

## BAB VI

## PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk membuktikan bahwa pemberian ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus*) berbagai dosis dapat menghambat peningkatan TNF  $\alpha$  pada tikus *Rattus norvegicus* strain wistar dengan diet aterogenik. Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratorik yang mengarah pada keadaan aterosklerosis yang disebabkan oleh pemberian diet aterogenik dengan mekanisme inflamasi.

Peneliti melakukan pengukuran kadar TNF  $\alpha$  pada serum dan menilai apakah terdapat pengaruh yang signifikan antara kelompok tikus dengan diet normal (kontrol negatif) dengan kelompok tikus dengan diet aterogenik (kontrol positif). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar TNF  $\alpha$  pada kelompok kontrol positif ( $85,56 \pm 8,493955$  ng/mL) lebih tinggi daripada kelompok kontrol negatif ( $36,28 \pm 1,948144$  ng/mL). Rerata kadar TNF  $\alpha$  antara kontrol negatif dan kontrol positif cenderung meningkat dengan uji Post Hoc (Tukey HSD), diperoleh bahwa peningkatan tersebut signifikan, yang berarti bahwa telah terjadi proses aterogenesis pada hewan coba. Menurut penghitungan jumlah *foam cell* (sel busa) yang dilakukan oleh Galih (2012), pada percobaan ini terjadi proses aterogenesis yang dibuktikan dengan adanya perbedaan jumlah *foam cell* yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok yang lain. Diet aterogenik merupakan komposisi dari diet tinggi lemak dan kolesterol. Diet ini terdiri dari pakan ternak PARS ditambah dengan air, tepung terigu, asam kolat, dan minyak babi. Diet ini diberikan dengan tujuan untuk menginduksi terjadinya

peningkatan kadar LDL, penurunan kadar HDL, serta meningkatkan dan mempertahankan kadar kolesterol dalam darah (Murwani dkk., 2005).

Risiko aterosklerosis berkorelasi dengan kadar LDL serum, karena LDL membawa 70% dari total kolesterol serum, peningkatan kadar LDL berarti peningkatan kadar kolesterol yang beredar dalam darah dan dapat mengendap dalam dinding pembuluh darah. Hiperlipidemia adalah salah satu penyebab kerusakan endotel. Apabila endotel rusak maka akan menyebabkan adesi trombosit serta monosit dan pelepasan *growth factor* (meliputi *platelet-derived growth factor*) akan menimbulkan migrasi dan proliferasi sel otot polos (Mitchell *et al.*, 2006).

Monosit yang melakukan penetrasi dan adesi ke dalam lapisan intima yang mengalami diferensiasi dan teraktifasi menjadi makrofag. Lipid akan berakumulasi di intraseluler melalui proses glikasi, oksidasi dan glikooksidasi sehingga terbentuk *fatty streak* (Ridkel dan Libby, 2012). Molekul adesi, yaitu selektin dan immunoglobulin *superfamily* seperti VCAM-1 dan ICAM-1 memediasi perlekatan leukosit (monosit sampai ketinggian yang lebih rendah, T-limfosit) ke tunika intima. Ketika melekat, leukosit masuk ke intima dengan arahan kemokin seperti MCP-1 dan TNF  $\alpha$ . Dalam keadaan hiperlipidemia, LDL terkumpul di dalam tunika intima, setelah itu LDL teroksidasi oleh oksigen radikal bebas yang dituntun oleh makrofag yang ada di intima. Ox-LDL selanjutnya menstimulasi pelepasan sitokin dan kemokin yang menyebabkan inflamasi terus berlangsung dan memperantarai progresi lesi dan komplikasi selanjutnya (Singh *et al.*, 2012). Sel-sel busa pada plak ateromatosa berasal dari sel-sel makrofag dan sel-sel otot polos-dari sel-sel makrofag melalui reseptor VLDL dan modifikasi LDL yang dikenali oleh reseptor scavenger (misal ox-LDL), dan dari sel-sel otot polos lewat

mekanisme yang belum jelas. Sel-sel makrofag yang aktif akan menghasilkan sitokin untuk merekrut lebih banyak monosit dan sel-sel T ke dalam tunika intima. Keadaan ini menginduksi produksi *growth factor* dan sintesis *reactive oxygen species*. Interaksi makrofag dengan sel T juga menimbulkan aktivasi imun seluler yang merupakan ciri khas keadaan inflamasi kronik (Mitchell *et al.*, 2006).

Selanjutnya, didapatkan kadar TNF  $\alpha$  turun secara signifikan pada kelompok tikus dengan diet aterogenik (kontrol positif) dengan semua kelompok perlakuan dosis ekstrak umbi rumput teki (dengan dosis 6.14 mg/hari; 12.28 mg/hari; dan 24.56 mg/hari). Namun, hal serupa juga terjadi pada kelompok diet normal (kontrol negatif) dengan kelompok perlakuan dosis ekstrak etanol umbi rumput teki (dengan dosis 6.14 mg/hari dan 12.28 mg/hari) bahwa ada perbedaan yang signifikan terhadapnya. Tetapi kelompok diet normal (kontrol negatif) dengan kelompok perlakuan 3 dengan dosis ekstrak etanol umbi rumput teki 24.56 mg/hari tidak didapatkan perbedaan yang signifikan. Jadi dapat disimpulkan bahwa pada dosis ekstrak etanol umbi rumput teki 24.56 mg/hari merupakan dosis efektif ekstrak etanol umbi rumput teki untuk menghambat peningkatan TNF  $\alpha$  pada serum darah. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian ini terbukti, yang berarti adanya pengaruh perlakuan (pemberian ekstrak umbi rumput teki berbagai dosis) yang berbeda secara signifikan terhadap kadar TNF  $\alpha$ . Pada uji korelasi Pearson hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ) antara semua dosis ekstrak etanol umbi rumput teki terhadap kadar TNF  $\alpha$ . Hubungan tersebut bernilai negatif ( $R = -0,691$ ). Hal ini memperlihatkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol umbi rumput teki maka semakin rendah kadar TNF  $\alpha$ .

Antioksidan yang dikandung oleh tanaman mampu membantu penghambatan terhadap kerusakan oksidatif yang berkontribusi langsung terhadap patogenesis dari aterosklerosis. Antioksidan akan bekerja langsung terhadap ROS (Reactive Oxygen Species) (Scalbert *et al.*, 2005). Mekanisme dari antioksidan sendiri mampu menghambat reaksi autooksidasi lemak dengan cara memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal lipid (Pazil, 2009).

Polifenol merupakan antioksidan pemutus rantai yang kuat melalui fungsi intersepsi yang mencegah radikal bebas yang telah terbentuk untuk bereaksi lebih lanjut (Sies, 1997). Sebagai antioksidan, polifenol dianggap mampu melakukan pertahanan terhadap kerusakan oksidatif, sehingga mampu menghambat risiko dari penyakit – penyakit degeneratif yang berhubungan dengan stres oksidatif (Scalbert *et al.*, 2005). Sargowo (1997) menyatakan bahwa peroksida lipid merupakan salah satu radikal bebas yang berpengaruh pada patogenesis aterosklerosis. Penumpukan peroksida lipid menginduksi terjadinya stres oksidatif dan menginisiasi runtutan proses inflamasi pada aterosklerosis.

Seluruh aktifitas antioksidan dari ekstrak umbi rumput teki mungkin dilakukan oleh polifenol dan fitokimia yang lain (Nagulendran *et al.*, 2007). Komponen kimia utama pada tanaman ini adalah minyak esensial, flavonoid, terpenoid, dan mono sesquiterpen. Minyak esensial sebagian besar terdiri dari *cyperol*, *α cyperene*, *rotundine*, *α cyperone*, *α copaene*, *valerenal*, *myrtenol*, *β-pinene*, *α pinene* dan *α Selinene*, sesquiterpene hidrokarbon (*Caryophyllene*) (Imam *et al.*, 2014). Ekstrak polifenol yang berasal dari tumbuhan ini dilaporkan efektif sebagai pengangkut radikal bebas dan penghambat peroksidasi lipid (Nagulendran *et al.*, 2007). Dengan adanya efek antioksidan tersebut

peningkatan sekuestrasi LDL dan oksidasi dalam dinding vaskular dapat diturunkan (Chumark, 2007). Sehingga, pelepasan zat-zat pro-inflamasi, termasuk TNF  $\alpha$  sebagai salah satu kemungkinannya, dapat ditekan. TNF merupakan sitokin utama yang memediasi inflamasi, terutama diproduksi oleh sel-sel makrofag aktif (Mitchell *et al.*, 2006). Pada kadar rendah, TNF bekerja terhadap leukosit dan endotel, menginduksi inflamasi akut. Pada kadar sedang, TNF berperan dalam inflamasi sistemik. Ox-LDL menstimulasi pelepasan TNF  $\alpha$  dari makrofag. TNF  $\alpha$  berkontribusi dalam peningkatan pengambilan LDL ke dalam makrofag; pengambilan ox-LDL membuat peningkatan terhadap pelepasan TNF  $\alpha$ , sehingga mulainya lingkaran setan (Kleinbongard *et al.*, 2010).

Ada penelitian yang membuktikan terdapat perbedaan kadar TNF- $\alpha$  serum yang bermakna antar kelompok perlakuan pada tikus model aterogenik yang diberi Sari Seduhan Teh Hitam (SSTH) (Rakhmawati, 2008) dan Epigallocatechin-3 gallate (EGCG) (Aminah, 2011), yang memiliki kandungan dan merupakan senyawa flavonoid dari teh hitam dan teh hijau. Namun terdapat penelitian sebelumnya, yang menyatakan bahwa tidak ada perbedaan kadar TNF  $\alpha$  yang bermakna antar kelompok perlakuan tikus model aterogenik yang di beri ekstrak buah Tin yang memiliki kandungan flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan (Nahlia, 2011). Diduga karena dosis yang digunakan tidak sesuai dan paparan diet pada penelitian tersebut bersifat subkronis, sehingga masih terdapat kompensasi tubuh terhadap keadaan patologis. Pada penelitian Jung (2013), didapatkan hasil yang berbeda dari penelitian ini. Jung meneliti tentang efek supresi dari  $\alpha$  cyperon pada mediator proinflamasi, yaitu IL-6 dan TNF  $\alpha$ . Penelitian ini menunjukkan bahwa  $\alpha$  cyperon menghambat ekspresi dan sekresi dari IL-6 pada tahap ekspresi mRNA namun tidak pada TNF  $\alpha$ .

Pada penelitian ini, jenis ataupun struktur polifenol spesifik yang mempunyai aktivitas antioksidan paling dominan dalam ekstrak etanol umbi rumput teki belum diketahui. Perlu dilakukan identifikasi mengenai senyawa spesifik pada ekstrak etanol umbi rumput teki sehingga dapat diproduksi secara massal dengan metode rekayasa kimiawi. Di samping itu, diperlukan juga kontrol terhadap variasi genetik masing-masing tikus untuk mencegah standar deviasi yang luas pada kelompok sampel penelitian dan memungkinkan dilakukan penelitian lebih lanjut pada dosis yang lebih besar untuk mengetahui rentang dosis efektif ekstrak etanol umbi rumput teki dalam menurunkan kadar TNF  $\alpha$  pada hewan coba. Diharapkan di kemudian hari ekstrak etanol umbi rumput teki dapat menjadi bahan terapeutik alami sebagai usaha preventif aterosklerosis.

