

EFEK PROTEKTIF EKSTRAK BERAS HITAM (*Oryza sativa* L.) TERHADAP PEMBENTUKAN SEL BUSA PADA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DI BERI DIET PRODISLIPIDEMIA.

Andreas Renaldy Salmon*, Shirley E. S. Kawengian*, Paul A. T. Kawatu*

*Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sam Ratulangi

ABSTRACT

Cardiovascular disease is a disease with a high prevalence level lately and a major disease that killed men and women in The United States of America, Europe and most of many countries in Asia. Clinical studies tells that cardiovascular disease correlated with atherome (atherosclerotic plaque) and its complication like thrombosis. Hence, in order to prevent and handle atherosclerotic, it's important to take steps to increase antioxidative status and to hamper hyperlipidemia and inflammation on the victim. One of the natural food ingredients with high antioxidant is the black rice which is a functional food with high antioxidant (anthocyanin).

To know protection effect from black rice extract in the formation foam cells on wistar rats (*Rattus norvegicus*). The research type is experimental laboratory with posttest only control group design, with 27 wistar rats which divided into 3 groups. The black rice extract will be given via tube feeding with 2ml dose each day. In 28th day the rat will be determine, and the aortic arth will be taken to histopathological test. The web will be colored with papanicolaou stain technique.

The research results showed the K3 (BR2) group as a normal control group, the foam cells formation didn't occur. On K2 (DPD+BR2) group as a negative control group showed there were foam cells formation in the 28th day. On K1 (DPD in 14 days and continued with black rice diet in 7 days) showed the tunica media was changed, which is the less foam cell formation in the tunica media.

The black rice extract have a positive effect in the formation foam cell to the rat that has been given pro dyslipidemia diet (DPD). The black rice can be used as a functional food ingredients that can give good nutrients for health.

Keywords : Black Rice, Atherosclerotic, Foam Cells, Wistar Rats, *Rattus norvegicus*, Anthocyanin.

ABSTRAK

Penyakit kardiovaskuler merupakan penyakit dengan tingkat prevalensi yang tinggi akhir-akhir ini dan merupakan pembunuh utama pria dan wanita di Amerika Serikat, Eropa dan sebagian Asia. Studi klinis telah menunjukkan bahwa penyakit kardiovaskuler berkorelasi dengan ateroma (plak aterosklerosis) beserta komplikasinya seperti trombosis. Oleh karena itu, dalam pencegahan dan penanganan aterosklerosis, penting untuk mengambil langkah-langkah untuk meningkatkan status antioksidatif dan untuk menghambat hiperlipidemia serta inflamasi pada penderita. Salah satu bahan makanan alami yang kaya antioksidan adalah beras hitam yang merupakan pangan fungsional yang kaya antioksidan (antosianin).

Mengetahui efek protektif ekstrak beras hitam terhadap pembentukan sel busa pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian experimental laboratorik dengan menggunakan rancangan posttest only control group design. berjumlah 27 ekor tikus dibagi menjadi 3 kelompok. Ekstrak beras hitam diberikan melalui tube feeding dengan dosis 2ml perhari. Pada hari ke 28 hewan coba akan diterminasi, dan diambil arcus aortanya untuk pemeriksaan histopatologi. Jaringan diwarnai menggunakan teknik pewarnaan papanicolaou.

Hasil penelitian menunjukkan kelompok K3 (BR2) sebagai kelompok kontrol normal menunjukkan tidak terjadi pembentukan sel busa. Pada kelompok K2 (DPD+BR2) sebagai kelompok kontrol negatif terjadi pembentukan sel busa pada hari ke 28. Pada kelompok perlakuan K1 (DPD selama 14 hari dan dilanjutkan dengan diet ekstrak beras hitam selama 7 hari) menunjukkan adanya perubahan pada tunika media, ini ditandai dengan sedikitnya penumpukan sel busa yang berada pada tunika media.

Ekstrak beras hitam mempunyai efek protektif terhadap pembentukan sel busa pada tikus yang diberikan diet Pro-Dislipidemia (DPD). Beras hitam dapat digunakan sebagai bahan pangan fungsional yang memberikan manfaat bagi kesehatan.

Kata Kunci : Beras Hitam, Aterosklerosis, Sel Busa, *Rattus norvegicus*, Antosianin.

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskuler merupakan penyakit dengan tingkat prevalensi yang tinggi akhir-akhir ini dan merupakan pembunuh utama pria dan wanita di Amerika Serikat, Eropa dan sebagian Asia. Penyakit kardiovaskular meliputi penyakit jantung koroner atau penyakit jantung iskemik, penyakit serebrovaskular dan penyakit arteri perifer (Gibney, 2009). Penyakit ini juga termasuk penyakit pembunuh nomor 1 di Indonesia, dikarenakan tingkat mortalitas yang tinggi. Studi klinis telah menunjukkan bahwa penyakit kardiovaskuler berkorelasi dengan ateroma (plak aterosklerosis) beserta komplikasinya seperti trombosis (Orford, et al., 2000; Kher & Marsh, 2004).

Arteriosklerosis merupakan keadaan pada pembuluh arteri yang mengakibatkan penebalan arteriol dan pengerasan pada pembuluh darah arteri diakibatkan oleh penumpukan lemak. Aterosklerosis merupakan jenis yang penting dari arteriosklerosis, istilah aterosklerosis merupakan sinonim dari arteriosklerosis. Banyak hal yang berperan dalam penyakit kardiovaskuler, salah satunya adalah dislipidemia. Dislipidemia merupakan faktor risiko penting dalam terjadinya aterosklerosis yang sangat erat kaitannya dengan penyakit kardiovaskuler seperti PJK (Bittner, 2005). Dislipidemia merupakan suatu keadaan dimana terdapat abnormalitas profil lipid dalam darah seperti peningkatan kolesterol total, *Low*

Density Lipoprotein (LDL), trigliserida, dan penurunan kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL). Kadar lipid non HDL yang meningkat menyebabkan penyempitan pembuluh darah atau aterosklerosis (Colpo, 2005). Jika penyempitan pembuluh darah terjadi pada arteri koronaria maka dapat memicu terjadinya PJK (WHO, 2011).

Berdasarkan hasil Risesdas tahun 2013 menunjukkan untuk prevalensi nasional penyakit jantung sebesar 0,5% sedangkan untuk Provinsi Sulawesi Utara prevalensinya adalah 0,7% (Depkes RI, 2014). Sangat perlu juga untuk mencermati pola konsumsi lemak pada masyarakat yang dapat memicu terjadinya dislipidemia. Rata-rata konsumsi lemak pada tingkat nasional adalah $47,2 \text{ gr} \pm 34,1$ dengan tingkat persentase asupan energi dari lemak sebesar 40,7% sedangkan untuk Sulawesi Utara rata-rata konsumsi lemak sebesar $39,2 \pm 30,6$ gr dengan tingkat persentase asupan energi dari lemak sebesar 42,7% (Depkes RI, 2014).

Cina merupakan salah satu negara dengan jumlah kasus aterosklerosis atau PJK yang rendah, salah satunya dipengaruhi oleh pola diet, dimana 60% asupan energi berasal dari karbohidrat yang pada umumnya berasal dari beras. Efek kardioprotektif diet yang bersumber dari beras telah dilakukan pada beberapa tahun terakhir. Terdapat berbagai studi dengan populasi besar telah menunjukkan bahwa beberapa bahan makanan alami yang kaya

antioksidan berhubungan dengan rendahnya insiden penyakit kardiovaskular (Ling, et al., 2002). Oleh karena itu, dalam pencegahan dan penanganan aterosklerosis, penting untuk mengambil langkah-langkah untuk meningkatkan status antioksidatif dan untuk menghambat hiperlipidemia serta inflamasi pada penderita (Wang, et al., 2007). Salah satu bahan makanan alami yang kaya antioksidan adalah beras hitam. Oleh karena itu, dalam pencegahan dan penanganan aterosklerosis, penting untuk mengambil langkah-langkah untuk meningkatkan status antioksidatif dan untuk menghambat hiperlipidemia serta inflamasi pada penderita (Wang, et al., 2007). Salah satu bahan makanan alami yang kaya antioksidan adalah beras hitam.

Secara umum studi mengenai manfaat beras hitam masih sangat kurang oleh karena itu peneliti merasa perlu untuk mengembangkan pengetahuan mengenai pangan fungsional serta mengurangi kesenjangan informasi tentang manfaat beras hitam. Atas dasar hal tersebut peneliti ingin melakukan penelitian mengenai efek protektif ekstrak beras hitam terhadap pembentukan sel busa pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet prodislipidemia.

METODE DAN BAHAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *experimental laboratorik* dengan menggunakan rancangan *posttest only control group design*. Percobaan dilakukan dengan randomisasi sederhana.

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

$$(n - 1)(3 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) \geq \frac{15}{2}$$

$$n \geq 7,5 + 1$$

$$n \geq 8,5$$

Keterangan :

n = Jumlah sampel

t = Jumlah perlakuan (Federer, 1991).

Pembuatan Ekstrak Beras Hitam

Pembuatan ekstrak beras hitam menggunakan teknik meserasi, menggunakan ethanol PA (*pre Analysis*) 95%. Diawali dengan menghancurkan bahan (beras hitam) setelah itu ditambahkan ethanol PA 95% dengan perbandingan 1:2 (250gr beras : 500ml ethanol), kemudian diaduk menggunakan shaker dengan kecepatan 200-250rpm selama 1-2 jam, ini dimaksudkan untuk mengoptimalkan fungsi ethanol yaitu mengikat zat yang dibutuhkan dalam hal ini antioksidan yang terkandung dalam beras, dan diamkan selama 24 jam setelah itu disaring menggunakan *vacuum pump*. Selanjutnyadipanasakan menggunakan *rotary evaporator* dengan pemanasan suhu alat maksimal 500°C, mencapai titik didih etanol 84°C hingga pelarut menguap dan terpisah dengan ekstrak. Ekstrak beras hitam disimpan ke dalam wadah yang gelap, untuk menghindari paparan langsung dari matahari.

Pembuatan Model Dislipidemia

Diet pro-dislipidemia (DPD) dibuat dengan mencairkan 2kg lemak babi, dan diberikan

dengan cara sonde lambung sebanyak 2gr (Rufaida *et al.*,2014). Kuning telur diambil daritelur yang telah direbus dan pemberian ditentukan sebesar 0,5-1% BB tikus atau sekitar 1,5 gram, setiap hari selama 7 hari.Jumlah pemberian lemak pada tikus didasarkan pada jumlah anjuran konsumsi lemak pada manusia dengan BB 75kg yaitu sebesar 100gr/hari.Dosis ini kemudian dikonversi dengan dosis pada tikus dengan BB 200gr/hari. Faktor konversi tikus sebesar 0,018 sehingga perhitungan dosis untuk tikus adalah $100 \times 0,018 = 1,8$ (dibulatkan 2gr/hari).

Pemeriksaan sel busa

Pada hari ke 28 tikus wistar akan diterminasi, dan diambil arcus aortanya untuk pemeriksaan histopatologi. Jaringan diwarnai menggunakan teknik pewarnaan papanicolaou yang telah dilakukan di Pusat Diagnostik dan Patologi Anatomi Malalayang.

Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diperoleh di rumah hewan Tomohon. Jumlah hewan uji yang digunakan sebanyak 27 ekor.

Awalnya hewan uji di adaptasi selama 7 hari dengan diberikan pakan standar (BR2) dan air minum *ad libitum*. Setelah itu hewan uji diambil secara acak dan dibagi menjadi 3 kelompok (K1, K2, dan K3) dengan masing-masing kelompok berjumlah 9 ekor.

Pada kelompok K1 dan K2 diberikan diet prodislipidemia (lemak babi dan kuning telur)

sebanyak 1 ml/hari dan pakan standar BR2. Perlakuan seperti ini dilakukan selama 14 hari. Sedangkan kelompok K3 hanya diberikan pakan standar BR2.

Setelah itu, pada kelompok K1 dilanjutkan dengan pemberian ekstrak beras hitam ditambah pakan standar BR2 selama 7 hari, sedangkan untuk kelompok K2 masih dilanjutkan dengan diet prodislipidemia ditambah pakan standar BR2 seiring dengan perlakuan yang diberikan pada kelompok K1.

Kelompok K3 hanya diberikan pakan standar BR2 sebagai kelompok pembanding sepanjang penelitian berlangsung selama 28 hari.

Selanjutnya hewan uji di ambil 1 ekor pada tiap-tiap kelompok agar diterminasi supaya di periksa arcus aortanya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Subjek dalam penelitian ini adalah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan umur 3 bulan, dan berat badan antara 150-200 gram (pada usia >8 minggu). Jumlah tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 27 ekor dibagi menjadi 3 kelompok secara acak. Tikus dipelihara dengan menggunakan kandang cluster box dengan bahan *achrylic* pada suhu ruangan berkisar antara 27-32C dan siklus pencahayaan 12 jam. Hasil pengukuran berat badan tikus berdasarkan 2 periode waktu dapat dilihat pada tabel.

Tabel 1. Berat Badan Tikus Selama Masa Penelitian

Berat Badan (g)	Kelompok Pelakuan	Kelompok Kontrol
-----------------	-------------------	------------------

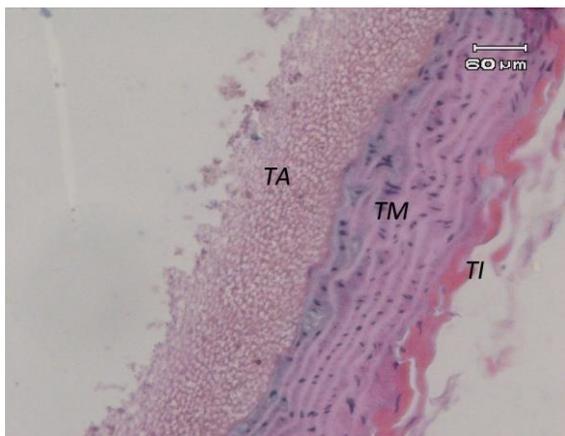
	DPD*+EBH**	DPD*	Pakan Standar BR2
Sebelum	272,16	280,66	260,56
Sesudah	274,99	279,24	257,87

Gambaran Histopatologi Tikus Wistar

Tikus wistar yang telah di terminasi diperiksa aortanya di Laboratorium Pusat Diagnostik Patologi dan Anatomi, dan di ambil gambar mikroskopik di Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi bagian Patologi anatomi.

Gambaran Kelompok Kontrol Normal (diet BR2)

Pada kelompok normal terlihat pada bagian tunika media tidak terjadi pembentukan sel busa sebagaimana yang diharapkan. Hal ini karena diet BR2 yang diberikan kurang mendukung terjadinya perlemakan, dan hal ini juga sebagai pembanding pada kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan beras hitam untuk melihat perbedaan di antara kelompok-kelompok tersebut.

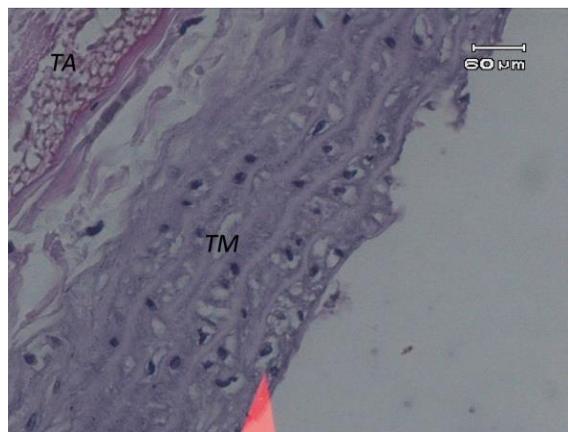


Gambar 1. Gambaran Histologi aorta tikus wistar kelompok kontrol normal (K3) dengan pembesaran

10x memperlihatkan tidak adanya sel busa pada tunika intima.

Gambaran Kelompok Kontrol Negatif (diet DPD+BR2)

Pada kelompok kontrol negatif yang di beri diet prodislipidemia terlihat pada tunika media timbul sel busa berupa sel kosong sebagaimana yang diharapkan. Hal ini karena diet prodislipidemia yang sengaja diberikan agar perlemakan yang terjadi pada kelompok ini bisa dibandingkan dengan kelompok perlakuan beras hitam.

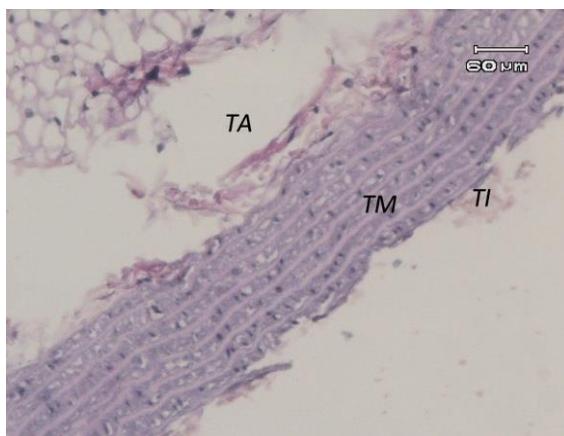
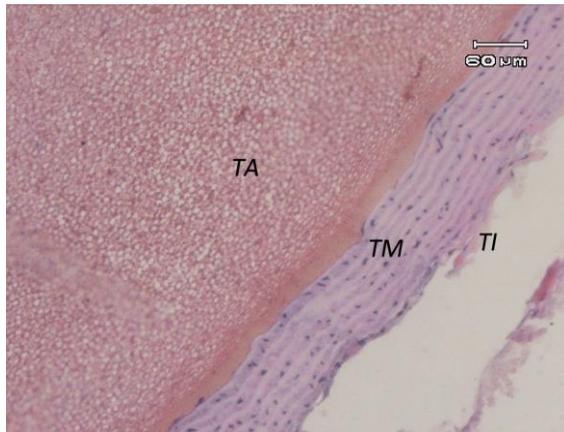


Gambar 2. Gambaran Histologi aorta tikus wistar kelompok kontrol negatif (K2) dengan pembesaran 10x memperlihatkan adanya sel busa pada tunika intima.

Gambaran Kelompok Perlakuan (Ekstrak Beras Hitam)

Pada gambar (a, b, dan c) terlihat terjadi perubahan yang cukup signifikan pada aorta tikus wistar setelah sebelumnya diinduksi diet

prodislipidemia dan di lanjutkan dengan pemberian ekstrak beras hitam pada 7 hari terakhir. Terlihat beberapa bagian pada aorta tikus wistar terlihat bersih dari perlemakan yang terjadi pada bagian tunika intima maupun tunika media. Ini dikarenakan bahan aktif yang terdapat pada beras hitam yaitu antosianin, efektif menghambat laju inflamasi dari perlemakan tersebut, namun pada salah satu gambar (gambar d) menunjukkan masih adanya perlemakan yang terjadi pada bagian lain dari aorta tikus wistar.



Gambar 3. Gambaran Histologi aorta tikus wistar kelompok perlakuan (K1) dengan pembesaran 10x masih memperlihatkan adanya sel busa pada tunika

intima sampai ke tunika media. Namun pada pembesaran di bagian lain dari aorta tikus, memperlihatkan adanya perubahan positif dari pemberian ekstrak beras hitam berupa berkurangnya sel busa pada aorta tikus wistar.

Pada gambar terlihat terjadi perubahan yang cukup signifikan pada aorta tikus wistar setelah sebelumnya diinduksi diet prodislipidemia dan di lanjutkan dengan pemberian ekstrak beras hitam pada 7 hari terakhir. Terlihat beberapa bagian pada aorta tikus wistar terlihat bersih dari perlemakan yang terjadi pada bagian tunika intima maupun tunika media. Ini dikarenakan bahan aktif yang terdapat pada beras hitam yaitu antosianin, efektif menghambat laju inflamasi dari perlemakan tersebut, namun pada salah satu gambar menunjukkan masih adanya perlemakan yang terjadi pada bagian lain dari aorta tikus wistar.

KESIMPULAN

1. Pada kelompok tikus wistar K1 (diet dislipidemia+ekstrak beras hitam) yang diberikan selama 14 hari diet dislipidemia dan dilanjutkan dengan pemberian ekstrak beras hitam selama 7 hari, mempunyai gambaran mikroskopik yang berbeda-beda. Namun terdapat lebih banyak bagian aorta yang tidak terjadi sel busa.
2. Pada kelompok tikus wistar K2 (diet dislipidemia) yang diberikan selama 28 hari, terjadi pembentukan sel busa pada tunika intima maupun tunika media.

3. Pada kelompok K3 (diet BR2) yang diberikan selama 28 hari tidak terdapat pembentukan sel busa.

DAFTAR PUSTAKA

- Bittner, V., 2005. Perspectives on Dyslipidemia and Coronary Heart Disease in Women. *Journal of American College of Cardiology*, volume 46(9), hal. 1628-1635.
- Castelli, W. P., 1988. Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease. The Framingham Heart Study. *Canadian Journal of Cardiology*, Volume 4, hal. 5-10.
- Colpo, A., 2005. LDL cholesterol : bad, cholesterol, or bad science. *Journal of American Physicians and Surgeons*, 10(3).
- Depkes RI, 2014. *Riskesmas 2013*, Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI.
- Federer, W., 1991. *Statistics and Society : Data Collection and Interpretation*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker.
- Gibney, M. J dkk.,2008. Gizi Kesehatan Masyarakat. Jakarta. EGC
- Kher, N. & Marsh, J. D., 2004. Pathobiology of atherosclerosis - a brief review. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, Volume 30, hal. 665-672.
- Ling, W. H., Wang, L. L. & Ma, J., 2002. Supplementation of the Black Rice Outer Layer Fraction to Rabbits Decreases Atherosclerotic Plaque Formation and Increases Antioxidant Status. *The Journal of Nutrition*, hal. 20-27.
- Mendis, S., Puska, P. & Norrving, B., 2011. *Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control*. Geneva: World Health Organization.
- Orford, J. L. dkk., 2000. The comparative pathobiology of atherosclerosis and restenosis. *American Journal of Cardiology*, Volume 86, pp. 6H-11H.
- Rufaida, F., A. & Murwani, S., 2014. *Profil Kadar Kolesterol Total, Low Density Lipoprotein (LDL) dan Gambaran Histopatologi Aorta Pada Tikus Wistar (Rattus Norvegicus) Hiperkolesterolemia dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (Dendrothoe Pentandra)*, Malang: Universitas Brawijaya. (online) <http://pkh.ub.ac.id/> Diakses 1 April 2014.
- WHO, 2011. *Cardiovascular diseases (CVDs) Fact sheet No.317*. [Online] Available at: <http://www.who.int> [Accessed 2014].