

The Effect of Celery (*Apium graveolens* L.) Leaf Infusion on Blood Cholesterol Levels in White Male Rat (*Rattus norvegicus*) Induced by Alloxan

Sugito¹, Kiky Moelviani², Roslizawaty¹, Zuhrawati NA¹, Rusli¹, T. Armansyah TR³

¹Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

Email : kikymoelviani@gmail.com

ABSTRACT

*This study aimed to determine the effect of celery (*Apium graveolens* L.) leaves infusion on blood cholesterol levels in male rats (*Rattus norvegicus*) induced by alloxan. The sample used in this study were 25 white male rats Wistar strained aged 3-4 months with a bodyweight of 150-200 grams. The design used are were unidirectional pattern of completely randomized design with 5 treatments and 5 replications. Treatment 1 (P1) rats were given with the standard feed. Treatment 2 (P2), rats were induced by alloxan. Treatment 3 (P3) rats were induced by alloxan and given 2 ml of 5% celery leaf infusion therapy. Treatment 4 (P4) rats were induced by alloxan and given 2 ml of 10% celery leaf infusion therapy. Treatment 5 (P5) rats were induced by alloxan and given 2 ml of 15% celery leaf infusion therapy. Celery leaf infusion was given every morning and evening. Administration of alloxan with a single dose of 150 mg / kg in IP and celery leaf infusion therapy were given for 14 days. Rat blood cholesterol levels checked using the CHOD-PAP. Data were analyzed using ANOVA completely randomized design. Mean ($\pm$ SD) of cholesterol in treatment P1, P2, P3, P4 and P5 sequence was 52.8 ± 9.09 ; 50.4 ± 18.53 ; 42.6 ± 4.51 ; $40.2 \pm 52.8 \pm 7.19$ and 2.39. The results showed that the infusion of celery leaves was not showing any effect ($P > 0.05$) on blood cholesterol levels of white male rats induced by alloxan. Administration of celery leaves (*Apium graveolens* L.) infusion for 14 days with a concentration of 5%, 10% and 15% have no effect on blood cholesterol levels in male rats induced by alloxan.*

Key words : alloxan, celery leaves infusion, cholesterol, rat

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. *World Health Organization* (WHO) sebelumnya telah merumuskan secara umum bahwa diabetes melitus dapat dikatakan sebagai suatu kumpulan problema anatomik dan kimiawi akibat dari sejumlah faktor dimana didapat defisiensi insulin absolut atau relatif dan gangguan fungsi insulin (Soegondo, 2008).

Menurut Unger dan Foster (1992), diabetes melitus (DM) merupakan suatu penyakit yang melibatkan hormon endokrin pankreas, yaitu insulin dan glukagon.

Kurangnya insulin menyebabkan terjadinya proses lipolisis lemak cadangan dan pelepasan asam lemak bebas untuk bahan energi utama seluruh jaringan tubuh selain otak (Price, 1997). Pada penderita DM sering didapati tingginya kadar kolesterol di dalam darah (hiperkolesterolemia), hal tersebut terjadi karena kelainan metabolisme lemak yang berakibat meningkatnya asam lemak bebas dalam darah (Inawati, 2007).

Hiperkolesterolemia biasanya terjadi pada penderita DM tipe II, hal ini disebabkan oleh dislipidemia diabetik. Penyebab utama dislipidemia diabetik adalah meningkatnya asam lemak bebas dari sel lemak yang resisten terhadap insulin. Kegagalan insulin untuk menghambat pelepasan lemak bebas, memicu

peningkatan produksi *very low density lipoprotein* (VLDL) kolesterol oleh hepar, yang berkaitan dengan tingkat akumulasi lemak dan pada akhirnya akan berpengaruh pula pada kadar kolesterol (Dewi, 2010).

Seledri merupakan tanaman yang lazim digunakan sebagai bahan makanan dan obat tradisional. Seledri mengandung zat aromatik yang terdapat di dalam batang, daun dan akarnya. Sifat penyembuhan yang dimiliki oleh seledri disebabkan oleh kandungan minyak esensial dan flavonoid (Li dkk., 2014). Kegunaan yang dimiliki oleh seledri diantaranya adalah sebagai antijamur, antibakteri, antioksidan dan antidiabetes (Kolarovic dkk., 2010; Popovic dkk., 2006) serta sebagai hepatoprotektif (Shivashri dkk., 2013). Selain itu seledri juga dapat menurunkan kadar kolesterol darah pada tikus hiperkolesterolemia (Tsi dkk., 1995). Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam daun seledri (*Apium graveolens* L.) antara lain senyawa saponin, flavonoid, polifenol, minyak atsiri, tanin, apigenin, vitamin (Depkes, 1995).

Dalam sebuah penelitian yang dilakukan di pusat kesehatan Universitas Chicago, seledri diketahui bermanfaat dalam menurunkan kadar kolesterol serta tekanan darah. Phthalides, salah satu senyawa kimia yang terdapat didalam seledri terbukti mampu mengurangi tekanan darah pada tikus percobaan hingga 14% dan menurunkan kadar kolesterol sekitar 7%. Sekurang-kurangnya 4 tangkai seledri secara teori mampu menyediakan dosis harian phthalides untuk manusia. Namun, penelitian klinis yang mendalam tentang manfaat phthalides bagi manusia belum selesai pada tahun 2013 (Lalonde, 2015).

Hasil penelitian Suwarso dan Anggraeni (2004) membuktikan bahwa adanya pengaruh dari pemberian infusa daun seledri pada hewan marmot yang diberi pakan hiperkolesterolemia dalam menurunkan kadar kolesterol. Penelitian

mengenai pemberian infusa daun seledri terhadap penurunan kadar kolesterol darah dengan menggunakan tikus putih jantan yang diinduksi aloksan sebagai hewan coba.

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus beserta perlengkapannya, gelas ukur, timbangan, panci infusa, kompor, kain flanel, tisu, spuit, termometer, sonde lambung, tabung mikroependorf dan sentrifus beserta tabungnya. Bahan-bahan yang digunakan adalah infusa daun seledri (*Apium graveolens* L.) 5%, 10%, 15%, aloksan, pakan standar, air minum dan sampel darah.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola searah yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 5 kali ulangan. Yang terdiri dari perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3), perlakuan 4 (P4) dan perlakuan 5 (P5). Apabila berpengaruh akan dilanjutkan dengan uji Duncan.

Dua puluh lima tikus putih jantan diadaptasi selama 1 minggu dengan memberikan pakan standar dan air minum secara *ad libitum*. Akhir masa adaptasi, tikus-tikus tersebut dibagi menjadi 5 perlakuan yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Pada minggu kedua, 5 ekor tikus dijadikan sebagai kontrol dan 20 ekor tikus diinduksi dengan aloksan monohidrat secara intravena dari ekor dengan dosis tunggal yaitu 150 mg/kg BB secara IP, setelah 48 jam tikus dipuaskan selama 18 jam. Jika kadar kolesterol darah tikus ≥ 54 mg/dl, tikus P3 sampai P5 diberikan infusa daun seledri dengan

konsentrasi bertingkat 5%, 10% dan 15% sebanyak 2 ml/ekor tikus setiap pagi dan sore hari selama 2 minggu.

Prosedur Penelitian

Pembuatan infusa seledri

Pembuatan infusa mengikuti metode Depkes (2009) dalam buku Farmakope Indonesia. Pembuatan infusa seledri 5%, 10% dan 15% diperoleh dari 5, 10 dan 15 gram daun seledri (*Apium graveolens* L.). Seledri kemudian dicuci bersih dan dipotong kasar, lalu direbus dengan 100 ml air dalam panci infusa, dipanaskan di atas kompor air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C, sambil sekali-sekali diaduk. Setelah dingin, disaring menggunakan kain flannel dan ditambahkan air secukupnya melalui ampas sampai diperoleh volume 100 ml, maka akan diperoleh infusa daun seledri sebanyak 100 ml dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15%.

Persiapan dan perlakuan hewan coba

Pada tahap ini semua tikus diadaptasi selama 1 minggu dengan memberikan pakan standar secara *ad libitum*. Akhir masa adaptasi, tikus-tikus tersebut dibagi menjadi 5 perlakuan. Perlakuan 1 (P1) yaitu tikus yang diberikan pakan standar. Perlakuan 2 (P2) yaitu tikus yang diinduksi aloksan. Perlakuan 3 (P3) yaitu tikus yang diinduksi aloksan dan terapi infusa seledri 5% sebanyak 2 ml. Perlakuan 4 (P4) yaitu tikus yang diinduksi aloksan dan terapi infusa seledri 10% sebanyak 2 ml. Perlakuan 5 (P5) yaitu tikus yang diinduksi aloksan dan terapi infusa seledri 15% sebanyak 2 ml. Infusa daun seledri diberikan setiap pagi dan sore hari. Pemberian aloksan dengan dosis tunggal 150 mg/kg BB secara IP, setelah 48 jam tikus dipuasakan selama 18 jam,

kemudian diberikan terapi infusa daun seledri selama 14 hari. Kadar kolesterol darah tikus diperiksa dengan menggunakan metode *Cholesterol Oxidase-Peroxidase Aminoantipyrine Phenol* (CHOD-PAP).

Pengujian kadar kolesterol

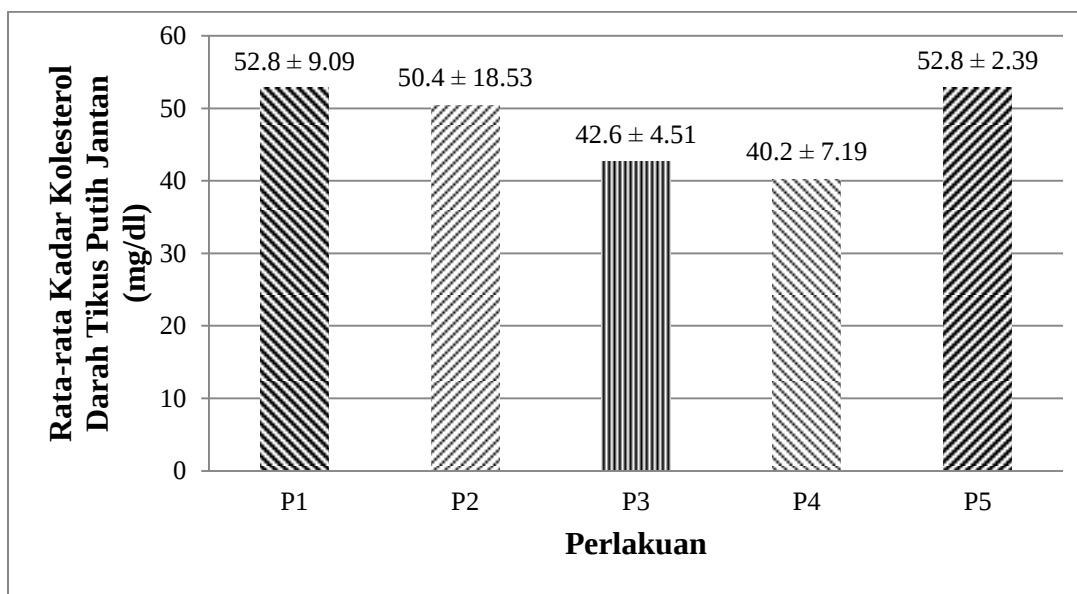
Pengambilan darah dilakukan pada minggu kedua dan keempat setelah semua perlakuan selesai dilakukan. Pengambilan sampel darah tikus putih dilakukan melalui sinus orbital dengan menggunakan mikro-hematokrit, sampel diambil sebanyak $\pm 1,5$ ml, kemudian sampel darah dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi tanpa EDTA, disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm untuk mendapatkan serum. Serum yang didapat diperiksa dengan menggunakan metode *Cholesterol Oxidase-Peroxidase Aminoantipyrine Phenol* (CHOD-PAP).

Analisis Data

Data kolesterol darah yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *one way analysis of variance* (ANOVA). Bila terdapat pengaruh perlakuan terhadap kadar kolesterol darah maka untuk melihat perbedaan antar perlakuan, data selanjutnya diuji dengan Uji Jarak Ganda Duncan (Gaspersz, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rata-rata ($\pm$ SD) kadar kolesterol darah tikus putih jantan yang diinduksi dengan aloksan ditampilkan pada Gambar 1. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa pemberian infusa daun seledri tidak menunjukkan pengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap kadar kolesterol darah tikus putih jantan yang diinduksi dengan aloksan.



Gambar 1. Rata-rata ($\pm$ SD) kadar kolesterol darah tikus putih jantan yang diinduksi dengan aloksan dan pemberian infusa daun seledri selama 14 hari. P₁: Kontrol negatif (-); P₂: Kontrol positif (+); P₃: Induksi aloksan + infusa daun seledri 5%; P₄: Induksi aloksan + infusa daun seledri 10%; P₅: Induksi aloksan + infusa daun seledri 15%.

Kadar kolesterol darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diperoleh berdasarkan hasil statistik menunjukkan hasil yang diperoleh cukup beragam pada setiap kelompok dengan standar deviasi ($\pm$ SD) yang beragam pula. Hal ini kemungkinan disebabkan perbedaan kondisi fisik dan fisiologis tiap individu tikus selama penelitian dan juga dapat disebabkan oleh asam lemak tak jenuh yang terkandung pada seledri yang diduga mempunyai efek yang berlawanan. Asam lemak tak jenuh mempunyai ikatan ganda, sifatnya lebih reaktif atau mudah bereaksi dengan oksigen atau mudah teroksidasi terutama saat pemanasan, justru asam lemak tak jenuh mudah membentuk radikal bebas, lemak trans yang dapat meningkatkan kadar lipid (Sianturi, 2002 disitasi oleh Fahrefi, 2013).

Jumlah kadar kolesterol darah pada kelompok P₁ lebih tinggi dibandingkan kelompok P₂, dimana kelompok P₁ merupakan kelompok kontrol negatif dan kelompok P₂ merupakan kelompok kontrol

positif yang diinduksi aloksan. Beberapa penelitian yang telah dilakukan memperlihatkan bahwa dosis aloksan yang digunakan untuk menginduksi diabetes adalah suboptimal. Namun penggunaan aloksan dengan dosis (90-150 mg/kg, IP) dapat menyebabkan hewan yang mengalami hiperglikemia akan kembali menjadi normoglikemia dalam waktu satu minggu (Jain dan Arya, 2011). Penyembuhan secara spontan terlihat terutama pada tikus dan mencit, dimana hewan tersebut menjadi normoglikemia (Lazarow, 1952). Pada penelitian ini tikus hanya mengalami hiperglikemia, namun belum mengalami hiperkolesterolemia.

Hiperkolesterolemia biasanya terjadi pada penderita DM tipe II, hal ini disebabkan oleh dislipidemia diabetik. Dislipidemia adalah kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun fraksi lipid dalam plasma (Soewondo dkk. 2010). Kurang lamanya pemberian aloksan pada tikus menyebabkan

tikus belum mengalami hiperkolesterolemia. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh (Islamiyah, 2010) memperlihatkan bahwa penggunaan aloksan monohidrat secara intravena dari ekor dengan dosis tunggal yaitu 150 mg/kg BB mampu membuat tikus menjadi hiperkolesterolemia. Hal ini menjadi salah satu faktor yang menyebabkan tikus tidak mengalami hiperkolesterolemia pada penelitian ini.

Dari hasil penelitian terlihat perbedaan antara P₃, P₄ dan P₅ terlihat bahwa kelompok perlakuan yang diberikan infusa daun seledri, kadar kolesterol mengalami penurunan meskipun tidak signifikan. Kelompok P₅ yang diberikan infusa daun seledri dengan konsentrasi 15% tidak menunjukkan penurunan yang berbeda dari P₃ dan P₄. Daun seledri terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol darah. Daun seledri (*Apium graveolens* L.) mengandung senyawa *phthalides* yang mampu menurunkan kadar kolesterol darah (Tsi dkk., 1995). Kolarovic dkk. (2009) juga melaporkan bahwa daun seledri dapat menurunkan intensitas peroksidasi lipid dan meningkatkan pengurangan *gluthation*.

KESIMPULAN

Pemberian infusa daun seledri (*Apium graveolens* L.) selama 14 hari dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol darah tikus putih jantan yang diinduksi dengan aloksan.

DAFTAR PUSTAKA

- Depkes (Departemen Kesehatan Republik Indonesia). 1995. **Materia Medika Indonesia**. Jilid VI. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Depkes (Departemen Kesehatan Republik Indonesia). 2009. **Farmakope Indonesia**. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Dewi, T.W.K. 2010. Hubungan Pemberian Ekstrak Etanol Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.) dengan Kadar Kolesterol Serum Pada Tikus Putih yang Diinduksi Streptozotocin. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Fahrefi, M. 2013. Pengaruh Fraksi Air Herba Seledri (*Apium graveolens* L.) Terhadap Kolesterol Total Mencit Putih Jantan Hiperkolesterol. **Thesis**. Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang.
- Gaspersz. 1991. **Metode Perancangan Percobaan**. CV. Armico, Bandung.
- Inawati. 2007. Pengaruh ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* Linn.) terhadap penurunan kadar glukosa, kolesterol total dan trigliserida darah mencit yang diinduksi aloksan. **Jurnal Kimia Indonesia**. 2(1):7-12.
- Islamiyah, D. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total, HDL, LDL dan Trigliserida Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan. **Skripsi**. Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Jain, D.K. and R.K. Arya. 2011. Anomalies in alloxan-induced diabetic model : it is better to standardize it first. **Indian J. Pharmacol**. 43(1):91.
- Kolarovic, J., M. Popovic, M. Mikov, R. Mitic, and L. Gvozdenovic. 2009. Protective effect of celery juice in treatments with doxorubicin. **Molecules**. 14:1627-1638.
- Kolarovic, J., M. Popovic, J. Zlinska, S. Trivic and M. Vojnovic. 2010. Antioxidant activities of celery and parsley juices in rats treated with doxorubicin. **Molecules**. 15: 6193-6204.
- Lalonde, B. 2015. Celery and Cholesterol. www.livestrong.com/article/471983-celery-and-cholesterol/ [19 Maret 2016].
- Lazarow, A. 1952. Spontaneous recovery from alloxan diabetes in the rat. **Diabetes**. 1:363-372.
- Li, P., J. Jia, D. Zhang, J. Xie, X. Xu and D. Wei. 2014. In vitro and in vivo antioxidant activities of a flavonoid isolated from celery (*Apium graveolens* L. var. *dulce*). **Food Funct**. 5:50-56.
- Popovic, M., B. Kaurinovic, S. Trivic, N. Mimica-Dukic and M. Bursac. 2006. Effect of celery (*Apium graveolens*) extracts on some biochemical parameters of oxidative stress in mice treated with carbon tetrachloride. **Phytother Res**. 20:531-537.
- Price, A.S. 1997. **Patofisiologi**. Edisi 1. EGC, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Shivashri, C., T. Rajarajeshwari and P. Rajasekar. 2013. Hepatoprotective action of celery (*Apium graveolens*) leaves in acetaminophen-fed freshwater fish (*Pangasius sutchi*). **Fish Physiol. Biochem**. 39:1057-1069.
- Soegondo, S. 2008. **Hidup Secara Mandiri dengan Diabetes Melitus, Kencing Manis, Sakit Gula**. Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Soewondo, P., S. Soegondo, K. Suastika, A. Pranoto, D.W. Soeatmadji dan A. Tjokroprawiro. 2010. Outcomes on control and complications of type 2 diabetic

- patients in Indonesia. **Med. J. Indonesia.** 19:235-44.
- Suwarso, E. dan D.N. Anggraeni. 2014. Efek infus daun seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap kadar kolesterol. **Prosiding Seminar Nasional.** Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Tsi, D., N.P. Das and B.K. Tan. 1995. Effects of aqueous celery (*Apium graveolens*) extract on lipid parameters of rats fed a high fat diet. **Planta Med.** 61:18-21.
- Unger, R.H. and D.W. Foster. 1992. Diabetes Mellitus. 1992. In **Endocrinology.** Wilson, J.D. and D.W. Foster. W.B. Saunders Company, A Division of Harcourt Brace and Company, London.