadinya kurang efektivitas dosis pemberian ekstrak sehingga tidak memberikan efek teraupetik yang ideal pada kelompok perlakuan tetapi juga bisa dikarenakan adanya kemungkinan perlemakan hati pada hewan coba yang biasanya diasosiasikan akibat obesitas yang terjadi pada hewan coba. Peningkatan berat badan yang terjadi pada hewan coba selama penelitian ini dikarenakan karena asupan diet hiperkolesterol yang diberikan selama penelitian.

Obesitas adalah faktor resiko perlemakan hati yang terjadi sebanyak 30% dari semua kasus perlemakan hati (Trihatmowijoyo dan Nusi, 2009). Obesitas pada hewan coba ini sesuai dengan peningkatan berat badan hewan coba akibat pakan hiperkolesterol selama 70 hari pada penelitian ini. Pada obesitas terjadi penurunan kadar adiponektin yang akan menyebabkan penurunan daya proteksi hati terhadap lemak sehingga terjadi resistensi insulin. Resistensi insulin meningkatkan lipolisis trigliserida dan pelepasan asam lemak bebas yang pada akhirnya akan menyebabkan perlemakan hati. Oleh karena obesitas berpengaruh besar terhadap terjadinya perlemakan hati maka diperlukan suatu cara untuk menurunkan berat badan antara lain dengan pengaturan nutrisi, olahraga, suplementasi, dan intervensi medis (Schreuder *et al.*, 2008).

Kadar trigliserida yang tinggi di dalam darah apabila tidak diimbangi dengan sintesa protein yang cukup maka akan menyebabkan terjadinya

akumulasi trigliserida di hepatosit (Fatmawati, 2006). Pemberian diet hiperkolesterol yang semakin lama akan menyebabkan peningkatan kadar trigliserida. Kadar trigliserida yang banyak ini menyebabkan akumulasi trigliserida di apparatus golgi meningkat sehingga menyebabkan pembengkakan pada apparatus golgi. Apabila hal tersebut terus berlanjut maka akumulasi trigliserida ini dapat mengisi seluruh sel. Kadar trigliserida yang tinggi juga dapat membentuk plak pada pembuluh darah sehingga menghambat aliran darah yang menyebabkan terjadinya aterosklerosis. (Wirakusumah, 2005 ; Mark DB *et al*, 2000)

Pada penelitian Dorfman *et al.*, (2009) terjadinya resistensi insulin, peningkatan berat badan, akumulasi massa lemak terutama trigliserida pada organ hati karena terjadi penurunan oksidasi lipid dan peningkatan sintesis asam lemak. Hal ini dapat memicu terjadinya obesitas, sindrom metabolik dan hepatic steatosis dan lipotoksisitas. Lipotoksisitas adalah toksisitas sel akibat akumulasi abnormal lemak. Asam lemak bebas bersifat hidrofobik sehingga dapat menembus membran sel atau melalui transporter yaitu *fatty acid transport protein* (FATP) atau *fatty acid transporter* CD36. Asam lemak tersaturasi dapat menginduksi apoptosis (*death cell programme*) (Malhi, 2008).

Patogenesis penyakit perlemakan hati belum sepenuhnya dimengerti. Day *et al.* (1998), menyatakan suatu hipotesis yang sampai saat ini banyak diterima adalah *the two hit theory* (Schreuder *et al.*, 2008; Charlton, 2009). Pada *first hit* terjadi steatosis hepatic sedangkan *second hit* berupa jejas dan inflamasi hati. Abnormalitas metabolik primer yang mengarah pada akumulasi lipid dalam hepatosit masih belum jelas diketahui (Schreuder *et al.*, 2008; Charlton, 2009). *First hit* dapat terjadi karena berbagai keadaan, seperti dislipidemia, diabetes mellitus dan obesitas. Dalam keadaan normal, asam lemak bebas dihantarkan memasuki hati lewat sirkulasi darah arteri dan vena portal. Di dalam hati, asam

lemak bebas akan mengalami metabolisme lebih lanjut, seperti proses re-esterifikasi menjadi trigliserida atau digunakan untuk pembentukan lemak lainnya. Adanya peningkatan massa jaringan lemak tubuh, khususnya pada obesitas sentral, akan meningkatkan pelepasan asam lemak bebas (*Free Fatty Acid/ FFA*) yang kemudian menumpuk di dalam hepatosit. Bertambahnya asam lemak bebas di dalam hati akan menimbulkan peningkatan oksidasi dan esterifikasi (Schreuder et al., 2008; Charlton, 2009).

Sumber asam lemak bebas hati berasal dari trigliserida makanan sebagai partikel kilomikron dari usus, sintesis *de novo* hati, asam lemak bebas yang masuk ke hati dari hasil lipolisis jaringan lemak, kegagalan pengeluaran lipid dari hati, dan berkurangnya oksidasi asam lemak. Ketidakseimbangan dalam proses metabolisme tersebut di atas dapat meningkatkan akumulasi trigliserida dalam sitoplasma hepatosit (Wei et al., 2008).

Selain hal diatas bisa jadi terjadi Interaksi antara toksikan dari tanaman daun beluntas dengan struktur reseptor tertentu yang ada di sel hati menyebabkan terjadinya kerusakan pada membran sel (Syahputra, 2008 ; Sari, 2006) . Enzim lipoprotein lipase yang bekerja menghidrolisis trigliserida untuk melepaskan asam lemak terletak pada membran sel. Kerusakan membran sel menyebabkan inaktivasi enzim lipoprotein lipase sehingga kadar trigliserida tidak dihidrolisis. Selain kerusakan pada membran sel, hepatoksik dapat terjadi akibat disfungsi mitokondria dimana mitokondria merupakan tempat berlangsungnya proses oksidasi asam lemak. Asam lemak hasil hidrolisis trigliserida oleh lipoprotein lipase yang ada di membran sel akan masuk kemitokondria untuk proses oksidasi lemak atau diubah kembali menjadi trigliserida. Apabila proses oksidasi asam lemak menurun akibat disfungsi mitokondria maka asam lemak tidak dapat dijadikan sebagai bahan bakar metabolisme dan akan diubah

menjadi trigiserida kembali. Hal ini mengakibatkan terjadi peningkatan kadar trigliserida dalam darah (Begrliche et al, 2011)

Faktor yang mungkin dapat menyebabkan tidak adanya perbedaan peningkatan kadar trigliserida antar kelompok yaitu terbagi menjadi faktor yang dapat dikendalikan dan tidak dapat dikendalikan. Faktor yang dapat dikendalikan yaitu asupan, berat badan, aktifitas fisik, dan stres. Sedangkan faktor yang tidak dapat dikendalikan yaitu usia, jenis kelamin, dan hormon. Pada penelitian ini, peneliti sudah melakukan kontrol terhadap asupan pakan dan berat badan, tetapi asupan pakan dan berat badan masih dimungkinkan mempengaruhi kadar trigliserida. Faktor usia, jenis kelamin dan galur tikus coba juga sudah dikontrol yaitu dengan menggunakan tikus jantan galur *Wistar Jantan* usia 6-8 minggu. Faktor yang belum dikontrol adalah aktifitas fisik, stres dan hormon. Faktor yang diduga berperan terhadap tidak adanya perbedaan kadar trigliserida antara semua kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol adalah stres, Stres ini dapat memicu impuls saraf ke hipotalamus dan hipofisis untuk meningkatkan sekresi hormon glukokortikoid dari korteks adrenal yang berperan dalam lipolisis. Stres juga dapat meningkatkan sekresi adrenalin, sedangkan adrenalin yang berlebihan dapat menyebabkan jejas pada pembuluh darah yang mengawali suatu patogenesis aterosklerosis. Adrenalin (epinephrine) disimpan dalam granula kromatin dan akan dilepas sebagai respon terhadap stres. Hormon epinephrine mempercepat pelepasan asam lemak bebas dari jaringan adiposa dan menaikkan kadar asam lemak bebas dari plasma dengan meningkatkan laju lipolisis pada simpanan triasilgliserol (Bostham, 2013)

6.6 Kelemahan Penelitian

Beberapa hal yang menjadi kelemahan dalam penelitian, di antaranya:

- Pengenceran ekstrak tidak sempurna pada beberapa kali penyondean. Ekstrak tidak terlarut sempurna dalam air sehingga meningkatkan potensi ekstrak daun beluntas tidak masuk sesuai dosis yang diinginkan karena ekstrak mengendap di bagian bawah *container*.
- Beberapa sampel tikus yang potensial mati. Tikus yang mati diduga aspirasi karena kesalahan tempat penyondean.

