

PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK AIR DAUN JATI BELANDA, KEMUNING, MURBEL, DAN RIMPANG BANGLE TERHADAP KADAR TNF- α SERUM TIKUS DENGAN DIET TINGGI LEMAK

Ikhda Arif Mulyono Putra, Merlita Herbani, Doti Wahyuningsih
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang
Email : ikhdaputra@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Hyperlipidemia lead to atherosclerosis. Bay Cedar (*Guazuma ulmifolia*), Orange Jessamine (*Murraya paniculata*), White Mulberry (*Morus alba*) leaves and Mountain Ginger (*Zingiber cassumunar*) rhizomes (BOWM) has a potency as antihyperlipidemic drug. This study aims to determine the effect aqueous extract of BOWM on the levels of Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) serum of male wistar rats induced by a modification of an high fat diet (MHFD).

Methods: This study used a laboratory experimental method *in vivo* with control group posttest only design. 25 male wistar rats, 8 weeks, body weight 150-200 grams were grouped into five, namely Negative Control (KN), Positive Control (KP), Dosage Group 1 (KD1), Dosage Group 2 (KD2), Dosage Group 3 (KD3). The aqueous extract of BOWM was given for 12 weeks along with MHFD treatment. The dose of aqueous extract of BOWM; KD1 (189mg/200gBB), KD2 (378mg/200gBB), KD3 (756mg/200gBB) were given everyday orally. Serum TNF- α levels were measured by TNF- α rat ELISA kit. Data were analyzed by *Kruskal Wallis* and *Mann-Whitney*.

Results: The TNF- α serum levels were: KN $280,52 \pm 27,28$; KP $282,52 \pm 45,14$; KD1 $269,90 \pm 7,01$; KD2 $308,25 \pm 30,72$; KD3 $312,54 \pm 33,21$. MHFD did not significantly increase serum TNF- α level of KP compared to KN. The aqueous extract of BOWM did not significantly ($p > 0,05$) decrease serum TNF- α level of KD1 compared to KN and KP. Serum TNF- α level of KD3 increased significantly ($p < 0,05$) compared to KN; KD2 and KD3 compared to KD1.

Conclusion: BOWM aqueous extract has no effect on the levels of serum TNF- α in MHFD-induced rat.

Keywords: Hyperlipidemia, MHFD, BOWM aqueous extract, TNF- α

PENDAHULUAN

Penyebab kematian tertinggi di dunia adalah penyakit kardiovaskular. Diperkirakan terdapat 17,9 juta kematian setiap tahun disebabkan penyakit kardiovaskular, jumlah ini mewakili 31% dari total kematian secara global¹. Penyakit kardiovaskular yang prevalensinya tertinggi di Indonesia adalah Penyakit Jantung Koroner (PJK), yakni sebesar 1,5%². PJK atau yang disebut pengendapan plak aterosklerosis di dalam pembuluh darah koroner, angka prevalensinya 213 kasus dari 100.000 orang berusia >30 tahun³. Faktor utama penyebab aterosklerosis adalah hiperlipidemia⁴.

Hiperlipidemia dapat dipicu dengan pemberian diet tinggi lemak⁵. Salah satunya adalah diet aterogenik⁶. Diet aterogenik dapat meningkatkan kolesterol darah yang akan diesterifikasi menjadi *low density lipoprotein* (LDL)⁷. Tingginya LDL dalam darah akan meningkatkan akumulasi masuknya LDL ke sub intima, sehingga terakumulasi dan teroksidasi oleh *reactive oxygen species* (ROS) dan terjadi disfungsi endotel⁸.

Disfungsi endotel menyebabkan pelepasan molekul adesi dan TNF- α ⁹. Molekul adesi menarik monosit ke jaringan, kemudian monosit tersebut berdiferensiasi menjadi makrofag yang melalui reseptor *scavenger-reseptor* (ScR) menangkap LDL teroksidasi dan berubah menjadi sel busa¹⁰. Sel busa dan TNF- α berperan penting dalam pembentukan awal dan progresivitas aterosklerosis¹¹.

Upaya pencegahan dibutuhkan untuk menghindari terjadinya hal tersebut, salah satu bentuk upaya yang dilakukan adalah dengan menurunkan kadar lemak, baik menggunakan obat maupun pengaturan diet. Beberapa tumbuhan yang dipercaya oleh masyarakat juga terbukti memiliki manfaat untuk pengobatan kolesterol darah dan baik untuk jantung yaitu daun Jati Belanda, daun Kemuning, daun Murbei, dan rimpang Bangle¹².

Dalam penelitian ini, formulasi polih herbal antihiperlipidemia meliputi daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*), daun Kemuning (*Murraya paniculata*), daun Murbei (*Morus alba*), dan rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar*), yang selanjutnya disebut sebagai herbal JKMB¹². Konsep polih herbal dimaksudkan untuk mencapai derajat efikasi yang lebih tinggi dan toksisitas yang lebih rendah¹³.

Terdapat beberapa mekanisme kerja dari senyawa aktif herbal JKMB, yang pertama adalah penghambatan penyerapan asam lemak melalui aktivitas enzim lipase pankreas. Enzim lipase pankreas adalah enzim yang berfungsi untuk menghidrolisis lemak dari makanan dalam usus menjadi gliserol dan asam lemak. Meningkatkan aktivitas enzim lipase pankreas akan meningkatkan penyerapan asam lemak¹⁴. Mekanisme berikutnya adalah menurunkan hidroksi peroksida lipid. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi oksidasi *reactive oxygen species* (ROS) dengan asam lemak tak jenuh ganda. Meningkatnya radikal bebas pada

hiperlipidemia berpengaruh terhadap peningkatan produk peroksidasi lipid sehingga tubuh mengalami stres oksidatif. Peningkatan ROS menyebabkan kerusakan sel pada protein (aktivitas enzim terganggu), asam nukleat (kerusakan DNA, mutasi sel), dan lipid (peroksidasi lipid pada membran plasma). Timbulnya penyakit degeneratif seperti liver injury dan aterosklerosis bermula dari kerusakan sel oleh ROS¹⁵.

Pada uji fitokimia air, daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*), Kemuning (*Murraya paniculata*), Murbei (*Morus alba*) dan rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar*) mengandung senyawa aktif flavonoid, saponin, steroid, tanin, dan triterpenoid^{16,17}. Secara *in vitro*, kombinasi ekstrak Jati Belanda, Kemuning, dan Bangle (JKB) mempunyai efek inhibisi enzim lipase pankreas sehingga absorpsi lemak dalam usus terhambat¹⁸. Kombinasi Jati Belanda dan Bangle (JB) dapat menurunkan hidroksi peroksida lipid sehingga menurunkan potensial terjadinya aterosklerosis¹⁹. Murbei memiliki senyawa aktif *quercetin 3-(6-malonylglucoside)* dan rutin yang mampu menghambat oksidasi LDL¹⁷, serta efek penghambatan radikal bebas yang kuat yang dapat menyebabkan aterosklerosis²⁰. Bangle memiliki senyawa aktif curcumin yang berperan sebagai anti-inflamasi yang dapat menghambat efek sitokin pro-inflamasi dari TNF- α .²¹

Dari uraian diatas, dapat diketahui bahwa potensi yang dimiliki herbal Jati Belanda, Kemuning, Murbei, dan Bangle (JKMB) sinergis sebagai antihiperlipidemia dan anti-inflamasi. Oleh sebab itu, peneliti ingin melakukan penelitian terkait kandungan dan potensi dari kombinasi herbal JKMB terhadap kadar TNF- α serum tikus yang diinduksi diet tinggi lemak.

METODE

Penelitian ini memakai metode penelitian eksperimental laboratorik secara *in vivo* dengan *control group post test only design*.. Hewan coba berupa tikus wistar jantan yang diberi perlakuan pakan aterogenik dan ekstrak air herbal JKMB selama 12 minggu. Penelitian ini dilakukan di *Animal house* FK UMM, FK UNISMA, laboratorium terpadu FK UNISMA, dan laboratorium fisiologi FK UB. Kelaikan etik penelitian didapatkan dari komisi etik penelitian Universitas Brawijaya dengan No. 864-KEP-UB.

Subjek Penelitian

Hewan coba menggunakan tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*), yang berusia 8 minggu dengan berat badan 150-200 gram⁶. Penelitian ini menggunakan jumlah sampel sebanyak 25 ekor. Tikus dibagi dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (n=5), kelompok kontrol positif (n=5), kelompok dosis 1 (n=5), kelompok dosis 2 (n=5), dan kelompok dosis 3 (n=5).

Pemberian Diet Tinggi Lemak

Diet Tinggi Lemak Modifikasi (DTLM) yang diberikan pada kelompok positif dan perlakuan mempunyai komposisi 200 gram *Confeed PAR-S*, 100 gram terigu, 6 gram kolesterol, 0,4 gram asam kolat, 30 ml minyak babi dan 60 ml air yang diberikan 25 gram/tikus/hari. Komposisi DTLM ini adalah modifikasi dari komposisi pakan penelitian Murwani⁶, yaitu *Confeed PAR-S* 200 gram, terigu 100 gram, kolesterol 8 gram, asam kolat 0,8 gram, minyak babi 40 ml, dan air 51,2 ml yang diberikan selama 8 minggu. Kebutuhan asupan rata-rata tikus adalah 20-30 gram/hari/tikus²². Pemberian pakan dilakukan secara *ad libitum* sehari sekali setiap pukul 17.00.

Pembuatan dan Pemberian Ekstrak Air JKMB

Pembuatan kombinasi JKMB dilakukan dengan menggunakan metode infusa. Masing-masing dosis ditimbang, lalu ditambah dengan air 200 ml, kemudian dipanaskan di atas tangas air dengan suhu 90°C selama 15 menit dan diaduk tiap 5 menit. Hasil infusa disaring dan disimpan. Kombinasi JKMB didapatkan dari pencampuran daun Jati Belanda, Kemuning, Murbei dan rimpang Bangle dengan 3 komposisi dosis yaitu KD1 72 : 27 : 27 : 63 mg/200gBB, KD2 144 : 54 : 54 : 126 mg/200gBB, KD3 288 : 108 : 108 : 252 mg/200gBB. Ekstrak air diberikan sebanyak 2 ml/tikus secara perorale oral^{12,23}. Pemberian dilakukan setiap pukul 17.00 dan diberikan selama 12 minggu bersamaan dengan pemberian DTLM.

Tabel 1. Karakteristik Sampel

	KN	KP	KD1	KD2	KD3
Jumlah sampel	5	5	4	4	5
Jumlah/Kandang	1	1	1	1	1
Perlakuan	Diet standar 12 minggu	DTLM 12 minggu	DTLM 12 minggu, Pemberian herbal 189 mg/200gBB	DTLM 12 minggu, Pemberian Herbal 378 mg/200gBB	DTLM 12 minggu, Pemberian Herbal 756mg/200gBB
Jenis kelamin	Jantan	Jantan	Jantan	Jantan	Jantan
– X BB Awal (g)	169.80 ± 13.90	174.40 ± 18.01	178.25 ± 23.31	172.25 ± 17.82	148.00 ± 29.04
– X BB Akhir (g)	292.60 ± 14.15	285.40 ± 30.74	230.25 ± 52.84	263.25 ± 50.41	263.60 ± 29.36
Δ BB (g)	122.80 ± 17.33	111.00 ± 25.79	52.00 ± 40.87	91.00 ± 53.03	115.60 ± 52.97
Asupan pakan/ hari	24.81 ± 0.19*	24.81 ± 0.17*	23.34 ± 0.72	24.23 ± 0.63*	24.75 ± 0.10*

Keterangan: Data dalam mean ± standar deviasi (SD). Notasi (*) berbeda signifikan (p < 0,05) dibandingkan KD1. Kontrol Negatif (KN); Kontrol Positif (KP); Kelompok Dosis 1 (KD1); Kelompok Dosis 2 (KD2); Kelompok Dosis 3 (KD3).

Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah tikus diambil di intrakardial. Proses pengambilan darah diawali dengan pembedahan tikus. Tikus dianastesi dengan kloroform, kemudian dilakukan uji nyeri untuk mengetahui respon tikus setelah dianastesi. Jika tidak ada respon, tikus difiksasi dan dilakukan proses pembedahan, diawali dari linea media abdomen menuju thoraks, sampai seluruh bagian terbuka. Sampel darah diambil pada intrakardial menggunakan spuit 5cc lalu dimasukkan *vacutainer* tanpa EDTA. Kemudian sampel darah disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Lalu tiap sampel serum diambil sebanyak 2 cc dan disimpan pada suhu -20°C^{24,25}.

Pemeriksaan Kadar TNF-α Serum

Pemeriksaan kadar TN-α serum dilakukan dengan Rat TNF-α ELISA Kit. Serum darah yang telah diambil ditambahkan larutan standar sebanyak 100 µL pada masing-masing sumur. Selanjutnya, sumur ditutup *plate* dan dilakukan inkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, cairan dalam sumur berisi *Biotinylated Detection Ab* 100 µL ditambahkan dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Kemudian masing-masing sumur diaspirasi dan dicuci 3 kali menggunakan *Wash Buffer* sebanyak 350 µL. Setelah itu, larutan *HRP Conjugate* 100 µL ditambahkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Setiap sumur diaspirasi dan dicuci sebanyak 5 kali dan ditambahkan *substrate reagent* sebanyak 90 µL. Kemudian tiap sumur diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C dan ditambahkan *stop solution* 50 µL dan warna cairan menjadi kuning. Lalu *optical density* diukur dengan spektrofotometri dengan

Teknik Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan *software SPSS for Windows version 16*. Data yang didapatkan diuji normalitas dan homogenitas. Data dinyatakan normal dan homogen jika $p > 0,05$. Jika data terdistribusi normal dan homogen, dilakukan uji *One-way ANOVA* dan dilanjutkan uji *Post Hoc LSD (Least Significance Different)*. Namun jika data tidak terdistribusi normal dilanjutkan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Hasil dinyatakan signifikan bermakna jika $p < 0,05$.

HASIL DAN ANALISIS DATA

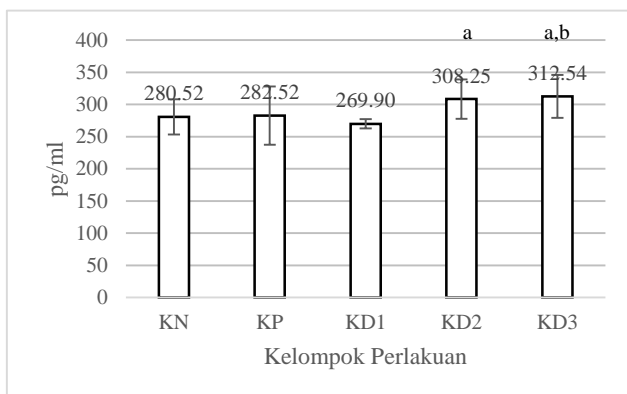
Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan karakteristik populasi seperti pada tabel 1.

Uji statistik *One-way ANOVA* menunjukkan bahwa tidak didapatkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) pada Δ berat badan tikus. Uji *One-way ANOVA* dan *Post Hoc LSD* pada data asupan pakan didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada data asupan pakan antara KD1 terhadap KN, KP, KD2 dan KD3.

Pengaruh DTLM dan Ekstrak Air JKMB terhadap Kadar TNF- α Serum Tikus

Hasil pengukuran dan analisis data pengaruh pemberian DTLM dan ekstrak air JKMB terhadap kadar TNF- α serum tikus pada gambar 1.



Gambar 1. Rerata Kadar TNF- α Serum Tikus

Keterangan: Data dalam mean \pm SD. Rerata kadar TNF- α tikus wistar pada KN (280,52 \pm 27,28), KP (282,52 \pm 45,14), KD1 (269,90 \pm 7,01), KD2 (308,25 \pm 30,72), dan KD3 (312,54 \pm 33,21). Notasi (a) berbeda signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan KD1; Notasi (b) berbeda signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan KN.

Uji statistik menggunakan uji non-parametrik *Kruskal Wallis* karena data tidak memenuhi syarat normalitas ($p < 0,05$). Kemudian dilanjutkan uji *Post Hoc Mann-Whitney* karena didapatkan hasil yang berbeda signifikan ($p < 0,05$). Dari uji statistik

tersebut, didapatkan pengaruh pemberian diet tinggi lemak terhadap kadar TNF- α serum dinilai dengan melihat perbandingan KN dan KP. Pemberian DTLM pada KP meningkatkan kadar TNF- α serum tikus wistar sebesar 0,71%, peningkatan ini tidak signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan KN.

Dosis JKMB pada KD1 (189g/200gBB) menurunkan kadar TNF- α serum tikus wistar sebesar 4,46%, tetapi tidak signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan KN dan KP. Dosis JKMB pada KD2 (378mg/200gBB) meningkatkan kadar TNF- α serum tikus wistar sebesar 9,1%, tetapi tidak signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan KN dan KP. Dosis JKMB pada KD3 (756g/200gBB) meningkatkan kadar TNF- α serum tikus wistar sebesar 10,62% peningkatan ini signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan KN, namun tidak signifikan ($p > 0,05$) jika dibandingkan KP.

Kadar TNF- α serum pada KD1 berbeda signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan KD2 dan KD3. Kadar TNF- α serum antara KD2 dan KD3 tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$).

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan berusia 8 minggu. Spesies tikus ini mudah didapatkan, tahan kondisi laboratorium, memiliki sensitivitas tinggi terhadap obat dan memiliki struktur DNA mirip manusia^{27,28}. Jenis kelamin jantan dipilih untuk meminimalisasi pengaruh hormon estrogen yang dapat mempengaruhi metabolisme lipid²⁷. Pemilihan usia 8 minggu dikarenakan tikus memasuki usia dewasa muda yang telah memiliki kematangan dalam sistem metabolisme dan untuk menghindari kematian akibat usia tua pada tikus saat proses penelitian berlangsung³⁰.

Jumlah sampel tiap kelompok berdasar rumus *Federer* yang digunakan pada penelitian ini berjumlah ≥ 5 . Namun dikarenakan beberapa hal terdapat kelompok perlakuan yang memiliki jumlah sampel kurang dari jumlah yang ditentukan. Pada kelompok KD1 dan KD2 jumlah sampel yang digunakan sebanyak 4, sebab serum sampel dari tikus yang semula berasal dari 5 ekor salah satunya mengalami lisis, sehingga tidak dapat digunakan. Begitu pula dengan KD2, hanya terdapat 4 sampel sebab dari 5 tikus, salah satunya mati sebelum berakhirnya penelitian sehingga tidak dapat diambil sampel serumnya.

Perbedaan jumlah sampel ini bisa berdampak pada hasil analisis statistik, namun tidak menghasilkan perbedaan yang berarti³¹. Secara keseluruhan analisis statistik masih dapat dilakukan dengan menggunakan penghitungan non-parametrik³².

Diet Tinggi Lemak Modifikasi (DTLM) diberikan untuk menginduksi hiperlipidemia pada kelompok kontrol positif (KP), kelompok dosis 1 (KD1), kelompok dosis 2 (KD2), dan kelompok

dosis 3 (KD3). Komposisi DTLM terdiri dari *Confeed* PAR-S 200 gram, terigu 100 gram, kolesterol 6 gram, asam kolat 0,4 gram, minyak babi 30 ml, dan air 60 ml yang diberikan 25 gram/tikus/hari. Penggunaan minyak babi dan kolesterol agar dapat menginduksi peningkatan LDL. Asam kolat yang ditambahkan dapat meningkatkan kadar total kolesterol dan *low density lipoprotein* (LDL) dengan menekan kadar *high density lipoprotein* (HDL)³³. Tingginya kadar LDL dalam darah akan meningkatkan akumulasi masuknya LDL ke dalam sub intima, sehingga terakumulasi dan teroksidasi oleh *reactive oxygen species* (ROS) dan terjadi disfungsi endotel⁸. Disfungsi endotel menyebabkan pelepasan molekul adesi dan TNF- α ⁹.

Murwani⁶ menyatakan bahwa pada minggu ke-8, diet tinggi lemak dengan komposisi *Confeed* PAR-S, tepung terigu, kolesterol, asam kolat, minyak babi dan air dapat menginduksi aterosklerosis pada hewan coba tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*). Penelitian Tambunan²⁹ menyatakan lesi aterosklerosis pada aorta torasika timbul pada hewan coba yang diinduksi dengan diet tinggi lemak selama 12 minggu. Pada penelitian ini, DTLM yang diberikan selama 12 minggu belum mampu menyebabkan kondisi hiperlipidemia pada hewan coba.

Daun Jati Belanda, daun Kemuning, daun Murbei dan rimpang Bangle merupakan tanaman herbal yang digunakan dalam penelitian ini. Tanaman tersebut diketahui memiliki aktivitas antihiperlipidemia, antioksidan dan anti-inflamasi yang dapat menurunkan jumlah lipid yang beredar dan menurunkan kadar TNF- α ^{12,16,21}.

Pengaruh Pemberian DTLM terhadap Kadar TNF- α Serum Tikus

Pengaruh pemberian DTLM terhadap kadar TNF- α serum dievaluasi dari hasil perbandingan antara kelompok kontrol positif (KP) dan kelompok kontrol negatif (KN). Hasil penelitian ini didapatkan bahwa kadar TNF- α serum tikus wistar jantan pada KP tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan KN. Peningkatan kadar TNF- α serum pada KP hanya sebesar 0,71% dibandingkan KN. Hal ini diduga karena kandungan lemak pada DTLM kurang cukup untuk mampu meningkatkan kadar TNF- α serum tikus. Kandungan lemak yang digunakan pada penelitian ini adalah 6 gram kolesterol dan 30 ml minyak babi. Jika diakumulasikan dengan seluruh kandungan diet yang diberikan yaitu 200 gram *Confeed* PAR-S, 100 gram terigu, 6 gram kolesterol, 0,4 gram asam kolat, dan 30 ml minyak babi (26,82 gram dengan $p = 0,894$)³⁴, maka kandungan lemak dalam diet penelitian ini sebesar 9,8%.

Faktanya kadar TNF- α pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak selama 12 minggu akan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif³⁵. Penelitian Spagnuolo³⁵ menunjukkan bahwa pemberian diet tinggi lemak yang diberikan selama 12 minggu

mampu meningkatkan kadar TNF- α tikus secara signifikan ($p < 0,05$) (161 ± 20 pg/ml) dibandingkan kelompok normal (122 ± 14 pg/ml). Peningkatan kadar TNF- α pada penelitian tersebut sebesar 31,9% dengan diet tinggi lemak yang digunakan mengandung lemak sebesar 40%. Tingginya kandungan lemak pada diet tersebut meningkatkan kadar kolesterol darah yang akan diesterifikasi menjadi LDL⁷.

Peningkatan TNF- α serum yang diinduksi diet tinggi lemak disebabkan oleh tingginya kadar LDL yang beredar dan terakumulasi pada jaringan endotel pembuluh darah. Adanya gangguan pada fungsi endotel menyebabkan peningkatan pembentukan radikal bebas oksigen yang mendeaktivasi nitrat oksida. Selain itu, radikal bebas akan mengoksidasi *low density lipoprotein* (LDL) menjadi LDL teroksidasi (LDL-Ox) yang kemudian ditangkap oleh makrofag melalui *scavenger receptor* secara terus menerus sehingga makrofag berubah menjadi sel busa (*foam cell*)³⁶. Makrofag dapat memfagositosis LDL teroksidasi dan menghasilkan sitokin proinflamasi. Makrofag ini diaktifkan oleh *polymorphonuclear* (PMN) diikuti sekresi sitokin proinflamasi, salah satunya adalah TNF- α ³⁷.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Air JKMB terhadap Kadar TNF- α Serum Tikus dengan DTLM

Kadar TNF- α serum pada KD1 menurun sebesar 4,46%, tetapi tidak signifikan dibandingkan KP. Penurunan kadar TNF- α serum tikus tersebut diperankan oleh beberapa senyawa aktif dari herbal. Efek sitokin proinflamasi dari TNF- α akan dihambat oleh sifat anti-inflamasi yang dimiliki oleh curcumin dari ekstrak bangle²¹. Wu³⁸ menyebutkan bahwa ekstrak kemuning mengandung flavonoid yang mampu menurunkan mediator inflamasi, seperti TNF- α dan IL-1 β melalui mekanisme hambat NF- κ B. Selain itu, Sujono¹⁷ menjelaskan bahwa flavonoid dari ekstrak murbei mampu bertindak sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan ini berupa inhibisi pada oksidasi LDL, hal ini dapat menekan peningkatan kadar TNF- α .

Mekanisme lain yang terlibat dalam penurunan TNF- α juga bisa disebabkan dari aktivitas antihiperlipidemia JKMB. Dengan menurunkan jumlah lipid yang beredar, maka inflamasi juga semakin berkurang. Mekanisme antihiperlipidemia diperankan oleh flavonoid dalam JKMB yang mampu menurunkan produksi kolesterol dengan cara menghambat aktivitas enzim HMG-CoA reduktase (HMGR). Inhibisi aktivitas HMGR dapat menghasilkan berhentinya biosintesis kolesterol, sehingga pembentukan kolesterol berkurang^{17,39,40}. Flavonoid dalam JKMB juga mampu menghambat enzim lipase pankreas. Terhambatnya aktivitas enzim tersebut mengakibatkan absorpsi lipid pada usus terhambat, sehingga pembentukan lipid akan berkurang¹⁶.

Ketidakmampuan herbal JKMB dalam menurunkan kadar TNF- α serum tersebut diduga karena dosis herbal JKMB yang digunakan kurang tepat. Menurut Mallaleng¹², dosis herbal pada penelitian ini adalah resep empiris di masyarakat dengan komposisi 1 sendok makan serbuk daun Jati Belanda, 1 sendok teh serbuk daun Kemuning, 1 sendok teh serbuk daun Murbei, dan 3 iris rimpanng Bangle. Dosis empirik tersebut dikonversikan melalui website, lalu dikonversikan ke tikus (200grBB) dengan faktor konversi 0.018, sehingga diperoleh dosis kombinasi JKMB KD2 dengan komposisi (144 : 54 : 54 : 126 mg/200gBB). Komposisi yang didapat tersebut tidak sesuai dengan penimbangan secara langsung, yakni diperoleh dosis JKMB pada KD2 (118,8 : 43,56 : 43,2 : 163,8 mg/200gBB).

Sedangkan, KD2 dan KD3 memiliki rerata kadar TNF- α yang lebih tinggi dibanding KP tetapi tidak signifikan ($p > 0.05$). Diduga hal ini disebabkan oleh toksisitas Jati Belanda. Suatu penelitian menyebutkan bahwa toksisitas dari dosis tunggal ekstrak air Jati Belanda terjadi pada kadar 84,8 mg/200gBB. Ekstrak air Jati Belanda pada dosis itu menginduksi peningkatan sel inflamasi sebesar 66,6% pada ginjal tikus⁴¹. Sedangkan komposisi Jati Belanda pada KD2 dan KD3 berturut-turut sebesar 144 dan 288 mg/200gBB. Diduga karena melampaui batas toksisitas, kombinasi ekstrak air JKMB pada KD2 dan KD3 tidak mampu menurunkan kadar TNF- α serum tikus yang diinduksi DTLM, sebaliknya justru menyebabkan peningkatan kadarnya melebihi KP. Ekstrak air herbal Kemuning, Murbei dan Bangle yang digunakan pada penelitian ini masih jauh di bawah dosis toksisitas. Herbal Kemuning hingga dosis 400 mg/200gBB belum menunjukkan abnormalitas pada tikus⁴². Herbal Murbei hingga dosis 400 mg/200gBB menunjukkan toksisitas oral yang rendah⁴³. Herbal Bangle hingga dosis 1000 mg/200gBB tidak menunjukkan tanda-tanda toksisitas pada tikus⁴⁴.

KESIMPULAN

1. Kombinasi ekstrak air JKMB tidak mampu menurunkan kadar TNF- α serum tikus wistar yang diinduksi diet tinggi lemak.

SARAN

1. Menguji pengaruh ekstrak air JKMB pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak dengan komposisi lemak $\geq 40\%$.

UCAPAN TERIMA KASIH

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

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization (WHO). Cardiovascular Disease. 2012.
2. Balitbang Kemenkes RI. Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI; 2013.
3. Junait, Rifqi S. Perbandingan Efektifitas antara Bantal Pasir dan *Arfeband* sebagai Penekanan Luka Paska Angiografi Koroner. *Medica Hospitalia. Med Hosp*, 2013; vol 2 (1) : 50-53
4. Oktomalioputri B, Darwin E, Decroli E. Pengaruh Lama Pemberian Diet Tinggi Kolesterol terhadap Kadar LDL dan TGF- β Serum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar*. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2016; 5(1)
5. Mawarti H, Ratnawati R. Penghambatan Peningkatan Kadar Kolesterol pada Diet Tinggi Lemak oleh Epigallocatechin Gallate (EGCG) Teh Hijau Klon Gmb4. *Jombang: Fakultas Ilmu Kesehatan UNIPDU*; 2012.
6. Murwani S, Mulyohadi A, Ketut M. Diet atherogenik pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* sebagai model hewan aterosklerosis. *Malang: Jurnal Kedokteran Brawijaya*; 2006. Vol. XXII, No. 1.
7. Murray RK, Granner DK, Rodwell. *Biokimia Harper*. Jakarta: EGC; 2012.
8. Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Doudi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: Process, Indicators, Risk Factors and New Hope. *International Journal Preventive Medicine*: 2014; 5(8): 927-946.
9. Lopes AL, Macedo RC, Correa CS, Ramis TR, Ribeiro JL, Oliveira AR. Inflammatory markers, endothelial function and cardiovascular risk. *Jornal Vascular Brasileiro*; 2014.
10. Kumar V, Abbas AK, Aster, JC. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Edisi 9. Singapore: Elsevier Saunders; 2015.
11. Kleinbongard, P; Heusch, G & Scultz, R. TNF alpha in atherosclerosis, myocardial ischemia/reperfusion and heart failure. 2010. 127(3):295-314.
12. Mallaleng HR, Unik P, Risa H, Naning S, Farid ZN. *Tanaman Obat untuk Penyakit Sindrom Metabolisme*. Malang: Universitas Negeri Malang; 2015.
13. Parasuraman S, Thing GS, Dhanaraj SA. Polyherbal Formulation. *Pharmacogn*: 2014; Rev. 8(16): 73-80.
14. Institut Pertanian Bogor [homepage on internet]. Bogor: IPB. No Date. Available from <https://repository.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/61765/4/BAB%201%20Pendahuluan.pdf>
15. Novidiyanto, Farmawati A, Lestari LA. Pengaruh pemberian kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus (L.)*) terhadap kadar malondealdehid (MDA) plasma dan jaringan hati tikus *Sprague Dawley* yang diberi pakan lemak tinggi. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*: Vol 13 No 2 - Oktober 2016 (82-89).

16. Iswantini D, Silitonga RF, Martatilofa E, Darusman LK. *Zingiber cassumunar*, *Guazuma ulmifolia*, and *Murraya paniculata* Extracts as Antiobesity: In Vitro Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity. HAYATI Journal of Biosciences: 2011; Vol. 18 No. 1
17. Sujono TA, Haryoto, Kartikasari R, Quntari LI. Antihypercholesterolemic Effect of Murbei (*Morus alba* L.) Leaves and Its Combination with Simvastatin in Rats Induced by Propyltiouracil and High Fat Diet. "Current Breakthrough in Pharmacy Materials and Analyses. Proceeding - ICB Pharma II; 2015.
18. Martins F, Noso T, Porto V, Curiel A, Gambero A, Bastos D. Mate Tea Inhibits Invitro Pancreatic Lipase Activity And Has Hypolipidemic Effect On High Fat Diet Induced Obese Mice. Nature Publishing Group: 2009; 18 : 42-47.
19. Rodriguez A, Gonzales PA, Kaski JC. Inflammatory Systemic Biomarkers in Setting Acute Coronary Síndromes Effects of The Diurnal Variation Current Drug Targets; 2009. 101 : 1767 – 72.
20. Chan EW, Lye P, Wong S. Phytochemistry, pharmacology, and clinical trials of *Morus alba*. Chinese Journal of Natural Medicines. Elsevier: 2016; 14(1): 0017-0030.
21. Utami WS, Heni S, Bagus H. Development of standardized herbal therapy of bangle extract (*Zingiber Cassumunar* Roxb.) on the expression of ICAM-1 for complementary therapy to prevent complications in malaria. Indonesian Journal of Medicine and Health; 2017.
22. Nugroho FA, Ginting RM, Nurdiana. Level of Rat's NF-K β Pancreas of Type 2 Diabetes Mellitus When Given Cow Milk Powder. Indonesian Journal of Human Nutrition: 2015; Vol. 2 No.2 : 91 – 100
23. Somadayo NA, Bodhi W, Nansy C. Uji khasiat infusa daun kate mas (*Euphorbia heterophylla desf*) sebagai laksansia pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus novergicus*). Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi; 2015.
24. Pratiwi, Yunita Ika. Purwanti, Sasi. Damayanti, Dini Sri. Pengaruh Pemberian secara Subkronik Minyak Atsiri Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap Kadar Low Density Lipoprotein (LDL) dan High Density Lipoprotein (HDL) Serum Tikus Wistar. Journal of Islamic Research. 1(1):55-64. 2017.
25. Baroroh, RK. Puspitasari, E. Ulfa, EU. Ekstrak Kloroform Daun Arcagelisia flava Tidak Berpengaruh pada Berat Relatif Limfa Tikus yang Dipejani Doxorubicin. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. 2014.
26. Elabscience. Rat TNF- α (Tumor Necrosis Factor Alpha) ELISA Kit. Elabscience Biolabtechnology: 2015.
27. Harini M, Astirin OP. Kadar kolesterol darah tikus putih (*Rattus novergicus*) hiperkolesterolemik setelah perlakuan VCO. Nusantara Bioscience: 2009; 1: 53-58.
28. Udin MF. Pengaruh Pemberian Vaksin LDL yang Dioksidasi Kombinasi dengan Adjuvan TT terhadap Immunoglobulin G Arteri Renalis. Tesis Program Studi Biomedik Kekhususan Immunolgi. Malang: Universitas Brawijaya; 2005.
29. Tambunan S, Enikarmila A, Zulkifli M, Ismawati. Histopatologi Aorta Torasika Tikus Putih (*Rattus Novergicus* Strain Wistar) Jantan Setelah Pemberian Diet Aterogenik Selama 12 Minggu. Jom FK: 2014; Vol. 2 No.1
30. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age with Human's. India, Kolkata: Department of Physiology, Vidyasagar College for Women, University of Calcutta; 2012.
31. Alwi, Idrus. Kriteria Empirik dalam Menentukan Ukuran Sampel pada Pengujian Hipotesis Statistika dan Analisis Butir. Jurnal Formatif: 2015; 2(2): 140-148
32. Junaidi. Statistika Non-Parametrik. Researchgate; 2015.
33. Srivastava RA, Neelam S, Maurizio A. Dietary cholic acid lowers plasma levels of mouse and human apolipoprotein A-I primarily via a transcriptional mechanism. Eur. J. Biochem, 2000; 267, 4272-4280
34. Hermanto S, Muawanah A, Harahap R. Profil dan Karakteristik Lemak Hewani (Ayam, Sapi, dan Babi) Hasil Analisa FTIR dan GCMS. Program Studi Kimia. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta; 2008.
35. Spagnuolo MS, Maria, PM, Bernardetta M, et al. High Fat Diet and Inflammation–Modulation of Haptoglobin Level in Rat Brain. Researchgate; 2015.
36. Maramis R, Kaseke M, Tanudjadja M. Gambaran histologi aorta tikus Wistar dengan diet lemak babi setelah pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L). Jurnal e-Biomedik: 2014; 2(2): 430-435.
37. Tavakoli S, Asmis R. Reactive Oxygen Species and Thiol Redox Signaling in The Macrophage Biology of Atherosclerosis. Antioxid Redox Signal: 2012;17:1785–1795.
38. Wu N, Sarna L, Hwang S, et al. Activation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase during high fat diet feeding. Canada: Biochimica et Biophysica acta; 2013.
39. Rahmania S, Sulistiyani, Lelono AA. Identification of HMG-CoA Reductase Inhibitor Active Compound in Medicinal Forest Plants. Jurnal Kefarmasian Indonesia: 2017; Vol.7 No.2-Agustus 2017:95-104
40. Paembonan, IL. Efek Serbuk Daun Kemuning (*Murraya paniculata*) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol LDL Serum pada Mencit Jantan Galur *Swiss Webster*. 2012 Available from https://repository.maranatha.edu/2706/1/091018_2_Abstract_TOC.PDF
41. Rozqie R, Diah M, Rukmi WP. The Effect of Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) Leaves Extract on Histopatology of Rat's Kidney. TMJ: 2005; Vol. 2 No. 1 P 57-65.

42. Gautam MK, Singh A, Rao CV, Goel RK. Toxicological Evaluation of *Murraya paniculata* (L.) Leaves Extract on Rodents. *American Journal of Pharmacology and Toxicology* 7 (2): 62-67, 2012.
43. Oliveira AM, Mesquita MS, Silva GC, et al. Evaluation of Toxicity and Antimicrobial Activity of Ethanolic Extract from Leaves of *Morus alba* L. (Moraceae). Hindawi Publishing Corporation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*; 2015.
44. Koontongkaew S, Poachanukoon O, Sireeratawong S, et al. Safety Evaluation of *Zingiber cassumunar* Roxb. Rhizome Extract: Acute and Chronic Toxicity Studies in Rats. Hindawi Publishing Corporation. *International Scholarly Research Notices*; 2014.