

## BAB 6

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil dari uji komparasi *multiple* LSD (*Least Significant Difference*) memperlihatkan bahwa pada pengukuran rerata kadar TNF- $\alpha$  kelompok kontrol positif ( $12,433 \pm 3,354$ ) memiliki kadar TNF- $\alpha$  yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya. Nilai rerata kelompok kontrol positif memiliki nilai yang signifikan terhadap kontrol negatif ( $4,091 \pm 0,749$ ). Pada kelompok perlakuan dosis A yang diberi diet aterogenik dan ekstrak biji pare  $150\mu\text{g/gBB/hari}$  ( $11,390 \pm 3,406$ ) didapatkan hasil perbedaan kadar TNF- $\alpha$  yang tidak signifikan terhadap kelompok kontrol positif dan kontrol negatif ( $p>0,05$ ). Sedangkan pada kelompok perlakuan dosis B (diet aterogenik dengan ekstrak biji pare  $300 \mu\text{g/gBB/hari}$ ) dan kelompok perlakuan dosis C (diet aterogenik dengan ekstrak biji pare  $500\mu\text{g/gBB/hari}$ ) dengan rerata secara berturut-turut  $7,910 \pm 1,639$  dan  $6,581 \pm 3,898$  menunjukkan perbedaan penurunan kadar TNF- $\alpha$  yang signifikan ( $p<0,05$ ) terhadap kontrol positif dan tidak berbeda signifikan ( $p>0,05$ ) jika dibandingkan dengan kontrol negatif.

Hasil penelitian pada kelompok kontrol positif yang diberikan diet aterogenik tanpa pemberian ekstrak biji pare, memiliki rerata kadar TNF- $\alpha$  tertinggi yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, hal ini menunjukkan bahwa pemberian diet aterogenik dapat meningkatkan kadar TNF- $\alpha$  dalam serum tikus. Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Amijaya, *et al* (2013) dengan menggunakan ekstrak daun kelor yang juga memiliki kandungan saponin yang sama pada biji pare didapatkan rerata kadar TNF- $\alpha$  tertinggi adalah pada kelompok perlakuan diet aterogenik. Hal serupa juga terjadi pada penelitian

oleh Aminah (2011) yang menunjukkan bahwa terdapat pengaruh perbedaan yang bermakna terhadap kadar TNF- $\alpha$  serum antara tikus yang diberi diet aterogenik dan tikus yang diberi pakan normal selama 60 hari.

Diet aterogenik dapat menyebabkan peningkatan kadar kolesterol dalam darah (hyperlipidemia) khususnya LDL, memiliki peran penting dalam terjadinya aterosklerosis (Hien *et al*, 2010). Disamping itu pemberian diet aterogenik dapat memicu terjadinya respon inflamasi sistemik yang ditandai dengan peningkatan kadar sitokin-sitokin pro inflamasi di sirkulasi seperti TNF- $\alpha$  (Shie *et al* dalam Amijaya *et al*, 2013). Terjadinya proses aterosklerosis, melibatkan disfungsi sel endotel yang diakibatkan oleh oksidasi LDL akan merangsang aktivasi NF-kB terhadap produksi sitokin pro inflamasi, salah satunya adalah TNF- $\alpha$  (Esposito and Guigliano, 2006). TNF- $\alpha$  yang berperan dalam proses inflamasi akan semakin merangsang aktivitas molekul adhesi VCAM1 untuk menarik monosit yang nantinya akan berdiferensiasi menjadi foam sel dan semakin mengaktivasi NF-kB sehingga mengakibatkan penebalan plak pada dinding vaskular (Missitahari, 2011; Berg and Scherer, 2005; Amijaya *et al*, 2013).

Pada kelompok perlakuan dosis A kadar TNF- $\alpha$  serum lebih kecil tidak signifikan dibanding kontrol positif, dan didapatkan nilai yang lebih besar signifikan terhadap kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan dosis A diperkirakan belum mencapai dosis minimal kandungan ekstrak biji pare dalam memberikan efek terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$ , meskipun demikian pemberian ekstrak biji pare pada kelompok perlakuan dosis A memberikan efek hambatan peningkatan kadar TNF- $\alpha$ . Hal ini ditunjukkan pada gambar 5.1, terlihat bahwa kadar TNF- $\alpha$  serum mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak biji pare yang diberikan.



Hasil statistik pada kelompok perlakuan dosis B dan dosis C menunjukkan hambatan peningkatan TNF- $\alpha$  yang lebih kecil signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok kontrol positif, dan lebih besar tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) terhadap kelompok kontrol negatif. Pada lampiran 5 diperlihatkan nilai signifikan kelompok perlakuan dosis C ( $p = 0,009$ ) menunjukkan nilai kadar TNF- $\alpha$  yang jauh lebih rendah dan nilai signifikan yang jauh lebih besar jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis B ( $p = 0,038$ ) terhadap kelompok kontrol positif. Hal serupa juga didapatkan terhadap kelompok kontrol negatif, dimana kelompok perlakuan dosis C ( $p = 0,235$ ) memiliki nilai tidak signifikan yang lebih besar jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis B ( $p = 0,075$ ). Hal ini menunjukkan bahwa pada pemberian ekstrak biji pare dengan dosis  $300 \mu\text{g/gBB/hari}$  (kelompok perlakuan dosis B) telah mampu menghambat peningkatan kadar TNF- $\alpha$  serum tikus dan dapat diperkirakan pada dosis ini merupakan dosis minimal timbulnya efek pemberian ekstrak biji pare. Sedangkan pada pemberian ekstrak biji pare dengan dosis  $500 \mu\text{g/gBB/hari}$  (kelompok perlakuan dosis C) menunjukkan bahwa dengan seiring bertambahnya dosis ekstrak biji pare yang diberikan akan semakin menurunkan kadar TNF- $\alpha$  serum tikus yang terbentuk. Hal ini dibuktikan juga pada hasil statistik *Korelasi Pearson* yang didapatkan adanya korelasi negatif kuat antara pemberian dosis ekstrak biji pare (*Momordica charantia*) dan penurunan kadar TNF- $\alpha$  serum tikus ( $R = -0,584$ ). Hasil korelasi ini menunjukkan bahwa semakin besar dosis ekstrak biji pare (*Momordica charantia*) yang diberikan, maka akan semakin tinggi pula potensinya untuk menurunkan kadar TNF- $\alpha$  serum.

Mekanisme kerja saponin pada biji pare (*Momordica charantia*) terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$  berkaitan dengan mekanismenya sebagai antiinflamasi

dan juga sebagai antioksidan kuat. Kemampuan sebagai antioksidan ini dapat mengurangi resiko aterosklerosis dengan cara menghambat metabolisme LDL di dalam tunika intima untuk mencegah terbentuknya oksidasi LDL pada lesi. Pembentukan ox-LDL terjadi karena adanya stress oksidatif yang terjebak pada tunika intima pembuluh darah, yang berakibat pada terbentuknya ox-LDL. Terjadinya akumulasi ox-LDL bertanggungjawab pada terjadinya disfungsi endotel (Marco *et al*, 1997) . Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa saponin pada kedelai memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang berpengaruh pada stress oksidatif (Rodrigues *et al*, 2005). Selain itu, saponin juga diketahui memiliki peran sebagai antioksidan dengan mekanisme yang sama dengan seperti enzim super oxide dismutase (SOD) yang berperan dalam menurunkan radikal bebas (Halliwell, 1987 dalam Elekofehinti *et al*, 2012). Disamping itu saponin dapat meningkatkan aktifitas dari enzim SOD yang dapat mereduksi radikal beb (Elekofehinti *et al*, 2012). Hal ini ditunjukkan pada penelitian yang ada menunjukkan adanya hambatan ox-LDL oleh asam askorbat yang merupakan klasik antioksidan (Kang *et al*, 2002). Penghambatan aterosklerosis dengan mekanisme menghambat pembentukan oksidasi LDL ditunjukkan oleh sekresi VCAM-1 pada sel endotel yang terbentuk akibat adanya ox-LDL. Antioksidan ini juga dapat mengurangi toksisitas ox-LDL terhadap kerusakan sel endotel, sel otot polos, makrofag, serta mengurangi degradasi oksidatif akibat nitrit oksida, membatasi vasokonstriksi dan mengurangi tekanan darah. Efek lainnya selain sebagai penghambat terbentuknya ox-LDL juga berperan dalam menurunkan penyerapan kembali asam empedu dan konversinya menjadi kolesterol, sehingga mampu untuk mencegah aterosklerosis (Maliya, 2006; Safitri, 2004).



Berdasarkan data statistik hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji pare memiliki sifat sebagai anti inflamasi yang dibuktikan dengan hambatan peningkatan kadar TNF- $\alpha$  serum. Hien *et al* (2010) menyebutkan bahwa secara umum perkembangan stage aterosklerosis memiliki korelasi atau hubungan dengan terjadinya proses inflamasi. Mekanisme ekstrak biji pare yang mengandung senyawa saponin sebagai anti-inflamasi dalam menurunkan TNF- $\alpha$  yaitu melalui hambatan pembentukan sitokin proinflamasi sendiri yang akan berdampak pula pada aktivitas NF-kB dan molekul sel adhesi VCAM1. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji pare dengan kandungan saponin memiliki efek hambatan pada TNF- $\alpha$  pada hewan coba dengan diet aterogenik, sehingga ekstrak biji pare memberikan efek pada hambatan perkembangan kejadian aterosklerosis. Hal serupa juga disampaikan oleh Hien *et al* (2010), yang menuturkan efek senyawa saponin pada ginseng yang juga terdapat pada biji pare memiliki sifat sebagai anti inflamasi dan anti kanker dengan mekanisme menghambat pembentukan sitokin pro inflamasi seperti TNF- $\alpha$  yang akan semakin menginduksi penurunan molekul adhesi sel VCAM1 dan aktivitas NF-kB. Pada penelitian sebelumnya juga disebutkan bahwa, peningkatan kadar TNF- $\alpha$  terhadap NF-kB dan VCAM1 memiliki efek timbal balik positif yang dapat mempengaruhi satu sama lain dan akan semakin memperburuk keadaan pada perkembangan aterosklerosis (Missitahari, 2011). Oleh karena itu hambatan pada TNF- $\alpha$  oleh karena pemberian ekstrak biji pare dengan kandungan senyawa saponin didalamnya, memberikan efek hambatan perburukan perkembangan aterosklerosis.

Hasil penelitian Hien *et al* (2010) secara invitro menggunakan *human endothelial cell* ECV 304 memperlihatkan bahwa, pemberian ekstrak ginseng

yang memiliki senyawa saponin yang sama pada biji Pare mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  dan NF- $\kappa$ B secara signifikan pada dosis 3 $\mu$ g/ml dan 10 $\mu$ g/ml dengan menggunakan pembacaan ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*). Sedangkan dengan menggunakan RT-PCR (*reverse transcription polymerase chain reaction*), didapatkan hasil kadar VCAM-1 yang menurun secara signifikan seiring dengan bertambahnya dosis ginseng yang diberikan. Data ini mengindikasikan bahwa pemberian ginseng yang memiliki kandungan saponin yang sama dengan biji Pare dapat menghambat ekspresi dari sitokin pro inflamasi dan molekul adhesi sel yang berdampak pula penurunan progresivitas plak di pembuluh darah. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Amijaya *et al* (2013) secara invitro, memperlihatkan terjadinya penurunan kadar TNF- $\alpha$  serum pada kelompok tikus yang diberi diet aterogenik dan ekstrak air daun Kelor. Hasil TNF- $\alpha$  terendah didapatkan pada kelompok perlakuan 5 yang memiliki dosis ekstrak daun kelor terbesar (dosis 600 mg/kgBB) yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Hal ini didukung dengan gambaran histopatologi dari sel endotel arteri koronaria tikus, dimana sel endotel mengalami kerusakan morfologi dan struktur serta sulit untuk diamati pada kelompok perlakuan positif yang memiliki kadar TNF- $\alpha$  tertinggi. Sedangkan pada kelompok perlakuan dengan asupan ekstrak air daun Kelor yang diberikan, sel endotel arteri mengalami perbaikan ataupun sedikit kerusakan seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak yang diberikam. Pada hasil uji korelasi yang dilakukan Amijaya *et al* (2013) didapatkan korelasi negatif yang sangat kuat antara pemberian dosis ekstrak air daun Kelor dan penurunan kadar TNF- $\alpha$ , hal ini menunjukkan bahwa semakin besar dosis ekstrak yang diberikan maka akan semakin menurun kadar TNF- $\alpha$ ,



karena semakin banyak senyawa saponin pada ekstrak air daun kelor yang diberikan yang memiliki sifat sebagai anti-inflamasi.

Beberapa studi telah membuktikan efek anti-inflamasi yang dimiliki oleh senyawa saponin pada tumbuhan lainnya, seperti saponin pada Ginseng (Hiet *et al*, 2010), daun Ginseng (Song *et al*, 2012), daun Mimba (Rosida, 2002), daun Sirih (Ardhani, 2010), dan akar Pare (Surya, 2010). Meskipun demikian, penelitian saponin dengan menggunakan biji pare masih jarang ditemukan, sehingga masih dibutuhkan penelitian lebih lanjut.

Berdasarkan fakta yang diperoleh pada hasil penelitian ini dan juga kajian teoritik yang telah diuraikan diatas, maka hipotesis yang menyatakan pemberian ekstrak biji pare dapat menghambat peningkatan kadar TNF- $\alpha$  pada serum darah tikus wistar jantan yang diberi diet aterogenik telah terbukti. Namun masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas penggunaan ekstrak biji pare dalam jangka waktu yang lama, sehingga diharapkan penggunaan biji pare dapat menjadi salah satu bahan terapi alami yang memiliki kemampuan mencegah progresivitas perburukan aterosklerosis melalui mekanisme antiinflamasi dan antioksidan yang dimiliki.