

# EFEK EKSTRAK AIR KOMBINASI DAUN JATI BELANDA, KEMUNING, MURBEI, DAN RIMPANG BANGLE TERHADAP KETEBALAN DAN LUAS AREA KOLAGEN PADA AORTA TIKUS MODEL ATEROSKLEROSIS

Puja Lina Ma'rufa\*, Merlita Herbani\*\*, Doti Wahyuningsih\*\*

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Email : [Pujalinam@gmail.com](mailto:Pujalinam@gmail.com)

## ABSTRACT

**Introduction:** Hyperlipidemia is a risk factor of atherosclerosis. Jati belanda (*Guazuma ulmifolia*), kemuning (*Murraya paniculata* (Linn) Jack), murbei (*Morus alba*) leaves and bangle (*Zingiber cassumunar*) rhizome (JKMB) have a potential to decrease hyperlipidemia and atherosclerosis. This study aim to prove the effect of the water extract of JKMB on the thickness and area of collagen in rats receiving atherosclerosis diet.

**Methodology:** This study used an experimental laboratory *in vivo* with control group post test only design using 25 wistar male rats, 8 weeks of age, weight 150-200 g. The rats were divided into five groups (each 5) namely; KN, KP, KD1, KD2, KD3. Four groups (KP, KD1, KD2, KD3) treated with modified atherogenic diet (DTLM). The groups of KD1, KD2, and KD3 also received the water extract of JKMB at doses of 189 mg/200 g, 378 mg/200 g, 378 mg/200 g respectively for 12 weeks every days orally. Aortic thickness and area of collagen were observed by light microscope with magnification of 200x and 400x respectively, and were measured by Image J.

**Result:** The water extract of JKMB insignificantly reduce the aortic thickness and area of collagen compared with KP group.

**Conclusion:** The water extract of JKMB have no effect in aortic thickness and area of collagens.

**Keywords:** Hyperlipidemia, atherosclerosis, the water extract of JKMB, thickness of aorta, area of collagen

## PENDAHULUAN

Hiperlipidemia merupakan kondisi yang disebabkan oleh peningkatan kolesterol, trigliserida atau keduanya. Peningkatan kolesterol dapat disebabkan oleh adanya perubahan gaya hidup, kurangnya aktifitas fisik, perubahan pola makan dan meningkatnya kebiasaan merokok<sup>1,2</sup>. Menurut WHO tahun 2013 prevalensi hiperlipidemia meningkat 0,8% dari tahun 2008<sup>3</sup>.

Peningkatan asupan makanan tinggi lemak dapat menyebabkan peningkatan jumlah kolesterol dalam darah. Peningkatan jumlah kolesterol dapat menyebabkan peningkatan jumlah LDL yang masuk ke dinding arteri melalui kerusakan endotel vaskuler yang disebabkan oleh stres oksidatif. Kerusakan tersebut dapat memunculkan ekspresi molekul adhesi seperti *Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1). MCP-1 menyebabkan migrasi monosit melalui diapedesis *endotel junction*. Monosit akan berdiferensiasi menjadi makrofag yang akan mengaktifasi mediator inflamasi dan akan memfagositosis ox-LDL sehingga terbentuk sel busa. Adanya sel busa dapat menimbulkan kondisi aterosklerosis<sup>4,5</sup>.

Gold standart untuk tatalaksana hiperlipidemia adalah dengan menggunakan statin, obat ini bekerja melalui mekanisme penghambatan HMG-CoA

reduktase dan peningkatan reseptor LDL. Aktivasi dari HMG-CoA reductase diregulasi oleh *Sterol Regulatory Element Binding Proteins* (SREBP). Konsumsi makanan tinggi lemak akan menginduksi aktivasi HMG-CoA reduktase di dalam hepar untuk mengatur keseimbangan kolesterol dalam hepar dan sirkulasi<sup>6</sup>.

Dalam jangka panjang statin dapat menimbulkan beberapa efek samping seperti, konstipasi, kembung, dispepsia, nyeri perut, mual, mialgia, *rhabdomyolysis*, *insomnia*, gejala neurologis, dan peningkatan gula darah<sup>6</sup>. Upaya preventif juga dapat dilakukan dengan cara mengurangi asupan makanan tinggi lemak, peningkatan aktifitas fisik dan perubahan gaya hidup<sup>7</sup>.

Adanya peningkatan penderita hiperlipidemia dan penyakit jantung koroner serta adanya banyak efek samping yang ditimbulkan pada penggunaan statin, maka diperlukan upaya untuk mencari sumber obat alternatif yang berasal dari bahan alam.

Tanaman yang diduga memiliki potensi sebagai antihiperlipidemia, kardioprotektif, dan anti aterosklerosis adalah Jati belanda (*Guazuma ulmifolia*), Kemuning (*Murraya paniculata* (Linn)

jack), Murbei (*Morus alba*) dan Bangle (*Zingiber cassumunar*)<sup>8,9</sup>.

Jati belanda (*Guazuma ulmifolia*) memiliki khasiat untuk menurunkan berat badan, dan menurunkan kolesterol dalam darah<sup>10,11</sup>. Dalam penelitian yang dilakukan oleh permana *et al* (2016), menyebutkan bahwa senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak jati belanda dapat berperan sebagai antihiperlipidemia dan antiaterosklerosis<sup>12</sup>. Kemuning (*Murraya paniculata* (Linn) jack) memiliki khasiat sebagai pelangsing tubuh dan antiinflamasi. Infusa daun kemuning dapat menjadi hepatoprotektor dan antihiperlipidemia dengan cara menurunkan enzim lipase sehingga menurunkan absorpsi lemak dalam tubuh<sup>8,13</sup>. Murbei (*Morus alba*) dapat digunakan sebagai pencegah terjadinya penyakit kardiovaskuler. Dalam pemeriksaan histopatologi aorta tikus aterosklerosis yang sudah diberi ekstrak air daun murbei didapatkan adanya penurunan ketebalan tunika intima maupun tunika media<sup>14</sup>. Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar*) banyak digunakan sebagai antiinflamasi dengan mekanisme penghambatan stres oksidatif. Sebagian besar penelitian yang telah dilakukan hanya menggunakan satu jenis herbal, oleh sebab itu penelitian tentang kombinasi herbal perlu dilakukan untuk meningkatkan efektivitas pemberian herbal.

Berdasarkan latarbelakang tersebut Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian infusa jati belanda (*Guazuma ulmifolia*), kemuning (*Murraya paniculata* (Linn) jack), murbei (*Morus alba*) dan bangle (*Zingiber cassumunar*) (JKMB) terhadap ketebalan luas area kolagen dan ketebalan aorta. Pemberian infusa JKMB diharapkan dapat mencegah terjadinya aterosklerosis.

## M E T O D E

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental laboratorium *in vivo* dengan *control group post test only design*. Hewan coba tikus wistar jantan diberi pakan aterogenik dan infusa herbal JKMB selama 12 minggu. Penelitian ini dilaksanakan di *Animal house* FK UMM, FK UNISMA, laboratorium terpadu FK UNISMA, dan laboratorium patologi anatomi FK Brawijaya. Kelaikan etik penelitian didapatkan dari komisi etik penelitian Universitas Brawijaya dengan No. 864-KEP-UB.

## O b j e k Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus novargicus* strain wistar, yang berusia 8 minggu dengan berat badan 150-200 g<sup>15</sup>. Jumlah sampel yang digunakan adalah 25 ekor. Tikus dibagi dalam 5 kelompok dengan rincian kontrol negatif (n=5), kontrol positif (n=5), kelompok dosis 1 (n=5), kelompok dosis 2 (n=5), dan kelompok dosis 3 (n=5).

## P e m b e r i a n Diet

Diet normal yang diberikan pada kelompok negatif dibuat dengan mencampurkan konsentrasi pakan 7 g *Conffeed* PAR-S, 3 g tepung terigu, dan air secukupnya.

Diet Tinggi Lemak Modifikasi (DTLM) yang diberikan pada kelompok positif dan perlakuan merupakan diet tinggi lemak yang dimodifikasi dari komposisi pakan tipe IV Murwani *et al* (2006). Komposisi DTLM adalah 7 g *Conffeed* PAR-S, 3 g terigu, 0,2 g kolesterol, 0,02 g asam kolat, minyak babi 1,5 ml dan air secukupnya<sup>15</sup>. Pemberian pakan dilakukan secara *ad libitum* sehari sekali setiap pukul 16.00.

## P e m b u a t a n Infusa JKMB

Pembuatan kombinasi JKMB menggunakan metode infusa. Masing-masing dosis ditimbang, ditambah dengan air 200 ml, kemudian dipanaskan diatas tangas air selama 15 menit dengan suhu 90 °C. Hasil infusa disaring dan disimpan. Kombinasi infusa JKMB diambil secara empiris berdasarkan resep herbal penurun kolesterol dalam darah menurut Mallaleng, (2015). Kombinasi JKMB diberikan sesuai dosis yang sudah dikonversi melalui *traditionaloven converter* sehingga didapatkan masing-masing dosis KD1 (189 mg/200g), KD2 (378 mg/200g), KD3 (756 mg/200g) dalam 2 ml/tikus secara perorale oral<sup>16,17</sup>. Pemberian dilakukan setiap pukul 16.00 dan diberikan selama 12 minggu bersamaan dengan pemberian DTLM.

## P e m e r i k s a a n Struktur Histologi Aorta

Setelah dilakukan pembedahan dan didapatkan  $\pm$  3 cm arkus aorta. Potongan aorta difiksasi kedalam formalin 10%. Pewarnaan ketebalan aorta menggunakan metode hematosiklin eosin. Pewarnaan luas area kolagen menggunakan *Masson's trichrome*. Preparat ketebalan aorta diamati dibawa mikroskop trinokuler dengan perbesaran 200x dan preparat luas area kolagen diamati dengan perbesaran 400x<sup>18,19</sup>. Dalam pewarnaan *Masson's trichrome* inti sel akan terlihat berwarna hitam, otot akan terlihat berwarna merah dan kolagen akan terlihat berwarna biru (Ihcworld, 2018). Pewarnaan hematosiklik eosin akan di dapatkan warna merah pada seluruh bagian aorta.

Penghitungan ketebalan aorta menggunakan aplikasi *Image J* dengan menarik garis dari tunika intima menuju ke tunika adventisia dengan satuan  $\mu$ m. penghitungan luas area kolagen dilakukan dengan *Image J* menggunakan menu *color deconvolution* kemudian dibandingkan luas area kolagen dengan luas area aorta sehingga didapatkan nilai rasio<sup>20</sup>.

## Teknik Analisa Data

Data yang didapatakn diuji normalitas dengan menggunakan *kolmogorov-smirnov*, *shapiro-wilk* dan dilanjutkan dengan uji homogenitas sehingga dapat dilakukan uji *One way ANOVA* ( $P < 0,05$ ). Data yang tidak normal diuji menggunakan *Kruskal Wallis* ( $P < 0,05$ ).

## HASIL DAN ANALISA DATA

### Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba *Rattus novergicus* jantan, usia 8 minggu dengan berat awal 150-200 g dengan karakteristik sampel sesuai dengan tabel 1.

Tabel 1 karakteristik sampel

|                                        | K N                             | K P                             | K D 1                                           | K D 2                                           | K D 3                                           |
|----------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Jumlah sampel                          | 5                               | 5                               | 5                                               | 5                                               | 5                                               |
| Jumlah/Kandang                         | 1                               | 1                               | 1                                               | 1                                               | 1                                               |
| Perlakuan                              | Diet standar 12 Minggu          | D TLM 12 minggu                 | D TLM 12 minggu, Pemberian herbal 189 mg/200gBB | D TLM 12 minggu, Pemberian Herbal 378 mg/200gBB | D TLM 12 minggu, Pemberian Herbal 756 mg/200gBB |
| $\bar{X}_{BB \text{ Awal (g)}}$        | 179.20 $\pm$ 14.72 <sup>a</sup> | 179.00 $\pm$ 17.29 <sup>b</sup> | 172.60 $\pm$ 23.82                              | 172.40 $\pm$ 15.44                              | 169.00 $\pm$ 17.84                              |
| $\bar{X}_{BB \text{ Akhir (g)}}$       | 296.20 $\pm$ 16.39              | 294.00 $\pm$ 38.44              | 225.60 $\pm$ 46.92                              | 267.80 $\pm$ 44.82                              | 274.00 $\pm$ 21.23                              |
| $\bar{X}_{A \text{ BB (g)}}$           | 117.00 $\pm$ 14.30              | 115.00 $\pm$ 30.57              | 53.00 $\pm$ 35.46                               | 95.40 $\pm$ 46.96                               | 105.00 $\pm$ 10.00                              |
| $\bar{X}_{A \text{ supan pakan/hari}}$ | 24.77 $\pm$ 0.16                | 24.84 $\pm$ 0.19                | 23.23 $\pm$ 0.70 <sup>c</sup>                   | 24.28 $\pm$ 0.56                                | 24.67 $\pm$ 0.22                                |

**Keterangan:** Kontrol Negatif (KN), Kontrol Positif (KP), Kelompok dosis 1 (KD1), Kelompok dosis 2 (KD2), Kelompok dosis 3 (KD3). a: Signifikan ( $P < 0,05$ ) terhadap berat badan akhir KN, b: Signifikan ( $P < 0,05$ ) terhadap berat badan akhir KP, c : Signifikan ( $P < 0,05$ ) terhadap KN, KP, KD2, KD3.

### Ketebalan Aorta Tikus Yang Diinduksi D TLM dan Infusa JKMB

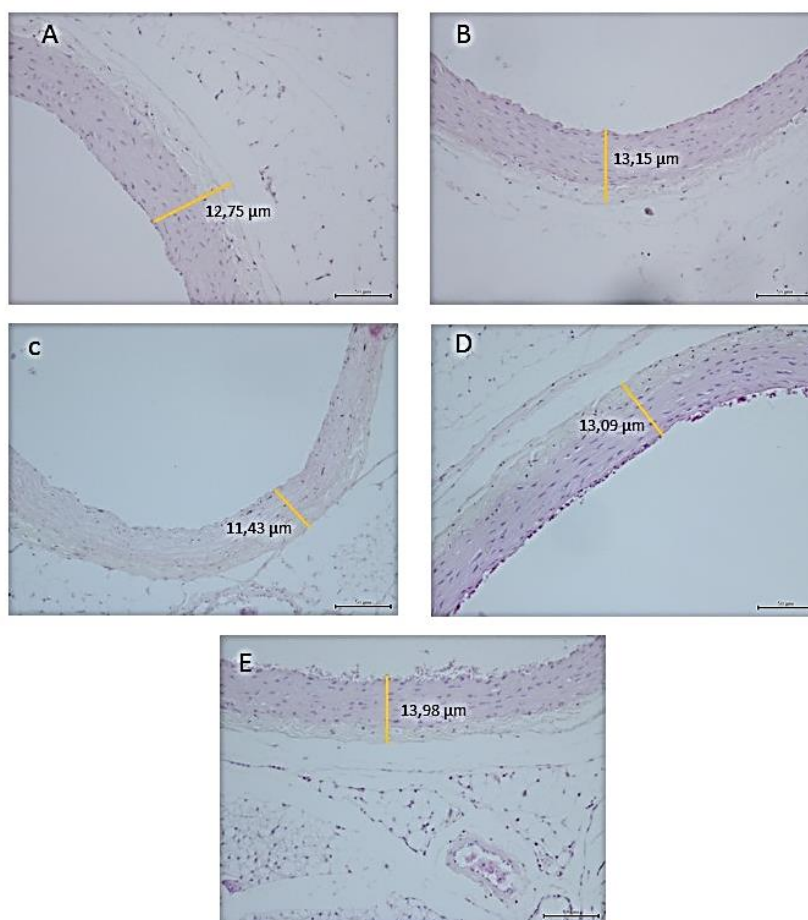
Uji statistika pada semua kelompok menunjukkan adanya perbedaan yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Rerata ketebalan aorta cenderung menurun pada KD1 dan cenderung meningkat pada KP, KD2, dan KD3. KD1 dibanding dengan KP mengalami penurunan 11,79%, KD2 dibanding dengan KP mengalami peningkatan 0,21%, dan KD3 dibanding dengan KP mengalami peningkatan 3,6%. Ketebalan aorta yang diamati dapat dilihat pada gambar 1

Tabel 2. Rerata Ketebalan Aorta

| Perlakuan | N | Rerata Mean $\pm$ SD ( $\mu\text{m}$ ) |
|-----------|---|----------------------------------------|
| KN        | 5 | 12.77 $\pm$ 1.22                       |
| KP        | 5 | 13.91 $\pm$ 1.87                       |
| KD1       | 5 | 12.27 $\pm$ 1.27                       |
| KD2       | 5 | 13.94 $\pm$ 1.66                       |
| KD3       | 5 | 14.43 $\pm$ 3.18                       |

### Keterangan :

Tidak didapatkan hasil yang signifikan ( $p > 0,05$ ) antara KN, KP, KD1, K2 dan KD



**Gambar 1 Rerata ketebalan aorta (200x, dengan menggunakan mikroskop trinokuler)**

**Keterangan :**

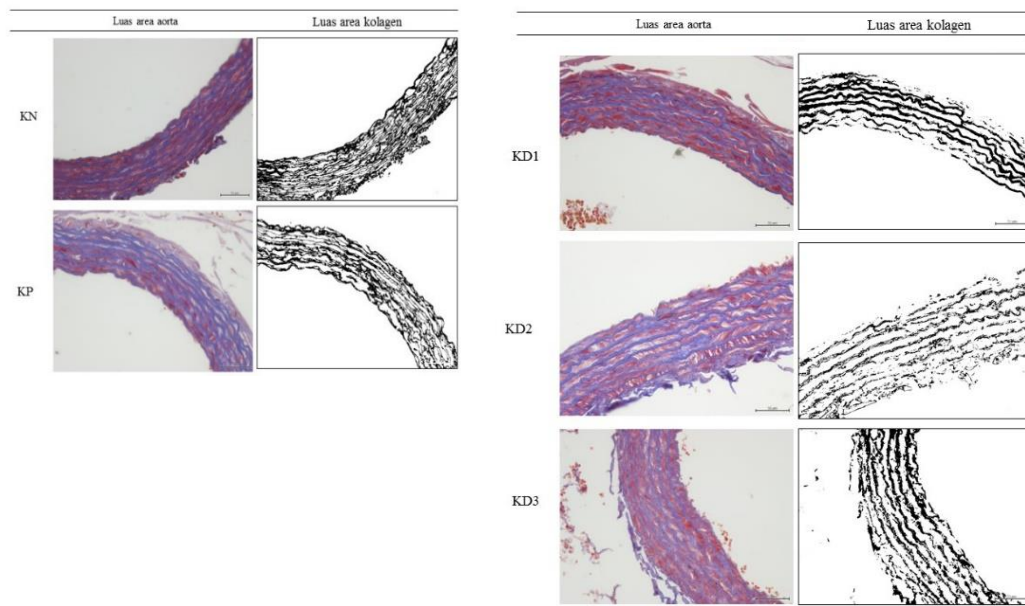
A : Kelompok Negatif ; B : kelompok Positif ; C : kelompok dosis 1; D : kelompok dosis 2 ; E : kelompok dosis 3.

#### **Luas Area Kolagen Aorta Tikus yang diinduksi DTLM dan Infusa JKMB**

Uji statistika non-parametrik didapatkan perbedaan yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Rerata rasio luas area kolagen dapat dilihat pada tabel 3. Rata-rata rasio luas area kolagen pada dosis 2 cenderung menurun dibandingkan dengan kelompok positif, KD1, dan KD3. Rerata KD3 dan KD1 jika dibandingkan dengan KP mengalami penurunan 3,84%, KD dibanding dengan KP mengalami penurunan 15,38%. Hasil Pengamatan rasio luas area kolagen dan luas area aorta yang diamati dapat dilihat pada gambar 2.

**Tabel 3**

| Perlakuan | N | Rerata rasio (LK/LA)<br>± SD |
|-----------|---|------------------------------|
| KN        | 5 | 0.24 ± 0.01                  |
| KP        | 5 | 0.26 ± 0.04                  |
| KD1       | 5 | 0.25 ± 0.01                  |
| KD2       | 5 | 0.22 ± 0.04                  |
| KD3       | 5 | 0.25 ± 0.05                  |



**Keterangan :** Luas area kolagen (LK ),  
Luas area aorta (LA ).

**Gambar 2 gambar luas area aorta dengan perbersaran 400x menggunakan mikroskop trinokuler dan gambar hasil penghitungan luas area kolagen menggunakan image J**

**Keterangan :** Gambar panah kuning menunjukkan kolagen yang berwarna biru dengan pewarnaan *Masson's Trichrome* ; KN, Kelompok negatif ; KP, Kelompok positif ; KD 1, Kelompok dosis 1; KD 2, Kelompok dosis 2 ; KD 3, Kelompok dosis 3.

## PEMBAHASAN

### Karakteristik Sampel

Hewan coba dalam penelitian ini adalah tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*). Tikus wistar digunakan karena mudah diperoleh, mudah diawasi dalam proses penelitian, memiliki kemiripan patologi metabolisme dengan manusia dan tidak terpengaruh oleh hormon<sup>21,22</sup>.

Masing-masing hewan coba penelitian dipelihara dalam sebuah kandang (*Individual cage*) bertujuan untuk mengontrol asupan pakan harian, mengurangi penularan penyakit dan menghindari stres<sup>23</sup>.

Penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan yang berusia 8 minggu Sengupta, *et al.* (2013) menyebutkan bahwa usai 8 minggu pada tikus sama dengan usia 18 tahun pada manusia<sup>24</sup>. Pemilihan usia tikus bertujuan untuk menghindari usia tua dan kematian dalam proses penelitian.

Diet Tinggi Lemak Modifikasi (DTLM) diberikan dengan komposisi *Confeed* PAR-S 7 g, terigu 3 g, kolesterol 0,2 g, minyak babi 1,5 ml, asam kolat 0,02 g dan air secukupnya. Minyak babi yang ditambahkan dalam pakan aterogenik memiliki kandungan lemak jenuh sekitar 38-43%, dapat meningkatkan kadar kolesterol dan trigliserida<sup>25</sup>. Penambahan asam kolat dapat meningkatkan total kolesterol dan LDL serta dapat menginduksi adanya aterosklerosis<sup>26</sup>. Pemberian kolesterol pada diet aterogenik menyebabkan terjadinya perubahan kadar kolestero, LDL dan HDL serum<sup>27</sup>. Komposisi pakan yang diberikan pada kelompok normal adalah *confeed* PAR-S 7 g dan terigu 3 g. konsumsi pakan tinggi karbohidrat dan lemak akan menyebabkan peningkatan jumlah lemak yang terdeposit pada jaringan adiposa terutama dibawah rongga perut dan pada jaringan<sup>28</sup>. Dibandingkan dengan jumlah dan komposisi pakan Muwarni, (2006) Komposisi DTLM diduga terlalu kecil sehingga tidak

didapatkan perbedaan yang signifikan dalam rerata berat badan akhir, dan rerata peningkatan berat badan pada masing-masing kelompok dengan asupan pakan DTL M<sup>15</sup>.

Faktor lain yang dapat menyebabkan Peningkatan berat badan yang tidak signifikan adalah kondisi tikus yang tidak sehat. Dalam proses penelitian ini ditemukan beberapa tikus yang terinfeksi jamur dan beberapa tikus mengalami ulkus pada bagian luar abdomen. Menurut Novrationi (2016), indikasi kondisi tikus yang sehat adalah tikus yang memiliki bulu bersih dan mengkilat, nafsu makan baik, dan mengalami peningkatan berat badan setiap minggu<sup>29</sup>.

Perubahan berat badan juga dapat dipengaruhi oleh asupan pakan harian pada masing-masing kelompok. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ) antara asupan pakan KN, KP, KD2, dan KD3 terhadap KD1. Rerata asupan pakan harian pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 1. Menurut *Animal care John Hopkins University* rerata asupan pakan dalam penelitian ini masih dalam rentang normal yakni 10 gram – 30 gram /hari<sup>30</sup>. Rerata asupan makanan dalam penelitian ini diduga belum mampu menaikkan berat badan tikus (tabel 1). Dalam penelitian yang dilakukan oleh heriansyah (2013) menyebutkan bahwa rerata asupan pakan 20,87 g - 24,62 g/hari belum mampu menunjukkan perbedaan berat badan yang signifikan<sup>31</sup>. Untuk memberikan perubahan yang signifikan terhadap peningkatan berat badan diperlukan rerata asupan pakan harian yang lebih tinggi yakni antara 26,00 – 30,20 g/hari<sup>32</sup>. Adanya peningkatan berat badan yang signifikan dapat menyebabkan timbulnya faktor risiko hiperlipidemia atau aterosklerosis.

#### **Efek Pemberian Diet Tinggi Lemak Modifikasi (DTLM) Terhadap Ketebalan dan Luas Area Kolagen Aorta**

Pemberian DTLM Pada KP dan KN menunjukkan adanya perbedaan yang tidak signifikan. Perbedaan yang tidak signifikan tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya adalah tidak adanya perbedaan yang signifikan terhadap asupan pakan harian KN dan KP. Pada kelompok KN asupan pakan yang diberikan mengandung *Confeed PAR-S* dan tepung terigu. Konsumsi pakan tinggi karbohidrat dapat menyebabkan adanya akumulasi lemak pada jaringan adiposa<sup>33</sup>.

Pemberian pakan tinggi lemak dapat menjadi salah satu faktor terjadinya aterosklerosis yang dapat ditandai dengan adanya penebalan aorta dan luas area kolagen. Pemberian minyak babi dan asam kolat dapat menyebabkan adanya peningkatan LDL<sup>34</sup>. Peningkatan LDL dapat menyebabkan adanya peningkatan *stress oksidative* yang menjadi salah satu jalur kerusakan endotel. Proses kerusakan endotel menyebabkan adanya migrasi sel otot polos dan adanya sintesis dari kolagen serta terbentuknya plak ateromatosa dan penebalan aorta<sup>19</sup>.

Adanya perbedaan yang tidak signifikan diduga juga disebabkan oleh adanya perbedaan komposisi pakan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Muwarni. *et al*, (2006) menunjukkan bahwa pemberian pakan dengan komposisi *confeed-PARS*, tepung terigu, minyak babi, asam kolat dan kolesterol selama 8 minggu mampu menunjukkan adanya sel busa sebagai salah satu ciri terjadinya aterosklerosis<sup>15</sup>. Penelitian yang dilakukan oleh Welinsyah (2014) menyebutkan bahwa untuk mempercepat terbentuknya lesi aterosklerosis perlu ditambahkan vitamin D3 pada komposisi pakan tinggi lemak<sup>35</sup>. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Widyarningsih (2015) menyebutkan bahwa penambahan minyak babi 2ml/200BB setiap hari selama 1 bulan mampu meningkatkan kadar trigliserida dalam darah<sup>36</sup>. Peningkatan kadar trigliserida merupakan salah satu faktor terjadinya aterosklerosis. Pada penelitian kami adanya pemberian DTLM selama 12 minggu dengan komposisi *Confeed PAR-S* g, terigu 3 g, kolesterol 0,2 g, minyak babi 1,5 ml, asam kolat 0,02 g, dan air secukupnya belum mampu menginduksi adanya aterosklerosis namun sudah dapat meningkatkan kadar LDL dan kolesterol (*Unpublish data*).

#### **Efek Pemberian Kombinasi Infusa JKMB Terhadap Ketebalan Aorta Tikus yang Diinduksi DTLM**

Pemberian diet tinggi lemak selama 12 minggu dapat menimbulkan adanya kondisi hiperlipidemia yang merupakan salah satu faktor terjadinya aterosklerosis<sup>32</sup>. Dalam penelitian kami terjadi hiperlipidemia (peningkatan LDL, peningkatan kolesterol, tanpa penurunan HDL) (*unpublished data*) yang merupakan salah satu faktor risiko aterosklerosis.

Pada penelitian ini, uji ANOVA tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ) antara rerata ketebalan aorta KN, KP, KD1, KD2, dan KD3. Namun, jika dilihat dari rerata ketebalan aorta kelompok penelitian rerata ketebalan aorta KP lebih tinggi daripada KN, kelompok KD1 lebih rendah daripada KN dan KP, KD2 tidak jauh berbeda daripada KP, dan KD3 lebih tinggi dari KP, dan KN (Tabel 2).

Rerata ketebalan aorta KN lebih rendah dibandingkan dengan KP, KD2, dan KD3 hal tersebut disebabkan karena KN mendapatkan pakan normal, sedangkan KP, KD2 dan KD3 mendapatkan asupan DTLM. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Muwarni *et al*, (2006) pemberian pakan atherogenik selama 8 minggu sudah mampu meningkatkan kadar LDL<sup>15</sup>. Diduga DTLM tidak dapat meningkatkan ketebalan aorta dan belum mampu membuat kondisi aterosklerosis pada tikus.

Rerata ketebalan aorta KD1 sedikit lebih rendah dari KN, KP, KD2 dan KD3. Infusa JKMB dosis 1 diduga mampu menurunkan ketebalan aorta dengan menekan dampak negatif dari peningkatan LDL. Masing-masing herbal jati belanda, kemuning, murbei dan bangle memiliki kandungan flavonoid yang dapat menurunkan efek dari adanya stres oksidatif dengan cara menghambat pembentukan lipid peroksida. Selain itu, flavonoid dapat menghambat dampak dari stres oksidatif dengan cara menangkap radikal bebas yang dihasilkan oleh peroksidasi lemak, flavonoid juga dapat menyumbangkan satu atom *hydrogen* untuk menstabilkan radikal peroksidasi lemak<sup>37</sup>. Penelitian yang dilakukan oleh Permana *et al* (2016) menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun jati belanda yang mengandung flavonoid dapat menghambat adanya penebalan aorta<sup>38</sup>. Ekstrak air daun murbei dapat menurunkan molekul adhesi seperti ICAM-1 dan VCAM-1 sehingga dapat menurunkan ketebalan tunika intima dan tunika adventisia<sup>39</sup>.

Rerata ketebalan aorta KD2 dan KD3 sedikit meningkat dibandingkan dengan KN, KP dan KD1. Diduga dosis 2 dan dosis 3 JKMB belum dapat menurunkan ketebalan aorta namun diduga dosis tersebut mampu menghambat progresifitas dari proses penebalan aorta.

Peningkatan ketebalan aorta pada tikus merupakan perubahan yang kronis<sup>40</sup>. Pada penelitian kami DTLM dan infusa herbal JKMB belum mampu memberikan perubahan

yang signifikan terhadap ketebalan aorta. hal tersebut dapat disebabkan waktu pemberian infusa JKMB yang kurang lama atau pemberian dosis yang belum optimal.

#### **Efek Pemberian Kombinasi Infusa JKMB Terhadap Rasio Luas Area Kolagen Tikus yang Diinduksi DTLM**

Adanya kerusakan endotel vaskuler merupakan salah satu awal proses terbentuknya aterosklerosis. Faktor pertumbuhan yang teraktivasi dalam proses patogenesis aterosklerosis akan menstimulasi migrasi dan proliferasi otot polos dari tunika media menuju ke tunika intima yang akan meningkatkan sintesis dari ECM. ECM terdiri dari kolagen, fibronectin, elastin, proteoglikan, dan hialuronat<sup>41</sup>. Dalam proses pembentukan plak aterosklerosis akumulasi kolagen dapat mencapai 60%<sup>42</sup>. Peningkatan ECM juga akan meningkatkan sintesis dari kolagen yang akan berpengaruh terhadap kestabilan plak aterosklerosis<sup>43</sup>.

Pada penelitian ini, uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang tidak signifikan antara KN, KP, KD1, KD2, dan KD3. Dilihat dari rerata luas area kolagen kelompok KN lebih rendah dari KP, KD1, dan KD3, sedangkan KD2 lebih rendah daripada KN, KP, KD1 dan KD3. Rerata luas area kolagen KD1 dan KD3 sedikit lebih tinggi daripada KD2.

Rerata luas area kolagen KD2 lebih rendah daripada KN, KP, KD1 dan KD3. KD2 menunjukkan bahwa infusa JKMB dosis 2 diduga mampu menghambat terjadinya proses inflamasi, proliferasi, dan migrasi otot polos serta sintesis dari ekstra seluler matriks. flavonoid yang banyak terkandung dalam kombinasi infusa JKMB mampu menghambat NF- $\kappa$ B yang juga akan menghambat adhesi monosit dan menghambat regulasi sitokin proinflamasi sehingga tidak terjadi proses radang<sup>44</sup>. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Chan *et al*, (2009) menyebutkan bahwa ekstrak air daun murbei dapat menghambat Matriks Metalloprotease (MMPs) sehingga dapat menjaga kestabilan plak aterosklerosis<sup>45</sup>.

Terjadinya sedikit penurunan Rerata luas area kolagen pada KD2, KD3 dan KD1 dibanding dengan KP dapat dikarenakan oleh beberapa faktor salah satunya adalah pemberian infusa JKMB yang dilakukan bersamaan dengan pemberian DTLM selama 12 minggu diduga mampu menurunkan faktor risiko aterosklerosis. Saponin yang

terkandung dalam herbal jati belanda dan bangle pada kombinasi JKMB dapat menurunkan absorpsi lemak dalam usus sehingga dapat menurunkan metabolisme lemak secara eksogen. Selain saponin senyawa tanin yang terkandung dalam JKMB diduga mampu menghambat HMG-CoA reductase sehingga menurunkan sintesis kolesterol pada hepar. Adanya penurunan sintesis kolesterol dan penurunan metabolisme eksogen lemak menyebabkan penurunan kadar lemak dalam darah sehingga dapat mengurangi stres oksidatif dan menghambat proses kerusakan endotel sehingga tidak ditemukan adanya peningkatan luas area kolagen<sup>46</sup>.

Dalam penelitian eksperimental yang dilakukan oleh Libby & Massory, (2002) menyebutkan bahwa untuk menyeimbangkan sintesis kolagen pada plak ateromatosa adalah dengan menurunkan lemak dalam tubuh bukan menggunakan antioksidan<sup>47</sup>. Namun, dalam penelitian kami didapatkan adanya sedikit penurunan luas area kolagen pada KD2. Diduga kandungan antioksidan dalam infusa JKMB mampu menghambat proses inflamasi dan sintesis kolagen. Untuk mendapatkan perbedaan yang signifikan pada rerata luas area kolagen dan ketebalan aorta maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengeksplorasi dosis Infusa JKMB yang optimal.

#### KESIMPULAN

1. Pemberian kombinasi infusa JKMB dosis 1 (189mg/200g), dosis 2 (378mg/g), dan dosis 3 (756mg/200g) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada ketebalan aorta tikus wistar jantan yang diinduksi pakan aterogenik.
2. Pemberian kombinasi infusa JKMB dosis 1 (189mg/200g), dosis 2 (378mg/g), dan dosis 3 (756mg/200g) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada luas area kolagen tikus wistar jantan yang diinduksi pakan aterogenik.

#### SARAN

1. Melakukan penelitian lanjutan dengan meningkatkan dosis komposisi pakan atau memperpanjang pemberian pakan aterogenik agar mampu menginduksi aterosklerosis.
2. Melakukan penelitian lanjutan dengan komposisi pakan aterogenik yang berbeda

agar mampu menginduksi kondisi aterosklerosis.

3. Melakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis optimal efek kombinasi infusa JKMB untuk pencegahan atau tata laksana aterosklerosis.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa Fakultas Kedokteran UNISMA yang telah mendanai penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Polychronopoulos, E., Demosthen .B.P., Ana p.,. *Diet, Lifesyle Factors And Hypercholesterolemia In Elderly Men And Women From Cyrus. Lipid In Health And Diseases*. BioMed Central. 2015
2. Fernstrom, M., U, Fernberg.,G, Eliason., A.Hurting-Wennlof. *Aerobic Fitness is Assosiated with Low Cardiovascular Diseases Risk : The Impact Of Life on Early Risk Factor for Atherosclerosis in Young Healthy Swedish Individuals – the Lifestlye, Biomarker adn Atherosclerosis study*. Vascular health risk management. 2017
3. World Health Organization (WHO). *Raised Cholesterol*. [http://www.who.int/ncd/risk\\_factors/cholesterol\\_text/en](http://www.who.int/ncd/risk_factors/cholesterol_text/en). Diakses tanggal 11 April 2018, 10:53. 2014
4. Libby, P., Paul M. M.D., PH, Garon K., H. *Inflammation in Atherosclerosis : From Pathophysiology to Practice*. J Am Coll Cardiol. 2009.54(23).
5. Sakakura, K., et al. *Pathophysiology of Atherosclerosis Plaque progression. Heart, Lung and Circulation*. 2013. 22;399-411.
6. Wu, NA. et. al. *Activation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase during high fat diet feeding*. Biochimica et Biophysica acta. Canada. 2013
7. Galomb, A., B., Marcella,E. *Statin Adverse Effect ; A review of the literatur and evidence for a mitochondrial mechanis*. Am J Cardiovasc Drugs. 2008. 8(6) 373-418
8. Lewis, J, S . *Prevention and treatment of atherosclerosis ; A practitioners Guid for 2008*. The American Journal of medicine. 2009.
9. Iswantini, D., Rhoito, F. S., Elizabeth, M., Lathifah, K.D. *Zingiber cassumunar*,



- Guazuma ulmifolia*, and *Murraya paniculata*  
Extracts as Antiobesity: *In Vitro* Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity. Hayati Journal of Biosciences. Vol 18 no. 1. 2011. p 6-10.
10. Untomo, A. W. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Alkohol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) pada Tikus Wistar. Fakultas kedokteran Universitas Diponegoro. 2008.
  11. Monica W S & Farida. Pengaruh ekstrak daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) terhadap penurunan kadar kolesterol darah kelinci. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 2000. 6 (3):12-13.
  12. Permana J, Ryan. Cherry Azaria. Rosnaeni. The effect of Jati BELanda Leaves (*Guazuma ulmifolia* Lamk) Ethanol Extract on Microscopic Features of Atherosclerosis Animal Model's Aorta. Journal of medicine and health. 2016
  13. Thaipitakwong, thanchanit. Surawej Numhom. Pornanong Aramwit. Mulberry Leaves and their potential effects against cardiometabolic risk a review of chemical compositions, biological properties and clinical efficacy. *Pharmaceutical Biology*. 2018
  14. Lee et al. Hypotensive, Hypolipidemic and Vascular Protective Effect of *Morus alba* L in Rats fed an Atherogenic Diet. The american Journal of chinese medicine, Vol. 39, No, 1, 2011(39-52)
  15. Muwarni, S., Mulyohadi, A., & Ketut, M. Diet Aterogenik pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Strain Wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2006. 22(1): 6-9
  16. Somadaya, Nur Asma. Widdhi Bodhi. Nansy C, Pelealu. Uji Khasiat Infusa daun kate mas (*Euphorbia heterophylla* desf) sebagai laksansia pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*). *Pharmakon Jurnal Ilmiah farmasi*. 2015.
  17. Mallaleng, Husin Rasyeh. Unik Purwaningtyas. Risa hermawati. Naning Solicha, Farid Zulkarnain. N.S. *Tanaman Obat untuk Penyakit Sindrom Metabolisme*. Malang. Universitas Negeri Malang. 2015
  18. Souza R, Romeu. Elias de Fraces. Diana Madureria. Carla C,R, Pontes. Jeferson O. Santana. Erico C, Cperuto. Resistance training improve aortic structure in wistar rat. *Brazilian Journal of Physical Therapy*. 2015
  19. Krisna, A.P., Retty,R., Eviana, N. Pengaruh Teaflavin Teh Hitam (*Camellia sinensis*) Gambung, Jawa Barat Terhadap Ketebalan Dinding Aorta Tikus Wistar (*Ratus Nivergikus*) yang Diberi Diet Atherogenic. *Majalah Kesehatan FK UB*. 2015. 2(2).
  20. Chen, ying. Qi Yu. Cang-Bao Xu. Original Article A convenient method for quantifying collagen fibers in atherosclerotic lesions by Image J software. *Int J clin ep med*. 2017
  21. Getz, G.S., and Reardon, C.A., *Animal Models of Atherosclerosis*. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 32. 2012. 1104-1115.
  22. Harini, Martin. Okid Parama Astirin. Kadar Kolesterol darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) Hipercolesterolemik Setelah Perlakuan VCO. *Nusantara Bioscience*. 2009
  23. Triliana, Rahma. Djoko W. S. Handoko Kalim. Pengaruh Terapi Suplementasi Fitosterol pada Profil Lemak Plasma, Kadar Apolipoprotein (Apo) B-48, dan Penghitungan Sel Busa Aorta Tikus Pascadiet Aterogenik. *J. EXP. Life Sci*. 2012
  24. Sangupta, Palav. The Laboratory Rat: Relating its Age with Human's. Department of Physiology, Vidyasagar College for Women, University of Calcutta, Kolkata, West Bengal, India. 2012
  25. Ade. Lucia E wahyuningsih. Rika Yulia. Khasiat Atihipercolesterolemia Seduhan The Herbal *Garcinia "X"* pada Tikus Putih Betina (*Rattus norvegicus*) Akibat Induksi Minyak Babi. Universitas Surabaya 2008.
  26. Pellizzon, Michael A. Diet -Induce Atherosclerosis/Hypercholesterolemia in Rodent Models. Open Formula Purified Diets For lab Animals. USA. 2009
  27. McNamara. Donald J. Dietary Cholesterol and Atherosclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1529 (310-320). 2000
  28. Baraas, Faisal. Mencegah Serangan Penyakit Jantung dengan menekan kolesterol. Jakarta: Kardia Iqratama. 2003.
  29. Novrationi, I.R. Efek Minyak Atsiri Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap Kadar ALP (Alkaline Phosphatase) dan LDH (Lactate Dehydrogenase) Serum Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi

- Rifampisin*, Skripsi. Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang. Malang. 2016.
30. Husbandry. Johns Hopkins University. (Online) <http://web.jhu.edu/animalcare/procedures/rat.html>
  31. Heriansyah, Teuku. *Pengaruh Berbagai Durasi Pemberian Diet Tinggi Lemak Terhadap Profil Lipid Tikus Putih (Rattus Novergicus Strain Wis.tar) Jantan*. Fakultas Kedokteran Syah Kuala. 2013.
  32. Tsalissavrina, Iva. Djoko Wahono. Dian Handayani. *Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Karbohidrat Dibandingkan Diet Tinggi Lemak Terhadap Kadar Trigliserida Dan HDL Darah Pada Rattus novergicus galur wistar*. Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. XXII, No.2. 2006
  33. Habibaturachmah, Deny Yudi Fitranti. Hubungan Konsumsi air, Asupan Zat Gizi, dan Aktivasi Fisik dengan Persen Lemak Tubuh Pada Remaja Putri. Journal of Nutrition College. Vol 3. 2014
  34. Patty W, et al. "Saturated Fatty Acids and Risk of Coronary Heart Disease: Modulation by Replacement Nutrients." Current Atherosclerosis Reports, vol. 12, no. 6, pp. 384–390., 2010
  35. Welinsya, F., Enikarimila Asmi., Zulfikar Malik, Ismawati. Histopatologi Aorta Torasika Rattus novergicus strain Wistar Jantan Jantan Setelah 8 Minggu Pemberian Diet Aterogenik. Jom FK Vol.2 No.1 Februari 2014
  36. Widyaningsih, Wahyu., Nina Salmah. Efek Ekstrak Etanol Ganggang Hijau (*Ulva Lactuca L*) Terhadap Berat Badan Dan Kadar Trigliserida Tikus Jantan Yang Diberi Diet Lemak Tinggi. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan. 2015.
  37. Toledo-Ibelle Paola. Jaime Mas-Oliva. *Antioxidants in the fight against Atherosclerosis Is This a Dead End? . Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico.* 2018
  38. Permana J., R., C. Azarin, Rosnaeni. *The effect of jati belanda leaves (Guazuma ulmifolia lamk.) ethanol extract on microscopic features of atherosclerosis animal Models Aorta*. Journal of Medicine and health. Vol.1.4.2016.
  39. Sujono, A. T., Haryoto, Ratna, K., Laily, L, Q. *Antihypercholesterolemic Effect of Murbei (Morus alba L.) Leaves and Its Combination with Simvastatin in Rats Induced by Propyltiouracil and High Fat Diet*. Pharmacology and microbiology . 2015
  40. Manohara.G.D.I., R.Normasari., Zahra F.. *Pengaruh pemberian Ekstrak Tauge Kacang Hijau (Vigna Radiata(L.)) Terhadap ketebalan tunika intima-media aorta abdominalis pada tikus wistar jantan yang diberi stress fisik*. E-Jurnal Pustaka Kesehatan, vol.3.2015.(no.3)
  41. Kumar V, Abbas A.K., & Aster, J.C. *Robbins Basic Pathology*. 9th edition. Philadelphia: Elsevier Inc.2013.
  42. Mota, Robert. Jonathon W, Homelster. Monte S willis. Edward M Bahson. *Atherosclerosis Pathogenesis, Genetics and Experimental Models*. In: eL.S. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. 2017
  43. Wagaster, Dick. Chaoyong Zhu, Johan Björkegren. Josefín Skogsberg. Per Eriksson. *MMP-2 and MMP-9 are prominent matrix metalloproteinases during atherosclerosis development in the Ldlr-/-Apob100/100 mouse*. International Journal of molecular medicine. 2011
  44. Siasos G. et al . *Flavonoids in Atherosclerosis: An Overview of Their Mechanisms of Action*. University of Athens Medical School. 2013.
  45. Chan, K. C., Huang, C.N., Lin, M.C., Chen, H., M., Wang, C.J., *Mulberry Leaf Extract Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Migration Involving Block OF Small GTPase and Akt/NF-Kb Signal*. J. Agric. Food Chem. 57, 9147-9153.2009
  46. Na'im, Fatchum. *Aktivitas Ekstrak daun jati belanda terhadap kadar kolesterol HDL dan LDL pada tikus Hiperkolesterolemia*. Semarang. Universitas Negeri Semarang. 2016.
  47. Libby, Peter. Masanori, Aikawa. *Vitamin C, Collagen, and Cracks in the Plaque*. American Heart Association. 2002.