

**EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH ANGGUR (*Vitis vinifera* L.)
MENINGKATKAN KADAR *LOW-DENSITY LIPOPROTEIN* (LDL) TIKUS
WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI DIET TINGGI KOLESTEROL
Nuril Hidayah¹, Ni Made Linawati², I Wayan Sugiritama²**

¹Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter Fakultas Kedokteran
Universitas Udayana

²Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana
e-mail: nurilhidayah8@gmail.com

ABSTRAK

Kebiasaan mengonsumsi makanan tinggi kolesterol dapat menyebabkan dislipidemia, yang kemudian dapat bermanifestasi menjadi aterosklerosis. Menurut penelitian eksperimental sebelumnya, kulit buah anggur memiliki kandungan antosianin yang dapat mengakibatkan penurunan kadar LDL darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol kulit buah anggur terhadap kadar LDL tikus wistar yang diberi diet tinggi kolesterol. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post-test only control group design*. Dua puluh lima tikus wistar jantan berusia dua hingga tiga bulan dengan berat badan 150-200 gram dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol (pakan standar), P1 (diet tinggi kolesterol), P2 (diet tinggi kolesterol dan 100 mg/200 gBB/hari ekstrak), P3 (diet tinggi kolesterol dan 250 mg/200 gBB/hari ekstrak), dan P4 (diet tinggi kolesterol dan 500 mg/200 gBB/hari ekstrak). Hasil penelitian menunjukkan kelompok P3 memiliki rerata kadar LDL serum lebih tinggi dibanding kelompok P1 (nilai $P < 0,05$). Rerata kadar LDL serum kelompok kontrol sebesar 3,12 mg/dL; P1 sebesar 7,66 mg/dL; P2 sebesar 7,54 mg/dL; P3 sebesar 14,40mg/dL; dan P4 sebesar 13,56 mg/dL. Berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya, kadar LDL mengalami peningkatan pada tikus yang diberikan ekstrak kulit anggur. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit buah anggur dengan dosis 250 mg/200 gBB/hari selama 15 hari dapat meningkatkan kadar LDL serum tikus wistar yang diberi diet tinggi kolesterol secara signifikan.

Kata kunci: diet tinggi kolesterol, kulit anggur, LDL

ABSTRACT

The habit of consuming foods high in cholesterol can cause dyslipidemia, which can then manifest into atherosclerosis. According to previous experimental studies, grape skin has anthocyanin content which can cause a decrease in blood LDL levels. The study aim is to determine the effect of the ethanol extract of grape skins on LDL levels in wistar rats fed a high cholesterol diet. This is an experimental study with post-test only control group design. Twenty-five male wistar rats aged two to three months with a body weight of 150-200 grams were divided into five groups, namely the control group (standard feed), P1 (high cholesterol diet), P2 (high cholesterol diet and 100 mg/200 gBW/day extract), P3 (high cholesterol diet and 250 mg/200 gBW/day extract), and P4 (high cholesterol diet and 500 mg/200 gBW/day extract). The results showed the P3 group had a mean serum LDL level higher than the P1 group (P value < 0.05). The mean serum LDL level in the control group is 3.12 mg/dL; P1 is 7.66 mg/dL; P2 is 7.54 mg/dL; P3 is 14.40 mg/dL; and P4 is 13.56 mg/dL. In contrast to previous study, LDL levels increased in

rat given grape skin extract. Based on research, the administration of the ethanol extract of grape skin with a dose of 250 mg/200 gBW/day for 15 days can significantly increase serum LDL levels of wistar rats given a high cholesterol diet significantly.

Keywords: high cholesterol diet, grape skin, LDL

PENDAHULUAN

Makanan cepat saji yang tinggi akan kandungan kolesterol dapat menyebabkan kadar lipid tersebut di dalam tubuh tidak dalam batas normal.¹ Hal inilah yang disebut dengan dislipidemia, yaitu kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan kadar kolesterol total, trigliserida, dan *Low-Density Lipoprotein* (LDL) yang meningkat serta kadar *High-Density Lipoprotein* (HDL) yang menurun.²

Dislipidemia akan meningkatkan peroksidasi lipid serta menurunkan enzim antioksidan, yang berperan dalam pembentukan plak aterosklerotik.³ Berdasarkan studi klinis, peningkatan HDL belum mampu digunakan sebagai proteksi kardiovaskular. Oleh karena itu, peningkatan HDL tidak menurunkan risiko kardiovaskular, bila target kolesterol LDL sudah tercapai. Selain itu, masih terjadi perdebatan mengenai peningkatan kadar trigliserida dapat memprediksi adanya penyakit kardiovaskular. Sedangkan, berdasarkan studi luaran klinis, kadar LDL memiliki hubungan yang kuat dengan kejadian kardiovaskular, sehingga LDL menjadi target utama dalam tata laksana dislipidemia.⁴

Aterosklerosis merupakan keadaan berupa kekakuan dan kerapuhan arteri karena penebalan dan pengerasan dindingnya, dan dapat bermanifestasi menjadi penyakit jantung koroner (PJK). Pada lebih dari 90% kasus, PJK merupakan manifestasi dari aterosklerosis. Saat ini penyakit kardiovaskular berada di urutan teratas pada penyakit penyebab kematian. Menurut data WHO, pada tahun 2012 terdapat 17,5 juta kematian di dunia oleh karena penyakit kardiovaskular, dengan PJK menduduki posisi tertinggi yaitu sebanyak 42%.⁵

Penatalaksanaan dislipidemia dalam rangka pencegahan penyakit kardiovaskular dapat dilakukan dengan menggunakan obat yang dapat mengendalikan kadar kolesterol. Akan tetapi, apabila obat tersebut digunakan dalam jangka waktu panjang dapat menyebabkan efek samping di antaranya nyeri abdomen, nyeri lambung, insomnia, depresi, berat badan yang menurun, urtikaria, disuria, dan distorsi pengecapan.⁶ Upaya mengatasi penyakit kardiovaskular masih mengandalkan obat-obatan sintesis yang memerlukan biaya yang mahal, sehingga belum tentu semua kalangan bisa menjangkaunya. Untuk itu diperlukan adanya terapi herbal untuk mengatasi dislipidemia, sehingga dapat mencegah

terjadinya penyakit kardiovaskular utamanya jantung koroner.

Target utama dalam penatalaksanaan dislipidemia adalah LDL. Untuk itu dibutuhkan senyawa yang dapat mempengaruhi metabolisme LDL di dalam tubuh, baik itu menghambat penyerapan di usus, sintesis oleh sel hepar, maupun transportasi dalam darah. Antosianin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang dapat mempengaruhi kadar LDL. Menurut penelitian yang pernah dilakukan, antosianin dapat mengakibatkan penurunan kadar LDL.⁷ Selain itu, antosianin juga memiliki potensi antioksidan. Jika kadar LDL dalam tubuh berlebih dan bereaksi terhadap radikal bebas, akan mengakibatkan stress oksidatif. Pada kondisi tersebutlah potensi antioksidan dari antosianin akan berperan penting. Stress oksidatif yang berlangsung secara kontinu akan mengakibatkan timbulnya plak aterosklerosis. Pada penelitian sebelumnya, dihasilkan bahwa antosianin dapat mengurangi terjadinya perlemakan pada aorta tikus yang diberikan diet lemak babi. Perlemakan pada aorta merupakan tanda dari aterosklerosis.⁸

Buah anggur (*Vitis vinifera L.*) merupakan bahan alami yang memiliki kandungan antosianin, terutama pada bagian kulit buah.⁹ Keberadaan tanaman anggur di Indonesia, khususnya di Kecamatan Grokgak, Kabupaten Buleleng, Provinsi Bali, cukup mendukung. Dalam pembuatan *white wine*, kulit anggur merah tidak diikutsertakan, sehingga keadaan ini dapat dipergunakan sebagai pemanfaatan kulit anggur merah sebagai terapi herbal dalam pengobatan dislipidemia. Oleh karena itu, penulisan karya ini didasari oleh adanya keinginan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit buah anggur terhadap kadar LDL pada tikus wistar yang diberi diet tinggi kolesterol.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, dengan rancangan penelitian berupa *the post-test only group design*. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Analisis Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Unud. Proses pemberian diet tinggi kolesterol serta pengujian potensi ekstrak kulit buah anggur terhadap pencegahan aterosklerosis dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Unud. Kemudian proses pengukuran kadar LDL serum tikus dilakukan di Laboratorium Klinik Mantra Medika, Ketewel, Gianyar.

Penelitian dilakukan selama 30 hari menggunakan sebanyak 25 ekor tikus wistar jantan berumur dua sampai tiga bulan dengan berat badan ± 175 gram. Tikus dibagi menjadi lima kelompok yaitu kelompok kontrol (pakan standar/pakan 550), P1 (diet tinggi kolesterol), P2 (diet tinggi kolesterol dan ekstrak kulit anggur 100 mg/200 gBB/hari), P3 (diet tinggi kolesterol dan ekstrak kulit anggur 250 mg/200 gBB/hari), dan P4 (diet tinggi kolesterol dan ekstrak kulit anggur 500 mg/200 gBB/hari).

Diet tinggi kolesterol dibuat dengan komposisi lemak kambing 200 gram, kuning telur 100 gram, dan pakan standar 700 gram. Lemak kambing dicirikan kemudian dicampur dengan kuning telur bebek (rebus) dan pakan standar.

Pemberian pakan dilakukan secara *ad libitum*. Sebelum dilakukannya perlakuan, selama satu minggu tikus diaklimatisasi dengan pemberian pakan 550 (pakan standar). Pada perlakuan hari pertama, kelompok kontrol tetap diberi pakan standar selama 15 hari, sedangkan kelompok lainnya diberi diet tinggi kolesterol. Kemudian dilanjutkan dengan pemberian ekstrak kulit buah anggur pada kelompok P2, P3, dan P4 sesuai dosis yang telah ditentukan, sedangkan pada kelompok kontrol tetap dilanjutkan pemberian pakan standar dan kelompok P1 diberikan diet tinggi kolesterol. Sampel darah diambil dari vena orbital sebanyak 1-2 mL pada hari ke-31. Pengukuran kadar LDL dilakukan sebagai *post-test*.

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan izin kelaikan dari Komisi Etik Penelitian FK Unud dengan keterangan kelaikan nomor 603/UN14.2.2.VII.14/LP/2019.

HASIL

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan kadar LDL serum darah tikus memiliki rerata yaitu kelompok kontrol 3,12 mg/dL; P1 7,66 mg/dL; P2 7,54 mg/dL; P3 14,40 mg/dL; dan P4 13,56 mg/dL. Untuk lebih jelasnya, rerata kadar LDL disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar LDL serum darah tikus wistar

Kelompok	n	Rerata \pm SB (mg/dL)
Kontrol	5	3,1200 \pm 0,79
P1	5	7,6600 \pm 2,28
P2	5	7,5400 \pm 0,98
P3	5	14,4000 \pm 1,25
P4	5	13,5600 \pm 3,66

Uji normalitas terhadap kadar LDL serum darah tikus pada masing-masing kelompok dilakukan dengan menggunakan uji shapiro-wilk

dan didapatkan hasil data terdistribusi normal dengan nilai $P > 0,05$ sesuai dengan Tabel 2.

Tabel 2. Uji shapiro-wilk kadar LDL serum darah tikus wistar

Kelompok	N	P
Kontrol	5	0,708
P1	5	0,930
P2	5	0,567
P3	5	0,927
P4	5	0,060

Data Kadar LDL serum darah tikus diuji homogenitasnya dengan menggunakan uji Levene dan didapatkan yaitu nilai $P < 0,05$ sehingga data bersifat tidak homogen. Selanjutnya dilakukan uji komparabilitas untuk mengetahui kebermaknaan beda rerata kadar LDL serum darah tikus antar kelompok. Hasil uji normalitas menunjukkan data terdistribusi normal, sehingga dapat digunakan uji *one-way ANOVA* sebagai uji komparabilitas antar kelompok. Hasil uji *one-way ANOVA* disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji *one-way ANOVA* kadar LDL serum darah tikus wistar antar kelompok

Kelompok	Rerata \pm SB (mg/dL)	F	P
Kontrol	3,1200 \pm 0,79		
P1	7,6600 \pm 2,28		
P2	7,5400 \pm 0,98	25,167	0,000
P3	14,4000 \pm 1,25		
P4	13,5600 \pm 3,66		

Dilakukan uji *post-hoc* berupa uji tamhane, untuk mengetahui kebermaknaan rerata kadar LDL serum darah tikus antar dua kelompok yang dibandingkan. Hasil uji tamhane dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji tamhane kadar LDL serum darah tikus wistar

Kelompok	Beda rerata (mg/dL)	P
Kontrol dan P1	4,540	0,084
Kontrol dan P2	4,420	0,001
Kontrol dan P3	11,280	0,000
Kontrol dan P4	10,440	0,025
P1 dan P2	0,120	1,000
P1 dan P3	6,740	0,010
P1 dan P4	5,900	0,179
P2 dan P3	6,860	0,000
P2 dan P4	6,020	0,176
P3 dan P4	0,840	1,000

Kelompok kontrol dengan P1 memiliki rerata yang tidak berbeda signifikan (nilai $P > 0,05$), serupa dengan perbandingan kelompok P1 dengan P2 dan P4. Sedangkan kelompok P1 dengan P3

memiliki perbedaan rerata yang signifikan (nilai $P < 0,05$).

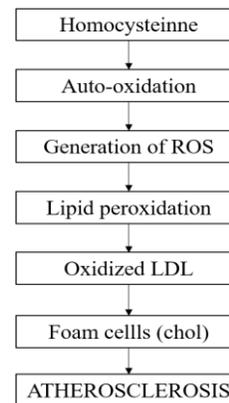
PEMBAHASAN

Pada penelitian yang telah dilakukan, kadar LDL serum kelompok kontrol digunakan sebagai rujukan nilai normal yaitu 2-4 mg/dL. Kelompok P1 yang diberi diet tinggi kolesterol memiliki nilai rerata kadar LDL serum (nilai absolut) yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol, namun perbedaan yang didapatkan tidak signifikan. Hal ini dapat disebabkan oleh waktu pemberian diet tinggi kolesterol yang kurang lama. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Harsa, tikus wistar yang diberi pakan hiperkolesterol mengalami peningkatan kadar LDL dengan durasi pemberian pakan selama 4 minggu.¹⁰ Selain itu, menurut Heriansyah, terjadi peningkatan LDL hampir mencapai tiga kali lipat dengan durasi 8 minggu pemberian diet tinggi lemak.¹¹ Sedangkan pada penelitian ini, pemberian pakan tinggi kolesterol diberikan selama 4 minggu dengan dilakukan pula pemberian ekstrak dari minggu kedua. Selain itu, cara pemberian pakan juga dapat mempengaruhi nilai kadar LDL serum tikus. Pada penelitian dilakukan pemberian pakan secara *ad libitum*, sehingga tidak menjamin semua tikus pada suatu kelompok mendapatkan distribusi pakan yang merata. Hal tersebut dapat dilihat dari adanya nilai *out layer* pada beberapa sampel yang akhirnya dieksklusi oleh peneliti.

Untuk menguji pengaruh ekstrak etanol kulit anggur, maka nilai P1 dibandingkan dengan nilai P2, P3, dan P4. Berdasarkan nilai uji komparabilitas, kelompok P1 dengan P2 tidak memiliki perbedaan yang signifikan, begitu pula antara kelompok P1 dan P4. Kelompok P2 memiliki nilai rerata kadar LDL yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok P1. Sedangkan kelompok P4 memiliki nilai rerata LDL yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok P1. Kelompok P1 memiliki perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok P3, namun perbedaan tersebut berupa peningkatan kadar LDL. Hal tersebut tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kwon dkk.¹², ekstrak antosianin dari biji kedelai dapat memperbaiki profil lipid, dan penelitian yang dilakukan oleh Riyanto dan Muwarni¹³, terjadi penurunan kadar LDL yang signifikan pada tikus hiperkolesterolemia dengan pemberian *black soyghurt*. Selain itu, Pinontoan membuktikan bahwa kadar LDL yang diberi diet prodislipidemia dipengaruhi oleh pemberian ekstrak beras hitam yang mengandung antosianin.¹⁴ Antosianin

memiliki efek antiinflamasi yang akan mengakibatkan penurunan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), sehingga sintesis kolesterol oleh sel hepar dapat dihambat.¹⁵

Pada penelitian yang dilakukan oleh Nielsen dkk.¹⁶, fraksi antosianin dapat meningkatkan kadar LDL yang merupakan tanda risiko aterosklerosis. Berdasarkan hasil penelitian tersebut tidak didapatkan adanya efek anti-aterogenik antosianin. Selain itu pada penelitian yang dilakukan oleh Nakagawa dkk.¹⁷ menyimpulkan bahwa antosianin berperan dalam peningkatan kadar homosistein. Peningkatan homosistein menstimulasi oksidasi LDL yang berpotensi meningkatkan aterosclerosis.¹⁸ Homosistein berperan dalam modifikasi oksidatif LDL yang diperantarai oleh sel endotel, makrofag, dan sel otot polos yang erat kaitannya dalam proses awal aterosclerosis.¹⁹



Gambar 1. Jalur peningkatan homosistein dapat menyebabkan aterosclerosis¹⁹

Pada penelitian ini diperoleh kadar LDL yang meningkat pada tikus yang diberikan ekstrak. Hal tersebut mungkin sesuai dengan penelitian Nielsen dan Nakagawa, yaitu melalui jalur peningkatan homosistein, sehingga terjadi peroksida lipid dan oksidasi LDL.

SIMPULAN DAN SARAN

Pemberian ekstrak etanol kulitmbuah anggur dengan dosis 250 mg/200 gBB/hari selama 15 hari dapat meningkatkan kadar LDL serum tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet tinggi kolesterol secara signifikan.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapatkan, ditemukan adanya perbedaan antara teori yang ada dengan hasil. Beberapa hasil penelitian sebelumnya ada yang mendukung teori dan ada juga yang tidak, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek dari antosianin, khususnya pada kulit buah anggur,

terhadap kadar LDL. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil penelitian, seperti penyimpanan ekstrak, lama perlakuan, dan dosis pemberian ekstrak agar lebih diperhatikan kembali untuk mendapatkan hasil yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nasution, L.S. Pengaruh pemberian likopen terhadap perkembangan lesi aterosklerosis pada tikus hiperkolesterolemia. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 2013; 9: 2.
2. Sudoyo, A.W., Setiyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M., Setiati, S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II. Edisi Kelima. Jakarta: Interna Publishing. 2009.
3. Wiryanthini, I.A.D., Sutadarma, I.W.G., & Yuliana. Pemberian ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap profil lipid dan kadar NOx tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dislipidemia. *Prosiding Seminar Ilmiah PBBMI*. 2015; 100-101.
4. Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia. Panduan tatalaksana dislipidemia. 2017. h. 2-16.
5. World Health Organization. *Cardiovascular Diseases (CVDs)*. 2017.
6. Murini, T., Fernandes, F., Muchayat, M. & Utoro, T. Pengaruh jus buah jambu biji merah (*Psidium guajava* L.) terhadap profil lipid darah dan kejadian aterosklerosis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet tinggi lemak. *Traditional Medicine Journal*. 2009; 14(47): 30-40.
7. Rukmanasari, R. "Efek ekstrak kulit terong ungu (*Solanum melongena* L.) terhadap kadar LDL dan HDL darah tikus putih" (skripsi). Surakarta: Universitas Sebelas Maret. 2010.
8. Maramis, R., Kaseke, M., Tanudjadja, G. N. 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.
9. Utami, M. A. & Sholika M. "Vitis vinifera L" (skripsi). Universitas Indonesia, Departemen Farmasi. 2011.
10. Harsa, I. M. S. Efek pemberian diet tinggi lemak terhadap profil lemak darah tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Kedokteran*. 2014; 3(1): 21-28.
11. Heriansyah, Teuku. Pengaruh berbagai durasi pemberian diet tinggi lemak terhadap profil lipid tikus putih (*Rattus norvegicus* Strain wistar) jantan. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 2013; 13(3): 144-150.
12. Kwon, S. H., Ahn, I. S., Kim, S. O., Kong, C.S., Chung, H. Y., Do, M. S. & Park, K. Y. Anti-obesity and hypolipidemic effects of black soybean anthocyanins. *JM Food*. 2007; 10(3): 552-556.
13. Riyanto, S. & Muwarni, H. 2015. Yoghurt kedelai hitam (*black soyghurt*) dapat menurunkan kadar LDL tikus hiperkolesterolemia. *Jurnal Gizi dan Dietetik Indonesia*. 2015; 3: 1-9.
14. Pinontoan, A.R. "Pengaruh pemberian ekstrak beras hitam (*Oryza sativa* L.) terhadap kadar low density lipoprotein pada tikus wistar (*Rattus Norvegicus*) yang diberi diet prodislipidemia" (skripsi). Universitas Sam Ratulangi. Manado. 2014.
15. Shipp, J., & Abdel-Aal, E.S.M. Food application and physiological effect of anthocyanins as functional food ingredients. *The Open Food Science Journal*. 2010; 4: 7-22.
16. Nielsen, I. L. F., Rasmussen, S. E., Mortensen, A., Haren, G. R., Ma, H.P., Knuthsen, P., dkk. Anthocyanins increase low-density lipoprotein and plasma cholesterol and do not reduce atherosclerosis in Watanabe Heritable Hyperlipidemic rabbits. *Mol. Nutr. Food Res*. 2005; 49: 301-308.
17. Nakagawa, K., Maruyama, Y., & Miyazawa, T. Anthocyanin administration elevates plasma homocysteine in rats. *J Nutr Sci Vitaminol*. 2002; 48: 530-535.
18. Madhur, Gupta. 2013. Homocysteine: Is it the new cholesterol?. *PJMS*. 2013; 3(1): 2-6.
19. Gugun, A. M. Hiperhomosisteinemia dan faktor risiko kelainan vaskuler. *Mutiara Medika*. 2008; 8(2): 97-105.