

KADAR LDL TIKUS WISTAR SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT JERUK PURUT (*Citrus hystrix*)

Dyah Mustika Nugraheni¹, Ika Dyah Kurniati¹, Henas Deliara¹, Mutiara Aura Kusuma¹

¹Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang

Email: <dyahmustika@unimus.ac.id>

ABSTRACT

Dyslipidemia relates with coronary heart disease. Riskesdas Indonesia 2013 reveals that 35,9% of population with average age > 15 years old has abnormal cholesterol level and 15.9% of population has high LDL levels. This issue stimulates the rise of in vivo studies to contribute in decreasing LDL levels as one of management target of dyslipidemia. Kaffir lime peels extract usage is one of preference study because of their antioxidant and anticholesterol activities. This study aims to prove the effect of Kaffir lime peels extract on decreasing LDL levels. This post-test only controlled group design used 25 male wistar rats. They were administered in 5 groups i.e. negative control group (K-) : without any intervention ; positive control group (K+) was given high-fat diet only, treatment 1 group (P1) was given high-fat diet and 35 mg/kgBB of rats/day dose of kaffir lime peels extract, treatment 2 group (P2) was given high-fat diet and 70 mg/kgBB of rats/day dose of extract, and treatment 3 group (P3) was given high-fat diet and 140 mg/kgBB of rats/day dose of extract. After 3 weeks of treatment, blood sampling was taken for LDL levels examination. All data was analyzed using One Way Anova test. Mean of LDL levels of K-, K+, P1, P2, and P3 was 71,20±18,29 mg/dl ; 76,91±4,58 mg/dl ; 66,84±6,71 mg/dl ; 58,17±10,71 mg/dl ; 63,19±11,68 mg/dl, respectively. Significant test showed that p = 0,134. Kaffir lime peels extract administration does not show significant effect on decreasing LDL levels.

Keyword. LDL, Citrus hystrix, Kaffir lime, dyslipidemia

ABSTRAK

Dislipidemia berhubungan dengan penyakit jantung koroner. Hasil riset kesehatan dasar (RISKESDAS) Indonesia tahun 2013 menunjukkan sebesar 35,9% penduduk di atas usia 15 tahun memiliki kadar kolesterol yang tidak normal dan 15.9% penduduk memiliki kadar *low density lipoprotein* (LDL) yang tinggi. Fenomena ini memicu terus berkembangnya studi-studi in vivo untuk membantu upaya penurunan kadar LDL sebagai salah satu target terapi dislipidemia. Salah satu pendekatannya adalah penggunaan ekstrak kulit jeruk purut yang memiliki aktivitas antioksidan dan antikolesterol pada studi terdahulu. Penelitian ini diharapkan mampu membuktikan efek kulit jeruk purut dalam menurunkan kadar LDL. Penelitian dengan *post-test only controlled group design* ini menggunakan 25 ekor tikus wistar. Tikus wistar dibagi dalam 5 kelompok yaitu kontrol negatif (K-) tanpa pemberian diet tinggi lemak dan ekstrak, kontrol positif (K+) dengan diberikan diet tinggi lemak saja, perlakuan 1 (P1) diberikan ekstrak kulit jeruk purut dosis 35 mg/kgBB tikus/hari, perlakuan 2 (P2) diberikan ekstrak dosis 70 mg/kgBB tikus/hari dan perlakuan 3 (P3) diberikan ekstrak dosis 140 mg/kgBB tikus/hari. Intervensi diberikan selama 3 minggu kemudian dilakukan pengambilan darah untuk pengukuran kadar LDL masing-masing tikus dengan metode CHOD-PAP. Data kemudian dianalisis dengan uji One Way Anova. Rerata kadar LDL kelompok K-, K+, P1, P2, dan P3 masing-masing adalah 71,20±18,29 mg/dl ; 76,91±4,58 mg/dl ; 66,84±6,71 mg/dl ; 58,17±10,71 mg/dl ; 63,19±11,68 mg/dl. Hasil uji signifikansi menunjukkan nilai p = 0.134. Pemberian ekstrak kulit jeruk purut tidak menunjukkan efek yang signifikan untuk menurunkan kadar LDL.

Kata kunci: LDL, Citrus hystrix, jeruk purut, dislipidemia

Salah satu faktor risiko dislipidemia itu sendiri adalah asupan diet tinggi kalori terutama tinggi lemak. Kelebihan kalori tersebut akan disimpan tubuh sebagai cadangan lemak. Kadar lemak dalam darah akan meningkat yang ditandai dengan naiknya kadar kolesterol total, naiknya kadar trigliserida, naiknya kadar LDL dan turunnya kadar HDL.⁵

Tanaman jeruk purut yang telah lama diteliti kandungan senyawa aktifnya menunjukkan efek yang potensial terhadap kondisi dislipidemia. Kulit jeruk purut mengandung zat-zat bermanfaat seperti tanin, steroid triterpenoid, minyak astiri yang mengandung sitrat, saponin, polifenol, minyak astiri sitronellal, sitronellol, linalool, geraniol, flavonoid rutin, naringin dan hesperidin. Ekstraksi kulit jeruk purut menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol mengandung senyawa fenolik diantaranya adalah asam gallat, katekin, *caffeic acid*, *ferulic acid* dan rutin. Senyawa flavonoid yang terkandung diantaranya adalah hesperidin, naringenin, hesperetin dan nobiletin. Penelitian lain juga menyebutkan senyawa-senyawa lain yang terkandung pada tanaman jeruk purut diantaranya adalah *citrusosides* A-D, limocitrin, bergaptol, *umbelliferone*, *oxypeucedanin hydrate*, kumarin, dihydroxybergamottin, *limocitrol-3-D-glucoside*, *tschimganic ester B*, *isopropyl glucopteranoside*, dan neohesperidin.^{6,7}

Efek tanaman jeruk ini sering dikaitkan dengan kemampuan antioksidannya. Antioksidan berperan penting dalam tubuh untuk menangkal radikal bebas, menghambat peroksidasi lipid, dan reaksi lainnya yang berhubungan dengan oksidan. Penyakit-penyakit kronis seperti kanker, diabetes dan kardiovaskuler menjadi kajian yang terus digali berkaitan dengan antioksidan termasuk yang terkandung dalam tanaman jeruk ini.^{6,8}

Hesperidin memiliki kemampuan *DPPH scavenging* dalam mencegah oksidasi yang diinduksi oleh Cu²⁺ dari LDL secara in vitro. Hesperidin juga memiliki kemampuan untuk merangsang regenerasi sel pancreas dan mencegah stress oksidatif secara in vivo pada embrio tikus yang diabetes.^{9,10}

Naringenin berperan dalam menurunkan pembentukan lipid hepar, penurunan oksidasi beta asam lemak di hepar melalui pengaturan enzim-enzim pada proses oksidasi tersebut misalnya *carnitinepalmitoyltransferase* (CPT), *3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase*, *paraoxonase* (PON) dan plasma antioxidant enzymes. Naringenin juga menunjukkan efek peningkatan oksidasi asam lemak hepar melalui *PGC1 /PPAR-mediated transcription program*. Selain itu, pada penelitian terdahulu naringenin mencegah lipogenesis yang dimediasi oleh SREB-1c di hepar dan otot. Naringenin juga memiliki efek mencegah akumulasi triasilgliserol dan ester kolesteril, mencegah

sekresi apo B100, menurunkan kadar plasma triasilgliserol, meningkatkan HDL, menurunkan triasilgliserol dan kolesterol hepar, dan menurunkan aktivitas acetyl-Coenzyme A acetyltransferase (ACAT).¹⁰

Nobiletin juga memiliki efek mencegah pembentukan asam lemak hepar. Hal ini berperan dalam penurunan triasilgliserol hepar dan sekresi apo B VLDL dan mencegah resistensi insulin. Pencegahan pembentukan asam lemak ini juga melalui *peroxisome proliferation activated receptor* (PPAR) *gamma coactivator1-alpha* (Pgc1a) dan *carnitine palmitoyltransferase 1* (Cpt1a) mRNA berkesinambungan dengan peningkatan oksidasi asam lemak hepar.^{6,11}

Saponin dan tannin memiliki kemampuan mengikat dan mencegah absorpsi dari kolesterol. Saponin dan kolesterol akan membentuk interaksi kompleks yang tidak mudah larut sehingga kolesterol sulit diserap oleh usus. Saponin juga dapat menghambat reabsorpsi asam empedu pada usus sehingga kolesterol akan diekskresikan bersama feses. Kandungan tanin sebagai antioksidan juga berperan dalam oksidasi LDL.¹²

Sejumlah data-data yang telah dipaparkan tersebut mendasari penelitian ini untuk mengkaji lebih jauh mengenai potensi ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap kadar LDL secara *in vivo*.

Metode

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang dengan nomor 113/EC/FK/2019. Desain penelitian yang digunakan adalah *post-tes only controlled group design*.

Pemeliharaan Hewan Coba

Tikus wistar jantan sejumlah 25 ekor didapatkan dan dipelihara di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Negeri Semarang (UNNES). Tikus diadaptasi selama 1 minggu sebelum dirandomisasi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Tikus ditempatkan dalam kandang sesuai pembagian kelompok perlakuan. Suhu dan kondisi ruangan sesuai dengan *guideline* pemeliharaan tikus. Tikus diberikan makanan dan minuman sesuai standar. Tikus dihindarkan dari kondisi-kondisi yang menyebabkan stress dan paparan eksternal yang akan mempengaruhi kualitas hidup hewan coba.

Pembuatan Ekstrak

Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium STIFAR Semarang. Ekstrak kulit jeruk purut didapatkan dengan metode maserasi. Kulit jeruk purut dipisahkan dari daging buahnya lalu dikeringkan. Kulit jeruk purut kering kemudian diblender. Sediaan

kering tersebut kemudian dilarutkan dengan etanol 90% selama 2 hari. Hasil rendaman kemudian diproses dalam evaporator selama 14 jam untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kemudian dianalisis untuk mengetahui kandungan fitokimia secara kualitatif.

Proses Intervensi pada Hewan Coba

Tikus terbagi dalam 5 kelompok *secara simple random sampling* dengan jumlah masing-masing kelompok 5 ekor. Kelompok kontrol negatif (K-) tanpa pemberian diet tinggi lemak dan ekstrak, kelompok kontrol positif (K+) dengan diberikan tambahan minyak babi dengan dosis 3 mg/200grBB tikus saja, kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan tambahan minyak babi dengan dosis 3 mg/200grBB tikus dan ekstrak kulit jeruk purut dengan dosis 35 mg/kgBB tikus/hari, kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan tambahan minyak babi dengan dosis 3 mg/200grBB tikus dan ekstrak kulit jeruk purut dosis 70 mg/kgBB tikus/hari dan kelompok perlakuan 3 (P3) diberikan tambahan minyak babi dengan dosis 3 mg/200grBB tikus dan ekstrak kulit jeruk purut dosis 140 mg/kgBB tikus/hari. Intervensi dilakukan selama 3 minggu.

Terminasi, Pengambilan Sampel Darah, Pemeriksaan Kadar LDL

Setelah 3 minggu perlakuan, tikus dipuaskan terlebih dahulu kemudian dianestesi menggunakan inhalasi ether dan diambil darahnya melalui sinus orbitalis. Darah dalam microtube didiamkan selama 30 menit kemudian disentrifugasi selama 10 menit untuk mendapatkan serum darah. Serum darah masing-masing tikus kemudian dibawa ke Balai Laboratorium Kesehatan Semarang untuk dilakukan pemeriksaan kadar LDL dengan menggunakan box yang berisi es agar suhu terjaga sekitar 2^o-4^o C. Kadar LDL diperiksa di Balai Laboratorium Kesehatan Semarang dengan metode CHOD-PAP.

Analisis Data

Data kadar LDL dilakukan uji normalitas dan homogenitas menggunakan Saphiro Wilk dan Levene Test. Apabila data normal dan homogen maka akan diuji menggunakan One Way Anova untuk mengetahui perbedaan rerata kadar LDL antar kelompok.

Hasil

Penelitian dilakukan pada bulan Februari-Maret 2020. Analisis uji fitokimia dasar dari ekstrak kulit jeruk purut terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Analisis Fitokimia Ekstrak Kulit Jeruk Purut

No	Parameter	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Fenolik	+
4	Tanin	+
5	Saponin	+
6	Terpenoid/steroid	+

Rerata hasil kadar LDL masing-masing kelompok terlihat pada tabel 2. Pada tabel juga terlihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Tabel 2. Efek Ekstrak Kulit Jeruk Purut terhadap kadar LDL Tikus Wistar

Kelompok	Rerata (mg/dL)	Kadar LDL
Kontrol negatif	71.20 ± 18.29 ^a	
Kontrol positif	76.91 ± 4.58 ^a	
Perlakuan 1	66.84 ± 6.71 ^a	
Perlakuan 2	58.17 ± 10.71 ^a	
Perlakuan 3	63.19 ± 11.68 ^a	

^a: p>0.05

Pembahasan

Penelitian ini ditujukan untuk menilai pengaruh ekstrak kulit jeruk purut terhadap kadar LDL tikus wistar yang diberi diet tinggi lemak. Pemberian ekstrak kulit jeruk purut tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kadar LDL tikus wistar antar kelompok perlakuan. Hal ini dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor.

Model tikus yang diberi diet tinggi lemak tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan bahwa dosis minyak babi yang dimaksudkan untuk menambahkan masukan

kalori¹³ kurang optimal dalam menaikkan kadar kolesterol LDL pada tikus. Hal ini mempengaruhi signifikansi hasil pada kelompok perlakuan ketika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif sehingga kecenderungan penurunan kadar LDL pada kelompok perlakuan tidak terlihat.

Efek ekstrak jeruk purut ini juga masih perlu dikaji kembali. Hal ini juga didukung oleh studi yang sama dengan mengukur kadar kolesterol total ternyata menunjukkan hasil yang signifikan. Selain itu hasil-hasil studi terdahulu^{14,15,16,17} dimana ekstrak kulit jeruk purut memiliki potensi sebagai agen antioksidan dan antihiperkolesterolemia mengarahkan untuk pencarian bukti yang lebih komprehensif.

Seperti yang telah disebutkan, saponin dan tanin dalam kulit jeruk purut memiliki kemampuan mengikat dan mencegah absorpsi dari kolesterol melalui interaksi kompleks yang tidak mudah larut. Saponin juga dapat menghambat reabsorpsi asam empedu pada usus sehingga kolesterol akan diekskresikan bersama feses. Kandungan tanin juga berperan sebagai antioksidan dalam proses oksidasi LDL.¹²

Senyawa hesperidin memiliki kemampuan dalam mencegah oksidasi yang diinduksi oleh Cu²⁺ dari LDL secara in vitro. Naringenin berperan dalam menurunkan pembentukan lipid hepar, penurunan oksidasi beta asam lemak di hepar melalui pengaturan

enzim-enzim pada proses oksidasi tersebut misalnya CPT, 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase, PON dan plasma antioxidant enzymes, mencegah akumulasi trigliserida dan ester kolesteril, mencegah sekresi apo B100, meningkatkan HDL, dan menurunkan aktivitas ACAT.¹⁰ Nobiletin juga dapat mencegah pembentukan asam lemak hepar sehingga terjadi penurunan trigliserida hepar dan sekresi apo B VLDL.⁶ Masih banyak senyawa lain pada kulit jeruk purut¹⁴ yang masih perlu dipelajari lebih lanjut seperti yang telah disebutkan di atas.

Walaupun hasil penelitian ini masih belum kuat mendukung teori-teori sebelumnya namun memiliki potensi hasil yang berbeda apabila model tikus tinggi lemak diperbaiki. Keterbatasan lain dari penelitian ini juga belum dapat memisahkan masing-masing senyawa aktif dari kulit jeruk purut yang secara in vitro sudah menunjukkan efek. Hal ini dapat mempengaruhi hasil apabila terdapat senyawa-senyawa yang aktivitasnya justru saling berlawanan. Selain itu diperlukan juga studi-studi lainnya dengan menganalisis berbagai profil lipid untuk lebih mengetahui peran ekstrak kulit jeruk purut ini.

Simpulan dan Saran

Pemberian ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*) tidak menunjukkan pengaruh terhadap kadar LDL tikus wistar yang diberi diet tinggi lemak baik pada dosis 35 mg/kgBB

tikus/hari, 70 mg/kgBB tikus/hari maupun 140 mg/kgBB tikus/hari. Perlu kajian lebih mendalam dengan memperbaiki model tikus, variasi dosis dan pemisahan fraksi senyawa-senyawa yang terdapat pada kulit jeruk purut.

Daftar pustaka

1. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia. Pedoman pengelolaan dislipidemia di Indonesia 2019. PB Perkeni. 2019. Hal 1-7
2. Guyton AC. dan Hall JE. 2006. Buku ajar fisiologi kedokteran. Edisi 11. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal 1010-27
3. Murray RK, Granner DK, dan Rodwell VW. 2009. Biokimia harper. Ed.27. Jakarta : EGC.
4. Charlton-Menys V. dan Durrington PN. 2007. Human cholesterol metabolism and therapeutic molecules. *Exp Physiol.* 93.1.pp 27-42
5. Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA, Schölmerich J, et al. 2006. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types R. *J Mol Endocrinol.* 36(3):485-501. doi: 10.1677/jme.1.01909
6. Zou, Z, Xi W, Hu Y, dan Nie C. 2015. Antioxidant activity of citrus fruit. *Food Chemistry.*
7. Nabila F. 2017. Pengaruh pemberian ekstrak etanol jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) terhadap pertumbuhan *staphylococcus epidermidis*. Semarang: Universitas Diponegoro.
8. Agouillal F, Taher ZM, Moghrani H, Nasrallah N, El Enshasy H. A review of genetic taxonomy. 2017. biomolecules chemistry and bioactivities of citrus hystrix DC. *Biosciences Biotechnology Research Asia.* Vol. 14(1), 285-305

9. Ademosun AO, Oboh G, Olasehinde TA, Adeoyo OO. 2018. From folk medicine to functional food : a review on the bioactive components and pharmacological properties of citrus peels. *Orient Pharm Exp Med*.
10. Alam MA, Subhan N, Rahman MM, Uddin SJ, Reza HM, Sarker SD. 2014. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanism of action. *American Society for Nutrition. Adv. Nutr.* 5 ; 404-417
11. Mulvihill EE, Burke AC, Huff MW. 2016 . Citrus flavonoids as regulators of lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Annu. Rev. Nutr.*: 36
12. Elekofehinti O, Kamdem J, Kade I. 2014. Hypoglycemic, antiperoxidative and antihyperlipidemic effects of saponins from solanum anguivi Lam. fruits in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *South African J Botany*. 88:56-61
13. Adipratama IK, Tjahjono K, Setyawati AN. 2014. Pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) dan simvastatin terhadap kadar kolesterol HDL tikus Sprague dawley dengan pakan tinggi lemak [Disertasi]. Semarang: Universitas Diponegoro.
14. Abirami A, Nagarani G, Siddhuraju P. 2014. The medicinal and nutritional role of underutilized citrus fruit- *Citrus hystrix* (Kaffir Lime): A review. *Drug Invention Today*. 6(1) : 1-5
15. Sadasivam M, Kumarasamy C, Thangaraj A, Govindan M, Kasirajan G, Vijayan V, et al. 2017. Phytochemical constituents from dietary plant *Citrus hystrix*. *Natural Product Research*. DOI: 10.1080/14786419.2017.1399386
16. Abd Ghafar MF, Prasad KN, Weng KK, Ismail A. 2010. Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from *Citrus* species. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 9(3), pp. 326-30
17. Deliara H, Kartikadewi A, Nugraheni DM. 2020. Ekstrak ethanol kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*) berpotensi sebagai agen penurun kolesterol : studi in vivo. *Medica Arteriana (Med-Art)*. 2 (1). Hal 1-8