

**EFEK ANTIHIPERKOLESTEROLEMIA EKSTRAK ETANOL HERBA
ALFAFA (*Medicago sativa*) PADA TIKUS PUTIH JANTAN**

***ANTIHYPERCHOLESTEROLEMIA EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF
ALFAFA (*Medicago sativa*) IN WHITE MALE RATS***

Ika Puspitaningrum^{1*}, Lia Kusmita¹, Wahyuning Setyani²

¹STIFAR “Yayasan Pharmasi” Semarang,

²Universitas Sanata Dharma Yogyakarta

*** korespodensi: ika2vita@gmail.com**

ABSTRAK

Hiperkolesterolemia adalah kelainan yang ditandai dengan peningkatan konsentrasi kolesterol dalam darah. Alfafa (*Medicago sativa*) merupakan salah satu tanaman yang dipercaya dapat mengendalikan kolesterol darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antihiperkolesterolemia ekstrak etanol herba Alfafa dan dosis efektifnya.

Uji antihiperkolesterolemia ekstrak etanol herba Alfafa menggunakan tikus putih jantan galur Wistar sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok 1 (kontrol normal) diberikan pakan standart. Kelompok 2 (kontrol negatif) diberikan CMC Na 0,5%. Kelompok 3 (kontrol positif) diberikan Simvastatin. Kelompok 4, 5 dan 6 diberikan ekstrak etanol herba Alfafa 270, 540 dan 1080 mg/kg BB. Semua perlakuan diberikan 7 hari secara oral. Induksi hiperkolesterol dengan pakan tinggi lemak yaitu campuran makanan standar tikus dengan 15% lemak babi dan 5% kuning telur bebek, serta fruktosa 1,8 g/kgBB tikus. Induksi diberikan kepada semua kelompok selama 50 hari, kecuali kontrol normal. Pengukuran kadar kolesterol total darah dilakukan pada hari ke 0, 51 dan 58. Kadar kolesterol yang diperoleh dihitung % penurunan yang selanjutnya diuji statistika dengan SPSS *release* 16.

Hasil uji statistika menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan ekstrak etanol herba Alfafa ketiga dosis. Sedangkan perbandingan antara kontrol positif dengan ekstrak etanol herba Alfafa ketiga dosis menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak etanol herba Alfafa dapat berefek antihiperkolesterolemia, namun belum sebanding dengan Simvastatin. Dosis optimal ekstrak etanol herba Alfafa sebagai antihiperkolesterolemia sebesar 1080 mg/kgBB tikus.

Kata kunci: ekstrak etanol, herba Alfafa, kolesterol

ABSTRACT

*Hypercholesterolemia is a disorder characterized by an increased concentration of cholesterol in the blood. Alfalfa (*Medicago sativa*) is one of the plants that are believed to control blood cholesterol. This study aims to determine antihypercholesterolemia effect of herb alfalfa ethanol extract and the effective dose.*

Test antihypercholesterolemia ethanol extract of herb alfalfa using male Wistar rats as many as 30 individuals were divided into 6 groups. Group 1 (normal control) was given standard feed. Group 2 (negative control) was given CMC Na 0,5%. Group 3 (positive control) was given Simvastatin. Groups 4, 5 and 6 was given herb alfalfa ethanol extract 270, 540 and 1080 mg/kg rat. All treatments are given 7 days orally. Induction hypercholesterolemia with high-fat feed a mixture of standard rat food with lard and egg yolk duck (3:1), as well as fructose 1.8 g/kg rat. Induction was given to all groups for 50 days, except for the normal control. Measurement of total blood cholesterol levels was done on days 0, 51 and 58. Cholesterol levels were obtained calculated % decline further tested with SPSS statistical release 16.

The test results showed a statistically significant difference between the negative control group with the ethanol extract of herb Alfalfa three doses. While the comparison between the positive control with the ethanol extract of the herb alfalfa three doses showed no significant differences. It was provided that the ethanol extract of the herb alfalfa could affected antihypercholesterolemia, but not comparable to Simvastatin. The optimal dose of ethanol extract of alfalfa as antihypercholesterolemia was 1080 mg/kg rat .

Keywords: *ethanol extract, herb alfalfa, cholesterol*

PENDAHULUAN

Kolesterol adalah lemak berwarna kekuningan dan berupa seperti lilin yang diproduksi oleh tubuh, terutama di dalam liver (hati) (Heslet, 2007). Kolesterol merupakan bahan pembangun esensial bagi tubuh untuk sintesa zat-zat penting, seperti membran sel dan bahan isolasi sekitar serat saraf, begitu pula hormon kelamin dan anak ginjal, vitamin D serta asam empedu (Tjay dan Rahardja, 2008).

Sebagian besar kebutuhan kolesterol tubuh dibuat oleh hati, tetapi tubuh juga mendapat tambahan kolesterol dari makanan seperti dari kuning telur, daging, ayam, makanan laut, susu, dan produk olahan susu. Kolesterol yang berlebihan di dalam tubuh atau disebut juga hiperkolesterolemia tidak baik bagi tubuh. Hiperkolesterolemia merupakan salah satu penyebab terjadinya penyakit jantung koroner (PJK). Penyakit jantung koroner menduduki peringkat pertama sebagai penyebab kematian akibat penyakit jantung yaitu 80% (Santoso, 2005).

Alfafa (*Medicago sativa*) merupakan salah satu tanaman yang secara empiris dipercaya dapat menurunkan kadar kolesterol. Hal ini disebabkan oleh kandungan senyawa aktif dalam Alfafa. Alfafa mempunyai kandungan senyawa aktif diantaranya klorofil, alkaloid (Bo-Ping dkk., 2010), coumestrol (Hong dkk., 2011), saponin (Colodny, 2001), dan flavonoid, tanin, serta triterpenoid (Laurennia, 2016). Fraksi etil asetat Alfafa telah terbukti berefek sebagai antiinflamasi (Kusmita, dkk. 2014). Ekstrak etanol Alfafa juga telah terbukti berefek sebagai imunostimulan (Laurensia, 2016). Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian perlu dilakukan untuk membuktikan efek hiperkolesterol Alfafa (*Medicago sativa*) serta dosis efektifnya.

METODOLOGI

Bahan

Bahan utama adalah herba Alfafa (*Medicago sativa*) tropis yang diperoleh dari perkebunan Selopass Boyolali, larutan etanol 96%, CMC Na, *aqua destilata*, minyak babi, telur bebek, fruktosa, Simvastatin tablet, larutan pereaksi kolesterol dari DIASYS (*Diagnostic Systems Holzheim Germany*) terdiri dari Good's buffer

pH 6-7 50 mmol/l, fenol 5 mmol/l, 4-aminoantipirin 0,3 mmol/l, kolesterol esterase 200 U/l, kolesterol oksidase 50 U/l, peroksidase 3 U/l, dan standar 200 mg/dl (2,3 mmol/l), tikus putih jantan galur Wistar usia 1-2 bulan.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, waterbath, batang pengaduk, rotary evaporator, timbangan hewan uji, spuit injeksi, sonde tikus, Spektrofotometer UV-VIS, hematokrit.

Ekstraksi

Ditimbang 200 gram serbuk herba alfafa, dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama 5 hari dan diaduk dengan bantuan shaker rotator selama 2 jam kemudian didiamkan selama 24 jam. Dilakukan penyarian setelah 24 jam sehingga terpisah antara filtrate (ekstrak etanol) dengan residu. Residu yang didapat ditambah lagi dengan 500 ml etanol 96% dan dilakukan proses yang sama selama 5 hari. Semua filtrat dicampur dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

Uji Antihiperkolesterolemia

Disiapkan 30 ekor tikus putih jantan galur Wistar berat 150-250 gram. Sebelum perlakuan, tikus terlebih dahulu diadaptasikan dalam kondisi laboratorium selama satu minggu dengan diberi makan yang cukup.

Hewan percobaan dibagi dalam 6 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok I (normal) diberikan pakan standart hari ke 0-57 serta aqua destilata secara oral. Kelompok II (kontrol negatif) diberikan diet lemak tinggi berupa campuran lemak babi dan kuning telur bebek (3:1) dan fruktosa 1,8 g/kgBB tikus hari ke 0-50, dan suspensi NaCMC 0,5% hari ke 51-57 secara oral. Kelompok III (kontrol positif) diberikan diet lemak tinggi berupa campuran lemak babi dan kuning telur bebek (3:1) dan fruktosa 1,8 g/kgBB tikus hari ke 0-50, dan Simvastatin 0,9 mg/kgBB tikus hari ke 51-57 secara oral. Kelompok IV, V dan VI diberikan diet lemak tinggi berupa campuran lemak babi dan kuning telur bebek (3:1) dan fruktosa 1,8 g/kgBB tikus hari ke 0-50, dan suspensi ekstrak etanol herba Alfafa 270; 540; 1080 mg/kg BB tikus hari ke 51-57 secara oral.

Pada hari ke 0 (sebelum diberi diet lemak tinggi dan fruktosa), 51 dan 58, semua hewan percobaan diambil darahnya melalui *vena optimalis* mata.

Selanjutnya darah didiamkan selama 15 menit, disentrifuse kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, dan bagian jernih, yang disebut serum diambil untuk dilakukan penetapan kadar kolesterol total.

Pengukuran Kadar Kolesterol Total

Serum darah dipipet dengan pipet mikro sebanyak 0,01 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan pereaksi kolesterol sebanyak 1 ml, lalu dicampurkan dengan vortex, dan diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 546 nm terhadap blanko. Sebagai blanko digunakan pereaksi kolesterol 1 ml dan akuades 0,01 ml. Pengukuran serapan standar (sebanyak 0,01 ml) sama dengan pengukuran serapan kolesterol total. Hasil yang terbaca dalam Microlab 300 berupa kadar kolesterol total (mg/dl).

Analisa Data

Data kadar kolesterol total yang diperoleh selanjutnya dihitung persen penurunan untuk melihat besarnya penurunan senyawa uji. Persen penurunan kadar kolesterol total dianalisis statistika dengan SPSS versi 16.0 taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antihiperkolesterolemia dan dosis optimal herba Alfafa (*Medicago sativa*). Simplisia Alfafa yang telah diperoleh dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 96% guna menarik kandungan zat aktif baik polar maupun semipolar dalam Alfafa. Maserasi dilakukan selama 5 hari dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

Ekstrak etanol herba Alfafa selanjutnya diuji efek antihiperkolesterolemia pada hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah tikus galur Wistar usia 1-2 bulan. Awal perlakuan seluruh tikus dikondisikan menjadi keadaan hiperkolesterolemia. Induksi yang digunakan adalah pemberian lemak babi dan kuning telur bebek, serta fruktosa 1,8 g/kgBB tikus. Induksi dilakukan selama 50 hari agar peningkatan kadar kolesterol total terjadi secara signifikan. Hasil yang

diperoleh terdapat perbedaan signifikan kadar kolesterol total seluruh hewan uji antara hari ke 0 (awal) dibandingkan hari ke 50 (induksi), kecuali kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa induksi diet lemak tinggi berupa minyak babi dan kuning telur bebek serta fruktosa dapat menyebabkan keadaan hiperkolesterol secara signifikan.

Minyak babi dapat meningkatkan kadar kolesterol karena kandungan asam lemak yang terdapat dalam minyak babi terdiri dari *saturated fats* sebesar 39 gram, *monounsaturated fat* sebesar 45 gram, *polyunsaturated fat* sebesar 11 gram serta kolesterol sebesar 95 mg (Hebean *et al.*, 2005). Sedangkan kuning telur bebek mengandung lemak yang terikat dalam bentuk lipoprotein terdiri dari 85% lemak dan 15% protein (Ariyani, 2006).

Pemberian fruktosa juga dapat meningkatkan kadar kolesterol total dalam darah. Pemberian fruktosa secara signifikan meningkatkan LXR , dan *sterol receptor element binding protein 1-C* (SREBP-1), merupakan faktor yang mempunyai peranan dalam mengaktifkan *de novo lipogenesis* (DNL). SREBP-1 merupakan faktor transkripsi yang meregulasi biosintesis asam lemak dan kolesterol. SREBP-1 berikatan dengan *sterol responsive elements* (SRE) dan mengaktifkan serangkaian enzim yang terlibat dalam biosintesis kolesterol seperti HMG-CoA reduktase dan fatty acid sintase (Prahastuti, 2011).

Setelah tikus menjadi hiperkolesterol, seluruh tikus diberi perlakuan CMC Na 0,5% (kontrol negatif), Simvastatin (kontrol positif), dan suspensi ekstrak etanol herba Alfafa dosis 270, 540 dan 1080 mg/kg BB tikus selama 7 hari. Selain itu juga terdapat kelompok normal. Kelompok kontrol normal bertujuan untuk melihat kadar kolesterol total hewan uji normal dan pengaruh lingkungan serta stressing terhadap kadar kolesterol total hewan uji selama perlakuan. Hari ke 7 seluruh kelompok perlakuan diukur kadar kolesterol total sebagai kadar perlakuan. Hasil kadar kolesterol total awal, induksi dan perlakuan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata Kadar Kolesterol Total (mg/dl) \pm SD, Persentase Kenaikan dan Persentase Penurunan Seluruh Kelompok Perlakuan

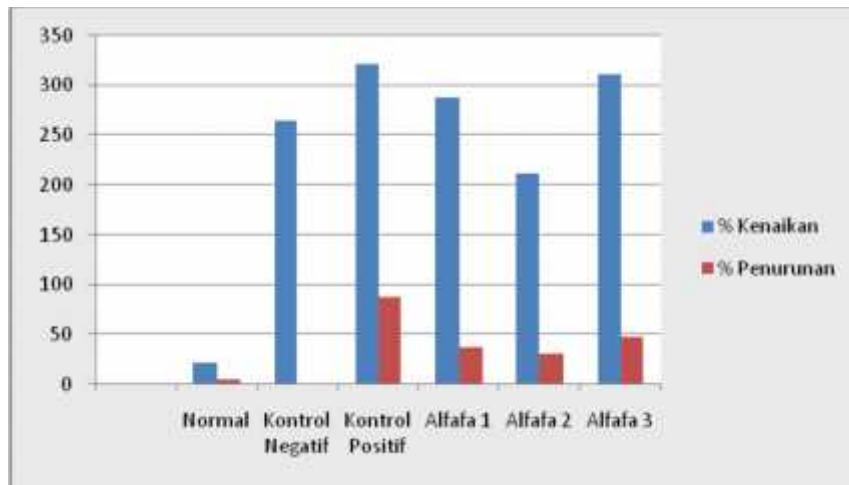
Kelompok	Kadar Kolesterol Total (mg/dl)			% Kenaikan	% Penurunan
	H0	H51	H58		
Normal	85,37 \pm 4,7	103,67 \pm 4,2	102,80 \pm 4,3	21,54 \pm 3,3	4,79 \pm 0,8
CMC Na 0,5% (Kontrol -)	77,21 \pm 9,4	278,09 \pm 5,1	275,70 \pm 3,9	264,33 \pm 43,2	1,19 \pm 0,6 ^b
Simvastatin (Kontrol +)	68,96 \pm 11,7	285,02 \pm 5,9	96,16 \pm 4,7	322,09 \pm 66,3	87,58 \pm 6,0 ^a
Alfafa 270 mg/kgbb tikus	73,11 \pm 12,1	273,49 \pm 47,0	190,85 \pm 4,4	288,58 \pm 111,2	36,97 \pm 18,7 ^{ab}
Alfafa 540 mg/kgbb tikus	76,16 \pm 10,8	230,12 \pm 44,3	175,46 \pm 5,3	211,60 \pm 94,6	30,54 \pm 18,2 ^{ab}
Alfafa 1080 mg/kgbb tikus	68,92 \pm 15,8	267,20 \pm 45	166,85 \pm 3	310,90 \pm 128,7	47,10 \pm 16,1 ^{ab}

Keterangan:

a: berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok negatif dengan uji Mann Whitney

b: berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok positif dengan uji Mann Whitney

Berdasarkan tabel I, kelompok kontrol negatif menunjukkan perbedaan signifikan terhadap ketiga kelompok dosis ekstrak etanol herba Alfafa. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak etanol herba Alfafa berefek antihiperkolesterolemia dengan dosis optimal sebesar 1080 mg/kgBB tikus. Dosis optimal merupakan dosis yang dapat memberikan efek antihiperkolesterolemia tertinggi. Namun efek antihiperkolesterolemia ekstrak etanol herba Alfafa belum sebanding dengan kontrol positif Simvastatin. Simvastatin mempunyai efek antihiperkolesterolemia yang lebih kuat dibanding ekstrak etanol herba Alfafa. Hal ini mungkin disebabkan kandungan senyawa aktif dalam ekstrak etanol herba Alfafa belum mencukupi untuk aktivitas antihiperkolesterol yang efektif.



Gambar 1. Diagram % Kenaikan Kadar Kolesterol Total Setelah Induksi dan % Penurunan Kadar Kolesterol Setelah Perlakuan Senyawa Uji

Ekstrak etanol Alfafa berefek antihiperkolesterolemia diduga karena adanya kandungan flavonoid, saponin dan tanin. Flavonoid mempunyai mekanisme dalam menurunkan kadar kolesterol total dalam tubuh dengan cara menghambat enzim HMG-CoA reduktase (Fajrin, 2010). Saponin dan tanin dapat berfungsi sebagai penghambat aktivitas enzim lipase pankreas (Birari and Bhutani, 2007; Martins *et al.*, 2009). Selain itu, saponin dapat menurunkan kadar kolesterol total yang disebabkan karena aksi saponin seperti resin. Saponin mampu mereduksi sirkulasi enterohepatik dari asam empedu, sehingga konversi dari kolesterol menjadi asam empedu ditingkatkan di dalam hati yang menghasilkan efek hipokolesterolemia (Umbare, *et al.*, 2009).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol herba Alfafa (*Medicago sativa*) terbukti mempunyai efek antihiperkolesterolemia dengan dosis optimal sebesar 1080 mg/kgBB tikus.

DAFTAR PUSTAKA

Ariyani, E. 2006. Penetapan Kandungan Kolesterol dalam Kuning Telur pada Ayam Petelur. *Temu Teknis Nasional Tenaga Fungsional Pertanian Bogor*

- Birari, RB & Bhutani, KK. 2007 Pancreatic Lipase Inhibitors From Natural Sources: Unexplored Potential. *Drug Discovery Today*. 12: 879-889
- Bo-ping, W., Yong-mei, Z., Zhi-Zhong, C., and Yong-zhil, T. 2010 Study on Extraction of Flavonoids in Alfalfa Assisted With Ultrasonic Wave. *Acta Agrestia Sinica*. 6
- Colodny LR, Montgomery A, Houston M. 2001. The Role Of Esterin Processed Alfalfa Saponins In Reducing Cholesterol. *J Am Nutraceutical Assoc*. 3
- Fajrin, FA. 2010. Aktivitas Ekstrak Etanol Ketan Hitam Untuk Menurunkan Kadar Kolesterol. *Jurnal Farmasi Indonesia*. (5): 63-69
- Hebean, V, Habeanu, M, and Neagu, M. 2005. Influence of The Unsaturated Fatty Acids From Different Sources on Pig Meat Quality. *Archiva Zootechnica*. 8: 79-86
- Heslet, L. 2007. *Kolesterol*. Jakarta : Kesaint Blanc. Terjemahan Anton Adiwiyoto
- Hong, Y., Wang, S., Hsu, C., Lin, B., Kuo, Y., and Huan, C. 2011. Phytoestrogenic Compounds in Alfalfa Sprout (*Medicago Sativa*) Beyond Coumestrol. *J. Agri. Food Chem*. 59: 131-137
- Kusmita L, Puspitaningrum I, Mutmainah. 2014. Uji Efek Antiinflamasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Alfafa (*Medicago sativa*) Pada Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Karagenin. Seminar Nasional Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Laurensia, V. 2016. Efek Imunomodulator Ekstrak Herba Alfafa (*Medicago sativa* L) Terhadap Respon Imun Non Spesifik dan Respon Imun Spesifik Pada Mencit Galur Swiss. *Skripsi*. Semarang: Stifar "Yayasan Pharmasi".
- Martins, F, Noso, TM, Porto, VB, Curiel, A, Gambero, A, Bastos, DHM *et al*. 2009 Mate Tea Inhibits in vitro Pancreatic Lipase Activity and has Hypolipidemic Effect on High-fat Diet-Induced Obese Mice. *Obesity Journal*. 18: 42-47
- Prahastuti, S. 2011. Konsumsi Fruktosa Berlebihan dapat Berdampak Buruk bagi Kesehatan Manusia. *JKM*. 10(2): 174-189

- Santoso M., 2005, *Penyakit Jantung Koroner*, SMF Penyakit Dalam RSUD Koja/Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Ukrida, Jakarta
- Tjay, T.H dan Kirana R. 2008. *Obat-Obat Penting*. Edisi V. Jakarta : PT Elex Media Komputindo
- Umbare RP, Mate GS, Jawalkar DV, Patil SM, Dongare SS. Quality evaluation of *Phyllanthus amarus* (Schumach) leaves extract for its hypolipidemic activity. *Biology and medicine*. 2009. 1(4): 1-8
- Windarini, L.G.E., Astuti, K.W., Warditiani, N.K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana