

PERBAIKAN GAMBARAN LESI ATEROSKLEROTIK DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK BETA VULGARIS PADA TIKUS MODEL DIET ATHEROGENIK

Fransisca Pramesshintia HARDIMARTA^{*)}, Kartika IKAWATI, Christina Ary YUNIARTI

Akademi Analisis Kesehatan 17 Agustus 1945 Semarang

*email: sisca_hardi@ymail.com

Abstrak

Atherosclerosis is characterized by the accumulation of fat in the arteries so it forms plaque that causes thickening of the intima and blockage of the arteries. Beet roots are rich of phytochemical compounds that have antioxidant activity. Design of research is a laboratory experimental study with a Post Test Only Randomized Control Group Design. The population of this study was male Wistar rats with age 2-3 months and body weight 125-200 grams. The study sample was randomly selected and consists of 7 groups and 5 rats for each group. The average number of foam cells in the baseline group is 17.6; negative control group is 65.8; positive control is 54.6; group I is 38.8; group II is 27.4; group III is 46.4; and group IV is 42.4. The average thickness of the aortic intima tunica in the baseline group is 136.8 μ ; negative control group is 251.4 μ ; positive control is 211.8 μ ; group I is 202.8 μ ; group II is 184 μ ; group III is 242.8 μ ; and group IV is 210.6 μ . Statistical test results showed that there were significant differences in supplementation of beet root extracts against aortic thickness and the number of foam cells in rats fed atherogenic diets.

Kata kunci: Umbi bit, Sel busa, Ketebalan Aorta, diet atherogenik, aterosklerosis

1. PENDAHULUAN

Aterosklerosis merupakan penyebab utama pada penyakit kardiovaskular. Aterosklerosis merupakan keadaan kronis yang ditandai dengan akumulasi lemak di dinding pembuluh darah arteri sehingga membentuk plak yang menyebabkan penebalan tunika intima, pengerasan, penyempitan bahkan sumbatan pada arteri tersebut. Faktor resiko terjadi aterosklerosis adalah dislipidemia.¹ Dislipidemia merupakan ketidakseimbangan profil lipid tubuh yang ditandai peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida dan *Low Density Lipoprotein*

(LDL) dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL).

Asupan makanan yang tinggi lemak menyebabkan LDL tidak mampu membawa kolesterol ke dalam jaringan sehingga tetap beredar dalam pembuluh darah dan akhirnya menempel di endotel pembuluh darah. LDL merupakan lipoprotein yang mudah teroksidasi (ox-LDL) dan memiliki sifat aterogenik. Ox-LDL mengaktivasi sel endotel untuk terjadinya penempelan monosit di dinding endotel yang memudahkan migrasi monosit ke intima. Monosit kemudian berubah menjadi makrofag dan menangkap ox-LDL melalui reseptor scavenger

menyebabkan terbentuknya sel busa (foam cells). Sel busa terintergrasi membentuk garis lemak disepanjang endotel yang dikenal sebagai fatty streak dan menjadi bukti awal terbentuknya plak aterosklerotik.²⁻⁴

Pengobatan dislipidemia selama ini menggunakan obat – obatan golongan statin, namun pengobatan tersebut kurang efektif dalam mengatasi terjadinya aterosklerosis.. Bit (Beta vulgaris) merupakan tanaman yang banyak didapatkan di Eropa, Amerika dan Asia termasuk Indonesia. Setiap bagian dari bit telah banyak digunakan sebagai pengobatan tradisional di berbagai negara. Ekstrak umbi bit telah banyak diteliti dan diketahui memiliki efek antikanker, antidiabetik dan antihiperkolestolemia. Umbi bit kaya akan kandungan senyawa fitokimia seperti asam askorbat, karotenoid, fenol, flavonoid dan betalain yang memiliki aktivitas antioksidan.

Penelitian sebelumnya (Mukuntha et al, 2016) membuktikan berbagai macam ekstrak bit (ethanol, methanol, air) dengan dosis 200 mg/kgBB/hari selama 10 hari pada tikus Wistar memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar lemak tubuh secara signifikan. Namun, sampai saat ini belum ada data penelitian mengenai gambaran histopatologi lesi aterosklerotik pada hewan coba yang diinduksi diet aterogenik dan diberikan terapi ekstrak etanol bit sebagai terapi tunggal maupun kombinasi dengan golongan statin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak umbi bit terhadap perbaikan gambaran histopatologi tikus wistar dengan diet aterogenik.⁵

2. METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *Post Test Only Randomized Control Group Design*. Penelitian ini berlangsung pada bulan Mei sampai Juli 2019 di laboratorium MIPA UNNES dan Laboratorium Akademi Analis Kesehatan 17 Agustus 1945 Semarang. Penelitian ini mendapatkan pembiayaan dari hibah DRPM tahun pelaksanaan 2019. Populasi penelitian ini adalah tikus jantan galus wistar dengan usia 2 – 3 bulan dan berat badan 125 – 200 gram. Sampel penelitian dipilih secara acak tiap kelompok sebanyak 7 kelompok sesuai dengan rumus *Federer* dan untuk mengantisipasi *drop out* sehingga menggunakan 5 ekor untuk tiap sampel, sehingga total 35 ekor.

Pembuatan Ekstrak Umbi Bit

Pembuatan ekstrak umbi bit dilakukan dengan metode remaserasi, selanjutnya dimaserasi dengan etanol 96% selama 7 hari pada suhu ruang. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring dan filtrat diuapkan dengan rotary evaporator suhu 40°C sampai tidak terdapat tetesan pelarut sehingga diperoleh ekstrak kental umbi bit

Perlakuan Hewan Uji

Tikus diaklimatisasi selama 7 hari untuk membiasakan pada lingkungan percobaan dan diberi pakan standart , mencit jantan dipuasakan 60 menit sebelum penelitian, selanjutnya dikelompokkan menjadi 7 kelompok yaitu :

- a. Kelompok I (Normal) :diberi makanan diet normal dan aquadest
- b. Kelompok II (Kontrol Negatif) : diberi diet aterogenik.

- c. Kelompok III (Kontrol Positif) : diberi diet aterogenik dan Simvastatin 0,18 mg/kgBB
- d. Kelompok IV : diberi diet aterogenik + ekstrak umbi bit 100 mg/kgBB
- e. Kelompok V : diberi diet aterogenik + ekstrak umbi bit 200 mg/kgBB
- f. Kelompok VI : diberi diet aterogenik + ekstrak umbi bit 100 mg/kgBB + Simvastatin 0,18 mg/kgBB
- g. Kelompok VII : diberi diet aterogenik + ekstrak umbi bit 200 mg/kgBB + Simvastatin 0,18 mg/kgBB Perlakuan tersebut diberikan selama 35 hari.

Pembuatan Preparat Histopatologi

Pada akhir perlakuan, setelah hewan uji diambil darahnya, kemudian dieutensia dengan cara dimasukkan dalam toples yang telah berisi uap jenuh eter, dibiarkan beberapa saat sampai tikus mati. Kemudian tikus dibedah, diambil pembuluh darah aorta abdominalis dan disimpan dalam larutan buffer formalin. Kemudian dibuat preparat dengan blok formalin untuk pembuatan slidanya. Pewarnaan slide menggunakan Hmatoxylin Eonosit.

Penghitungan Sel Busa

Sel busa dilihat dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Dihitung jumlah sel busa di tunika intima dan media pada penampang melintang aorta

Pengukuran Ketebalan Aorta Abdominalis

Pemeriksaan dengan mikroskop dengan pembesaran 400x (okuler 10x, obyektif 40x). Mengukur ketebalan penampang lintang aorta dari tunika intima sampai tunika adventitia pada 8 zona (jam 12.00, 13.30, 15.00, 16.00, 18.00, 19.30,

21.00 dan 22.30) cara penghitungannya adalah (jumlah skala)/400 x 1000 mikron. Atau skala x 2,5 mikron. Ketebalan aorta dikonversi dalam persen (dengan membandingkan ukuran ketebalan aorta dengan kelompok kontrol). Menghitung nilai mean dan SD untuk mendapatkan nilai ketebalan normal. Bila lebih dari normal, disebut dinding menebal. Pengukuran ketebalan aorta dilakukan pada delapan zona dan dihitung berapa persen bagian yang menebal (pada penampang melintang aorta)

Analisa Data

Data dari parameter yang diamati dalam penelitian ini dilakukan uji normalitas dan homogenitas, apabila hasilnya normal dan homogen, maka dilanjutkan uji ANOVA. Jika data menunjukkan tidak terdistribusi normal dan atau tidak homogen, maka analisa dilanjutkan melalui non parametrik test yaitu uji Kruskal Wallis.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan penghitungan sel busa dan pengukuran ketebalan aorta abdominalis didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Rerata jumlah sel busa dan ketebalan aorta abdominalis

Kelompok	Rata - Rata ± SD	
	Jumlah Sel busa	Ketebalan aorta
Baseline	17,6 ± 1,14	136,8 ± 1,3
Kontrol Negatif	65,8 ± 2,58	251,4 ± 1,67
Kontrol Positif	54,6 ± 1,14	211,8 ± 1,30
Kelompok I	38,8 ± 1,3	202,8 ± 1,4
Kelompok II	27,4 ± 1,81	184 ± 2,12
Kelompok III	46,4 ± 1,81	242,8 ± 1,48
Kelompok IV	42,4 ± 1,51	210,6 ± 2,88

Data jumlah sel busa dan ketebalan aorta abdominalis yang telah diperoleh diuji secara statistic . Data yang diperoleh berdistribusi normal dan homogen,

sehingga untuk menguji perbedaan pengaruh umbi bit dilakukan pengujian menggunakan uji ANNOVA.

Tabel 2. Analisa Statistik Jumlah Sel Busa

Kelompok	Uji Anova	Uji Post Hoc						
		Baseline	K(-)	K(+)	K I	K II	K III	K IV
Baseline		-	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
K(-)			-	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
K(+)				-	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
K I	0,00				-	0,00*	0,00*	0,046*
K II						-	0,00*	0,00*
K III							-	0,017*
K IV								-

Tabel 3. Analisa Statistik Ketebalan Aorta Abdominalis

Kelompok	Uji Anova	Uji Post Hoc						
		Baseline	K(-)	K(+)	K I	K II	K III	K IV
Baseline		-	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
K(-)			-	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
K(+)				-	0,00*	0,00*	0,00*	1,00
K I	0,00				-	0,00*	0,00*	0,001*
K II						-	0,00*	0,00*
K III							-	0,017*
K IV								-

Hasil uji statistic menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji Post Hoc yaitu dengan membandingkan antar kelompok perlakuan. Kelompok control negative jika dibandingkan dengan kelompok baseline terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,005$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian pakan aterogenik dapat meningkatkan jumlah sel busa dan ketebalan aorta abdominalis. Kelompok control positif jika dibandingkan dengan kelompok control negative terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,005$) dimana pemberian simvastatin

dapat menurunkan jumlah sel busa dan ketebalan aorta abdominalis.

Kelompok perlakuan I, II dan III jika dibandingkan dengan kelompok control negative dan control positif terdapat perbedaan signifikan ($P < 0,00$) hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak umbi bit dosis single dan kombinasi dengan simvastatin dapat menurunkan ketebalan aorta abdominalis lebih baik dibandingkan control positif. Sedangkan kelompok IV tidak terdapat perbedaan bermakna dibandingkan kelompok control positif ($p > 0,005$).

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak umbi bit sebagai terapi tunggal dan kombinasi dengan simvastatin dalam berbagai dosis pada ketebalan tunika intima dan jumlah sel busa arteri abdominalis tikus wistar yang diinduksi diet atherogenik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian diet atherogenik pada kelompok kontrol positif dapat meningkatkan jumlah sel busa dan diameter tunika intima arteri abdominalis, karena pemberian minyak babi dan kuning telur bebek menginduksi kejadian hiperlipidemia. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa setiap pemberian pakan dengan lemak jenuh 1 % akan menyebabkan peningkatan kadar kolesterol sebesar 2,7 mg/dl dari total energy sehari, sehingga pemberian pakan dengan kandungan lemak jenuh seperti kuning telur bebek dan lemak babi setiap hari dalam jangka waktu panjang dapat menyebabkan hati memproduksi LDL dalam jumlah yang besar. Selain itu asam lemak bebas akan menurunkan reseptor LDL di hati sehingga pembuangan LDL dari sirkulasi darah akan berkurang. Hal ini menyebabkan peningkatan pembentukan plak di endotel pembuluh darah yang memicu terjadinya thrombosis yang merupakan factor resiko penyakit jantung koroner.⁶

Pembentukan sel busa pada pemberian pakan atherogenik disebabkan karena proses oksidasi lipoprotein terutama LDL. LDL teroksidasi (Ox-LDL) dikenal oleh makrofag sebagai benda asing, sehingga memicu proses fagositosis dan terakumulasi menjadi sel busa. Ox-LDL menstimulasi endotel pembuluh darah untuk mensekresi *Monocyte Chemotactic*

Protein-1 (MCP-1) yang berfungsi merekrut makrofag menuju tempat inflamasi dan melekat di endotel pembuluh darah. Selanjutnya makrofag akan bermigrasi ke subendotel dan menyebabkan terbentuknya thrombosis di tunika intima pembuluh darah, yang terlihat dengan peningkatan diameter pembuluh darah.⁷

Obat dengan golongan statin merupakan drug of choice untuk menurunkan kadar kolesterol total dengan menghambat efek HMG-CoA reductase, dimana berfungsi menghambat konversi HMG-CoA menjadi precursor kolesterol. Selain itu statin juga bekerja dengan meningkatkan ekspresi reseptor LDL di hati, sehingga meningkatkan clearance LDL di sirkulasi darah dan mencegah terbentuknya plak atherosclerosis. Pemberian obat – obatan golongan statin bersama dengan obat – obatan lain dapat menyebabkan perubahan konsentrasi statin dalam plasma sehingga memberikan efek samping berupa timbulnya miopati dan rhabdomyolisis. Selain itu berdasarkan penelitian klinis diketahui bahwa penggunaan simvastatin dapat menyebabkan gangguan fungsi kognisi, neuropati, disfungsi pancreas dan hati dan disfungsi seksual.⁸⁻¹¹

Pemberian ekstrak umbi bit pada kelompok perlakuan memberikan hasil penurunan jumlah sel busa dan ketebalan tunika intima arteri abdominalis, hal ini disebabkan karena umbi bit memiliki kandungan utama yaitu betalain yang memiliki peranan sebagai antioksidan. Kandungan fitokimia dalam umbi bit adalah asam askorbat, carotenoid, asam fenolic dan flavonoid. Selain itu juga mengandung pigmen warna yaitu betalain yaitu betacyanin dan betaxanthin, yang

memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan tinggi yang telah terbukti secara invitro maupun invivo pada penelitian sebelumnya. Pemberian pakan tinggi lemak secara intensif pada hewan coba menyebabkan peningkatan peroksidase lipid sehingga terbentuk sel busa yang merupakan awal pembentukan plak pembuluh darah. Plak tersebut memicu terjadinya inflamasi pada endotel pembuluh darah. Inflamasi merupakan salah satu sumber oksidasi sel yang menyebabkan terbentuknya reactive oxygen and nitrogen species (RONS) sehingga terjadi ketidakseimbangan redox dan memicu stress oksidatif. Betalain merupakan salah satu komponen yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan karena cedera oksidatif. Betanin merupakan betacyanin yang banyak ditemukan di umbi bit dengan berperan sebagai antioksidan dan free radical scavenging dengan menghambat lipid peroksidase oleh mieoloperoksidase dan NO sehingga menyebabkan penurunan pembentukan sel busa pada endotel pembuluh darah. Aktivitas antioksidan Betanin yang tinggi melalui kapasitas memberikan elektronnya dan kemampuan untuk menurunkan radikal bebas yang sangat reaktif pada membrane sel target.¹²⁻¹⁷

Umbi bit selain kaya akan kandungan antioksidan juga memiliki kandungan mikronutrien seperti potassium, betaine, sodium, magnesium, vitamin C, dan nitrat inorganic (NO₃⁻). Kandungan nitrat tersebut akan dikonversi dalam bentuk nitrit oxide (NO). Fungsi dari NO endogen salah satunya adalah melakukan pemeliharaan terhadap fungsi endotel. Penurunan fungsi endotel pembuluh darah dapat disebabkan salah satunya adalah

terbentuknya sel busa yang dapat terjadinya inflamasi yang akan mendorong agregasi trombosit dan aktivasi sel – sel inflamasi lainnya sehingga menyebabkan penebalan pada tunika intima pembuluh darah dan menyebabkan terjadinya gangguan kardiovaskuler salah satunya adalah penyakit jantung koroner.¹⁸⁻¹⁹

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan :

1. Rata – rata jumlah sel busa pada kelompok baseline adalah 17,6; kelompok control negative adalah 65,8 ; control positif adalah 54,6 ; kelompok I adalah 38,8 ; kelompok II adalah 27,4 ; kelompok III adalah 46,4 ; dan kelompok IV adalah 42,4.
2. Rata – rata ketebalan tunika intima aorta pada kelompok baseline adalah 136,8 μ ; kelompok kontrol negative adalah 251,4 μ ; kontrol positif adalah 211,8 μ ; kelompok I adalah 202,8 μ ; kelompok II adalah 184 μ ; kelompok III adalah 242,8 μ ; dan kelompok IV adalah 210,6 μ .
3. Hasil uji statistic menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pemberian suplementasi ekstrak umbi bit terhadap ketebalan aorta dan jumlah sel busa pada tikus yang diberi diet atherogenik.

5. DAFTAR PUSTAKA

Administration, U. F. 2012. FDA Drug Safety Communication: Important Safety Label Changes To Cholesterol-lowering Statin Drugs. Available At <http://www.fda.gov/%20Drugs/Drugsafety/>

- Ucm293101.Htm (Retrieved June 1, 2017)
- Clifford T, Howatson G, West DJ and Stevenson EJ. The Potential Benefits of Red Beetroot Supplementation in Health and Disease. *Nutrients* Volume 7. 2015.p:2801-22. doi:10.3390/nu7042801
- Golomb, B. A. and Evans, M. A.. Statin Adverse Effects: A Review of the Literature and Evidence for Mitochondrial Mechanism. *Am J Cardiovasc Drugs*.2010. p:373 - 418.
- Maiolino, G., G. Rossitto, P. Caielli, V. Bisogni, G.P. Rossi and L.A. Calo. 2013. The Role of Oxidized Low Density Lipoprotein in Atherosclerosis: The Myth and The Facts. *Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation* Vol.2013.2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/71465>
- Mukuntha KN, Ashish B. Evaluations of Antihyperlipidemic Activity of Various Extracts of Beet Root (*Beta Vulgaris*). *European Journal of Biomedical And Pharmaceutical Sciences*. Volume 3. 2016. p:311 – 315.
- Murwani S, Ali M, Muliarta K. Diet Aterogenik Pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus* Strain Wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis; *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. Xxii, No. 1, April 2006; Hal 6 – 9
- Nisa M. Nuraliyah, Rano K. Sinuraya. Efek Neuroprotektif Dan Gangguan Kognitif Statin: Sebuah Literature Review. *Farmaka Suplemen* Volume 15 Nomor 2. 2017. Hal 111-8
- Pirilo A, Norata GD, Catapano AL. LOX-1, OxLDL, and Atherosclerosis. *Mediators of Inflammation*. Hindawi Publishong Corporation Volume 2013. 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/152786>
- Pratiwi F, Asni E, Fridayenti , Ismawati. Hubungan Lama Pemberian Diet Aterogenik Terhadap Kadar Kolesterol Total Rattus Novergicus Jantan Strain Wistar. *Jom Fk* Volume 2 No. 2 Oktober 2015 , Hal 1 – 12.
- Sylvia A. Patofisiologi Konsep Klinis Proses – Proses Penyakit Terjemahan. Cetakan . Penerbit Buku Kedokteran : EGC
- Tate . S. Ox-LDL Receptor, LOX-1, On The Endotelial Cell – The Receptor Structure and Functions of LOX-1 in Atherogenesis. *J Biol Macromol* Vol.7 (2). 2007. p: 12 – 20
- Yan M, Wu S, Ying YQ, Lu N, Zhong MK. Safety Assessment Of Concurrent Statin Treatment And Evaluation Of Drug Interactions In China. *Sage Open Medicine Journal* Volume 6. 2018. p:1- 9