



PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN E, ISOLAT ANDROGRAFOLID SERTA KOMBINASI ISOLAT ANDROGRAFOLID DAN VITAMIN E DALAM PENCEGAHAN TERBENTUKNYA PLAK LEMAK PADA AORTA TIKUS

Widiastuti, N.P.¹, Warditiani, N.K.¹, Larasanty, L.P.F.¹, Widjaja, I N.K.¹, Wirasuta, I M.A.G.¹, Putri, N.P.R.D.¹, Pranawa, G.D.¹, Sapanca, I.M.S.¹

¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Korespondensi: Ni Putu Widiastuti

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana
Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp./Fax. 703837

Email: astutiwiddi@gmail.com

Abstrak

Terbentuknya plak lemak pada dinding pembuluh darah akibat peningkatan kadar lipid dalam darah dapat memicu terjadinya oksidasi pada salah satu lipoprotein yakni LDL. Sehingga diperlukan upaya pencegahan terjadinya oksidasi LDL agar plak lemak pada dinding pembuluh darahnya tidak terbentuk. Andrografolid yang merupakan salah satu golongan senyawa diterpen lakton diketahui mempunyai aktivitas dalam penurunan LDL dalam darah. Disisi lain, vitamin E diketahui mempunyai aktivitas antioksidan yang dominan dalam partikel LDL. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh pemberian vitamin E, isolat andrografolid serta kombinasi isolat andrografolid dan kombinasi vitamin E dalam pencegahan pembentukan plak lemak pada dinding aorta tikus.

Tahapan penelitian ini meliputi penyiapan hewan uji, pemberian induksi pakan lemak serta pengujian pengaruh pemberian kombinasi isolat andrografolid dan vitamin E pada hewan uji selama 2 bulan. Hewan uji dibagi atas 5 kelompok yakni kelompok normal (pakan standar), kelompok negatif (CMC Na 0,1%), kelompok perlakuan 1 (Isolat andrografolid 18 mg/kgBB p.o.), kelompok perlakuan 2 (Vitamin E 10 IU/kgBB p.o.), dan kelompok perlakuan 3 (isolat andrografolid 9 mg/kgBB dan vitamin E 5 IU/kgBB p.o.). Pengambilan aorta hewan uji setelah 2 bulan perlakuan dan dilakukan analisis skoring terhadap histopatologi aorta tersebut. Hasil skoring diolah secara statistik non parametrik dengan taraf kepercayaan 95%.

Pemberian kombinasi isolat andrografolid dan vitamin E menunjukkan perbedaan yang bermakna signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok negatif dan kelompok normal sehingga dapat dikatakan pemberian kombinasi isolat andrografolid dan vitamin E mampu mencegah terbentuknya plak lemak namun belum dapat mengembalikan kondisi anatomi aorta seperti kondisi normal.

Kata Kunci: andrografolid, vitamin E, pencegahan, plak lemak, aorta

1. PENDAHULUAN

Pembentukan plak lemak pada dinding pembuluh darah merupakan salah satu proses awal munculnya penyakit stroke dan jantung koroner. Hal yang paling berperan utama dalam terbentuknya plak lemak tersebut adalah adanya kondisi dislipidemia yang kronis. Dislipidemia merupakan suatu kondisi ketidakseimbangan profil lipid tubuh yang ditandai dengan meningkatkannya kadar kolesterol total, LDL dan trigliserida disertai dengan menurunnya kadar HDL. LDL atau *Low Density Lipoprotein*

merupakan lipoprotein penting yang mengandung kolesterol paling tinggi dan bertugas membawa kolesterol tersebut dari hati ke dalam jaringan. Namun apabila terjadi kondisi obesitas, LDL tidak akan mampu membawa kolesterol ke dalam jaringan sehingga akan tetap beredar dalam darah dan akhirnya menempel pada dinding pembuluh darah (Maiolino *et al.*, 2013). Menempelnya LDL pada dinding pembuluh darah tersebut memainkan peran yang sangat penting dalam terbentuknya plak lemak. Selain itu, LDL

merupakan suatu lipoprotein yang mudah teroksidasi sehingga akan terbentuk LDL oks yang bersifat sangat atherogenik (Koluku, 2006).

Proses oksidasi molekul LDL diakibatkan oleh adanya stres oksidatif yang bereaksi secara terus menerus dengan fosfolipid dari LDL (Sargowo dan Djanggan, 1998). Stress oksidatif terjadi karena adanya ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan. Tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh dapat ditunjukkan oleh rendahnya aktifitas enzim antioksidan. Sumber antioksidan dapat diperoleh dari makanan (eksogen) seperti pada sayur dan buah yang tinggi akan kandungan vitamin (Rocket *al.*, 1996). Salah satu vitamin yang mempunyai kandungan antioksidan yang tinggi adalah vitamin E. Vitamin E merupakan vitamin larut dalam lemak yang dapat memutus reaksi radikal bebas pada jaringan dan merupakan antioksidan yang dominan dalam partikel LDL sehingga dapat mencegah pembentukan LDL oks yang sangat berperan dalam pembentukan plak lemak (Sulistyowati, 2006).

Andrografolid merupakan salah satu senyawa bahan alam yang termasuk dalam golongan diterpen lakton yang diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologi. Pemberian andrografolid salah satunya diketahui mempunyai aktivitas dalam menurunkan kadar LDL dan trigliserida serta meningkatkan kadar HDL pada tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan fruktosa (Nugroho dkk., 2012). Selain itu, penelitian Lakshmia *et al.* (2014) juga menyebutkan bahwa andrografolid mempunyai aktivitas dalam menurunkan profil lipid dalam darah pada tikus yang diinduksi pakan kaya lemak. Sari (2015) juga menyebutkan bahwa pemberian dosis andrografolid 18 mg/kgBB p.o. selama 30 hari mampu menurunkan profil lipid secara signifikan dibandingkan dengan kontrol normal. Namun belum terdapat penelitian yang menyebutkan penggunaan setengah dosis andrografolid tersebut dalam pencegahan terbentuknya plak lemak dan belum terdapat penelitian apabila senyawa tersebut dikombinasikan dengan suatu antioksidan untuk upaya pencegahan pembentukan plak lemak pada dinding pembuluh darah. Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian uji pengaruh kombinasi isolat andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees dan

vitamin E yang bertujuan untuk menggambarkan pengaruh pemberian kombinasi dibandingkan pemberian tunggal isolat andrografolid dan vitamin E dalam upaya pencegahan pembentukan plak lemak pada dinding aorta tikus.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Bahan

Bahan digunakan dalam penelitian ini meliputi kristal isolat andrografolid, pakan lemak dan air.

2.2 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah beker gelas, alat sonde, mortir, stamper dan vial, keranjang tikus, tempat makan dan minum tikus.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Aklimatisasi Hewan Uji

Hewan uji berupa tikus putih jantan galur wistar sebanyak 35 ekor dengan berat badan 150-200 gram dibagi secara acak kedalam 5 kelompok. Hewan uji dikandangkan pada kondisi standar (suhu $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, kelembaban $55 \pm 5\%$ dan fase terang gelap = 12:12 jam), serta diberi akses bebas untuk air minum dan pakan standar BR-1.

2.3.2 Pemberian Perlakuan pada Hewan Uji

Pemberian perlakuan pada 5 kelompok hewan uji dilakukan selama 2 bulan dengan perlakuan sebagai berikut:

Kelompok I : kontrol normal diberikan pakan standar BR-1 dan air *ad libitum*,

Kelompok II : kontrol negatif diberikan pakan lemak dan CMC Na 0,1% p.o.,

Kelompok III : perlakuan 1 diberikan pakan lemak dan isolat andrografolid 18 mg/kgBB p.o.,

Kelompok IV : perlakuan 2 diberikan pakan lemak dan vitamin E 10 IU/kgBB p.o.,

Kelompok V : perlakuan 3 diberikan pakan lemak dan kombinasi isolat andrografolid 9 mg/kgBB p.o. – vitamin E 5 IU/kgBB p.o.

Pakan lemak merupakan campuran pakan BR-1 80%, lemak babi 15%, kuning telur 5% dan kalsium 0,1%, serta diberikan vitamin D3 20000 IU/ekor tiap minggunya (Warditiani *et al.*, 2016).

2.3.3 Pengambilan Aorta Hewan Uji dan Pengamatan Histopatologi

Seluruh hewan uji dianestesi terlebih dahulu kemudian dilakukan pembedahan. Aorta hewan uji diambil dan diawetkan dalam buffer formalin 10%. Preparat aorta dibuat dengan

pewarnaan hematoxylin dan eosin. Pengamatan histopatologi aorta didasarkan pada kriteria teknik skoring sesuai pada tabel 1.

Tabel 1. Kriteria skoring uji hispatologi aorta.

Kriteria	Skor
Pembuluh darah terlihat normal, sel-sel masih tersusun rapi dengan inti sel yang terletak ditengah.	0
Terjadi pelebaran serat elastik dan ditemukan sel busa pada aorta.	1
Terjadi pelebaran serat elastik, fragmentasi lamela elastis dengan sel busa dan terjadi fibrosis pada aorta.	2
Terjadi pelebaran serat elastik, fragmentasi lamela elastis dengan sel busa, terjadi fibrosis, proliferasi otot polos dan infiltrasi lemak median pada aorta.	3
Aorta yang berisi plak lemak yang mengandung kapur atau plak ulserasi.	4

(Kabchi *et al.*, 2000).

2.3.4 Analisis Data

Data hasil skoring berupa data skoring (data ordinal) sehingga dilakukan analisis secara non parametrik dengan Uji Kruskal Wallis kemudian dilanjutkan dengan Uji Mann Whitney U-test dengan taraf kepercayaan 95%.

3. HASIL

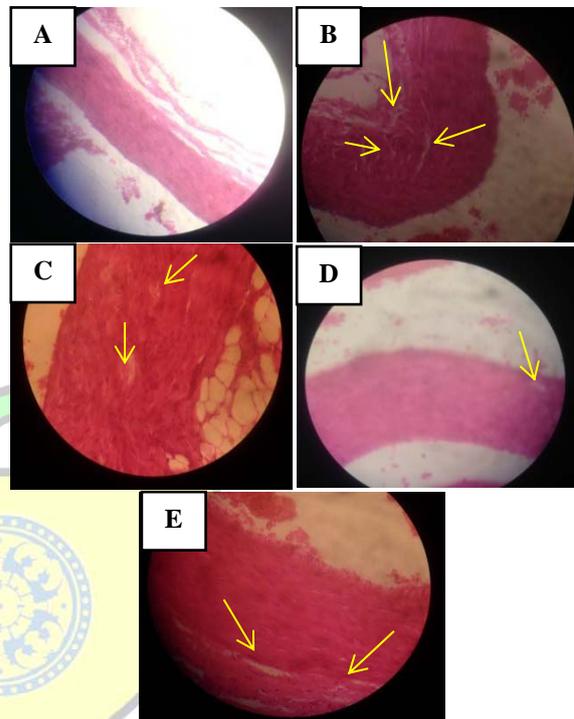
Proses ekstraksi simplisia herba samiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees.) diperoleh rendemen kristal isolat andrografolid yang tidak berwarna dan berbentuk jarum sebesar 0,087%b/b. Hasil pengamatan skoring histopatologi aorta hewan uji dapat dilihat pada tabel 2 serta pengamatan histopatologi dapat dilihat pada gambar 1.

Tabel 2. Hasil skoring histopatologi aorta.

Kelompok	Hasil Skoring Tikus ke-						
	1	2	3	4	5	6	7
I	1	1	1	0	1	0	0
II	3	3	4	3	4	3	3
III ^b	2	2	3	2	3	2	2
IV ^b	2	2	1	1	2	2	2
V ^a	2	1	1	1	1	1	1

Keterangan: (I) = kelompok normal, (II) = kelompok negatif, (III) = Perlakuan 1, (IV) = Perlakuan 2 dan (V) Perlakuan 3. Huruf **a** menyatakan kelompok yang berbeda bermakna dengan kelompok negatif, normal, perlakuan 1 dan perlakuan 2 ($p < 0,05$), huruf **b** menyatakan kelompok yang berbeda bermakna dengan

kelompok normal dan negatif ($p < 0,05$), namun tidak berbeda bermakna dengan kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2 ($p > 0,05$).



Gambar 1. Pengamatan preparat aorta hewan uji pada pembesaran 400x.

Keterangan: (A) = kelompok normal, (B) = kelompok negatif, (C) = Perlakuan 1, (D) = Perlakuan 2 dan (E) Perlakuan 3. Gambar yang ditunjukkan oleh tanda panah (\downarrow) menunjukkan terjadinya inflamasi dan terbentuk sel busa.

4. PEMBAHASAN

Adanya plak lemak pada dinding pembuluh darah diawali dengan terjadinya inflamasi pada dinding pembuluh darah disertai dengan terlihatnya sel busa pada pengamatan histopatologi. Hasil yang diperoleh pada pemberian perlakuan pada hewan uji selama 2 bulan menunjukkan bahwa pemberian kombinasi isolat andrografolid dan vitamin E berbeda bermakna dengan kelompok kontrol normal dan kontrol negatif ($p < 0,05$). Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa pemberian kombinasi mampu mencegah terbentuknya plak lemak akibat pemberian pakan lemak namun potensi pencegahan dari kombinasi kedua obat tersebut belum mampu mengembalikan kondisi dinding pembuluh darah seperti kondisi normal. Sebagai pembanding potensi pencegahan pembentukan plak lemak, digunakan kelompok pemberian

dosis tunggal dari andrografolid 18 mg/kgBB p.o. serta vitamin E 10 IU/kgBB p.o. Namun meskipun kedua obat dosis tunggal tersebut mempunyai potensi yang tidak berbeda bermakna secara signifikan ($p > 0,05$), keduanya juga belum dapat mengembalikan kondisi dinding pembuluh darah seperti kondisi normal.

Andrografolid merupakan salah satu senyawa golongan diterpen lakton dan diketahui mempunyai aktivitas dalam penghambatan HMG CoA Reductase sehingga kolesterol endogen tidak dapat disintesis (Patel *et al.*, 2011). Selain itu andrografolid juga mempunyai aktivitas dalam meningkatkan potensi enzim LCAT sehingga akan meningkatkan pembentukan HDL yang menyebabkan kolesterol dalam darah akan menurun (Lakshmia *et al.*, 2011). Andrografolid juga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan sehingga akan mencegah terjadinya kerusakan oksidatif pada dinding pembuluh darah (Batran *et al.*, 2014). Disisi lain vitamin E merupakan vitamin larut lemak yang mempunyai potensi sebagai antioksidan yang tinggi. LDL merupakan molekul yang mengandung fosfolipid yang rentan terhadap terjadinya oksidasi. Dengan pemberian vitamin E akan mencegah terjadinya oksidasi LDL dan akan meningkatkan jumlah LDL Reseptor sehingga jumlah LDL dalam darah akan menurun sehingga akan berefek pada pencegahan terbentuknya plak lemak (Sulistiyowati, 2006).

Berdasarkan penelitian tersebut, seharusnya pemberian kombinasi isolat andrografolid dan vitamin E menunjukkan mekanisme yang saling bersinergis untuk mencegah terbentuknya LDL oks dan menurunkan kadar LDL dalam darah. Namun hasil yang diperoleh berdasarkan teknik skoring belum menunjukkan hasil kombinasi yang efektif. Akan lebih baik jika dilakukan pengamatan pada parameter efektivitas yang lebih tepat seperti jumlah pembentukan sel busa serta kadar lipid yang berperan dalam pembentukan plak lemak secara kuantitatif sehingga hasil yang diperoleh dapat menggambarkan dengan tepat mengenai efek yang ditimbulkan pada kombinasi isolat andrografolid dan vitamin E dalam pencegahan pembentukan plak lemak tersebut.

5. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kombinasi isolat andrografolid 9

mg/kgBB p.o. dan vitamin E 5 IU/KgBB p.o. mampu mencegah pembentukan plak lemak namun potensinya belum dapat mengembalikan kondisi dinding pembuluh darah seperti normal.

6. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada DITJEN DIKTI atas bantuan biaya operasional untuk penelitian ini, terimakasih juga untuk seluruh Tim Bahan Alam Farmasi Universitas Udayana atas bantuan teknis meliputi alat, bahan dan sarana prasarana selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Batran, R.A. F.A. Bayaty, M.M.A. Obaidi, F.S. Hussain and T.Z. Mulok. 2014. Evaluation of the Effect of Andrographolide on Atherosclerotic Rabbits Induced by *Porphyromonas gingivalis*. *BioMed Research International*. Pp.1-11.
- Kabchi, N. B, L. Kehel, F. E. Bouayadi, H. Fdhil, A. Amarti, A. Saisi, and G.Marquie. 2000. New Model of Atherosclerosis in Insulin Resistent Sand Rats: Hypercholesterolemia Combined with D2 Vitamin. *Atherosclerosis*. Vol. 150. Pp. 55-61.
- Koluku, J. 2006. *LDL teroksidasi dan aterosklerosis*. Majalah Medika Vol.32. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Makasar: PT. Grafiti Medika Pers.
- Lakshmia, V., S. Srivastav, A.Kumar Khanna, A. A. Mahdi, S. Kumar Agarwal. 2014. Lipid Lowering potential of *Andrographis paniculata* (Nees). *The Journal of Phytopharmacology*. Vol. 3.No. 2. Pp. 124-129.
- Maiolino, G., G. Rossitto, P. Caielli, V. Bisogni, G.P. Rossi and L.A. Calo. 2013. The Role of Oxidized Low Density Lipoprotein in Atherosclerosis: The Myth and The Facts. *Mediators of Inflammation* Vol.2013. Pp. 1-13.
- Nugroho, A.E., M. Andrie, N.K. Warditiani, E. Siswanto, S. Pramono dan E. Lukitaningsih. 2012. Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effect of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and Andrographolide in High-fructosa-fat-fed Rats. *Indian Journal Pharmacol*, Vol. 44(3): 377-381.

- Patel, H.D., G.B. Shah and V. Trivedi. 2011. Investigation of HMG CoA Reductase Inhibitory Activity of Antihyperlipidemic Herbal Drugs In Vitro Study. *Asian J. Exp. Biol. Sci.* Vol.2(1). Pp.63-68.
- Rock, C. L., R. A. Jacob, P. A. Bowen. 1996. Update On Biological Characteristics Of The Antioxidant Micronutrients: Vitamin C, Vitamin E And Carotenoids. *J. Am Diet Association.* 96(7). Pp. 693-702.
- Sargowo dan Djanggan. 1998. *Peran Radikal Bebas Dalam Patogenesis Aterosklerosis.* Majalah Kedokteran Indonesia, Vol. 48, No. 2.
- Sari, N.A.P.P. 2015. Pengaruh Pemberian Isolat Andrografolid dari Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Ness.) dari Profil Lipid Tikus Putih Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Diet Aterogenik (*Skripsi*). Jimbaran: Universitas Udayana.
- Srinivas, M., A. Annapurna and Y. N. Reddy. 2008. Anti-atherosclerosis effect of atorvastatin and clopidogrel alone and combination in rats. *Indian Journal of Experimental Biology.* Vol. 46. Pp. 698-703.
- Sulistiyowati, Y. 2006. *Pengaruh Pemberian Likopen Terhadap Status Antioksidan (Vitamin C, Vitamin E Dan Gluthathion Peroksidase) Tikus (Rattus Norvegicus Galur Sprague Dawley) Hiperkolesterolemik.* Semarang: Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro.
- Warditiani, N.K., I.N.K. Widjaja, L.P.F. Larasanty, N.W.R. Noviyanti, N.M. Gitarini, N.P.M. Juniari, T.F. Siahaan, A.E. Nugroho, Y. Ramona, I.M.A.G. Wirasuta and S. Pramono. 2016. Antiatherosclerosis Effect of Purified *Andrographis paniculata* Extract. *IJPCR* 8(5)Suppl. Pp. 457-460.