

Potensi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) sebagai Antihiperlipidemia

Potency of Ethyl Acetate Fraction of Gambier Leaves Extract (*Uncaria gambir* Roxb.) as Antihyperlipidemia

Nanang Yunarto^{1*}, Berna Elya², Laurentia Konadi³

¹Program Magister Herbal, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

²Departemen Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

³Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan,
Kementerian Kesehatan, Indonesia
E-mail: nayunandesba@yahoo.com

Diterima: 2 Desember 2014

Direvisi: 9 Januari 2015

Disetujui: 30 Januari 2015

Abstrak

Hiperlipidemia merupakan faktor risiko utama dalam aterosklerosis dan penyakit jantung koroner. Fraksi etil asetat ekstrak daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) mengandung metabolit sekunder katekin yang memiliki potensi untuk digunakan sebagai antihiperlipidemia. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek antihiperlipidemia dari fraksi etil asetat ekstrak daun gambir secara in vivo. Penelitian menggunakan 36 ekor tikus putih jantan galur Sprague Dawley berusia 2,5 bulan dibagi secara acak lengkap menjadi enam kelompok yaitu kelompok normal, kontrol negatif (air suling), kontrol positif (simvastatin 2 mg/200 g bb), dosis I (fraksi 5 mg/200 g bb), dosis II (fraksi 10 mg/200 g bb) dan dosis III (20 mg/200 g bb). Tikus diinduksi dengan makanan yang mengandung kolesterol dan lemak jenuh selama 28 hari, kecuali kontrol normal. Selanjutnya tikus diberi pemberian bahan uji selama 28 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jika dibandingkan dengan kontrol negatif, dosis III mampu menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL dan meningkatkan HDL ($p < 0,05$). Hasil pada dosis I hanya menurunkan kadar kolesterol total dan LDL ($p < 0,05$), sedangkan pada dosis II mampu menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL ($p < 0,05$) namun tidak meningkatkan kadar HDL ($p > 0,05$). Fraksi etil asetat ekstrak daun gambir pada dosis 20 mg/200 g bb mempunyai aktivitas antihiperlipidemia terbaik.

Kata kunci: Fraksi etil asetat; Daun gambir; Antihiperlipidemia

Abstract

Hyperlipidemia is the main risk factor for atherosclerosis and coronary heart disease. Ethyl acetate fraction of gambier leaves extract (*Uncaria gambir* Roxb.) contains catechin secondary metabolites which have potency to be used as antihyperlipidemic. This study aimed to examine the antihyperlipidemic effect of ethyl acetate fraction of gambier leaves extract in vivo. Thirty six males of Sprague Dawley strain, 2,5 months old, were randomly divided into six groups: normal group, negative group (distilled water), positive group (simvastatin 2 mg/200 g bw), dose I (5 mg/200 g bw fraction), II (10 mg/200 g bw fraction) and III (20 mg/200 g bw fraction) groups. Rats were induced with high cholesterol and saturated fat feeds for 28 days, except in the normal group. Furthermore, rats were given the treatment for 28 days. The results showed when compared than negative control, dose III reduced of total cholesterol, triglycerides, LDL levels and increased HDL level ($p < 0.05$). Dose I could reduce total cholesterol and LDL levels ($p < 0,05$), whereas dose II reduced total cholesterol, triglycerides and LDL levels ($p < 0,05$) but did not increase HDL levels ($p > 0,05$). The conclusion is the ethyl acetate fraction of gambier leaves extract at 20 mg/200 g bb dose had the best antihyperlipidemic effect.

Keywords: Ethyl acetate fraction; *Uncaria gambir* leaves; Antihyperlipidemic

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskuler merupakan penyebab kematian nomor satu di dunia. Pada tahun 2008, dari 57 juta kematian yang terjadi, sekitar 17,3 juta orang (30%) meninggal dunia akibat penyakit kardio vaskuler. Dari kematian tersebut 7,3 juta disebabkan oleh penyakit jantung koroner (PJK) dan 6,2 juta disebabkan oleh stroke.¹ Hal tersebut memperlihatkan bahwa PJK merupakan masalah serius yang harus ditangani. Banyak hal yang berperan dalam faktor resiko kejadian PJK, diantaranya adalah obesitas dan hiperlipidemia.² Terdapat hubungan yang signifikan antara asupan lemak dan kolesterol berlebih dengan PJK.³

Hiperlipidemia sampai saat ini dikendalikan dengan diet, olahraga dan terapi obat sintetik. Obat-obat tersebut telah diketahui memiliki efek samping. Obat hiperlipidemia golongan statin yang banyak digunakan sebagai pilihan utama terapi adalah simvastatin, namun obat ini memiliki efek samping seperti miopati, hepatotoksik, neuropati perifer pusing, diare dan alergi.⁴

Saat ini banyak dilakukan penelitian potensi tanaman obat yang memiliki efek yang sama dengan obat-obat sintetik, namun efek sampingnya lebih ringan. Katekin merupakan senyawa metabolit sekunder turunan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antiobesitas dan antihiperlipidemia. Pemberian sampel uji ekstrak daun teh yang mengandung katekin secara signifikan menurunkan kadar kolesterol dalam serum darah dan hati tikus jika dibandingkan dengan tanpa pemberian sampel uji.⁵ Salah satu tanaman asli Indonesia yang banyak mengandung katekin adalah gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). Ekstrak daun gambir mengandung katekin sebagai komponen utama serta beberapa komponen lain seperti asam kateku tanat, kuersetin, kateku merah, gambir flouresen, lemak dan lilin. Pengukuran kadar katekin dalam fraksi etanol,

kloroform, etil asetat dan asetonitril daun gambir menunjukkan bahwa kandungan katekin paling tinggi ada pada fraksi etil asetat.⁶ Adanya kandungan katekin yang tinggi dalam daun gambir menjadikan gambir sebagai tanaman yang potensial untuk dijadikan bahan baku obat. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek dari fraksi etil asetat ekstrak daun gambir terhadap kadar lipid plasma darah tikus yang diinduksi makanan tinggi kolesterol dan lemak.

METODE

Desain penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian acak lengkap. Kegiatan yang dilakukan adalah pembuatan fraksi etil asetat ekstrak daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.), karakterisasi fraksi (kadar air, susut pengeringan, kadar abu, residu pelarut), analisa kuantitatif kadar katekin dalam fraksi etil asetat, uji aktivitas kadar kolesterol total, trigliserida, LDL-C dan HDL-C plasma darah pada tikus putih jantan yang diberi diet tinggi lemak dan kolesterol dibandingkan dengan kontrol.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary evaporator* (Buchi), kromatografi cair kinerja tinggi/KCKT (Waters), Cobas c501 *analyzer* (Hitachi), kromatografi gas (Agilent Technologies), corong pisah, *water bath*, oven, sonikator, filter acrodisc (Waters), kandang tikus, pipet mikro kapiler, tube kapiler, desikator, botol dan pyrex bowl jarum suntik, alat bedah, sonde, timbangan analitik (Mettler Toledo), jarum suntik 25 G, spuit injeksi, timbangan hewan, sentrifugator (Hettich) dan alat-alat gelas.

Bahan yang digunakan adalah ekstrak daun gambir yang diperoleh dari Kebun Tanaman Obat (KTO) Univ. Andalas, Padang, Sumatera Barat. Dalam penelitian ini juga digunakan obat antihiperlipidemia konvensional yakni simvastatin sebagai pembanding. Hewan uji yang digunakan

adalah tikus putih jantan galur Sprague Dawley (SD) berusia 10 minggu dari Laboratorium Hewan Percobaan Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan sebanyak 36 ekor dengan berat badan 200-250 g. Bahan kimia yang digunakan adalah standar katekin (Sigma Aldrich), n-heksan teknis, etil asetat teknis, air suling, metanol HPLC grade (Merck), asetonitril HPLC grade (Merck), asam asetat (Merck), etil asetat p.a (Merck), heparin, reagen CHOL2 (Roche), reagen TRIGL (Roche), reagen LDL_C (Roche), reagen HDLC3 (Roche).

Prosedur kerja

Pembuatan fraksi

Proses fraksinasi dilakukan dengan cara 200 g ekstrak daun gambir digerus sampai halus, disuspensikan ke dalam pelarut n-heksan dan dihomogenkan menggunakan sonikator selama 10 menit. Suspensi disaring menggunakan kertas saring. Residu dilarutkan dalam pelarut etil asetat, kemudian dihomogenkan dengan sonikator selama 10 menit. Larutan dipartisi dengan menambahkan akuades, selanjutnya dikocok dalam labu pemisah dan didiamkan selama 30-60 menit hingga terdapat dua lapisan (lapisan etil asetat di bagian atas dan lapisan akuades di bagian bawah). Kedua lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan. Lapisan fraksi etil asetat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* sampai kental. Fraksi etil asetat yang diperoleh diuapkan pada lemari asam, kemudian dilanjutkan pengeringan pada oven vakum suhu 40-50°C hingga diperoleh bobot tetap. Fraksi yang diperoleh dilakukan karakterisasi pemeriksaan organoleptis, kadar air, susut pengeringan dan kadar abu.⁷

Pemeriksaan residu pelarut

Sisa residu pelarut pada fraksi etil asetat ekstrak daun gambir dianalisis menggunakan alat Kromatografi Gas FID Agilent Technologies, kolom 30 × 0,25 mm, 1 mm df RTX-5 column (5% fenil

polidimetilsiloksan), tekanan pompa 28 psi, detektor ionisasi 250°C, gas pembawa digunakan gas helium dengan laju alir 40 mL/menit, temperatur kolom diprogram 10 menit pertama 35°C, selanjutnya dinaikkan 10°C/menit sampai 220°C.

Penetapan kadar katekin

Sampel fraksi etil asetat dianalisis menggunakan KCKT, kolom Sun Fire C18 4.6 × 150 mm, dengan laju alir 0,45 mL/menit, volume injeksi 1,0 µL dan deteksi menggunakan UV pada panjang gelombang 280 nm. Fase gerak yang digunakan secara gradien dengan fase gerak A: 0,03% asam asetat dalam campuran asetonitril:air (5:95) dan fase gerak B 0,1% asam trifluoroasetat dalam asetonitril. Kondisi gradien fase gerak adalah 0-4 menit (100% A) 4-20 menit (71,5 A; 28,5 B) dan 20-30 menit (100% B).⁸

Perlakuan hewan uji

Hewan uji dibagi secara acak lengkap dalam 6 kelompok perlakuan. Kelompok I adalah kontrol normal dimana tikus hanya diberikan diet standar, kelompok II (kontrol negatif) diberikan diet standar dan diet tinggi kolesterol sebanyak 2,5 g dengan komposisi kuning telur 50%, kolesterol 5%, asam kolat 0,5% dan minyak nabati 44,5%, kelompok III (kontrol positif) diberikan diet standar, diet tinggi kolesterol, dan simvastatin. Kelompok IV, V, VI yaitu kelompok yang diberi diet standar, diet tinggi kolesterol, dan fraksi etil asetat pada dosis 5, 10, 20 mg/ 200 g bb.

Pengukuran profil lipid

Penyiapan plasma darah bertujuan sebagai spesimen uji profil lipid tikus. Pemeriksaan dilakukan pada hari ke-0, 29 dan 57. Sampel darah tikus diambil melalui sinus orbital tikus untuk diambil plasmanya. Pengukuran kadar kolesterol total, trigliserida, LDL dan HDL dalam plasma menggunakan alat Cobas c501 *analyzer* dengan prinsip kerja metode

kolorimetri enzimatis. Reagen pemeriksaan yang digunakan untuk profil lipid adalah reagen CHOL2 (Roche), TRIGL (Roche), LDL_C (Roche) dan HDLC3 (Roche).

Persetujuan Kaji Etik

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan kaji etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK), Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dengan nomor lolos kaji etik No: 365/H2.F1/ETIK/2014.

Analisis Data

Data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan SPSS. Analisis yang dilakukan adalah uji normalitas (uji *Shapiro-Wilk*) dan uji homogenitas (uji *Levene*). Untuk melihat hubungan antara kelompok perlakuan, dilakukan analisis varian satu arah (ANOVA) jika data terdistribusi normal dan homogen. Jika terdapat perbedaan signifikan antar kelompok, dilakukan analisis *post hoc* menggunakan uji LSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses fraksinasi dilakukan dengan pengulangan sebanyak dua kali, dengan setiap kali proses fraksinasi ekstrak daun gambir yang digunakan sebanyak 200 g. Hasil karakterisasi fraksi etil asetat ekstrak daun gambir ditunjukkan pada Tabel 1. Bobot fraksi etil asetat yang diperoleh masing-masing sebesar 132,56 g dan 133,58 g. Dari hasil perhitungan, rata-rata rendemen fraksi etil asetat yang diperoleh sebesar 66,53%. Hal ini menunjukkan ekstrak daun gambir lebih mudah larut dalam etil asetat. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak gambir sangat mudah larut dalam etil asetat, etanol dan air panas, namun kurang larut dalam air dingin.⁹

Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui besar kandungan air dalam ekstrak daun gambir. Fraksi etil asetat

yang dihasilkan memiliki kadar air 4,91% yang berarti memenuhi syarat Farmakope Herbal, yaitu dibawah 14%. Semakin sedikit kandungan air dalam material bahan obat dapat mengurangi resiko pertumbuhan mikroba, jamur maupun kerusakan akibat serangga. Pemeriksaan besar susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui berapa jumlah komponen yang hilang (air dan komponen volatil) ketika dilakukan pemanasan 105°C. Hasil pengukuran susut pengeringan fraksi etil asetat ekstrak daun gambir sebesar 6,69%. Nilai susut pengeringan ini lebih besar dari kadar air, hasil ini menjelaskan bahwa selain kandungan air, ada juga komponen mudah menguap (volatil) seperti minyak atsiri yang hilang. Penetapan kadar abu total bertujuan untuk mengetahui besarnya material yang tersisa setelah pembakaran (suhu 700 °C). Kadar abu total yang diperoleh sebesar 0,41% sesuai dengan yang disyaratkan dalam Farmakope Herbal yaitu kurang dari 0,5%. Nilai kadar abu yang kecil menandakan jika material yang tersisa sedikit. Material yang tersisa meliputi *physiological ash*, yang berasal dari jaringan tanaman itu sendiri maupun *non-physiological ash* yang merupakan residu dari material asing yang menempel pada permukaan tanaman misalnya pasir dan tanah, sehingga semakin kecil nilai kadar abu dapat diartikan semakin kecil pula pengotor dalam fraksi yang dihasilkan.⁷

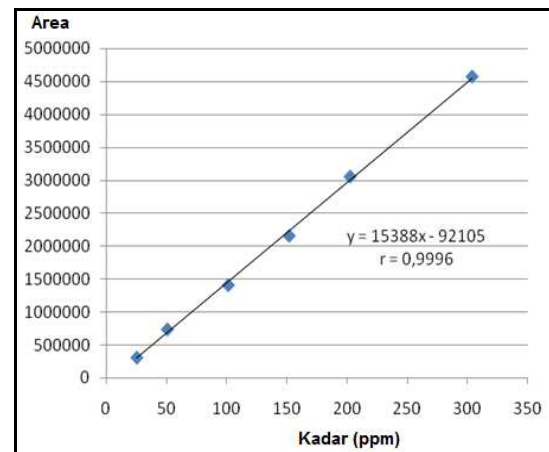
Tabel 1. Hasil karakterisasi fraksi etil asetat ekstrak daun gambir

Karakterisasi	Hasil
Bentuk	Padat, Serbuk
Warna	Coklat kekuningan
Bau	Khas
Rasa	Agak Sepat
Rendemen	66,53 ± 0,36 %
Kadar Air	4,91 ± 0,09 %
Susut Pengeringan	6,69 ± 0,14 %
Kadar Abu Total	0,41 ± 0,06 %
Residu pelarut	0 %

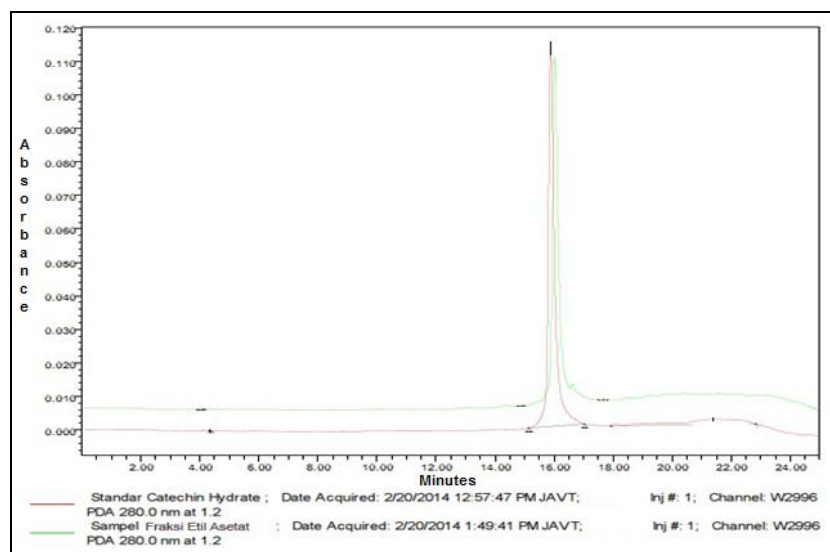
Analisa residu pelarut bertujuan untuk mengukur residu pelarut etil asetat yang terdapat dalam fraksi etil asetat ekstrak daun gambir. Analisa menggunakan Gas Chromatography–Mass Spectrometry atau GC-MS, hal ini dikarenakan etil asetat merupakan pelarut yang mudah menguap. *United States Pharmacopeia* (USP) memasukkan pelarut etil asetat ke dalam kelas toksisitas 3 (Class 3) yang berarti golongan pelarut dengan toksisitas kecil hingga tidak toksik, namun pemeriksaan residu etil asetat tetap dilakukan untuk memastikan bahwa fraksi yang diperoleh memenuhi persyaratan yang ditetapkan. Berdasarkan hasil kromatografi gas, fraksi yang diperiksa residu etil asetatnya adalah 0%. Hal ini membuktikan jika fraksi yang dihasilkan sudah tidak ada kandungan residu etil asetat, sehingga memenuhi persyaratan dan aman untuk digunakan. Batas maksimal residu etil asetat yang diijinkan sebagai pelarut adalah 0,5%.¹⁰

Perhitungan kadar katekin pada fraksi etil asetat daun gambir terlebih dahulu dibuat persamaan kurva kalibrasi katekin standar. Persamaan kurva kalibrasi merupakan hubungan antara sumbu x dan sumbu y. Deretan konsentrasi yang dibuat dinyatakan dalam sumbu x, sedangkan luas puncak kromatogram yang diperoleh dari hasil pengukuran dinyatakan sebagai sumbu y. Pada metode ini, pembuatan

kurva kalibrasi standar katekin dilakukan dengan menghubungkan enam titik konsentrasi yaitu pada konsentrasi 25,3 ; 50,6 ; 101,2 ; 151,8 ; 201,4 dan 303,6 ppm. Dari hasil pengukuran menggunakan HPLC, persamaan kurva kalibrasi katekin yaitu $y = 15388x - 92105$ dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9996 (gambar 1). Perolehan koefisien korelasi yang mendekati 1, menyatakan hubungan yang semakin linear antara konsentrasi dengan luas puncak kromatogram. Menurut AOAC nilai ini memenuhi syarat yang ditetapkan, yaitu 0,9900. Nilai koefisien korelasi yang tinggi menunjukkan hubungan yang linear antara sinyal detektor yang terukur dan jumlah katekin.¹¹



Gambar 1. Kurva kalibrasi katekin



Gambar 2. Kromatogram fraksi etil asetat ekstrak daun gambir

Spektrum serapan yang dihasilkan memperlihatkan bahwa katekin berada pada panjang gelombang 280 nm dengan waktu retensi 16 menit (lihat Gambar 2). Pengukuran kadar katekin dalam fraksi etil asetat ekstrak daun gambir dilakukan secara duplo. Luas puncak kromatogram dari fraksi etil asetat ekstrak daun gambir yang diperoleh 1400271 dan 1395276. Dengan menggunakan persamaan kurva kalibrasi di atas maka diperoleh kadar katekin dalam fraksi etil asetat ekstrak daun gambir sebesar $96,82 \pm 0,23\%$, dimana Farmakope Herbal menentukan persyaratan kadar katekin tidak kurang dari 90%.⁷

Pada penelitian ini pemeriksaan profil lipid dilakukan tiga kali yaitu pada hari ke-0 sebagai data dasar, hari ke-29 setelah induksi diet tinggi kolesterol dan lemak dan hari ke-57 setelah pemberian bahan uji. Pemeriksaan profil lipid meliputi kadar kolesterol total, trigliserida, HDL dan LDL. Kadar kolesterol total ditetapkan dengan metode kolorimetri enzimatis dengan kolesterol esterase, kolesterol oksidase dan peroksidase sebagai katalis indikator reaksi. Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil pemeriksaan pada hari ke-29 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar kolesterol total secara bermakna jika dibandingkan dengan kontrol normal ($p < 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa induksi diet tinggi kolesterol dan lemak selama 28 hari mampu meningkatkan

kadar kolesterol total secara bermakna dibandingkan dengan tikus tanpa induksi diet tinggi kolesterol. Peningkatan kadar kolesterol total plasma dalam penelitian ini disebabkan meningkatnya jumlah asupan konsumsi asam lemak jenuh dari induksi kolesterol, kuning telur dan minyak goreng. Hal ini dapat mengganggu proses metabolisme dan ekskresi kolesterol dari dalam tubuh sehingga kadar kolesterol total serum dapat meningkat. Mekanisme peningkatan kadar kolesterol total yaitu akibat peningkatan kadar asam lemak bebas dalam plasma darah yang dapat meningkatkan sekresi VLDL oleh hati, yang meliputi trigliserida dan kolesterol tambahan ke dalam sirkulasi darah.¹²

Pemeriksaan kadar kolesterol total dilakukan pada hari ke-57. Data hasil pengukuran kadar kolesterol total pada hari ke-57 menunjukkan bahwa bahan uji pada tiga perlakuan dosis dan kontrol positif mengalami penurunan kadar kolesterol total secara bermakna ($p < 0,05$) apabila dibandingkan dengan kontrol negatif, meskipun penurunannya tidak sampai pada titik nilainya sama dengan kontrol normal. Pada kelompok dosis I, II dan III menunjukkan korelasi antara peningkatan konsentrasi dengan penurunan kadar kolesterol total dalam plasma darah tikus. Fraksi etil asetat ekstrak daun gambir mengandung senyawa katekin golongan flavonoid yang merupakan senyawa fenol alami.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total plasma darah tikus

Kelompok	Kadar Kolesterol Total (mg/dL ± SD)		
	0	29	57
Normal	64,39 ± 2,69	69,50 ± 3,78	74,83 ± 5,91
Kontrol -	62,33 ± 3,20	195,50 ± 9,01	199,83 ± 9,45
Kontrol +	61,33 ± 3,20	191,28 ± 6,78 #	150,72 ± 7,08 *#
Dosis I	62,11 ± 2,71	195,94 ± 8,26 #	174,00 ± 5,40 *#
Dosis II	64,33 ± 2,26	198,83 ± 5,34 #	148,11 ± 6,36 *#
Dosis III	62,33 ± 3,00	196,89 ± 5,73 #	139,61 ± 4,92 *#

Keterangan : * = $p < 0,05$ berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif

= $p < 0,05$ berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol normal

*# = $p < 0,05$ berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol normal

Flavonoid dapat menurunkan kadar kolesterol darah melalui peningkatan ekskresi asam empedu dan mengurangi kekentalan (viskositas) darah sehingga mengurangi terjadinya pengendapan lemak pada pembuluh darah.¹³ Katekin memiliki aktivitas menghambat kerja HMG-CoA reduktase yang mengakibatkan sintesis mevalonat dari HMG-CoA berkurang. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Ikeda menyatakan bahwa terjadinya penurunan kadar kolesterol total dalam plasma darah tikus disebabkan karena katekin mampu secara efektif menghambat penyerapan kolesterol dalam usus.¹⁴

Pemeriksaan kadar trigliserida pada hari ke-0 diperoleh rata-rata kadar trigliserida pada tiap kelompok sebesar 83,67-85,33 mg/dL. Hasil ini menunjukkan kadar trigliserida pada tiap kelompok masuk dalam interval normal, karena kadar trigliserida pada plasma darah tikus normal berkisar antara 26-145 mg/dL.¹⁵ Dari hasil uji statistik, tidak ada perbedaan bermakna dari kadar trigliserida pada tiap kelompok uji ($p > 0,05$).

Hasil pemeriksaan kadar trigliserida pada hari ke-29 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar secara bermakna pada semua kelompok yang diinduksi diet tinggi kolesterol dan lemak jika dibandingkan dengan kontrol normal ($p < 0,05$). Data ini membuktikan bahwa

induksi diet tinggi kolesterol dan lemak selama 28 hari mampu meningkatkan kadar trigliserida secara bermakna jika dibandingkan dengan tikus tanpa induksi makanan tersebut. Peningkatan asupan lemak, kolesterol, asam kolat dan minyak goreng dari makanan pada kelompok diet tinggi kolesterol dan lemak menyebabkan peningkatan aktifitas lipogenesis hewan coba, sehingga asam lemak bebas yang terbentuk semakin meningkat. Selanjutnya terjadi mobilisasi asam lemak bebas dari jaringan lemak menuju ke hepar dan berikatan dengan gliserol akan membentuk trigliserida.¹² Dengan demikian semakin tinggi konsumsi lemak maka semakin tinggi pula sintesis trigliserida dalam hepar sehingga kadar trigliserida dalam darah akan meningkat.

Data hasil pengukuran kadar trigliserida pada hari ke-57 menunjukkan bahwa bahan uji pada dosis II, dosis III dan kontrol positif menunjukkan penurunan kadar trigliserida yang bermakna ($p < 0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, meskipun nilai penurunannya tidak sampai menjadi sesuai kelompok normal. Sedangkan untuk dosis I, penurunan kadar trigliserida setelah pemberian bahan uji tidak berbeda bermakna dibandingkan kontrol negatif ($p > 0,05$). Kandungan flavonoid yang banyak berperan dalam menurunkan kadar trigliserida adalah senyawa katekin.

Tabel 3 Hasil pemeriksaan kadar trigliserida plasma darah tikus

Kelompok	Kadar Trigliserida (mg/dL \pm SD)		
	0	29	57
Normal	85,33 \pm 1,69	88,67 \pm 3,80	91,50 \pm 3,45
Kontrol -	84,11 \pm 2,71	146,67 \pm 4,80	150,06 \pm 5,45
Kontrol +	83,67 \pm 2,16	145,50 \pm 5,32 #	119,17 \pm 6,68 *#
Dosis I	85,33 \pm 2,32	148,28 \pm 5,94 #	144,17 \pm 5,49 #
Dosis II	83,89 \pm 3,70	149,89 \pm 5,37 #	120,56 \pm 5,38 *#
Dosis III	83,74 \pm 3,04	146,94 \pm 3,78 #	105,28 \pm 7,088 *#

Keterangan : * = $p < 0,05$ berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif

= $p < 0,05$ berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol normal

*# = $p < 0,05$ berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol normal

Menurut Dulloo, mekanisme katekin dalam menurunkan kadar trigliserida adalah melalui penghambatan akumulasi asam lemak bebas dalam hati dan merangsang terjadinya termogenesis yaitu peningkatan pembakaran lemak saat kondisi istirahat.¹⁶ Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Mustofa menjelaskan bahwa penurunan trigliserida disebabkan oleh karena katekin mampu menghambat penyerapan lemak eksogen dari diet tinggi kolesterol dan lemak.¹⁷

Kadar LDL ditetapkan dengan metode kolorimetri enzimatis menggunakan enzim kolesterol esterase, kolesterol oksidase, dan peroksidase sebagai katalis indikator reaksi. Hasil pemeriksaan kadar LDL dapat dilihat pada Tabel 4. Pemeriksaan kadar LDL pada hari ke-29 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar secara bermakna pada semua kelompok yang diinduksi diet tinggi kolesterol dan lemak jika dibandingkan dengan kontrol normal ($p < 0,05$). Meningkatnya konsentrasi LDL dan lamanya waktu tinggal dalam darah mengakibatkan meningkatnya penyerapan kolesterol LDL yang lebih tinggi dalam monosit/makrofag maupun oleh sel-sel otot polos di dinding pembuluh. Mayoritas kolesterol yang disimpan dalam bentuk plak aterosklerosis berasal dari LDL. Hal ini yang menjadikan nilai LDL adalah prediktor klinis yang paling kuat di antara semua parameter terhadap aterosklerosis

koroner.¹⁸ Data hasil pengukuran kadar LDL pada hari ke-57 menunjukkan bahwa bahan uji pada tiga perlakuan dosis dan kontrol positif menunjukkan penurunan kadar LDL secara bermakna ($p < 0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, meskipun penurunannya tidak sampai rerata nilai hasil pada kelompok kontrol normal. Dari senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak daun gambir, kemungkinan yang berperan besar dalam menurunkan kadar LDL adalah katekin. Konsumsi katekin mampu menurunkan kadar LDL secara signifikan. Katekin dapat meregulasi gen yang dapat memetabolisme kolesterol total, sehingga penurunan kadar LDL dalam plasma darah adanya aktivitas katekin pada ekspresi gen lipogenesis.¹⁹

Pengukuran kadar HDL pada hari ke-0 diperoleh kadar HDL pada tiap kelompok uji tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$). Pemeriksaan kadar HDL pada hari ke-29 menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar HDL secara bermakna pada semua kelompok yang diinduksi diet tinggi kolesterol dan lemak jika dibandingkan dengan kontrol normal ($p < 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa induksi diet tinggi kolesterol dan lemak selama 28 hari menyebabkan turunnya kadar HDL secara bermakna jika dibandingkan dengan tikus tanpa induksi makanan tersebut.

Tabel 4 Hasil pemeriksaan kadar LDL plasma darah tikus

Kelompok	Kadar LDL (mg/dL ± SD)		
	0	29	57
Normal	32,50 ± 3,05	35,17 ± 4,54	38,17 ± 5,08
Kontrol -	33,78 ± 2,72	106,33 ± 8,78	111,72 ± 9,07
Kontrol +	31,17 ± 1,80	101,67 ± 7,23 #	68,72 ± 6,28 *#
Dosis I	32,28 ± 2,49	102,00 ± 9,19 #	89,67 ± 6,97 *#
Dosis II	33,39 ± 3,28	106,89 ± 9,79 #	67,56 ± 6,71 *#
Dosis III	32,06 ± 3,38	102,06 ± 9,20 #	52,38 ± 6,13 *#

Keterangan : * = $p < 0,05$ berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif
 # = $p < 0,05$ berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol normal
 *# = $p < 0,05$ berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol normal

Tabel 5. Hasil pemeriksaan kadar HDL plasma darah tikus

Kelompok	Kadar HDL (mg/dL ± SD)		
	0	29	57
Normal	43,11 ± 3,51	44,11 ± 3,29	46,50 ± 3,78
Kontrol -	44,50 ± 4,89	36,44 ± 4,88	39,38 ± 6,01
Kontrol +	43,78 ± 4,93	35,94 ± 6,53 #	37,00 ± 4,34 #
Dosis I	45,11 ± 5,39	37,72 ± 5,47 #	42,83 ± 5,84
Dosis II	43,83 ± 4,78	35,06 ± 6,10 #	41,17 ± 4,79
Dosis III	44,33 ± 4,72	36,22 ± 6,21 #	45,39 ± 4,93 *

Keterangan : * = p<0,05 berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif

= p<0,05 berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol normal

*# = p<0,05 berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol normal

Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Tsalissavrina dkk yang menyatakan bahwa pemberian diet tinggi lemak dapat menurunkan kadar HDL dalam darah tikus.²⁰ Data hasil pengukuran kadar HDL pada hari ke-57 menunjukkan bahwa bahan uji pada dosis I dan dosis II meningkatkan kadar HDL, namun dari hasil uji statistik hasilnya tidak berbeda bermakna dengan kelompok lainnya (p>0,05). Sedangkan untuk dosis III, peningkatan kadar HDL berbeda bermakna dengan kontrol negatif dan kontrol positif (p<0,05). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pemberian fraksi etil asetat ekstrak daun gambir mampu meningkatkan kadar HDL plasma darah tikus. Pemberian fraksi etil asetat ekstrak daun gambir pada dosis 20 mg/200 g bb ini menunjukkan aktivitas kenaikan kadar HDL yang terbaik.

Fraksi etil asetat ekstrak daun gambir kaya akan kandungan katekin. Katekin memiliki aktivitas dalam meningkatkan kadar HDL dalam plasma darah tikus. Mekanisme meningkatnya kadar HDL disebabkan adanya kenaikan Apolipoprotein A-1 sebagai komponen utama penyusun HDL. Selain itu diet katekin mampu mengurangi produksi dari Apolipoprotein B yaitu komponen utama penyusun LDL yang berakibat pada meningkatnya rasio ApoA-1/ApoB sehingga katekin mampu melindungi dari resiko aterosklerosis.²¹

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat ekstrak daun gambir dosis 20 mg/200 g bb memiliki potensi terbaik dalam menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL dan meningkatkan HDL dalam plasma darah tikus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dra. Ani Isnawati, M.Kes, Apt; drh. M.Wien Winarno; Kambang Sariadji, S.Si, M.Biomed, drh. Ratih Rinendyaputri, M.Biomed dan yang telah memberikan bantuan selama berjalannya penelitian.

DAFTAR RUJUKAN

1. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva: World Health Organization; 2013.
2. Mullis RM, Blair SN, Aronne LJ. Obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke. *Circulation*. 2004;110:484-8.
3. Septianggi FN, Mulyati T, Sulistya H. Hubungan asupan lemak dan asupan kolesterol dengan kadar kolesterol total pada penderita jantung koroner rawat jalan di RSUD Tugurejo Semarang. *Jurnal Gizi Unimu*. 2013;2(2):13-20.
4. Fadecko J, Singh RB, Chaithiraphan S, Vargova V, Tomlinson B, De Meester F, et al. Clinical manifestations of adverse

- effects of statins, oxidative stress and possible role of antioxidants in prevention. The Open Nutraceuticals Journal. 2010;3:154-65.
5. Kobayashi M, Unno T, Suzuki Y, Nozawa A, Sagesaka Y, Kakuda T, et al. Heat-epimerized tea catechins have the same cholesterol-lowering activity as green tea catechins in cholesterol-fed rats. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 2005;69:2455-8.
 6. Kassim MJ, Hussin MH, Achmad A, Dahon NH, Suan TK, Hamdan HS. Determination of total phenol, condensed tannin and flavonoid contents and antioxidant activity of *Uncaria gambir* extracts. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2011;22(1):50-9.
 7. Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia Edisi I, Jakarta. Departemen Kesehatan; 2008.
 8. Sensitive determination of catechins in tea by HPLC. Sunnyvale: Dionex Corporation; 2013.
 9. Lucida H, Rustini, Saufitri D, Dachriyanus. Formulation of anti-plaque toothpaste from standardized gambir extract and its antimicrobial activity. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2010;5(2):70 - 7.
 10. USA. United Book Press. United States Pharmacopeia-30. Baltimore. United States Pharmacopeial Convention; 2007.
 11. Feldsine P, Abeyta C, Andrews WH. International methods committee guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official methods of analysis. *J AOAC Int*. 2002 Sep-Oct;85(5):1187-200.
 12. Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. Harper's Illustrated Biochemistry. New York: The Mc Graw-Hill Companies; 2006.
 13. Carvajal ZO, Waliszewski SM, Barradas DM, Orta FZ, Hayward JPM, Nolasco HC, et al. The consumption of Hibiscus sabdariffa dried calyx ethanolic extract reduced lipid profile in rats. *Plant Food Hun Nutr*. 2005 Dec;60(4):153-9.
 14. Ikeda I. Multifunctional effects of green tea catechins on prevention of the metabolic syndrome. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 2008;17(1):273-4.
 15. Delaney CAJ. Exotic Companion Medicine Handbook for Veterinarians. Florida: Zoological Education Network; 2008.
 16. Dulloo AG, Seydoux J, Girardier L. Green tea and thermogenesis: interactions between catechin-polyphenols, caffeine and sympathetic activity. *International Journal Obesity Relation Metabolism Disorder*. 2000;24:252-8.
 17. Mustofa UE. Effect of green tea and green tea rich with catechin on blood glucose levels, serum lipid profile and liver and kidney functions in diabetic rats. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 2014;7(1):7-12.
 18. Tomkin GH, Owens D. LDL as a cause atherosclerosis. *The Open Atherosclerosis & Thrombosis Journal*. 2012;5:13-21.
 19. Kim A, Chiu A, Barone MK, Avino D, Wang F, Coleman CI, et al. Green tea catechins decrease total and low-density lipoprotein cholesterol: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Dietetic Association*. 2011;111(11):1720-9.
 20. Tsalissavrina I, Wahono D, Handayani D. Pengaruh pemberian diet tinggi karbohidrat dibandingkan diet tinggi lemak terhadap kadar trigliserida dan HDL darah pada *Rattus norvegicus* galur wistar. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2006;22(2):80-9.
 21. Velayutham P, Babu A, Liu D. Green tea catechins and cardiovascular health: An up date. *Current Medicinal Chemistry*. 2008;15(18):1840-50.