

# Kadar Kolesterol pada Mencit (*Mus-Musculus*) Diabetes Setelah Konsumsi Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Phaeophyta*)

## (Cholestrol Levels in Diabetic Mice (*Mus musculus*) After Consumption of Brown Seaweed (*Phaeophyta*) Extract)

Irene Fransiska<sup>1</sup>, Didin Erma Indahyani<sup>2</sup>, Ari Tri Wanodyo Handayani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

<sup>2</sup>Dosen, Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

<sup>3</sup>Dosen, Bagian IKGM, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember Jln. Kalimantan No.37, Kampus Tegalboto, Jember 68121

E-mail korespondensi: [irenefransiska15@gmail.com](mailto:irenefransiska15@gmail.com)

### Abstract

*In the case of Diabetes Mellitus, it will trigger some changes in lipid metabolism and lipoprotein composition, one of them is cholesterol. Cholesterol is a lipid that plays an important role in the structure of cell membranes. Seaweed contains bioactive components of flavonoids which reduce cholesterol levels. Brown seaweed contains bioactive components of alkaloids, flavonoids, triterpenoids, saponins, phenol hydroquinone, tannins, chlorophyll and  $\beta$ -carotene pigments. The bioactive component of brown seaweed also has strong antioxidant activity that can prevent damage caused by oxidative stress on pancreatic  $\beta$  cell function and acts as a trap for various free radicals and can reduce diabetic rat lipid peroxidation. This study to analyze the effect of giving brown seaweed extract on cholesterol levels in diabetic mice. This study was divided into 4 sample groups, namely the normal group, negative controls (diabetic mice), positive controls (diabetic mice + 1.3 mg / 20 gr BB metformin), K1 (diabetic mice + brown seaweed extract). The seaweed dose of 10mg / 20grBB is given on a daily basis for 21 days. Checking blood cholesterol levels in serum using the POD CHOD method and measured using biolysers. Diabetic mice with brown seaweed extract were significantly ( $p < 0.05$ ) lower cholesterol level of 68.94 mg / dL than diabetic mice 81.75 mg / dL. It was concluded that brown seaweed extract had an effect on reducing total cholesterol levels in diabetic mice.*

**Keywords :** Cholesterol levels, Diabetic mice, Brown Seaweed

### Abstrak

Pada keadaan Diabetes Melitus, akan memicu beberapa perubahan pada metabolisme lipid dan komposisi lipoprotein, salahsatunya adalah kolesterol. Kolesterol merupakan lipid yang berperan penting pada struktur membran sel. Rumput laut mengandung komponen bioaktif flavonoid yang dapat menurunkan kadar kolesterol. Rumput laut coklat mengandung komponen bioaktif alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, fenol hidrokuinon, tannin, pigmen klorofil dan  $\beta$ -carotene. Komponen bioaktif yang dimiliki oleh rumput laut coklat juga memiliki aktifitas antioksidan yang kuat yang dapat mencegah kerusakan akibat stress oksidatif pada fungsi sel  $\beta$  pancreas dan berperan sebagai pemeringkap berbagai radikal bebas serta dapat menurunkan peroksidasi lipid tikus diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak rumput laut coklat terhadap kadar kolesterol mencit diabetes. Penelitian ini dibagi dalam 4 kelompok sampel yaitu kelompok normal, kontrol negatif (mencit diabetes), kontrol positif (mencit diabetes + 1,3 mg/20 gr BB metformin), K1 (mencit diabetes + ekstrak rumput laut coklat). Dosis rumput laut yaitu 10mg/20grBB diberikan secara sondasi satu kali sehari selama 21 hari. Pemeriksaan kadar kolesterol pada serum darah menggunakan metode CHOD PAP dan diukur menggunakan *biolyser*. Mencit diabetes dengan ekstrak rumput laut coklat secara bermakna

( $p < 0,05$ ) kadar kolesterolnya lebih rendah yaitu 68,94 mg/dL dibandingkan mencit diabetes yaitu 81,75 mg/dL. Disimpulkan bahwa ekstrak rumput laut coklat berpengaruh dalam menurunkan kadar kolesterol total mencit diabetes.

**Kata kunci:** Kadar kolesterol, Mencit diabetes, Rumput Laut Coklat

## Pendahuluan

Kolesterol merupakan suatu lipid amfipatik yang membentuk komponen struktural esensial pada membran sel dan lapisan luar lipoprotein plasma. Kolesterol di dalam plasma darah harus bergabung dengan senyawa lipid non polar dan protein untuk membentuk lipoprotein sehingga dapat diangkut ke berbagai jaringan dan organ tubuh untuk digunakan dan disimpan [1]. Empat kelompok utama lipoprotein yaitu Trigleserida (TG), Very Low Density Lipoprotein (VLDL), Low Density Lipoprotein (LDL), High Density Lipoprotein (HDL) [2].

Dislipidemia merupakan suatu keadaan terjadinya peningkatan kadar kolesterol plasma, trigliserida, LDL, dan penurunan kadar HDL. Kadar kolesterol yang tinggi merupakan salah satu faktor risiko bagi penyakit diabetes mellitus. *American Diabetes Association* menyatakan ketika gula darah tinggi, kadar kolesterol juga ikut tinggi. Dislipidemia yang dibiarkan pada pasien DM dapat menyebabkan terjadinya komplikasi kardiovaskular, salah satunya adalah aterosklerosis [3]. Data Sampel *Registration Survey* (2014), menunjukkan bahwa DM dengan komplikasi merupakan penyebab kematian tertinggi ketiga di Indonesia.

Diabetes Melitus (DM) merupakan gangguan sekresi insulin oleh karena kerusakan sel beta pankreas dan gangguan kerja insulin akibat ketidakpekaan (insensitifitas) jaringan sasaran (target) terhadap insulin [4]. Hormon insulin berperan dalam meregulasi enzim lipase seperti *lipoprotein lipase* (LPL), *Lipase sensitive hormone* (LSH). Ketika terjadi defisiensi atau resistensi insulin menurun maka enzim tersebut akan meningkat aktivitasnya, sehingga pada kondisi DM terjadi gangguan metabolisme lipid yang ditandai oleh peningkatan kadar kolesterol [5].

Penanggulangan dislipidemia pada diabetes mellitus saat ini dilakukan dengan terapi menggunakan insulin dan Obat Anti Diabetes (OAD) namun masih memberikan manfaat yang kecil jika tidak didukung dengan terapi penurun kolesterol [5]. Statin

merupakan obat yang direkomendasikan untuk mengatasi dislipidemia pada DM [6]. Penggunaan OAD dan obat hipolipidemic biasanya berlangsung dalam jangka waktu yang lama dengan efek samping yang cukup besar, akibatnya biaya yang ditanggung penderita secara keseluruhan juga cukup besar [7].

Penelitian Pratiwi *et al* (2016) menyatakan bahwa komponen bioaktif pada rumput laut coklat *Sargassum crassifolium* dapat menurunkan kadar kolesterol. Ekstrak rumput laut coklat mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, fenol hidrokuinon, tanin dan pigmen klorofil, karatenoid, fukosantin, fukoxantol dan beta karoten [8]. Flavonoid merupakan salah satu komponen bioaktif dari rumput laut yang terbukti menunjukkan aktivitas hipoglikemik, menurunkan kadar kolesterol, dan kadar trigliserida dalam darah, melindungi pembuluh arteri dari kerusakan, mengurangi jumlah penimbunan kolesterol di permukaan endotel pembuluh darah arteri [9,10,11]. Kandungan pigmen  $\beta$ -Carotene dalam rumput laut dapat menekan lipid peroxide, sehingga lipotoxic dapat dicegah dan keadaan dislipidemia dapat dikontrol [12].

Rumput laut coklat juga memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian Husni dan lelana 2014 menyatakan bahwa ekstrak rumput laut coklat *Padina sp* memiliki aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  sebesar 37,68 ppm [13]. Aktivitas antioksidan yang sebagian besar berasal dari senyawa fenol yang terkandung dalam rumput laut dapat mencegah kerusakan akibat stress oksidatif pada fungsi sel  $\beta$  pancreas dan berperan sebagai pemerangkap berbagai radikal bebas serta dapat menurunkan peroksidasi lipid tikus yg diberi aloksan [14,15].

Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian untuk menganalisis kadar kolesterol total pada mencit (*Mus musculus*) diabetes setelah mengkonsumsi rumput laut coklat (*Phaeophyceae*)

## Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan metode eksperimental laboratorium, menggunakan rancangan penelitian berupa *post test only control group design*. Penelitian dilakukan secara *in vivo* pada mencit (*Mus musculus*). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ekologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember untuk identifikasi tanaman, Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk ekstraksi rumput laut dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk perlakuan hewan coba, pada bulan Oktober hingga Desember. Jumlah keseluruhan sampel yang digunakan dalam penelitian adalah 16 sampel; terdiri dari 4 kelompok sampel yaitu kelompok normal (tanpa perlakuan), kontrol negatif (mencit diabetes tanpa perlakuan), kontrol positif (mencit diabetes + 1,3 mg/20 gr BB metformin), K1 (mencit diabetes + ekstrak rumput laut coklat).

Hasil Identifikasi jenis rumput laut coklat yaitu *Padina gymnospora* yang diperoleh dari Desa Agel, Kecamatan Jangkar, Kabupaten Situbondo. Rumput laut tersebut kemudian dicuci dengan air dan dipotong-potong kecil lalu ditimbang sebanyak 1 kilogram. Rumput laut yang telah dipotong lalu dihancurkan dengan blender dan dikeringkan dengan freeze dryer dengan suhu  $-70^{\circ}\text{C}$  sampai kering. Sebanyak 45 gr bubuk rumput laut dilarutkan dalam 247,5 ml, 180 ml, dan 180 ml etanol secara bertahap dengan perbandingan 1:5,5, 1:4, dan 1:4. Setelah itu dimasukkan kedalam *ultrasonic bath* pada setiap tahap selama 1 jam. Lalu disaring menggunakan kertas saring Whatman no 41 sehingga dihasilkan filtrate dan residu. Filtrat dievaporasi dengan rotary evaporator pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  hingga diperoleh ekstrak.

Prosedur perlakuan pada hewan coba dimulai dari induksi aloksan dilakukan pada hari ke 7 pasca adaptasi hewan coba, untuk menghasilkan keadaan diabetes maka dilakukan dengan menginduksi aloksan. Dosis aloksan pada eksperimen ini dilakukan secara intraperitoneal dengan dosis untuk mencit adalah 4,2 mg/20 grBB. Sebelumnya mencit dipuaskan dari makanan selama 8-12 jam (hanya disediakan air). Kemudian diinduksikan aloksan secara interperitoneal dan ditunggu selama 72 jam. Setelah diinduksi aloksan, dilakukan pengukuran kadar glukosa mencit. Bila terjadi kenaikan kadar glukosa darah mencit melebihi 175 mg/dl, maka mencit

tersebut sudah mengalami diabetes. Setelah mencit dalam keadaan diabetes maka diberi perlakuan dengan ekstrak rumput laut coklat dengan dosis 10 mg/20 grBB secara sondasi selama 21 hari.

Pengukuran kadar Kolesterol dilakukan setelah perlakuan untuk setiap mencit pada masing-masing kelompok. Untuk mengukur kadar kolesterol dengan metode CHOD PAP Enzymatic Colorimeter Test yaitu mengambil sampel darah mencit dari jantung sebanyak 0,5 ml kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi. Darah didiamkan selama 30 menit dan disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Darah yang telah disentrifus dipisahkan antara serum dan sel darah. Kemudian memasukkan sampel serum dan penambahan larutan pereaksi kolesterol ke dalam tabung reaksi dan diukur dengan alat *biolyser* dengan panjang gelombang 500 nm, membaca hasilnya pada layar dengan hasil mg/dL.

### Hasil Penelitian

Hasil penelitian mengenai kadar kolesterol pada mencit diabetes setelah konsumsi ekstrak rumput laut coklat (*Phaeophyta*) diperoleh data rerata pengukuran kadar kolesterol total pada penelitian yang telah dilakukan dapat disajikan sebagai berikut.

**Tabel 4.1** Hasil Rerata dan Standart Deviasi (SD) Kadar Kolesterol Total pada Semua Kelompok Penelitian (mg/dL).

Kelompok	Rerata	SD
Normal	76,50	7,81
KN	81,75	10,7
KP	68,59	28,13
K1	68,94	14,85

Keterangan

- :
- Normal
- KN : Kontrol
- Negatif KP :
- Kontrol Positif
- K1 : Perlakuan ekstrak rumput laut coklat

Pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa kadar kolesterol total tertinggi terdapat pada kelompok KN yaitu 81,75 mg/dL dan kadar kolesterol terendah terdapat pada kelompok perlakuan K1 yaitu 68,94 mg/dL. Kelompok Normal memiliki kadar kolesterol total 76,50 mg/dL dan kelompok KP yaitu 68,59 mg/dL.

Data hasil pengukuran kadar kolesterol total kemudian dianalisis secara statistik untuk melihat normalitas dan homogenitas menggunakan uji *Kolmogrov-Smirov* dan *Levene test*. Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan data berdistribusi normal yang ditandai dengan nilai  $p > 0,05$ . Selanjutnya dilakukan uji *Oneway Anova* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna pada seluruh kelompok. Pada uji *Oneway Anova* didapatkan  $p > 0,05$  yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

## Pembahasan

Kelompok mencit dengan diabetes memiliki rata-rata nilai kadar kolesterol yang paling tinggi jika dibandingkan dengan kelompok normal dan kelompok mencit yang diberi ekstrak rumput laut. Agen diabetogenik (aloksan) yang diinduksikan dalam mencit merusak sel- $\beta$  pancreas, sehingga terjadi gangguan sekresi hormon insulin. Hormon insulin berperan dalam meregulasi enzim lipase seperti lipoprotein lipase (LPL), Lipoprotein sensitive hormone (LSH). Ketika jumlah hormon insulin menurun maka enzim tersebut akan meningkat aktivitasnya, sehingga pada kondisi DM terjadi gangguan metabolisme lipid yang ditandai oleh peningkatan kadar kolesterol total [5]. Gangguan metabolisme lipid yang terjadi adalah meningkatnya aktivitas enzim *lipase sensitif hormon* yang meningkatkan pelepasan asam lemak non-esterifikasi (NEFA) dari trigliserida yang tersimpan di dalam jaringan adipose sehingga meningkatkan hati untuk produksi trigliserida lebih banyak. Di hati kecepatan pembentukan kolesterol sangat tinggi yang diatur oleh HMG-KoA. Apabila kadar glucagon meningkat, HMG-KoA reduktase mengalami fosforilasi dan menjadi inaktif sehingga kecepatan pembentukan kolesterol tidak terkontrol [16].

Pemberian ekstrak bioaktif rumput laut coklat pada mencit diabetes menunjukkan penurunan pada kadar kolesterol total. Komponen bioaktif rumput laut yaitu flavonoid dapat menghambat enzim HMG-CoA reduktase sehingga sintesis kolesterol menurun mengakibatkan kadar kolesterol darah menurun dan dapat bertindak sebagai kofaktor enzim kolesterol esterase dan

inhibitor absorpsi kolesterol makanan dengan menghambat pembentukan misel sehingga penyerapan kolesterol terhambat [9,10]. Senyawa fenol yang dimiliki rumput laut juga memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mencegah kerusakan akibat stress oksidatif pada fungsi sel  $\beta$  pancreas dan berperan sebagai pemerangkap berbagai radikal bebas serta dapat menurunkan peroksidasi lipid tikus yg di beri aloksan [14,15].

Ekstrak rumput laut coklat mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, fenol hidrokuinon, dan tannin [8]. Ekstrak rumput laut coklat juga mengandung pigmen klorofil dan  $\beta$ -carotene [17]. Penelitian yang dilakukan oleh Husni et al (2014) mengenai uji antioksidan terhadap *Padina sp* (rumput laut coklat) menunjukkan nilai  $IC_{50}$  yaitu 37,68 ppm yang berarti termasuk dalam antioksidan yang sangat kuat karena mempunyai  $IC < 50$  ppm [18].

Pada kelompok mencit diabetes yang diberi metformin juga mengalami penurunan pada kadar kolesterol. Metformin merupakan obat antidiabetes golongan biguanide merupakan agen standard pertama yang memiliki efikasi dan profil yang aman. Efek anti diabetik metformin memiliki kemampuan untuk menekan produksi glukosa hepatic, meningkatkan ambilan glukosa perifer, memperbaiki sensitivitas insulin perifer, dan memperbaiki profil lipid [19]. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian bahwa terjadi penurunan kadar kolesterol pada kelompok mencit yang diberi metformin jika dibandingkan dengan kelompok mencit diabetes.

Jenis ekstrak juga sangat berdampak pada kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut. Etanol lebih efisien untuk ekstraksi fenolik dari pada air. Secara umum, kandungan fenolik yang tinggi berkorelasi dengan berbagai aktivitas antioksidan, menunjukkan bahwa polifenol alga adalah salah satu komponen aktif dalam ekstrak ini. Namun, beberapa spesies dengan total fenolik rendah juga menunjukkan ekstrak juga dapat berkontribusi terhadap sifat antioksidan [20].

## Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa, ekstrak rumput laut coklat berpengaruh dalam menurunkan kadar kolesterol total mencit diabetes.

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang

diberikan oleh peneliti adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa dalam ekstrak rumput laut yang paling berpengaruh dalam penurunan kadar kolesterol total mencit diabetes. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan dosis optimum rumput laut yang dapat menurunkan kadar kolesterol total mencit diabetes.

### Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

### Daftar Pustaka

- [1] Botham KM, Mayes PA. *Sintesis, Transport, & Ekskresi Kolesterol*. Dalam: Muray RK, Granneer DK, Rodwel VW, Editor. *Biokimia Harper*. Edisi ke-27. Alih Bahasa : Pendit BU. Jakarta: EGC, 239-249. 2006.
- [2] Mayes Peter A. *Sintesis, Pengangkutan, dan Ekskresi Kolesterol*. Dalam : Muray RK, Granneer DK, Mayes PA, Rodwel VW, Editor. *Biokimia Harper*. Edisi ke-25. Alih Bahasa : Hartono A. Jakarta: EGC, 270-281. 2001.
- [3] Price, S.A, dan Wilson, L. *M.Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*, E/6, Vol. 2. Jakarta : EGC. 2006
- [4] Karel, P. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid 3. Edisi IV. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2006.
- [5] Dunn, F.L. Management of dyslipidemia in people with type 2 diabetes mellitus. *Review Endocrinology Metabolic Disorder*. 2010; 11 : 41-51.
- [6] American Diabetes Association, Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*. 2009; 32(1) : 13 - 61.
- [7] Pratiwi, N. L, Hardoko , Waluyo E. Pengaruh Pemberian Serbuk Ekstrak Kasar Alginat Sargassum Crassifolium Terhadap Kadar Total Kolesterol Tikus Wistar (*Rattus Novergicus*). *Journal Of Innovation And Applied Technology*. 2016; 2(2): 309-317.
- [8] Haryani TS, Sari BL, Triastinurmiatiningsih. Efektivitas ekstrak Padina australis sebagai antibakteri *Escherichia coli* penyebab diare. 2014; *Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas V*.
- [9] Prahastuti S, Tjahjani S, Hartini E. Efek Infusa Daun Salam (*Syzygium polyanthum*(wight) Walp) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Model Dislipidemia Galur Wistar. *Jurnal Medika Planta*. 2011; 1(4): 28- 32.
- [10] Olivera T, Ricardo KFS, Almeida MR, Costa MR, Nagem TJ. Hypolipidemic Effect of Flavonoids and Cholestyramine in Rats Tania. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2007; 26(3): 407-10.
- [11] Cunha W.R., G.M. Arantes, D.S. Ferreira, R. Lucarini, M.L.A. Silva, N.A.J.C. Furtado, A.A. da Silva Filho, A.E.M. Crotti, A.R.B. Araújo. Hypoglycemic effect of *Leandra lacunosa* in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Fitoterapia*. 2008; 79 : 356–360.
- [12] Silva PS, Cavallerano JD, Sun JK, Lloyd Aiello LM, Aiello LP. Diabetic Retinopathy: Effect of Medications on Onset and Progression: Agents for Lipid Control. *Faculty and Disclosures CME*. 2011
- [13] Husni, A., D.R. Putra dan I.Y.B. Lelana. Aktivitas Antioksidan *Padina Sp.* pada Berbagai Suhu dan Lama Pengeringan. *Jurnal Perikanan*. 2014; 9(2): 165-173.
- [14] Eleazu, C.O, K.C. Eleazu, S. Chukwuma, dan U.N. Essien. Review of The Mechanism of Cell Death Resulting from Streptozotocin Challenge in Experimental Animals, its Practical Use and Potential Risk to Human. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2013; 12(60): 1-7.
- [15] Engler, M. B., M. M. Engler dan C.Y. Chen. Flavonoid-Rich Dark Chocolate Improves Endothelial Function and Increases Plasma Epicatechin Concentrations in Healthy Adults. *Journal of The American College of Nutrition*, 2004; 23(3): 197-204.
- [16] Marks, D. B., Marks, A. D, dan Smith, C. M. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Jakarta: EGC. 2000.
- [17] Ali M, Al Shamma G, Hashim H. Beta Carotene, Glycemic Control and Dyslipidemia in Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal Faculty Medicine Baghdad*. 2006; 48:435-41.
- [18] Blois, M.S. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature*.

2005; 181: 1191–1200.

- [19] Salama, R. M, Schaalan, M. F, Elkoussi, dan A. A, Khalifa , A. E. Potential Utility of Sodium Selenate as an Adjunct to Metformin in Treating Type II Diabetes Mellitus in Rats: A Perspective on Protein Tyrosine Phosphatase. *BioMed Research International*. 2013.;1-9.
- [20] Farvin, K.H.S., Jacobsen, C., Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *J Food Chem*. 2013; 138: 1670–1680.