

PENGARUH PEMBERIAN FILTRAT FERMENTASI UBI JALAR UNGU (*IPOMOEA BATATAS*) TERHADAP PEMBENTUKAN *FOAM CELL* PADA AORTA TIKUS GALUR WISTAR (*RATTUS NORVEGICUS*) MODEL ATEROSKLEROSIS

Dian Permata¹, I Gusti Ayu Dewi Ratnayanti², Ida Ayu Ika Wahyuniari², Ni Made Linawati²

¹Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Denpasar, Bali

²Departemen/Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Denpasar, Bali

Email: ratnayanti@unud.ac.id

ABSTRAK

Penyakit arteri koroner merupakan penyebab kematian tertinggi di dunia akibat aterosklerosis. Lesi aterosklerosis ditandai dengan adanya sel busa. Produk fermentasi serta bahan alam yang kaya antioksidan dapat mencegah terjadinya aterosklerosis. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi efek pemberian filtrat fermentasi ubi jalar ungu terhadap penurunan sel busa pada aorta tikus wistar model aterosklerosis. Desain penelitian adalah *post-test only control group*. Sampel penelitian adalah 25 ekor tikus wistar terbagi menjadi 5 kelompok dengan perlakuan selama 28 hari. Kelompok kontrol negatif diberikan pakan normal. Kelompok kontrol positif diberikan diet aterogenik tanpa fermentasi filtrat ubi jalar ungu. Kelompok perlakuan 1 hingga 3 diberikan diet aterogenik dan filtrat fermentasi ubi jalar ungu secara berturut-turut 12,5%, 25%, dan 50% yang diberikan menggunakan sonde. Parameter yang diukur adalah jumlah sel busa pada aorta tikus. Hasil penelitian menunjukkan jumlah sel busa pada kelompok negatif ($3,86 \pm 1,1919$), kelompok positif ($19,66 \pm 3,8505$), P1 ($15,53 \pm 4,2650$), P2 ($15,53 \pm 4,2650$), dan P3 ($5,132 \pm 1,3846$). Perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok P2 dan P3 dengan kelompok P1 dan K (+). Disimpulkan bahwa filtrat fermentasi ubi jalar ungu dosis tertentu mampu mencegah pembentukan sel busa.

Kata kunci: Aterosklerosis., Sel Busa., Filtrat Fermentasi Ubi Jalar Ungu.

ABSTRACT

Coronary artery disease is the highest cause of death in the world due to atherosclerosis. Atherosclerotic lesions are characterized by the presence of foam cells. Fermented products and natural ingredients that are rich in antioxidants can prevent atherosclerosis. This study aims to identify the effect of giving purple sweet potato fermented filtrate on the reduction of foam cells in the atherosclerosis-model Wistar rats' aorta. The research design was a post test only control group. The research sample was 25 wistar rats divided into 5 groups with treatment for 28 days. The negative control group was given normal feed. The positive control group was given an atherogenic diet without fermenting purple sweet potato filtrate. Treatment groups 1 to 3 were given an atherogenic diet and 12.5%, 25%, and 50% purple sweet potato fermented filtrate respectively which were given using a sonde. The parameter measured was the number of foam cells in the rat aorta. The results showed the number of foam cells in the negative group (3.86 ± 1.1919), the positive group (19.66 ± 3.8505), P1 (15.53 ± 4.2650), P2 ($15.53 \pm 4, 2650$), and P3 (5.132 ± 1.3846). There was a significant difference ($p < 0.05$) between the P2 and P3 groups and the P1 and K (+) groups. It was concluded that certain doses of fermented purple sweet potato filtrate were able to prevent the formation of foam cells.

Keywords: Atherosclerosis., Foam Cells., Purple Sweet Potato Fermentation Filtrate.

PENDAHULUAN

Penyakit arteri koroner (*coronary artery disease*) menyebabkan 7,4 juta kematian di seluruh dunia pada tahun 2012. Angka Riskesdas 2013 sebesar 0,5% atau sekitar 883.447 orang terdiagnosis penyakit arteri koroner. Namun, 1,5% atau lebih dari 2.650.340 orang di Indonesia memiliki gejala penyakit arteri koroner. Data WHO yang diterbitkan tahun 2017, kasus kematian akibat *coronary artery disease* (CAD) mencapai 259.738 atau 15,45 dari total jumlah kematian di Indonesia.¹³

Penyebab *coronary artery disease* adalah aterosklerosis dan trombosis. Aterosklerosis terjadi akibat akumulasi lipid, produk inflamasi, dan jaringan fibrosa pada lumen arteri koroner. Aterosklerosis disebabkan karena tingginya kolesterol di dalam darah (*hypercholesterolemia*) yang menyebabkan peningkatan radikal bebas dan deaktivasi nitrit oksida (NO). Peningkatan radikal bebas dan deaktivasi nitrit oksida menyebabkan ketidakseimbangan kontraksi dan relaksasi endotel yang memicu disfungsi endotel dan peningkatan permeabilitas dinding arteri sehingga LDL dapat masuk. Metabolisme normal dapat menghasilkan molekul tidak stabil yang disebut radikal

bebas. LDL yang berikatan dengan radikal bebas akan membentuk LDL teroksidasi. Oksidasi memicu kompensasi pertahanan alami tubuh yaitu dengan peningkatan apoB-10 atau *scavenger receptor* yang memicu fagositosis LDL teroksidasi oleh makrofag dan akan membentuk *foam cell*. Disfungsi endotel menyebabkan migrasi sel otot polos, akumulasi *foam cell*, dan produk inflamasi sehingga aterosklerosis menjadi progressif.³

Proses pembentukan plak aterosklerosis dapat dikendalikan oleh antioksidan. Ubi jalar ungu mengandung antosianin, asam askorbat, dan beta-glukan sebagai antioksidan. Potensi antioksidan dapat meningkat apabila ubi jalar ungu diolah dengan proses fermentasi karena proses fermentasi dapat meningkatkan konsentrasi bahan aktif ubi jalar ungu khususnya antioksidan. Untuk memisahkan bahan terlarut yang akan digunakan dan tidak digunakan maka ubi jalar ungu akan melalui proses filtrasi. Filtrasi bertujuan untuk mencari bahan terlarut dan mengeksklusi pati agar mengurangi asupan karbohidrat yang tidak baik untuk aterosklerosis.

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti ingin mengidentifikasi efek filtrat fermentasi ubi jalar ungu terhadap jumlah sel busa pada aorta tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar model aterosklerosis.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain penelitian *post-test only control group*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Terpadu Divisi Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan waktu penelitian yaitu bulan Juli-November 2022. Sampel yang digunakan dalam penelitian yaitu 25 ekor tikus wistar yang dihitung menggunakan rumus Federer. Tikus yang digunakan memenuhi kriteria yaitu umur 2-3 bulan, berat rata-rata 150-200 gram, memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas*), *Aspergillus oryzae*, minyak babi, kuning telur bebek, set alat kukus, aquades, larutan Buffer Neutral Formalin, paraffin, pewarna Hematoksin-Eosin, alkohol, kandang tikus, blender, peralatan makan dan minum tikus, sekam, peralatan bedah, tempat jaringan, mikrotom, gelas objek, gelas penutup. *waterbath*, *tissue processor*, dan mikroskop. Penelitian ini telah mendapatkan surat kelainan etik dengan nomor 971/UN14.2.2.VII.14/LT/2022 dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.

Pembuatan Filtrat Fermentasi Ubi Jalar Ungu

Proses pembuatan tape ubi jalar ungu diawali dengan proses pemilihan untuk mendapat ubi yang bermutu baik, kemudian dikupas, dipotong dengan ukuran 4x4x8 cm, dicuci dengan air mengalir dan dikukus selama 30 menit. Setelah dingin difermentasi dengan penambahan *Aspergillus oryzae* 20 mg/20 kg ubi jalar ungu dan fermentasi dilakukan

selama 48 jam pada suhu kamar. Setelah 48 jam maka akan terbentuk tape ubi jalar ungu.

Proses pembuatan filtrat ubi jalar ungu dimulai dengan menghaluskan tape untuk mendapatkan struktur seperti bubur. Kemudian bubur tape ubi jalar ungu ditambahkan *aquades* lalu disaring menggunakan kertas saring. Filtrat fermentasi ubi jalar ungu disterilisasi selama 30 menit lalu disimpan.

Pembuatan Hewan Coba Model Aterosklerosis

Hewan coba model aterosklerosis dibuat dengan cara diberikan diet aterogenik yaitu kombinasi minyak babi dan kuning telur bebek yang diberikan selama 28 hari dengan menggunakan sonde. Sebelum pemberian diet aterogenik tikus diberi injeksi adrenalin 0,06 mg/kgBB secara intravena.

Perlakuan Dengan Pemberian Filtrat Fermentasi Ubi Jalar Ungu

Pada penelitian ini tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol (-) tanpa diet aterogenik dan tanpa pemberian filtrat fermentasi ubi jalar ungu, kelompok kontrol (+) dengan diet aterogenik dan tanpa filtrat fermentasi ubi jalar ungu, kelompok P1 dengan diet aterogenik dan filtrat fermentasi ubi jalar ungu 12,5%, kelompok P2 dengan diet aterogenik dan filtrat fermentasi ubi jalar 25%, kelompok P3 dengan diet aterogenik dan filtrat fermentasi ubi jalar 50%. Volume filtrat fermentasi ubi jalar ungu yang diberikan pada tikus adalah 2 ml/hari dengan komposisi filtrat sesuai kelompok perlakuan. Filtrat fermentasi ubi jalar ungu diberikan dengan sonde kepada tikus per oral selama 28 hari. Setelah 28 hari dilakukan terminasi pada tikus.

Pembuatan Preparat Jaringan

Aorta tikus ditambahkan larutan fiksatif dan dipotong dengan ketebalan 0,3-0,5 mm. Jaringan dilakukan dehidrasi dengan dimasukan ke dalam mesin processor otomatis dan dilanjutkan dengan vakum selama 30 menit. Jaringan diberi paraffin cair dan dicetak menggunakan blok paraffin. Jaringan dipotong dengan ketebalan 3-4 μ m menggunakan mikrotom. Potongan jaringan dimasukan ke dalam *waterbath* dengan suhu 46°C dan dilanjutkan dengan inkubasi dengan suhu 60°C. Setelah diinkubasi, preparate dicelupkan ke dalam larutan xylol, kemudian ke dalam larutan ethanol, dibilas dengan air mengalir, kemudian ditambahkan pewarnaan hematoksin, kemudian larutan pembiru, dan larutan eosin. Preparat ditutup menggunakan kaca objek dan diberikan entelan sebagai perekat.

Pemeriksaan Gambaran Histopatologi Aorta Tikus

Pemeriksaan dilakukan dengan pembesaran 400x dan pengulangan sebanyak 3 kali. Penghitungan dilakukan dengan menghitung rata-rata jumlah sel busa dari setiap preparat. Aplikasi yang digunakan dalam pengambilan gambar histologis aorta tikus adalah aplikasi Optilab dan penghitungan sel busa menggunakan aplikasi *Image Raster*.

Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan aplikasi SPSS versi 26. Data hasil penghitungan dimasukkan ke aplikasi SPSS. Uji normalitas dilakukan dengan uji Saphiro-Wilk dan uji homogenitas dilakukan dengan Levene test. Uji parametrik menggunakan uji One Way Anova.

HASIL

Dalam penelitian ini didapatkan hasil rata-rata jumlah sel busa pada aorta tikus wistar model aterosklerosis pada kelompok kontrol (-), kelompok kontrol (+), dan kelompok perlakuan, dapat dilihat pada **tabel 1**. Tabel 1 menampilkan rata-rata jumlah sel busa dengan rata-rata paling rendah pada adalah K (-) yang tidak diberikan diet aterogenik dan tanpa filtrat fermentasi ubi jalar ungu yaitu $3,86 \pm 1,1919$ SD diikuti oleh kelompok P3 yang diberikan diet aterogenik dan filtrat fermentasi ubi jalar ungu 50% yaitu $5,132 \pm 1,3846$ SD.

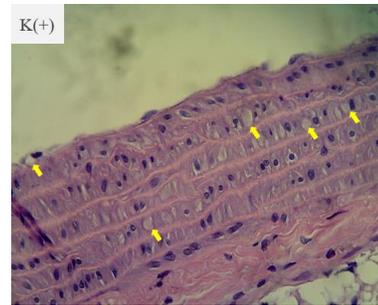
Table 1. Rata-rata jumlah sel busa pada aorta tikus model aterosklerosis

Kelompok	Rata-rata jumlah sel busa \pm SD
Kontrol (-)	$3,86 \pm 1,1919$
Kontrol (+)	$19,66 \pm 3,8505$
Perlakuan 1	$15,53 \pm 4,2650$
Perlakuan 2	$13,06 \pm 2,833$
Perlakuan 3	$5,13 \pm 1,3846$

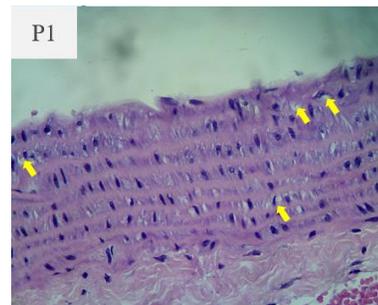
Gambaran histopatologis sel busa pada aorta tikus model aterosklerosis dapat dilihat pada **gambar 1**. Gambar 1 menunjukkan terjadi penurunann terhadap jumlah sel busa seiring dengan peningkatan konsentrasi filtrat ubi jalar ungu yang diberikan.



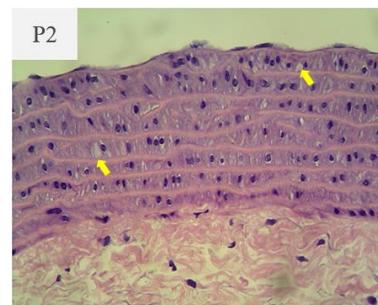
Gambar 1A. Gambar histopatologi aorta tikus pada kelompok kontrol (-) yang diberikan pakan standar dengan pembesaran 400x.



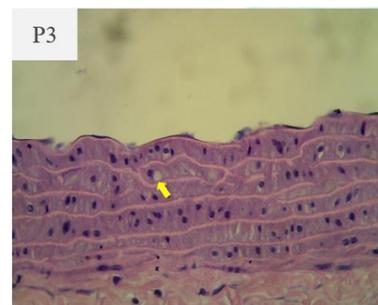
Gambar 1B. Gambar histopatologi aorta tikus pada kelompok kontrol (+) yang diberikan diet aterogenik dengan pembesaran 400x.



Gambar 1C. Gambar histopatologi aorta tikus pada kelompok P1 yang diberikan diet aterogenik dan filtrat fermentasi ubi jalar ungu 12.5% dengan pembesaran 400x.



Gambar 1D. Gambar histopatologi aorta tikus pada kelompok P2 yang diberikan diet aterogenik dan filtrat fermentasi ubi jalar ungu 25% dengan pembesaran 400x.



Gambar 1E. Gambar histopatologi aorta tikus pada kelompok P2 yang diberikan diet aterogenik dan filtrat fermentasi ubi jalar ungu 50% dengan pembesaran 400x.

PEMBAHASAN

Berdasarkan data penelitian, pada kelompok kontrol (-) yang diberikan diet non-aterogenik ditemukan sel busa. Dibandingkan dengan hasil penelitian oleh Tambunan dkk¹⁰, pada kelompok K (-) diberi pakan standar non-aterogenik ditemukan gambaran aorta normal dan tanpa sel busa. Studi lain oleh Yanuartono¹⁴ dengan tikus *strain Sprague Dawley* yang diberi diet standar untuk periode perlakuan yang lebih lama yaitu 3, 6 dan 12 minggu ditemukan aorta tanpa lesi aterosklerotik. Namun penelitian lain oleh Hassanah dkk³ menunjukkan sel busa muncul pada aorta tikus kontrol yang diberi diet standar. Penelitian oleh Maramis dan Kaseke⁶ menunjukkan gambar aorta dengan lesi aterosklerotik berupa sel busa pada kelompok kontrol yang mendapat pakan standar. Berdasarkan teori penyebab aterosklerosis maka perbedaan kondisi tersebut disebabkan karena beberapa faktor risiko lain selain tingginya kadar kolesterol yaitu jenis pakan, stress, genetik, kondisi kandang, metabolisme sample, dan faktor lain yang mempengaruhi hemostasis dan fisiologis tikus.

Gambaran histologi pada kelompok K (+), kelompok P1, kelompok P2, kelompok P3 didapatkan gambaran sel busa. Semua kelompok yang diberikan diet aterogenik terdapat gambaran sel busa namun rata-rata jumlahnya berbeda yang dipengaruhi oleh tingkat asupan dan penyerapan lemak yang berbeda. Hasil ini didukung oleh Tambunan dkk¹⁰ ditemukan makrofag, sel busa, dan akumulasi lipid intrasel otot polos pada semua kelompok dengan diet aterogenik. Penelitian yang dilakukan oleh Welinsa dkk¹¹ pada kelompok perlakuan didapatkan gambaran sel busa, makrofag, akumulasi lipid intrasel, dan akumulasi lipid ekstrasel otot polos pada aorta *Rattus norvegicus*. Penelitian lain yang dilakukan oleh Murwani dkk⁷ dengan komposisi diet aterogenik lemak babi, kuning telur, dan asam kolat menunjukkan terjadinya hiperkolesterolemia dan pada aorta terdapat sel busa. Penelitian oleh Maramis dan Kaseke⁶ dengan pemberian lemak babi 2 ml selama 14 hari menunjukkan sel busa pada aorta tikus wistar.

Studi ini menemukan bahwa dosis tertentu filtrat fermentasi ubi jalar ungu dapat menghambat pembentukan sel busa yang ditandai dengan pembentukan sel busa yang lebih sedikit seiring dengan meningkatnya konsentrasi filtrat fermentasi ubi jalar ungu yang diberikan. Efek penghambatan pembentukan sel busa disebabkan karena aktivitas antioksidan yang tinggi dari ubi jalar ungu yaitu antosianin, asam askorbat, dan beta glukukan. Antioksidan dapat meningkatkan HDL, mencegah hiperkolesterolemia, mencegah ROS, menurunkan kolesterol, trigliserida dan LDL.

Hasil ini didukung oleh penelitian Rahma dkk⁸ yang menunjukkan bahwa pemberian antosianin dapat mengkompensasi radikal bebas sehingga kerusakan endotel tidak tampak sebagai lesi pada tahap awal aterosklerosis pada tikus. Penelitian oleh Setiawan dan Rahadi⁹ bahwa ubi

jalar ungu dapat meningkatkan kadar SOD. Peningkatan kadar *Superoxide dismutase* tikus pada penelitian tersebut karena kandungan antosianin, asam askorbat, dan beta glukukan pada ubi jalar ungu sehingga dapat mencegah terjadinya cedera endotel. Penelitian lain oleh Jawi dkk⁵ dengan hasil ekstrak etanol ubi jalar ungu dengan kandungan antosianin tinggi berperan sebagai antiinflamasi sehingga menurunkan ekspresi VCAM-1 pada endotel kelinci. Penelitian lain dengan produk fermentasi yang dilakukan oleh Deng dkk² menunjukkan bahwa fermentasi teh (*kombucha*) juga dapat menurunkan sel busa pada dinding arteri koronaria. Fermentasi anggur (*wine*) juga bermanfaat untuk mencegah penyakit kardiovaskular karena meningkatkan HDL dan bersifat kardioprotektif Haseeb dkk⁴. Proses fermentasi dapat meningkatkan antioksidan pada ubi jalar ungu sesuai dengan oleh Wu dkk terdapat peningkatan aktivitas antioksidan dikaitkan dengan adanya asam asetat dan fenolat yang dilepaskan selama fermentasi.¹²

Struktur *phenolic* antosianin pada ubi jalar ungu memiliki kemampuan untuk berikatan dengan ROS seperti peroksida, hydrogen peroksida, radikal hidroksil, superoksida, dan singlet oksigen. Antosianin memiliki aktivitas hepatoprotektif dengan penangkapan ROS, menurunkan proliferasi sel, dan menurunkan peroksidasi lipid. Antosianin mengurangi stress oksidatif dengan mekanisme peningkatan antioksidan. Kandungan asam askorbat pada ubi jalar ungu akan bereaksi dengan oksigen sehingga tidak terjadi reaksi antara LDL dengan oksigen sehingga tidak terjadi terbentuk lipid peroksida dan lipid hidroperoksida yang menghasilkan radikal bebas.¹

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian filtrat fermentasi ubi jalar ungu konsentrasi 50% dapat menghambat pembentukan sel busa secara bermakna pada tikus wistar model aterosklerosis yang ditandai dengan pembentukan sel busa yang menurun dengan meningkatnya konsentrasi filtrat fermentasi ubi jalar ungu yang diberikan. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk melihat pengaruh waktu perlakuan yang lebih lama dari 4 minggu serta efek antiobesitas dari filtrat fermentasi ubi jalar ungu

DAFTAR PUSTAKA

1. Chen XL, Dodd G, Thomas S, Zhang X, Wasserman MA, Rovin BH, et al. Activation of Nrf2/ARE pathway protects endothelial cells from oxidant injury and inhibits inflammatory gene expression. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol*. 2006;290(5):1862–70.
2. Deng X, Hou Y, Zhou H, Li Y, Xue Z, Xue X, et al. Hypolipidemic, anti-inflammatory, and anti-atherosclerotic effects of tea before and after microbial fermentation. *Food Sci Nutr*. 2021;9(2):1160–70.
3. Hasanah AU, Asni E, Malik Z, Ismawati. Histopatologi Arteri Koronaria *Rattus norvegicus* Strain Wistar Jantan

- Setelah Pemberian Diet Aterogenik Selama 5 Minggu. *JOM FK*. 2014;2(1).
4. Haseeb S, Alexander B, Baranchuk A. Wine and Cardiovascular Health. *Circulation*. 2017;136(15):1434–48.
 5. Jawi IM, Wita IW, Suprpta DN. Aqueous Extract of Purple Sweet Potato Tuber Increases Sod And Decreases VCAM-1 Expression By Increasing Nrf2 Expression In The Aortic Endothelia Of Hypercholesterolemic Rabbits. 2014;4(10):3–4.
 6. Maramis, Reinaldo. & Kaseke, Marie. Gambaran Histologi Aorta Tikus Wistar Dengan Diet Lemak Babi Setelah Diberikan Ekstrak Daun Sirsak (annona muricata). *Jurnal e-Biomedik*. 2014;2:431–435.
 7. Murwani S, Mulyohadi A, Muliarta K. Diet Aterogenik Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus strain wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2013;22(1):6–9.
 8. Rahma F, Ardiaria M, Panunggal B. Pengaruh Pemberian Ubi Jalar Ungu (Ipomoea Batatas L. Poir) Terhadap Kadar Leukosit Total Tikus Wistar Jantan (Rattus Norvegicus) Yang Dipapar Asap Rokok. *J Nutr Coll*. 2019;8(2):65.
 9. Setiawan M, Rahadi E. Pengaruh Ekstrak Ubi Jalar Ungu (Ipomoea Batatas L .) terhadap Kadar Superoksida Dismutase (Sod) Tikus Putih Jantan (Rattus Norvegicus) Galur Wistar Model Aterosklerosis. *Medica Arteriana*. 2019;1(2):66–70.
 10. Tambunan S, Asni E, Malik Z, Ismawati. Histopatologi Aorta Torasika Tikus Putih (Rattus norvegicus strain wistar) Jantan Setelah Pemberian Diet Aterogenik Selama 12 Minggu. *Jom FK*. 2014;2(1).
 11. Welinsa F, Asni E, Malik Z, Ismawati. Histopatologi Aorta Torasika Rattus norvegicus Strain Wistar Jantan Setelah 8 Minggu Pemberian Diet Aterogenik. *Jom FK*. 2014;2(1).
 12. Wu X, Yao H, Cao X, Liu Q, Cao L, Mu D, et al. Production of vinegar from purple sweet potato in a liquid fermentation process and investigation of its antioxidant activity. *3 Biotech*. 2017;7(5):1–10.
 13. WHO. WHO | World Heart Day 2017. WHO. 2017;
 14. Yanuartono. Peran Diet Lemak Dan/Atau Kolesterol Tinggi Pada Pembentukan Plak Ateroma Aorta Tikus Putih (Sprague Dawley). Bagian Ilmu Penyakit Dalam Universitas Gajah Mada. 2007.

