



Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap gambaran histopatologi hepar dan pembuluh darah aorta kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) hiperkolesterolemia

Maria A.W.Dede¹, Putri Pandarangga², Meity M. Laut³

¹Faculty of Veterinary Medicine, Nusa Cendana University, Kupang

²Faculty of Veterinary Medicine Nusa Cendana University, Kupang.

Abstract

<p>Riwayat Artikel: Diterima: 8 Juli 2019 Direvisi: 12 Juli 2019 Disetujui: 1 Agustus 2019</p>	<p><i>Hypercholesterolemia is a disease of cholesterol metabolism disorders caused by elevated levels of cholesterol in the blood. This condition can lead to fatty change, hidropis degeneration, cell injury and inflammatory cells infiltration in the liver and fatty infiltration and inflammatory cells in the tunica area of aorta. Control of hypercholesterolemia can be done by consuming ingredients that can lower cholesterol levels. The soursop leaves ethanol extract (<i>Annona muricata</i> L.) is one of the herbal ingredients that contain chemical compounds that allegedly sitosterols and flavonoids can be lower cholesterol levels in the blood. The purpose of this study was to determine the effect of ethanol extract of leaves of the soursop (<i>Annona muricata</i> L.) for the treatment of hypercholesterolemia in rabbits (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) to see whether there is a pile of fatty plaques in the aortic and the deposition of fat in hepatocytes through histopathologic image, which supported by examination of the cholesterol content in the blood. This research uses experimental animals as much as 12 local rabbits, male sex, weight \pm 500 to 1000 grams and aged up to 2 months \pm 1.5 months. Animals are grouped into four groups of three in each group, the group (A) is a negative control group in which only given the standard food, group (B) is a positive control group by feeding a high-fat is lard as much as 2,6 mL/500grBB to 5.2 mL/ 1000grBB, groups of (C) is a group therapy by soursop leaves of ethanol extract at a dose of 8 mg/500grBB up to 17 mg/1000grBB, and groups (D) is a group treated with simvastatin at a dose of as much as 0.7 mg/500grBB to 1.4 mg/1000grBB. The results show that that there is no difference between the effect of soursop leaves ethanol extract and simvastatin in lowering blood cholesterol levels coursing through changes in lesions of the liver and aorta. It can be concluded that the therapy of soursop leaves of ethanol extract and simvastatin can protect the liver tissue structures and aorta blood vessels in hypercholesterolemia rabbit.</i></p>
<p>Keywords: <i>Hypercholesterolemia, soursop leaves ethanol extract (<i>Annona muricata</i> L.), simvastatin, histopathological liver and aorta blood vessels.</i></p>	
<p>Korespondensi : <i>meity.laut@uq.net.au</i></p>	

PENDAHULUAN

Kolesterol merupakan sterol utama di dalam jaringan hewan. Selain bersumber dari asupan makanan yang berlemak, kolesterol juga dapat disintesis secara endogen oleh hepar. Kolesterol berasal dari asam lemak bebas yang disintesis menjadi kolesterol ester, fosfolipid atau dioksidasi menjadi badan keton. Kolesterol memainkan peranan yang penting dalam metabolisme asam empedu, produksi hormon-hormon steroid dan sintesis vitamin D (Ginsberg, 1998 dan Rifai *et al.*, 1999 *cit.* Xenoulis dan Steiner, 2008).

Penyakit gangguan metabolisme kolesterol yang disebabkan oleh peningkatan kadar kolesterol di dalam darah disebut dengan hiperkolesterolemia (Murray *et al.*, 2003 *cit.* Rufaida, 2013). Hiperkolesterolemia merupakan hasil dari meningkatnya produksi atau penggunaan LDL. Dampak kejadian hiperkolesterolemia sering ditemukan pada hewan kesayangan, hal ini telah dibuktikan dengan penelitian dari Xenoulis (2007) *cit.* Xenoulis dan Steiner (2008) yang melaporkan bahwa dari 192 ekor anjing, sebanyak 32,8% mengalami hiperkolesterolemia. Hiperkolesterolemia menjadi salah satu faktor resiko utama terjadinya penyakit jantung koroner dan aterosklerosis pada hewan kesayangan (Price *et al.*, 2006 *cit.* Rufaida, 2013).

Pemberian obat-obatan yang diproduksi oleh industri farmasi dapat dilakukan untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Namun, harga dari obat-obatan tersebut relatif mahal maka sangat perlu untuk segera ditemukan obat alami sebagai alternatif untuk menangani terjadinya hiperkolesterolemia yaitu dari tanaman yang berasal dari alam Indonesia.

Tanaman obat yang dipakai dalam penelitian ini adalah sirsak (*Annona muricata L.*). Tanaman ini lebih sering dikenal sebagai tanaman buah, namun seiring dengan adanya berbagai penelitian dan kemajuan di bidang teknologi farmasi,

tanaman ini kini populer sebagai salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat.

Sirsak memiliki kandungan sitosterol dan kalium yang diduga dapat menurunkan kadar kolesterol darah (Unepetty dkk., 2013). Sitosterol merupakan senyawa sterol yang secara kimia mirip dengan kolesterol dan berasal dari tumbuhan. Mekanisme kerja dari sitosterol serupa dengan ezetimibe yaitu obat yang dapat menurunkan kadar total kolesterol, LDL kolesterol, apolipoprotein b, dan trigliserida. Selain itu dapat meningkatkan HDL kolesterol sehingga dapat memperkecil absorpsi kolesterol dari saluran cerna. Sitosterol juga dapat memperkecil esterifikasi kolesterol dalam sel epitel. Dengan cara inilah sitosterol mengurangi kadar kolesterol darah (Mutschler, 1991 *cit.* Unepetty, 2013).

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juli 2016, yang dilakukan di Laboratorium KRP (Klinik, Reproduksi, Patologi) Fakultas Kedokteran Hewan UNDANA, Laboratorium FKIP Kimia UNDANA, Laboratorium RS Siloam Kota Kupang, serta Laboratorium Kesehatan Provinsi Nusa Tenggara Timur.

Alat yang digunakan selama penelitian adalah *beaker glass*, penyaring, timbangan digital, spoit ukuran 5 mL dan 1 mL, tabung tanpa EDTA, tabung reaksi, sentrifuge, micropipette, *cool box*, *rotary evaporator*, ayakan, saringan, kandang kelinci, botol minum kelinci, tempat pakan kelinci, *scapel*, gunting, pinset anatomis, jarum suntik yang berukuran 23 sampai 25 *gauge*, *gloves*, masker, kapas, alat ukur kolesterol *XL-200 Erba*, *tissue cassette*, *tissue processor*, mikrotom potong beku, inkubator, *object glass*, mikroskop cahaya (*Olympus*).

Bahan yang digunakan selama penelitian adalah 12 ekor kelinci lokal jantan (*Oryctolagus cuniculus*) umur $\pm 1,5$ sampai 2 bulan dan berat badan ± 500 gram

sampai 1000 gram, daun sirsak kering (*Annona muricata L.*), pakan standar, minyak babi, Simvastatin, aquades, minyak emersi, etanol 96%, NaCl fisiologis, BNF 10%, PFA (Paraformaldehid), formalin, parafin, alkohol 70%, 80%, 90%, dan 95%, alkohol absolut, xylol, pewarna H&E (*Hematoksilin Eosin*).

Persiapan Izin Komisi Bioetik Hewan

Penelitian ini telah mendapatkan izin dari Komisi Bioetik Hewan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana mengenai penggunaan hewan coba.

Persiapan Pakan Tinggi Lemak

Diet hiperkolesterolemia pada kelinci dibuat dari minyak babi yang diberikan secara oral sebanyak 2,6 mL/500grBB/ekor/hari sampai 5,2 mL/1000grBB/ekor/hari.

Persiapan Ekstrak Etanol Daun Sirsak

Proses ekstraksi serbuk simplisia daun sirsak dilakukan dengan metode maserasi langsung dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan beberapa kali pengadukan, kemudian disaring. Proses maserasi dilakukan selama 2 sampai 3 hari. Filtrat yang terkumpul dipekatkan dengan vakum *rotary evaporator* pada suhu 45 °C sampai 50 °C hingga diperoleh ekstrak etanol 96% daun sirsak (Fathurrachman, 2014). Ekstrak tersebut kemudian diberikan pada kelinci dengan rute per oral (PO) dengan dosis 8 mg/500grBB/ekor sampai 17 mg/1000grBB/ekor.

Persiapan Simvastatin

Pembanding yang digunakan dalam penelitian ini adalah Simvastatin. Simvastatin merupakan obat untuk menurunkan kadar kolesterol. Tablet simvastatin yang ada di pasaran adalah dosis 10 sampai 20 mg/hari (Wells dkk., 2009 *cit.* Purwanti, 2012). Dosis Simvastatin yang diberikan pada kelinci yaitu 0,7 mg/500grBB/ekor sampai 1,4

mg/1000grBB/ekor dengan rute per oral (PO).

Persiapan Hewan Coba dan Pembagian Kelompok

Hewan coba yang digunakan adalah 12 ekor kelinci jantan (*Oryctolagus cuniculus*) umur \pm 1,5 sampai 2 bulan dan berat badan \pm 500 gram sampai 1.000 gram. Kelinci dibagi dalam 4 kelompok yang terdiri dari 2 ekor pada masing-masing kelompok yaitu, kelompok (A) merupakan kelompok kontrol negatif dimana hanya diberi pakan standar 50 gram/hari/ekor, kelompok (B) merupakan kelompok kontrol positif yaitu dengan pemberian pakan tinggi lemak, kelompok (C) merupakan kelompok terapi ekstrak etanol daun sirsak, dan kelompok (D) merupakan kelompok yang diterapi dengan menggunakan simvastatin.

Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari dan diberi pakan standar dalam dua kali pemberian yaitu pagi dan sore serta di beri air *ad libitium*. Pada tahap kedua, semua hewan coba kecuali pada kelompok (A) diberi pakan hiperkolesterolemia yaitu minyak babi sebanyak 2,6 mL/500grBB/ekor /hari sampai 5,2 mL/1000grBB/ekor/hari selama 7 hari. Pada tahap ketiga, hewan coba (kelompok C dan D) mulai diberikan perlakuan sesuai dengan pembagian perlakuan yaitu pada kelompok (C), yang di terapi ekstrak etanol daun sirsak dengan dosis 8 mg/500grBB/ekor sampai 17 mg/1000grBB/ekor selama 7 hari. Sedangkan kelompok (D), yang merupakan kelompok dengan terapi menggunakan larutan simvastatin, diberikan dengan dosis sebanyak 0,7 mg/500grBB/ekor sampai 1,4 mg/1000grBB/ekor selama 7 hari.

Pengukuran kadar kolesterol darah dilakukan dua kali yaitu pada hari ke – 0 sebelum perlakuan sebagai data awal, dan hari ke – 22. Darah diambil dari vena *auricularis* sebanyak 0,5 sampai 1 mL.

Sebelum dilakukan pengambilan darah, kelinci terlebih dahulu dipuasakan selama 16-18 jam (Smith, 1988 dalam Muliarsari, 2009). Sampel darah yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung reaksi tanpa EDTA. Selanjutnya tabung yang telah terisi dengan darah, didiamkan kurang lebih 30 menit pada suhu kamar, agar banyak serum yang terbentuk. Setelah itu, sampel darah disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 1500 sampai 2000 rpm. Serum yang diperoleh diambil menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung ependorf tanpa EDTA untuk mengukur kadar kolesterol (Megasari, 2009).

Nekropsi pada masing-masing hewan coba dilakukan pada hari ke-22. Tujuan dilakukannya nekropsi adalah untuk mengambil hepar dan pembuluh darah aorta untuk dilakukan pewarnaan rutin H&E (*Hematoksilin Eosin*). Kelinci terlebih dahulu di euthanasia dengan emboli udara ke dalam jantung lalu dilakukan pembedahan untuk pengambilan sampel.

Pengukuran Kadar Kolesterol Total

Pengukuran terhadap kadar kolesterol total dilakukan dengan menggunakan glukometer *XL-200 Erba*.

Pembuatan Preparat Histopatologi Organ Hati dan Pembuluh Darah Aorta Dengan Pewarnaan Rutin H&E

Hepar dan pembuluh darah aorta yang telah difiksasi dengan menggunakan BNF (*Buffered Neutral Formalin*) 10 %, diiris kurang lebih 4 × 3 cm kemudian didehidrasi dengan larutan alkohol konsentrasi bertingkat yaitu 70%, 80%, 90%, dan 95% selama 8 jam. Dilanjutkan masing-masing selama 2 jam. Tahap selanjutnya hepar dan pembuluh darah aorta diinfiltrasi dengan parafin. Semua proses tersebut dilakukan secara otomatis dengan mesin *tissue processor* dan *tissue embedding console*. Setelah jaringan mengeras, blok jaringan kemudian dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan

4-5 mikron dan dilekatkan pada gelas objek.dengan alkohol absolut I, II, dan III

Pewarnaan diawali dengan proses deparafinisasi dan dehidrasi. Sediaan lalu diwarnai dengan Hematoksilin selama 1 menit dan pewarnaan Eosin selama 2 menit. Setelah diwarnai, sediaan dikeringkan terlebih dahulu sebelum ditetesi dengan perekat kemudian ditutup dengan gelas penutup (Devanita, 2008). Hasil dari pewarnaan kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya (*Olympus*). Setiap preparat diamati pada 10 lapang pandang dengan perbesaran 40x.

HASIL DAN PEMBAHASAN

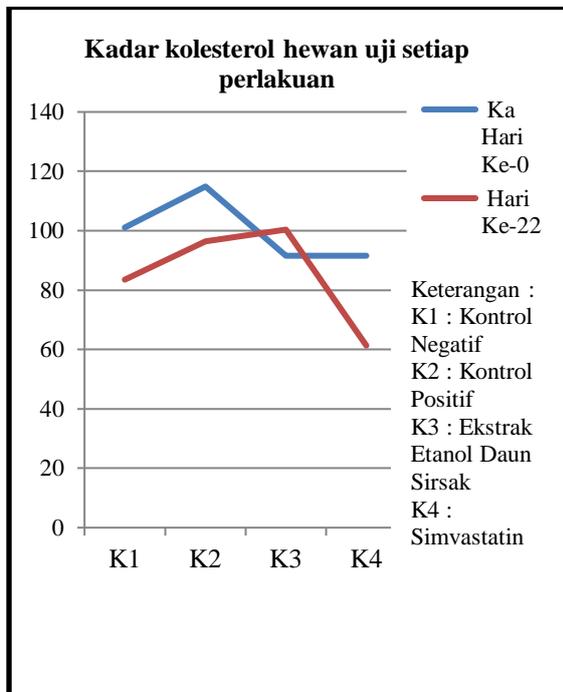
Kadar Kolesterol Total Darah Kelinci

Gabungan dari semua kolesterol yang ada di dalam darah yang meliputi HDL, LDL dan trigliserida disebut dengan kadar kolesterol total. Rerata dan standar deviasi kadar kolesterol total darah kelinci jantan lokal (*Oryctolagus cuniculus*) sebelum dan setelah perlakuan ditunjukkan pada Tabel 1. Hasil pemeriksaan kolesterol darah kelinci pada hari ke- 0 sebelum perlakuan dan hari ke- 22 setelah perlakuan menunjukkan hasil yang beragam pada setiap kelompok. Tabel 1. Rerata kadar kolesterol hewan uji setiap perlakuan

Kelompok	Waktu (Hari)	
	Hari ke-0	Hari ke-22
Pakan standar	101,13 ± 16,26 mg/dl	83,5 ± 23,50 mg/dl
Pakan tinggi lemak	114,9 ± 33,50 mg/dl	96,47 ± 7,43 mg/dl
Ekstrak etanol daun sirsak (8/500grBB/ekor –	91,57 ± 16,71 mg/dl	100,37 ± 5,21 mg/dl

17		
mg/1000grBB/ekor)		
Simvastatin		
(0,7	91,57 ±	61,33 ±
mg/500grBB/ekor –	23,15	2,51
1,4	mg/dl	mg/dl
mg/1000grBB/ekor)		

*Nilai normal kolesterol kelinci : 10-80 mg/dl (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).



Garfik 1. Grafik rerata kadar kolesterol dari setiap kelompok pada hari ke-0 dan hari ke- 22

Kadar kolesterol total kelinci pada hari ke-0 sebelum perlakuan dari kelompok I sampai kelompok IV berturut-turut adalah 101,13 mg/dl, 114,9 mg/dl, 91,57 mg/dl dan 91,57 mg/dl. Hasil ini berbeda jauh dan melewati batas normal kadar kolesterol total, sesuai dengan hasil penelitian dari Smith dan Mangkoewidjojo (1988) yang menyatakan bahwa kadar kolesterol normal dari kelinci adalah sebesar 10-80 mg/dl.

Seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1, terlihat bahwa setelah diinduksi minyak babi terjadi perubahan pada nilai kadar kolesterol total kelinci pada setiap kelompok perlakuan. Pada kelompok I yang merupakan

kontrol negatif, terjadi penurunan kadar kolesterol total menjadi 83,5 mg/dl. Pada kelompok II sebagai kelompok kontrol positif atau yang diinduksi dengan minyak babi, mengalami penurunan kadar kolesterol total menjadi 96,47 mg/dl. Pada kelompok III yang diterapi dengan ekstrak etanol daun sirsak mengalami peningkatan kadar kolesterol total menjadi 100,37 mg/dl. Kelompok IV yang diterapi dengan simvastatin mengalami penurunan kadar kolesterol total menjadi 61,33 mg/dl.

Kadar kolesterol yang melebihi batas normal pada setiap kelompok perlakuan baik sebelum maupun setelah perlakuan dapat disebabkan oleh faktor stres pada kelinci. Stres dapat dialami pada semua jenis hewan termasuk kelinci. Stres yang terjadi pada kelinci dapat meliputi stres fisik ataupun stres mental, yang mengakibatkan terjadinya peningkatan sekresi dari hormon *adrenocorticotropic* (ACTH). Sekresi yang berlebihan dari hormon ACTH dapat memicu peningkatan sekresi hormon kortisol yang berperan dalam mempengaruhi metabolisme dari lipid.

Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total pada kelompok III, yang diterapi dengan ekstrak etanol daun sirsak tidak menunjukkan adanya penurunan setelah diterapi selama 1 minggu. Peningkatan kadar kolesterol ini diduga juga diakibatkan oleh faktor stres. Dalam proses metabolisme lipid, efek dari stres akan meningkatkan pelepasan asam lemak ke dalam aliran darah. Asam lemak tersebut kemudian akan diesterifikasi menjadi triasilgliserol, yang selanjutnya akan diangkut oleh kilomikron dan VLDL. Semakin tinggi kadar asam lemak dalam darah maka, kadar kolesterol total juga akan meningkat. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai variasi dosis ekstrak etanol daun sirsak, sehingga dapat diketahui dosis yang efektif untuk menurunkan kadar kolesterol pada kelinci.

Pada kelompok IV, yang diterapi dengan simvastatin menunjukkan adanya penurunan kadar kolesterol total yaitu dari 91,57 mg/dl menjadi 61,33 mg/dl. Terjadinya

penurunan kadar kolesterol ini karena simvastatin menghambat enzim HMG-CoA (*Hydroxy methylglutaryl* – CoA) reduktase yang bertanggung jawab untuk biosintesis kolesterol. Penghambatan enzim HMG-CoA reduktase akan menghambat pembentukan asam mevalonat dan akhirnya menghambat pembentukan kolesterol (Tjay dan Rahardja, 2013).

Gambaran Histopatologi Hepar Kelinci

Hasil pengamatan secara mikroskopik pada hepar kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) hiperkolesterolemia yang diterapi dengan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata. L*) menunjukkan adanya perubahan pada struktur histologi. Perubahan yang terlihat pada hepar yaitu ditemukannya degenerasi lemak, degenerasi hidropis, kerusakan sel dan infiltrasi sel radang. Gambaran histopatologi hepar dari masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 6.

Perhitungan jumlah hepatosit yang mengalami perubahan degenerasi lemak, degenerasi hidropis, kerusakan sel dan infiltrasi sel radang pada 10 lapang pandang ditampilkan pada Tabel 2 dan Gambar 6.

Berdasarkan tabel dan grafik rerata perubahan yang terjadi pada hepar setiap kelinci terhadap perlakuan menunjukkan bahwa, degenerasi lemak pada kelompok kontrol positif (B) memiliki rerata yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang diterapi dengan ekstrak etanol daun sirsak (C) dan simvastatin (D) yang sebelumnya diinduksi dengan minyak babi. Degenerasi lemak sering ditandai dengan adanya vakuola jernih di dalam sitoplasma karena akumulasi dari trigliserida serta metabolit lemak lainnya (Sudiono, 2003).

Menurut Paderi (2007), pada umumnya infiltrasi lemak dimulai dari daerah portal menuju ke vena sentralis. Suplai darah dari usus ke hepar adalah melalui vena porta, apabila darah yang

berasal dari usus mengandung toksin maka hepatosit yang berada pada daerah vena porta yang mengalami kerusakan terlebih dahulu. Selain degenerasi lemak, hepar pada kelompok kontrol positif (B) dan kelompok terapi (C dan D) juga mengalami degenerasi hidropis, kerusakan sel dan infiltrasi sel radang.

Degenerasi hidropis yang terjadi dapat disebabkan karena adanya kerusakan pada membran plasma sel. Hal ini mengakibatkan terjadinya impermeabilitas pompa sodium (Na^+) – potasium (K^+) yang berperan dalam mengatur konsentrasi ion baik di dalam maupun di luar sel. Kerusakan tersebut menyebabkan volume kalsium (Ca^{2+}), sodium (Na^+), air dan plasma protein meningkat serta potasium (K^+) dan enzim yang ada di dalam sitoplasma sel tersebut berkurang. Kondisi tersebut mengakibatkan cairan yang berada di sekitar sel akan mudah masuk ke dalam sel sehingga sel mengalami pembengkakan. Sinusoid juga dapat mengalami penyempitan, akibat cairan yang masuk ke dalam sel menekan daerah tersebut (Cheville, 1999).

Kerusakan sel yang terjadi juga disebabkan karena adanya sel yang tidak mampu beradaptasi dengan perubahan lingkungan. Konsumsi lemak yang berlebihan juga mampu meningkatkan absorpsi lemak akibatnya vena porta yang berperan penting mentranspor lemak dari usus ke hepar menjadi tersumbat (Hayes, 2004). Kerusakan sel juga terjadi pada kelompok kontrol negatif (A), namun dalam jumlah yang sedikit. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh proses fisiologis tubuh atau adanya gangguan metabolisme pada hepar yang tidak spesifik (Devanita, 2008).

Jumlah sel radang yang ada pada setiap kelompok perlakuan dapat disebabkan oleh peningkatan produksi radikal bebas. Jumlah radikal bebas yang berlebihan akan menyerang makromolekul sel yang dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel. Hal ini menyebabkan terjadinya diapedesis, sehingga memicu pengeluaran sel-sel radang dari pembuluh darah dan menginfiltrasi

jaringan untuk memfagosit sel-sel yang rusak (Tizard, 1992).

Efek perubahan yang baik pada hepar setelah diterapi, diperlihatkan oleh kelompok yang diterapi dengan ekstrak etanol daun sirsak dibandingkan dengan kelompok yang diterapi dengan simvastatin. Dari hasil analisis statistik dengan *one way Anova* memperlihatkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak dalam menurunkan kadar kolesterol darah kelinci melalui perubahan lesio pada hepar. Hal ini dapat dilihat pada tabel yaitu nilai signifikansi yang $< 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil analisis lanjutan dengan uji *Duncan* menunjukkan bahwa tidak ada beda pengaruh antara pemberian ekstrak etanol daun sirsak dan simvastatin dalam menurunkan kadar kolesterol darah kelinci melalui perubahan lesio pada hepar. Hal ini dapat dilihat pada tabel yaitu nilai signifikansi yang $> 0,05$ (lampiran).

Penurunan degenerasi lemak, degenerasi hidropis, kerusakan sel dan infiltrasi sel radang pada kelompok yang diterapi dengan ekstrak etanol daun sirsak, disebabkan karena kandungan senyawa aktif pada daun sirsak yaitu sitosterol yang merupakan senyawa sterol yang secara kimia mirip dengan kolesterol dan berasal dari tumbuhan. Sterol mampu menurunkan kadar kolesterol total dengan cara menghambat penyerapan kolesterol dari usus (Jesch dan Carr, 2006). Hal yang sama juga terjadi pada kelompok yang diterapi dengan simvastatin, karena kerja dari simvastatin yaitu inhibisi terhadap enzim yang bertanggung jawab untuk biosintesis kolesterol sehingga mampu menghambat pembentukan asam mevalonat dan akhirnya menghambat pembentukan kolesterol (Tjay dan Rahardja, 2013). Simvastatin merupakan salah satu jenis obat golongan statin, yang apabila setelah diserap oleh tubuh maka akan ditranspor ke hepar melalui sirkulasi portal (Dalimartha, 2002).

Gambaran Histopatologi Pembuluh Darah Aorta Kelinci

Hasil pengamatan secara mikroskopik pada pembuluh darah aorta kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) hiperkolesterolemia yang diterapi dengan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata. L*) menunjukkan adanya perubahan pada struktur histologi. Gambaran histopatologi pembuluh darah aorta dari masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 6.

Perhitungan jumlah sel lemak dan sel radang yang meninfiltrasi pembuluh darah aorta pada 10 lapang pandang ditampilkan pada Tabel 3 dan Gambar 7.

Berdasarkan tabel dan grafik rerata perubahan yang terjadi pada hepar setiap kelinci terhadap perlakuan menunjukkan bahwa, infiltrasi lemak dan sel radang pada pembuluh darah aorta kelompok kontrol positif (B) memiliki rerata yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang diterapi dengan ekstrak etanol daun sirsak (C) dan simvastatin (D) yang sebelumnya diinduksi dengan minyak babi.

Menurut Herpandi (2005), kadar kolesterol yang berlebihan dapat mengakibatkan terganggunya proses metabolisme, sehingga kolesterol menumpuk di hepar. Kolesterol yang telah masuk ke dalam hepar tidak mampu diangkut seluruhnya oleh lipoprotein. Hal ini menyebabkan kadar kolesterol LDL meningkat. Akibat dari peningkatan LDL maka dapat memicu oksidasi LDL dan reaksi peradangan pada pembuluh darah. Luka pada sel-sel endotel juga dapat memicu reaksi peradangan dan meningkatkan peptida vasoaktif. Hal ini membuat permeabilitas dari endotel meningkat sehingga terbentuk rongga diantara sel, yang mengakibatkan terjadi infiltrasi lemak serta sel-sel radang pada daerah tunika (Beers, 2003).

Efek perubahan yang baik pada pembuluh darah aorta setelah diterapi, diperlihatkan oleh kelompok yang diterapi dengan ekstrak etanol daun sirsak dibandingkan dengan kelompok yang diterapi dengan simvastatin. Dari hasil analisis statistik dengan *one way Anova*

memperlihatkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak dalam menurunkan kadar kolesterol darah kelinci melalui perubahan lesio pada pembuluh darah aorta. Hal ini dapat dilihat pada tabel yaitu nilai signifikansi yang $< 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil analisis lanjutan dengan uji Duncan menunjukkan bahwa tidak ada beda pengaruh antara pemberian ekstrak etanol daun sirsak dan simvastatin dalam menurunkan kadar kolesterol darah kelinci melalui perubahan lesio pada hepar. Hal ini dapat dilihat pada tabel yaitu nilai signifikansi yang $> 0,05$ (lampiran).

Berkurangnya infiltrasi lemak serta sel-sel radang pada kelompok yang diterapi dengan ekstrak etanol daun sirsak karena kandungan senyawa aktif dari daun sirsak yaitu sitosterol dan flavonoid. Sterol mampu menurunkan kadar kolesterol total dengan cara menghambat penyerapan kolesterol dari usus. Konsumsi sterol dapat mengurangi kadar kolesterol LDL yang merupakan faktor resiko terjadinya penyakit aterosklerosis (Jesch dan Carr, 2006). Flavonoid dapat menurunkan kadar kolesterol darah dengan cara meningkatkan ekskresi asam empedu dan mengurangi kekentalan (viskositas) darah, sehingga mengurangi terjadinya pengendapan lemak di dalam darah. Flavonoid berperan sebagai antioksidan yang mampu menekan pelepasan dari radikal O_2 yang reaktif sehingga dapat menekan terjadinya kerusakan pada endotel. Flavonoid juga berperan sebagai anti inflamasi yang mampu menghambat terjadinya reaksi inflamasi (Carvajall-Zarrabal *et al.*, 2005 dan Lamson *et al.*, 2000).

Pada kelompok yang diterapi dengan simvastatin menunjukkan perubahan yang sama dengan yang diterapi dengan ekstrak etanol daun sirsak. Perubahan ini terlihat dari berkurangnya infiltrasi lemak dan sel-sel radang pada daerah tunika intima hingga adventisia. Hal ini disebabkan karena kerja dari simvastatin yaitu inhibisi terhadap enzim yang bertanggung jawab untuk biosintesis kolesterol sehingga mampu menghambat

pembentukan asam mevalonat dan akhirnya menghambat pembentukan kolesterol (Tjay dan Rahardja, 2013).

Berdasarkan pengamatan mikroskopik pada pembuluh darah aorta dari semua kelompok perlakuan tidak terlihat adanya kelinci yang mengalami aterosklerosis. Hal ini kemungkinan disebabkan karena strain kelinci yang digunakan dalam penelitian ini bukanlah strain yang cocok untuk penelitian aterosklerosis. Strain kelinci yang lebih cocok untuk studi aterosklerosis adalah kelinci strain Watanabe (WHHL). Kelinci strain ini telah banyak berperan dalam penelitian yang berkaitan dengan metabolisme lipoprotein, hiperkolesterolemia, aterosklerosis, serta untuk pengembangan obat-obatan hiperkolesterolemia terutama HMG – CoA reduktase (statin) (Masashi Shiomi dan Takashi Ito, 2009).

SIMPULAN

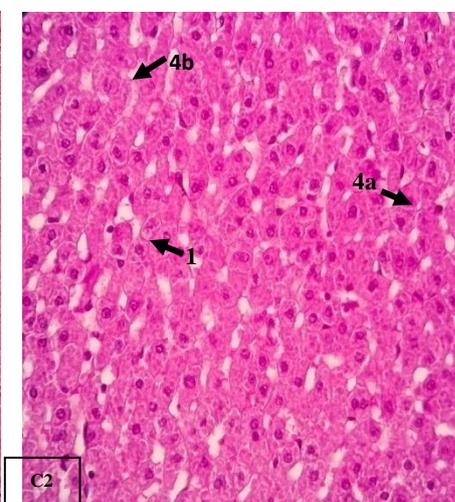
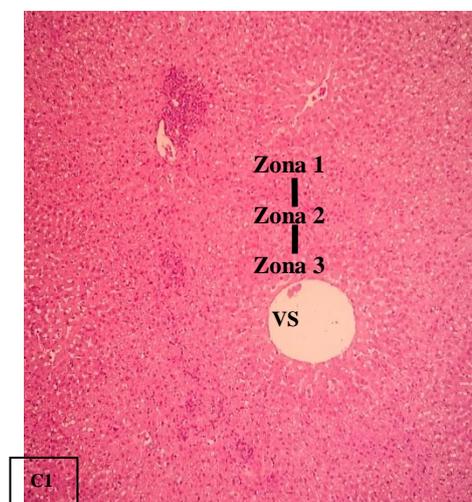
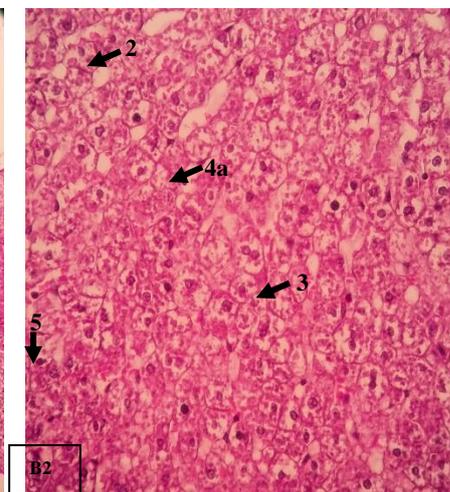
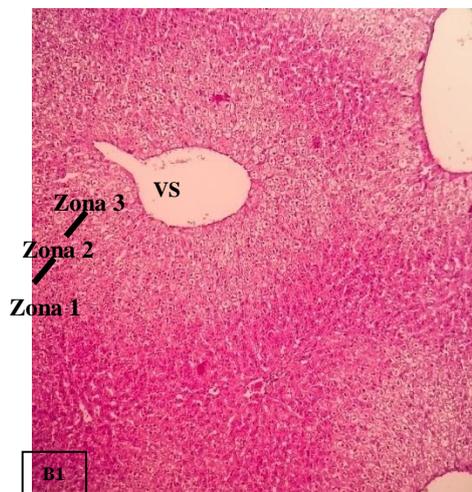
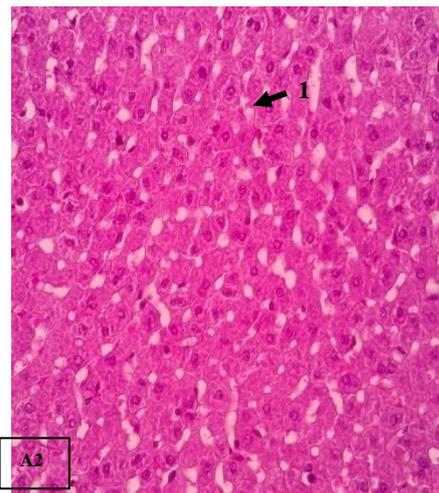
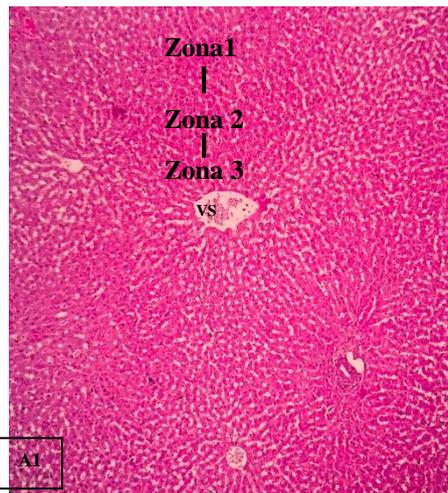
Berdasarkan hasil yang diperoleh maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

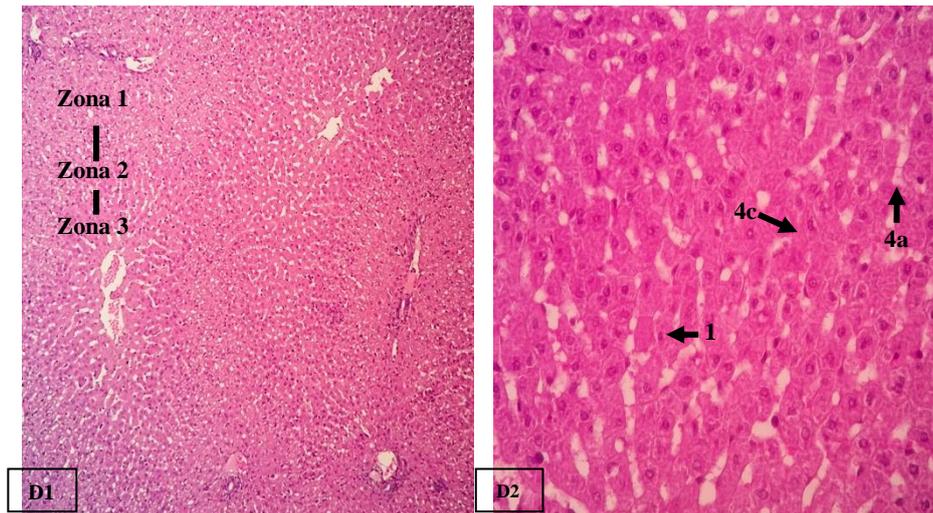
1. Dari hasil pemeriksaan darah menunjukkan bahwa, terapi ekstrak etanol daun sirsak pada dosis 8 mg/500grBB sampai 17 mg/1000grBB tidak mampu menurunkan kadar kolesterol total kelinci hiperkolesterolemia, yang diinduksi lemak babi selama 1 minggu dibandingkan dengan kelompok yang diterapi dengan simvastatin.
2. Dari hasil pengamatan histopatologi, menunjukkan bahwa terapi ekstrak etanol daun sirsak maupun simvastatin mampu melindungi struktur jaringan hepar dan pembuluh darah aorta kelinci hiperkolesterolemia. Hal ini dibuktikan dengan hasil analisis statistik bahwa tidak ada beda pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak dan simvastatin dalam menurunkan kadar kolesterol darah kelinci melalui perubahan lesio pada hepar dan pembuluh darah aorta.

DAFTAR PUSTAKA

- Beers, M. H., A. J. Fletcher and T.V. Jones. 2003, *Aneurysms and Aortic Dissection*, The Merck Manual of Medical Information, 2nd ed, Merck & Co, USA.
- Carjavall-zarrabal, O., S.M, Waliszewski., D.M, Barradas-dermitz., Z,Orta-flores, Hayward-jones., C, Nolasco-hipolito., Angulo-guerrero., S, Rican., Infaso. and P.R.L, Trujillo. 2005, *The Consumption Of Hibiscus Sabdariffa Dried Calyx Ethanolic Extract Reduced lipid Profile In Rats. Plant Foods for Human Nutrition*. 60: 153-159.
- Cheville, N.F. 1999, *Introduction to Veterinary Pathology*, 2nd ed, Iowa State Press, USA.
- Dalimartha, S. 2000, *36 Resep Tumbuhan Obat untuk Menurunkan Kolesterol*, Penebar Swadaya, Jakarta, Cit.
- Devanita, L. 2008, 'Kajian Patologi Hati Kelinci Hiperlipidemia: Dengan Dan Tanpa Pemberian Antihiperlipidemia', Skripsi, Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Devanita, L. 2008, 'Kajian Patologi Hati Kelinci Hiperlipidemia: Dengan Dan Tanpa Pemberian Antihiperlipidemia', Skripsi, Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Fathurrachman, A. D. 2014, 'Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Dengan Metode Perendaman Radikal Bebas DPPH', Skripsi, Sarjana, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Ginsberg, H.N. 1998, *Lipoprotein physiology, Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 27, 503-519, Cit. Xenoulis, P.G., Suchodolski, J.S., Levinski, M.D. and Steiner, J.M. 2007, Investigation of Hypertriglyceridemia in healthy Miniature Schnauzers. *Journal of Veterinary Internal Medicine* Vol. 21 : 1224 - 1230.
- Jesch, E.D and Carr, T.P. 2006, Sitosterol reduces micellar cholesterol solubility in model bile, *Nutrition Research* Vol. 26 : 579– 584.
- Lamson., Davis, W, M, ND., Brignall. and Matthew, S, ND. 2000, Antioxidants and Cancer III : *Quercetin*, *Alternative Medicine Review* Vol. 5 (3).
- Masashi Shiomi dan Takashi Ito. 2009, *The Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) rabbit, its characteristics and history of development: A tribute to the late Dr. Yoshio Watanabe*, Article Atherosclerosis.
- Megasari, L. N. 2009, 'Pengaruh Lama Stress Dan Diet Atherogenik Terhadap Pembentukan Foam Cell Pada Areteri Koroner Jantung Tikus Putih (*Rattus novergicus* galur Sprague Dawley) Jantan', Skripsi, Sarjana, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Mutschler, E. 1991, *Dinamika Obat*, Penerbit ITB, Bandung, Cit. Uneputty, J.P., Yamlean, V.Y.Paulina. dan Kojong, S.N. 2013, Potensi Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*), *Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol. 2 (2) : 56-60.
- Paderi, A.Z. 2007, 'Kajian Perubahan Jaringan Uji Khasiat Buah Merah (*Pandanus conoideus*) Sebagai Bahan Penghambat Kerusakan Hati', Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Price, S.A., M, Lorraine. dan Wilson. 2006, Patofisiologi Konsep Klinis Proses-

- Proses Penyakit, Edisi 6, EGC, Jakarta, Cit. Rufaida, F., Aulanni'am. dan Murwani, S. 2013, 'Profil Kadar Kolesterol Total, Low Density Lipoprotein (LDL) Dan Gambaran Histopatologis Aorta Pada Tikus (*Rattus Novergicus*) Hiperkolesterolemia Dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrophoe Petandra*),' Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Rifai, N., Bachorik, P.S., Albers, J.J., 1999, *Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins*, In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Eds.), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, pp. 809–861, cit. Xenoulis, P.G and Steiner, J.M. 2008, Lipid Metabolism and Hyperlipidemia In Dogs, *The Veterinary Journal*, **Vol. 183** : 12-21.
- Smith, J.B dan Mangkoewidjojo, S. 1998, *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*, Jakarta, UI Press, Cit. Muliastari, A. 2009, 'Konsentrasi Lipid Peroksida Hati Kelinci Hiperlipidemia Yang Diberi Senyawa Hipolipidemik', Skripsi, Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sudiono, J. B., Kurniadhi., Hendrawan, A. dan Djinantoro, B. 2003, *Ilmu Patologi*, Penerbit EGC, Jakarta.
- Tizard, 1992, *Veterinary Immunology an Introduction*, WB Saunders Comp, USA.
- Tjay, T.H. dan Rahardja, K. 2013, *Obat-Obat Penting : Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*, Edisi keenam, cetakan ketiga, Elex Media Komputindo, Jakarta, Cit. Puspitasari, P. H., Fitriingsi, P.S dan Mulqie, L. 2015, 'Pengaruh Pemberian Ekstrak Jamur Kuping Hitam Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Mencit Swiss Webster Jantan', Prosiding Penelitian SPeSIA, Unisba, Bandung.
- Unepetty, J.P., Yamlean, V.Y. Paulina. dan Kojong, S.N. 2013, Potensi Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*), *Jurnal Ilmiah Farmasi*, **Vol. 2 (2)** : 56-60.
- Wells, B.G., Dipiro, J.T., Schwinghammer, T.L and Dipiro, C.V. 2009, *Pharmacotherapy Handbook*, 7th Ed, The McGraw-Hill Medical, 98,101, 103-107, New York, Cit. Purwanti, S. 2012, 'Efek Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong (*Luffa acutangula (L.) Roxb.*) Pada Tikus Putih Jantan Yang Diberi Diet Tinggi Kolesterol Dan Lemak', Skripsi, Sarjana, Universitas Indonesia.
- Xenoulis, P.G., Suchodolski, J.S., Levinski, M.D., Steiner, J.M. 2007, Investigation of Hypertriglyceridemia in healthy Miniature Schnauzers. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21, 1224-1230, Cit. Xenoulis, P.G and Steiner, J.M. 2008, Lipid Metabolism and Hyperlipidemia In Dogs, *The Veterinary Journal*, **Vol. 183** : 12 - 21.

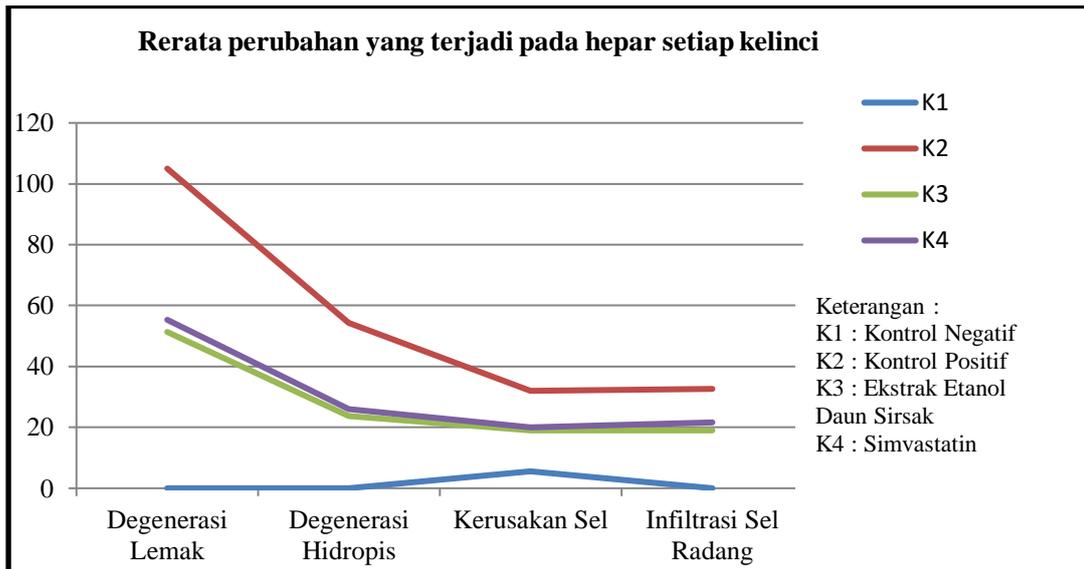




Gambar 6. Gambaran histopatologi hepar kelinci dengan pewarnaan HE (perbesaran 10x dan 40x); (A1 dan A2) kontrol negatif dimana hepatositnya (1) terlihat normal; (B1 dan B2) hiperkolesterolemia dimana, terlihat adanya degenerasi lemak (2), degenerasi hidropis (3), pyknosis (4a), (5) sel radang; (C1 dan C2) terapi ekstrak etanol daun sirsak terlihat adanya hepatosit normal (1), pyknosis (4a) dan karyoreksis (4b); (D1 dan D2) terapi simvastatin terlihat adanya hepatosit normal (1), pyknosis (4a) dan karyolisis (4c).

Tabel 2. Rerata perubahan yang terjadi pada hepar setiap kelinci terhadap perlakuan

Kelompok	Derajat Perubahan			
	Degenerasi Lemak	Degenerasi Hidropis	Kerusakan Sel	Infiltrasi Sel Radang
Kontrol Negatif	0	0	5,56	0 32,67
Kontrol Positif	105	54,33	32	
Ekstrak Etanol Daun Sirsak	51,33	23,67	19	19
Simvastatin	55,33	26	20	21,67



Gambar 7. Grafik rerata perubahan yang terjadi pada hepar setiap kelinci terhadap perlakuan