

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Sampel

Pemilihan hewan coba pada awal penelitian dilakukan dengan teliti dan sesuai dengan kriteria inklusi untuk mencegah terjadinya bias pada hasil penelitian. Jenis tikus yang digunakan adalah tikus jantan jenis *Rattus norvegicus* Strain Wistar. Rerata umur tikus yang digunakan berkisar 2 bulan, berat badan antara 150-200 gram, tikus dalam keadaan sehat selama penelitian ditandai dengan nafsu makan baik, gerak aktif, dan warna bulu putih. Pemilihan jenis kelamin jantan untuk meminimalkan faktor pengganggu metabolisme lipid misalnya adanya hormon estrogen. Dalam penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok dengan perlakuan berbeda dengan teknik randomisasi yang memungkinkan setiap tikus memiliki peluang yang sama untuk menjadi sampel dalam kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol (Setiawan, 2009).

Hasil uji statistik karakteristik sampel berdasarkan berat badan setelah adaptasi diperoleh nilai yang homogen dengan nilai $p > 0,05$ yaitu $p = 0,386$. Dengan homogenitas ini maka diharapkan segala perubahan yang terjadi pada tikus percobaan disebabkan oleh perlakuan yang diberikan selama penelitian (pemberian diet aterogenik dan pemberian bubuk daun katuk).

6.2 Peningkatan Berat Badan Tikus

Peningkatan berat badan tikus merupakan penambahan berat badan tikus selama penelitian yang diperoleh dari pengurangan berat badan sebelum

dan setelah perlakuan. Penimbangan berat badan tikus dilakukan setiap minggu untuk mengetahui perubahan berat badan sampel. Berdasarkan hasil analisa terdapat peningkatan berat badan pada semua kelompok perlakuan. Rerata peningkatan berat badan pada hewan coba adalah 96.6 – 181 gram. Faktor yang mempengaruhi perbedaan peningkatan berat badan diantaranya asupan energi, tingkat aktifitas tikus, kesehatan dan tingkat stres (Syarkiah, 2008).

Selama penelitian, kesehatan semua tikus yang digunakan baik. Perlakuan bubuk daun katuk yang dicampurkan ke dalam pakan selama penelitian dapat menyamakan tingkat stres dari semua tikus yang digunakan. Faktor lain yang mempengaruhi peningkatan berat badan adalah asupan energi. Peningkatan berat badan tertinggi terdapat pada kelompok K(-) yaitu 181 ± 15.3 gram, sedangkan peningkatan berat badan terendah terdapat pada kelompok P3 yaitu 96.6 ± 12.4 gram. Asupan energi pada kelompok K(-) yaitu 80.5 kkal lebih rendah dibandingkan asupan energi pada kelompok P3 yaitu 96.4 kkal. Sehingga dapat disimpulkan, asupan energi tidak selalu berbanding lurus dengan peningkatan berat badan. Hal ini dapat dipengaruhi oleh faktor lain yaitu aktivitas fisik.

Tikus dengan aktivitas tinggi membutuhkan energi lebih banyak sehingga mempengaruhi asupan pakan yang akan meningkat. Tetapi peningkatan berat badan pada tikus dengan aktivitas tinggi biasanya cenderung lebih rendah dibanding tikus dengan aktivitas rendah. Sedangkan tikus dengan aktivitas rendah biasanya mengalami peningkatan berat badan di atas rerata dibandingkan dengan kelompok lainnya. Sehingga aktivitas yang rendah akan meningkatkan berat badan tikus. Namun dalam penelitian ini tidak dilakukan pengamatan terhadap aktivitas fisik tikus.

6.3 Pengaruh Diet Aterogenik Terhadap Kadar LDL Serum Tikus

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan diet aterogenik dapat meningkatkan kadar LDL serum dibandingkan dengan diet normal. Hasil analisis menunjukkan rerata kadar LDL serum pada kelompok yang diberi diet aterogenik K(+) yaitu 6.02 mg/dl lebih tinggi dibandingkan rerata kadar LDL serum pada kelompok yang diberi diet normal K(-) yaitu 5.38 mg/dl, tetapi berdasarkan analisis statistik tidak terdapat perbedaan signifikan antara rerata kadar LDL serum kelompok K(+) dengan kelompok K(-) yaitu $p=0.530$.

Hasil serupa juga didapatkan pada penelitian Riswati (2010) terkait rerata kadar LDL serum tikus yang diberi diet aterogenik. Dari hasil analisis statistik pada penelitian tersebut didapatkan bahwa rerata kadar LDL serum pada kelompok yang diberi diet aterogenik K(+) lebih tinggi dibandingkan rerata kadar LDL serum pada kelompok yang diberi diet normal K(-), tetapi tidak terdapat perbedaan secara signifikan yaitu $p=0.754$.

Kadar LDL yang tinggi pada kelompok K(+) dibandingkan dengan kelompok K(-) terjadi karena perbedaan asupan lemak pada kedua kelompok perlakuan tersebut. Asupan lemak pada K(-) sebesar 0.71 g dan asupan lemak pada K(+) sebesar 5.28 g. Asupan lemak yang rendah pada K(-) dikarenakan kandungan lemak dalam 40 g diet normal hanya sebesar 0.93 gram, sedangkan diet aterogenik yang diberikan pada kelompok K(+) mengandung lemak sebesar 9.59 gram. Kandungan lemak dalam diet aterogenik yang lebih tinggi dibandingkan pada diet normal karena komposisi diet aterogenik yang terdiri dari PARS (pakan ayam), tepung terigu, kuning telur bebek, lemak kambing, minyak kelapa, asam kolat, dan minyak babi, sedangkan pada diet normal hanya terdiri dari PARS (pakan ayam), tepung terigu, dan air.

Diet aterogenik dapat membentuk kondisi lemak berlebih pada tikus. Minyak babi memiliki kandungan lemak jenuh dan kolesterol yang sangat tinggi dibandingkan minyak hewani lainnya sehingga berguna untuk meningkatkan kadar LDL (Murwani dkk., 2005). Tidak hanya terjadi peningkatan kadar LDL, tetapi ukuran partikel LDL juga meningkat. Selain itu, asam lemak jenuh dapat menurunkan aktivitas dan kadar reseptor LDL sehingga terjadi penurunan tarikan LDL oleh reseptor LDL di hepar. Kondisi ini semakin meningkatkan kadar LDL dalam darah (Almatsier, 2004; Fernandez dan West, 2005). Sedangkan asam kolat diduga berfungsi menurunkan kadar HDL. Dengan pemberian diet aterogenik selama 8 minggu terbukti dapat meningkatkan kolesterol darah dan menginduksi terbentuknya sel busa (Murwani dkk., 2005).

Ambang batas normal kadar LDL pada tikus adalah 7 – 27.2 mg/dl (Herwiyarirasanta, 2010). Jika dibandingkan dengan ambang batas normal tersebut, rerata kadar LDL tikus pada tiap kelompok perlakuan masih termasuk kategori normal. Sehingga dapat disimpulkan, diet aterogenik yang diberikan dapat meningkatkan kadar LDL tikus, namun peningkatan kadar LDL tersebut belum melebihi ambang batas normal kadar LDL pada tikus.

6.4 Pengaruh Bubuk Daun Katuk Terhadap Kadar LDL Serum Tikus

Pemberian bubuk daun katuk bersamaan dengan pemberian diet aterogenik karena bubuk daun katuk dalam penelitian ini bersifat preventif. Pemberian bubuk daun katuk diharapkan dapat mencegah kenaikan kadar LDL serum. Dosis bubuk daun katuk yang digunakan yaitu: P1 (diet aterogenik dengan substitusi 6% bubuk daun katuk), P2 (diet aterogenik dengan substitusi 9% bubuk daun katuk) dan P3 (diet aterogenik dengan substitusi 12% bubuk daun katuk).

Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan rerata kadar LDL serum pada kelompok P2 dan P3. Berdasarkan analisis statistik menunjukkan rerata kadar LDL serum kelompok P2 berbeda signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif K(+) yaitu nilai $p=0,028$, tetapi tidak terdapat perbedaan rerata kadar LDL serum yang signifikan antara kelompok P3 dibandingkan dengan kontrol positif K(+) yaitu nilai $p=0.917$.

Berdasarkan rerata kadar LDL serum pada masing-masing perlakuan dari urutan yang paling rendah yaitu, kelompok perlakuan P2 (3.88 mg/dl), kelompok perlakuan P3 (5.68 mg/dl) dan kelompok perlakuan P1 (7.2 mg/dl). Rerata kadar LDL serum pada kelompok perlakuan P1 lebih tinggi dibandingkan kelompok K(+), akan tetapi peningkatan tersebut tidak signifikan ($p=0.347$). Hal ini dapat disebabkan karena beberapa hal, salah satunya dimungkinkan karena kadar LDL darah awal tikus sudah tinggi. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan kadar LDL awal tikus sebelum diberi perlakuan. Selain itu, besar kecilnya asupan lemak dari masing-masing kelompok mempengaruhi kadar LDL tikus.

Asupan lemak pada kelompok yang diberi diet aterogenik dan kelompok perlakuan yang diberi bubuk daun katuk akan menyebabkan peningkatan aktivitas lipogenesis, dan FFA atau asam lemak bebas yang terbentuk juga semakin banyak. Kemudian terjadi mobilisasi FFA dari jaringan lemak menuju hepar dan berikatan dengan gliserol membentuk TG. Sehingga semakin tinggi konsumsi lemak maka semakin tinggi kadar TG dalam darah (Myers, 2003). TG yang berlebih dalam darah potensial sebagai bahan pembentukan VLDL dan LDL di hepar. Oleh karena itu, hal tersebut berisiko meningkatkan kadar LDL dalam darah.

Rerata asupan lemak tertinggi terdapat pada kelompok P2 (5.78 gram) selanjutnya kelompok P1 (5.68 gram), kelompok K(+) (5.28 gram), kelompok P3 (5.02 gram), dan terendah terdapat pada kelompok K(-) (0.71 gram). Rerata asupan lemak pada kelompok P1 lebih tinggi dibandingkan kelompok K(+). Hal tersebut dapat menjadi salah satu faktor yang menyebabkan rerata kadar LDL pada kelompok P1 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K(+). Selain itu, terdapat kemungkinan faktor lainnya karena pemberian bubuk daun katuk dengan dosis 6% belum dapat memberikan efek menurunkan kadar LDL sehingga rerata kadar LDL pada kelompok P1 lebih tinggi dibandingkan kelompok K(+). Terdapat pula beberapa faktor risiko yang dapat meningkatkan kadar LDL dalam darah yaitu hipertensi ($>140/90$ mmHg), kadar HDL yang rendah (<40 mg/dl), obesitas dan kurangnya aktivitas fisik (Sandmaier, 2005). Jika dilihat dari berat badan selama penelitian, rerata berat badan tikus kelompok P1 yaitu 321.6 gram lebih tinggi dibandingkan pada kelompok K(+) yaitu 314.2 gram. Sehingga kemungkinan faktor lain yang dapat mempengaruhi kadar LDL pada kelompok P1 lebih tinggi dibandingkan pada kelompok K(+) adalah berat badan yang berlebih.

Sedangkan rerata kadar LDL terendah terdapat pada kelompok P2 yaitu 3.88 mg/dl. Hal ini dapat disebabkan karena adanya senyawa aktif yang terkandung dalam bubuk daun katuk dengan dosis 9% pada kelompok P2 memberikan efek penurunan secara signifikan terhadap kadar LDL serum tikus. Pemberian dosis bubuk daun katuk 12% pada kelompok P3 juga dapat menurunkan kadar LDL serum tikus, namun tidak sebanyak yang terjadi pada kelompok P2. Hal ini dapat dipengaruhi oleh faktor lain yang menyebabkan penurunan kadar LDL tikus pada kelompok P3 tidak signifikan dibandingkan

kelompok P2. Jika dibandingkan asupan lemak pada kelompok P2 dan P3 diperoleh bahwa asupan lemak pada kelompok P2 yaitu 5.78 gram lebih tinggi dari pada kelompok P3 yaitu 5.04 gram. Sehingga asupan lemak pada penelitian ini tidak mempengaruhi perbedaan kadar LDL yang mengalami penurunan pada kelompok P2 dan P3. Faktor lain yang dimungkinkan dapat menyebabkan penurunan kadar LDL tikus kelompok P3 tidak sebanyak yang terjadi pada kelompok P2 yaitu kadar LDL darah awal tikus pada kelompok P3 yang tinggi. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan kadar LDL awal tikus sebelum diberi perlakuan.

Berdasarkan hasil analisis di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang, bubuk daun katuk yang digunakan pada penelitian mengandung fitosterol dalam 100 gram bubuk daun katuk adalah 0.0045 g. Sedangkan kandungan flavonoid dan beta karoten dalam 100 gram bubuk daun katuk masing-masing adalah 947,71 mg dan 10.74 mg. Hasil tersebut berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa dalam 100 gram bubuk daun katuk mengandung fitosterol sebesar 2.43 g (Subekti, 2006), flavonoid sebesar 142,04 mg (Batari, 2007), dan beta karoten sebesar 165,05 mg (Suryaningsih, 2008). Berdasarkan hasil analisis bubuk daun katuk tersebut diketahui bahwa bubuk daun katuk mengandung flavonoid yang tinggi.

Flavonoid dalam bubuk daun katuk berupa *kuersetin* dan *kaemferol* (Rohmatussalihat, 2009). *Kuersetin* diyakini dapat menurunkan kadar kolesterol total dan LDL dalam darah melalui peningkatan sekresi asam empedu dan diyakini memiliki efek antioksidan untuk mencegah terjadinya oksidasi LDL dan reaksi inflamasi sehingga dapat mencegah perubahan dinding aorta (Lamanepa, 2005). Produksi asam empedu memerlukan kolesterol sebagai bahan bakunya

sehingga dengan meningkatnya sekresi asam empedu, kadar kolesterol total dalam darah akan menurun (Asmariyani. 2012). Pembentukan asam empedu terjadi didalam hepar. Kolesterol dalam LDL dibawa oleh HDL menuju hepar. Kolesterol diubah menjadi 7α -hidrokolesterol yang kemudian terjadi reduksi ikatan rangkap dan hidrosilasi menjadi asam kenodeoksikolat dan asam kolat yang kemudian masuk ke dalam usus halus sebagai *emulsifier* untuk membantu pencernaan lemak dan kemudian dikeluarkan melalui feses (Thocer, 2003).

Pemberian bubuk daun katuk dengan dosis 9% dalam penelitian ini terbukti secara signifikan dapat mencegah peningkatan kadar LDL serum. Komponen bubuk daun katuk yang berperan adalah antioksidan yang terkandung di dalamnya yaitu flavonoid. Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan dan terbukti dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degeneratif dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lipid dengan cara menangkap radikal bebas. Selain itu flavonoid berupa *kuersetin* dalam daun katuk dapat menurunkan kadar kolesterol total dan LDL dalam darah melalui peningkatan sekresi asam empedu. Sehingga dapat disimpulkan flavonoid berupa *kuersetin* dapat menurunkan kadar LDL dalam darah dan menghambat terjadinya oksidasi LDL.

Asupan bubuk daun katuk pada kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 yaitu 1.41 g, 2.14 g dan 2.49 g. Pada ketiga kelompok perlakuan yang terbukti dapat mencegah kenaikan kadar LDL serum secara signifikan adalah kelompok P2. Berdasarkan tabel konversi dosis, diketahui indeks konversi dosis dari tikus (dengan berat badan 200 g) ke manusia (dengan berat badan 70 kg) adalah sebesar 56 kali dosis pada tikus (Harmita, dkk, 2008). Maka kebutuhan bubuk

daun katuk pada manusia berdasarkan hasil penelitian ini adalah sebesar 119.84 g/hari.

6.5 Keterbatasan Penelitian

Terdapat keterbatasan dalam penelitian ini di mana metode yang digunakan dalam penimbangan bubuk daun katuk dilakukan pada setiap kelompok perlakuan bukan pada setiap sampel sehingga ada kemungkinan komposisi bubuk daun katuk pada pakan tidak sesuai dosis yang ditetapkan. Selain itu, dalam penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan awal terkait kadar LDL awal tikus, sehingga tidak dapat membandingkan kadar LDL tikus sebelum perlakuan dan setelah perlakuan.

