

PENGARUH EKSTRAK AIR KOMBINASI DAUN *Guazuma ulmifolia*, *Murraya paniculata*, *Morus alba*, DAN RIMPANG *Zingiber cassumunar* TERHADAP DEPOSIT KOLAGEN DAN KETEBALAN DINDING JANTUNG TIKUS DENGAN DIET TINGGI LEMAK

Rif'atul Islamiyah, Merlita Herbani, Doti Wahyuningsih
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang
Email : rifatulislamiyah@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: High-fat diet can induce hyperlipidemia, which is the main trigger for atherosclerosis and heart disease. The Bay Cedar (*Guazuma ulmifolia*) leaves, Orange Jessamine (*Murraya paniculata*) leaves, White Mulberry (*Morus alba*) leaves, and Mountain Ginger (*Zingiber cassumunar*) rhizomes (BOWM) have the antihyperlipidemic potential. The aim of this study was to prove the effect of BOWM water extract on collagen deposits and cardiac wall thickness in high fat diet fed rat.

Methodology: Adult male Wistar rats, weighing between 150-200 g, were included in the study. They were randomly divided into five groups with five rats in each group. Modified High Fat Diet (MHFD) was given for 12 weeks to induce hyperlipidemia in all groups except group KN which was fed with normal chow. BOWM aqueous extract along with respective diets were given to the rats every days orally. Collagen deposit and cardiac wall thickness were observed by light microscope and were measured by *image J*.

Result: MHFD increases collagen deposits insignificantly ($p > 0.05$), but increases cardiac wall thickness significantly ($p < 0.05$). After administering BOWM water extract in KD1 (189 mg / 200 g), KD2 (378 mg / 200 g), and KD3 (756 mg / 200 g) there was no significant difference ($p > 0.05$) was found in the collagen deposit compared to positive controls. Cardiac wall thickness significantly ($p < 0.05$) decreased by 26% in KD1, while KD2 and KD3 decreased insignificantly ($p > 0.05$) compared to positive controls.

Conclusion: BOWM combination water extract has no effect on collagen deposits but can reduce the heart wall thickness of high-fat diet fed rat.

Keywords: Hyperlipidemia, High-fat diet, BOWM water extract, collagen deposit, cardiac wall thickness

PENDAHULUAN

Prevalensi hiperlipidemia pada usia $\geq$ 25 tahun di Indonesia mencapai 36% (33.1% pada pria dan 38.2% pada wanita)¹. Hiperlipidemia didefinisikan sebagai kondisi meningkatnya kadar kolesterol, trigliserida, atau keduanya. Kondisi ini merupakan faktor resiko yang erat hubungannya dengan penyakit diabetes melitus tipe-2, hipertensi dan penyakit kardiovaskular². Hiperlipidemia terbukti mampu merubah struktur dan fungsi jantung, baik pada manusia maupun hewan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian diet tinggi lemak dapat memicu terbentuknya hipertrofi jantung dan fibrosis intersiel³.

Peningkatan absorpsi lipid sebab diet tinggi lemak akan meningkatkan *LowDensity Lipoprotein* (LDL) sistemik yang kemudian terdeposit pada endotel pembuluh darah dan teroksidasi. Hasil oksidasi selanjutnya memicu perekrutan monosit yang berdiferensiasi menjadi makrofag dan menginduksi pengeluaran sitokin proinflamasi. LDL teroksidasi kemudian difagosit oleh makrofag dan membentuk *foam cell* yang lama-kelamaan menjadi aterosklerosis dan menyebabkan kekakuan arteri yang berujung pada retensi perifer⁴. Retensi perifer secara terus-menerus akan memicu hipertensi dan mengakibatkan peningkatan *afterload*. Jantung megkompensasi hal tersebut dengan mencetuskan *remodeling* jantung berupa peningkatan deposisi kolagen jantung serta pembesaran ukuran kardiomyosit yang berujung pada peningkatan penebalan dinding jantung⁵. Dari mekanisme patofisiologi tersebut, inflamasi dan stres oksidatif yang diinduksi hiperlipidemia adalah indikator awal dalam kaskade dan ditetapkan sebagai faktor penting dalam *remodeling* dan disfungsi jantung³.

Oleh karena itu, terapi antihiperlipidemia, antioksidan dan anti-inflamasi tampaknya menjadi pendekatan yang sesuai dalam menangani *remodeling* jantung akibat hiperlipidemia. Obat yang memiliki mekanisme kerja menurunkan lipid dalam darah yaitu golongan statin. Namun sayangnya apabila obat ini digunakan dalam jangka panjang mampu menyebabkan efek samping seperti mialgia, penurunan fungsi ginjal, ruptur tendon, dan meningkatnya kemungkinan terjadinya *hemorrhagic stroke*⁶.

Substitusi pengobatan dengan bahan kimia dapat diganti menggunakan herbal. Herbal tertentu diduga memiliki senyawa aktif berupa flavonoid yang mampu menurunkan kadar kolesterol dalam darah dan memiliki aktivitas antiinflamasi serta antioksidan⁷. Secara empirik, kombinasi daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*), daun Kemuning (*Murraya paniculata*), daun Murbei (*Morus alba*), dan rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar*) yang dikonsumsi dalam bentuk seduhan dipercaya memiliki aktivitas anti-hiperlipidemia⁸. Konsep

poliherbal ini diterapkan agar hasil yang didapat mampu mencapai derajat efikasi yang lebih tinggi dan memiliki toksisitas yang lebih rendah⁹.

Pada penelitian sebelumnya, dari uji fitokimia air daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*), daun Kemuning (*Murraya paniculata*), rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar*), dan daun Murbei (*Morus alba*) didapatkan senyawa aktif berupa flavonoid, saponin, steroid, tanin, dan triterpenoid^{7,10}. Secara *in-vitro*, kombinasi infusa Jati Belanda, Kemuning, dan Bangle (JKB) mempunyai efek antihiperlipidemia melalui inhibisi enzim lipase pankreas sehingga absorpsi lemak dalam usus terhambat dan lipid yang terbentuk berkurang^{10,11}. Aktivitas antioksidan secara *in-vitro* juga terdapat dalam masing-masing ekstrak daun Jati Belanda, daun Kemuning, daun Murbei, dan Rimpang Bangle^{7,12-14}. Secara *in-vivo*, ekstrak daun Jati Belanda memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat kerja NSAID¹⁵, ekstrak daun Kemuning dengan menghambat TNF- α dan IL-6¹⁶, ekstrak daun Murbei menghambat *cyclooxygenase*¹⁷, dan rimpang Bangle menghambat *nuclear factor-kappa*¹⁸.

Dari penjelasan diatas, dapat diketahui bahwa belum ada penelitian yang menguji tentang pengaruh pemberian kombinasi herbal Jati Belanda, Kemuning, Murbei dan Bangle (JKMB) secara langsung terhadap terjadinya *remodeling* jantung sebab hiperlipidemia. Oleh karenanya, peneliti ingin melakukan penelitian terkait pengaruh kombinasi herbal Jati Belanda, Kemuning, Murbei dan Bangle (JKMB) secara *in-vivo* dalam proses *remodeling* jantung dengan mengamati deposit kolagen dan ketebalan dinding jantung tikus yang diinduksi diet tinggi lemak.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental laboratorik *in-vivo* dengan desain *control group post test only*. Hewan coba tikus wistar jantan diberi pakan diet tinggi lemak modifikasi (DTLM) dan ekstrak air kombinasi herbal JKMB selama 12 minggu. Penelitian 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.

Subjek Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus novergicus* strain wistar, yang berusia 8 minggu dengan berat badan 150-200 g¹⁹. Jumlah hewan coba yang digunakan adalah 25 ekor. Tikus dibagi dalam 5 kelompok dengan rincian kontrol negatif/ KN (n=5), kontrol positif/ KP (n=5), kelompok dosis 1/ KD1 (n=5), kelompok dosis 2/ KD2 (n=5), dan kelompok dosis 3/ KD3 (n=5).

Pemberian Diet

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 200 g *Confeed* PAR-S, 100 g terigu, 6 g kolesterol, 0,4 g asam kolat, minyak babi 30 ml dan air 60 ml¹⁹. Pemberian pakan dilakukan secara *ad libitum* sebanyak 25 g sehari sekali setiap pukul 16.00.

Pembuatan Ekstrak Air Kombinasi JKMB

Pembuatan kombinasi JKMB menggunakan metode infusa. Masing-masing herbal ditimbang sesuai dosis, ditambah dengan air 200 ml, kemudian dipanaskan diatas tangas air selama 15 menit dengan suhu 90 °C. Hasil infusa disaring dan disimpan. Kombinasi JKMB diberikan sesuai dosis yang sudah dikonversi melalui *traditionaloven converter* dan didapatkan masing-masing dosis pada setiap kelompok sebagai berikut: KD1 (189 mg/ 200g), KD2 (378 mg/ 200g), KD3 (756 mg/ 200g)⁸. Pemberian ekstrak sebanyak 2 ml infusa/tikus secara sonde oral dilakukan setiap pukul 16.00 dan diberikan selama 12 minggu.

Pembuatan dan Pemeriksaan Histologi Jantung

Setelah membedah dan mendapatkan organ jantung utuh, jantung difiksasi dalam *buffer* formalin 10% selama 18 jam, jaringan yang berukuran besar dibelah. Kemudian jaringan yang telah difiksasi dipotong sempurna dengan ketebalan 2-3 mm. Potongan jaringan tersebut dimasukkan dalam *tissue cassette* yang dilabel dan ditutup untuk kemudian dilanjutkan ke proses dehidrasi, pembedahan (*clearing*), pembedahan (*impregnasi/embedding*), pengecoran (*blocking*), lalu didinginkan pada lempeng pendingin. Tahap selanjutnya yaitu pemotongan (*sectioning*) dengan mikrotom, hasil pemotongan berupa pita tipis dimasukkan ke *waterbath* berisi air hangat lalu diambil dengan *object glass* yang diolesi albumin gliserin. Selanjutnya dilakukan inkubasi *over night* di inkubator. Tahap selanjutnya adalah pewarnaan (*staining*)²⁰.

Pewarnaan deposit kolagen menggunakan metode *Masson's Trichrome* sebagai berikut: melakukan deparafinasi yang telah kering dalam xilol, kemudian secara bertahap meneteskan preparat dengan larutan *Bouin's* yang sebelumnya sudah dipanaskan di *waterbath* 56 – 64 °C di lemari asam,

mewarnai preparat dengan campuran *Weigert A* dan *Weigert B* dengan perbandingan 1:1, dan meneteskan larutan *Acid Fuchsin*. Preparat dicuci dengan air mengalir pada setiap pergantian tahap. Kemudian meneteskan larutan *Phosphomolybdic* hingga kolagen tidak berwarna merah, dan selanjutnya tanpa dicuci meneteskan larutan *Anilin Blue*. Setelah kembali dicuci, meneteskan larutan *acetic acid* 1 % ke preparat lalu dilanjutkan dengan proses dehidrasi dan *clearing* xilol²⁰.

Pewarnaan ketebalan dinding jantung menggunakan metode *Haematoxylin Eosin* sebagai berikut: melakukan deparafinasi preparat yang telah kering dalam xilol, kemudian secara bertahap memasukkannya ke dalam alkohol 96%, cat hematoxilin, cat eosin, larutan alkohol 1 dan larutan alkohol 2. Preparat dicuci dengan air mengalir pada setiap pergantian tahap. Selanjutnya dimasukkan ke dalam xilol kembali dan tanpa dicuci dilanjutkan pada proses terakhir yaitu *mounting*²⁰.

Preparat deposit kolagen diamati dibawa mikroskop trinokuler dengan perbesaran 400x dan ketebalan dinding jantung dengan perbesaran 20x²¹. Penghitungan deposit kolagen dilakukan dengan *Image J* menggunakan menu *color deconvolution* dan penyesuaian *threshold*, kemudian dengan menu *analyze particle* didapatkan persentase deposit kolagen. Penghitungan ketebalan dinding jantung menggunakan aplikasi *Image J* dengan menarik garis dari bagian subendokardium hingga subepikardium dinding ventrikel kiri, satuan menggunakan μm ²¹.

Teknik Analisa Data

Data yang didapatkan diuji normalitas menggunakan *kolmogorov-smirnov* dan dilanjutkan dengan uji homogenitas. Data BB awal, BB akhir, dan asupan pakan diuji statistik menggunakan *Kruskal Wallis* dan *2-Independent test Mann-Whitney*. Data Δ BB diuji statistik menggunakan *One way ANOVA* dan *Post Hoc LSD*. Data deposit kolagen diuji statistik menggunakan *One way ANOVA*. Data ketebalan jantung diuji statistik menggunakan *One way ANOVA* dan *Post Hoc LSD*.

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel

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

Tabel 1. Karakteristik Sampel

	KN	KP	KD1	KD2	KD3
Jumlah sampel	5	5	5	5	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
—					
X BB Awal (g)	174.40 ± 19.24	178.80 ± 17.51	172.60 ± 23.82	172.40 ± 15.44	170.00 ± 16.69
—					
X BB Akhir (g)	292.80 ± 14.46	304.60 ± 24.67	225.60 ± 46.93	267.80 ± 44.82	268.40 ± 25.28
—					
X Δ BB (g)	118.40 ± 16.54 ^a	125.80 ± 21.57 ^a	53.00 ± 35.46	95.40 ± 46.96	118.40 ± 52.58 ^a
Asupan pakan/ hari	24.78 ± 0.17 ^a	24.82 ± 0.17 ^{a,b}	23.30 ± 0.63 ^b	24.29 ± 0.56 ^a	24.66 ± 0.20 ^a

Keterangan : Data dalam mean ± standar deviasi (SD). Data BB awal, BB akhir, dan asupan pakan diuji statistik menggunakan *Kruskal Wallis* dan *2-Independent test Mann-Whitney*. Data Δ BB diuji statistik menggunakan *One way ANOVA* dan *Post Hoc LSD*. KN, kontrol negatif; KP, kontrol positif; KD1, kelompok dosis 1; KD2, kelompok dosis 2; KD3, kelompok dosis 3; BB, berat badan; TD, tekanan darah. (a) $p < 0.05$, dengan KD1; (b) $p < 0.05$, dengan KD2.

Pada kelompok KN, KP, KD1, KD2, dan KD3 tidak didapatkan perbedaan yang signifikan ($p > 0.05$) pada rerata berat badan awal dan berat badan akhir. Terdapat perbedaan signifikan ($p < 0.05$) pada Δ berat badan antara KD1 dengan KN, KP, dan KD3. Penurunan Δ berat badan pada KD1 sebesar 58% dibandingkan KP. Data asupan pakan juga berbeda signifikan ($p < 0.05$) antara KD1 dengan KN, KP, KD2, dan KD3, dan antara KD2 dengan KP dan KD1. Penurunan asupan pakan pada KD1 dan KD2 secara berturut-turut sebesar 6% dan 2% dibandingkan KP.

Kadar Deposit Kolagen Tikus

Tabel 2. Rerata Persentase Deposit Kolagen

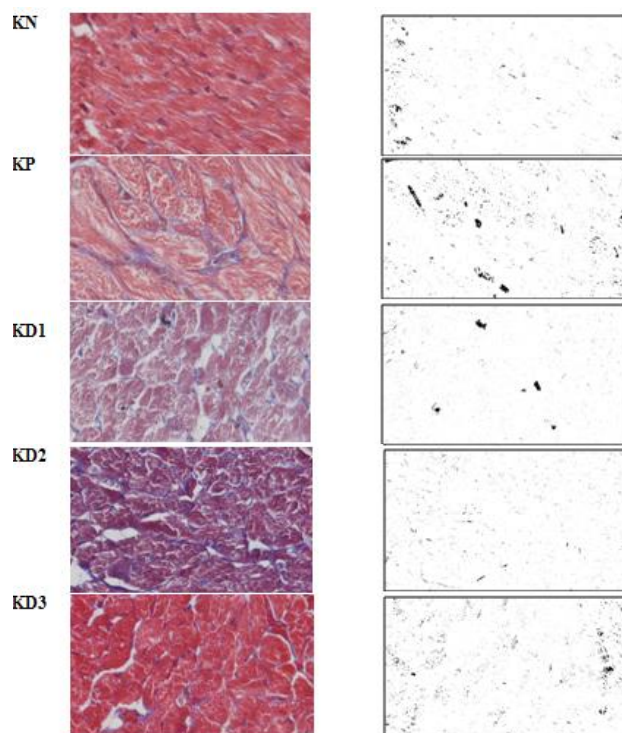
Perlakuan	N	Rerata Mean ± SD (%)
KN	5	0,921 ± 0,56
KP	5	1,733 ± 1,30
KD1	5	1,103 ± 0,85
KD2	5	1,300 ± 0,82
KD3	5	1,373 ± 0,99

Keterangan :

Data dalam mean ± SD. KN, kontrol negatif; KP, kontrol positif; KD1, kelompok dosis 1; KD2, kelompok dosis 2; KD3, kelompok dosis 3. Data diuji statistik menggunakan *One way ANOVA*. Tidak didapatkan hasil yang signifikan ($p > 0,05$) antara KN, KP, KD1, KD2 dan KD3.

Pemberian DTLM cenderung meningkatkan deposit kolagen jantung tikus wistar jantan dibandingkan kelompok kontrol negatif (KN) meskipun tidak signifikan ($p > 0.05$). Kombinasi ekstrak air JKMB pada KD1 (189mg/ 200gBB), KD2 (189mg/ 200gBB), dan KD3 (189mg/ 200gBB) menurunkan deposit kolagen jantung tikus wistar jantan dibandingkan kelompok kontrol positif (KP) berturut-turut sebesar 36%, 25%, dan 21%.

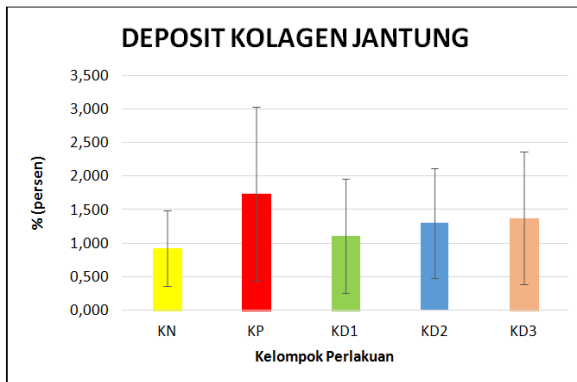
Hasil uji statistik terhadap KD1, KD2, dan KD3 menghasilkan perbedaan yang tidak signifikan antar kelompok-kelompok. Deposit kolagen yang diamati dapat dilihat pada gambar 1



Gambar 1. Histologi Jantung Tikus (400x, menggunakan mikroskop trinokuler)

Keterangan :

Gambar 1 menunjukkan gambaran histologi jantung tikus dengan pewarnaan *Masson Trichrome* (kiri) dan penyesuaian *color threshold* (kanan) pada kelompok kontrol negatif (KN), kontrol positif (KP), kelompok dosis 1 (KD1), kelompok dosis 2 (KD2), dan kelompok dosis 3 (KD3).

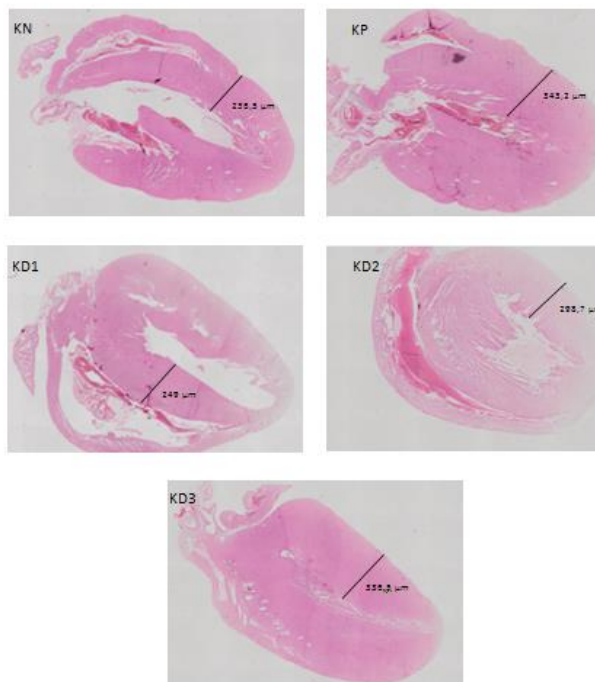


Gambar 2 Histogram Rerata Persentase Deposit Kolagen

Keterangan :

Gambar 2 menunjukkan rerata deposit kolagen pada Kontrol Negatif (KN, $0,921 \pm 0,56$), Kontrol Positif (KP, $1,733 \pm 1,30$), Kelompok Dosis 1 (KD1, $1,103 \pm 0,85$), Kelompok Dosis 2 (KD2, $1,300 \pm 0,82$), dan Kelompok Dosis 3 (KD3, $1,373 \pm 0,99$). Data dalam mean $\pm$ SD.

Ketebalan Dinding Jantung Tikus



Gambar 3 Histologi Jantung Tikus (20x, menggunakan mikroskop trinokuler)

Keterangan :

Gambar 3 menunjukkan gambaran histologi jantung tikus wistar jantan dengan pewarnaan *Haematoxylin Eosin* pada kelompok KN (kontrol negatif), KP (kontrol positif), KD1 (kelompok dosis 1), KD2 (kelompok dosis 2), dan KD3 (kelompok dosis 2). Perbesaran 20x. Ketebalan Dinding jantung digambarkan garis hitam dan dinyatakan dalam μm .

Pemberian DTLM pada KP secara signifikan ($p < 0,05$) meningkatkan ketebalan dinding jantung tikus wistar jantan dibandingkan KN. Ekstrak air kombinasi JKMB pada KD1 ($189\text{mg}/200\text{gBB}$)

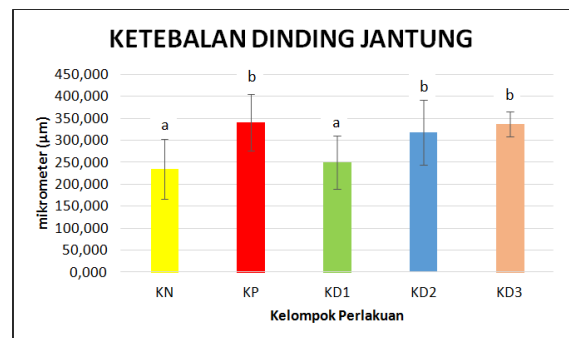
secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan ketebalan dinding jantung tikus wistar jantan dibandingkan KP (penurunan sebesar 26%). Sedangkan pada KD2 ($378\text{mg}/200\text{gBB}$) dan KD3 ($756\text{mg}/200\text{gBB}$), meskipun tidak signifikan, namun secara berturut-turut dapat menurunkan ketebalan dinding jantung tikus wistar jantan sebesar 6,8% dan 1,2% dibandingkan KP. Ketebalan dinding jantung yang diamati dapat dilihat pada gambar 3

Tabel 3. Rerata Ketebalan Dinding Jantung

Perlakuan	N	Rerata Mean $\pm$ SD (μm)
KN	5	$234,33 \pm 68,18^a$
KP	5	$341,22 \pm 64,26^b$
KD1	5	$250,06 \pm 60,38^a$
KD2	5	$317,92 \pm 73,26^b$
KD3	5	$337,12 \pm 27,80^b$

Keterangan

Data dalam mean $\pm$ SD. KN, kontrol negatif; KP, kontrol positif; KD1, kelompok dosis 1; KD2, kelompok dosis 2; KD3, kelompok dosis 3. Data diuji statistik menggunakan *One way ANOVA* dan *Post Hoc LSD*. (a) $p < 0,05$, dengan KP dan KD3; (b) $p < 0,05$, dengan KN.



Gambar 4 Histogram Rerata Ketebalan Dinding Jantung

Keterangan :

Gambar 4 menunjukkan rerata ketebalan dinding jantung pada Kontrol Negatif (KN, $234,33 \pm 68,18$), Kontrol Positif (KP, $341,22 \pm 64,26$), Kelompok Dosis 1 (KD1, $250,06 \pm 60,38$), Kelompok Dosis 2 (KD2, $317,92 \pm 73,26$), dan Kelompok Dosis 3 (KD3, $337,12 \pm 27,80$). Data dalam mean $\pm$ SD. (a) $p < 0,05$, dengan KP dan KD3; (b) $p < 0,05$, dengan KN.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Sampel pada penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan usia 8 minggu. Pemilihan tikus wistar jantan sebagai subjek penelitian dikarenakan spesies ini merupakan salah satu model hewan coba aterosklerosis yang memiliki beberapa kelebihan berupa pembiayaan yang murah, ketersediaan tinggi, kemudahan dalam proses pemeliharaan²², dan kemiripan struktur serta pengaturan sistem kardiovaskular seperti manusia²³. Pada usia 8 minggu, tikus memasuki masa dewasa muda. Dimana pada usia tersebut tikus menunjukkan pola fisiologi organ dan sistemik

serta patogenesis penyakit yang sama dengan manusia²⁴.

Penelitian ini memformulasikan diet tinggi lemak modifikasi (DTLM) untuk menginduksi hiperlipidemia. Komposisi DTLM terdiri dari *Confeed* PARS 200 g, terigu 100 g, kolesterol 4 g, minyak babi 30 ml, asam kolat 0,4 g dan air 60 ml. Dikarenakan tikus tidak memiliki aktivitas CETP plasma, transpor kolesterol tikus cenderung menggunakan partikel HDL²⁴. Oleh karenanya pemberian asam kolat dimaksudkan untuk menekan kadar HDL. Penambahan kolesterol dan minyak babi digunakan untuk menginduksi peningkatan LDL, dan penggunaan PARS serta terigu sebagai sumber karbohidrat yang biasa digunakan sebagai dasar pembuatan pellet²⁵.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan adanya perubahan pada delta (Δ) berat badan tikus/ hewan coba dari saat awal sebelum perlakuan hingga akhir perlakuan. Perbedaan delta (Δ) berat badan ini tidak lepas dari besar kecilnya asupan makan dari masing-masing kelompok percobaan. Pada penelitian ini, jumlah berat basah pakan yang diberikan pada masing-masing kelompok adalah $\pm$ 25 gram, sesuai dengan kebutuhan rerata asupan pakan tikus yang berkisar 10 – 30 gram/hari²⁶.

Jumlah asupan pakan yang lebih banyak pada kelompok KP dan KN menyebabkan kenaikan berat badan yang paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya (KD1, KD2, KD3). Pemberian diet tinggi lemak secara kronis terbukti mampu mengakibatkan peningkatan leptin sentral yang kemudian menginduksi terjadinya resistensi leptin. Fungsi utama hormon ini adalah sebagai penanda lapar, dimana apabila resistensi terjadi maka jumlah leptin yang tertangkap reseptornya hanya sedikit dan hal ini merangsang pusat makan pada otak untuk sebaliknya meningkatkan nafsu makan²⁷.

Adanya penurunan yang signifikan ($p < 0.05$) antara KD1 dan KD2 dibandingkan KP menunjukkan bahwa ekstrak air JKMB mempengaruhi nafsu makan. Hal ini didukung dengan penelitian Yimam *et al* (2018) yang menunjukkan bahwa polifenol yang terkandung dalam ekstrak murbei mampu menurunkan konsumsi makanan pada tikus dengan diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa secara signifikan dan hal ini juga dapat diamati pada penurunan berat badan yang juga signifikan²⁸. Pada penelitian ini, KD1 menurunkan Δ berat badan secara signifikan ($p < 0.05$) dibandingkan KP. Sebagaimana dijelaskan oleh Martins *et al* (2009) bahwa ekstrak Jati Belanda, Kemuning, dan Bangle (JKB) memiliki aktivitas hambat enzim lipase pankreas yang selanjutnya mampu menurunkan absorpsi makanan di usus dan berkontribusi dalam menekan peningkatan berat badan tikus²⁹.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Kombinasi JKMB Terhadap Deposit Kolagen Jantung Tikus dengan Diet Tinggi Lemak

DTLM tidak meningkatkan kadar deposit kolagen dibanding KN. Leopoldo *et al* (2010) menjelaskan bahwa diet tinggi lemak yang kronis selama 10 bulan mampu menyebabkan terjadinya fibrosis di pembuluh koroner serta akumulasi kolagen di interstitium jantung³⁰. Interval pemberian diet tinggi lemak terendah yang mampu menyebabkan peningkatan deposit kolagen jantung yang signifikan didapatkan pada penelitian Li (2016) yaitu selama 15 minggu³¹. Pada umumnya, mekanisme yang mendasari peningkatan deposit kolagen dipengaruhi oleh monosit dari peradangan yang diinduksi DTLM³. Selain TNF- α , monosit juga melepaskan *Tumor Growth Factor* (TGF)- β yang mampu merangsang konversi fibroblas ke miofibroblas dan menginduksi terbentuknya kolagen di ruang interstisial dengan meningkatkan ekspresi gen matriks ekstraseluler dan menurunkan degradasi kolagen³².

Pada penelitian ini, diduga karena lama pemberian DTLM yang masih rendah (12 minggu) menyebabkan inflamasi yang terjadi akibat kerusakan endotel pembuluh darah yang menyebar pada miosit jantung belum mampu mencetuskan *remodeling* jantung itu sendiri, sehingga peningkatan pembentukan deposit kolagen yang terjadi tidak signifikan. Dibandingkan dengan Li *et al* (2016), komposisi diet tinggi lemak yang diberikan sebesar 60% kalori berasal dari lemak, sedangkan pada penelitian ini total kalori yang berasal dari lemak hanya sebesar 29.2%, sehingga hal ini juga menjadi sebab terjadinya pembentukan deposit kolagen yang tidak signifikan³¹.

Secara teori, ekstrak air JKMB memiliki potensi dalam menurunkan deposit kolagen. Ann *et al* (2008) yang menjelaskan bahwa kandungan polifenol dalam murbei mampu meregulasi profil lipid dan menurunkan fibrosis hepar yang diperiksa menggunakan ekspresi gen kolagen³³. Efek biologis yang terkandung dalam murbei mampu menurunkan resiko aterosklerosis dengan menstabilkan radikal bebas melalui peningkatan aktivitas antioksidan³³. Flavonoid juga mampu bertindak sebagai antiinflamasi dengan menghambat aktivitas *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B) yang selanjutnya menghambat adhesi monosit dan proses radang yang lebih lanjut³⁴. Namun, disini peneliti tidak mampu mengidentifikasi kemampuan ekstrak air kombinasi JKMB pada KD1, KD2, dan KD3 terhadap deposit kolagen jantung tikus dengan DTLM dikarenakan tidak terbentuknya kolagen pada KP, dimana KD1, KD2, dan KD3 juga menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan dengan KP.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Kombinasi JKMB Terhadap Ketebalan Dinding Jantung Tikus dengan Diet Tinggi Lemak

Ketebalan dinding jantung tikus wistar jantan pada KP meningkat signifikan ($p < 0.05$) dibanding KN. Patogenesis yang memungkinkan terjadinya

peningkatan ketebalan dinding jantung diinduksi oleh lemak jenuh yang merupakan bahan bakar utama untuk metabolisme jantung. Akumulasi dari kelebihan lipid menyebabkan terjadinya lipotoksitas dan stres oksidatif yang menstimulasi mitokondria secara berlebihan dan mengaktifkan mekanisme molekuler dari *remodeling* jantung³. Akumulasi radikal bebas selama oksidasi lipid menyebabkan kerusakan pada protein dan DNA, dimana hipofosforilasi dari protein titin pada jantung akan menghilangkan rem pada rangsangan prohipertrofik yang selanjutnya menginduksi hipertrofi kardiomiosit³.

Namun ketebalan dinding jantung KP sebesar 0.34 ± 0.06 mm masih tergolong rendah dibandingkan *baseline* ketebalan jantung tikus wistar normal (4.92 ± 1.03 mm)³⁵. Martins *et al* (2015) menjelaskan bahwa pemberian diet tinggi lemak mampu menyebabkan cedera jantung pada minggu ke 15, sedangkan *remodeling* jantung baru dapat diamati pada minggu ke 30 setelah perlakuan³. Bersamaan dengan hal tersebut, deposit kolagen yang terbentuk juga tidak signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa peningkatan ketebalan jantung dengan pemberian DTLM selama 12 minggu pada penelitian ini belum mampu menginduksi terjadinya hipertrofi patologis dengan sebab rendahnya waktu pemberian DTLM dan rendahnya komposisi lemak pada DTLM yang diberikan seperti yang sudah dijelaskan pada pembahasan sebelumnya.

Pemberian ekstrak air JKMB pada KD1 mampu menurunkan ketebalan dinding jantung secara signifikan ($p < 0.05$) sebesar 26% dibandingkan KP. JKMB mengandung senyawa flavonoid yang mampu berperan sebagai antiinflamasi. Hal ini didukung oleh penelitian Wu *et al* (2013) yang menjelaskan bahwa flavonoid kumarin yang terkandung pada Kemuning mampu menurunkan mediator inflamasi, salah satunya TNF- α dan IL-1³⁶. Sehingga aktivitas antiinflamasi dalam JKMB ini selanjutnya mencegah inflamasi miokardial yang terjadi dan menurunkan kemungkinan terjadinya hipertrofi jantung. JKMB juga memiliki aktivitas antihiperlipidemia, sebagaimana dijelaskan oleh Martins *et al* (2010), Jati Belanda, Kemuning, dan Bangle mengandung saponin yang mampu menghambat kinerja enzim lipase pankreas, yang apabila kerja enzim ini dihambat maka absorpsi lemak pada usus juga akan berkurang²⁹. Sehingga dengan aktivitas antihiperlipidemia ini, lemak yang terbentuk semakin rendah dan kaskade patofisiologi hiperlipidemia yang mengarah pada penebalan dinding jantung akan terhenti³⁷. Selain kandungan antiinflamasi dan antihiperlipidemia, JKMB mengandung senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan yang mampu menghambat terbentuknya LDL teroksidasi^{7,12-14}. Hal tersebut menjelaskan bagaimana kemampuan KD1 dalam menurunkan ketebalan dinding jantung dibandingkan KP.

Sedangkan, KD2 dan KD3 tidak mampu menurunkan ketebalan dinding jantung tikus wistar jantan dengan DTLM. Diketahui bahwa toksisitas dari dosis tunggal ekstrak air Jati Belanda didapatkan pada kadar 424 mg/KgBB. Pada dosis tersebut ekstrak air Jati Belanda menyebabkan terjadinya peningkatan sel inflamasi yang ditunjang dengan pemeriksaan histologis ditemukannya infiltrasi granulosit, limfosit, monosit, eosinofil, netrofil, dan basofil sebesar 66,6% pada ginjal tikus³⁸. Sedangkan pada KD2 dan KD3 secara berturut-turut komposisi Jati Belanda sebanyak 720 dan 1440 mg/KgBB yang menunjukkan kadar ekstrak daun Jati Belanda melewati batas toksisitas tunggalnya. Data lain pada penelitian ini menunjukkan bahwa kadar serum TNF- α pada KD2 dan KD3 melebihi KP (*unpublished data*), oleh karenanya inflamasi disertai peningkatan radikal bebas yang terjadi diduga mengaktifkan kaskade penebalan dinding jantung. Sehingga KD2 dan KD3 tidak mampu menurunkan ketebalan dinding jantung tikus yang diinduksi DTLM.

Hal lain yang mampu menjadi penyebab tidak signifikannya perbedaan ketebalan dinding jantung yang terjadi pada KD2 dan KD3 adalah perumusan dosis JKMB yang kurang tepat. Dosis herbal yang digunakan pada penelitian ini merujuk pada penggunaan masyarakat secara empiris 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 bangle⁸. Dosis ini selanjutnya dikonversikan kedalam satuan gram menggunakan *converter online* kategori rempah-rempah di sebuah *website* yang hasilnya dikonversikan lagi ke tikus (200grBB) dengan faktor konversi 0.018, dan diperoleh dosis kombinasi JKMB KD2 dengan komposisi 144 : 54 : 54 : 126 mg/200gBB. Komposisi ini tidak sesuai dengan penimbangan serbuk herbal secara langsung (118,8 : 43,56 : 43,2 : 163,8 mg/200gBB). Oleh karenanya, hal ini turut menjadi penyebab KD2 dan KD3 tidak mampu menurunkan ketebalan dinding jantung tikus yang diinduksi DTLM..

KESIMPULAN

1. Pemberian ekstrak air kombinasi JKMB tidak berpengaruh pada deposit kolagen jantung tikus dengan DTLM.
2. Ekstrak air kombinasi JKMB dosis 189 mg/200gBB menurunkan ketebalan dinding jantung tikus dengan DTLM dibanding kontrol positif.

SARAN

1. Melakukan penelitian serupa dengan komposisi DTLM yang lebih tinggi serta waktu pemberian yang lebih lama.
2. Mencari dosis optimum dan uji toksisitas kombinasi JKMB

UCAPAN TERIMAKASIH

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

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. *Global Health Observatory data repository*. Retrieved from <http://apps.who.int/gho/data/view.main.2570?lang=en>. 2013. Diakses pada November 2018
2. Qian, Y., Zhong, P., Liang, D., Xu, Z., Skibba, M., Zeng, C. A Newly Designed Curcumin Analog Y20 Mitigates Cardiac Injury via AntiInflammatory and Anti-Oxidant Actions in Obese Rats. *PLoS ONE* 10 (3): e0120215. 2015
3. Martins, F., Henrique, D., Campos, S., Pagan, LU., Martinez, PF., Okoshi, K., Okoshi, MP., Padovani, CR., de Souza, AS., Cicogna, AC., and de Oliveira-Junior, SA. High-fat Diet Promotes Cardiac Remodeling in an Experimental Model of Obesity. *Arq Bras Cardiol*. Nov; 105(5): 479–486. 2015.
4. Sherwood, L. *Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem*. EGC: Jakarta. 2014.
5. Sedova, L., Julie, B., DeBlois, D., Tremblay, J., Hamzet, P., Pausova, Z. P-328: High-fat diet augments cardiac hypertrophy and delays blood pressure recovery from stress in spontaneously hypertensive rat. *American Journal of Hypertension*. 2003; Vol:16, S1, 155A.
6. Thompson, Paul D., Panza, Gregory., Zaleski, Amanda., Taylor, Beth. Statin-Associated Side Effect. *American College of Cardiology*. 2016: Vol. 67, No. 20.
7. 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
8. Mallaleng, Husin Rasyeh. Unik Purwaningtyas. Risa hermawati. Naning Solicha, Farid Zulkarnain. N.S. *Tanaman Obat untuk Penyakit Sindrom Metabolisme*. Malang. Universitas Negeri Malang. 2015
9. Parasuraman, S., Thing, G.S., Dhanaraj, S.A. Polyherbal Formulation. *Pharmacogn Rev*. 2014; 8(16) : 73-80.
10. 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*. 2011;18 no.1(6-10)
11. 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. *Obesity*. 2009: 18:42-47.
12. Batubara, I., Kotsuka, S., Yamauchi, K., Kuspradini, H., Mitsugana, T., Darusman, L.k. *tnf-alpha* production inhibitory activity, phenolic, flavonoid, and tannin contents of selected indonesian medicinal plants. *Research journalof medicinal plants*. 2012: Vol. 6(6):406-415
13. Zhang Zhang M, Xie Z, Gao W, Pu L, Wei J, Guo C. Quercetin regulates hepatic cholesterol metabolism by promoting cholesterol-to-bile acid conversion and cholesterol efflux in rats. *Nutrition research*. 2016. 36(3): 271–279
14. Marliani, Lia., Rahmawati, Winasih., Sinurat, Anju. *Antioxidant Activity And Total Phenolic Content Of Bangle (Zingiber Cassumunar Roxb.) Rhizome*. Bandung Collage of Pharmacy (STFB). 2015. Volume 7, No.2.
15. Berenguer, B., Trabadel, C., Sánchez-Fidalgo, S., Quílez, A., Miño, P., De la Puerta, R., Martín-Calero, MJ. The aerial parts of *Guazuma ulmifolia* Lam. protect against NSAID-induced gastric lesions. *J Ethnopharmacol*. 2007 Nov 1;114(2):153-60.
16. Rodanant, P., Khetkam, P., Suksamrarn, A., Kuvatanasuchati, J. Coumarins and flavonoid from *Murraya paniculata* (L.) Jack: Antibacterial and anti-inflammation activity. *Pak J Pharm Sci*. 2015 Nov;28(6):1947-51.
17. Aditya, RSJ., Ramesh, CK., Riaz, M., Pprabhakar, BT. Antimicrobial Activities in Some Species of Mulberry. *Intj Pharm Schi*. 2012: 4 Suppl 5
18. Ozaki, Y., Kaahara, N., Harada, M. Anti-Inflammatory Effect Of *Zingiber cassumunar* Roxb And Its Activeprinciples. *Chem Pharm Bull*. 1991: 39:2353 – 2356
19. Murwani, S., Mulyohadi, A., & Ketut, M. *Diet Aterogenik pada Tikus Putih (Rattus novergicus Strain Wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2006: 22(1): 6-9
20. Patologi Anatomi FKUB. *Pembuatan Preprat NIH, Pewarnaan Hematoksin Eosin, dan Pewarnaan Masson Trichrome*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. 2018
21. McAdams, R.M., McPherson, R.J. Juul, S.E. *Left Ventricular Hypertrophy Is Prevalent In Sprague-Dawley Rats*. *Comp Med*. 2010: 60(05): 357-363.
22. Xin-Fang, L., Chun-Yi, Ng., Kamsih, J. *Animal Models in Cardiovascular Research: Hypertension and Atherosclerosis*. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 528757
23. Treuting, PM., Dintzis, SM., Montine, KS. *Comparative Anatomy And Histology A Mouse, Rat, And Human Atlas*. Second Edition. Elsevier Inc. United Kingdom. 2018: pp 167-172
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. Srivastava, RAK., Srivastava, N., and Aversa, M. 2000. *Dietary Cholic Acid Lowers Plasma Levels Of Mouse And Human Apolipoprotein A-I Primarily Via A Transcriptional Mechanism*. Eur. J. Biochem. Q FEBS 4272±4280. 2000: 267.
26. Husbandry. Johns Hopkins University. Retrieved from: web.jhu.edu/animalcare/procedures/rat. Diakses pada November 2018
27. Scarpace, PJ. dan Zhang, Yi. 2008. Leptin resistance: a predisposing factor for diet-induced obesity. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 296: R493–R500
28. Yimam, M., Jiao, P., Hong, M., Brownell, L., Yong-Chul, L., Eu-Jin, H., Hyun-Jin, K., Tae-Woo, K., Jeong-Bum, N., Mi-Ran, K., Jia, Q. Evaluation of Natural Product Compositions for Appetite Suppression. *Journal of Dietary Supplements*. 2018: 1429518.
29. 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. *Obesity*. 2009. 18:42-47.
30. Leopoldo, André., Sugizaki, Mário., Paula, Lima-Leopoldo., Nascimento, Ana., André, Ferreira., Luvizotto, Renata., Campos, Dijon., Okoshi, Katashi., Dal-Pai-Silva, Maeli., Padovani, Carlos., Cicogna, Antonio. *Cardiac Remodeling In A Rat Model Of Diet-Induced Obesity*. The Canadian journal of cardiology. 26. 423-9. 2010.
31. Li, Wei., Renqiao, Tang., Shengrong, Ouyang., Feifei, Ma., Zhuo, Liu., and Jianxin, Wu. Folic acid prevents cardiac dysfunction and reduces myocardial fibrosis in a mouse model of high-fat diet-induced obesity. *Nutr Metab (Lond)*. 2017; 14: 68.
32. Verrecchia, F., Mauviel, A. 2007. Transforming Growth Factor- β And Fibrosis. *World J Gastroenterol*. 13(22) : 3056-3062
33. Ann, J., Hyeyoon, Eo., and Yunsook, Lim. Mulberry leaves (*Morus alba* L.) ameliorate obesity-induced hepatic lipogenesis, fibrosis, and oxidative stress in high-fat diet-fed mice. *Genes Nutr*. 2015 Nov; 10(6): 46.
34. Siasos G. Flavonoids in Atherosclerosis: An Overview of Their Mechanisms of Action. University of Athens Medical School. 2013.
35. Azar, A., Tavakoli, F., Moladoust, H., & Zare, A. *Echocardiographic evaluation of cardiac function in ischemic rats: Value of m-mode echocardiography*. *Research in Cardiovascular Medicine*, 3(4), 5. 2014.
36. Wu, NA. Activation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase during high fat diet feeding. *Biochimica et Biophysica acta*. Canada. 2013.
37. Hsieh, YL., Shibu, MA., Lii, CK., Viswanadha, VP., Lin, YL., Lai, CH., Chen, YF., Lin, KH., Kuo, WW., Huang, CY. Andrographis paniculata extract attenuates pathological cardiac hypertrophy and apoptosis in high-fat diet fed mice. *J Ethnopharmacol*. 2016. 4;192:170-177.
38. Rozqie, R., Diah, M., Rukmi, WP. *The Effect Of Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk) Leaves Extract On Histopatology Of Rat's Kidney*. TMJ 2005;2,1.p.57-60.