

ARTIKEL PENELITIAN

Pengaruh Ekstrak Daun Singawalang terhadap Kadar LDL Tikus Putih Jantan Hiperkolesterolemia

Claudi Artha,^{1*} Arifa Mustika,¹ Sri Wijayanti Sulistyawati²

¹Departemen Farmakologi FK Universitas Airlangga

²Departemen Parasitologi FK Universitas Airlangga

*Corresponding author: claudiartha@gmail.com

Diterima 25 Januari 2017 ; Disetujui 6 September 2017

DOI:10.23886/ejki.5.7151

Abstrak

Petiveria alliaceae atau dikenal dengan nama singawalang dapat menurunkan kadar kolesterol LDL karena mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan pre and post test control group design. Sampel penelitian menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, berumur 2-3 bulan dengan berat badan ± 150 g. Didapatkan rerata selisih kadar LDL kelompok kontrol negatif (KN) adalah $3,40 \pm 2,07$ yang artinya terjadi kenaikan yang tidak terlalu berarti. Pada kelompok simvastatin (S), kelompok perlakuan 1 (K1), kelompok perlakuan 2 (K2), dan kelompok perlakuan 3 (K3) hasil rerata selisih kadar LDL menunjukkan terjadinya penurunan dengan hasil S = $-71,10 \pm 31,35$, K1 = $-53,60 \pm 26,80$, K2 = $-67,05 \pm 23,98$, dan K3 = $-51,06 \pm 20,27$. Pada uji One Way Anova didapatkan nilai signifikansi $p < 0,05$ yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok KN dengan kelompok S, K1, K2, dan K3. Ekstrak daun singawalang dapat menurunkan kadar kolesterol LDL pada tikus jantan hiperkolesterolemia

Kata kunci: LDL, *Petiveria alliaceae*, Simvastatin

Singawalang Leaf Extract Effects on LDL Levels of Hypercholesterolemic Male Rats

Abstract

Petiveria Alliaceae or known as singawalang can decrease levels of LDL cholesterol in the blood because of the content of compounds such as flavonoids, alkaloids, and tannins. This study is a laboratory experimental research with pre and posttest control group design. Sample using rats (*Rattus norvegicus*) males, aged 2-3 months with body weight ± 150 gs. The average LDL cholesterol level of negative control group (KN) is 3.40 ± 2.07 , which means there is no significant increase. In the simvastatin group (S), the treatment group 1 (K1), group 2 (K2), and treatment group 3 (K3) the average of LDL cholesterol results showed a decrease with the result S = -71.10 ± 31.35 , K1 = -53.60 ± 26.80 , K2 = -67.05 ± 23.98 , and K3 = -51.06 ± 20.27 . By using One Way Anova obtained significance value of $p < 0.05$, which showed significant differences between group KN with group S, K1, K2, K3.

Keywords: Hypercholesterolemia, LDL, *Petiveria alliaceae*, Simvastatin

Pendahuluan

Hiperkolesterolemia merupakan kondisi yang ditandai dengan peningkatan kadar *low-density lipoprotein* (LDL) puasa tanpa disertai peningkatan kadar trigiserida.¹ Tingginya kolesterol dapat mendasari atau memicu penyakit lain seperti kekakuan arteri (aterosklerosis) yang merupakan pemicu penyakit jantung koroner (PJK).^{2,3}

Untuk mencegah hiperkolesterolemia, kolesterol dapat dikendalikan dengan melakukan pola hidup sehat seperti membatasi konsumsi makanan tinggi kolesterol, olah raga teratur, dan menggunakan obat hipolipidemia misalnya simvastatin.

Simvastatin adalah obat yang termasuk dalam kelas statin dan merupakan obat lini pertama terapi hiperkolesterolemia.⁴ Cara kerja simvastatin adalah menghambat kerja enzim HMG-CoA reduktase yang merupakan prekursor sintesis kolesterol. Hambatan pada langkah pertama di jalur mevalonat pada sintesis kolesterol, meningkatkan afinitas reseptor LDL dan kecepatan katabolisme LDL serta ekstraksi prekursor LDL hati sehingga kadar LDL plasma menurun.⁵

Simvastatin dapat menimbulkan efek samping seperti gangguan saluran cerna, nyeri otot, iritasi lambung, kerusakan hati, batu empedu, dan kerusakan ginjal terutama pada penggunaan jangka panjang.⁶ Oleh karena itu dewasa ini dikembangkan obat herbal.⁷

Petiveria alliaceae (singawalang) adalah tanaman yang termasuk famili Phytolaceae. Tanaman tersebut belum banyak digunakan di Indonesia namun banyak dimanfaatkan di Karibia, Amerika Latin, dan Afrika Barat sebagai pereda nyeri, demam, pilek, anti-inflamasi, antibakteri, antijamur, antimalaria, antikanker, insektisida, abortifisien, antidiabetes dan penyakit lainnya.⁸

Daun singawalang mengandung antioksidan yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin.⁹ Antioksidan dapat melawan kolesterol LDL dan mencegah kerusakan sel atau jaringan pembuluh darah. Selain sebagai antioksidan, senyawa flavonoid, alkaloid dan tanin memiliki mekanisme lain yang membantu menurunkan kadar kolesterol LDL dalam darah. Hasil penelitian in vitro menunjukkan flavonoid bekerja sebagai inhibitor enzim HMG-CoA reduktase sehingga sintesis kolesterol menurun.¹⁰ Alkaloid dapat menghambat aktivitas enzim lipase pankreas sehingga meningkatkan sekresi lemak melalui feses.⁵ Tanin menghambat penyerapan lemak di usus dengan bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus.¹⁰

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun singawalang terhadap kolesterol LDL tikus hiperkolesterolemia.

Metode

Penelitian eksperimental ini menggunakan *pre and post test with control group design*. Sampel adalah 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, berumur 2-3 bulan, berat badan \pm 150 g yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga). Tikus putih dibagi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (KN), simvastatin (S), perlakuan 1 (K1), perlakuan 2 (K2), dan kelompok perlakuan 3 (K3). Kelompok KN tidak diberikan ekstrak daun singawalang dan mendapat CMC Na 1%. Kelompok simvastatin adalah kelompok yang mendapat obat simvastatin. Kelompok perlakuan mendapat ekstrak daun singawalang masing-masing dengan dosis 90 mg/kgBB (K1), 180 mg/kgBB (K2), dan 360 mg/kgBB (K3).

Sampel diambil secara *purposive random sampling*. Randomisasi dilakukan dengan memberikan label dengan mengoleskan cat rambut di beberapa bagian tubuh tikus. Setelah itu dibuat undian yang bertuliskan bagian tubuh masing-masing tikus yang dicat untuk menentukan hewan coba masuk kelompok KN, S, K1, K2, atau K3.

Pakan hiperkolesterol dibuat di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dengan komposisi tepung ikan 30%, kedelai 4%, dedak padi 2%, beras 28%, jagung 2%, tepung terigu 2%, mineral 2%, lemak babi 26%, tetes/molase 3%, multivitamin 0,5%, garam 1,5%

Daun singawalang diperoleh dari Balai Materia Medika, Batu, berupa serbuk kering. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Sebanyak 500 g serbuk kering diekstrak dengan cara maserasi dingin menggunakan pelarut etanol 96% dan dimaserasi berulang dengan pelarut baru 3x24 jam dalam wadah berbeda. Filtrat diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kental.

Suspensi ekstrak daun singawalang dibagi 3 dosis yaitu 90, 180 dan 360 mg/KgBB. Untuk membuat suspensi 90 mg/KgBB dibutuhkan ekstrak 1800 mg, untuk 180 mg/KgBB dibutuhkan ekstrak 3600 mg dan untuk dosis 360mg/KgBB dibutuhkan ekstrak 7200 mg. Untuk membuat suspensi ekstrak dosis 90mg/KgBB, kaca arloji ditera terlebih dahulu untuk memastikan beratnya 0 kemudian diukur ekstrak 1800 mg. Kertas perkamen diberi CMC Na 1% tera dan diukur hingga didapatkan CMC Na sebanyak 1 g. Kemudian beri CMC Na 1g dengan air

hangat 10 mg lalu digerus hingga lembut bersama ekstrak yang telah diukur lalu beri akuades 100 ml dan dimasukkan ke wadah tertutup untuk menjaga kualitasnya. Cara tersebut juga dilakukan untuk membuat suspensi 180 dan 360 mg/KgBB.

Dosis simvastatin untuk manusia adalah 20 mg/hari sehingga dosis tersebut harus dikonversi untuk tikus putih. Dosis simvastatin untuk tikus putih adalah $0,018 \times 20\text{mg/x/ekor} = 0,36 \text{ mg/x/ekor}$. Dua tablet simvastatin 10 mg digerus hingga halus dan kertas perkamen diberi CMC Na 1%, tera dan diukur hingga didapatkan CMC Na sebanyak 1 g. Kemudian beri CMC Na 1 g air hangat lalu digerus bersama simvastatin yang telah dihaluskan dan ditambahkan akuades sebanyak 100 ml.

Cara Kerja

Tikus dibagi 5 kelompok yang terdiri atas KN, S, K1, K2, dan K3; masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus. Sebelum perlakuan, tikus diaklimatisasi untuk menyesuaikan dengan lingkungan percobaan selama 7 hari. Tikus diberi pakan hiperkolesterolemia selama 21 hari. Pada hari ke-22 tikus diambil darahnya untuk dianalisis kadar kolesterol LDL serum awal (*pre test*). Selanjutnya selama 14 hari, kelompok KN diberi pakan pellet dan CMC Na 1%, kelompok kontrol positif diberi pakan pellet dan simvastatin, K1 diberi pakan pellet dan

ekstrak daun singawalang 90mg/KgBB, K2 diberi pakan pellet dan ekstrak daun singawalang 180mg/KgBB, dan K3 diberi pakan pellet dan ekstrak daun singawalang 360 mg/KgBB. Tikus diambil darahnya untuk dianalisis kadar kolesterol LDL serum akhir (*post test*). Sampel darah sebelum perlakuan diambil melalui aorta sebanyak 1cc sedangkan sesudah perlakuan diambil melalui aorta sebanyak 2 cc kemudian disentrifuge untuk mendapatkan serum.

Analisis Data

Data kadar kolesterol LDL *pre test* dan *post test* diolah menggunakan uji shapiro-wilk sebagai uji normalitas, dilanjutkan dengan uji lavene-test sebagai uji homogenitas. Apabila data terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji Anova untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna dan jika berbeda bermakna dilanjutkan dengan uji *least significant difference* (LSD).

Hasil

Pada kelompok KN terdapat peningkatan rerata kadar LDL darah tikus putih dan pada kelompok S menunjukkan penurunan yang paling banyak di antara kelima kelompok. Kelompok K1 mengalami penurunan namun penurunan K2 lebih banyak dibandingkan K1 dan K3 menurun paling sedikit (Tabel 1).

Tabel 1. Rerata kadar LDL pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan

Kelompok	Rerata kadar LDL \pm SD (mg/dL)					
	n	Pretest	n	Posttest	n	Delta
Kontrol Negatif (KN)	5	11,60 \pm 2,30	5	15,00 \pm 1,41	5	3,40 \pm 2,07
Simvastatin (S)	4	87,85 \pm 28,68	5	16,60 \pm 2,51	4	-71,10 \pm 31,35
Perlakuan 1 (K1)	5	68,60 \pm 26,84	6	15,17 \pm 3,18	5	-53,60 \pm 26,80
Perlakuan 2 (K2)	4	82,80 \pm 22,86	4	15,75 \pm 1,70	4	-67,05 \pm 23,98
Perlakuan 3 (K3)	3	65,73 \pm 18,64	6	16,17 \pm 5,30	3	-51,06 \pm 20,27

Tabel 2 menunjukkan data kadar LDL darah berdistribusi normal. Hasil uji homogenitas kadar

LDL darah didapatkan nilai signifikansi $>0,05$ (0,140) yang berarti data tersebut homogen.

Tabel 2. Uji Normalitas Data Kadar LDL Selisih

Kelompok	n	Sig.
Kontrol Negatif (KN)	5	0,754
Simvastatin (S)	4	0,362
Perlakuan 1 (K1)	5	0,542
Perlakuan 2 (K2)	4	0,701
Perlakuan 3 (K3)	3	0,293

Hasil uji *One Way ANOVA* adalah $<0,05$ yang menunjukkan perbedaan bermakna sehingga dilanjutkan dengan LSD. Hasil uji LSD menunjukkan kelompok KN dengan kelompok simvastatin, K1,

K2, dan K3 ada perbedaan bermakna sedangkan kelompok simvastatin dan kelompok K1, K2, dan K3 tidak berbeda bermakna.

Tabel 3. Hasil Uji One Way Anova dan Uji LSD

Kelompok	n	Rerata selisih kadar LDL \pm SD (mg/dL)	p
Kontrol Negatif (KN)	5	3,40 \pm 2,07 ^a	0,001
Simvastatin (S)	4	-71,10 \pm 31,35 ^b	
Perlakuan 1 (K1)	5	-53,60 \pm 26,80 ^b	
Perlakuan 2 (K2)	4	-67,05 \pm 23,98 ^b	
Perlakuan 3 (K3)	3	-51,06 \pm 20,27 ^b	

Keterangan: ^a Tidak berbeda bermakna; ^b berbeda bermakna

Pembahasan

Pada penelitian ini, pemberian pakan hiperkolesterol selama 21 hari dapat meningkatkan kadar kolesterol darah dan menyebabkan tikus menjadi hiperkolesterolemia. Dosis ekstrak daun singawalang yang digunakan adalah 90 mg/Kg BB, 180 mg/Kg BB, dan 360 mg/KgBB karena ketiga dosis tersebut tidak menyebabkan toksisitas. Fatimah et al¹¹ melaporkan uji toksisitas ekstrak daun singawalang terhadap hipertrofi otot jantung mencit jantan putih dengan dosis 720, 1440, dan 2880 mg/KgBB tidak menyebabkan toksisitas.

Rerata selisih kadar LDL kelompok kontrol negatif adalah 3,40 \pm 2,07 yang artinya terjadinya kenaikan yang tidak bermakna. Pada kelompok simvastatin rerata selisih kadar LDL adalah -71,10 \pm 31,35 yang menunjukkan penurunan kadar kolesterol. Penurunan kadar kolesterol disebabkan inhibisi HMG-CoA oleh simvastatin. Simvastatin bekerja secara kompetitif menghambat HMG-CoA reduktase yang merupakan enzim utama sintesis kolesterol. Inhibisi HMG-CoA reduktase menurunkan transformasi HMG-CoA menjadi mevalonat yang merupakan salah satu mekanisme sintesis kolesterol. Penurunan kadar kolesterol di hati menyebabkan stimulasi terhadap reseptor LDL (*up regulation*) sehingga kadarnya meningkat di permukaan hati. Reseptor LDL berfungsi sebagai *clearance* kolesterol LDL sehingga bila kadarnya meningkat, akan meningkatkan *clearance* kolesterol LDL plasma.¹² Mekanisme tersebut menurunkan kadar kolesterol LDL plasma.

Pada kelompok K1, K2, dan K3 rerata selisih kadar LDL adalah -53,60 \pm 26,80, -67,05 \pm 23,98, dan -51,06 \pm 20,27 yang artinya terjadi penurunan pada ketiga kelompok perlakuan namun tidak berbeda bermakna. Siregar¹³ melaporkan ekstrak daun salam yang mengandung flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin memiliki efek dalam menurunkan kadar kolesterol LDL dalam darah namun apakah kandungan senyawa ekstrak daun singawalang dan ekstrak daun salam sama atau berbeda perlu diteliti.

Hasil rerata selisih kadar LDL ketiga perlakuan menunjukkan penurunan dan penurunan paling banyak pada kelompok K2. Meskipun demikian,

hal tersebut tidak dapat menyimpulkan bahwa penggunaan dosis 180 mg/Kg BB pada K2 lebih baik dibandingkan dosis 360 mg/Kg BB pada K3. Hal tersebut disebabkan rerata selisih kadar LDL pada K3, sampelnya lebih sedikit karena *drop out* dan tikus pada kelompok K3 memiliki rerata berat badan paling kecil dibandingkan kelompok lain sehingga perlu penelitian lebih lanjut.

Penurunan kadar kolestesterol LDL oleh ekstrak daun singawalang mungkin disebabkan aktivitas flavonoid, alkaloid, dan tanin. Flavonoid adalah antioksidan eksogen yang bermanfaat mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif dengan dua mekanisme yakni langsung dan tidak langsung.¹⁴ Secara langsung adalah mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik radikal bebas sedangkan secara tidak langsung dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme.

Flavonoid bekerja sebagai inhibitor enzim HMG-CoA reduktase sehingga sintesis kolesterol menurun.¹⁰ Pada saat kolesterol ditranspor dari usus ke hati, maka HMG-CoA reduktase yang bertugas mengubah asetil-koA menjadi mevalonat dalam sintesis kolesterol akan terhambat sehingga produk sintesis kolesterol oleh hati akan berkurang.¹⁵

Alkaloid bekerja sebagai antioksidan dengan mendonorkan ion hidrogen seperti pada flavonoid. Senyawa tersebut juga dapat menghambat aktivitas enzim lipase pankreas sehingga meningkatkan sekresi lemak melalui feses; akibatnya penyerapan lemak oleh hati terhambat sehingga tidak dapat diubah menjadi kolesterol.⁵ Berkurangnya aktivitas enzim lipase pankreas dapat mengurangi deposit trigliserida yang masuk dari usus halus karena enzim tersebut mengubah trigliserida menjadi dua monogliserid dan dua asam lemak bebas sehingga dapat masuk ke pembuluh darah.¹⁵

Tanin dibagi dua kelompok, tanin yang dapat terhidrolisis dan tanin kondensasi. Zat tersebut digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah dengan metabolisme glukosa dan lemak sehingga timbunan kalori dapat dihindari.⁵ Tanin menghambat penyerapan lemak di usus dengan

cara bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus.¹⁰ Selain itu, tanin dapat mengendapkan mukosa protein di permukaan usus halus sehingga mengurangi efektivitas penyerapan kolesterol dan lemak.¹⁵ Protein dan asam amino yang terkandung pada pakan kemungkinan diendapkan oleh tanin yang terdapat dalam ekstrak daun singawalang sehingga penyerapan lemak dari pakan terganggu. Proses tersebut menyebabkan transpor kolesterol oleh kilomikron ke hati jumlahnya tidak berbanding lurus dengan konsentrasi kolesterol dari pakan.

Kelemahan penelitian ini adalah tidak ada keseragaman dalam pemberian pakan hiperkolesterol dan kandang hewan coba kurang nyaman karena 1 kandang dimasukkan lebih dari jumlah replikasi akibat keterbatasan kandang.

Kesimpulan

Ekstrak daun singawalang yang mengandung flavonoid, alkaloid dan tanin dapat menurunkan kadar kolesterol LDL pada tikus jantan hiperkolesterolemia.

Daftar Pustaka

1. Aurora RG, Sinambela A, Noviyanti CH. Peran konseling berkelanjutan pada penanganan pasien hiperkolesterolemia. *J Indon Med Association*. 2012;(62) 194-201.
2. Majid A. Penyakit jantung koroner: patofisiologi, pencegahan, dan pengobatan terkini. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/705/1/08E00124.pdf>; 2007.
3. Depkes RI. Pharmaceutical care untuk pasien penyakit jantung koroner: fokus sindrom koroner akut. Diunduh dari <http://binfar.depkes.go.id/bmsimages/1361351516.pdf>. 2007.
4. Adesta FE. Pengaruh pemberian simvastatin terhadap fungsi memori jangka pendek tikus wistar hiperlipidemi; 2010 [diakses 24 Januari 2017]. Diunduh dari <http://eprints.undip.ac.id/23319/1/>.
5. Lajuck P. Ekstrak daun salam (l) lebih efektif menurunkan kadar kolesterol total dan LDL dibandingkan statin pada penderita dislipidemia [tesis]. Denpasar: Universitas Udayana; 2012. Diunduh dari http://www.pps.unud.ac.id/thesis/pdf_thesis/unud-1406-404995609-tesissista%20lengkap.pdf; 2012.
6. Adib M. Cara mudah memahami dan menghindari hipertensi jantung dan stroke. Yogyakarta: Dianloka; 2012.
7. Rufaida F, Murwani S, Aulanni'am. Profil kadar kolesterol total, low density lipoprotein dan gambaran histopatologis aorta pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia dengan terapi ekstrak air benalu mangga (*D.pentandra*); 2012 [diakses 24 Januari 2017]. Diunduh dari <http://pkh.ub.ac.id/wp-content/uploads/2012/10/0911310040-FannyRufaida.pdf>
8. Tropical plant database-anamu (*P.alliaceae*), rain tree. <http://www.rain-tree.com/anamu.htm>, diakses 26 November 2016.
9. Mulyani Y, Sukandar EY, Adyana IK. Aktivitas anti bakteri singawalang (*P.alliaceae*) terhadap bakteri yang resisten dan peka terhadap antibiotik. *New Bionatura*. 2016;14(1). Diunduh dari <http://journal.unpad.ac.id/bionatura/article/view/7594/3487>.
10. Ekananda N. Bay leaf in dyslipidemia therapy. Diunduh dari <http://joke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/viewFile/580/584>; 2015
11. Fatimah N, Koesdarto. Uji toksisitas ekstrak daun singawalang (*Petiveria alliaceae*) terhadap hipertrofi otot jantung mencit jantan putih (*Mus musculus*). *Veterinaria Med*. 2015;(8):329-34.
12. Probosari E, Puruhita N, Hertanto WS. Pemberian teh rosela (*Hibiscus sabdariffa*), simvastatin dan profil lipid serta serum apob pada tikus hiperkolesterolemi; 2011 [Diakses 24 Januari 2017]. Diunduh dari <http://ejournal.undip.ac.id/index.php/mmi/article/download/3121/2801>.
13. Nur R, Siregar I. the effect of *E.polyantha* extract on LDL cholesterol. *J majority*. 2015 [Diakses 24 Januari 2017]. Diunduh dari <http://joke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/viewFile/614/618>.
14. Sumardika IW, Jawi IM. Ekstrak air daun ubi jalar ungu memperbaiki profil lipid dan meningkatkan kadar SOD darah tikus yang diberi makanan tinggi kolesterol; 2012 [Diakses 24 Januari 2017]. Diunduh dari <http://ojs.unud.ac.id/index.php/medicina/article/viewFile/5053/3839>.
15. Wahyudi A. Metabolisme kolesterol hati: khasiat ramuan jati belanda (*G.ulmifolia*) dalam mengatur konsentrasi kolesterol selular; 2009 [Diakses 24 Januari 2017]. Diunduh dari <http://repository.ipb.ac.id/jspui/pdf>.