

UJI AKTIVITAS HIPOLIPIDEMIK KENIKIR (*Cosmos caudatus*) PADA TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI PROPILTIOURASIL

Agil Novianto¹ dan Anastasia Rina²

1). Akademi Farmasi Nasional Surakarta,

2) Akademi Analis Kesehatan Nasional Surakarta

Email korespondensi : agi.novianto@gmail.com

Penyakit kardiovaskuler merupakan penyakit degeneratif yang menjadi pembunuh utama di negara-negara industri. Sebagian besar penyakit kardiovaskuler seperti penyakit jantung koroner berhubungan erat dengan tingginya lemak darah atau hiperlipidemia. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas hipolipidemik kenikir pada hewan uji yang diinduksi propiltiourasil. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola searah terhadap 30 ekor tikus jantan yang terbagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I (normal) diberi aquades, kelompok II (kontrol negatif) diberi CMC Na 0,5 %, kelompok III (kontrol positif) diberi atorvastatin dosis 0,9 mg/kgBB (po), Kelompok IV-VI diberi sediaan uji masing masing ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi atil asetat kenikir dengan dosis 1125 mg/kg BB. Hewan uji kecuali kelompok normal diinduksi PTU 10 mg/kg BB dan diet lipid 2 ml dimulai pada hari ke-0 hingga hari ke 42, dilanjutkan dengan pemberian sediaan uji selama 14 hari. Dilakukan pemeriksaan terhadap kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan HDL serum darah pada hari ke-0, 42 dan 56 dengan menggunakan reagen kit dan dianalisis dengan menggunakan fotometer clinicon. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan kenikir mampu menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida secara signifikan ($p < 0,05$). Fraksi etil asetat kenikir memberikan hasil yang optimal dibandingkan dua sampel lainnya dengan penurunan kadar kolesterol sebesar 20,76 % dan trigliserida sebesar 10,41 %. Sampel kenikir yang digunakan tidak memberikan pengaruh pada kadar HDL dan LDL.

Kata kunci: Hipolipidemik, kenikir, propiltiourasil

I. PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskuler merupakan penyakit degeneratif yang menjadi pembunuh utama di negara-negara industri. Sebagian besar penyakit kardiovaskuler seperti penyakit jantung koroner berhubungan erat dengan aterosklerosis (Kalim *et al.*, 1996). Salah satu faktor yang menyebabkan aterosklerosis adalah kondisi hiperlipidemia, yang ditandai dengan meningkatnya kadar kolesterol darah (hiperkolesterolemia), trigliserida (hipertrigliserida), kolesterol LDL serta penurunan kadar HDL. Perkembangan aterosklerosis meningkat sejalan dengan peningkatan kuantitatif derajat hiperlipidemia (Tjay dan Rahardja, 2007; Harrison, 1999). Dalam beberapa penelitian terakhir terjadinya penyakit kardiovaskular (atheroskelrosis) dikaitkan dengan tingginya jumlah *reactive oxygen species* atau radikal bebas. Tingginya radikal bebas ini memicu terjadinya proses oksidasi lipid (LDL) yang memicu terjadinya plak perlemakan atau aterosklerosis (Ochani and Mello, 2008)

Aterosklerosis merupakan penyakit terbentuknya plak di dinding pembuluh arteri besar yang menyebabkan penyempitan rongga pembuluh darah dan menurunkan elastisitas pembuluh darah (Marks *et al.*, 1996). Terjadi aterosklerosis karena kadar kolesterol dalam darah meningkat dan menumpuk pada dinding arteri atau pembuluh darah. Salah satu penyebab tingginya kadar kolesterol dalam darah adalah akibat asupan kolesterol dan lemak dalam makanan yang cukup tinggi. Banyak

obat-obat sintesis untuk terapi hiperlipidemia yang beredar seperti simvastatin, ezetimibe, gemfibrosil dan klorfibrat namun dalam penggunaannya masih memberikan efek samping yang cukup besar.

Dari sekian banyak tanaman yang berkhasiat adalah Kenikir (*Cosmos caudatus* K.) telah lama digunakan dalam konsep pengobatan tradisional. Kenikir memiliki aktivitas hepatoprotektor dengan mekanisme melalui aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan kemampuan untuk menghambat lipid peroksidasi dan menaikkan aktivitas antioksidan endogen catalase (Novianto, 2003). Uji aktivitas antioksidan kenikir dengan metode penangkapan radikal DPPH (*2,2'-difenil-1-pikril-hidrazil*) menunjukkan ekstrak etanol memiliki IC_{50} $19,43 \pm 0,317 \mu\text{g/mL}$ (Nurhaeni, 2012) dan fraksi etil asetat memiliki IC_{50} $14,229 \mu\text{g/mL}$ (Kurniasih, 2008). Aktivitas antioksidan baik secara *in vivo* maupun *in vitro* ini dikaitkan dengan keberadaan senyawa fenolik termasuk didalamnya adalah flavonoid. Abas et al., (2003) menyebutkan bahwa daun kenikir mengandung flavonoid dan glikosida kuersetin.

Dalam beberapa penelitian lain, suplementasi quercetin pada hewan uji yang diinduksi diet lipid menunjukkan aktivitas hipolipidemik dan mencegah terjadinya aterosklerosis (Juzwiak *et al.*, 2005). Senyawa flavonol seperti quercetin memiliki kemampuan untuk menghambat terjadinya oksidasi LDL yang merupakan inisiasi terjadinya atherosklerosis (Vizcaino, 2010). Selain keberadaan senyawa flavonoid, kenikir memiliki kandungan saponin dengan kadar 2,2%. Dalam beberapa penelitian pada tanaman dengan kandungan saponin, senyawa ini memiliki peranan mampu menurunkan kadar kolesterol dengan cara mengikat kolesterol (Francis *et al.*, 2002; Smith and Adanlawo, 2013).

Dari gambaran kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan secara *in vivo* dan *in vitro*, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi kenikir untuk dikembangkan dalam pengobatan hiperlipidemi dan mengurangi terjadinya resiko atherosklerosis. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh kenikir dalam bentuk ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi etil asetat kenikir sebagai agen antihiperlipidemia. Parameter yang diukur antara lain kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL.

II. METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

- a. Bahan uji yang digunakan adalah kenikir (Cepogo, Boyolali). Bahan yang digunakan untuk menginduksi lipid adalah propiltiourasil (PT. Kimia Farma). Pereaksi untuk pengukuran kadar kolesterol total darah adalah reagen *Cholesterol assay kit*, *Triglyceride assay kit* (DiaSys, Jerman). LDL dan HDL *precipitants* (DiaSys, Jerman) sebagai reagen dalam penetapan kadar kolesterol trigliserida LDL dan HDL. Bahan untuk kontrol positif adalah simvastatin (PT. Dexa Medica). Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* galur Wistar), dengan kondisi patologis sehat, umur 1 – 1,5 bulan, berat 100 – 150 gram dan diperlakukan dalam kondisi standar laboratorium (siklus gelap/terang 12 jam, suhu 25°).
- b. Alat untuk pengujian farmakologi, sampling, preparasi serum dan penetapan kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL dan HDL adalah pipa kapiler untuk mengambil darah tikus, *microtube* (ependorf), *sentrifuge*, *micropipette*, *stopwatch*, *vortex mixer*, *Microlab* (Shimadzu Pharmaspec), *yellow tip* dan *blue tip*, alat-alat gelas, spuit oral, tempat minum dan kandang metabolit tikus.

c. Cara kerja

a. Pembuatan Ekstrak Etanol 70 % Kenikir

Daun kenikir yang telah dikeringkan diambil sebanyak 2 kg untuk dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Herba kenikir dimasukkan dalam bejana, kemudian ditambah dengan 15 liter etanol 70 % , ditutup dan biarkan selama 5 hari, diserkai, dan ampas diperas. Sari etanol selanjutnya dilakukan pemekatan sampai dihasilkan ekstrak etanolik kenikir

b. Pembuatan Fraksi air dan fraksi etil asetat kenikir

Seratus gram ekstrak etanolik kenikir disuspensikan dalam air panas sebanyak 100 ml. Dilakukan fraksinasi dengan menggunakan hexane 50 ml sebanyak dua kali. Fraksi air hasil proses fraksinasi selanjutnya difraksinasi ulang dengan menggunakan pelarut etil asetat 50 ml sebanyak dua kali. Hasil air dan fraksi etil asetat selanjutnya dilakukan pemekatan.

c. Uji Kualitatif Fraksi Air dan Etil Asetat Kenikir

Uji Kualitatif terhadap ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi etil asetat kenikir dilakukan dengan menggunakan dua cara yaitu skrining fitokimia Shinoda test (Mg + HCl), FeCl₃ 2 %, NaOH 0,2 N dan analisis kromatografi lapis tipis. Analisis Kromatografi Lapis Tipis menggunakan fase gerak berupa campuran butanol, asam asetat dan air (BAW) dengan perbandingan 4 : 1 : 5, dan fase diam berupa lempeng selulosa. Standar yang digunakan adalah quercetin. Deteksi menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm.

d. Uji aktivitas hipolipidemik

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola searah terhadap 30 ekor tikus jantan yang terbagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I (normal) diberi aquades, kelompok II (kontrol negatif) diberi CMC Na 0,5 %, kelompok III (kontrol positif) diberi atorvastatin dosis 0,9 mg/kgBB (po), Kelompok IV-VI diberi sediaan uji masing masing ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi atil asetat kenikir dengan dosis 1125 mg/kg BB. Hewan uji kecuali kelompok normal diinduksi PTU 10 mg/kg BB dan diet lipid 2 ml dimulai pada hari ke-0 hingga hari ke 42, dilanjutkan dengan pemberian sediaan uji selama 14 hari. Dilakukan pemeriksaan terhadap kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan HDL serum darah pada hari ke-0, 42 dan 56 dengan menggunakan reagen kit dan dianalisis dengan menggunakan fotometer clinicon.

III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pembuatan ekstrak etanolik dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. dengan rendemen ekstrak etanolik kenikir 7,37 %, sedangkan fraksi etil asetat dan fraksi air dari kenikir masing-masing sebesar 1,38 % dan 2,63 %. Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi etil asetat menunjukkan hasil positif yang menunjukkan bahwa ketiga sampel tersebut mengandung flavonoid baik itu dalam bentuk terikat dengan gula (glikosida flavonoid) maupun dalam bentuk yang tidak terikat dengan gula (aglikon). Hasil selengkapnya dapat dilihat dalam Tabel I. Hasil KLT terhadap sampel ekstrak maupun fraksi, diketahui keberadaan fraksi etil asetat memiliki spot yang

memiliki nilai HRf yang mirip dengan nilai quercetin dengan warna yang mirip ketika diidentifikasi dalam UV 366 dan uap NH₃ (Tabel II).

Tabel I. Hasil Skining fitokimia

No	Sampel	Kontrol	Skining			Kesimpulan
			Coklat kemerahan	Coklat kekuningan	Hijau kehitaman	
1	Ekstrak etanol	Coklat hitam	Coklat kemerahan	Coklat kekuningan	Hijau kehitaman	positif
2	Fraksi etil asetat	Coklat hitam	Kuning	Orange	Hijau kehitaman	Positif
3	Fraksi air	coklat	Coklat orange	Coklat kuning	Hijau kehitaman	Positif
4	Fraksi hexane	Kuning	Kuning	Kuning	Kuning	Negatif

Tabel II. Hasil KLT pada ekstrak dan fraksi kenikir

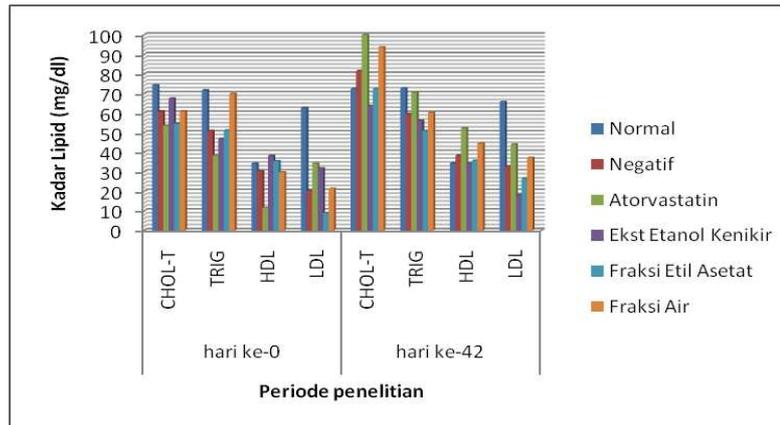
Sampel	Spot	hRf
Standar rutin	1	52,5
Standar quercetin	1	84,38
Ekstrak etanol	1	27,5
	2	56,25
	3	83,75
Fraksi air	1	30
Fraksi etil asetat	1	85

Proses induksi dilakukan dengan menggunakan diet lemak babi dan menggunakan Propil tiourasil yang diberikan secara peroral dengan dosis 10 mg/kg BB. Induksi dilakukan setiap hari selama 28 hari. Di sisi lain kelompok normal mendapatkan asupan diet normal dan tanpa diberikan induksi PTU. Dari percobaan selama 28 hari diperoleh hasil seperti dalam tabel dan gambar di bawah ini.

Tabel I. Hasil analisis parameter lipid darah baseline dan hari ke-42

Kelompok	hari ke-0				hari ke-42			
	CHOL-T	TRIG	HDL	LDL	CHOL-T	TRIG	HDL	LDL
Normal	74.25	71.75	34.25	62.75	72.5	72.75	34.5	65.75
Negatif	61.00	51.00	30.33	20.33	81.67	59.67	38.33	32.80
Atorvastatin	53.67	38.33	11.67	34.33	100.00	70.67	52.33	44.00
Ekst Etanol Kenikir	67.5	47	38.25	31.775	63.75	56.25	34.25	18.25
Fraksi Etil Asetat	54.75	51.25	35.5	9	72.5	51	35.75	26.55
Fraksi Air	61	70	29.75	21.45	93.75	60.25	44.5	37.2

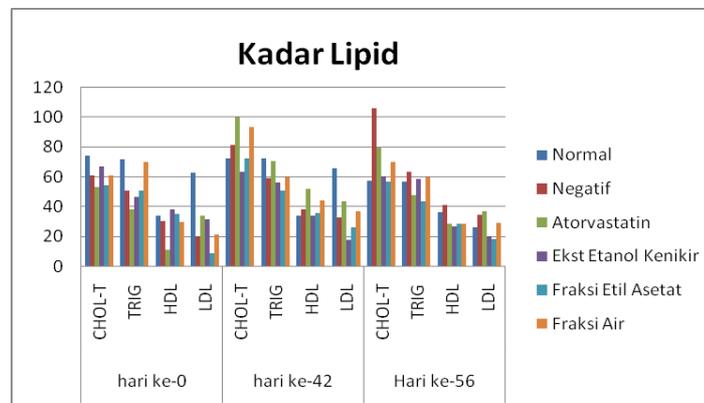
Ket: kadar lipid dinyatakan dalam mg/dl



Gambar 1. Profil lipid serum selama 42 hari

Untuk mengetahui pengaruh pemberian diet lipid dan PTU selama percobaan maka dilakukan analisis statistic dengan menggunakan *paired sampel T test*. Dari hasil percobaan diperoleh data untuk kelompok normal yang mendapatkan diet normal tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada seluruh parameter lipid serum seperti kolesterol, trigliserida, HDL, dan LDL ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan pemberian pakan diet normal tidak berpengaruh terhadap kadar lipid serum. Selanjutnya bila dilihat pada kelompok yang mendapatkan asupan diet lipid dan propiltiourasil yang diberikan selama 42 hari terlihat adanya kenaikan kadar yang signifikan pada kolesterol dan trigliserida ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan pemberian diet lipid dan propiltiourasil mampu meningkatkan kadar lipid di dalam serum darah. Pemberian diet lipid yang diberikan bersamaan dengan paan dengan konsentrasi 15 % yang dilanjutkan dnegan pemberian secara ;peroral diet llipid memberikan asupan lipid secara eksogen. Pemberian rute eksogen menunjukkan asupan lipid yang berasal dari luar bersamaan dengan makanan yang masuk ke dalam tubuh. Dari penelitian yang telah dilakukan terlihat adanya kenaikan kadar kolesterol dan trigliserida. Namun bila dilihat dalam tabel profil lipid, keniakan kadar kolesterol maupun trigliserida tidak sampai 2-3 kali dibandingkan dengan baseline.

Pemberian sediaan uji dilakukan pada hari ke-42 selama 14 hari. Aktivitas hipolipidemik dilakukan dengan mengukur parameter lipid serum seperti Kolesterol, Trigliserida, HDL, dan LDL yang dikur pada hari ke 56. Berikut ini hasil saktivitas hipolipidemik berbagai sediaan ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi air kenikir.

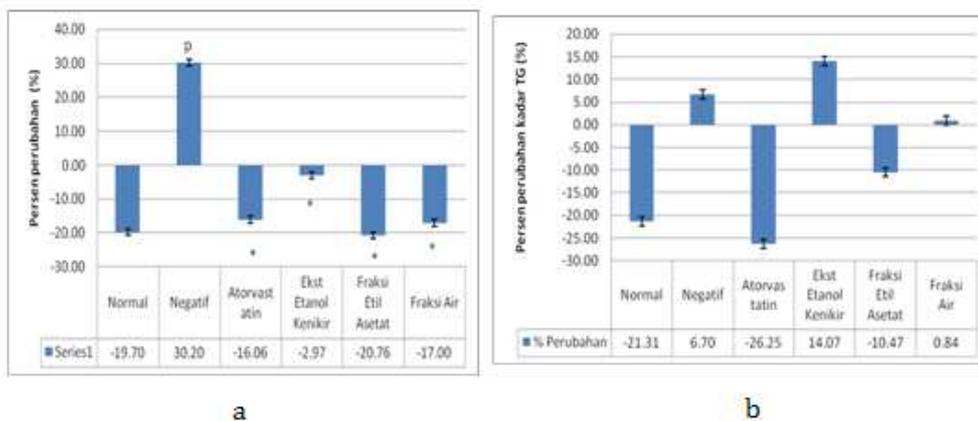


Gambar 2. Kadar lipid hewan uji selama periode penelitian

Dari gambaran di atas dapat diketahui bahwa pemberian sediaan uji selama 14 hari terlihat adanya tren penurunan baik itu pada kadar kolesterol maupun trigliserida pada beberapa sediaan uji kenikir. Untuk melihat aktivitas hipolipidemic secara spesifik data kadar lipid yang diperoleh pada hari ke-56 dibandingkan dengan data kadar lipid pada hari ke-42 yang dinyatakan dalam persen perubahan kadar lipid (%). Dan dianalisa secara statistik dengan menggunakan anova dilanjutkan post hoc test dengan menggunakan metode LSD.

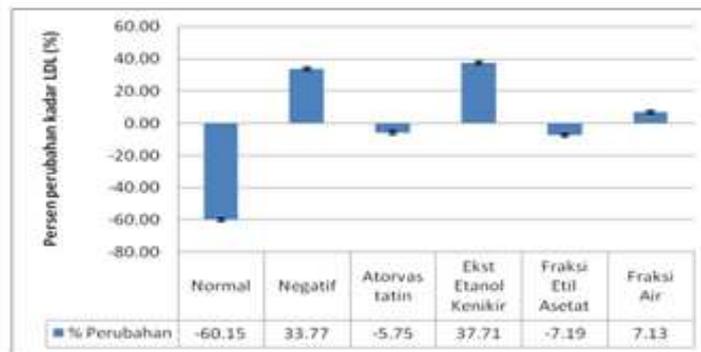
Pemberian sediaan uji dalam bentuk ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi air kenikir mampu menurunkan kadar kolesterol secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang mendapatkan pemberian induksi diet lipid dan PTU ($p < 0,05$). Dari ketiga sampel yang digunakan fraksi etil asetat kenikir memberikan hasil penurunan kadar kolesterol yang lebih optimal dibandingkan dengan dua sampel lainnya dengan persentase penurunan kadar kolesterol sebesar 20,76 %. Hasil selengkapnya dapat dilihat dalam tabel dan gambar di bawah ini.

Berbeda dengan kadar kolesterol, pemberian sediaan uji menunjukkan respon yang lain. Dari ketiga sampel yang digunakan hanya fraksi etil asetat saja yang menunjukkan tren penurunan kadar trigliserida dengan persentase penurunan kadar sebesar 10,47 %. Dua sampel lainnya yaitu fraksi air dan ekstrak etanol kenikir tidak mampu menurunkan kadar trigliserida pada hewan uji yang diinduksi diet lipid dan PTU. Hasil selengkapnya pengaruh pemberian sediaan uji terhadap kadar trigliserida dapat dilihat dalam gambar berikut.



Gambar 3. Persen perubahan kadar kolesterol (a) dan trigliserida (b) setelah pemberian sediaan uji

Pemberian sediaan uji tidak berpengaruh terhadap kadar HDL maupun LDL. Namun begitu bila dilihat dari tren penelitian yang dilakukan fraksi etil asetat kenikir mampu memberikan hasil yang lebih optimal untuk menurunkan kadar LDL dengan persen penurunan kadar sebesar 7.19 %. Sedangkan bila dibandingkan dengan dua sediaan lainnya yaitu fraksi air dan ekstrak etanol kenikir tidak cukup efektif untuk menurunkan kadar LDL pada hewan uji yang diinduksi diet lipid dan PTU. Adanya kemampuan fraksi etil asetat untuk menurunkan kadar LDL berpeluang untuk meminimalkan resiko terjadinya aterosklerosis. Seperti kita ketahui bahwa tingginya LDL yang kemudian mengalami proses oksidasi memicu munculnya perlemakan yang mampu menyumbat pada pembuluh darah.



Gambar 4. Persen perubahan kadar LDL setelah pemberian sediaan uji

IV. SIMPULAN, SARAN, DAN REKOMENDASI

Kenikir (ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi etil asetat kenikir) dapat menurunkan kadar kadar kolesterol total, dan trigliserida pada hewan uji yang diinduksi diet lipid dan PTU tetapi tidak berpengaruh terhadap kadar LDL, HDL dengan aktivitas hipolipidemik optimal pada fraksi etil asetat kenikir. Perlu dilakukan penelitian untuk melihat pengaruh pemberian kenikir terhadap degenerasi melemak pada liver dan aterosklerosis aorta jantung

V. DAFTAR PUSTAKA

- Abas, 2003, Antioxidative Radical Scavenging Properties of the Constituent Isolated from *Cosmos caudatus* K.), *Natural Product Science* 9 (4); 245-248.
- Etherton, P. M., Green M.H., & Flock M.R., 2011, Review: Effect of Adiposity on Plasma Lipid Response to Reductions in Dietary Saturated Fatty Acids and Cholesterol, *American Society for Nutrition Adv.Nutr.*, 2:261-274.
- Evans, 2002, *Trease & Evans Pharmacognosy*, 15th Edition, Edinburg, London, New York, Philadelphia St. Louis, Sidney, Toronto, pp 191,229-235.
- Folch, J.M., Lees M., & Stanley, S., 1957, A Simple Methods For The Isolation and Purification of Total Lipids From Animal Tissue, *Journal Bio.Chemistry*, 226(1):497-509.
- Harrison, 1999, *Prinsip-prinsip Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi 13, Volume 1, EGC, Jakarta.
- Marks DB., Marks AD., & Smith CM., 2000, *Biokimia Kedokteran Dasar: Suatu Pendekatan Klinis*, diterjemahkan Pandit B.U., Editor Suyomo J., Sadikin V, Mandera L.I., EGC, Jakarta.
- Novianto, A., 2013, Uji Antioksidan dan Hepatoprotektor Fraksi Etil Asetat Kenikir pada Tikus yang Diinduksi Paracetamol, *Laporan Penelitian*.
- Nurhaeni, F., 2012, Skrining Aktivitas dan Isolasi Senyawa Penangkap Radikal 2,2-Difenil-1-Pikril Hidrazil dari Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*, H.B.K), *Tesis*, Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Smith and Adanlawo, 2013, Tissue lipid profile of rats administered saponin extract from the root of bitter kola, *Advances in Biochemistry*, 1(1): 1-4
- Tjay, H.T., & Rahardja K., 2007, *Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*, Elex Media Komputindo, Jakarta.