

EFEK EKSTRAK ETANOL KEDELAI (*Glycine max*(L.) Merr.) VARIETAS *DETAM 1* DAN EKSTRAK ETANOL DAUN JATI BELANDA (*Guazuma ulmifolia*) DAN KOMBINASINYA TERHADAP KADAR KOLESTEROL LDL TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI PAKAN TINGGI LEMAK

THE EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF SOYBEAN DETAM 1 (Glycine max (L.) Merr.) AND JATIBELANDA LEAVES (Guazuma ulmifolia) AND ITS COMBINATION TOWARDS LDL CHOLESTEROL LEVEL IN MALE WISTAR RAT INDUCED WITH HIGH FAT FEEDING

Sijani Prahastuti¹, Meilinah Hidayat², Michael William Kurniadi³

¹ Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha

² Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha

³ Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha

Jalan Prof. Drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

ABSTRAK

Latar Belakang : Dislipidemia merupakan faktor risiko terjadinya penyakit kardiovaskuler, pengobatannya memiliki efek samping, sehingga dibutuhkan obat herbal.

Tujuan Penelitian : Mengetahui apakah kombinasi Ekstrak Etanol Kedelai *Detam 1* (EEKD) 10 mg dan Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda (EEJB) 20 mg memiliki potensi lebih baik dibandingkan dosis tunggal EEKD 30 mg dan EEJB 30 mg dalam menurunkan kadar kolesterol LDL pada tikus Wistar jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak dan bagaimana potensinya jika dibandingkan dengan simvastatin.

Metode Penelitian : Menggunakan eksperimental laboratorium sungguhan bersifat komparatif dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Tiga puluh enam tikus jantan dibagi dalam enam kelompok, dengan enam tikus perkelompok yaitu kontrol negatif, kontrol positif, tanpa perlakuan, EEKD 10 mg : EEJB 20 mg, EEKD 30 mg, dan EEJB 30 mg. Setiap kelompok diinduksi pakan tinggi lemak selama 42 hari. Pada hari ke-14 masing-masing kelompok diberi perlakuan dengan pemberian *aquadest*, Simvastatin, kombinasi EEKD dan EEJB, EEKD, dan EEJB sebanyak 5 mL selama 28 hari. Parameter yang diukur adalah penurunan kadar kolesterol LDL serum (mg/dL) dengan metode CHOD-PAP. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji ANAVA satu arah dengan $\alpha = 0,05$ dan dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD*.

Hasil : Berdasarkan uji statistik pada kombinasi EEKD 10 mg : EEJB 20 mg memiliki perbedaan yang sangat bermakna dengan dosis tunggal EEKD 30 mg ($p:0,004$) dan perbedaan yang bermakna pada dosis tunggal EEJB 30 mg ($p:0,094$), persentasi penurunan kolesterol

LDL pada kelompok perlakuan EEKD 10 mg : EEJB 20 mg sebesar 12,71%, EEJB 30 mg 7,35% dan EEKD 30 mg 5,55%. Berdasar hasil uji statistik pada EEKD 10 mg: EEJB 20 mg dan kontrol positif (Simvastatin) menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($p>0,05$).

Simpulan : Kombinasi EEKD 10 mg : EEJB 20 mg memiliki potensi lebih baik disbanding dosis tunggal EEKD 30 mg dan EEJB 30 mg dan memiliki efek yang setara dengan Simvastatin dalam menurunkan kadar kolesterol LDL darah pada tikus Wistar jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak.

Kata kunci: kolesterol LDL, ekstrak etanol, kedelai, daun jati Belanda, tikus wistar jantan

ABSTRACT

Background: *Dyslipidemia is a risk factor for cardiovascular disease for which have side effects. Thus, alternatives such as herbal medicines are deemed relevant.*

Research Purposes: *To know if a combination of 10 mg Ethanol Extract of Soybean Detam 1 (EESD) and 20 mg Ethanol Extract of Jati Belanda Leaves (EEJB) will have higher potential compared to single dosage of 30 mg EESD and 30 mg EEJB in decreasing the LDL cholesterol level in male Wistar mice which have been induced with high-fat diet; and its potential compared to Simvastatin.*

Research Methodology: *Using a real comparatively laboratory experiment with Rancangan Acak Lengkap (RAL). 36 male mice divided into 6 groups of 6 which are negative control, positive control without any treatments, 10 mg EESD: 20 mg EEJB, 30 mg EESD, 30 mg EEJB. Each group is induced with high-fat diet for 42 days. On the 14th day each group is treated with aquadest, Simvastatin, 5 mL combination of EESD and EEJB, EESD, and EEJB for 28 days. The measure parameter is the decrease of the serum's LDL cholesterol level (mg/dL) with CHOD-PAP method. Obtained data are analyzed with one way ANOVA test with $\alpha = 0,05$ and continued with Tukey HSD test.*

Research Result: *Based on statistic tests, combination of EESD 10 mg : EEJB 20 mg has highly significant difference compared to single dosage of EESD 30 mg ($p:0,004$) and significant difference compared to single dosage of EEJB 30 mg ($p:0,049$), the percentages of LDL cholesterol decrease on the group treated with 10 mg EESD : 20 mg EEJB is 12,71%, 30 mg EEJB is 7,35%, 30 mg EEKD is 5,55%. Statistic tests between 10 mg EESD : 20 mg EEJB and positive control (Simvastatin) showed no significant difference ($p>0,05$).*

Conclusion: *Combination of 10 mg EEKD : 20 mg EEJB has higher potential compared to single dosage of 30 mg EEKD and 30 mg EEJB and has equivalent effect with Simvastatin in decreasing the LDL cholesterol level in male Wistar mice which have been induced with high-fat diet.*

Keywords: *LDL cholesterol, extract ethanol, soybean, jati Belanda leaves, male Wistar mice*

PENDAHULUAN

Dislipidemia adalah suatu keadaan dimana kadar lipid dan lipoprotein abnormal dalam darah¹. Dislipidemia ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total, kadar kolesterol LDL, dan trigliserida disertai dengan penurunan kadar kolesterol HDL².

Dislipidemia merupakan penyakit yang sukar diobati dan pengobatannya memiliki efek samping. Dislipidemia merupakan faktor risiko terjadinya penyakit kardiovaskuler dan stroke³. Penatalaksanaan dislipidemia terdiri dari terapi non farmakologis dan farmakologis. Terapi farmakologis umumnya menggunakan berbagai macam obat penurun lipid⁴.

Pengobatan menggunakan bahan herbal kini mulai diminati oleh masyarakat. Menurut data dari *World Health Organization* (WHO), negara negara di Afrika, Asia, dan Amerika Latin telah menggunakan obat herbal sebagai pelengkap pengobatan primer. Bahkan di Afrika, sebanyak 80% dari populasi menggunakan obat herbal untuk

pengobatan primer⁵. Bahan herbal memiliki efek samping yang lebih sedikit daripada obat penurun lipid seperti simvastatin. Beberapa faktor lain yang meningkatkan penggunaan obat herbal di masyarakat adalah adanya kekurangan penggunaan obat modern untuk penyakit tertentu dan semakin luas akses informasi mengenai obat herbal di seluruh dunia⁶.

Beberapa penelitian mengenai Ekstrak Etanol Kedelai *Detam 1* (EEKD) dan Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda (EEJB) telah dilakukan. Hasil dari penelitian terdahulu menunjukkan EEKD mengandung fenolik, H₂SO₄, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, tanin, dan kuinon, sedangkan EEJB mengandung fenolik, H₂SO₄, triterpenoid flavonoid, tanin, dan kuinon. Penghambatan terbaik dari aktivitas enzim lipase pankreas sebesar 19,726 U/L terdapat pada kombinasi dari EEKD 10 mg dan EEJB 20 mg⁷. Berdasarkan hal tersebut, peneliti ingin meneliti lebih lanjut, dosis manakah yang berguna untuk menurunkan kadar kolesterol LDL dalam darah.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah Biji kedelai unggulan varietas *Detam 1* yang ditanam di perkebunan Balitkabi Malang dan Daun jati Belanda yang ditanam di perkebunan Bumi Herbal Dago, Simvastatin 10 mg, *aquadest*, tikus Wistar jantan berumur 6-8 minggu dengan berat rata-rata 200-250 gram, sekam, dan pakan tinggi lemak

Alat yang digunakan adalah kandang tikus, beaker glass, sonde oral, *syringe 1 ml*, sokletasi, tabung Falcon, penangas air, corong, *Microsentrifuge tube* 1,5 ml, rak tabung mikro sentrifuga, mikropipet 1-10 μ L (*Eppendorf*) dan tabungnya, alat-alat gelas, maserator, *Laminar Air Flow Cabinet*, timbangan analitik.

Subjek penelitian ini menggunakan tikus *Rattus norvegicus* Wistar jantan berumur 2 bulan dengan berat rata-rata 200-250 gram sebanyak 36 ekor yang diperoleh dari Sekolah Tinggi Ilmu Hayati (STIH), Institut Teknologi Bandung.

Prosedur penelitian ini adalah hewan coba ditimbang dan dihitung rerata berat badannya (BB_1), setelah itu

diadaptasikan selama 7 hari dalam suasana laboratorium, lalu dihitung kadar kolesterol LDL (LDL_1) dan berat rerata tikus Wistar jantan dihitung (BB_2). Setelah itu hewan dikelompokkan menjadi 6 kelompok secara acak, setiap kelompok terdiri atas 6 ekor tikus, dan diberi induksi pakan tinggi lemak kecuali pada kelompok tanpa perlakuan, selama 14 hari. Kemudian dilakukan pengukuran kolesterol LDL (LDL_2), lalu selama 28 diberi perlakuan sebagai berikut:

- Kelompok kontrol negatif : diberi pakan tinggi lemak dan minum *aquadest* tanpa perlakuan.
- Kelompok kontrol positif : diberi Simvastatin (0,225 mg/ekor/ hari) 5 ml per oral.
- Kelompok tanpa perlakuan : tanpa perlakuan apapun.
- Kelompok perlakuan ke-1 : diberi EEKD : EEJB (10 mg : 20 mg) 5 ml per oral.
- Kelompok perlakuan ke-2 : diberi EEKD (30 mg/ekor/hari) 5 ml per oral.

- Kelompok perlakuan ke-3 : diberi EEJB (30 mg/ekor/hari) 5 ml per oral.

Kemudian dilakukan pengukuran kadar kolesterol LDL (LDL₃)

Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisis statistik uji ANAVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji beda rata-rata Tukey HSD dengan tingkat kepercayaan 95%, tingkat kemaknaan berdasarkan nilai $p \leq 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Persentase penurunan kolesterol LDL pada kelompok kontrol negatif -7,90%, kelompok kontrol positif 14,40%, kelompok tanpa perlakuan -1,79%, kelompok perlakuan pertama 12,71%, kedua 7,35% dan ketiga 5,55%.

Hasil diatas menunjukkan bahwa rerata penurunan jumlah kolesterol LDL terbanyak terdapat pada kelompok kontrol positif (KP), kemudian kedua terbanyak adalah kelompok kombinasi EEKD : EEJB (10 mg : 20 mg). Hal ini mendukung penelitian yang telah dilakukan oleh Hidayat (2009) tentang efek inhibisi enzim lipase pankreas dari Ekstrak Etanol Kedelai

Detam 1 (EEKD) dan Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda (EEJB), dimana kombinasi terbaik adalah kombinasi EEKD 10 mg dan EEJB 20 mg. Dari hasil penelitian didapatkan penurunan kadar kolesterol LDL terbanyak adalah kontrol positif (Simvastatin), diikuti kombinasi EEKD 10 mg : EEJB 20 mg.

Tabel 4.2 Tes Homogenitas Varian *Levene*

<i>Test</i>			
<i>Levene Statistic</i>	<i>df1</i>	<i>df2</i>	<i>Sig,</i>
1,986	5	30	0,109

Hasil tes homogenitas varian data *Levene test* pada tabel 4.2 diperoleh hasil tidak bermakna yaitu 0,109 ($p > 0,05$), sehingga variansi dalam masing-masing kelompok adalah homogen. Syarat pengujian ANAVA adalah variansi data untuk masing-masing perlakuan sama, maka analisis data boleh dilanjutkan dengan menggunakan ANAVA.

Tabel 4.3 ANAVA

	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	2205,858	5	441,172	47,694	,000
<i>Within Groups</i>	277,508	30	9,250		
<i>Total</i>	2483,361	35			

Pada tabel 4.3, hasil analisis data dengan ANAVA $\alpha = 0,05$ menunjukkan hasil yang sangat bermakna (0,000), hal ini berarti minimal ada sepasang perlakuan yang berbeda ($p < 0,01$). Untuk mengetahui pasangan mana yang berbeda, dilakukan uji *Tukey HSD*

Dapat dilihat pada Tabel 4.4, jika dibandingkan antara P1 dengan P2 menunjukkan hasil yang sangat bermakna ($p:0,004$) dan perbedaan bermakna pada perbandingan P1 dengan P3 ($p:0,049$). Hal tersebut menunjukkan bahwa dosis kombinasi memiliki efek menurunkan kolesterol LDL yang berbeda dibandingkan dosis tunggal, bila dilihat dari grafik 4.1, persentasi penurunan kolesterol LDL memberikan hasil kombinasi EEKD 10 mg : EEJB 20mg memiliki penurunan yang paling tinggi (12,71%), diikuti EEJD 30 mg

(7,35%) dan EEKD 30 mg (5,5%). Hasil uji statistik antara KP dengan P1 menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan efek dan potensi dalam menurunkan kadar kolesterol LDL antara P1 (EEKD 10 mg : EEJB 20 mg) dengan Kontrol Positif (Simvastatin) setara. Pada kelompok P2 dan P3 ditemukan penurunan kadar kolesterol LDL, namun efeknya tidak setara dengan KP (Simvastatin) karena secara statistik menunjukkan perbedaan sangat bermakna ($p < 0,01$).

Tabel 4.4 Perbandingan Persentase Penurunan Kolesterol LDL dengan *Tukey HSD*

	KN	KP	TP	P1	P2	P3
KN		**	*	**	**	**
KP	**		**	TB	**	**
TP	*	**		**	**	**
P1	**	TB	**		**	*
P2	**	**	**	**		TB
P3	**	**	**	*	TB	

Keterangan:
 TB: tidak bermakna
 * : bermakna
 ** : sangat bermakna

Pembahasan

Kedelai dan daun jati Belanda dapat menjadi salah satu alternatif karena terdapat zat aktif seperti lesitin, isoflavon, saponin dan tanin pada kedelai dan terdapat kuinon, tanin dan flavonoid pada daun jati belanda⁷. Lesitin berfungsi menghambat enzim HMG-KoA reduktase sehingga berefek menurunkan kadar kolesterol LDL dan meningkatkan sekresi asam empedu dan menurunkan absorpsi kolesterol di usus⁸. Isoflavon juga telah terbukti dapat menurunkan kolesterol LDL secara signifikan⁹. Isoflavon meningkatkan aktivitas reseptor apolipoprotein A, menurunkan sekresi lipoprotein dan kolesterol di hepar sehingga mengurangi kadar kolesterol LDL, dan meningkatkan kadar kolesterol HDL dalam darah¹⁰. Saponin bekerja dengan menghambat absorpsi kolesterol, menurunkan kadar kolesterol plasma dan hepar dengan cara menurunkan absorpsi kolesterol eksogen¹¹. Selain itu saponin juga dapat meningkatkan ekskresi empedu¹². Tanin dapat menghambat absorpsi kolesterol dan asam empedu sehingga akhirnya dapat

menurunkan kadar kolesterol LDL¹³. Tanin juga dapat menghambat enzim lipase pankreas, berfungsi menghidrolisis trigliserida¹⁴. Enzim lipase disini akan menghidrolisa 1,3 triasilgliserol menjadi 2 monoasilgliserol dan asam lemak bebas. Asam lemak bebas ini akan menjadi bahan dasar pembentukan kolesterol total pada sel hepatosit, dengan penghambatan enzim ini akan menurunkan produksi asam lemak bebas sehingga menyebabkan penurunan kadar kolesterol¹⁵, tanin juga bersifat astrigen yang menurunkan penyerapan makanan⁷. Flavonoid berperan sebagai antioksidan yang akan mengurangi kepekaan LDL dengan radikal bebas¹⁶. Berdasarkan hal tersebut, pemberian kedelai dan daun jati Belanda dapat berguna untuk meringankan dislipidemia.

Penggunaan kombinasi kedelai dan daun jati Belanda mampu meningkatkan efek keduanya secara sinergis dalam menurunkan kadar kolesterol LDL pada tikus Wistar jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak dibandingkan pemakaian secara tunggal, karena efek antioksidan isoflavon, lesitin, dan saponin dalam

kedelai, saponin dan tanin pada daun jati belanda dapat menurunkan kadar kolesterol LDL, hasil ini diukung oleh penelitian Hermanto (2013) dan Damanik (2009).

Dari hasil yang didapat oleh penelitian ini didapatkan hasil bahwa dosis kombinasi EEKD 10 mg: EEJB 20 mg memiliki potensi yang lebih baik dibanding dosis tunggal dan memiliki potensi yang setara dengan simvastatin dalam menurunkan kadar kolesterol LDL tikus wistar janyan yang diinduksi pakan tinggi lemak. Hasil ini juga didukung oleh penelitian Hidayat (2012) dan Yanuarti (2013).

SIMPULAN

Dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

- Kombinasi EEKD 10 mg : EEJB 20 mg memiliki potensi lebih baik dalam menurunkan kadar kolesterol LDL pada tikus Wistar jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak.

- Kombinasi Ekstrak Etanol Kedelai *Detam 1* (EEKD) dan Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda (EEJB) memiliki potensi yang setara dengan Simvastatin dalam menurunkan kadar kolesterol LDL pada tikus Wistar jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dorland, W. 2007. *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*. Elsevier.
2. Almatsier, S. 2006. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi Edisi 6*. Jakarta: Gramedia.
3. Smith. 2004. *Textbook of Pharmacology*. London: WB Sanders Company.
4. Adam, J M. 2009. Dislipidemia. In A. W. Sudoyo, B. Setiyohadi, I. Alwi, M. Simadibrata, & S. Setiati, *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi 5* (pp.1984-1992). Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen I.P.
5. WHO. 2003. *Traditional Medicine*. Retrieved Desember 20, 2013, from WHO:

- ://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/.
6. Sukandar, E. 2006. Tren dan Paradigma Dunia Farmasi, Industri-Klinik Teknologi Kesehatan. *Jurnal Departemen Farmasi Institut Teknologi Bandung*.
 7. Hidayat, M. 2012. Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Kedelai (Glycine Max L. Merr) Varietas Detam 1 Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda (Guazoma Ulmifolia) Terhadap Inhibisi Enzim Lipase Pankreas. *Jurnal Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha*.
 8. Mourad, A. M., Pincinato, E. d., Mazzola, P. G., Sabha, M., & Moriel, P. 2010. Influence of Soy Lecithin Administration on Hypercholesterolemia. *Hindawi Publishing Corporation*.
 9. Taku K, U. K. 2007. Soy isoflavones lower serum total and LDL cholesterol in humans: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*, 1148-56.
 10. Potter, S. M. 1995. Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. *Europe PubMed Central*.
 11. Potter, S. M., Jimenez-Flores, R., Pollack, J., Lone, T. A., & Berber-Jimenes, D. 1993. Protein-Saponin Interaction and Its Influence on Blood Lipids. *J. Agric Food Chem*, 1287-1291.
 12. Sidhu, G., & Oakenfull, D. 1986. A mechanism for the hypocholesterolaemic activity of saponins. *Journal of Cambridge*.
 13. Tebib, K., Besancon, P., & Rounet, J. M. 1994. Dietary Grape Seed Tannins Affect Lipoproteins, Lipoproteins Lipases and Tissue Lipid in Rats Fed Hypercholesterolemic Diets. *Journal of Nutrition*, 2451-1457.
 14. Rahadrjo, S. S. 2004. *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk.) Terhadap Aktivitas Enzim Lipase Serum Rattus Norvegicus*.
 15. Silitonga, R. F. 2008. *Daya Inhibisi Ekstrak Daun Jati Belanda dan Bangle Terhadap Aktivitas Lipase Pankreas Sebagai Antiobesitas*.

16. Kwon. 2007. Anti-obesity and Hypolipidemic Effects of Black Soybean Anthocyanins. *Journal of medicinal Food*.
17. Hermanto, P.T. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr) Varietas *Detam 1*, daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*) dan kombinasinya. *Universitas Kristen Maranatha*
18. Yanuarti, Kwan, M. 2013. Efek Ekstrak Etanol Biji Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr) Varietas *Detam 1* dan Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*) terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak. *Universitas Kristen Maranatha*