



PENGARUH FRAKSI ETIL ASETAT DAUN PILADANG (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL TIKUS PUTIH JANTAN

Verawati, Mimi Aria, Iyun Julia Ningsih

STIFI Perintis Padang. Jl. Adinegoro/Simp. Kalumpang Km 17 Lubuk Buaya Padang -
25173

Email : verawati81apt@gmail.com

ABSTRAK

Tumbuhan obat dengan berbagai kandungan metabolit sekunder seperti polifenol dan flavonoid merupakan sumber alami untuk mengatasi keadaan hiperkolesterolemia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh fraksi etil asetat dari daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) terhadap kadar kolesterol pada serum tikus putih jantan yang hiperkolesterol. Tikus dibagi atas 6 kelompok yang masing-masing terdiri atas 6 ekor hewan yaitu kelompok I (kontrol negatif), kelompok II (kontrol positif), kelompok III, IV dan V yang masing-masing diberi fraksi etil asetat dengan dosis secara berurutan 100, 250 dan 500 mg/kgBB dan kelompok VI (pembanding yang diberi simvastatin). Pengukuran kadar kolesterol serum dilakukan dengan metode CHOD-PAP menggunakan fotometer 5010. Hasil penelitian menunjukkan fraksi etil asetat mempengaruhi kadar kolesterol hewan uji dengan nilai yang lebih rendah dibandingkan kontrol positif. Berdasarkan data statistik ANOVA 1 arah dilanjutkan uji Duncan dengan metode SPSS 17 menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata ($p > 0,05$) dari kadar kolesterol hewan uji pada semua kelompok dosis fraksi etil asetat. Kelompok dosis 100 mg/kgBB kemungkinan adalah dosis paling efektif dalam menurunkan kadar kolesterol darah hewan uji.

Kata kunci : Piladang, *Solenostemon scutellarioides*, hiperkolesterol, fraksi etil asetat

ABSTRACT

Medicinal plants with different content of secondary metabolites such as polyphenols and flavonoids are natural sources to cope hypercholesterolemia. This study aimed to determine the effect of ethyl acetate fraction of piladang leaves (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) on serum cholesterol levels in hypercholesterolemic male rats. Rats were divided into 6 groups, each consisting of 6 animals: group I (negative control), group II (positive control), group III, IV and V were each given fraction of ethyl acetate doses respectively 100, 250 and 500 mg/kg and group VI (simvastatin as a comparator). Measurement of serum cholesterol levels were conducted with CHOD-PAP method using a photometer 5010. Result showed ethyl acetate fraction affects cholesterol levels of experimental animals with a lower value than the positive control. According to statistics of one way ANOVA followed by the Duncan test method SPSS 17 showed no significant differences ($p > 0.05$) on cholesterol levels in all given doses of ethyl acetate fraction. Group III (a dose of 100 mg / kg) was probably the most effective in lowering the blood cholesterol levels of experimental animals.

Keywords : Piladang, *Solenostemon scutellarioides*, hypercholesterol, ethyl acetate fraction

PENDAHULUAN

Penumpukan kolesterol pada pembuluh darah koroner menyebabkan terjadinya penyempitan pembuluh darah sehingga suplai darah yang mengandung oksigen dan nutrisi ke jantung berkurang. Reaksi oksidasi LDL dan pembentukan plak kolesterol akan memicu terjadinya inflamasi kronis pada pembuluh darah dan merusak sel-sel endotel (Libby, 2002). Keadaan ini disebut sebagai aterosklerosis dan merupakan faktor resiko utama penyakit pembuluh darah, salah satunya adalah jantung koroner (Kowalak, 2011). Penyakit jantung koroner (PJK) saat ini merupakan salah satu penyebab utama dan pertama kematian di negara maju dan berkembang termasuk Indonesia. Di Indonesia dilaporkan bahwa penyakit sistem sirkulasi (termasuk PJK) menempati porsi sebagai penyebab kematian sebesar 26,4 % yang artinya lebih kurang 1 dari 4 orang meninggal karena PJK (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2006).

Metabolit sekunder golongan flavonoid dan polifenol lain telah diteliti memiliki berbagai aktivitas farmakologis seperti antioksidan, anti-inflamasi, antiaterosklerosis, kardioprotektif dan mengatasi berbagai penyakit degeneratif maupun infeksi (Tapas, 2008). Tumbuhan obat piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) dilaporkan mengandung fenolat, flavonoid, minyak atsiri dan alkaloid. Secara tradisional tumbuhan ini berkhasiat untuk mengatasi demam, diabetes dan berbagai keadaan inflamasi seperti bisul, ambeyen dan luka (Zulfahmi, 2010). Fraksi etil asetat daun piladang memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar 29,15 μ g/ml dan anti-inflamasi yang menunjukkan inhibisi udem sebesar 85,07 % (Aria, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh fraksi etil asetat daun piladang terhadap kadar kolesterol serum tikus putih jantan. Tikus percobaan dibuat menjadi hiperkolesterol dengan pemberian pakan tinggi lemak dan diinduksi dengan propiltiourasil pada dosis 0,018 mg. Kadar kolesterol ditentukan dengan menggunakan fotometer 5010 dengan metode *Cholesterol Oxidase-Phenol Aminoantipyrine* (CHOD-PAP). Diharapkan hasil penelitian ini melengkapi informasi mengenai aktivitas biologis daun piladang (*S. scutellarioides*) secara khusus untuk tujuan pengobatan penyakit-penyakit yang berkaitan dengan pembuluh darah.

METODE PENELITIAN

Bahan

Daun Piladang, heksan, etil asetat, simvastatin, MLT (Makanan Lemak Tinggi), propiltiourasil (PTU), Na CMC, aquadest, makanan tikus, dan Reagen CHOD-PAP (Dumolab[®]).

Hewan uji

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan Galur Wistar dengan berat antara 200-250 gram dan berumur 2-3 bulan.

Pengambilan Sampel Daun *S. scutellarioides*

Tumbuhan uji diambil di Bukittinggi, Sumatera Barat. Sampel tanaman diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas dengan nama spesies *Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd. Daun tanaman (5 kg) dipisahkan, dibersihkan kemudian dikeringanginkan selama lebih

kurang seminggu. Daun kering dihaluskan dengan menggunakan grinder sehingga diperoleh serbuk (660 g).

Ekstraksi dan Fraksinasi Serbuk Daun *S. scutellarioides*

Serbuk daun piladang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut alkohol 70% yang telah didestilasi. Prosedur ekstraksi diulangi sebanyak 5 kali dan filtrat dari hasil maserasi diuapkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental diencerkan dengan aquades (1:2) kemudian difraksinasi dengan heksan dalam corong pisah (2:1) dengan 6 kali pengulangan sehingga diperoleh fraksi cair heksan. Fasa air dipisahkan kemudian difraksinasi ulang dengan menggunakan etil asetat (2:1) sebanyak 6 kali pengulangan. Fraksi etil asetat digabung dan diuapkan pelarutnya dengan rotavapor sehingga diperoleh fraksi kental etil asetat.

Karakterisasi fraksi etil asetat

Fraksi etil asetat yang diperoleh dikarakterisasi secara organoleptis, penentuan susut pengeringan dan kadar abu dengan menggunakan metode yang tercantum pada Farmakope Herbal Indonesia (DepKes RI, 2008).

Skrining fitokimia fraksi etil asetat (Kulip *et al.*, 2010)

Fraksi daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL aquadest dan 5 mL kloroform, dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan air dan kloroform.

a. Uji Flavonoid (Metode Sianidin Test)

Ambil lapisan air 1–2 tetes, teteskan pada plat tetes lalu tambahkan serbuk Mg dan HCl (p), terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid.

b. Uji Fenolik

Ambil lapisan air 1–2 tetes, teteskan pada plat tetes lalu tambahkan pereaksi FeCl_3 , terbentuknya warna biru menandakan adanya kandungan fenolik.

c. Uji Saponin

Ambil lapisan air, kocok kuat–kuat dalam tabung reaksi, terbentuknya busa yang permanen (± 15 menit) menunjukkan adanya saponin.

d. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode Simes)

Ambil sedikit lapisan kloroform difiltrasi dengan norit, diambil 2-3 tetes filtrat dan dibiarkan mengering pada plat tetes, setelah kering ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (Pereaksi Lieberman-Bouchard), terbentuknya warna biru atau hijau menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoid.

e. Uji Alkaloid

Ambil sedikit lapisan kloroform tambahkan 10 mL kloroform amoniak 0,05 N, aduk perlahan tambahkan beberapa tetes H_2SO_4 2N kemudian dikocok perlahan, biarkan memisah. Lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

Pembuatan Makanan Lemak Tinggi (MLT)

MLT dibuat dengan cara mencampurkan kuning telur 10%, lemak sapi 30%, dan makanan standar 60% dengan cara pemanasan menggunakan lampu spiritus sampai semuanya bercampur.

Perlakuan Hewan uji

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar sebanyak \pm 30 ekor yang sebelum diperlakukan tikus diaklimatisasi selama 1 minggu, diberi makan dan minum yang cukup. Tikus yang digunakan adalah tikus yang sehat dan tidak menunjukkan perubahan berat badan berarti serta secara visual menunjukkan perilaku yang normal. Setelah itu hewan percobaan dibagi menjadi 6 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor hewan dengan perlakuan sebagai berikut :

Tabel 1. Kelompok Perlakuan Hewan Percobaan

Kelompok	Perlakuan	Dosis
Kelompok I	Kontrol Negatif	Makanan tikus biasa + Na CMC 0,5%
Kelompok II	Kontrol Positif	MLT + PTU 0,01%
Kelompok III	Dosis 1	MLT + PTU 0,01% + Fraksi etil asetat dosis 100 mg/KgBB
Kelompok IV	Dosis 2	MLT + PTU 0,01% + Fraksi etil asetat dosis 250 mg/KgBB
Kelompok V	Dosis 3	MLT + PTU 0,01% + Fraksi etil asetat dosis 500 mg/KgBB
Kelompok VI	Pembandingan	MLT + PTU 0,01% + Sediaan pembandingan simvastatin 0,9 mg/KgBB

Setelah 8 minggu perlakuan, semua hewan percobaan diambil darahnya melalui *Plexus retroorbitalis* pada mata untuk pemeriksaan kadar kolesterol total pada tikus.

Penyiapan serum

Darah diambil dengan cara menggoreskan Mikrohematokrit pada *medial canthus* mata dibawah bola mata ke arah *foramen opticus* dan ditampung dengan tabung EDTA kemudian didiamkan selama 15 menit, lalu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Serum diambil dengan jarum suntik disposibel dan dituangkan ke dalam tabung mikro kemudian disimpan dalam *freezer* dengan posisi tegak.

Pemeriksaan kadar kolesterol

Pengukuran kadar kolesterol total menggunakan Photometer 5010 dengan metode CHOD-PAP. Sebanyak 10 μ L serum, reagen standar dan blanko (aquadest) masing-masing ditambah 1000 μ L larutan reagen kit CHOD-PAP kolesterol Dumolab[®], kemudian divorteks dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 20 menit. Serapan dibaca pada panjang gelombang 546 nm. Hasil pengukuran dari alat ini langsung berupa kadar kolesterol total (mg/dL).

Analisa Data

Data hasil penelitian diolah dengan metode analisa ANOVA satu arah dengan program SPSS 17 dan dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tumbuhan piladang diambil di daerah Bukik Apik, Bukittinggi, Sumatera Barat. Sebelum dilakukan penelitian, sampel diidentifikasi di Herbarium ANDA, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas. Hal ini merupakan langkah awal agar diperoleh identitas sampel sehingga tidak terjadi kesalahan terhadap tanaman yang digunakan. Berdasarkan identifikasi yang dilakukan diperoleh hasil bahwa sampel adalah daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) famili Lamiaceae dengan nomor identifikasi 275/K-ID/ANDA/XI/2014. Adapun daun piladang yang digunakan adalah daun piladang yang berwarna ungu tua.



Gambar 1. Bentuk Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd)

Fraksi kental etil asetat diperoleh sebanyak 53,11 g yang berasal dari 226,18 g ekstrak kental sehingga diperoleh rendemen fraksi terhadap ekstrak adalah sebesar 23,48 %. Secara organoleptis, fraksi etil asetat daun *S. scutellarioides* berupa cairan kental berwarna hijau-kehitaman, berbau khas dan rasa pahit. Hasil uji susut pengeringan dari fraksi etil asetat yaitu 8,46% dan komponen fitokimia fraksi etil asetat yang teridentifikasi antara lain flavonoid, fenolik, steroid, saponin dan alkaloid.

Hewan uji dibuat hiperkolesterol dengan diberikan induksi propiltiourasil (PTU) dan pakan MLT. Pemberian propiltiourasil (PTU) sebagai penginduksi bertujuan untuk meningkatkan kolesterol dalam darah, sehingga PTU menyebabkan berkurangnya hormon tiroid (Hipotiroidisme) sehingga dapat mempercepat hiperkolesterolemia. Pada keadaan normal hormon tiroid meningkatkan metabolisme lemak dengan cara merangsang pembentukan reseptor LDL pada sel-sel inti, sehingga terjadi pemindahan LDL yang cepat dari plasma dan sekresi lipoprotein kolesterol oleh sel-sel hati dan tidak terjadi hiperkolesterol (Hall, 2014).

MLT yang digunakan merupakan campuran lemak sapi yang telah dicairkan dicampur dengan makanan standar ditambah dengan kuning telur. Lemak sapi mengandung asam lemak jenuh tinggi yang dapat teroksidasi menjadi asetil ko-A sebagai sumber atom karbon utama dalam pembentukan kolesterol sehingga dapat meningkatkan kolesterol darah. Setiap 100 gram kuning telur mengandung 1000 mg kolesterol.

Perlakuan kepada hewan percobaan dilaksanakan selama 60 hari. Setiap minggu berat badan hewan ditimbang. Data berat badan hari ke-0 dan hari ke-60 dibandingkan untuk melihat perubahan berat badan hewan selama perlakuan.

Tabel 2. Perubahan berat badan (BB) hewan percobaan

Kelompok	BB hari ke-0 (g)	BB hari ke-60 (g)	% perubahan BB
	$\bar{x} \pm SD (n = 5)$	$\bar{x} \pm SD (n = 5)$	
Kontrol negatif (I)	244,38 ± 18,45	279,69 ± 2,56	14,45
Kontrol positif (II)	210,66 ± 42,64	219,72 ± 15,88	4,29
Dosis 100 mg/kgBB (III)	188,94 ± 45,46	191 ± 31,93	1,09
Dosis 250 mg/kgBB (IV)	89,18 ± 4,48	148,26 ± 8,57	66,24
Dosis 500 mg/kgBB (V)	88,58 ± 9,91	144,89 ± 13,33	63,56
Pembanding (VI)	234,17 ± 29,5	267,61 ± 45,65	14,28

Tabel 2 menyajikan data berat badan hewan uji tiap kelompok di hari ke-0 dan hari ke-60. Masing-masing hewan uji memiliki berat badan yang berbeda. Pada dosis sediaan uji *S.scutellarioides* 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB terjadi peningkatan berat badan hewan hingga lebih dari 60%, namun pada dosis 100 mg/kgBB hanya terjadi peningkatan berat badan sekitar 1%. Peningkatan berat badan dibandingkan dengan kontrol negatif pada semua kelompok hewan uji adalah berkisar 66,24 – 1,09 %%. Semakin tinggi peningkatan berat badan hewan, maka kemungkinan semakin banyak pula pembentukan lemak di tubuh. Dapat diduga bahwa terdapat senyawa fitokimia yang memiliki efek untuk meningkatkan nafsu makan, namun disamping itu perubahan berat badan juga dipengaruhi oleh metabolisme tiap individu yang juga berbeda.

Pengukuran kadar kolesterol dalam darah pada tikus putih jantan dilakukan menggunakan alat photometer 5010 dengan metode CHOD-PAP dan reagen Kolesterol yang digunakan adalah Dumolab®. Prinsip metode CHOD-PAP adalah kolesterol ester dihidrolisis menjadi kolesterol bebas oleh enzim kolesterol esterase. Kolesterol bebas dioksidasi oleh enzim kolesterol oksidase sehingga berubah menjadi koles-4-en-3-on bersamaan dengan dihasilkannya H₂O₂. H₂O₂ bereaksi kopling oksidatif dengan 4-aminoantipirin dan fenol dengan bantuan katalisator peroksidase sehingga membentuk senyawa kromogen *quinonimine* yang berwarna merah. Serapan senyawa *quinonimine* diukur dengan fotometer pada gelombang maksimum 546 nm dan besarnya sebanding dengan kadar kolesterol dalam serum (Allain, *et al.*, 1974).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, pemberian fraksi etil asetat daun *S. scutellarioides* dapat memberikan pengaruh terhadap kadar kolesterol total hewan uji. Kelompok fraksi 100 mg/kgBB memberikan nilai kadar kolesterol yang mendekati nilai dari kelompok kontrol negatif. Kadar kolesterol kelompok perlakuan paling tinggi dijumpai pada kelompok dosis 250 mg/kgBB, diikuti oleh dosis 500 mg/kgBB dan paling rendah diberikan oleh dosis 100 mg/kgBB. Data kadar kolesterol dari semua kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan kontrol positif. Pengaruh fraksi etil asetat terhadap kadar kolesterol hewan uji sangat dipengaruhi komponen fitokimia yang terdapat di dalamnya. Kandungan flavonoid, polifenol, alkaloid dan steroid yang teridentifikasi dalam fraksi dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kadar kolesterol dengan mekanismenya masing-masing. Data penelitian ini menunjukkan bahwa dosis 100 mg/kgBB kemungkinan merupakan dosis yang paling efektif untuk menurunkan kadar kolesterol total dalam darah.

Tabel 3. Kadar kolesterol serum hewan percobaan

Kelompok	Kadar kolestrol (mg/dl) $\bar{x} \pm SD (n = 5)$	% kolesterol terhadap kontrol negatif
Kontrol negatif (I)	107,20 \pm 11,34	-
Kontrol positif (II)	144 \pm 17,43	34,32
Dosis 100 mg/kgBB (III)	98,75 \pm 10,24	-7,88
Dosis 250 mg/kgBB (IV)	125 \pm 17,62	16,60
Dosis 500 mg/kgBB (V)	112,25 \pm 4,35	4,71
Pembanding (VI)	102,8 \pm 12,64	-4,10

Hasil analisa statistik menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa perbedaan dosis memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kadar kolesterol serum dari hewan percobaan. Analisa statistik dilanjutkan dengan uji Duncan dan menunjukkan bahwa efek dosis fraksi etil asetat yang paling rendah (100 mg/kgBB) memiliki pengaruh yang sama dengan kontrol negatif dan pembanding (simvastatin)

Tabel 4. Hasil Uji Lanjut Duncan

Kelompok	Kadar kolesterol, Subset ($\alpha = 0,05$)		
	1	2	3
Dosis 100 mg/kgBB (III)	98.750		
Pembanding (VI)	102.800		
Kontrol negatif (I)	107.200	107.200	
Dosis 500 mg/kgBB (V)	112.250	112.250	
Dosis 250 mg/kgBB (IV)		125.000	
Kontrol positif (II)			144.000

Perbedaan pengaruh tiap kelompok uji terhadap kadar kolesterol hewan uji diperlihatkan pada tabel 4. Rentang kadar kolesterol berkisar antara 98,750- 144,000 dimana kadar terendah dihasilkan oleh kelompok dosis 100 mg/kgBB dan tertinggi pada kelompok kontrol positif yang hanya diberi MLT dan induksi propiltiourasil.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) dapat mempengaruhi kadar kolesterol total pada tikus putih jantan yang diinduksi dengan makanan lemak tinggi (MLT) dan propiltiourasil ((PTU) dimana dosis efektif untuk menurunkan kadar kolesterol pada penelitian ini adalah 100 mg/kgBB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada KemRistek-Dikti yang telah membiayai penelitian ini melalui skim Hibah Bersaing dengan DIPA Dirjen Dikti tahun 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S. G., Richmond, W., & Fu, P. C. 1974. Enzymatic Determination of Total Serum Cholesterol. *Clin. Chem*, 20(4), 470–475.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2006. *Pharmaceutical Care Untuk Pasien Penyakit Jantung Koroner : Fokus Sindrom Koroner Akut*.
- Aria, M., Verawati, V., Arel, A., & Monika, M. 2015. Uji Efek Anti-inflamasi Fraksi Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Terhadap Mencit Putih Betina. *Scientia*, 5(2), 84–91.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. Farmakope Herbal Indonesia.
- Hall, J. 2014. *Guyton dan Hall : Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Elsevier
- Kowalak, J. P. 2011. *Buku Ajar Patofisiologi*. EGC
- Kulip, J., Lam, N. F., Manshoor, N., Julius, A., Said, I. M., Gisil, J., Tukin, W. F. 2010. Medicinal plants in Maliau Basin, Sabah, Malaysia. *Journal Of Tropical Biology And Conservation*, 6, 21–33. Retrieved from <http://eprints.ums.edu.my/1720/>
- Libby, P., Ridker, P. M., & Maseri, A. 2002. Clinical Cardiology : New Frontiers Inflammation and Atherosclerosis The Scientific Basis of Inflammation. *Circulation*. 105, 1135–1143. <http://doi.org/10.1161/hc0902.104353>
- Tapas, A. R., Sakarkar, D. M., & Kakde, R. B. 2008. Flavonoids as Nutraceuticals : A Review, 7 (September), 1089–1099.
- Zulfahmi, Z., & Solfan, B. 2010. Eksplorasi tanaman obat potensial di kabupaten kampar. *Agroteknologi*, 1(1), 31–38.
-