

## Artikel Penelitian

### Pengaruh Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) terhadap Kolesterol Darah, Soluble ICAM-1 dan Pembentukan Sel Busa pada Tikus dengan Diet Tinggi Lemak dan Kolesterol

#### *Effects of Cherry (*Muntingia calabura L*) Leaf Extract on Blood Cholesterol, Soluble ICAM-1, and Foam Cells Formation in High Fat and Cholesterol Fed Wistar Rats*

Alvia Nur L<sup>1</sup>, Kis Djamiatun<sup>2</sup>, Martha I Kartasurya<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Magister Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

<sup>3</sup>Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro

#### ABSTRAK

Ekstrak daun kersen (EDK) terbukti mempunyai aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi yang signifikan namun belum pernah dilakukan penelitian EDK terhadap kadar kolesterol dan inflamasi vaskuler. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh EDK terhadap kadar kolesterol darah, kadar soluble ICAM-1 dan pembentukan sel busa aorta tikus wistar yang diberi diet tinggi lemak dan kolesterol (DTL-TK). Penelitian dilakukan dengan *Post Test-Only Controlled Group Design*. Tikus Wistar jantan sebanyak 24 ekor dirandom menjadi 4 kelompok diantaranya kontrol negatif (KN), kontrol positif (KP), EDK dosis 1 (D1), EDK dosis 2 (D2). KN diberi diet normal, KP diberi DTL-TK saja, D1 diberi DTL-TK dan EDK 250mg/kg BB, D2 diberi DTL-TK dan EDK 500mg/kg BB. Pakan dan EDK diberikan 1 kali dalam sehari. EDK diberikan menggunakan sonde, bersamaan dengan pemberian pakan selama 8 minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) antara KN dan KP pada kadar kolesterol HDL. Terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) antara KN dan D1 pada kadar kolesterol total. Terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) antara KP dan D1 pada kadar soluble ICAM-1. Terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) antara KP dan D2 pada kadar kolesterol total, kolesterol HDL, dan kadar soluble ICAM-1. Tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ) antara D1 dan D2 pada semua parameter. Hasil pengamatan histopatologi aorta abdominal belum menunjukkan pembentukan sel busa diantara 4 kelompok. EDK dosis 500mg/kg BB dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus yang diberi DTL-TK, EDK dosis 250mg/kg BB dan 500mg/kg BB dapat menurunkan kadar soluble ICAM-1 tikus yang diberi DTL-TK.

**Kata Kunci:** Daun kersen, kolesterol, soluble ICAM-1, sel busa

#### ABSTRACT

*Cherry leaf extract has been proven to have significant antioxidant and anti-inflammation activity, but its ability to decrease cholesterol level and to prevent vascular inflammation has not been proven. This study aimed to prove the effect of cherry leaf extract (EDK) on blood cholesterol level, soluble ICAM-1 level, and aorta foam cells formation of Wistar rats fed with high fat and cholesterol diet (HF-HCD). This research used Post Test-Only Controlled Group Design. As many as 24 male Wistar rats were randomized into 4 groups, including negative control (KN), positive control (KP), EDK dose 1 (D1), EDK dose 2 (D2). KN was given a normal diet, KP was given HF-HCD only, D1 was given HF-HCD and EDK 250mg/kg body weight, D2 was given HF-HCD and EDK 500mg/kg body weight. Feed and EDK were given once per day. EDK was given using sonde together with the feeding for 8 weeks. The results showed that there was a significant difference ( $p < 0,05$ ) between KN and KP in HDL cholesterol level. There was a significant difference ( $p < 0,05$ ) between KN and D1 in total cholesterol level. There was a significant difference ( $p < 0,05$ ) between the KP and D1 at soluble ICAM-1 level. There were significant differences ( $p < 0,05$ ) between KP and D2 on total cholesterol, HDL cholesterol, and level of soluble ICAM-1. There was no significant difference ( $p > 0,05$ ) between D1 and D2 on all parameters. The histopathology observation has not shown the formation of foam cells among the 4 groups. EDK dose of 500mg/kg body weight can lower total cholesterol level of rats given HF-HCD, EDK dose of 250mg/kg and 500mg/kg body weight and can reduce soluble ICAM-1 level of mice given HF-HCD.*

**Keywords:** Cherry leaf, cholesterol, soluble ICAM-1, foam cell

---

Korespondensi: Alvia Nur Layli. Magister Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, Jl. Dr. Sutomo No. 18 (Komplek Zona Pendidikan RSUP Dr. Kariadi, Gd. Dekanat FK UNDIP Lt. 2) Semarang 50231 Tel. (024) 8453567 Email: [alvia\\_nl@yahoo.com](mailto:alvia_nl@yahoo.com)

DOI: <http://dx.doi.org/10.21776/ub.jkb.2017.029.03.4>

## PENDAHULUAN

Kadar kolesterol darah yang tinggi diperkirakan menjadi penyebab sekitar sepertiga dari semua penyakit kardiovaskuler di dunia (1). Globalisasi menyebabkan timbulnya transisi nutrisi di berbagai Negara. Kecenderungan untuk mengkonsumsi makanan tinggi lemak dan kolesterol, umum terjadi di seluruh kalangan dan lapisan masyarakat di dunia (2). Angka kematian per tahun yang disebabkan oleh hiperkolesterolemia adalah sekitar 3.880.000 kasus kematian di dunia (3). Penyakit kardiovaskuler mencakup sekitar sepertiga dari semua kasus kematian di seluruh dunia dan menjadi penyumbang sekitar 40% dari kasus kematian di Eropa, 37% dari kasus kematian di Indonesia tahun 2012 (4). Angka kematian yang diakibatkan oleh penyakit kardiovaskuler diperkirakan akan terus meningkat sampai mencapai lebih dari 23,6 juta jiwa pada tahun 2030 (5).

Diet tinggi lemak dan kolesterol (DTL-TK) mempunyai beberapa efek pada kesehatan manusia. Lemak pada makanan mempunyai efek yang berbeda pada sel-sel, jaringan dan organ tubuh manusia. Jenis dan komposisi asam lemak yang dikonsumsi menentukan susunan asam lemak pada jaringan tubuh dan menentukan kadar kolesterol dalam sistem sirkulasi darah (6). Berdasarkan hasil penelitian pada hewan, diet kolesterol menjadi penentu utama dari kadar kolesterol dalam plasma darah. Penelitian Prabha *et al*, diet tinggi kolesterol pada tikus Wistar selama 90 hari mempengaruhi peningkatan signifikan kolesterol total dalam plasma. Meningkatkan kadar kolesterol total berhubungan dengan terjadinya peningkatan serum low density lipoprotein-cholesterol (kolesterol LDL) dan menurunnya high density lipoprotein-cholesterol (kolesterol HDL) (7). Diet lemak mempunyai potensi keterkaitan dengan sistem imun dan respon inflamasi. Beberapa mekanisme yang telah diketahui yaitu terjadinya perubahan pada struktur dan komposisi membran fosfolipid, terjadinya perubahan fungsi mediasi dan sinyal pada membran (protein dan eikosanoid), perubahan ekspresi gen dan berefek pada perkembangan sistem imun (8).

*Intercellular adhesion molecule* (ICAM-1) merupakan molekul pelekatan yang dikeluarkan oleh sel endotel dalam keadaan terjadinya disfungsi endotel. Peningkatan ekspresi ICAM-1 pada sel endotel merupakan respon terhadap gangguan serum profil lipid diantaranya terjadinya peningkatan kadar kolesterol LDL (9). Penelitian Witkowska menunjukkan bahwa ekspresi ICAM-1 pada plak pembuluh arteri merupakan parameter inflamasi vaskuler. Ekspresi ICAM-1 pada sel endotel dapat pula digambarkan dalam sirkulasi darah. Konsentrasi soluble ICAM-1 pada plasma darah manusia memiliki keterkaitan dengan perkembangan aterosklerosis (10). Penelitian Fotis *et al*, menunjukkan bahwa konsentrasi soluble ICAM-1 pada serum darah tikus memiliki hubungan positif dengan ekspresi ICAM-1 pada *vasa vasorum* dan sel otot polos di aorta (11). Sejumlah uji klinik menunjukkan bahwa konsentrasi soluble ICAM-1 pada plasma dapat dijadikan sebagai biomarker potensial dari gangguan endotel serta awal perkembangan aterosklerosis (12).

Peningkatan konsentrasi kolesterol darah sebanding dengan peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Hasil studi tikus yang diberi diet tinggi lemak selama 12 bulan mengalami peningkatan kolesterol total dan stres oksidatif dalam darah (13). LDL kolesterol cenderung semakin mudah teroksidasi dan serapan makrofag meningkat akibat tingginya stres oksidatif. Makrofag di

endotelium cenderung akan mengakumulasi kolesterol LDL yang melekat sehingga menyebabkan terbentuknya sel busa (14).

Senyawa yang diperoleh dari sumber alami terbukti mampu melindungi tubuh dari berbagai kondisi patologi yang berbeda. Daun kersen (*Muntingia calabura L*) telah terbukti dari beberapa hasil penelitian dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, antinosiseptik, antihiperqlikemi, antiproliferatif dan antioksidan, hipotensif, anti-inflamasi, dan antipiretik (15-21). Penelitian M. Aruna *et al*, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kersen memiliki kandungan alkaloid, steroid, flavonoid, fenol, quinon, saponin dan terpen (18). Flavonoid dan saponin memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar kolesterol total dan kolesterol LDL serta menghambat pembentukan reactive oxigen species (ROS) (22,23). Ekstrak daun kersen (EDK) terbukti mempunyai aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi yang signifikan namun belum pernah dilakukan penelitian EDK terhadap kadar kolesterol dan inflamasi vaskuler akibat DTL-TK (16,19,21).

## METODE

### Subjek

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah hewan coba tikus putih *Rattus novergicus* strain Wistar jantan, sehat, berusia 10 minggu dengan berat badan rata-rata 180-200 gram. Hewan coba berjumlah 24 ekor tikus yang didapat dari Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang dengan Nomer 656/EC/FK-RSDK/2014.

### Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *true experiment* dan rancangan *post test-only controlled group*. Wistar jantan sebanyak 24 ekor dirandom menjadi 4 kelompok. Kelompok KN diberi diet standar, KP diberi DTL-TK, D1 diberi DTL-TK+EDK 250mg/kg BB, D2 diberi DTL-TK+EDK 500mg/kg BB.

### Komposisi Diet

Diet standar terdiri dari Comfeed PAR-S (53%), terigu (24%) dan air

Diet tinggi lemak dan kolesterol terdiri dari Comfeed PAR-S (50%), terigu (25%), kolesterol 2%, asam kolat 0,2%, dan minyak babi 10% (24). Comfeed PAR-S tersusun atas protein 11% dan lemak 4%, terigu tersusun atas karbohidrat 76,3g; protein 10,3g; lemak 1g setiap 100g, minyak babi tersusun atas lemak total 100g; kolesterol 97mg setiap 100g.

### Pembuatan Ekstrak Daun Kersen

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara daun kersen segar sebanyak ± 800g dicuci dengan air mengalir kemudian dipotong dan dilarutkan dalam larutan etanol 70% dengan perbandingan 1:5 selama 24 jam (proses maserasi), sesekali sambil diaduk. Ekstrak yang dihasilkan difilter menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan kemudian diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator bersuhu 400°C, sehingga menghasilkan ekstrak kental sebanyak 50,4mg. Sebelum diberikan pada tikus, ekstrak dosis 250mg/kg BB dan 500mg/kg BB dilarutkan dalam aquades 2ml/200gBB. Ekstrak daun kersen diberikan bersamaan dengan pakan, 1 kali dalam sehari

menggunakan sonde (25).

**Penimbangan Berat Badan**

Berat badan (BB) tikus ditimbang sebelum diberi pakan, setiap satu minggu sekali dan dimulai dari minggu ke-1 sampai minggu ke-8 penelitian.

**Analisis Biokimia**

Pemeriksaan kadar kolesterol darah menggunakan metode *enzymatic colorimetric test* CHOD-PAP (26). Pemeriksaan kadar soluble ICAM-1 dengan metode ELISA menggunakan RayBio rat ICAM-1 ELISA kit Cat. ELR-ICAM1 Lot. 021915 0722.

**Analisis Histopatologi**

Teknik pengamatan sel busa dengan cara tikus dikapitasi, dan diambil aorta abdominalis sepanjang 5cm (di bawah arteri renalis sampai percabangan arteri iliaca termasuk bifurcatio aorta), kemudian potongan aorta abdominalis dilakukan potong kecil dengan cryostat dan dipotong setebal 4 mikron, diletakkan di atas kaca objek dan dipulas dengan Haematoxilin-Eosin (HE), ditutup dengan kaca penutup. Sel busa dilihat di bawah mikroskop elektron dengan pembesaran 400x, di permukaan endotelium dan media pada penampang melintang aorta (27).

**Analisis Statistik**

Analisis statistik seluruh data menggunakan program SPSS 22. Data yang berdistribusi normal dilakukan uji *one way* ANOVA dilanjutkan dengan uji Post Hoc LSD; dan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk data yang tidak berdistribusi normal. Uji statistik dilakukan pada tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ).

**HASIL**

**Asupan Pakan dan Berat Badan Tikus**

Asupan pakan dihitung untuk mengetahui signifikansi dalam mempengaruhi kadar kolesterol, berat badan, kadar soluble ICAM-1 dan pembentukan sel busa tikus. Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) pada asupan pakan di antara 4 kelompok. Rerata asupan pakan paling tinggi ditunjukkan oleh KP dan paling rendah KN. Terdapat perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) asupan pakan antara KN dan KP. Terdapat perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) asupan pakan antara KN dan D1, serta KN dan D2. Terdapat perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) asupan pakan antara KP dan D1, serta KP dan D2. Tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ) asupan pakan antara D1 dan D2.

**Tabel 1. Asupan pakan tikus berdasarkan kelompok**

Kelompok	Asupan Pakan per Hari		
	Kalori (kcal) (mean±SD)*	Lemak (g) (mean±SD)**	Kolesterol (g) (mean±SD)*
KN (Kontrol -)	23,5 ± 0,38	0,4 ± 0,01	
KP (Kontrol +)	45,4 ± 1,09	2,6 ± 0,06	0,4 ± 0,01
D1 (Perlakuan 1)	41,9 ± 1,09	2,4 ± 0,06	0,39 ± 0,01
D2 (Perlakuan 2)	42,1 ± 1,20	2,36 ± 0,06	0,39 ± 0,01

Keterangan: \*Uji ANOVA  $p<0,05$  \*\*Uji Kruskal-Wallis  $p<0,05$

Berat badan (BB) tikus ditimbang setiap satu minggu sekali mulai dari awal sampai akhir penelitian. Berat badan

diukur dengan tujuan untuk mengetahui signifikansi pengaruh ekstrak daun kersen dalam menurunkan berat badan tikus. Rerata BB akhir dan kenaikan BB paling tinggi terdapat pada KP. Rerata BB akhir dan kenaikan BB paling rendah terdapat pada KN. Terdapat perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) BB akhir dan kenaikan BB antara KN dan KP. Terdapat perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) BB akhir dan kenaikan BB antara KN dan D1. Tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ) BB akhir dan kenaikan BB antara KN dan D2. Terdapat perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) BB akhir dan kenaikan BB antara KP dan D1. Terdapat perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) BB akhir dan kenaikan BB antara KP dan D2. Terdapat perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) BB akhir dan kenaikan BB antara D1 dan D2.

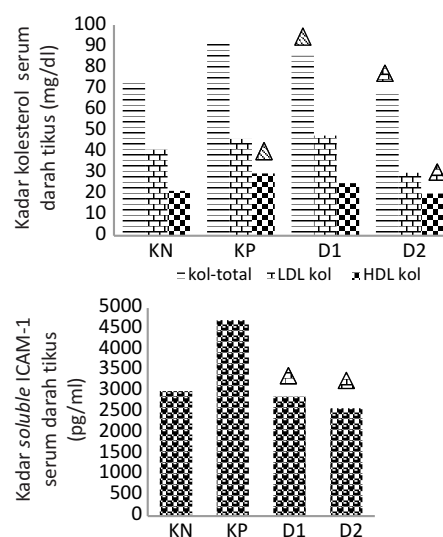
**Tabel 2. Rerata berat badan tikus berdasarkan kelompok**

Kelompok perlakuan	Berat Badan (g)		
	BB Awal (g) (mean±SD)*	BB Akhir (g) (mean±SD)**	Kenaikan BB (g) (median± Min-Max)***
KN (Kontrol -)	195 ± 2,28	248,3 ± 3,01	53 ± 51-55
KP (Kontrol +)	197,8 ± 5,38	291,8 ± 5,49	95 ± 89-97
D1 (Perlakuan 1)	195,5 ± 2,81	258,2 ± 3,06	63 ± 60-66
D2 (Perlakuan 2)	198 ± 5,40	251,3 ± 5,32	53 ± 53-55

Keterangan: \*Uji Kruskal-Wallis  $p>0,05$  \*\*Uji ANOVA  $p<0,05$  \*\*\*Uji Kruskal-Wallis  $p<0,05$

**Kadar Kolesterol dan Soluble ICAM-1**

Kadar kolesterol dan *soluble* ICAM-1 kelompok yang hanya diberi DTL-TK, cenderung lebih tinggi dibanding kelompok yang lain. Kadar kolesterol dan *soluble* ICAM-1 kelompok yang diberi EDK cenderung sama atau mendekati kadar kelompok yang diberi diet standar. Hasil pengukuran kadar kolesterol dan kadar *soluble* ICAM-1 serum pada akhir penelitian dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1. Grafik kadar kolesterol dan soluble ICAM-1 serum darah tikus pada setiap kelompok**

Keterangan: KN= diet standar; KP= DTL-TK; D1= DTL-TK+EDK dosis 1; D2= DTL-TK+EDK dosis 2

△ = berbeda signifikan ( $p<0,05$ ) dengan KN  
 ▲ = berbeda signifikan ( $p<0,05$ ) dengan KP

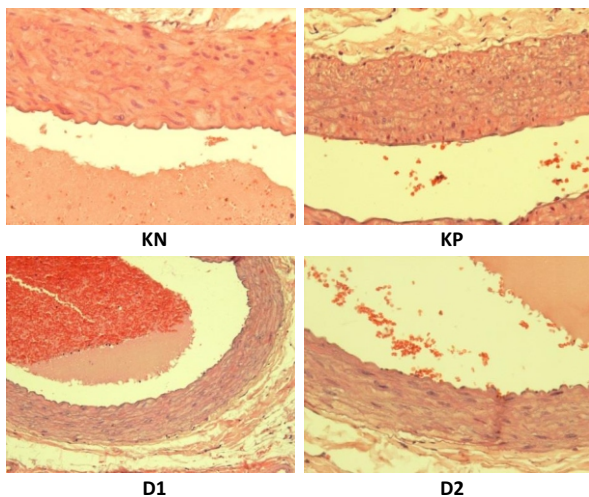
Analisis statistik menunjukkan bahwa rerata kadar kolesterol total tertinggi pada KP, sedangkan yang terendah pada D2. Tidak terdapat perbedaan ( $p>0,05$ ) kadar kolesterol total antara KN dan KP. Terdapat perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) kadar kolesterol total antara KN dan D1. Tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ) kadar kolesterol total antara KN dan D2. Tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ) kadar kolesterol total antara KP dan D1. Terdapat perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) kadar kolesterol total antara KP dan D2. Tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ) kadar kolesterol total antara D1 dan D2.

Rerata kadar kolesterol LDL tertinggi pada D1, sedangkan yang terendah pada D2. Tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ) kadar kolesterol LDL diantara empat kelompok.

Rerata kadar kolesterol HDL tertinggi pada KP, sedangkan yang terendah pada D2. Terdapat perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) kadar kolesterol HDL antara KN dan KP. Tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ) kadar kolesterol HDL antara KN dan D1 begitu pun antara KN dan D2. Tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ) kadar kolesterol HDL antara KP dan D1. Terdapat perbedaan bermakna ( $p<0,05$ ) kadar kolesterol HDL antara KP dan D2. Tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ) kadar kolesterol HDL antara D1 dan D2.

#### Pembentukan Sel Busa

Berdasarkan hasil analisis histopatologi aorta abdominal tikus Wistar, menunjukkan bahwa belum terdapat pembentukan sel busa pada permukaan endotelium vaskuler diantara 4 kelompok. Akumulasi sel busa pada jejas awal endotelium, pada umumnya terdapat di permukaan lapisan sel tunggal pada bagian dalam pembuluh darah (endotelium).



**Gambar 2. Penampang melintang lapisan dalam aorta abdominal**

**Keterangan:** (KN) diet standar, (KP) DTL-TK, (D1) DTL-TK+EDK 250mg/kg BB, (D2) DTL-TK+EDK 500mg/kg BB  
Pewarnaan Haematoxilin-Eosin (HE)  
Pengamatan menggunakan mikroskop elektron perbesaran 400x  
Tidak terdapat pembentukan sel busa

#### DISKUSI

Rerata BB akhir dan kenaikan BB kelompok yang diberi

DTL-TK (KP) lebih tinggi secara bermakna ( $p<0,05$ ) dibanding kelompok yang diberi diet standar (KN). Apabila dilihat dari jumlah asupan kalorinya, maka kelompok yang diberi DTL-TK (KP) merupakan yang paling tinggi dibanding kelompok yang lain. Hasil yang sama diperoleh dari penelitian Swithers *et al*, diet tinggi lemak pada tikus selama 28 hari menunjukkan terjadinya peningkatan BB secara bermakna (28). Rerata BB akhir dan kenaikan BB kelompok yang diberi EDK (D1 dan D2) lebih rendah secara bermakna ( $p<0,05$ ) dibanding kelompok yang diberi DTL-TK (KP). EDK mengandung senyawa *flavonoid* dan saponin, pada penelitian Shi *et al*, *flavonoid* dan saponin berperan menghambat kerja enzim lipase pankreas dalam saluran pencernaan. Lipase merupakan enzim yang mempunyai peran vital dalam hidrolisis trigliserida. Trigliserida yang berasal dari makanan akan dihidrolisis oleh lipase pankreas menjadi monogliserida dan asam lemak bebas, yang selanjutnya diserap dan didistribusikan ke berbagai organ dan sebagian besar dibentuk kembali menjadi trigliserida (triasilgliserol) untuk disimpan di jaringan sehingga memicu obesitas. Apabila aktivitas lipase di sistem pencernaan dihambat maka pencegahan obesitas menjadi efektif (29).

Kadar kolesterol total menjadi parameter perkembangan inflamasi vaskuler menuju pembentukan plak aterosklerosis (30). Rerata kadar kolesterol total kelompok yang diberi EDK dosis 500mg/kg BB (D2=67,3mg/dl) lebih rendah secara bermakna ( $p<0,05$ ) dibanding kelompok yang diberi DTL-TK (KP=91,1mg/dl). Hanya dosis 500mg/kg BB yang dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus yang diberi DTL-TK. Mekanisme penurunan kadar kolesterol total oleh senyawa aktif ekstrak daun kersen diantaranya saponin pada penelitian Lee S yaitu meningkatkan sekresi asam empedu ke dalam feses sehingga mengakibatkan konversi kolesterol menjadi asam empedu semakin meningkat sedangkan sekresi kolesterol ke sistem peredaran darah menjadi berkurang (31). Pada penelitian yang dilakukan oleh M. Sato *et al*, dan Kamisoyama *et al*, *flavonoid* dan saponin berperan menghambat penyerapan kolesterol dan asam lemak bebas di saluran pencernaan melalui penghambatan aktivitas lipase pankreas di saluran pencernaan. Lipase pankreas berperan dalam hidrolisis trigliserida sehingga apabila hidrolisis dihambat akibatnya terjadi penurunan triasilgliserol di usus dan lipid yang diangkut dalam plasma menurun (32,33). Pada penelitian Shabrova *et al*, *flavonoid* mempengaruhi metabolisme kolesterol di hati dengan menurunkan ekspresi gen sintesis kolesterol (23). Diduga bahwa EDK mampu mengeliminasi kolesterol di dalam tubuh melalui proses penyerapan sampai ke proses pembuangan dari dalam tubuh. Tidak ada perbedaan bermakna kadar kolesterol D2 dan KN. Dapat disimpulkan bahwa EDK mampu mempertahankan kadar kolesterol total tikus tetap dalam kadar yang normal meskipun dalam keadaan mengkonsumsi diet tinggi lemak dan kolesterol.

LDL merupakan lipoprotein utama yang mengangkut kolesterol di sistem sirkulasi darah menuju jaringan. Beberapa penelitian membuktikan bahwa kolesterol LDL merupakan lipoprotein aterogenik utama (34). Tidak ditemukan perbedaan bermakna kadar kolesterol LDL yang bermakna diantara 4 kelompok ( $p=0,153$ ). EDK tidak dapat menurunkan kadar kolesterol LDL secara signifikan, walaupun demikian kelompok yang diberi EDK dosis 500mg/kg BB (D2) lebih rendah dibanding kelompok yang diberi DTL-TK (KP).

Diketahui bahwa *flavonoid* dengan jenis yang berbeda dapat menurunkan kadar kolesterol LDL dengan kemampuan yang berbeda pula. *Flavonoid* jenis naringenin dan hesperitin dapat menghambat aktivitas ACAT (*cholesterol acyltransferase*) dan MTP (microsomal transfer protein), dimana ACAT dan MTP bertanggung jawab terhadap sintesis dan esterifikasi kolesterol di hati. Flavanon pada jus jeruk juga mampu menurunkan kadar kolesterol LDL manusia, sedangkan *flavonoid* pada teh hitam tidak menurunkan kadar kolesterol LDL (35,36). Jenis *flavonoid* pada EDK tidak diketahui sehingga belum dapat menjelaskan pengaruh terhadap kadar kolesterol LDL. Salah satu kelemahan penelitian ini yaitu tidak dilakukan pemeriksaan jenis *flavonoid* yang terkandung dalam EDK. Penelitian ini menyimpulkan bahwa EDK tidak dapat menurunkan kadar kolesterol LDL.

HDL berperan dalam mengangkut kolesterol dari seluruh jaringan tubuh kembali ke hati untuk dikeluarkan melalui feses. HDL merupakan lipoprotein anti-aterogenik utama (34). EDK tidak dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL. Penelitian lain membuktikan bahwa berbagai jenis senyawa *flavonoid* dengan pemberian dosis yang sama, memberikan efek yang berbeda pada kenaikan kadar kolesterol HDL (37). Selain itu, antioksidan pada senyawa fitokimia dimungkinkan mempengaruhi ekspresi gen Apo A-I. Apo A-I merupakan protein struktural utama dari kolesterol HDL. Beberapa antioksidan dalam konsentrasi yang tinggi dapat menurunkan aktivitas promotor Apo A-I. Pemberian antioksidan pada dosis yang tinggi dimungkinkan dapat menurunkan kadar HDL kolesterol (38). Serupa dengan hasil penelitian ini, dimana kadar HDL kolesterol kelompok dosis EDK 500mg/kg BB (D2) lebih rendah namun tidak bermakna ( $p>0,05$ ) dibanding kelompok dosis 250mg/kg BB (D1). Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan *flavonoid* pada EDK dalam meningkatkan kadar HDL kolesterol.

ICAM-1 memediasi pelekatan dan aktivitas leukosit di endotelium vaskuler. Kadar soluble ICAM-1 serum darah menggambarkan inflamasi derajat rendah dan terjadinya disfungsi endotel yang mengarah pada perkembangan aterosklerosis (12). Nilai tengah kadar *soluble* ICAM-1 kelompok yang diberi DTL-TK bersama EDK pada kedua dosis (D1=2279pg/ml; D2=2341,5pg/ml), lebih rendah secara bermakna ( $p<0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok yang diberi DTL-TK (KP=4524 pg/ml). EDK pada dua macam dosis yang berbeda, mempunyai kemampuan yang sama dalam menurunkan kadar soluble ICAM-1. Penurunan kadar *soluble* ICAM-1 pada kedua dosis EDK yaitu sekitar 50%. Penurunan kadar soluble ICAM-1 diduga disebabkan oleh aktivitas *flavonoid* dan saponin

yang terdapat di dalam EDK. *Flavonoid* mempunyai aktivitas antioksidan yang paling efektif untuk menghambat pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) akibatnya pengerahan leukosit berkurang serta aktivitas ICAM-1 sebagai mediator menurun. *Flavonoid* dan saponin dapat menghambat aktivitas sitokin yang mengatur aktivitas ICAM-1 (39,40). Serupa dengan penelitian Kong Lingxi *et al*, perlakuan menggunakan *flavonoid* pada kelinci yang diberi diet lemak selama 10 minggu terbukti mampu menurunkan ekspresi ICAM-1 pada aorta secara signifikan (41).

Sel busa terbentuk dari aktivitas makrofag pada jejas awal dinding vaskuler. Kolesterol LDL merupakan kolesterol utama yang terakumulasi di sel busa (42). Penelitian lain menunjukkan bahwa DTL-TK sebanding dengan terjadinya peningkatan kadar kolesterol dan produksi ROS di dalam tubuh. ROS dapat meningkatkan pembentukan sel busa pada permukaan endotelium vaskuler (43). Pada Penelitian ini, belum terdapat pembentukan sel busa pada semua kelompok perlakuan. Belum tampaknya sel busa diduga disebabkan oleh jenis diet lemak dan jangka waktu pemberiannya. Jenis diet lemak dan jangka waktu pemberian menjadi penentu utama terbentuknya sel busa pada jaringan tubuh hewan utamanya tikus. Diet 14 gram% lemak pada kelinci selama 4 minggu menunjukkan terbentuknya sel busa pada bagian hati tetapi tidak sebanyak pada kelinci yang diberi diet kolesterol 2% selama 24 minggu dan yang diberikan 14gram % lemak selama lebih dari 24 minggu (44). Salah satu kelemahan penelitian ini adalah tidak dilakukan pewarnaan khusus untuk mengamati sel busa. Pewarnaan untuk mengamati sel busa adalah menggunakan Oil-Red O (24). Disarankan untuk penelitian selanjutnya untuk memperhatikan jenis diet lemak yang diberikan serta jangka waktu pemberian, dan dalam pengamatan sel busa sebaiknya menggunakan pewarnaan Oil-Red O.

Pemberian 500mg/kg BB EDK menurunkan secara bermakna ( $p<0,05$ ) kadar kolesterol total tikus yang diberi DTL-TK. Pemberian 250mg/kg BB dan 500mg/kg BB EDK menurunkan secara bermakna ( $p<0,05$ ) kadar *soluble* ICAM-1 dengan kemampuan sama pada tikus yang diberi DTL-TK. EDK belum dapat dibuktikan mencegah pembentukan sel busa. Penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan perpanjangan waktu pemberian DTL-TK agar terjadi pembentukan sel busa aorta, pewarnaan untuk mengamati sel busa sebaiknya menggunakan Oil-Red O, sebaiknya dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol LDL dan HDL yang lebih spesifik terhadap metabolismenya, perlu identifikasi jenis *flavonoid* pada daun kersen dan dilakukan uji klinis untuk selanjutnya dapat dilakukan penelitian pada manusia.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Milias GA, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Xenaki D, Panagopoulos G, and Stefanadis C. *Prevalence of Self-Reported Hypercholesterolaemia and its Relation to Dietary Habits, in Greek Adults; a National Nutrition and Health Survey*. *Lipid in Health and Disease*. 2006; 5(5).
2. Rolfes SR, Pinna K, and Whitney E. *Understanding Normal and Clinical Nutrition*. 9th Edition. Canada: Wadsworth Cengage Learning; 2012; pp. 271.
3. Yaghmaie P, Kazem Parivar, and Minou Haftsavar. *Effect of Citrus aurantifolia Peel Essential Oil on Serum Cholesterol Levels in Wistar Rats*. *Journal of Paramedical Science*. 2011; 2(1): 29-32.
4. World Health Organization. *Noncommunicable Diseases Country Profiles 2011*. Geneva: World Health Organization; 2011.
5. Mendis S, Puska P, and Norrving B. *Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control*. Geneva: World Health Organization in Collaboration with the World Heart Federation and World Stroke Organization; 2011; pp. 8.

6. Erickson KL, Kelley DS, and Hubbard NE. Dietary Fat and Immunity in Humans. In: Gershwin ME, Nestel P, and Keen CL (Eds). *Handbook of Nutrition and Immunity*. Totowa, New Jersey: Humana Press; 2004; pp. 141-145.
7. Prabha SP, Ansil PN, Nitha A, Wills PJ, and Latha MS. *Anti-Atherogenic Activity of Methanolic Extract of Gardenia gummifera Linn. F. on High Fat Diet Induced Atherosclerosis in Rats*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2013; 5(2): 388-393.
8. Calder PC and Catherine JF. *Nutrition and the Immune Function*. New York: CAB International; 2002; pp. 65-67.
9. Gustavsson C, Agardh CD, Zetterqvist AV, Nilsson J, Agardh E, and Gomez MF. *Vascular Cellular Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) Expression in Mice Retinal Vessels is affected by Both Hyperglycemia and Hyperlipidemia*. PLoS ONE. 2010; 5(9): 1-12.
10. Witkowska MA. *Soluble ICAM-1: A Marker of Vascular Inflammation and Lifestyle*. Cytokine. 2005; 31(2): 127-134.
11. Fotis L, Agrogiannis G, Vlachos IS, et al. *Intercellular Adhesion Molecule (ICAM)-1 and Vascular Cell Adhesion Molecule (VCAM)-1 at the Early Stages of Atherosclerosis in a Rat Model*. In Vivo. 2012; 26(2): 243-250.
12. Karásek D, Vaverková H, Halenka M, Budíková M, and Novotný D. *Soluble Cell Adhesion Molecules S-VCAM-1 and S-ICAM-1 in Subjects with Familial Combined Hyperlipidemia*. Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia. 2005; 149(1): 101-108.
13. Du Z, Yang Y, and Hu Y. *A Long-Term High-Fat Diet Increases Oxidative Stress, Mitochondrial Damage and Apoptosis in the Inner Ear of D-Galactose-Induced Aging Rats*. Hearing Research. 2012; 287(1-2): 15-24.
14. Kustiyah I dan Sarjadi PA. *Pengaruh Berbagai Variasi Dosis Ekstrak Morinda citrifolia terhadap Kadar Lipid Serum dan Perkembangan Lesi Aterosklerotik pada Aorta Abdominalis Tikus Wistar*. Media Medika Indonesia. 2003; 38(4): 193-202.
15. Sufian AS, Ramasamy K, Ahmat N, Zakaria ZA, and Yusof MI. *Isolation and Identification of Antibacterial and Cytotoxic Compounds from the Leaves of Muntingia calabura L*. Journal of Ethnopharmacology. 2013; 146(1): 198-204.
16. Sani MHM, Zakaria ZA, Balan T, Teh LK, and Salleh MZ. *Antinociceptive Activity of Methanol Extract of Muntingia calabura Leaves and the Mechanisms of Action Involved*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2012; 2012: 1-10.
17. Yusof MIM, Salleh MZ, Kek TK, Ahmat N, Azmin NFN, and Zakaria ZA. *Activity-Guided Isolation of Bioactive Constituents with Antinociceptive Activity from Muntingia calabura L. Leaves Using the Formalin Test*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013; 2013: 1-9.
18. Sindhe MA, Bodke Y, and Aswathanarayanappa C. *Antioxidant and In Vivo Anti-Hyperglycemic Activity of Muntingia calabura Leaves Extracts*. Der Pharmacia Lettre. 2013; 5(3): 427-435.
19. Zakaria ZA, Mohamed AM, Jamil NS, et al. *In Vitro Antiproliferative and Antioxidant Activities of the Extracts of Muntingia calabura Leaves*. American Journal of Chinese Medicine. 2011; 39(1): 183-200.
20. Shih CD, Chen JJ, and Lee HH. *Activation of Nitric Oxide Signaling Pathway Mediates Hypotensive Effect of Muntingia calabura L (Tiliaceae) Leaf Extract*. American Journal of Chinese Medicine. 2006; 34(5): 857-872.
21. Zakaria ZA, Hazalin NAMN, Zaid SNHM, et al. *Antinociceptive, Anti-Inflammatory and Antipyretic Effects of Muntingia calabura Aqueous Extract in Animal Models*. Journal of Natural Medicines. 2007; 61(4): 443-448.
22. Roza JM, Zheng XL, and Guthrie N. *Effect of Citrus Flavonoids and Tocotrienols on Serum Cholesterol Levels in Hypercholesterolemic Subjects*. Alternative Therapies in Health and Medicine. 2007; 13(6): 44-48.
23. Shabrova EV, Tarnopolsky O, Singh AP, Plutzky J, Vorsa N, and Quadro L. *Insights into the Molecular Mechanisms of the Anti-Atherogenic Actions of Flavonoids in Normal and Obese Mice*. PLoS ONE. 2011; 6(10): e24634.
24. Murwani S, Mulyohadi A, and Ketut M. *Diet Aterogenik pada Tikus Putih (Rattus Novergicus Strain Wistar) sebagai Model Hewan Aterosklerosis*. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2006; 22(1): 6-9.
25. Voight R. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi ke 5. Yogyakarta: UGM Press; 1995.
26. Chawla R. *Practical Clinical Biochemistry Methods and Interpretations*. Third Edition. New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2006.
27. Culling CFA. *Handbook of Histopathological and Histochemical Techniques*. Third Edition. London: Butterworths; 2013.
28. Swithers SE, Ogden SB, and Davidson TL. *Fat Substitutes Promote Weight Gain in Rats Consuming High-Fat Diets*. Behavioral Neuroscience. 2011; 125(4): 512-518.
29. Shi D, Chen C, Zhao S, Ge F, Liu D, and Song H. *Walnut Polyphenols Inhibit Pancreatic Lipase Activity In Vitro and Have Hypolipidemic Effect on High-Fat Diet-Induced Obese Mice*. Journal of Food and Nutrition Research. 2014; 2(10): 757-763.
30. Katakami N, Kaneto H, Osonoi T, et al. *Usefulness of Lipoprotein Ratios in Assessing Carotid Atherosclerosis in Japanese Type 2 Diabetic Patients*. Atherosclerosis. 2011; 214(2): 442-447.
31. Lee SO, Simons AL, Murphy PA, and Hendrich S. *Soyasaponin Lowered Plasma Cholesterol and Increased Fecal Bile Acids in Female Golden Syrian Hamsters*. Experimental Biology and Medicine. 2005; 230(7): 472-478.
32. Sato M, Ueda T, Nagata K, et al. *Dietary Kakrol (Momordica dioica roxb) Flesh Inhibits Triacylglycerol Absorption and Lowers the Risk for*

- Development of Fatty Liver in Rats*. Experimental Biology and Medicine. 2011; 236(10): 1139-1146.
33. Kamisoyama H, Honda K, Tominaga Y, Yokota S, and Hasegawa S. *Investigation of the Anti-Obesity Action of Licorice Flafonoid Oil in Diet Induced Obese Rats*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2008; 72(12): 3225-3231.
  34. Nicholls SJ, Tuzcu EM, Sipahi I, et al. *Statins, High-Density Lipoprotein Cholesterol, and Regression of Coronary Atherosclerosis*. Journal of the American Medical Association. 2007; 297(5): 499-508.
  35. Aptekmann NP and Cesar TB. *Long-Term Orange Juice Consumption is Associated with Low LDL-Cholesterol and Apolipoprotein B in Normal and Moderately Hypercholesterolemic Subjects*. Lipids in Health and Disease. 2013; 12(119): 1-10.
  36. Troup R, Hayes JH, Raatz SK, et al. *Effect of Black Tea Intake on Blood Cholesterol Concentrations in Individuals with Mild Hypercholesterolemia: a Diet-Controlled Randomized Trial*. Journal of the Academy Nutrition and Dietetics. 2015; 115(2): 264-271.
  37. Oliveira TT, Ricardo KFS, Almeida MR, Costa MR, and Nagem TJ. *Hypolipidemic Effect of Flavonoids and Cholestyramine in Rats*. Latin American Journal of Pharmacy. 2007; 26(3): 407-410.
  38. Mooradian AD, Haas MJ, and Wong NC. *The Effect of Select Nutrients on Serum High-Density Lipoprotein Cholesterol and Apolipoprotein A-I Levels*. Endocrine Reviews. 2006; 27(1): 2-16.
  39. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, and van Leeuwen PA. *Flavonoids: A Review of Probable Mechanisms of Action and Potential Applications*. The American Journal of Clinical Nutrition. 2001; 74(4): 418-425.
  40. Wang N, Wan JB, Chan SW, et al. *Comparative Study on Saponin Fractions from Panax Notoginseng Inhibiting Inflammation Induced Endothelial Adhesion Molecule Expression and Monocyte Adhesion*. Chinese Medicine. 2011; 6(37): 1-12.
  41. Kong L, Luo C, Li X, Zhou Y, and He H. *The Anti-Inflammatory Effect of Kaempferol on Early Atherosclerosis in High Cholesterol Fed Rabbits*. Lipids in Health and Disease. 2013; 12(155): 12.
  42. Schrijvers DM1, De Meyer GR, Herman AG, and Martinet W. *Phagocytosis in Atherosclerosis: Molecular Mechanisms and Implications for Plaque Progression and Stability*. Cardiovascular Research. 2007; 73(3): 470-480.
  43. Du Z, Yang Y, Hu Y, et al. *A Long-Term High-Fat Diet Increases Oxidative Stress, Mitochondrial Damage and Apoptosis in the Inner Ear of D-Galactose-Induces Aging Rats*. Hearing Research. 2012; 287(1-2): 15-24.
  44. Song SH, Min BI, Lee JH, and Cho KS. *Chronological Effects of Atherogenic Diets on the Aorta, Liver and Spleen of Rabbits*. Journal of Korean Medical Sciences. 2000; 15(4): 413-419.