

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% BIJI COKLAT (*Theobroma cacao* L.) TERHADAP PENINGKATAN KADAR KOLESTEROL HDL (*High Density Lipoprotein*) PADA MENCIT (*Mus musculus*)



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I
pada Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran**

Oleh:

VESTY ANGGRAINI HARYANTI

J 500 140 128

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2018**

HALAMAN PERSETUJUAN

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% BIJI COKLAT (*Theobroma cacao* L.) TERHADAP PENINGKATAN KADAR KOLESTEROL HDL (*High Density Lipoprotein*) PADA MENCIT (*Mus musculus*)

PUBLIKASI ILMIAH

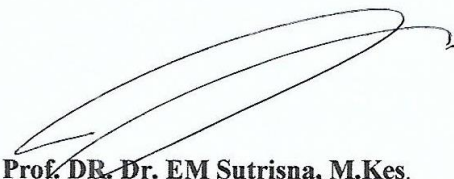
Oleh:

VESTY ANGGRAINI HARYANTI

J 500 140 128

Telah diperiksa dan disetujui dan diuji oleh :

Dosen
Pembimbing



Prof. DR. Dr. EM Sutrisna, M.Kes.
NIK. 919

HALAMAN PENGESAHAN

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% BIJI COKLAT (*Theobroma cacao* L.) TERHADAP PENINGKATAN KADAR KOLESTEROL HDL (*High Density Lipoprotein*) PADA MENCIT (*Mus musculus*)

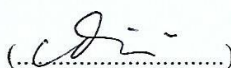
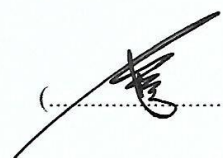
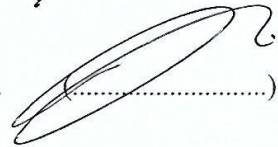
OLEH :


VESTY ANGGRAINI HARYANTI

J 500 140 128

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji Fakultas Kedokteran
Universitas Muhammadiyah Surakarta.
Pada hari Rabu , 31 Januari 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan penguji

Nama : Dr. Rochmadina Suci Bestari, M.Sc. (.....)
NIK : 100.1065
(Ketua Penguji)
Nama : Dr. Sri Wahyu Basuki, M.Kes. (.....)
NIK : 1093
(Anggota I Dewan Penguji)
Nama : Prof. DR. Dr. EM Sutrisna, M.Kes. (.....)
NIK : 919
(Anggota II Dewan Penguji)

Dekan

Prof. DR. Dr. E.M. Sutrisna, M.Kes.
NIK: 919

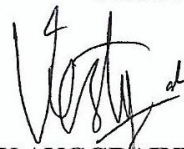
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis dan diterbitkan oleh orang lain kecuali dalam naskah ini disebutkan dalam pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 31 Januari 2018

Penulis



VESTY ANGGRAINI HARYANTI

J 500 140 128

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% BIJI COKLAT (*Theobroma cacao* L.) TERHADAP PENINGKATAN KADAR KOLESTEROL HDL (*High Density Lipoprotein*) PADA MENCIT (*Mus musculus*)

Abstrak

Biji coklat (*Theobroma cacao* L.) mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid dapat mencegah oksidasi kolesterol LDL, menghambat aktivasi dan pengumpulan platelet yang berefek terhadap peningkatan kadar HDL. Penelitian ini untuk mengetahui efek ekstrak etanol 70% biji coklat (*Theobroma cacao* L.) terhadap peningkatan kadar kolesterol HDL pada mencit (*Mus musculus*). Penelitian bersifat *eksperimental laboratorium* metode *pre and post test with control group design*. Subjek penelitian 25 ekor *Mus musculus* jantan galur *Swiss Webster* berusia 2-3 bulan, berat badan 20-30 gram yang diinduksi pakan hiperkolesterolemia dan PTU selama 7 hari. Subjek dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu: kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif (simvastatin 0,0364 mg/20grBB), kelompok perlakuan 1 (0,196 mg/20grBB), kelompok perlakuan 2 (0,392 mg/20grBB), kelompok perlakuan 3 (kombinasi ekstrak coklat dosis 0,392 mg/20grBB dengan simvastatin 0,0182 mg/20grBB). Pengukuran kadar kolesterol HDL dilakukan pada hari ke-7, hari ke-14, dan hari ke-28. Data dianalisis menggunakan uji *paired t test* dan *one-way ANOVA* dilanjutkan uji *post hoc LSD*. Berdasarkan hasil uji statistik *one-way ANOVA*, didapatkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) terdapat perbedaan yang signifikan kadar HDL mencit antar kelompok. Hasil uji *post hoc LSD* kontrol negatif dengan perlakuan 1 $p=0,015$, kontrol negatif dengan perlakuan 2 $p=0,000$, kontrol negatif dengan perlakuan 3 $p=0,000$. Hasil uji *post hoc LSD* menunjukkan bahwa seluruh dosis memiliki perbedaan bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif dengan nilai $p<0,05$. Ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao* L.) dapat meningkatkan kadar HDL darah mencit (*Mus musculus*) pada dosis I (0,196 mg/20grBB), II (0,392 mg/20grBB) dan kombinasi ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao* L.) dosis 0,392 mg/20grBB dengan simvastatin 0,0182 mg/20grBB.

Kata kunci: Ekstrak Biji Coklat (*Theobroma cacao* L.), HDL, Flavonoid

Abstract

Cocoa bean (Theobroma cacao L.) contains flavonoid compounds. Flavonoids can prevent oxidation of LDL cholesterol, inhibit platelet activation and inhibit clot forming which lead to HDL level increase. This research to determine the effectiveness of 70% ethanolic extract of cocoa bean (Theobroma cacao L.) on decreasing HDL cholesterol level in mice (Mus musculus). This research is a laboratory experimental with pre and post test control group design. The subjects were 25 male mice Swiss Webster strain Mus musculus aged 2-3 months, weight 20-30 grams induced with hypercholesterolemic foods and PTU for 7 days. Subjects were divided into 5 groups: negative control group, positive control group (simvastatin 0,0364 mg/20grBW), treatment group 1 (0,196mg/20grBW), treatment group 2 (0,392mg/20grBW), treatment group 3 (combination of cocoa bean extract

at dose of 0,392mg/20grBW and simvastatin 0,0182mg/20grBW). Measurements of HDL cholesterol were performed on day 7, day 14, and day 28. Data were analyzed using paired t test and one-way ANOVA followed by post hoc LSD test. The result of one-way ANOVA statistic test, we find that $p=0,000$ ($p<0,05$) which shows the significant difference of HDL levels in mice between groups. The results of post hoc LSD test between negative control with treatment 1 $p= 0,015$, negative control with treatment 2 $p= 0,000$, negative control with treatment 3 $p= 0,000$. The results of post hoc LSD test showed $p<0,05$ which determine significant differences among each group with the negative control group. Cocoa bean (*Theobroma cacao* L.) extract can increase the HDL level of mice (*Mus musculus*) with doses I (0,196mg/20grBW), II (0,392mg/20grBW) and combination of cocoa bean extract (*Theobroma cacao* L.) at dose of 0,392mg/20grBW with simvastatin 0,0182mg/20grBW.

Keywords: Cocoa bean extract (*Theobroma cacao* L.), HDL, flavonoid

1. PENDAHULUAN

Dislipidemia dapat diartikan sebagai perubahan kadar profil lipid darah yaitu meningkatnya kadar kolesterol total, trigliserida dan LDL atau menurunnya HDL (Romdhoni, 2014). Berdasarkan data dari Perhimpunan Endokrinologi Indonesia (PERKENI) tahun 2015 populasi dengan kadar kolesterol ≥ 240 mg/dl diperkirakan 31,9 juta orang (13,8 %) dari populasi.

Data di Indonesia yang diambil dari riset kesehatan dasar nasional (RISKESDAS) tahun 2013 menunjukkan ada 35,9 % dari penduduk Indonesia yang berusia ≥ 15 tahun dengan kadar kolesterol abnormal (berdasarkan NCEP ATP III, dengan kadar kolesterol ≥ 200 mg/dl). Data RISKEDAS juga menunjukkan 15,9 % populasi yang berusia ≥ 15 tahun mempunyai proporsi LDL yang sangat tinggi (≥ 190 mg/dl), 22,9 % mempunyai kadar HDL yang kurang dari 40 mg/dl, dan 11,9% dengan kadar trigliserida yang sangat tinggi (≥ 500 mg/dl) (PERKENI, 2015).

Hiperkolesteremia atau kelebihan kadar kolesterol berkaitan erat dengan *Low Dencity Lipoprotein* (LDL) dan HDL (*High-Dencity-Lipoprotein*) dalam pembentukan aterosklerosis. HDL atau dikenal dengan kolesterol baik yang membawa kolesterol dari sel dan jaringan kedalam *liver* dan mengurangi kolesterol dalam darah. HDL meningkat dalam hal ukuran dengan menyerap kolesterol ketika bersirkulasi melalui aliran darah. Semakin tinggi kadar HDL dalam tubuh, semakin baik untuk tubuh (Afriansyah, 2008).

Pengobatan hiperkolesterolemia yang sering dilakukan ialah dengan pemberian obat golongan statin salah satunya dengan simvastatin. Obat ini menghambat HMG-CoA reduktase, dimana akan menghambat sintesis kolesterol di hati dan hal ini akan menurunkan kadar LDL plasma. Efek merugikan yang paling signifikan yang disebabkan oleh penggunaan statin adalah miopati, manifestasi berupa nyeri, sakit tulang, kelemahan, ketidakseimbangan, dan mudah lelah (W. Miller Jr, 2015). Saat ini, masyarakat cenderung memanfaatkan pengobatan tradisional sebagai bagian dari penerapan pola hidup alami serta menghindari efek samping yang ada, maka dilakukanlah penelitian dengan pengobatan tradisional menggunakan salah satu jenis tanaman yaitu coklat.

Coklat mengandung flavonoid, terutama flavanols, epikatein, katein, dan molekul berat ringan prosianidin seperti prosianidin B1 dan B2, metilxantin (terutama theobromine), dan magnesium (Ellam & Williamson, 2013). Efek perlindungan spesifik pada jantung yang dianggap berasal dari flavanol meliputi mencegah oksidasi kolesterol LDL serta menghambat aktivasi dan pengumpulan platelet. Coklat (*Theobroma cacao* L.) mengandung flavonoid yang dapat memberikan respon menurunkan kadar kolesterol dan meningkatkan kadar kolesterol HDL dalam darah sehingga dapat menurunkan prevalensi kejadian arteriosklerosis (Valussi & Minto, 2016).

Pada penelitian sebelumnya oleh Wiryanthini dan Sutardarma (2012) mengenai pemberian ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap profil lipid dan kadar Nox tikus putih jantan dislipidemia, didapatkan hasil setelah pemberian ekstrak biji kakao terjadi penurunan kadar kolesterol total, trigliserida dan LDL pada kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 yang bermakna ($p=0,000$). Penelitian ini menyimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao* L.) dapat mencegah terjadinya dislipidemia ditandai dengan penurunan kadar kolesterol total, trigliserida dan LDL disertai peningkatan kadar HDL.

Sisi kebaruan dari skripsi ini adalah penggunaan hewan uji dan dosis. Hewan uji yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) dan variasi dosis ekstrak biji coklat. Berdasarkan latar belakang diatas, perlu dilakukan penelitian untuk

mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% biji coklat (*Theobroma cacao* L.) terhadap peningkatan kadar kolesterol HDL pada mencit (*Mus musculus*).

2. METODE

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium dimana peneliti memberikan perlakuan terhadap sampel yang telah ditentukan yaitu berupa hewan coba dilakukan di laboratorium dengan metode *pre and post test controlled grup design* (Taufiqqurohman, 2008). Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta dan Pemeriksaan HDL dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2017 Subjek penelitian adalah biji coklat (*Theobroma cacao* L.) dari Desa Garunglor Kecamatan Wonosobo, Jawa Tengah yang dipanen pada bulan Maret 2017. Hewan uji yang digunakan berupa 30 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan galur Swiss Webster berusia 2-3 bulan, berat badan 20-30 gram, dan tampak sehat, sedangkan kriteria eksklusinya adalah mencit yang terdapat kelainan genetik, dan anatomi atau cacat (seperti kecacatan pada kaki, telinga atau ekor).

Teknik pengambilan sampel yang dipakai adalah *purposive sampling*, dimana pemilihan subjek sampel berdasarkan ketetapan ciri khusus dari penelitian (Taufiqqurohman, 2008). Pengelompokan sampel ke dalam kelompok perlakuan dengan menggunakan *simple random sampling*. Sampel berasal dari 30 ekor mencit yang telah dikelompokkan menjadi 5 kelompok. KN adalah kontrol negatif yang diinduksikan aquades, KP adalah kelompok control positif yang diinduksikan simvastatin 0,0364mg/20gBB/hari, K1 adalah kelompok perlakuan pemberian ekstrak biji coklat dengan dosis I 0,196mg/20gBB/hari, K2 adalah perlakuan pemberian ekstrak biji coklat dengan dosis II 0,392mg/20gBB/hari, K3 perlakuan pemberian ekstrak biji coklat dengan dosis III 0,392mg/20gBB/hari dan simvastatin 0,0182mg/20gBB/hari. Penentuan besar sampel setiap kelompok ditentukan berdasarkan rumus perhitungan *Federer* yang diperoleh hasil minimal 5 ekor mencit perkelompok (5 kelompok). Setiap kelompok menggunakan 6 ekor mencit sehingga jumlah keseluruhan sampel yang akan digunakan sebanyak 30 ekor

mencit. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol 70% biji coklat (*Theobroma cacao* L.) dengan skala rasio satuan mg, variabel terikatnya adalah kadar HDL dengan skala rasio satuan mg/dl. Alat yang digunakan adalah spuit, jarum spuit, sonde lambung, timbangan, kandang mencit 5 buah, pipa kapiler hematokrit, sampel *cup*, sentrifuge. Bahan yang digunakan adalah biji coklat, pakan standar, pakan tinggi lemak, propiltiourasil, simvastatin 10 mg, aquades.

Cara Kerja :

Langkah I : Hewan uji diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari di lingkungan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Langkah II : Pembuatan ekstrak biji coklat sebanyak 1 kg dibersihkan, ditiriskan lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama tiga hari dilanjutkan pengeringan dengan oven pada suhu 60⁰ C selama dua hari. Biji coklat kemudian dihaluskan dengan cara diblender sampai diperoleh serbuk biji coklat. Serbuk kakao direndam dengan pelarut etanol 70 % selama lima hari dan diaduk setiap hari. Setelah direndam, kemudian disaring dengan kertas saring lalu diendapkan selama 1-2 hari. Ekstrak murni yang didapat dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40⁰C selama 2 jam lalu dituang ke dalam botol steril tertutup dan disimpan di dalam lemari pendingin sampai didapatkan ekstrak pekat. Didapatkan ekstrak kental, dosis I 0,196mg/20gBB/hari, K2 adalah perlakuan pemberian ekstrak biji coklat dengan dosis II 0,392mg/20gBB/hari, K3 perlakuan pemberian ekstrak biji coklat dengan dosis III 0,392mg/20gBB/hari dan simvastatin 0,0182mg/20gBB/hari.

Langkah III : Pengukuran kadar HDL awal/sebelum pemberian pakan tinggi kolesterol atau hiperkolesterolemia dilakukan hari ke 7. Darah diambil secara retroorbita.

Langkah IV : Pemberian pakan hiperkolesterolemia dan induksi PTU dilakukan selama 7 hari.

Langkah V : Pengukuran kadar *pre-treatment* pada hari ke 14.

Langkah VI : Perlakuan pemberian ekstrak biji coklat dan simvastatin dilakukan selama 14 hari

Langkah VII: Pengambilan darah secara retroorbita untuk diperiksa kadar HDL *post-treatment* pada hari ke-28

Langkah VIII : Terminasi hewan uji

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 HASIL

3.1.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman merupakan salah satu proses yang digunakan untuk mengidentifikasi tanaman. Caranya adalah dengan melihat ciri-ciri spesifik dan morfologi tanaman sehingga diharapkan dapat menghindari terjadinya kesalahan dalam pemilihan tanaman yang akan digunakan sebagai subyek penelitian. Determinasi tanaman biji coklat (*Theobroma cacao* L.) yang digunakan pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Berikut merupakan kunci determinasi tanaman biji coklat (*Theobroma cacao* L.):

1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, 15a, 109b, 119b, 120b, 128b, 129b, 135b, 136b, 139b, 140b, 142b, 143a, 144b, 145b,..... □ Familia : Sterculiidae

1b, 3b, 4b, 5b, 16b, □ Genus : *Theobroma*

1.... □ Species : *Theobroma cacao* L.

3.1.2 Randemen

Randemen ekstrak digunakan untuk membandingkan antara ekstrak dengan simplisia (biji coklat).

Perhitungan pada penelitian:

Berat kering simplisia : 250 g

Berat hasil ekstrak : 25 g

$$\text{Randemen} = \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat segar}} \times 100\%$$

$$= \frac{25}{250} \times 100\%$$

$$= 10\%$$

$$= 0,1 \text{ gram}$$

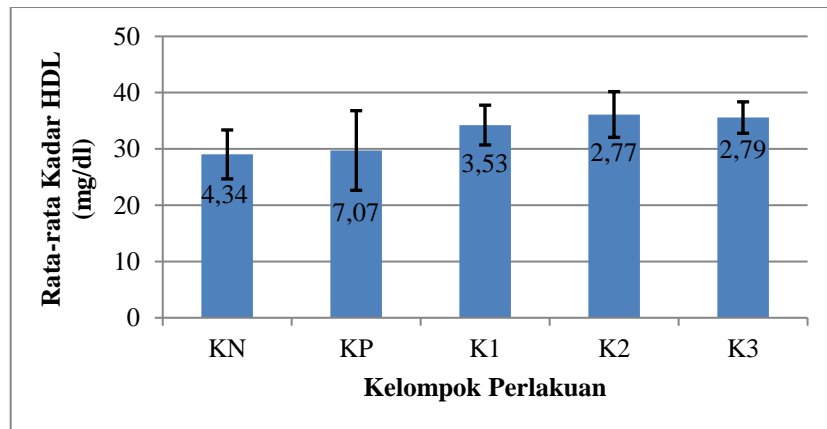
Didapatkan hasil 1 gram biji coklat=0,1gram ekstrak kental.

3.1.3 Pengukuran Kadar HDL Mencit Tiap Kelompok

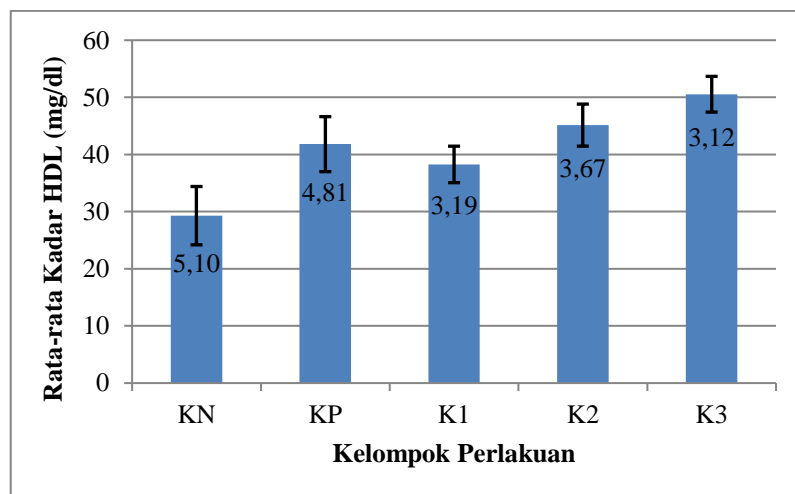
Tabel 1. Hasil Pengukuran rata-rata kadar *pre-treatment* dan *post-treatment* HDL

No.	Kelompok	Rerata Kadar <i>Pre-treatment</i> HDL (mg/dl) ± SD	Rerata Kadar <i>Post-treatment</i> HDL (mg/dl) ± SD
1.	KN	29,02 ± 4,34	29,29 ± 5,10
2.	KP	29,72 ± 7,07	42,06 ± 4,81
3.	K1	34,23 ± 3,53	38,26 ± 3,19
4.	K2	36,11 ± 4,06	45,14 ± 3,67
5.	K3	35,57 ± 2,79	50,54 ± 3,12

Sumber : Data Primer, 2017



Gambar 1. Rata-rata dan Standar deviasi Kadar HDL *pre-treatment*



Gambar 2. Rata-rata dan Standar deviasi Kadar HDL *post-treatment*

3.1.4 Hasil Analisis Statistik

Pengukuran rata-rata kadar HDL darah pada awal penelitian merupakan nilai rujukan normal, sehingga digunakan sebagai pembandingan terhadap peningkatan kadar HDL setelah diberi pakan hiperkolesterolemia dan diinduksi PTU. Pengukuran kadar *pre-treatment* dilakukan pada hari ke-14. Digunakan 5 mencit sebagai nilai rujukan normal, didapatkan rata-rata kadar HDL awal yaitu $33,10\text{mg/dl} \pm 2,94$.

Uji normalitas data awal, *pre-treatment* dan *post-treatment* menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil yaitu $p=0,611$, $p=0,143$, dan $p=0,579$. Disimpulkan data berdistribusi normal karena didapatkan nilai $p>0,05$.

Uji varian data menggunakan *Levene Test* pada *pre-treatment* dan *post-treatment* didapatkan hasil yaitu $p=0,068$ dan $p=0,475$. Dari data didapatkan 5 kelompok terdistribusi normal dan varian homogen normal karena nilai $p>0,05$. Dapat disimpulkan bahwa data tersebut varian populasi identik atau homogen, sehingga dilakukan uji *ANOVA*.

Uji *Paired T* untuk mengetahui apakah kadar HDL pada hewan uji setelah diberikan pakan hiperkolesterolemia dan diinduksi oleh PTU mengalami penurunan yang signifikan atau tidak. Hasil menunjukkan bahwa nilai $p=0,009$ ($p<0,05$), hal ini menunjukkan bahwa terdapat penurunan kadar HDL yang signifikan setelah pemberian pakan hiperkolesterolemia dan diinduksi PTU. Data *pre-treatment* dan *post-treatment* dilakukan uji *Paired T* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan peningkatan yang signifikan atau tidak terhadap kadar HDL sebelum perlakuan dan setelah perlakuan. Setelah dianalisis didapatkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Sehingga pada hasil analisis didapatkan peningkatan kadar HDL yang signifikan setelah diberi perlakuan.

Hasil penelitian dianalisis menggunakan uji *One-way ANOVA*, syarat yang diperlukan yaitu distribusi normal dan varian normal. Analisis dari *One-way ANOVA* pada *post-treatment* untuk kenaikan kadar HDL didapatkan $p=0,000$ ($p<0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji coklat (*Theobroma cacao* L.) berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar

kolesterol HDL. Hasil uji *One-way ANOVA* dapat juga dikatakan bahwa perlakuan setiap kelompok terdapat perbedaan yang signifikan atau bermakna (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Uji Statistik *One-way ANOVA*

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	916,774	4	229,193	12,774	,000
Within Groups	251,193	14	17,942		
Total	1167,967	18			

Sumber: Data SPSS, 2017

Analisis *post hoc LSD* untuk menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok, untuk pengambilan keputusan berdasarkan nilai probabilitas jika nilai $p < 0,05$ maka terdapat perbedaan bermakna, sedangkan jika nilai $p > 0,05$ maka terdapat perbedaan tidak bermakna yang dilihat dari Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Analisis Uji Statistik *Post Hoc LSD*

Kelompok Perlakuan	Nilai p	Hasil Uji
KN-KP	0,001*	Berbeda bermakna
KN-K1	0,015*	Berbeda bermakna
KN-K2	0,000*	Berbeda bermakna
KN-K3	0,000*	Berbeda bermakna
KP-K1	0,239	Berbeda tidak bermakna
KP-K2	0,297	Berbeda tidak bermakna
KP-K3	0,016*	Berbeda bermakna
K1-K2	0,052	Berbeda tidak bermakna
K1-K3	0,003*	Berbeda bermakna
K2-K3	0,117	Berbeda tidak bermakna

*berbeda bermakna ($p < 0,05$)

Sumber: Data Primer, 2017

Berdasarkan hasil analisis *Posthoc LSD*, perbandingan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dosis I, II, dan kombinasi dosis II dengan simvastatin didapatkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$), artinya ekstrak biji coklat dosis I (0,0196mg/20grBB), dosis II (0,392mg/20grBB) dan dosis kombinasi ekstrak biji coklat (0,392mg/20grBB) dengan simvastatin mempunyai efek terhadap peningkatan kadar kolesterol HDL dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang hanya diberi aquades.

Perbandingan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan I dan II didapatkan hasil yang berbeda tidak bermakna ($p > 0,05$). Pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan III didapatkan hasil perbedaan bermakna ($p < 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji coklat dosis I

dan II sebanding dengan kontrol positif yang diberikan simvastatin dan pada kelompok perlakuan III dengan dosis kombinasi ekstrak biji coklat (0,392mg/20grBB) lebih efektif meningkatkan kadar kolesterol HDL dibandingkan simvastatin.

Berdasarkan hasil analisis *Posthoc LSD*, pemberian ekstrak etanol biji coklat kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, dan kelompok perlakuan 3 mempunyai efek meningkatkan kadar HDL yang terlihat pada hasil pengukuran *post treatment*.

3.2 PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Surakarta yang bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol 70% biji coklat (*Theobroma cacao* L.) terhadap peningkatan kadar HDL pada tikus (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan pakan tinggi lemak.

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok mencit dengan masing-masing terdiri dari 6 ekor mencit. KN sebagai kelompok kontrol negatif yang diberikan aquades, KP sebagai kelompok kontrol positif yang diberikan simvastatin, K1 sebagai kelompok perlakuan 1 diberikan ekstrak biji coklat dengan dosis 0,196mg/20grBB/hari, K2 sebagai kelompok perlakuan 2 diberikan ekstrak biji coklat dengan dosis 0,392mg/20grBB/hari, K3 sebagai kelompok perlakuan 3 diberikan kombinasi ekstrak biji coklat dengan dosis 0,392 mg/20grBB/hari dan simvastatin 0,0182 mg/20grBB/hari. Perlakuan dilakukan selama 14 hari dan setelah 14 hari diperiksa kembali kadar HDL.

Pengukuran kadar HDL dilakukan sebanyak tiga kali pengukuran, pertama diukur kadar HDL awal pada hari pertama penelitian sebelum diberi perlakuan pada mencit, hal ini akan dijadikan sebagai nilai rujukan normal kadar HDL pada mencit yang nantinya akan dibandingkan dengan pengukuran kadar HDL setelah diberikan pakan tinggi kolesterol dan diinduksi propiltiourasil pada hari ke-14 untuk melihat keberhasilan induksi pakan. Pakan tinggi kolesterol biasanya disebut pakan hiperkolesterolemia. Pakan hiperkolesterolemia adalah pakan yang sengaja dibuat untuk meningkatkan konsentrasi kolesterol darah hewan percobaan (Hardiningsih

& Nurhidayat, 2006). Pemberian pakan hiperkolesterolemia dapat mengubah gambaran lipoprotein menjadi lebih aterogenik yaitu menurunkan kadar HDL dan meningkatkan LDL. Pemberian pakan hiperkolesterolemia dapat menyebabkan penurunan kolesterol HDL dengan cara menekan sintesis HDL melalui penurunan kadar apolipoprotein A1 yang merupakan prekursor untuk pembentukan HDL (Hairunnisa, 2008).

Pemberian pakan hiperkolesterolemia bertujuan untuk menurunkan kadar kolesterol HDL. Peningkatan asupan dan absorpsi lipid menyebabkan jumlah lipid di dalam lipoprotein berdensitas kecil maupun dalam sel-sel perifer akan meningkat. Hal ini diikuti dengan peningkatan aktivitas *reverse cholesterol transport* oleh HDL. Asupan tinggi lipid yang terus-menerus menyebabkan aktivitas *reverse cholesterol transport* berkurang. Keadaan ini ditandai dengan menurunnya kadar HDL (Gan, *et al.*, 2014).

Pemberian PTU dalam penelitian ini bertujuan untuk membantu mengoptimalkan tercapainya efek pakan hiperkolesterolemia berupa penurunan kadar HDL. PTU yaitu suatu zat antitiroid yang dapat merusak kelenjar tiroid sehingga menghambat sel-sel tiroid dalam pembentukan hormon tiroid. Hormon tiroid berpengaruh terhadap metabolisme kolesterol. Tiroksin dapat merangsang proses lipolisis, pelepasan asam lemak bebas dari jaringan lemak dan merangsang hati untuk metabolisme kolesterol (Noorafiqi, *et al.*, 2013). Hormon tiroid dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan cara meningkatkan pembentukan LDL hati yang mengakibatkan peningkatan pengeluaran kolesterol dari sirkulasi. Kekurangan hormon tiroid mengakibatkan katabolisme kolesterol menurun, sehingga terjadi peningkatan kolesterol total dalam darah (Ganong, 2008).

Proses adaptasi yang dilakukan selama 7 hari sebelum dilakukan penelitian juga mendukung tercapainya efek pakan hiperkolesterolemia. Adaptasi bertujuan agar subjek penelitian menjadi terbiasa terhadap lingkungan barunya sehingga dapat mengurangi tingkat stres psikologis hewan uji. Stres dapat menyebabkan gangguan metabolisme lipid sehingga lipid tidak dapat dimetabolisme dengan cepat dan efisien (Ridwan, 2013).

Berdasarkan hasil uji *One-way ANOVA* disimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao* L.) berpengaruh signifikan dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$), sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat pengaruh secara signifikan terhadap peningkatan kadar HDL darah mencit. Dari hasil uji *One-way ANOVA* dapat disimpulkan bahwa hipotesis 1 peneliti diterima, maka ekstrak etanol biji coklat (*Theobroma cacao* L.) dapat meningkatkan kadar HDL pada hewan uji. Hasil uji *One-way ANOVA* menunjukkan data signifikan, maka dilanjut uji *post hoc LSD*.

Berdasarkan hasil Uji *LSD*, hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna yang signifikan terhadap kelompok kontrol negatif dan kontrol positif yaitu dengan nilai $p=0,001$ ($p<0,05$), artinya tindakan atau metode yang dilakukan dalam penelitian tepat dan sesuai secara bermakna.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan adanya perbedaan bermakna yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 dengan masing-masing nilai $p<0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao* L.) pada kelompok perlakuan 1 (dosis 0,196mg/20grBB), perlakuan 2 (dosis 0,392mg/20grBB), dan perlakuan 3 (kombinasi ekstrak biji coklat dosis 0,392mg/20grBB/hari dengan simvastatin dosis 0,0182mg/20grBB) mampu meningkatkan kadar HDL secara bermakna pada mencit model hiperkolesterolemia dan menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif.

Nilai signifikansi didapat juga dari uji *LSD* yang menunjukkan bahwa rerata selisih peningkatan kadar HDL antara kelompok kontrol positif dibanding dengan kelompok perlakuan 3 yang memiliki nilai $p<0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak biji coklat dosis 0,392mg/20grBB/hari dengan simvastatin dosis 0,0182mg/20grBB/hari lebih efektif dibanding simvastatin dalam meningkatkan kadar kolesterol HDL. Simvastatin merupakan golongan statin yang menghambat enzim HMG-CoA. Enzim ini akan mengkatalis pembentukan mevalonat dari HMG-CoA yang merupakan tahap awal dari pembentukan kolesterol. Statin memiliki efek peningkatan HDL, penurunan LDL dan kolesterol total terbesar, sehingga dijadikan obat pilihan utama untuk mengatasi

hiperkolesterolemia (Saragih, 2009). Sedangkan pada kelompok kontrol positif memiliki perbedaan yang tidak bermakna dengan kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2 yang berarti bahwa perlakuan 1 (dosis 0,196mg/20grBB) dan perlakuan 2 (dosis 0,392mg/20grBB) sebanding dengan aktivitas kontrol positif dalam meningkatkan kadar HDL.

Uji *LSD* kelompok perlakuan 1 dibanding kelompok perlakuan 3 memiliki perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas peningkatan kadar HDL menggunakan ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao* L.) dosis 0,196mg/20grBB sangat berbeda dengan kombinasi ekstrak biji coklat dosis 0,392mg/20grBB/hari dengan simvastatin dosis 0,0182mg/20grBB/hari. Dosis kombinasi ekstrak biji coklat dosis 0,392mg/20grBB/hari dengan simvastatin dosis 0,0182mg/20grBB/hari merupakan dosis yang memberikan peningkatan terbesar dibandingkan dengan dosis 0,196mg/20grBB/hari dan 0,392mg/20grBB/hari.

Peningkatan kadar HDL dalam penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao* L.) seperti flavonoid (katekin, epikatekin, dan prosianidin) yang merupakan senyawa utama dalam aktivitas antioksidan. Flavonoid ini akan menangkap radikal bebas (*free radical scavengers*) dengan melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya dan memutus reaksi berantai dari radikal bebas sehingga mencegah terjadinya stress oksidatif (Almatsier, 2004). Melalui mekanisme antioksidan ini ekstrak biji kakao dapat menghambat oksidasi lipid dan pembentukan lipid peroksidase. Epikatekin memiliki sifat lebih hidrofobik daripada katekin, sehingga epikatekin dapat berinteraksi lebih tinggi dengan membran lipid (Ide, 2008).

Coklat mengandung antioksidan fenolik lebih banyak dibandingkan makanan lain. Antioksidan fenolik yang terdapat dalam coklat meningkatkan level antioksidan dalam plasma untuk mencegah oksidasi kolesterol LDL (Weisburger, 2001). Penghambatan enzim dari flavonoids termasuk oksidasi xantin, oksidasi NADPH, tyrosine kinase, dan protein kinase (Ariantari, *et al.*, 2006). Ekstrak biji coklat mengandung antioksidan flavanols yang bekerja di membran sel dengan menangkap radikal bebas yang terbentuk di membran sel. Mekanisme kerja flavanols pada membran sel menetralkan radikal asam lemak tidak jenuh (*peroxyl*

polyunsaturated fatty acid) atau PUFA-OO• pada membran *phospholipid* sel dan mengubahnya menjadi *hydroperoxy polyunsaturated acid* (PUFA-OOH) yang tidak lagi bersifat radikal, sehingga oksidasi lipid membran sel menurun (Wiryanthini & Sutadarma, 2012).

Pelarut etanol merupakan pelarut universal yang dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel simplisia sehingga proses ekstraksi lebih efisien dalam menarik komponen polar hingga semipolar serta larut dalam air dan pelarut organik (Wati *et al.*, 2017). Pada penelitian ini proses ekstraksi biji kakao menggunakan pelarut etanol karena polifenol dari biji kakao bersifat polar dan relatif stabil dalam kondisi larutan asam sehingga polifenol dalam biji kakao lebih larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol. Pelarut dapat melarutkan ekstrak dalam pelarut yang sama (Sarastani *et al.*, 2002).

Hasil penelitian ini sesuai dengan pemberian bubuk kakao pada tikus hiperkolesterolemia yang menunjukkan penurunan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL dan MDA disertai peningkatan HDL (Lecumberri *et al.*, 2007).

Penelitian ini didukung oleh penelitian mengenai pemberian ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap profil lipid dan kadar NOx tikus putih jantan dislipidemia, didapatkan bahwa setelah pemberian ekstrak biji kakao terjadi penurunan kadar kolesterol total, trigliserida dan LDL pada kelompok P1, P2 dan P3 yang bermakna ($p=0,000$). Penelitian ini menyimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao* L.) dapat mencegah terjadinya dislipidemia ditandai dengan penurunan kadar kolesterol total, trigliserida dan LDL disertai peningkatan kadar HDL (Wiryanthini, *et al.*, 2012).

4. PENUTUP

Berdasarkan hasil analisis dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao* L.) dengan dosis 0,196 mg/20gBB, 0,392 mg/20gBB serta kombinasi ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao* L.) 0,196 mg/20gBB dengan simvastatin 0,0182 mg/20gBB dapat meningkatkan kadar HDL mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi pakan hiperkolesterolemia. Penelitian ini masih banyak keterbatasan diantaranya adalah kurang bervariasinya dosis yang digunakan, belum

dilakukannya uji kuantitatif fitokimia zat aktif biji coklat sehingga belum diketahui jumlah pasti kandungan zat aktif di dalamnya, penelitian tidak menggunakan hewan uji yang lebih besar (*Rattus norvegicus*), dan juga tidak dilakukannya pemeriksaan kadar HDL awal pada seluruh hewan uji.

PERSANTUNAN

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terimakasih yang tulus kepada Prof. DR. Dr. E.M. Sutrisna, M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta dan pembimbing, Dr. Rochmadina Suci Bestari, M.Sc, dan Dr. Sri Wahyu Basuki, M.Kes yang telah membimbing, memberikan kritik dan saran dalam penelitian ini. Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini dapat bermanfaat.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriansyah, 2008. *Rahasia Jantung Sehat dengan Makanan Berkhasiat*. Jakarta: PT. Kompas Media Nusantara.
- Almatsier, S., 2004. *Penurunan Diet*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Ariantari, N., Astuti, K., Susanti, N. & Arsanti, C., 2006. *Buku Ajar Farmasetika*. Jimbaran: s.n.
- Ellam & Williamson, 2013. Cocoa and Human Health. *Annual Review of Nutrition*, Volume 33.
- Gan, J. *et al.*, 2014. Advancing and Exchanging Knowledge of the Causes, Natural History, Treatments, and Prevention of Atherosclerotic disease. *European Atherosclerosis Society Journals*, Volume 235, pp. 247-658.
- Ganong, W., 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. 22 ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hairunnisa, M., 2008. Pengaruh Pemberian Jus Buah Pare (*Momordica charantia*) terhadap Kadar HDL dan LDL Kolesterol Serum Tikus Jantan Galur Wistar yang Diberi Diet Tinggi Lemak. Semarang, Universitas Diponegoro. *Thesis*
- Hardiningsih, R. & Nurhidayat, N., 2006. Pengaruh Pemberian Pakan Hiperkolesterolemia terhadap Bobot Badan Tikus Putih Wistar yang Diberi Bakteri Asam Laktat. *Biodiversitas*, Volume 7, pp. 127-130.

- Ide, P., 2008. *Dark Chocolate Healing*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Noorafaqi, M., Yasmina , A. & Hendriono, F., 2013. Kadar Triglisericid Serum Darah Tikus Putih yang Diinduksi Propiltiourasil. *Berkala Kedokteran, FKUNLAM*, pp. 21-29.
- PERKENI, 2015. *Panduan Pengelolaan Dislipidemia di Indonesia*. Jakarta: PB. PERKENI: Perkumpulan Endokrinologi Indonesia.
- Ridwan, E., 2013. *Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rumah Sakit Copto Mangunkusumo.
- Romdhoni, M. F., 2014. *Studi Farmakodinamik Ekstrak Etanol Akar Seledri (Apium graveolens) Terhadap Profil Lipid dan Apo-A1 Serum Tikus Putih Stain Wistar (Rattus Novergicus Strain Wistar) Dislipidemia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Saragih, S., 2009. *Pengaruh Pemberian Infusa Daun Seledri (Apium graviolens L.) Terhadap Kadar Kolesterol Serum Darah Marmot (Cavia cobaya) (Skripsi)*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Taufiqqurohman, M. A., 2008. *Metodologi Penelitian Kedokteran untuk Ilmu Kesehatan*. Surakarta: CSGF.
- Valussi, M. & Minto, C., 2016. Cacao as a Globalised Functional Food: Review on Cardiovascular. *The Open Agriculture Journal*, p. 37.
- W. Miller Jr, D., 2015. Fallacies in Modern Medicine: Statins and the Cholesterol-Heart Hypotesis. *AAPS*, Volume 20, p. 54.
- Weisburger, J. H., 2001. Chemopreventive effects of cocoa polyphenols on chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, Volume 226, pp. 891-897.
- Wiryanthini , I. D. & Sutadarma, I., 2012. Pemberian Ekstrak Biji Kakao (Theobroma cacao L.) terhadap Profil Lipid dan Kadar NOx Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus) Dislipidemia.
- Wiryanthini , I. D., Sutadarma, I. & Y., 2012. Cocoa Beans Extract (Theobroma cacao L.) Improve Lipid Profile But Had No Effect On Blood NOx Concentration In Dyslipidemia White Male Rat (Rattus norvegicus). *Indonesia of Journal Of Biomedical Science*, Volume 10, pp. 17-21.