

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Komposisi Kimia Semanggi (*Marselia crenata*)

Semanggi mengandung sejumlah protein, lemak, dan serat. Pada penelitian ini dilakukan analisis proksimat dari tepung semanggi. Analisis proksimat ini bertujuan untuk mengetahui kadar komponen dari tepung semanggi yang diberikan sebagai serat pangan alami penurun kolesterol di dalam ransum tikus percobaan. Komposisi kimia semanggi dapat dilihat pada Tabel 5 .

Tabel 5. Komposisi Kimia Semanggi per 100 g

Komponen	Persentase (%)
Kadar Air	13,05
Kadar Lemak	0,79
Kadar Protein	7,98
Kadar Abu	4,43
Kadar Karbohidrat	57,68
Serat Pangan :	
- Serat terlarut (SDF)	9,28
- Serat tidak larut (IDF)	6,77
Tabel 5 Total Serat Pangan	16,05

memperlihatkan bahwa kadar air semanggi sebesar 13,05%, kadar lemak 0,79%, kadar protein 7,98%, kadar abu 4,43%, kadar karbohidrat 57,68% dan kadar serat pangan 16,05%. Data tersebut sangat berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Sulistiono (2009) bahwa kadar air semanggi (*Marsilea crenata*) segar sebesar 89,02%, kadar lemak sebesar 2,62%, kadar protein sebesar 39,63%, kadar abu 14,2% serta kandungan serat sebesar 20,77%. Perbedaan ini disebabkan semanggi yang diuji dalam penelitian ini adalah semanggi dalam keadaan kering (serbuk) sedangkan dalam penelitian Sulistiono menggunakan semanggi dalam keadaan segar. Proses pengeringan mengakibatkan perubahan secara proporsional komposisi kimia pada daun dan tangkai semanggi air (Kristiono, 2009). Namun, jika dibandingkan berdasarkan perbedaan jumlah tiap komponennya, serat merupakan komponen yang tidak terlalu banyak mengalami

perubahan yaitu hanya sebesar $\pm 4\%$ penurunan kadungan pada pengujian dalam keadaan kering (serbuk).

Kualitas serat pangan dapat dilihat dari komposisi komponen serat pangan, dimana komponen serat pangan terdiri dari komponen yang larut dan komponen yang tidak larut (Ekantari, 2008). Kadar serat pangan semanggi terlarut memiliki proporsi yang lebih besar yaitu 9,28% dibandingkan serat pangan yang tidak larut sebesar 6,77%. Data tersebut menunjukkan bahwa antara jumlah serat pangan larut dan serat pangan tidak larut dalam semanggi tidak berbeda jauh, dengan nilai selisihnya 2,51%. Selain itu, jumlah serat pangan larut dalam semanggi terbilang tinggi jika dibandingkan dengan serat pangan terlarut pada tanaman atau sayuran lainnya, yang memiliki proporsi antara 0,98-6,97% (Muchtadi, 1998). Ini berbeda dengan sumber yang menjelaskan bahwa jumlah serat pangan tidak larut pada tanaman lebih besar daripada serat pangan terlarut. Seperti yang dikemukakan oleh Prosky dan De Vries (1992) *Insoluble Dietary Fiber* (IDF) merupakan kelompok terbesar dari *Total Dietary Fiber* (TDF) dalam makanan, sedangkan *Soluble Dietary Fiber* (SDF) hanya menempati jumlah sepertiganya. Hal ini dimungkinkan karena bagian terbesar dari semanggi adalah daun yang merupakan sumber dari serat pangan terlarut terutama pectin dan gum (Muchtadi, 2001).

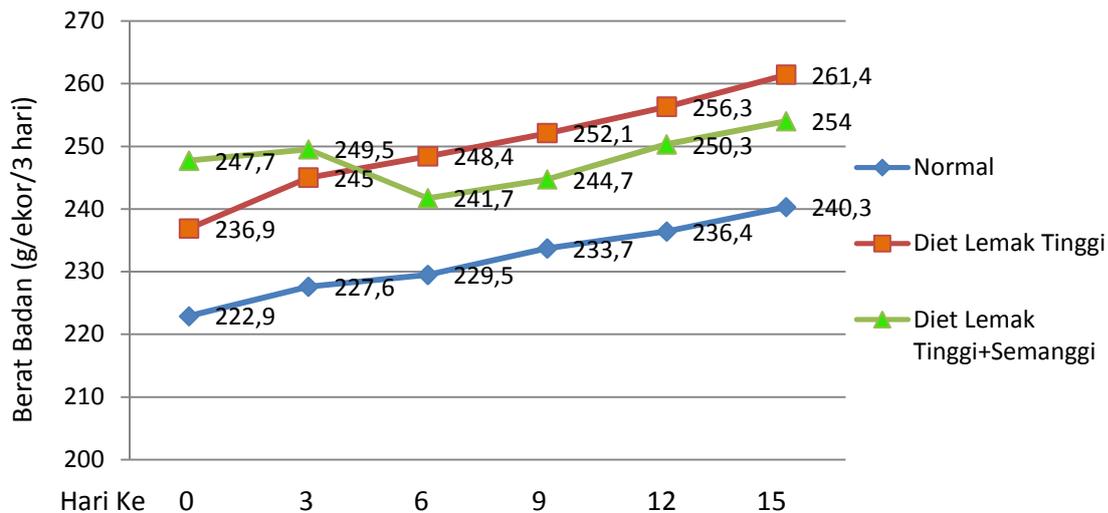
Serat pangan tidak larut pada semanggi tergolong rendah jika dibandingkan sayuran pada umumnya yang berkisar 30,32-55,89% (Muchtadi, 1998). Ini dikarenakan semanggi memiliki bagian batang yang jauh lebih kecil daripada tanaman air pada umumnya seperti kangkung dan rumput laut. Serat pangan tidak larut seperti selulosa, hemiselulosa dan lignin penyusun jaringan parenkim terkandung pada bagian batang tanaman (Almatsier, 2002).

Kandungan serat terlarut semanggi yang besar menunjukkan bahwa semanggi memiliki potensi yang besar dalam menurunkan kolesterol. Serat terlarut lebih besar berperan sebagai penurunan kolesterol dibanding serat tidak larut seperti selulosa (Sandra dan Tapan 1990; Tsai *et al.*, 1991). Hal ini telah terbukti pada penelitian Sihombing (2006), yang menggunakan rumput laut sebagai penurun kolesterol. Rumput laut tersebut memiliki serta terlarut 38,8% dan serat tidak larut 43,2%.

4.2 Berat Badan dan Berat Organ Tikus Percobaan

4.2.1 Berat Badan Tikus Percobaan

Berat badan tikus diukur untuk mengetahui perubahan berat badan tiap perlakuan dan mengetahui pengaruh pemberian tepung semanggi secara *ad libitum* sebagai sumber serat terhadap berat badan tikus. Perubahan berat badan hewan percobaan selama masa penelitian dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Perubahan berat badan tikus selama masa percobaan

Gambar 6 memperlihatkan berat badan tikus terus mengalami kenaikan tiap harinya kecuali tikus pada kelompok perlakuan. Tikus pada kelompok perlakuan mengalami penurunan berat badan mulai hari ke-3 hingga hari ke-6. Namun, pada hari ke-9 berat badan tikus tersebut kembali mengalami kenaikan sampai hari ke-15. Pada hari ke-0 berat badan tikus kelompok perlakuan lebih besar dari semua kelompok baik kelompok kontrol negatif maupun kelompok kontrol positif. Akan tetapi, pada hari ke-6 hingga hari ke-15 berat badan tikus kelompok perlakuan lebih rendah dari berat badan tikus kelompok kontrol positif.

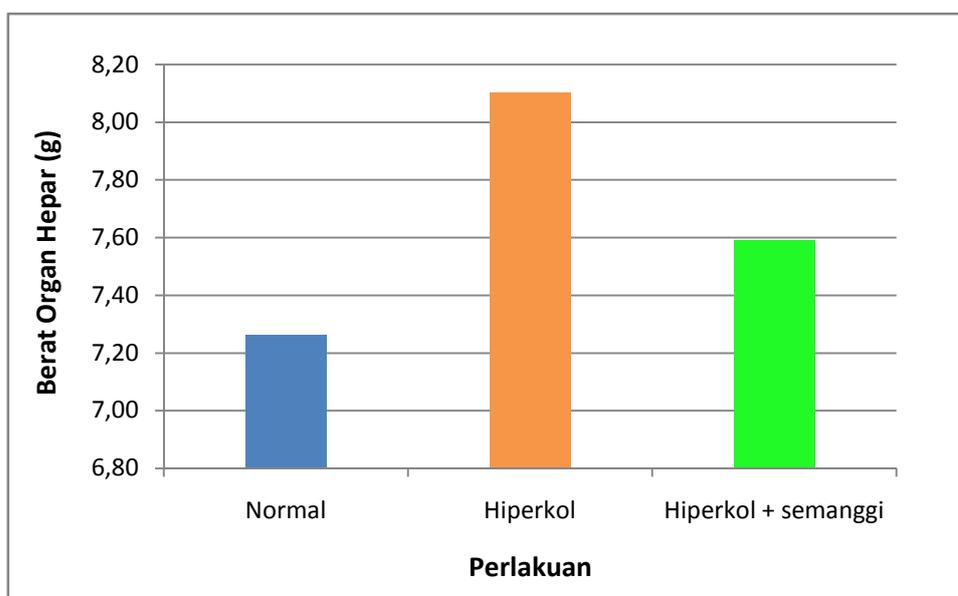
Tikus dengan diet lemak tinggi menghasilkan kenaikan berat badan tertinggi yaitu 1,103 g, tikus normal menghasilkan kenaikan berat badan 1,07 g. Kenaikan berat badan terendah dialami tikus dengan diet lemak tinggi dan semanggi yaitu sebesar 1,025 g. Hasil ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Jacobs (1983) yang menunjukkan bahwa baik

kenaikan berat badan maupun berat badan akhir tikus control maupun perlakuan adalah sama sampai akhir masa pengamatan yaitu 4 minggu.

Hal ini menunjukkan adanya fluktuasi berat badan pada tikus kelompok perlakuan yang dipengaruhi oleh pemberian tepung semanggi setelah pemberian ransum diet lemak tinggi. Selain karena masih beradaptasi dengan tepung semanggi yang ditambahkan ke dalam ransum, juga dipengaruhi oleh kemampuan serat semanggi dalam meningkatkan volume feses dan mempersingkat waktu transit. Sehingga energi yang tidak terpakai dan tersimpan di dalam tubuh berupa timbunan-timbunan lemak ikut terbawa bersama feses. Timbunan lemak ini mampu meningkatkan berat badan (Muchtadi *et al.*, 1992). Menurut Tensiska (2008), efek serat yang paling umum dikenal ialah kekambaan feses. Feses yang kamba (volumeuos) akan mempersingkat waktu transit.

4.2.2 Berat Organ Hepar Tikus Percobaan

Berat organ hepar tikus diukur pada akhir masa perlakuan (Lampiran 3.). Pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tiap perlakuan terhadap berat organ hepar tikus percobaan. Pengaruh perlakuan terhadap berat organ hepar tikus dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7.

Pengaruh perlakuan terhadap berat organ hepar tikus (nilai rerata)

Gambar 7 memperlihatkan bahwa rerata rasio berat organ hepar berkisar antara 0,02988-0,03021 g/bb tikus percobaan. Berat organ hepar tikus kelompok kontrol positif (diet lemak tinggi) lebih tinggi (0,03098 g/bb) daripada kelompok kontrol negatif (normal) (0,03021 g/bb) dan kelompok perlakuan (diet lemak tinggi+tepung semanggi) (0,02988 g/bb). Kelompok perlakuan memiliki berat organ hepar paling rendah dari semua kelompok tikus percobaan. Hal ini menunjukkan terdapat pengaruh antara perlakuan dengan berat hepar tikus. Walaupun berat hepar tersebut tidak jauh berbeda tiap perlakuan.

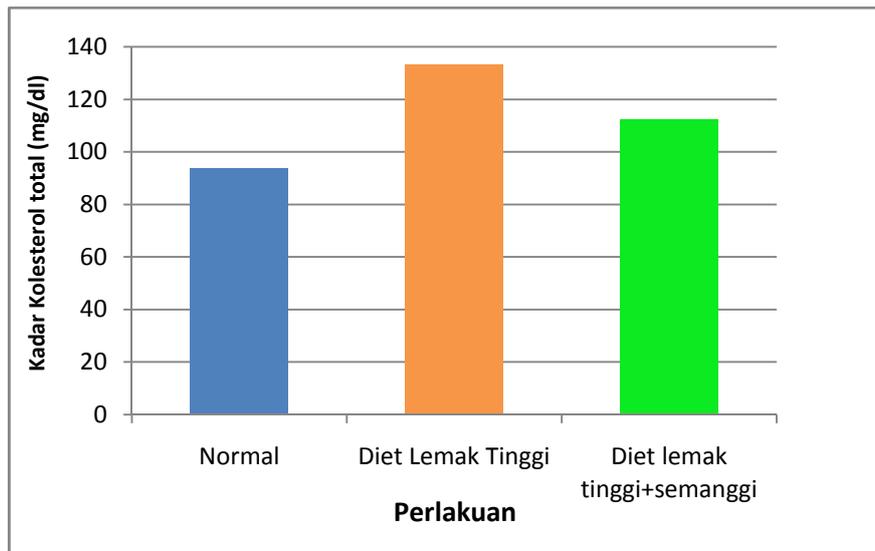
Hasil analisis statistik sidik ragam pada rasio berat organ hepar tikus (Lampiran 3) menyatakan bahwa penambahan serat pangan dari tepung semanggi sebesar 31,35% ke dalam ransum selama 15 hari terhadap tikus yang telah diberi diet lemak tinggi sebesar 15% selama 30 hari tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P>0,05$) terhadap penurunan berat organ hepar tikus percobaan. Namun berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Arjmandi *et al.*(2010) bahwa penambahan serat pangan (pectin dan psyllium) sebesar 10 % selama 3 minggu (21 hari) memberikan pengaruh yang nyata terhadap tikus yang diberi diet lemak tinggi (kolesterol) sebesar 0,3% selama 3 minggu. Hal ini membuktikan bahwa berat hepar yang tidak berbeda nyata pada penelitian ini disebabkan perbandingan konsentrasi antara serat dan diet lemak tinggi tidak berbeda jauh, tidak seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Arjmandi *et al.*(1992). Hal ini juga menunjukkan bahwa tepung semanggi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap total kolesterol dan trigliserida dalam organ hepar tikus percobaan. Pada kondisi akumulasi lemak, 40-50% berat *liver* (hepar) berasal dari berat lemak yang sebagian besar dalam bentuk trigliserida, phospholipid, kolesterol dan kolesterol ester (Schiff, 1993).

4.3 Pengaruh Perlakuan terhadap Profil Kolesterol Serum dan Kadar Kolesterol Feses

Tikus Percobaan

4.3.1 Kadar Kolesterol Total

Kadar kolesterol total ditetapkan bertujuan untuk mengetahui pengaruh tepung semanggi terhadap tikus yang telah diberi diet lemak tinggi. Pengaruh perlakuan terhadap kadar kolesterol total serum darah dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Pengaruh perlakuan terhadap kadar kolesterol total

Gambar 8 memperlihatkan kelompok tikus yang diberi perlakuan diet lemak tinggi dan penambahan tepung semanggi mempunyai kadar kolesterol lebih rendah (112,4 mg/dl) daripada kelompok kontrol positif yang hanya diberi perlakuan diet lemak tinggi tanpa penambahan tepung semanggi (133,3 mg/dl). Namun jika dibandingkan dengan kadar kolesterol total kelompok kontrol negatif (93,6 mg/dl) memiliki nilai yang lebih rendah dari kelompok perlakuan.

Hasil analisis statistik sidik ragam (Lampiran 5) menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,05$) pada penambahan tepung semanggi ke dalam ransum. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan tepung semanggi sebanyak 5,48 g/bb ke dalam ransum memberikan pengaruh yang signifikan menurunkan kadar kolesterol total serum tikus percobaan.

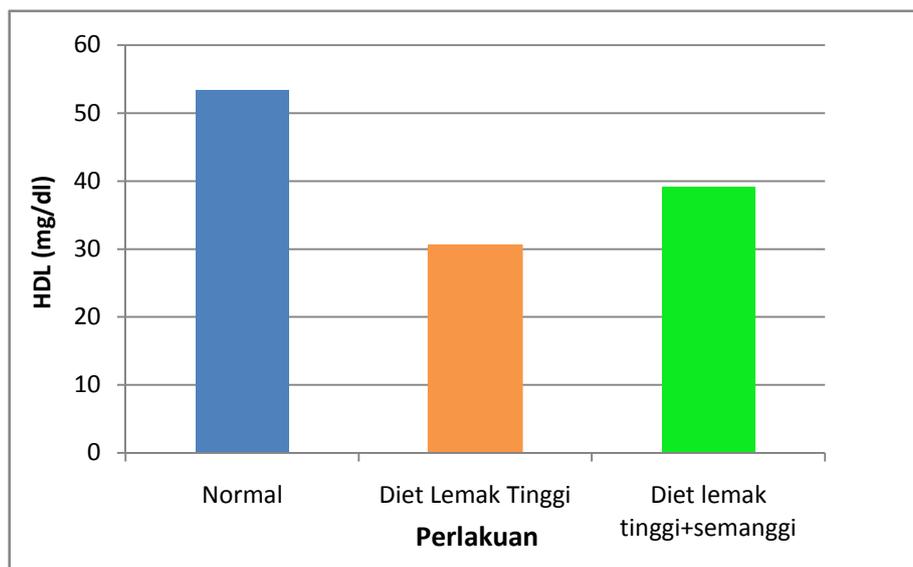
Kadar kolesterol total pada kelompok perlakuan mengalami penurunan yang disebabkan oleh beberapa faktor. Penyerapan kolesterol dari usus halus mengalami penurunan akibat gerak laju digesta yang semakin cepat dengan adanya serat. Hal ini sudah dibuktikan pada manusia oleh Deoleon *et al.* dalam Linder (2006) bahwa jika gerak laju digesta dipercepat dari normal 7 jam menjadi 4-5 jam, maksimal penyerapan kolesterol yang mula-mula 35-43% turun menjadi 21-27%. Serat selain mengikat kolesterol secara langsung juga mengikat asam empedu intraluminal dan menghambat sirkulasi enterohepatik

asam empedu. Mekanisme ini akan memacu kehilangan kolesterol dengan cara meningkatkan pengeluaran kolesterol asam empedu melalui feses. Anderson (1994) mengemukakan bahwa aksi utama yang menyebabkan penurunan penyerapan kolesterol pada ransum berserat tinggi adalah akibat meningkatnya ekskresi lemak, asam empedu dan kolesterol.

Mekanisme lain terhadap penurunan kolesterol disebabkan oleh meningkatnya produksi asam propionat sebagai hasil metabolisme serat oleh mikroba usus. Asam propionat ini akan menekan aktivitas enzim *β-hidroksi-β-metil glutaril-CoA reduktase* (HMG-CoA reduktase) sehingga biosintesis kolesterol terhambat (Harianto, 1996).

4.3.2 Kadar *High Density Lipoprotein* (HDL)

Kadar HDL ditetapkan bertujuan untuk mengetahui pengaruh tepung semanggi terhadap tikus yang telah diberi diet lemak tinggi. Pengaruh perlakuan terhadap kadar HDL dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Pengaruh perlakuan terhadap kadar HDL tikus

Gambar 9 diatas memperlihatkan bahwa kadar HDL pada kelompok perlakuan lebih tinggi daripada kelompok kontrol positif dengan nilai masing-masing 39,17 mg/dl dan 30,54 mg/dl. Sedangkan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dengan nilai 53,4 mg/dl, kelompok perlakuan lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan tepung semanggi mempengaruhi kadar HDL tikus kelompok perlakuan. Tepung semanggi yang

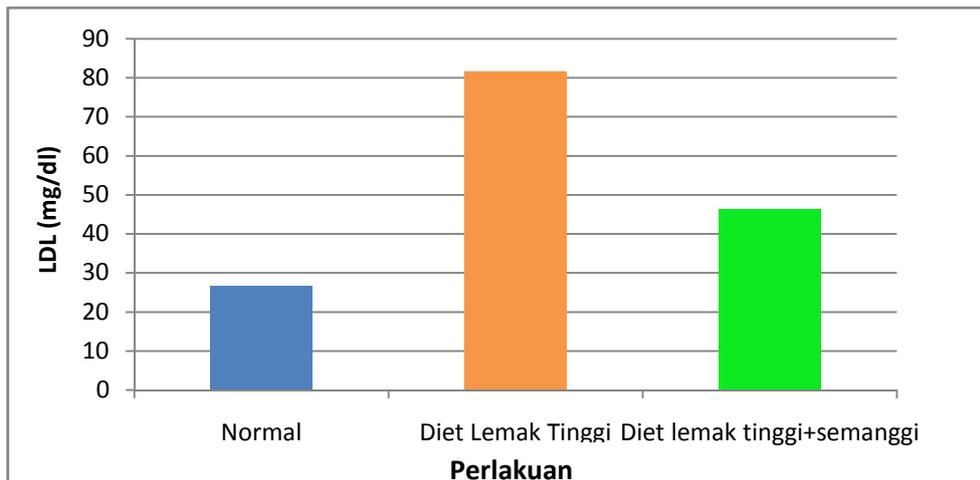
ditambahkan ke dalam ransum selama 15 hari mampu meningkatkan kadar HDL tikus yang telah diberi perlakuan diet lemak tinggi selama 30 hari.

Hasil analisis statistik sidik ragam (Lampiran 6) menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,05$) pada penambahan tepung semanggi ke dalam ransum. Hasil analisis tersebut semakin membuktikan bahwa penambahan tepung semanggi sebanyak 5,48 g/bb ke dalam ransum tikus yang telah diberi diet lemak tinggi selama 30 hari dapat memberikan pengaruh yang signifikan meningkatkan kadar HDL serum tikus percobaan. Peningkatan kadar HDL tikus ini mengindikasikan adanya perbaikan sirkulasi transport kolesterol dalam darah, dilihat dari fungsi HDL salah satunya adalah membawa kolesterol bebas dari jaringan perifer ke hati untuk dikonversi dalam bentuk lain, misalnya menjadi garam empedu (Hardini *et al.*, 2007). Hal ini berbanding terbalik dengan hasil analisis kadar kolesterol total.

Wirahadikusumah (1985) mengemukakan tingginya kadar HDL dalam darah akan mempercepat proses pengangkutan kolesterol ke hati, sehingga mengurangi kemungkinan terjadinya penimbunan kolesterol dalam pembuluh darah yang dapat menyebabkan pengapuran pada pembuluh darah. Peningkatan HDL yang terjadi sangat bermanfaat dalam menurunkan resiko aterosklerosis karena kandungan kolesterolnya yang rendah, yaitu kurang dari 25% (Sihombing, 2003).

4.3.3 Kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL)

Kadar LDL ditetapkan bertujuan untuk mengetahui pengaruh tepung semanggi terhadap tikus yang telah diberi diet lemak tinggi. Pengaruh perlakuan terhadap kadar LDL dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Pengaruh perlakuan terhadap kadar LDL tikus percobaan

Tepung semanggi yang ditambahkan ke dalam ransum tikus percobaan pada kelompok perlakuan menunjukkan kadar LDL yang terkandung lebih rendah (46,27mg/dl) daripada kelompok kontrol positif (81,76mg/dl) dan terjadi sebaliknya dengan kelompok kontrol negatif (26,74mg/dl). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan tepung semanggi ke dalam ransum kelompok perlakuan selama 15 hari mampu menurunkan kadar LDL tikus yang sebelumnya telah diberi perlakuan diet lemak tinggi bersamaan dengan kelompok kontrol positif selama 30 hari.

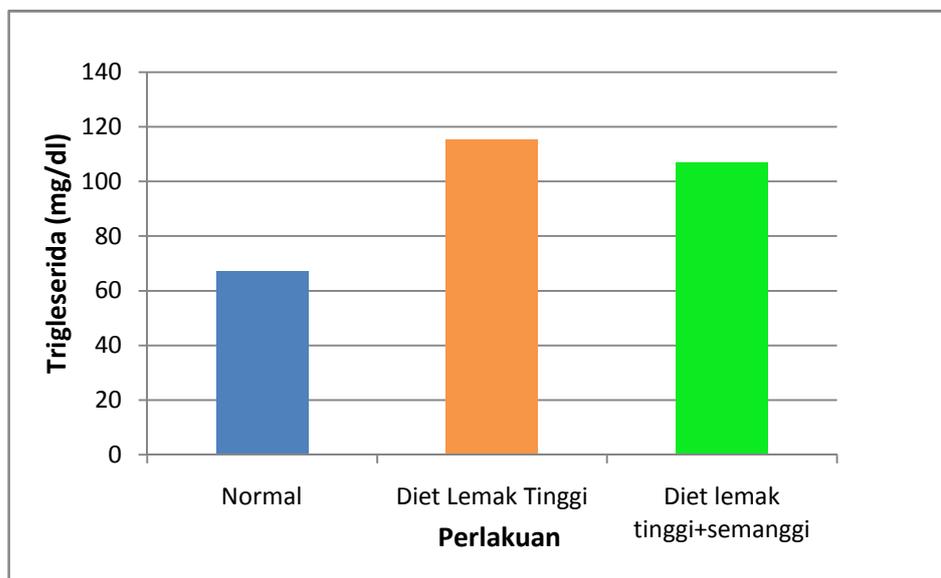
Hasil analisis statistik sidik ragam (Lampiran 7) menunjukkan bahwa penambahan tepung semanggi ke dalam ransum sangat nyata ($P < 0,05$) menurunkan kadar LDL serum tikus percobaan. Ini berarti untuk menurunkan kadar LDL tikus yang telah mengalami peningkatan kolesterol dengan diet lemak tinggi selama 30 hari cukup dibutuhkan penambahan 31,35 % tepung semanggi ke dalam ransum selama 15 hari agar diperoleh penurunan kadar LDL yang nyata. Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan Kotiah (2007), 1,5ml lidah buaya mampu menurunkan kadar LDL selama 14 hari dengan waktu peningkatan kolesterol yang sama yaitu 30 hari.

Hubungan LDL dengan kolesterol total terlihat jelas berbanding lurus karena sebagian besar (50-70%) kolesterol berada dalam bentuk LDL (Almatsier, 2002). Artinya jika kolesterol turun maka LDL juga akan turun. Hal ini terjadi karena terhambatnya atau terganggunya proses penyerapan kolesterol di usus yang disebabkan konsumsi serat dari

tepung semanggi sehingga meningkatkan laju alir ransum dan ekskresi asam empedu yang lebih besar. Seperti yang diketahui asam empedu terbuat dari kolesterol, ransangan untuk ekskresi asam empedu menunjukkan semakin banyak kolesterol yang dimanfaatkan untuk dibuat asam empedu dalam mengemulsi lemak hingga total kolesterol menurun yang berakibat kolesterol yang masuk ke hati rendah, maka VLDL juga rendah, akibatnya LDL juga rendah.

4.3.4 Kadar Trigliserida

Kadar trigleserida ditetapkan bertujuan untuk mengetahui pengaruh tepung semanggi terhadap tikus yang telah diberi diet lemak tinggi. Pengaruh perlakuan terhadap kadar trigleserida dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Pengaruh perlakuan terhadap kadar trigleserida tikus.

Gambar 11 menunjukkan kadar trigleserida serum tikus pada kelompok perlakuan (106,9 mg/dl) lebih tinggi daripada kelompok kontrol negatif (67,3 mg/dl). Namun, lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (115,4 mg/dl). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan tepung semanggi ke dalam ransum kelompok perlakuan selama 15 hari mampu menurunkan kadar trigliserida tikus yang sebelumnya telah diberi perlakuan diet lemak tinggi selama 30 hari.

Hasil analisis statistik sidik ragam (Lampiran 8) menunjukkan bahwa penambahan tepung semanggi ke dalam ransum sangat nyata ($P < 0,05$) menurunkan kadar trigliserida

serum tikus percobaan. Ini berarti untuk menurunkan kadar trigliserida tikus yang telah mengalami peningkatan kolesterol dengan diet lemak tinggi selama 30 hari cukup dibutuhkan penambahan 31,35 % tepung semanggi ke dalam ransum selama 15 hari agar diperoleh penurunan kadar LDL yang nyata. Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan Sihombing (2003), 10% tepung rumput laut mampu menurunkan kadar trigliserida selama 35 hari dengan waktu peningkatan kolesterol selama 40 hari.

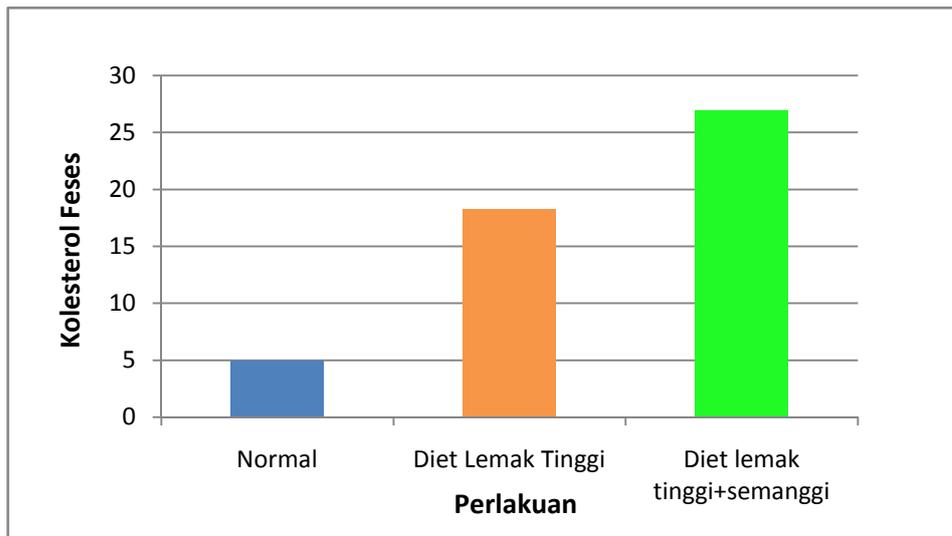
Kadar trigliserida mengalami penurunan pada kelompok perlakuan yang diberi tepung semanggi ialah mengikuti pola kadar LDL darah yang juga menurun (Gambar 10.). LDL adalah produk akhir dalam katabolisme VLDL, sedangkan VLDL merupakan alat pengangkut trigliserida dari hati ke jaringan di luar hati (akstrahepatik) (Murray *et al.*, 2003).

Trigliserida adalah salah satu bentuk lemak, setelah mengalami hidrolisis, trigliserida akan diserap usus halus. Trigliserida kemudian masuk ke dalam plasma dalam dua bentuk, yaitu sebagai kilomikron dalam bentuk misel yang berasal dari penyerapan usus setelah konsumsi lemak dan sebagai Very Low Density Lipoprotein (VLDL) yang dibentuk oleh hepar dari karbohidrat (Marks *et al.*, 2000). Sehingga bila kadar VLDL dan LDL tinggi maka kadar trigliserida juga akan tinggi.

Kadar trigliserida yang mengalami penurunan juga disebabkan oleh serat terlarut dalam semanggi yang menghambat pengangkutan misel di dalam usus. Serat pembentuk gel dapat bertindak dalam usus atas, baik dengan karantina langsung atau dengan penghambatan pengangkutan misel melalui *unstirred water layer* (Kay R. M., 2008).

4.4.5 Kadar Kolesterol Feses

Kadar kolesterol feses ditetapkan bertujuan untuk mengetahui pengaruh tepung semanggi terhadap tikus yang telah diberi diet lemak tinggi. Pengaruh perlakuan terhadap kadar kolesterol feses dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Pengaruh perlakuan terhadap kadar kolesterol feses tikus.

Gambar 12 menunjukkan bahwa kadar kolesterol dalam feses dari nilai terendah hingga tertinggi dimiliki oleh kelompok kontrol negatif sebesar 4,95 mg/g, diikuti kelompok kontrol positif sebesar 18,21mg/g dan kelompok perlakuan tepung semanggi sebesar 26,88mg/g.

Hasil analisis statistik sidik ragam kolesterol feses (Lampiran 9.) menunjukkan bahwa penambahan tepung semanggi dalam ransum sangat nyata ($P < 0,05$) meningkatkan kadar kolesterol dalam feses tikus. Berdasarkan data maka dapat diketahui bahwa semakin banyak serat yang dikonsumsi maka semakin banyak pula kolesterol yang mampu diikat oleh serat sehingga kolesterol yang terkandung di dalam feses pun semakin banyak.

Serat yang berperan dalam mengikat kolesterol adalah serat larut air. Sedangkan jenis serat yang berperan dalam membantu memperlancar pengeluaran feses adalah serat tidak larut air (Wardlaw *et al.*, 2004). Semanggi mengandung serat larut air sebesar 9,28% dan serat tidak larut air sebesar 6,77%, hal inilah yang diduga dapat menurunkan kadar lipid darah dalam kondisi berlebih kemudian mengeluarkannya dari dalam tubuh bersama dengan feses.

Waspadji (1990) mengemukakan serat makanan dapat dibagi dua bagian besar yaitu serat larut dan serat tidak larut. Serat larut berpengaruh baik terhadap metabolisme karbohidrat dan lemak. Serat larut di dalam usus besar diragikan menjadi gas dan asam lemak rantai pendek yang dengan cepat dikeluarkan/dibuang sehingga kurang berpengaruh

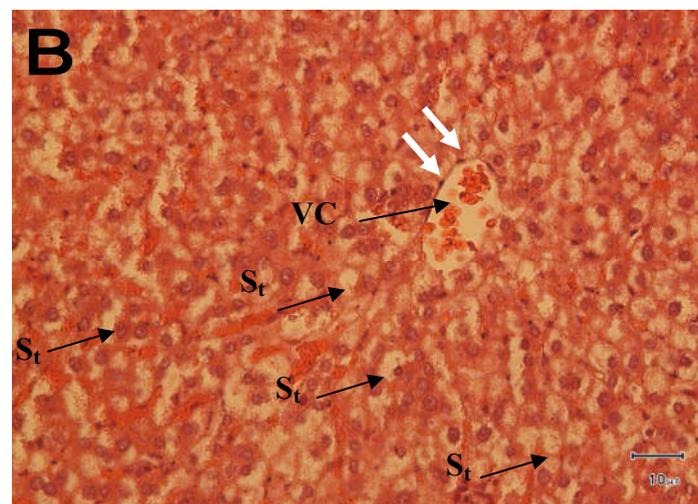
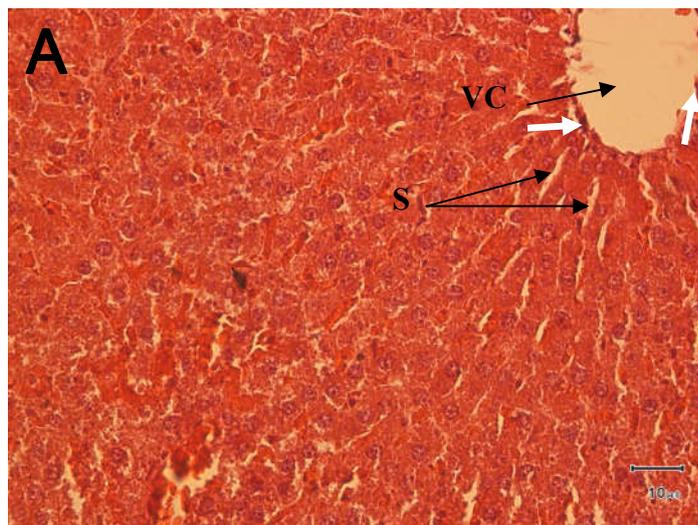
terhadap massa fekes, sedangkan serat tidak larut lebih banyak berpengaruh terhadap massa fekes, tetapi sedikit mempunyai pengaruh metabolik.

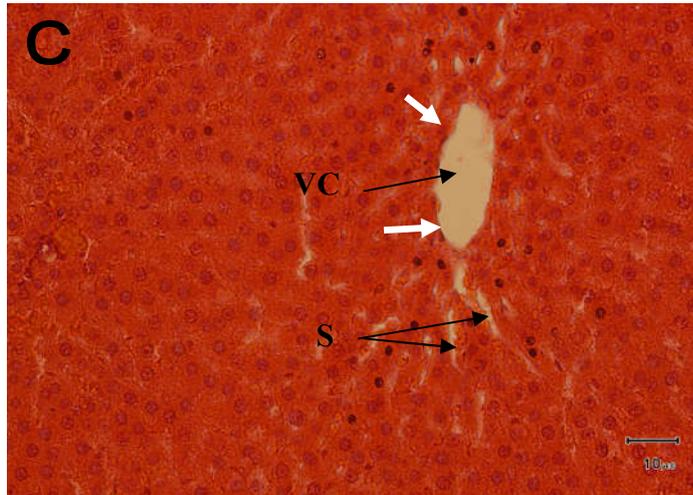
4.4 Pengaruh Perlakuan terhadap Histopatologi Hepar dan Aorta Tikus Percobaan

Pada akhir masa percobaan, dilakukan pengambilan serum darah, organ hepar dan organ aorta tikus. Pertama tikus dibunuh, kemudian dibedah dan diambil sampel serum darah, hepar dan aortanya. Sampel tersebut difiksasi dalam formalin 10% kemudian diproses untuk pemeriksaan histopatologi / foto jaringan (Addison, 1962). Uji Histopatologi ini dilakukan untuk melihat respon dari diet lemak tinggi terhadap tikus percobaan dan kemungkinan terjadinya perubahan struktural jaringan organ hati dan aorta.

4.4.1 Histopatologi Hepar

Gambaran histopatologi hepar tikus percobaan yang telah diberi perlakuan dapat dilihat pada gambar 13 dibawah ini.





Gambar 13. Mikroskopis potongan melintang hepar tikus A (kelompok kontrol negatif), B (kelompok kontrol positif) dan C (Kelompok perlakuan). Perbesaran 400x.

Gambar 13 memperlihatkan bahwa hepar tikus percobaan kelompok kontrol negatif (normal) dengan perbesaran 400x (Gambar 13.A) dalam keadaan kondisi normal. Hal ini terlihat dari vena sentralis (VC) yang terlihat jelas dan bersih serta masih terdapat sel endotelium (panah putih) disekitarnya. Selain itu, sinusoid (S) hepar tikus kelompok kontrol negatif (normal) tersebut juga terlihat jelas dan kosong. Serta tidak terjadi steatosis (S_t) berupa lubang-lubang putih pada sitoplasma hepatosit yang banyak terdapat di area lobulus. Steatosis merupakan proses penyimpanan lipid abnormal di dalam sel (Wikipedia, 2010). Pada keadaan normal, vena sentralis merupakan sebuah pembuluh vena yang dikelilingi oleh sel endotelium yang tersusun rapat (Flore, 1981; Arifin *et al.*, 2007) dan terletak pada pusat lobulus dengan sel hepatosit tersusun secara radier ke arah vena sentralis. Di sepanjang sel hepatosit terdapat sinusoid tempat mengalirnya darah yang nantinya akan ditampung oleh vena sentralis (Fawcett, 2002; Arifin *et al.*, 2007).

Keadaan hepar kelompok kontrol positif (diet lemak tinggi) berbanding terbalik dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini terlihat dari Gambar 13.B yang menunjukkan bahwa vena sentralis (VC) dari kelompok kontrol positif tidak terlihat jelas. Vena sentralis mengalami kerusakan berupa lisisnya sel endotelium sehingga lingkarannya tidak utuh dan tidak jelas. Kerusakan pada vena sentralis ini berkaitan dengan pemberian diet lemak tinggi pada

ransum yang meningkatkan jumlah kolesterol sehingga mempengaruhi peranan vena sentralis pada sirkulasi, vena sentralis menerima kolesterol dalam jumlah banyak baik berasal dari darah yang mengalir dari sinusoid-sinusoid maupun kolesterol yang dibentuk dalam sitoplasma sel hati itu sendiri. Selain itu, sinusoid (S) tidak terlihat jelas yang diakibatkan oleh steatosis (S_t) berlebih berupa lubang-lubang putih di area lobulus. Disamping itu, kerusakan hati juga terlihat dari kondisi sel hepatosit yang tidak teratur. Sel hepatosit secara normal tersusun secara teratur membentuk lempengan sel dan nukleus bulat dan sitoplasma yang cerah, dan secara radier menuju pusat lobulus (Prince, 1997; Arifin *et al.*, 2007).

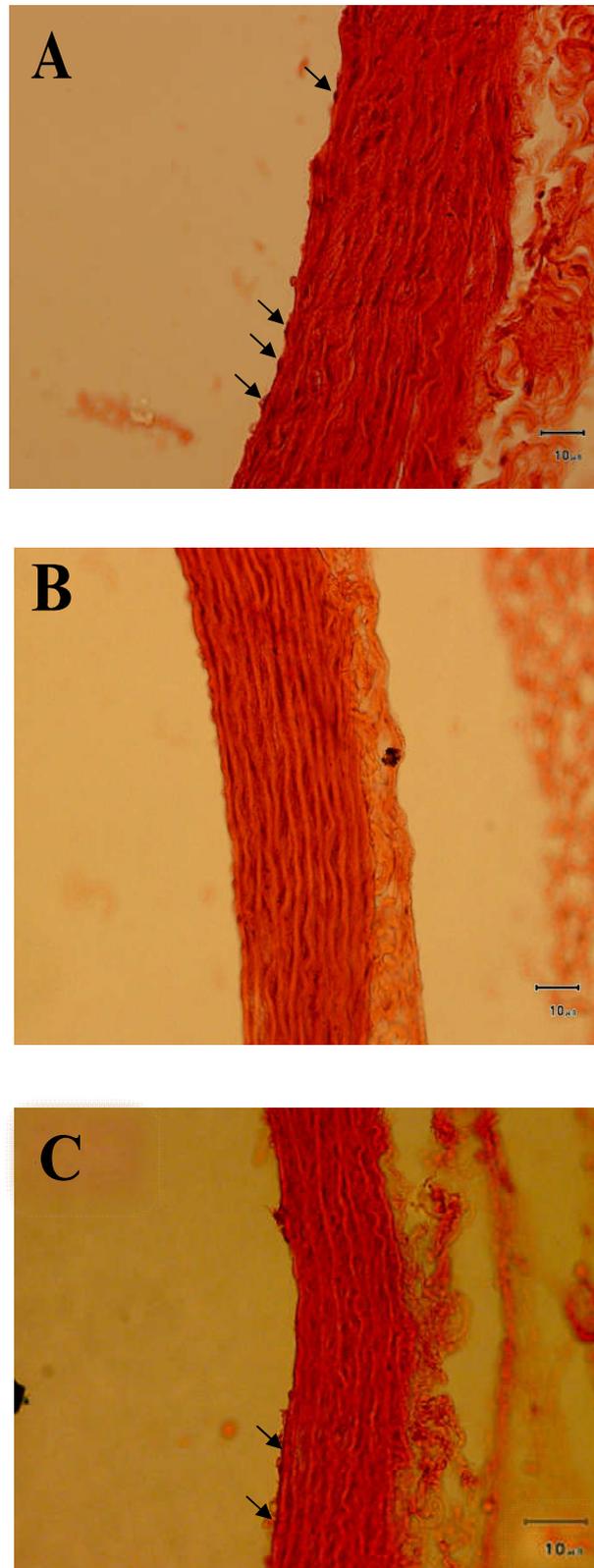
Gambar 13.C, menunjukkan kondisi jaringan hepar tikus kelompok perlakuan tidak berbeda jauh dengan kelompok kontrol negatif. Ini tampak pada vena sentralis (VC) dan sinusoid (S) yang terlihat jelas serta terdapatnya sel endotelium di sekitar vena sentralis meskipun terbilang lebih sedikit dari pada kelompok kontrol negatif. Selain itu, tidak tampaknya steatosis (S_t) yang berupa lubang-lubang putih yang tidak terwarnai dalam histopatologi seperti pada jaringan hepar tikus kelompok kontrol positif (Gambar 13.B). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian tepung semanggi dalam ransum tikus dengan dosis 5,48 g/bb pada tikus percobaan kelompok perlakuan memberikan pengaruh yang nyata dalam menurunkan kadar kolesterol yang berlebihan di hepar tikus.

Beberapa faktor yang menyebabkan pemulihan kondisi normal pada jaringan hepar tikus kelompok perlakuan ini adalah pengaruh dari serat yang terkandung dalam semanggi. Serat membantu meningkatkan ekskresi asam empedu sehingga meningkat pula penggunaan kolesterol dari hati untuk membentuk asam empedu. Terjadi penghambatan sintesis kolesterol oleh asam lemak rantai pendek yang dihasil dari fermentasi serat larut di dalam kolon sehingga terjadi penurunan kolesterol dalam plasma darah yang akan masuk ke hati melewati sinusoid dan menuju vena sentralis (Wolever *et al.*, 1997).

4.4.2 Histopatologi Aorta

Jenis pembuluh darah yang diamati adalah arteri pada bagian aorta. Pada sel normal, endotelium (dinding sel bagian dalam) pada aorta, sel-sel yang berbentuk pipih (Rukmini,

2007). Gambaran histopatologi aorta tikus percobaan yang telah diberi perlakuan dapat dilihat pada gambar 14.



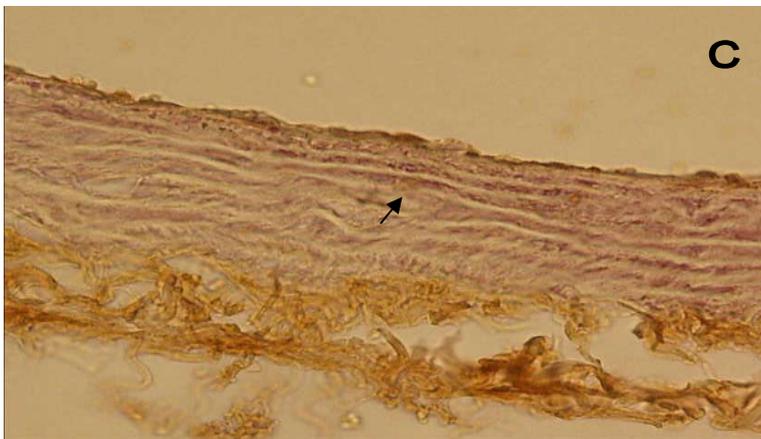
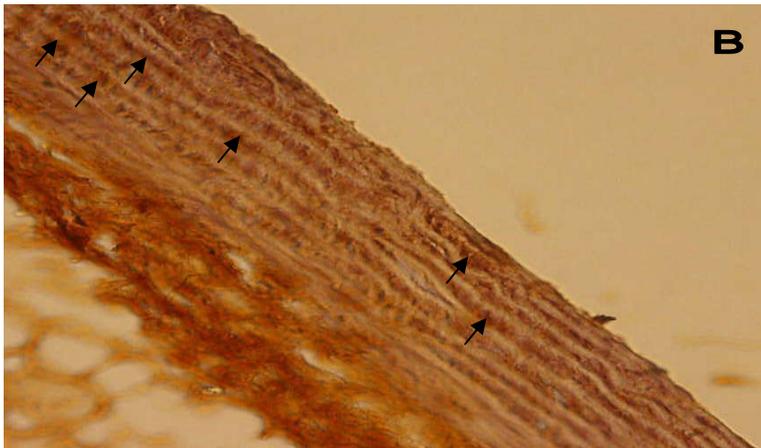
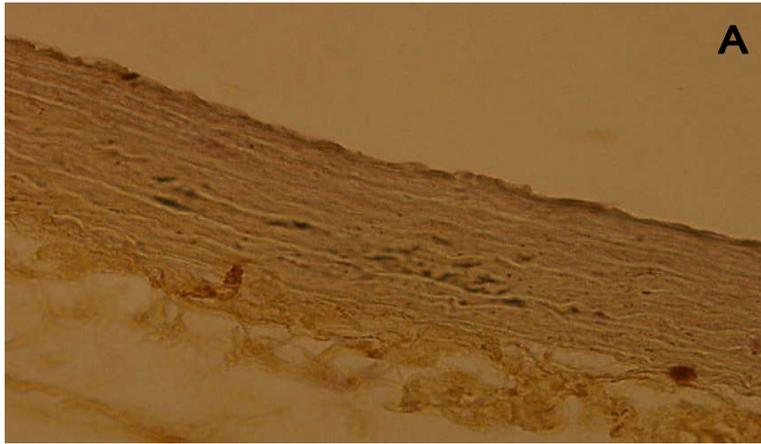
Gambar 14. Mikroskopis histopatologi potongan melintang aorta tikus A (kelompok kontrol negatif) ransum normal, B (kelompok kontrol positif) diberi diet lemak 15% dan C (kelompok perlakuan) diberi diet lemak 15% dan tepung semanggi 31,35%.

Gambar 14.A menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif terdapat sel-sel endotel yang masih tersusun dengan baik di tunika intima. Hal ini disebabkan ransum yang diberikan ialah ransum standart tanpa peningkatan kadar lemak dalam komposisi ransum tersebut. Gambar 14.B pada tikus percobaan yang diberi diet lemak 15 % memperlihatkan kerusakan pada sel-sel endotel menyebabkan sel-sel tersebut tidak tampak. Terjadinya luka pada lapisan endotel aorta merupakan tanda awal lesi aterosklerosis yang disebabkan oleh LDL teroksidasi (Jialal dan Devaraj, 1996). Hal ini akan merangsang monosit melekat dibagian yang terluka kemudian menembus lapisan endotel menuju lapisan intima dan berubah menjadi sel-sel penangkap (*Scavenger cells*) atau disebut sebagai makrofag. Kolesterol yang diangkut oleh LDL ditangkap oleh makrofag, sehingga makrofag berubah menjadi sel buih (*foam cell*) yang kemudian diikuti oleh penimbunan lemak dibawah lapisan endotel. Hal ini dapat menyebabkan nekrosis dan apoptosis pada sel-sel endotel sehingga sel endotel mengalami pelepasan sel dari membran basalis (Torina, 2009).

Gambar 14.C menunjukkan pemulihan pada sel-sel endotel. Hal ini membuktikan terjadinya penurunan kadar kolesterol yang disebabkan adanya asupan serat tinggi dari penambahan tepung semanggi. Serat pangan mempunyai kemampuan menghambat misel yang membawa lipida hasil dari pencernaan di dalam usus dengan karantina langsung atau penghambatan pengangkutan misel melalui *unstirred water layer* dalam usus bagian atas. Berdasarkan analisis statistik pada perlakuan tepung semanggi dengan dosis 5,48 g/bb yang diberikan secara oral setiap hari selama 15 hari mampu menurunkan kadar kolesterol darah secara bermakna ($P < 0,05$), pengaruh ini memperlihatkan pengaruh yang nyata.

4.4.2.1 Pengaruh perlakuan terhadap F2-Isoprostan aorta tikus

F2-Isoprostan pada aorta tikus percobaan ini diketahui melalui metode pewarnaan imunohistokimia. Gambaran F2-Isoprostan pada aorta tikus yang telah diberi perlakuan dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Histopatologi aorta tikus secara imunohistokimia perbesaran 400 x. A. Normal, B. Diet lemak tinggi dan C. Diet lemak tinggi + semangi. F2-Isoprostan (warna coklat :).

Gambar 15 memperlihatkan bahwa kelompok kontrol negatif (gambar 15. A) dengan perlakuan normal tidak terdapat F2-Isoprostan yang ditandai dengan kecerahan dari warna jaringan aorta tikus. Sedangkan pada kelompok kontrol positif (gambar 15. B) dengan perlakuan diet lemak tinggi 15% terdapat banyak F2-Isoprostan di sekitar jaringan dan di vaskular sel otot polos yang ditandai dengan warna coklat (→). Adapun jika dibandingkan

pada kelompok perlakuan (gambar 15. C) dengan pemberian diet lemak tinggi 15% dan tepung semanggi 31,35% terdapat penurunan F2-Isoprostan yang ditandai dengan tidak begitu gelapnya warna dari jaringan aorta tikus serta sedikitnya terdapat warna coklat disekitar vakular sel otot polos. Sebab penurunan F2-Isoprostan pada kelompok perlakuan adalah akibat dari pemberian serat pangan tepung semanggi yang memiliki kemampuan menurunkan kadar LDL dalam darah dan menjaga keaktifan fungsi endotel.

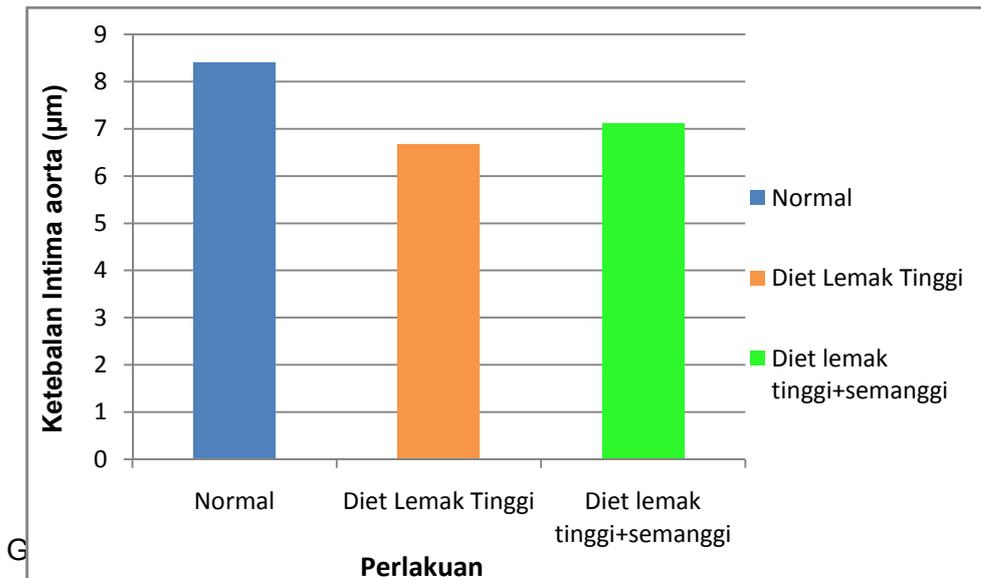
F2-Isoprostan dibentuk dari serangan radikal bebas terutama radikal hidroksil terhadap LDL yang pada dasarnya merupakan lipoprotein yang mudah masuk ke dalam dinding arteri dan teroksidasi karena densitasnya yang rendah. Hal inilah yang menimbulkan reaksi berantai yang dikenal dengan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan protein membran dan disfungsi endotel (Contran *et al.*, 1999; Halliwell dan Gutteridge, 1999). Pada keadaan normal sel endotel dapat mencegah masuknya lipoprotein dan monosit ke dalam dinding pembuluh darah, menjaga relaksasi vaskular dan mencegah koagulasi dan trombosis. Fungsi endotel ini sangat sensitif terhadap berbagai macam bentuk luka, salah satunya seperti stress oksidatif. F2-Isoprostan juga dapat terakumulasi dalam vaskular sel otot polos dalam plak aterosklerosis (Mezzetti *et al.*, 2000).

Sifat serat semanggi yang penting adalah pencegahan terhadap penumpukkan LDL yang teroksidasi di dalam dinding arteri. Penumpukkan LDL ini dapat dicegah karena asam propionat yang dihasilkan dari metabolisme serat yang berfungsi menghambat biosintesis kolesterol akibatnya pembentukan LDL juga terhambat.

Hasil penelitian Arjuna (2002), didapatkan bahwa F2-Isoprostan merupakan prediktor dini pada aterosklerosis awal. Dan pada penelitian yang dilakukan Fikriah (2004) menunjukkan bahwa pembentukan F2-Isoprostan *in vivo* akan meningkat pada penderita hiperkolesterolemia.

4.4.2.2 Pengaruh perlakuan terhadap ketebalan intima aorta tikus

Ketebalan intima aorta tikus diukur pada akhir masa perlakuan secara histopatologi (Lampiran 10.). Pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tiap perlakuan terhadap ketebalan intima aorta tikus percobaan. Pengaruh perlakuan terhadap ketebalan intima aorta tikus dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16 memperlihatkan bahwa rerata ketebalan intima aorta tikus berkisar antara 6,6674 - 8,4038 µm. Ketebalan intima aorta tikus kelompok kontrol positif (diet lemak tinggi) lebih rendah (6,6674 µm) daripada kelompok kontrol negatif (normal) (8,4038 µm) dan kelompok perlakuan (diet lemak tinggi+tepung semanggi) (7,1104 µm). Kelompok kontrol positif memiliki ketebalan intima yang paling rendah dari semua kelompok tikus percobaan. Hal ini menunjukkan tidak terdapat pengaruh antara perlakuan dengan ketebalan intima aorta tikus percobaan.

Hasil analisis statistik sidik ragam pada ketebalan intima aorta tikus (Lampiran 10) menyatakan bahwa penambahan tepung semanggi ke dalam ransum tikus percobaan tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) terhadap penurunan ketebalan intima aorta tikus percobaan. Hal ini dimungkinkan akibat dari pelepasan sel-sel endotel pada lapisan lamina elastika interna yang disebabkan pengaruh dari kadar kolesterol yang tinggi. Disamping itu, belum terjadi akumulasi lemak di dalam dinding aorta sehingga tidak

terbentuk makrofag yang dapat menyebabkan penebalan pada dinding aorta. ini dikarenakan waktu percobaan yang dilakukan terbilang pendek. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Sampurna (2010), lama masa perlakuan yang dibutuhkan untuk mengurangi ketebalan dinding aorta tikus ialah 6 minggu atau 42 hari. Hal tersebut membuktikan bahwa pemberian tepung semanggi pada ransum tikus selama 15 hari tidak efektif dalam mengurangi ketebalan dinding aorta baik intima, media maupun adventisia.

Penebalan lapisan intima merupakan salah satu karakteristik terjadinya arteroklerosis dalam arteri yang dapat menyebabkan jantung koroner. Akumulasi lipid pernah ditemukan di dalam intima lebih dari 200 μm , dan adakalanya juga meluas ke bagian media dan melibatkan pembentukan neovessel disekitarnya (Fukuchi *et al.*, 2002).