

PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI TERPENOID DAUN KATUK (*SAUROPUS ANDROGYNUS* (L.) MERR) TERHADAP PROFIL LIPID TIKUS PUTIH (*RATTUS NOVERGICUS*, L.) JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI PAKAN KAYA LEMAK

Warditiani, N. K.¹, Indrani, A.A.I. S.¹, Sari, N. A. P. P.¹, Swasti, I.A.S.¹, Dewi, N.P.A.K.¹, Widjaja I.N.K.¹, Wirasuta, I M.A.G.¹

¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Korespondensi: Anak Agung Istri Sinta Indrani
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana
Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax: 703837
Email: sintaindrani@gmail.com

Abstrak

Daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) diketahui memiliki aktivitas sebagai antidiislipidemia. Senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol 90% yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, dan terpenoid. Salah satu kandungan kimia yang diduga memiliki aktivitas sebagai antidiislipidemia yaitu terpenoid. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi terpenoid daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) terhadap profil lipid darah tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi pakan kaya lemak.

Penelitian ini meliputi beberapa tahap yaitu: ekstraksi, fraksinasi dengan kromatografi kolom lambat dengan pelarut campur kloroform:metanol (9:1-1:9 v/v) dan induksi pakan kaya lemak selama 30 hari sebelum perlakuan. Kelompok penelitian dibagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari kontrol negatif (CMC Na 0,1%), kontrol positif (simvastatin 1,8 mg/kgBB), dan perlakuan yang diberikan dua variasi dosis fraksi terpenoid daun katuk yaitu 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB selama 21 hari dengan pembawa CMC Na 0,1%. Pengambilan darah dilakukan sebelum dan setelah perlakuan. Pengukuran kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan HDL menggunakan reaksi enzimatik. Data yang diperoleh diolah secara statistik.

Hasil pemisahan menggunakan metode kromatografi kolom lambat didapatkan 7 fraksi terpenoid. Fraksi terpenoid daun katuk pada dosis 50mg/kgBB dan 100mg/kgBB memiliki pengaruh yang baik terhadap profil lipid dalam menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL serta meningkatkan kadar HDL ($p < 0,05$).

Kata Kunci: *Sauropus androgynus* (L.) Merr, terpenoid, kromatografi kolom lambat, profil lipid.

1. Pendahuluan

Dislipidemia merupakan suatu kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan meningkatnya kadar kolestrol total, *Low Density Lipoprotein* (LDL) di dalam darah dan tingginya kadar trigliserida yang disertai dengan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) (Musunuru, 2010).

Pada kondisi dislipidemia, tingginya kadar LDL yang beredar dalam darah diidentifikasi sebagai faktor risiko potensial untuk terjadinya stress oksidatif yang memicu meningkatnya peroksidasi lipid pada membran lipid dan

menjadi faktor resiko pemicu berbagai penyakit, salah satunya yaitu penyakit jantung koroner. WHO memperkirakan dari setengah lebih kasus penyakit jantung iskemik yang terjadi di dunia berkaitan dengan kondisi dislipidemia, dimana angka kematiannya telah mencapai lebih dari empat juta tiap tahunnya (Singh, *et.al.*, 2011).

Pengobatan dislipidemia harus disertai dengan perubahan pola hidup seperti berhenti merokok, meningkatkan aktivitas fisik dengan olahraga yang cukup, serta mengurangi asupan lemak jenuh dan kolesterol untuk menurunkan

kadar kolesterol. Terapi dislipidemia yang sering digunakan sebagai terapi lini pertama adalah golongan statin (Oxford dan King, 2002).

Penggunaan obat tradisional sebagai alternatif pengobatan dikalangan masyarakat yang semakin meningkat mengakibatkan penelitian mengenai tanaman obat semakin berkembang. Indonesia sebagai salah satu negara dengan keanekaragaman hayati yang berlimpah memiliki keuntungan dengan adanya banyak jenis tumbuhan obat yang berpotensi sebagai bahan baku obat. Untuk itu, perlu dilakukan penelitian-penelitian mengenai pengembangan obat dari tanaman seperti uji efektivitas sehingga dapat diketahui aktivitas tumbuhan obat tersebut dalam mengobati suatu penyakit. Salah satu jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat diantaranya adalah daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr).

Daun katuk secara tradisional telah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat herbal. Dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Warditiani, dkk., (2014), Ekstrak etanol daun katuk yang mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin, tanin, dan glikosida telah teruji memiliki aktivitas antidislipidemia pada dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB yang mampu menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi pakan kaya lemak.

Kandungan senyawa terpenoid, yang terdapat pada daun katuk diduga memiliki aktivitas sebagai antidislipidemia. Terpenoid berperan dalam menghambat biosintesis kolesterol dengan mengatur degradasi enzim 3-hidroksi-3-metilglutaril (HMG-KoA) reduktase (Bradfute dan Simoni, 1994). Menurut penelitian Machaba dkk. (2014), menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid (*Methyl-3 β -hydroxylanosta-9,24-dien-21-oate*) yang diisolasi dari kulit batang *Protorhus longifolia* (Benrh) Engl memiliki aktivitas antidislipidemia yang diuji secara *in-vivo*. Pemberian secara per oral isolat triterpenoid dengan dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB mampu menurunkan kadar kolesterol dan LDL, serta meningkatkan HDL secara signifikan pada tikus yang diinduksi pakan kaya lemak (Machaba dkk., 2014).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi terpenoid daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) terhadap profil lipid tikus putih (*Rattus norvegicus*, L.) jantan galur wistar yang diinduksi pakan kaya lemak.

2. Bahan dan Metode

2.1 Pembuatan Fraksi Terpenoid

Sejumlah 1,5 Kg serbuk kering *Sauropus Androgynus* dimaserasi dengan 7 L etanol 90%. Kemudian disaring dan ampasnya diremaserasi dua kali. Maserat dijadikan satu dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan kromatografi kolom lambat menggunakan fase gerak bergradien yaitu kloroform : metanol dengan perbandingan 9:1 v/v sampai 1:9 v/v.

2.2 Aklimatisasi Hewan Uji

Tiga puluh (30) ekor tikus dengan berat badan 150-200 gram dikandangkan pada kondisi lingkungan standard (suhu $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, kelembaban $55\pm 5\%$ dan fase terang gelap = 12:12 jam). Tiap kandang berisi 6 ekor tikus dan diberi akses bebas untuk air minum dan pakan.

2.3 Pemberian Perlakuan pada Tikus untuk Tahap Pengujian

Tikus dibagi menjadi 5 kelompok, 6 ekor tikus disetiap kelompoknya dan diberikan perlakuan sebagai berikut: kelompok 1 (kontrol normal) diberikan pakan standar BR-1 dan aquadest, kelompok II (kontrol negatif) diberikan pakan kaya lemak dan CMC Na 0,1%; kelompok III (kontrol positif) diberikan pakan kaya lemak dan simvastatin dosis 1,8 mg/kgBB/hari; kelompok IV diberikan pakan kaya lemak dan larutan uji fraksi terpenoid dosis 50 mg/kgBB; kelompok V diberikan pakan kaya lemak dan larutan uji fraksi terpenoid dosis 100 mg/kgBB.

Setelah aklimatisasi, tikus siap diinduksi pakan kaya lemak dengan campuran pakan meliputi pakan BR-1 80%, lemak babi 15% dan kuning telur 5% selama 52 hari. Masing-masing kelompok diberikan perlakuan sesuai dengan kelompok perlakuannya. Pada hari ke 31 dan 52 dari masing-masing kelompok dilakukan pengukuran kadar total kolestrol,

trigliserida dan HDL dalam serum darah untuk melihat pengaruh pemberian fraksi terpenoid terhadap profil lipid tikus.

2.4 Pengukuran Kadar Kolesterol Total, Trigliserida, HDL dan LDL

Darah yang diambil ditampung dan didiamkan selama 15 menit lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah serum terpisah, dipipet sebanyak 10 μ L lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi.

Standar kolesterol dengan konsentrasi 200 mg/dL, blanko dan sampel serum masing-masing diambil sebanyak 10 μ L dengan pipet mikro, kemudian ditambahkan dengan 1000 μ L reagen kolesterol. Reagen disimpan pada suhu 2-8 $^{\circ}$ C. Larutan divortex. Dinkubasi pada suhu 20-25 $^{\circ}$ C selama 20 menit. Absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 nm.

Pengukuran trigliserida dilakukan dengan menggunakan standar trigliserida konsentrasi 200 mg/dL, blanko dan sampel serum masing-masing diambil sebanyak 10 μ L dengan pipet mikro, kemudian ditambahkan dengan 1000 μ L reagen trigliserida. Reagen disimpan pada suhu 2-8 $^{\circ}$ C. Larutan divortex. Dinkubasi pada suhu 20-25 $^{\circ}$ C selama 20 menit. Absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 nm.

Untuk pengukuran HDL, standar kolesterol dengan konsentrasi 200 mg/dL, blanko dan sampel serum masing-masing diambil 200 μ L, lalu ditambahkan dengan 500 μ L reagen presipitan HDL di vortex, larutan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 20-25 $^{\circ}$ C, disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 4500 rpm. Diambil bagian supernatan sebanyak 100 μ L, kemudian tambahkan reagen kolesterol 1000 μ L di inkubasi selama 10 menit pada suhu 20 $^{\circ}$ C. Absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 nm. Reagen disimpan pada suhu 2-8 $^{\circ}$ C.

Kadar LDL dalam supernatan serum diperhitungkan dengan rumus:

$$\text{LDL (mg/dL)} = \text{Kolesterol total} - \frac{\text{trigliserida}}{5} - \text{HDL}$$

2.5 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa kadar kolesterol total, trigliserida, HDL, dan LDL dianalisis secara statistik dengan SPSS. Data diuji normalitasnya dengan Shapiro-Wilk dan homogenitasnya dengan uji Levene. Data dianalisis dengan uji statistik non parametrik Kruskal-Wallis untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok dan selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui kelompok yang memberikan perbedaan bermakna. Dikatakan berbeda bermakna apabila $p < 0,05$ dan tidak berbeda bermakna apabila $p > 0,05$.

Fraksi terpenoid dikatakan memiliki pengaruh terhadap profil lipid tikus apabila salah satu atau kombinasi dari penurunan kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL serta peningkatan kadar HDL pada kelompok perlakuan berbeda bermakna ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol negatif.

3. Hasil

Dari hasil fraksinasi, diperoleh 7 fraksi yang mengandung terpenoid yaitu fraksi ke 11 hingga fraksi ke 17.

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan pendekatan pre dan *post test control group design*. Penelitian ini menggunakan sampel berupa 30 ekor tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus novergicus*) umur 4 minggu dengan berat badan 150-200 gram. Hewan percobaan dibagi secara acak menjadi 5 grup yang masing-masing berjumlah 6 ekor. Grup tikus normal merupakan kelompok I dan grup tikus yang mengalami dislipidemia terdapat pada kelompok II, III, IV, dan V. Grup II merupakan kelompok negatif yang diberikan diet kaya lemak dan CMC-Na 0,1 % dan grup III yang merupakan kelompok positif diberikan simvastatin 1,8 mg/kgBB. Tikus IV dan V diberikan diet kaya lemak dan fraksi terpenoid dengan dosis 50 dan 100 mg/kgBB selama 21 hari. Kemudian kadar kolesterol total, trigliserida, LDL dan HDL diukur secara spektrofotometri UV-Vis.

Hasil uji *Shapiro-Wilk* dan *Levene test* dari data kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan HDL sebelum diberikan perlakuan dan setelah diberikan perlakuan menunjukkan bahwa data telah terdistribusi normal ($p > 0,05$) namun data tidak homogen ($p < 0,05$). Oleh

Pengaruh Pemberian Fraksi Terpenoid Daun Katuk (*Sauropus Androgynus* (L.) Merr) Terhadap Profil Lipid Tikus Putih (*Rattus Novergicus*, L.) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Pakan Kaya Lemak (Warditiani, N. K, Indrani, A.A.I. S., Sari, N. A. P. P., Swasti, I.A.S., Dewi, N.P.A.K., Widjaja I.N.K., Wirasuta, I M.A.G.)

sebab itu, dilakukan uji non parametrik dengan uji Kruskal-Wallis untuk melihat adanya kelompok percobaan yang memberikan perbedaan bermakna. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan HDL dari kelima kelompok tikus sebelum perlakuan dan setelah pemberian fraksi.

Tabel 1. Kadar rata-rata lipid tikus sebelum diberikan perlakuan dan setelah diberikan perlakuan

Kadar rata-rata lipid				
Sebelum perlakuan				
	KT	TG	HDL	LDL
N	51,56 ± 7,43	112,42 ±34,39	14,14 ±1,12	17,99 ±4,18
(-)	102,43 ±10,89	151,75 ±4,97	7,05 ±0,90	65,03 ±10,71
(+)	83,02 ±1,81	166,23 8,93	6,38 ±2,77	43,40 ±3,37
TI	82,68 ±14,38	156,25 ±3,88	8,84 ±1,74	42,59 ±12,37
TII	82,39 ±3,90	152,74 ±6,95	8,04 ±1,53	43,80 ±5,34
Setelah perlakuan				
	KT	TG	HDL	LDL
N	52,85 ±0,87	112,24 ±23,08	27,13 ±1,88	3,28 ±1,93
(-)	128,34 ±19,11	161,92 ±9,48	3,17 ±1,61	92,78 ±17,09
(+)	40,47 ±13,58	33,44 ±18,35	15,15 ±2,45	18,64 ±15,40
TI	47,75 ±2,94	54,24 ±10,83	15,81 ±2,45	21,10 ±2,08
TII	45,39 ±5,55	52,96 ±30,15	15,45 ±2,60	19,35 ±7,66

Keterangan: N = normal, (-) = negatif, (+) = positif, TI = perlakuan fraksi terpenoid dosis 50 mg/kgBB, TII = perlakuan fraksi terpenoid dosis 100 mg/kgBB.

4. Pembahasan

Berdasarkan hasil induksi pakan kaya lemak yang diberikan selama 30 hari telah berhasil menaikkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL di atas normal, serta menurunkan HDL di bawah normal, pada semua kelompok perlakuan yang diinduksi pakan kaya lemak. Berdasarkan uji statistik *Mann-Withney* dengan taraf kepercayaan 95%, menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok normal yang tidak diinduksi dengan pakan kaya lemak dengan 4 kelompok lainnya yang diinduksi dengan pakan kaya lemak. Oleh sebab itu, hewan uji pada kelompok-kelompok tersebut dapat dinyatakan menderita dislipidemia.

Hewan uji yang telah mengalami dislipidemia selanjutnya diberikan perlakuan pemberian simvastatin, fraksi terpenoid dosis 50 mg/KgBB dan dosis 100 mg/KgBB selama 21 hari. Hasil uji Mann-Withney menunjukkan nilai $p < 0,05$ sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan bermakna kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan HDL antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dosis 50 mg/KgBB dan kelompok perlakuan dosis 100 mg/KgBB. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian fraksi terpenoid daun katuk dosis 50 mg/KgBB dan 100 mg/KgBB memiliki pengaruh yang signifikan dalam menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, maupun meningkatkan kadar HDL.

Kemampuan simvastatin sebagai obat antidislipidemia menunjukkan bahwa simvastatin memiliki pengaruh yang signifikan dalam menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, maupun meningkatkan kadar HDL ($p < 0,05$). Untuk mengetahui kemampuan fraksi terpenoid daun katuk dengan simvastatin, dapat dilihat dengan membandingkan antara kelompok positif dengan kelompok perlakuan dosis 50 mg/KgBB dan perlakuan dosis 100 mg/KgBB. Hasil uji Mann-Withney menunjukkan bahwa pemberian fraksi terpenoid daun katuk dosis 50 mg/KgBB dan 100 mg/kgBB mempunyai kemampuan yang sebanding atau tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) dengan simvastatin dalam menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan meningkatkan kadar HDL.

Kemampuan fraksi terpenoid daun katuk dengan simvastatin juga dilihat dari selisih kadar lipid sebelum perlakuan dan setelah perlakuan. Selisih kadar lipid menunjukkan bahwa pemberian fraksi terpenoid daun katuk dosis 100 mg/KgBB memiliki kemampuan yang sebanding dengan simvastatin dalam menurunkan kolesterol total, trigliserida, LDL, dan meningkatkan kadar HDL dengan nilai $p > 0,05$. Begitu pula dengan pemberian fraksi terpenoid daun katuk dengan dosis 50 mg/kgBB, namun kadar trigliserida berbeda bermakna dengan simvastatin yang artinya pada dosis ini tidak mampu menurunkan kadar trigliserida yang sebanding dengan simvastatin.

Fraksi terpenoid daun katuk dosis 50 mg/kgBB dan dosis 100 mg/kgBB menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) kadar kolesterol total, trigliserida, HDL, dan LDL antara fraksi terpenoid dosis 50 mg/kgBB dengan fraksi terpenoid dosis 100 mg/kgBB, dan dilihat berdasarkan hasil selisih kadar lipid sebelum perlakuan dan setelah perlakuan menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang bermakna. Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa pengaruh fraksi terpenoid dosis 50 mg/kgBB dan dosis 100 mg/kgBB adalah sebanding. Fraksi terpenoid daun katuk dengan dosis yang lebih rendah telah efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan meningkatkan kadar HDL.

Terpenoid dapat menurunkan kadar kolesterol dengan cara menghambat enzim 3-hidroksi-3-metilglutaril (HMG-KoA) reduktase yang merupakan enzim dalam sintesis kolesterol (Bradford dan Simoni, 1994). Triterpenoid dari daun *Cyclocarya paliurus* dapat memberikan penghambatan terhadap enzim lipase pankreas yang berperan dalam mencerna trigliserida dari makanan di usus kecil. Lipase pankreas bertanggung jawab atas emulsifikasi lipid sebelum penyerapan usus. Penghambatan lipase pankreas akan menghambat penyerapan lemak dan menurunkan atau mengurangi kadar kolesterol dan trigliserida darah (Lunagariya dkk., 2014). Senyawa terpenoid pada tanaman *Globularia alypum* L. diduga memiliki peran dalam meningkatkan aktivitas enzim *Lecithin Cholesterol Acyltransferase* (LCAT). Suatu enzim plasma yang disebut dengan LCAT mengubah

kolesterol bebas menjadi kolesterol ester, kemudian kolesterol ester ini dimasukkan ke dalam inti partikel lipoprotein membentuk HDL. HDL ini disirkulasikan melalui darah dan memasukkan lebih banyak kolesterol dari darah dan jaringan kembali ke hati (Djellouli dkk., 2014).

5. Kesimpulan

Fraksi terpenoid daun katuk memiliki pengaruh baik terhadap profil lipid yang dapat menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan meningkatkan kadar HDL dengan dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi pakan kaya lemak.

6. Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada DITJEN DIKTI atas bantuan biaya pada penelitian ini, juga terima kasih kepada tim Bahan Alam Unud atas bantuan teknis dalam mempersiapkan alat bahan dalam pengujian aktivitas.

PUSTAKA

- Djellouli, F., D. Kroufi, M. Bouchenak, M.A.L. Dubois. 2014. Favorable Effects of *Globularia alypum* L. Lyophilized Methanolic Extract on the Reverse Cholesterol Transport and Lipoprotein Peroxidation in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4):758-765.
- Lunagariya, N.A., N.K. Patel, S.C. Jagtap, dan K.K. Bhutani. 2014. Inhibitors Of Pancreatic Lipase: State Of The Art and Clinical Perspectives. *Experimental and Clinical Sciences Journal*, 13:897-921.
- Machaba, K.E., S.Z.Z. Cobongela, R.A. Mosa, L.A. Oladipupo, T.G. Djarova, dan A.R. Opoku. 2014. In Vivo Anti-hyperlipidemic Activity of the Triterpene from the Stem Bark of

Protorhus longifolia (Benrh) Engl.
Lipids in Health and Disease, 13(1): 1-7

- Musunuru, K. 2010. Atherogenic dyslipidemia: cardiovascular risk and dietary intervention. *Lipids*, Vol.45 (10).
- Oxford, A.W., F.D. King. 2002. *Progress in Medical Chemistry. Amsterdam* : Elsevier Science. P.1-5
- Singh, A.K., S.K. Singh, N. Singh, N. Agrawal and K. Gopal. 2011. Obesity and Dyslipidemia. *InterJ Biol Med*, Vol 2 (3). P. 824-828.
- Warditiani, N.K., N.M.P. Susanti, I.N.K. Widjaja, dan I.N.A. Budiman. 2014. Ethanol Extracts of *Sauropus androgynus* (L) Merr. Activity Antihyperlipidemia of High Fat Diet-Fed Rats. *Proceeding on International Conference of Pharmaceutical Care*. Malang, Indonesia.