



Pengaruh Pemberian Fraksi *n*-Heksan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap Kadar *Low-Density Lipoprotein* (LDL) Tikus Jantan Galur *Sprague dawley*

Fauzi, R.^{*1}, Kusumawardani, N.¹, Emelda¹, Estiningsih, D.¹, Dewinta, R. A.¹, Ananda, S.¹, Nabila, L.¹

¹Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Alma Ata, Yogyakarta

*Corresponding author, email: rizalfauzi@almaata.ac.id

<https://doi.org/10.21776/ub.pji.2024.009.02.9>

INFO

ARTIKEL

Sejarah artikel:

Penerimaan naskah: 16 November 2023
Penerimaan naskah revisi: 2 januari 2024
Disetujui untuk dipublikasikan: 27 Juni 2024

Kata kunci :

low-density lipoprotein (LDL), Daun Kelor, Simvastatin, Fraksi *n*-heksan

ABSTRAK

Pendahuluan: Daun kelor merupakan salah satu tanaman yang banyak manfaatnya. Ekstrak etanol daun kelor mengandung beberapa senyawa kimia, yaitu alkaloid, flavonoid, fenolat, triterpenoid dan tannin. Flavonoid berfungsi untuk menurunkan kolesterol total dan LDL kolesterol.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian fraksi *n*-heksan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap kadar *low-density lipoprotein* (LDL) pada tikus jantan galur *Sprague dawley* yang diberikan pakan tinggi lemak.

Metode: Penelitian ini menggunakan *pre-test and post-test control design*. Tiga puluh enam ekor tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* diberi pakan tinggi lemak, kemudian dibagi menjadi enam kelompok, kelompok I yaitu kelompok normal, kelompok II kontrol negatif diberikan CMC Na 1%, kelompok III kontrol positif diberikan Simvastatin 10 mg, Kelompok IV, V, VI diberikan fraksi *n*-heksana ekstrak etanol daun kelor (FHDK) dengan dosis berturut-turut sebesar 3,722 mg/kgBB; 7,444 mg/kgBB; dan 14,888 mg/kgBB yang sebelumnya telah dilakukan skrining fitokimia.

Hasil: Hasil skrining fitokimia fraksi *n*-heksana menunjukkan positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan β -sitosterol. Berdasarkan pengukuran kadar *low-density lipoprotein* (LDL) pada hewan uji yang diukur sebelum (*pre-test*) dan setelah 14 hari intervensi (*post-test*) diperoleh hasil fraksi *n*-heksana ekstrak etanol daun kelor mampu menurunkan kadar LDL pada kelompok IV, V, VI berturut-turut sebanyak 29,95 % \pm 5,13; 75,61 % \pm 8,63 dan 88,22 % \pm 5,75. Simvastatin (kelompok 3) sebesar 89,13 % \pm 5,88. Berdasarkan analisis statistik menggunakan *post-hoc* LSD test menunjukkan kelompok VI mempunyai kemampuan menurunkan kadar LDL yang sebanding dengan kelompok III (Sig.0,792 > 0,05).

Kesimpulan: Kesimpulan dari penelitian ini adalah fraksi *n*-heksana ekstrak etanol daun kelor memiliki kemampuan menurunkan kadar LDL dengan dosis optimal pada 14,888 mg/kgBB tikus yang sebanding dengan simvastatin 10 mg.

Kata kunci : *low-density lipoprotein* (LDL), Daun Kelor, Simvastatin, Fraksi *n*-heksan

Keywords:

low-density lipoprotein (LDL), *Moringa oleifera*, Simvastatin, n-hexane fraction

A B S T R A C T

Introduction: *Moringa* leaves are a plant that has many benefits. *Moringa* leaf ethanol extract contains several chemical compounds, such as alkaloids, flavonoids, phenolics, triterpenoids, and tannins. Flavonoids function to reduce total cholesterol and LDL cholesterol.

Objectives: Study This aims to determine the effect of giving fraction-hexane ethanol extract of *Moringa* leaves (*Moringa oleifera* L.) against the rate of low-density lipoprotein (LDL) on male rat strain Sprague Dawley given high-fat feed.

Methods: This research uses a pre-test and post-test control group design. Thirty-six male white mice Sprague Dawley were given high-fat meals and then divided into six groups: group I was the standard group; Group II, the negative control, was assigned CMC Na 1%. Group III, the positive control, was given 10 mg of simvastatin. Groups IV, V, and VI were given the n-hexane fraction of the ethanol extract of the leaves *Moringa* (FHDK) with successive doses of 3.722 mg/kg BW; 7.444 mg/kg BW, and 14,888 mg/kg BW, which had previously been screened for phytochemicals.

Results: The results of the phytochemical screening of the n-hexane fraction showed it was positive for containing alkaloids, flavonoids, tannins, and beta-sitosterol. Based on level measurements of low-density lipoprotein (LDL) in test animals measured before (pre-test) and after 14 days of intervention (post-test). The results showed that the n-hexane fraction of *Moringa* leaf ethanol extract was able to reduce LDL levels in groups IV, V, and VI respectively by as much as 29,95 % ± 5,13; 75,61 % ± 8,63 and 88,22 % ± 5.75. Simvastatin (group 3) amounted to 89,13 % ± 5.88. Based on statistical analysis after this LSD test showed that group VI could reduce LDL levels comparable to group III (Sig. 0.792 > 0.05)

Conclusion: This research concludes that the n-hexane fraction of the ethanol extract of *Moringa* leaves can reduce LDL levels with an optimal dose of 14.888 mg/kgBB in mice, which is comparable to 10 mg simvastatin.

Keywords: low-density lipoprotein (LDL), *Moringa oleifera*, Simvastatin, n-hexane fraction

oleh makhluk hidup sebab berfungsi penting sebagai sumber tenaga, pengangkut vitamin yang tidak larut dalam air seperti vitamin A, D, E serta K dan bisa berfungsi dalam pembuatan hormon steroid (1). Hiperkolesterolemia menggambarkan suatu keadaan terjadinya gangguan pada metabolisme lipid yaitu bisa dilihat dari meningkatnya parameter lipid dari batas normal (2). Hal ini ditandai dengan peningkatan maupun penurunan kadar fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid terutama kenaikan kadar kolesterol total, *low-density lipoprotein* (LDL) dan atau trigliserid, serta penurunan *high-density lipoprotein* (HDL) (3). Penyakit ini dapat mengakibatkan arteosklerosis yang berupa bagian dari unsur resiko penyebab timbulnya penyakit kardiovaskular, seperti penyakit jantung koroner, gagal jantung, hipertensi, infark miokard akut dan stroke (4). Kerusakan pada struktur pembuluh akan menimbulkan kadar kolesterol dalam darah tinggi yang berawal pada dinding pembuluh darah arteri terjadi penempelan lemak kemudian menyempitnya lumen pembuluh darah. Hal ini terjadi secara perlahan-lahan namun bila tidak dilakukan penanganan sejak dini untuk menurunkannya maka akibatnya akan sangat berbahaya (5)

Penyakit kardiovaskular seperti stroke, gagal jantung, hipertensi meningkat setiap tahunnya dan menempati peringkat tertinggi sebagai penyebab kematian pada usia produktif di Indonesia. Menurut data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 menunjukkan bahwa prevalensi penyakit jantung berdasarkan diagnosa dokter mencapai 1,5 % di Indonesia dan didominasi oleh masyarakat yang tinggal di perkotaan (6). Oleh karena itu, diperlukan langkah pengendalian kadar lipid di dalam darah untuk mencegah dampak buruk dari hiperkolesterolemia. Gaya hidup sehat dan rajin berolahraga menjadi pilihan terapi non farmakologi. Golongan statin seperti simvastatin menjadi salah satu terapi farmakologi yang umum digunakan oleh masyarakat dalam mengatasi hiperkolesterolemia. Simvastatin dapat menurunkan kadar kolesterol total, LDL dan trigliserida di dalam tubuh. Akan tetapi, simvastatin memiliki efek samping seperti mialgia, miositis, peningkatan konsentrasi *creatinine kinase* (CK) dan dalam kasus yang lebih parah dapat menyebabkan rbdomiolisis (7)

Saat ini banyak dikembangkan bahan alam sebagai pilihan alternatif untuk membantu menjaga kesehatan salah satunya adalah tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) untuk mengontrol kadar kolesterol, LDL maupun trigliserida. Fitonutrien yang terkandung pada daun kelor adalah karotenoid, polifenol termasuk flavonoid dan isoflavon serta saponin, tetapi yang mendominasi adalah senyawa polifenol juga didalamnya ada kandungan flavonoid (8). Kandungan flavonoid dan polifenol dapat menurunkan

kadar kolesterol dengan meningkatkan *superoxide dismutase* (SOD) dan katalase, serta menurunkan kadar lipid peroksidase (9). Daun kelor juga diketahui mengandung β -sitosterol (10). β -sitosterol diketahui dapat menurunkan kadar trigliserida dengan menghambat absorpsi trigliserida oleh enterosit dan mengurangi trigliserida dalam hepar (11). Selain itu, daun kelor memiliki kandungan beta karoten dan vitamin C yang merupakan antioksidan alami yang berfungsi melindungi membran lipid dari peroksidasi dan menghambat radikal bebas (9).

Dari beberapa penelitian daun kelor mempunyai efek sebagai antidiare, mengontrol kadar gula darah, antioksidan dan antikolesterol. Ekstrak etanol daun kelor mempunyai efek sebagai antidiare (12). Kombinasi antara ekstrak etanol daun kelor dengan daun sambiloto mempunyai efek dapat mengontrol kadar gula darah (13). Ekstrak etanol daun kelor dapat menurunkan kadar kolesterol pada dosis 20,8 mg/20g BB hewan uji [9]. Penelitian Dwitiyanti dkk (2015) Fraksi etil asetat daun kelor dapat menurunkan kolesterol total dan LDL kolesterol pada hewan uji hamster karena mengandung senyawa flavonoid (15). Variasi jenis maupun konsentrasi pelarut dapat menjadi parameter terhadap keberhasilan suatu senyawa untuk dapat diekstraksi dari sumber alam (16). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nawaz et al. menyebutkan bahwa perbedaan polaritas pelarut yang digunakan untuk ekstraksi aktivitas antioksidan suatu senyawa (17). Untuk itu perlu dilakukan keterbaruan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan pelarut dengan sifat polaritas yang berbeda, yaitu n-heksan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian fraksi n-heksana ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap kadar LDL pada tikus putih Jantan galur *Sprague Dawley*

METHOD

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Sebelum melakukan ekstraksi, serbuk simplisia daun kelor dilakukan determinasi tanaman terlebih dahulu, untuk memastikan bahwa serbuk yang akan digunakan adalah serbuk daun kelor. Sejumlah 800 gram serbuk simplisia kering daun kelor dimasukkan ke dalam bejana maserasi, lalu ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 3.000 ml. Proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dengan sesekali diaduk. Maserat yang dihasilkan disaring dengan menggunakan kertas saring hingga didapatkan ekstrak cair. Maserat yang diperoleh diuapkan menggunakan waterbath pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi *n*-heksana

Ekstrak kental daun kelor yang diperoleh selanjutnya difraksinasi dengan partisi cair-cair menggunakan pelarut *n*-heksana dan air. Ekstrak kental daun kelor dilakukan fraksinasi dengan *n*-heksana dan air (1:3), masukkan ke dalam corong pisah lalu dikocok secukupnya. Setelah itu larutan dibiarkan beberapa saat sampai terbentuknya 2 fase yaitu fase *n*-heksana dan fase air. Fase *n*-heksana dan fase air yang diperoleh, ditampung dalam wadah terpisah. Fase air dimasukkan lagi ke dalam corong pisah untuk proses ekstraksi kembali menggunakan *n*-heksana. Selanjutnya semua larutan fase *n*-heksana diuapkan hingga terbentuk ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

a. Identifikasi Alkaloid

Uji identifikasi alkaloid dilakukan menggunakan ekstrak kental dari fraksi *n*-heksan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) (FHDK) ditambahkan beberapa tetes pereaksi, dalam penelitian ini pereaksi yang digunakan adalah pereaksi wagner dan asam klorida 2 N. Hasil positif terdapat alkaloid jika terbentuk endapan coklat.

b. Identifikasi Flavonoid

Uji identifikasi flavonoid dapat dilakukan menggunakan *beberapa* cara, diantaranya adalah sebagai berikut:

- 1) Pereaksi NaOH 10%: sebanyak 1 ml FHDK ditambahkan beberapa tetes NaOH 10%. Reaksi akan menunjukkan hasil positif flavonoid jika terjadi perubahan warna spesifik (12)
- 2) Pereaksi Wilstater: 1 ml FHDK ditambahkan beberapa tetes HCl pekat. Kemudian tambahkan sedikit serbuk magnesium (Mg). Reaksi positif jika terjadi perubahan warna merah-orange (12)
- 3) Pereaksi Smith Metacalve: 1 ml FHDK ditambahkan beberapa tetes HCl pekat kemudian dipanaskan. Reaksi positif jika memberikan warna putih (18)

c. Identifikasi Golongan Saponin

Sebanyak 1 ml FHDK dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan air panas dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Reaksi menunjukkan hasil positif saponin jika terbentuk busa atau busa yang stabil, lalu ditambahkan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang.

d. Identifikasi Golongan Tanin

Pemeriksaan polifenol (tannin) dilakukan dengan

mengambil 0,1 gram ekstrak kental dari FHDK ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl₃ 1%. Reaksi positif terdapat polifenol maka terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman

e. Identifikasi Golongan Steroid (β -sitosterol)

Sebanyak 0,1 gram FHDK yang kemudian ditambahkan H₂SO₄ pekat beberapa tetes. Hasilnya terbentuk lapisan berwarna hijau setelah ditetaskan asam asetat anhidrida dan H₂SO₄ pekat (*Lieberman-Bouchard*) secara perlahan – lahan dari dinding tabung.

Persiapan Tikus Hiperkolesterolemia

Tikus yang sudah diadaptasikan diberikan pakan yang dapat meningkatkan kadar lemak. Pakan yang diberikan berupa campuran dari pellet, mentega, minyak kelapa dan kuning telur ayam kampung dengan perbandingan 1:1:1:1 (gram). Mentega dan minyak kelapa terlebih dahulu dipanaskan kemudian dicampurkan dengan kuning telur ayam kampung. Pakan yang sudah tercampur tersebut diberikan pada tikus sebanyak 10% dari berat badan. Pakan diberikan satu kali sehari selama 6 hari. Sesudah pemberian selama 6 hari, dilakukan pemeriksaan kadar HDL dan LDL pada tikus.

Perlakuan Hewan Uji

Sebelum penelitian, proses pengajuan layak etik lakukan ke Komite Etik Universitas Alma Ata. Penelitian ini dinyatakan layak etik berdasarkan “Persetujuan Layak Etik” Nomor: KE/AA/VII/10579/EC/2021 dari Komite Etik Universitas Alma Ata. Sebanyak 36 hewan uji yang terbagi dalam 6 kelompok diadaptasi terlebih dahulu. Hewan uji yang digunakan yaitu tikus jantan galur *Sprague dawley*. Selama proses adaptasi tikus diberi minum dan makan standard. Setelah adaptasi hewan uji diberikan pakan tinggi lemak satu kali sehari selama 6 hari. Pada hari ke-7 dilakukan pengukuran kadar LDL (*Pre-test*) pada semua hewan uji, untuk mengetahui kadar LDL dalam hewan uji. Hewan uji dinyatakan hiperkolesterol apabila hasil dari pemeriksaan *pre-test* kadar LDL lebih tinggi dari kadar LDL normal.

Ada 6 kelompok dalam penelitian ini, yaitu Kelompok I (kontrol normal) yaitu hewan uji diberi pakan standar, Kelompok II (kontrol negatif) yaitu Hewan uji hiperkolesterolemia dan diberikan CMC-Na 1%. Kelompok III (kontrol positif): Hewan uji hiperkolesterolemia dan diberikan suspensi simvastatin 0,18 mg/200gBB. Kelompok IV (Kelompok Perlakuan 1): Tikus hiperkolesterolemia dan diberikan suspensi fraksi *n*-heksana ekstrak etanol daun kelor 3,722 mg/kgBB. Kelompok V (Kelompok Perlakuan 2): Tikus

hiperkolesterolemia dan diberikan suspensi FHDK 7,444 mg/kgBB. Kelompok VI (Kelompok Perlakuan 3): Tikus hiperkolesterolemia dan diberikan suspensi fraksi n-heksana ekstrak etanol daun kelor 14,888 mg/kgBB (15).

Pemberian FHDK dilakukan satu kali sehari secara intubasi esofagus selama 14 hari berturut-turut. Setelah pemberian fraksi n-heksana ekstrak etanol daun kelor selesai, dilakukan pemeriksaan akhir (*Post-test*) kadar LDL. Pemeriksaan ini dilakukan untuk melihat efektifitas FHDK terhadap kadar LDL.

Pengukuran kadar LDL

Kadar LDL pada darah hewan uji diukur menggunakan metode *Colorimetric Enzymatic Test* GPO (*Glycerol-3-Phosphat Oxidase*) yang diukur dengan spektrofotometer. LDL ditentukan setelah hidrolisis dan oksidasi enzimatik. Reagen yang digunakan dalam penelitian ini adalah LDL-C Select FS (LDL-Direct/ Diasys, Indonesia). Komponen reagen meliputi Heparin 100 000 U/L dan Natrium sitrat 64 mmol/L. LDL diendapkan dengan penambahan heparin dan diukur secara enzimatik dengan metode CHOD-PAP. Konsentrasi kolesterol LDL dihitung sebagai perbedaan antara kolesterol total dan kolesterol dalam supernatan. Sampel dan reagen kolesterol yang telah tercampur, diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar, absorbansi diukur dalam waktu 45 menit. Absorbansi sampel dan readen diukur dengan spektrofotometer paada Panjang gelombang 500 nm.

Analisis Data

Data *pre-test* dan *post-test* kadar LDL darah hewan uji dianalisis secara statistik dengan uji normalitas menggunakan *Shapiro wilk* dan *Levene test* untuk homogenitas. Selanjutnya dilakukan uji *paired sample t-test* untuk mengetahui perbedaan rerata kadar LDL antara *pre-test* dan *post-test*. Rerata persentase selisih penurunan kadar LDL *pre-test* dan *post-test* dianalisis dengan ANOVA kemudian dilanjutkan dengan *post-hoc least significant difference* (LSD) *test* untuk membandingkan perpedaan antar kelompok rerata persentase penurunan kadar LDL antar kelompok perlakuan.

RESULT AND DISCUSSION

Tahap awal penelitian adalah melakukan determinasi simplisia daun kelor yang akan digunakan, Hal ini dilakukan untuk mengetahui bahwa simplisia yang akan diekstraksi benar-benar merupakan simplisia daun kelor (*Moringa oleifera* L.). Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas SAINS dan Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Hasil determinasi

dapat disimpulkan bahwa simplisia tersebut benar merupakan simplisia daun kelor (*Moringa oleifera* L.) Daun kelor merupakan salah satu tanaman obat yang mempunyai banyak manfaat. Tanaman ini mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, triterpenoid / steroid dan tannin (18). Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang disintesis oleh tumbuhan dan merupakan sumber senyawa obat, digolongkan atas alkaloid, terpenoid, steroid, fenolik, flavonoid dan saponin (19). Pada penelitian ini, ekstrak etanol kental yang diperoleh difraksinasi menggunakan n-heksana, kemudian dilakukan skринning fitokimia (20). Hasil uji skринning fitokimia tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Skринning Fitokimia FHDK

Jenis pemeriksaan	Hasil
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Tanin	+
<i>β-sitosterol</i>	+

Keterangan : (+) : Terkandung senyawa kimia,
 (-) : Tidak terkandung senyawa kimia

Dari Tabel 1. diketahui bahwa FHDK mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan β -sitosterol. Tahap selanjutnya adalah melakukan uji aktivitas antikolesterol. Uji ini dilakukan pada 36 ekor tikus jantan galur *Sprague dawley* yang terbagi menjadi 6 kelompok yaitu Kelompok I merupakan tikus normal tanpa perlakuan, kelompok II (kontrol negatif) tikus diberikan pakan tinggi lemak dan CMC-Na 0,5%, kelompok III (kontrol positif) tikus diberikan pakan tinggi lemak dan simvastatin 10 mg, kelompok IV tikus diberikan pakan tinggi lemak dan FHDK 3,722 mg/kgBB, kelompok V tikus diberikan pakan tinggi lemak dan FHDK 7,444 mg/kgBB, dan kelompok VI tikus diberikan pakan tinggi lemak dan FHDK 14,888 mg/kgBB. Sebelum pemberian larutan uji (intervensi), tikus diinduksi dahulu menggunakan pakan tinggi lemak untuk membuat kadar LDL darah tikus menjadi meningkat. Pemberian pakan tinggi lemak ini dilakukan pada hari pertama sampai hari keenam. Pada hari ketujuh dilakukan *pretest* pemeriksaan kadar LDL pada semua hewan uji. Pengukuran kadar LDL (*Pre-test*) ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian pakan tinggi lemak terhadap kadar LDL hewan uji sebelum pemberian larutan uji atau intervensi.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Kadar LDL Sebelum Perlakuan (*Pretest*) dan Setelah Perlakuan (*Posttest*)

Kelompok (n=36)	Rerata Kadar LDL (mg/dL) X ± SD		p-Value ^a alue (<i>Paired sample t-test</i>)	Rerata Perselisihan Penurunan Kadar LDL (mg/dL) X ± SD	Rerata Persen Penurunan Kadar LDL (%) X ± SD	p-Value ^b Value (ANOVA)
	Pre-Test	Post-Test				
I	22,34 ± 1,69	23,70 ± 1,93	0,012*	1,37 ± 0,86	-5,90 ± 3,71	<0,00100*
II	73,24 ± 1,86	74,81 ± 2,34	0,009*	1,57 ± 0,94	-2,11 ± 1,24	
III	73,70 ± 1,47	28,27 ± 1,71	<0,001*	-45,35 ± 2,79	89,13 ± 5,88	
IV	72,22 ± 2,12	53,46 ± 3,05	<0,001*	-18,77 ± 2,90	29,95 ± 5,13	
V	72,45 ± 2,22	32,71 ± 2,58	<0,001*	-39,74 ± 4,35	75,61 ± 8,63	
VI	73,13 ± 1,27	28,40 ± 2,07	<0,001*	-44,73 ± 2,21	88,22 ± 5,75	

Keterangan: **Kelompok 1** = kelompok normal, **Kelompok 2** = kelompok negatif, **Kelompok 3** = kelompok positif, **Kelompok 4** = dosis 3,722 mg/kgBB, **Kelompok 5** = dosis 7,444 mg/kgBB, **Kelompok 6** = dosis 14,888 mg/kgBB. X = nilai rerata LDL (mg/dL); SD = standard deviation; **Paired sample T-test*, signifikan jika p<0,050; ^bOne-way ANOVA, signifikan jika p<0,050

Tabel 3. Nilai Signifikansi Perbandingan Rerata Penurunan Kadar LDL tiap Kelompok dengan uji *post-hoc* LSD

Kelompok pok N=36	1	2	3	4	5
1					
2	0,039*				
3	0,000*	0,000*			
4	0,000*	0,000*	0,000*		
5	0,000*	0,000*	0,010*	0,000*	
6	0,000*	0,000*	0,792	0,000*	0,014*

Taraf Kepercayaan 95% (p=0,05)

*Terdapat Perbedaan (p < 0,05)

Setelah pengukuran kadar LDL (*Pre-test*) setiap kelompok diberikan larutan uji (intervensi) selama 14 hari sesuai dengan kelompoknya masing-masing. Pengukuran *post-test* kadar LDL setiap hewan uji dilakukan diakhir penelitian. Hasil *pre-test* dan *post-test* terdapat pada Tabel 2. Tahap awal analisis data adalah mengetahui distribusi data. Pada uji normalitas ini menggunakan menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50 sampel. Dari uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil analisis kadar LDL pada keenam kelompok didapatkan nilai p>0,05 dan dapat disimpulkan bahwa kadar LDL terdistribusi normal. Analisis dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan *levene test* dan didapatkan data homogen dengan nilai p=0,883 atau p>0,05 sehingga disimpulkan bahwa data homogen.

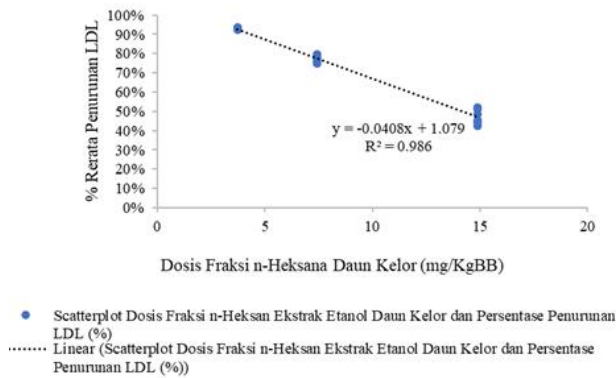
Kemudian dilanjutkan dengan *post-hoc least significant difference* (LSD) untuk mengetahui perbedaan yang nyata antar kelompok. Pada penelitian ini yang dilihat yaitu pada *post-test* kadar LDL kelompok negatif, kelompok positif, kelompok perlakuan dosis I, II dan III untuk membandingkan antara kelompok kelompok kontrol positif simvastatin dan perlakuan dosis FHDK.

Berdasarkan data pada Tabel 2. Semua kelompok menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara rerata kadar LDL *pre-test* dan *post-test* (p < 0,05). FHDK mampu menurunkan kadar LDL pada kelompok IV, V dan VI dengan rerata persentasi masing-masing sebesar 29,95 % ± 5,13; 75,61 % ± 8,63; 88,22 % ± 5,75. Sedangkan kelompok 3 (simvastatin 10 mg) mampu menurunkan sebesar 89,13 % ± 5,88. Dari hasil ini dapat dilihat adanya pengaruh dosis FHDK yang diberikan terhadap kemampuan penurunan kadar LDL. Semakin tinggi dosis, semakin besar pula kemampuan penurunan kadar LDL. Berdasarkan analisis statistic menggunakan *post-hoc* LSD test menunjukkan bahwa FHDK pada dosis yang paling tinggi yaitu 14,888 mg/kgBB tikus mampu menurunkan kadar LDL dengan persentasi penurunan yang sebanding dengan simvastatin dengan signifikansi 0,792 (p < 0,05) yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Tiga kandungan senyawa dalam fraksi n-heksan ekstrak etanol daun kelor yang teridentifikasi dalam penelitian ini yaitu flavonoid, alkaloid, dan tanin diduga mempunyai peranan penting dalam penurunan kadar LDL darah hewan uji. Sebagai antikolesterol, flavonoid dilaporkan dapat menghibisi enzim HMG-CoA reduktase. Penghambatan enzim HMG-CoA reduktase akan mengakibatkan penurunan sintesis kolesterol diikuti dengan penurunan kadar kolesterol di hati. Adanya penurunan kadar kolesterol di hati akan menstimulasi reseptor LDL (*up regulation*) sehingga jumlah reseptor tersebut akan meningkat di permukaan sel hati. Reseptor LDL mempunyai fungsi untuk *clearance* LDL kolesterol sehingga jika kadar reseptor LDL tersebut meningkat maka akan diikuti oleh peningkatan klirens LDL kolesterol, dengan kata lain kadar LDL kolesterol darah akan menurun (21). Salah satu senyawa flavonoid yang terdapat dalam kelor adalah quercetin (22). Kemampuan penurunan LDL oleh quercetin adalah melalui kemampuannya sebagai antioksidan. Efek penurunan LDL diperantarai melalui pelemahan Proliferasi-activated receptor- (PPAR-), sterol regulatory element-binding-protein-1c (SREBP-1c) di hati dan menurunkan Asetil Co-A carboxylase (ACC) (23). Alkaloid dilaporkan dapat menurunkan kadar LDL kolesterol dengan cara menginhibisi aktivitas enzim lipase pankreas sehingga menurunkan absorpsi lipid oleh saluran cerna serta dapat meningkatkan sekresi lipid melalui feses.

Sedangkan tannin akan bereaksi dengan protein mukosa dan epitel usus yang mengakibatkan penghambatan absorpsi lipid di usus (24). Dengan dihambatnya enzim HMG-CoA reduktase dan aktivitas enzim lipase serta penghambatan absorpsi lipid di usus oleh senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin dalam FHDK akan menurunkan kadar LDL kolesterol.

Berdasarkan hasil regresi linier antara dosis dengan persen penurunan LDL (%) pada Gambar 3, didapatkan persamaan regresi linier sebesar $y = -0,0408x + 1,079$ dengan nilai $R^2 = 0,986$. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh pemberian dosis FHDK sebagai variabel bebas terhadap variabel terikat yaitu persentase kemampuan penurunan LDL dengan nilai F hitung 36,035 dan tingkat signifikansi sebesar $p < 0,001$.



Gambar 3. Grafik regresi linear antara dosis FHDK (mg/kgBB) dan rerata perubahan nilai LDL

Daun kelor memiliki kandungan antioksidan diantaranya vitamin C, polyphenol, flavonoid dan karoten (9). Daun kelor mengandung tanin, flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, antrakuinon dan terpenoid. Daun kelor juga mengandung senyawa yang bersifat sebagai antioksidan seperti vitamin A, vitamin C, dan betakaroten yang dapat membantu melindungi tubuh dari kerusakan sel akibat radikal bebas (25)(26). Flavanoid dapat menurunkan kadar kolesterol darah dengan cara menurunkan penyerapan kolesterol dan asam empedu pada usus halus sehingga menyebabkan peningkatan ekskresi lewat feces, hal ini menyebabkan sel-sel hati meningkatkan pembentukan asam empedu dari kolesterol akan menurunkan lemak karena diubah menjadi energi (5)

CONCLUSION

Fraksi n-heksan ekstrak etanol daun kelor (FHDK) berpengaruh terhadap penurunan kadar LDL darah hewan uji tikus jantan *Sprague Dawley* yang sebanding dengan simvastatin pada dosis 14,888 mg/kgBB tikus

REFERENCES

- Hall J, Guyton A. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. In: E I, editor. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 12th ed. Singapore: Elsevier Singapore Pte Ltd; 2014. p. 855–98.
- Setiadi A, Halim S. Penyakit Kardiovaskular Seri Pengobatan Rasional. Seri 1. In: 1st ed. Surabaya: GRAHA ILMU; 2018. p. 204.
- Aman AM, Soewondo P, Soelistijo SA, Arsana PM, Wismandari, Zufry H, et al. Pedoman Pengelolaan Dislipidemia Di Indonesia. Jakarta: PB PERKENI; 2019. 5 p.
- Price S, Wilson L. Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. In: 6th ed. Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2013. p. 581–8.
- Tri H. Kajian tentang potensi bahan-bahan Alami untuk menurunkan kadar kolesterol darah. Pros Semin Nas Penelitian, Pendidik dan Penerapan MIPA. 2011;(5):1–4.
- Laporan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013 dalam bentuk angka - Repositori Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan [Internet]. [cited 2023 Nov 13]. Available from: <https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/4428/>
- Ward NC, Watts GF, Eckel RH. Statin Toxicity. Circ Res [Internet]. 2019 Jan 18 [cited 2023 Nov 13];124(2):328–50. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCRESAHA.118.312782>
- Li P, Huo L, Su W, Lu R, Deng C, Liu L, et al. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica*. J Serbian Chem Soc. 2011;76(5):709–17.
- Sri Wahyu, Andi Sitti Fahirah Aarsal, Indah Chintya Maharani. Efektivitas Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*). Green Med J. 2019;1(1):97–110.
- Toma A, Deyno S. Phytochemistry and Pharmacological Activities of *Moringa oleifera*. Int J Pharmacogn. 2014;1(4):222–53.
- Rashighi M, Harris JE. 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. Physiol Behav. 2017;176(3):139–48.
- Fauzi R, Fatmawati A. Efek Anti diare Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L .) Pada Mencit Putih Jantan Antidiarrheal Effect of Ethanol Extract of *Moringa Leaves* (*Moringa oleifera* L .) in Male Mice. 2020;6(99):35–9.
- Fatmawati A, Bachri MS, Nurani LH. Combination Effects of *Moringa oleifera* Leaf Ethanol Extract and *Andrographis paniculata* Herb on Blood Glucose Levels and Pancreas Histopathology of Diabetic Rats Induced by Streptozotocin. Maj Obat Tradis. 2019;24(2):85.
- Mukriani, Nurlina, Pratiwi AN, Rauf A. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Kelor Uji *Moringa oleifera* Lamk. Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada

- Mencit *Mus musculus* L. *Jf Fik Uinam*. 2015;2(3):115–20.
15. Dwitiyanti H, Sunaryo I, Resty K. Uji Aktivitas Anthiperkolesterolemia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Dan LDL Kolesterol Pada Hamster Hiperkolesterolemia. *Pharmacy*. 2016;12(02):153–63.
 16. Ali Redha A. Review on Extraction of Phenolic Compounds from Natural Sources Using Green Deep Eutectic Solvents. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2021 Jan 27 [cited 2024 Jan 1];69(3):878–912. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.jafc.0c06641>
 17. Nawaz H, Shad MA, Rehman N, Andaleeb H, Ullah N. Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Brazilian J Pharm Sci* [Internet]. 2020 Mar 16 [cited 2024 Jan 1];56:e17129. Available from: <https://www.scielo.br/j/bjps/a/jsmJy7KsLv4sgChmDXpLhkt/>
 18. Pratama Putra I, Dharmayudha A, Sudimartini L. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indones Med Veterinus*. 2017;5(5):464–73.
 19. Saifudin A. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep Dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish; 2014.
 20. Ulfa ASM, Emelda E, Munir MA, Sulistyani N. Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Standarisasi Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *J Insa Farm Indones* [Internet]. 2023 May 31 [cited 2023 Jun 9];6(1):1–12. Available from: <https://ejurnal.stikes-isfi.ac.id/index.php/JIFI/article/view/1387>
 21. Baskaran G, Salvamani S, Ahmad SA, Shaharuddin NA, Pattiram PD, Shukor MY. HMG-CoA reductase inhibitory activity and phytochemical investigation of *Basella alba* leaf extract as a treatment for hypercholesterolemia. *Drug Des Devel Ther* [Internet]. 2015 Jan 14 [cited 2023 Nov 13];9:509–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25609924/>
 22. Martono Y, Yanuarsih FF, Aminu NR, Muninggar J. Fractionation and determination of phenolic and flavonoid compound from *Moringa oleifera* leaves. *J Phys Conf Ser* [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2024 Jan 1];1307(1):012014. Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1307/1/012014>
 23. Hosseini A, Razavi BM, Banach M, Hosseinzadeh H. Quercetin and metabolic syndrome: A review. *Phyther Res* [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 Jan 1];35(10):5352–64. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ptr.7144>
 24. Artha C, Mustika A, Sulistyawati SW. Pengaruh Ekstrak Daun Singawalang Terhadap Kadar LDL Tikus Putih Jantan Hiperkolesterolemia. *eJournal Kedokt Indones* [Internet]. 2017 Sep 22 [cited 2023 Nov 13];5(2). Available from: <https://scholar.unair.ac.id/en/publications/pengaruh-ekstrak-daun-singawalang-terhadap-kadar-ldl-tikus-putih->
 25. Widyasari A. Aktivitas Antioksidan Dan Organoleptik Kombucha Daun Kelor Dengan Lama Fermentasi Dan Konsentrasi Daun Kelor Yang Berbeda. 2016;1–10.
 26. Emelda AN, Pratiwi DA. Formulasi dan Uji Sifat Fisik Sediaan Gel Ekstrak Etanolik Ganggang Hijau (*Ulva Lactuca* Linn.). 2020;3(2):271–80.