

## **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK DAN GLUKOSA**

**Yunita Listiani Imanda<sup>1</sup>, Renaldi Armande, Ade Arinia Rasyad**  
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang  
Jl. Ariodillah III No. 22A Ilir Timur I Palembang, Sumatera Selatan  
e-mail : <sup>1</sup>yunita.imanda@gmail.com

### **ABSTRAK**

Telah dilakukan penelitian tentang ekstrak daun jeruk nipis terhadap kadar kolesterol puasa pada tikus putih jantan yang diberi diet tinggi lemak dan glukosa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas dari ekstrak daun jeruk nipis terhadap penurunan kadar kolesterol. Penelitian eksperimental ini menggunakan 25 ekor tikus yang diberikan diet tinggi lemak dan glukosa selama 14 hari. Hewan yang telah mengalami hiperkolesterol dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol negatif (tween 80), kontrol positif (Simvastatin 0,9 mg/kgbb), Kelompok III, IV, V diberikan ekstrak dosis 0,6125 g/kgbb, dosis 1,225 g/kgbb dan dosis 2,45 g/kgbb yang masing-masing sediapan uji diberikan selama 14 hari. Pada hari ke-15 darah diambil darah melalui vena orbitalis, kemudian dilakukan pengukuran kadar kolesterol puasa menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS dengan reagen CHOD-PAP. Hasil menunjukkan persen penurunan kadar kolesterol terbesar adalah pada ekstrak dosis 0,6125 g/kgbb sebesar 39,79 %. Hasil analisa statistik ANOVA One Way menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kontrol negatif ( $p < 0,05$ ), dan hasil uji *Post Hoc* (*Duncan*) menunjukkan perbedaan bermakna kelompok kontrol negatif, kelompok pembanding (Simvastatin), dan kelompok perlakuan 3 variasi dosis ekstrak, tetapi antara kelompok dosis I, II dan III tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Ekstrak etanol daun jeruk nipis dosis 0,6125 g/kgbb merupakan dosis yang paling efektif menurunkan kadar kolesterol puasa tetapi tidak melebihi kelompok pembanding (Simvastatin).

**Kata Kunci** : CHOD-PAP, Ekstrak Daun Jeruk Nipis, Kolesterol total

### **PENDAHULUAN**

Hiperkolesterolemia merupakan gangguan metabolisme lemak yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol hingga  $\geq 240$  mg/dl. Kelebihan kolesterol akan mengendap dalam pembuluh darah arteri sehingga terjadi peningkatan penyempitan pembuluh darah yang dikenal dengan arterosklerosis yang menjadi salah satu faktor penyakit jantung koroner (Adam, dkk., 2009).

Faktor resiko hiperkolesterol dibagi menjadi dua yaitu faktor resiko yang tidak dapat dimodifikasi contoh faktor usia dan riwayat genetik, dan faktor resiko yang dapat dimodifikasi diantaranya berat badan, peningkatan kadar gula darah, kurang aktivitas, alkohol serta kebiasaan merokok.

Berdasarkan laporan badan kesehatan dunia pada tahun 2002 (WHO), tercatat sebanyak 4,4 juta kematian akibat hiperkolesterol atau sebesar 7,9% dari total kematian diusia muda (Oetero, 2007).

Penimbunan lemak yang berlebihan dalam lemak tubuh dapat mengakibatkan obesitas. Berat badan berlebih terjadi akibat peningkatan massa jaringan lemak tubuh karena adanya ketidakseimbangan antara asupan energi dengan keluaran energi, keadaan ini dapat meningkatkan proses lipolisis yang menyebabkan jumlah stress oksidatif yang dihasilkan sangat tinggi. Peningkatan stress oksidatif menyebabkan gangguan metabolisme, baik asupan glukosa pada otot maupun jaringan adiposa yang dapat mengganggu keseimbangan adipositokin

yang dilepaskan. Asupan karbohidrat dan lemak yang berlebihan, dengan mengkonsumsi karbohidrat terlalu banyak akan menyebabkan hormon insulin cepat diproduksi dan membuat gula darah masuk ke sel otot atau pun sel hati. Jika tempat penyimpanan gula sudah penuh pada sel otot atau hati, gula akan di simpan di dalam sel lemak dan di dalam sel lemak gula akan diubah menjadi lemak (Toruan, 2012)

Jeruk nipis merupakan salah satu jenis jeruk yang sering dikonsumsi masyarakat. Selain vitamin C, kandungan flavonoid utama dalam jeruk nipis yaitu hesperidin yang dapat menurunkan kadar kolesterol total. Dalam 100 gram jeruk nipis mengandung vitamin C 63 mg dan hesperidin sebanyak 15,64 mg yang lebih tinggi dibandingkan jeruk manis dan lemon (Purnamasari, 2014). Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) diketahui mengandung senyawa flavonoid seperti kuersetin serta fenolik yang bersifat sebagai antioksidan (Fajarwati, 2013).

Berdasarkan hal tersebut di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian pengaruh pemberian ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle terhadap kadar kolesterol total tikus putih jantan yang diberi diet tinggi lemak dan glukosa.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu) seperangkat alat *Rotary evaporator*, timbangan, jarum suntik (oral), vial, sentrifuge, mikropipet (evendoff), pipa kapiler, kuvet, alat-alat gelas (pyrex).

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi etanol 70% (bratacho), simvastatin, pakan diet lemak (tepung terigu, kuning telur puyuh dan lemak sapi), larutan glukosa 40% dan 5% (widatra), tween 80 (Brataco), aquadestillata.

### **Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan adalah daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang berada

di bagian tangkai (mulai dari daun ke-4 sampai ke-8) sehingga tidak terlalu tua dan muda, diambil dari Kota Sekayu Dusun Ngulak 1 Kecamatan Sanga Desa.

### **Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)**

Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dicuci terlebih dahulu, kemudian sampel dirajang dan dikering anginkan lalu di timbang sebanyak 2 kg. Sampel dimasukkan dalam botol gelap, tambahkan etanol destilasi sampai semua sampel terendam, kemudian simpan pada tempat yang terlindungi dari cahaya selama 5 hari sambil disaring dan diaduk. Setelah 5 hari, pisahkan fitratnya dengan penyaringan yang menghasilkan maserat. Proses ini dilakukan selama 3 kali selama 5 hari. Semua maserat digabungkan lalu diuapkan pelarutnya dengan distilasi vakum dan dilanjutkan dengan rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

### **Pembuatan Pakan Diet Tinggi Lemak dan Glukosa**

Pembuatan diet tinggi lemak mengacu pada penelitian yang dilakukan Mutiyani, dkk (2014)

#### ***Karbohidrat 55,63 % b/v***

Untuk membuat sediaan karbohidrat dengan konsentrasi 55,63% yaitu dengan mengambil 66,75 g tepung, tambahkan aquades hingga 120 ml.

#### ***Protein 14,25 % b/v***

Untuk membuat sediaan protein dengan konsentrasi 14,25% yaitu dengan mengambil 17,1 g kuning telur puyuh tambahkan aquades hingga 120 ml.

#### ***Lemak 30,10 % b/v***

Untuk membuat sediaan lemak dengan konsentrasi 30,10 % yaitu dengan mengambil 36,12 g lemak sapi tambahkan aquades hingga 120 ml.

## Pemberian Pakan Diet Tinggi Lemak dan Glukosa

Setelah proses aklimatisasi selama 7 hari, tikus diberi diet tinggi lemak secara per oral 2 kali sehari dan larutan glukosa 25% sebagai air minum selama 2 minggu, untuk membuat tikus menjadi obesitas dan mengalami hiperkolesterol.

## Prosedur Uji Antihiperkolesterol

Tikus di aklimatisasi selama 7 hari, kemudian lakukan penimbangan berat badan tikus dan pengukuran kadar gula darah puasa awal pada semua tikus percobaan.

Semua tikus diberi diet tinggi lemak (55,63% karbohidrat, 14,25% protein dan 30,10% lemak) dan larutan glukosa 10% secara per oral 2 kali sehari selama 2 minggu serta larutan glukosa 5% untuk air minum. Kemudian dilakukan penimbangan berat badan dan pengukuran kadar kolesterol total tikus pasca diberi diet tinggi lemak dan glukosa.

Tikus yang kadar kolesterol total  $\geq 200$  mg/dl dan dikelompokkan sebagai tikus hiperkolesterol. Tikus hiperkolesterol selanjutnya dibagi menjadi 5 kelompok yang diambil secara acak.

Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok I diberikan tween 80 2%, kelompok II diberikan suspensi metformin (dosis 45 mg/kgbb), kelompok III (dosis 0,6125 g/kgbb), IV (dosis 1,225 g/kgbb), V (dosis 2,45 g/kgbb). Sediaan uji diberikan dengan dosis tunggal selama 14 hari.

Pada hari ke-15 dilakukan pemeriksaan kadar gula darah puasa pada semua kelompok. Data hasil pengukuran kadar gula darah puasa dianalisis secara statistik.

## Penetapan Kadar Kolesterol total

Metode yang digunakan adalah enzimatic CHOD-PAP dengan cara sebagai berikut :

Darah diambil melalui sinus orbitalis mata tikus, berdasarkan jumlah yang diperlukan maka darah diambil dengan pipa kapiler heparin. Darah kemudian ditampung kedalam mikrotube, selanjutnya di sentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 6000 rpm. Serum darah dipipet dengan pipet mikro 10  $\mu$ L dimasukan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan reagen sebanyak 1000  $\mu$ L lalu dicampur menggunakan vortel. Kemudian diukur serapan pada panjang gelombang 546 nm dengan spektrofotometer UV-visible.

Kadar sampel dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar Sampel} = \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \times \text{Kadar kolesterol standar}$$

## Analisis Data

Data hasil penelitian berupa kadar gula darah puasa yang telah diukur pada hari ke-0 dan ke-15. Hasil yang didapat diolah dengan menggunakan SPSS. Distribusi data ditentukan normal tidaknya data yang diperoleh sebelum perlakuan di analisa dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*. Homogenitas data varians diukur dengan *Levene test*. Jika data terdistribusi secara normal digunakan uji *One -Way ANOVA* dan *Post Hoc (Duncan)*. Data disajikan dalam bentuk tabel dan histogram.

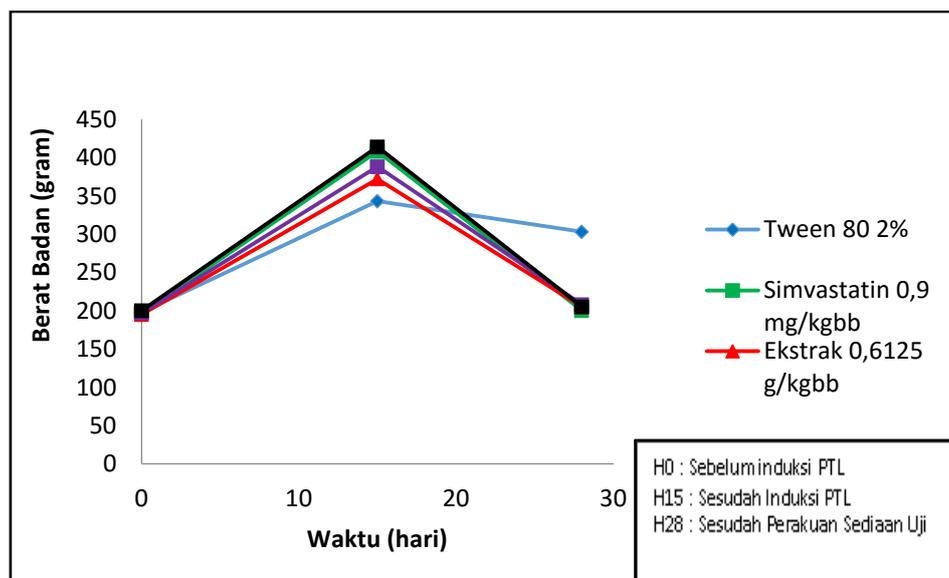
## HASIL

Sampel yang digunakan adalah daun jeruk nipis yang telah dikering kan seberat 1000 gram, kemudian dilakukan metode maserasi . Maserasi ini bertujuan untuk menari zat-zat berkhasiat simplisia, baik simplisia yang tidak tahan panas maupun yang tahan pemanasan. Maserasi dipilih karena pengerjaannya yang mudah dan sederhana dan juga dapat digunakan untuk mengekstrak sampel dalam jumlah yang banyak (Djamal, 2010).Pelarut yang digunakan adalah etanol, karena bersifat universal sehingga dapat menarik

semua komponen kimia dengan kepolaran yang berbeda. Selain itu keuntungan penggunaan etanol adalah harganya lebih relatif lebih murah dan tidak begitu toksik dibanding metanol (Djamal, 2010). Selanjutnya proses penguapan pelarut menggunakan metode destilasi vakum dikentalkan menggunakan *Rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Dari hasil perhitungan simplisia dan bobot ekstrak daun jeruk nipis, maka diperoleh nilai remdemen sebesar 20,939 %.

Penginduksian tikus model diabetes dilakukan dengan memberikan pakan diet tinggi lemak dan glukosa selama 14 hari. Pakan diet tinggi lemak tersebut berpotensi untuk meningkatkan berat badan yang cenderung terjadinya obesitas. Penginduksi tikus hiperkolesterolemia dilakukan dengan memberikan pakan tinggi lemak sebanyak 2 ml / 200 kgbb, pur 551 sebanyak 30 gram pada siang dan malam hari dan glukosa selama 14 hari pemberian. Pakan diet tinggi lemak berpotensi untuk meningkatkan berat badan yang cenderung terjadi obesitas. Komposisi pakan tinggi lemak yang digunakan yaitu tepung, gaji sapi (lemak) dan

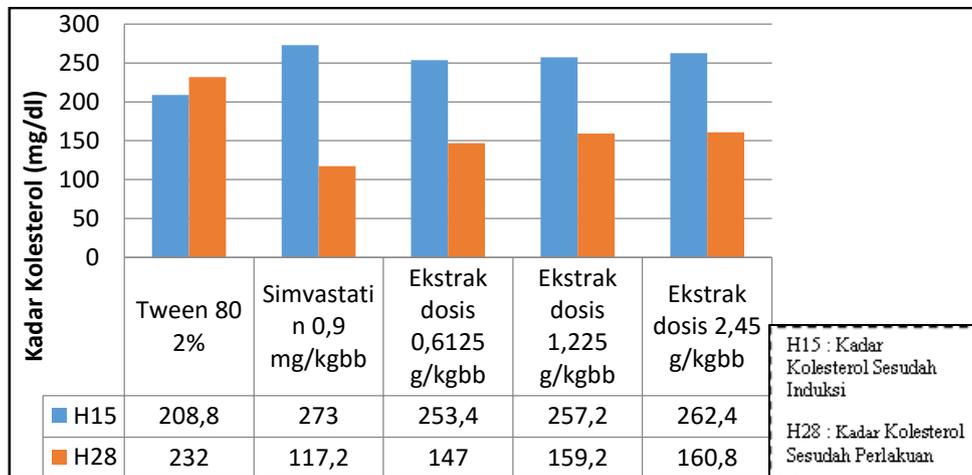
kuning telur bebek. Kombinasi ini dipercaya memiliki kolesterol tinggi yang dapat meningkatkan kadar kolesterol secara signifikan, setiap 10 mg gaji sapi mengandung 130 mg kolesterol, sedangkan dalam 10 ml kuning telur bebek mengandung kolesterol sebanyak 3.640 mg (Astuti, 2015). Serta pur yang digunakan mengandung protein 19-21% dan kalsium 1,2% sehingga dapat mencukupi asupan gizi tikus. Kolesterol dan lemak menyebabkan penebalan pada dinding pembuluh darah arteri sehingga pembuluh darah tersebut menyempit. Proses ini disebut aterosklerosis. Penyempitan pembuluh darah ini menyebabkan aliran darah menjadi lambat bahkan dapat tersumbat sehingga aliran darah pada pembuluh darah koroner yang fungsinya memberikan oksigen ke jantung berkurang (Wahjoeni dkk, 2015). Hasil menunjukkan adanya peningkatan berat badan tikus untuk semua kelompok perlakuan. Persentase peningkatan berat badan tertinggi terdapat pada kelompok ekstrak dosis 2,45 g/kgbb sebesar 51,69% dan persentase peningkatan berat badan terkecil terdapat pada kelompok tween 80 sebesar 42,27%.



Gambar 1. Persentase Peningkatan Berat Badan

Tabel 1. Rata-rata kadar kolesterol total puasa persentase penurunan pada tikus putih jantan dari seluruh kelompok perlakuan pada hari ke-0, 15.

Kelompok Perlakuan	Kadar Kolesterol (Hari)		% Penurunan Kolesterol
	H-15(Mean ± SD)	H-28 (Mean±SD)	
Tween 80	290,8 mg/dl ± 27,80	232 mg/dl ± 24,64	21,04 %
Simvastatin	273 mg/dl ± 31,11	117,2 mg/dl ± 5,40	56,67 %
EDJN 1	253,4 mg/dl ± 35,03	147 mg/dl ± 12,32	39,79 %
EDJN 2	257,2 mg/dl ± 36,88	159,2 mg/dl ± 7,01	37,06 %
EDJN 3	262,4 mg/dl ± 33,96	160,8 mg/dl ± 12,35	36,51 %



Gambar 2. Diagram Kadar Kolesterol

Obesitas sentral mempunyai hubungan dengan tekanan darah, kadar glukosa darah, kadar trigliserida yang tinggi, koelsterol dan adiponektin. Obesitas yang menetap selama periode waktu tertentu, kilokalori yang masuk melalui makanan dapat menyebabkan terjadinya gangguan sistem metabolik berupa hiperkolesterolemia (Wira, 2006). Hasil menunjukkan adanya peningkatan berat badan tikus untuk semua kelompok perlakuan. Persentase peningkatan berat badan tertinggi pada kelompok ekstrak dosis 2,45 g/kgbb sebesar 61,69 % sedangkan persentase berat badan paling terkecil terdapat pada kelompok tween 80 sebesar 42,27%. Adanya peningkatan berat badan tikus dikarenakan asupan karbohidrat dan glukosa yang berlebihan.

Berdasarkan uji T-Berpasangan antara semua kelompok perlakuan sebelum induksi

dan sesudah induksi diet tinggi lemak dan glukosa terdapat perbedaan yang signifikan ( $p = 0,000 < 0,05$ ). Pada semua kelompok perlakuan terjadi peningkatan kadar kolesterol ( $\geq 200$  mg/dl) setelah 14 hari diberikan induksi diet tinggi lemak dan glukosa, yang kadar kolesterol tertinggi terdapat pada kelompok tween 80 sebesar 290,8 mg/dl

Pada hari ke 28 setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari dilakukan pengukuran kadar kolesterol puasa terhadap semua kelompok tikus putih jantan galur Wistar yang telah mengalami hiperkolesterol. Setiap kelompok menunjukkan adanya penurunan kadar kolesterol namun hasil yang didapat setiap kelompok menunjukan respon yang berbeda-beda. Dilihat dari dari persentase penurunan kadar kolesterol, kolompok simvastatin (pemanding) menunjukan persentase penurunan kadar

kolesterol sebesar 56,67 % dan kelompok tween 80 menunjukkan persentase penurunan sebesar kolesterol terkecil 21,04 %. Pada kelompok tween 80 2% menunjukkan penurunan kadar kolesterol akan tetapi masih dalam keadaan kolesterol (232 mg/dl). Hal ini dikarenakan tidak adanya lagi asupan pakan diet tinggi lemak dan dikarenakan sel tubuh mempunyai kemampuan untuk memperbaiki diri. Pada kelompok yang diberikan perlakuan variasi dosis, kelompok dosis ekstrak daun jeruk nipis dengan dosis 0,6125 g/kgbb menunjukkan penurunan kadar kolesterol terbesar yaitu 39,76%. Kelompok dosis ekstrak daun jeruk nipis 1.225 g/kgbb dan 2.45 g/kg bb menunjukkan persen penurunan kadar kolesterol sebesar 37,06% dan 36,51%. Hal ini menunjukkan bahwa variasi dosis terkecil dapat menghasilkan penurunan kolesterol yang paling baik dibandingkan dengan dua dosis lainnya. Dalam penelitian ini memperlihatkan fenomena adanya peningkatan dosis tidak selaras dengan peningkatan efeknya.

Hasil analisa data secara statistik *One way ANOVA* persentase penurunan kadar kolesterol terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok tween 80 dan simvastatin serta kelompok 3 variasi dosis ekstrak daun jeruk nipis ( $p = 0,000 < 0,05$ ). Hasil uji *Duncan* terlihat ada perbedaan yang nyata dari persen penurunan kadar kolesterol puasa kelompok positif (positif), kontrol negatif (simvastatin) dan 3 variasi ekstrak daun jeruk nipis. Sedangkan pada ekstrak daun jeruk nipis 3 variasi dosis tidak dapat perbedaan yang nyata.

Penurunan kadar gula darah puasa dikarenakan adanya senyawa flavonoid yang terdapat pada daun jeruk nipis seperti quersetin (Loizzo dkk, 2012) yang memiliki efek antioksidan, antiproliferatif, antinflamasi, antikarsinogenik, antihipertensi serta antidiabetik. Berdasarkan nuraian di atas dapat diduga bahwasan dengan senyawa quersetin pada daun jeruk nipis merupakan antioksidan kuat yang dapat menurunkan produksi TNF- $\alpha$  oleh jaringan lemak visceral dan meningkatkan konsentrasi adiponektin. Perbaikan status inflamasi yang akan

menghasilkan perbaikan dari resistensi insulin serta bertindak sebagai modulator homeostatis lipid di jaringan lemak dan hati melalui penghambatan terhadap enzim fosfodiesterase. Quersetin ini juga dapat memperbaiki degenerasi sel-sel beta pancreas dan mengurangi stress oksidatif (Pinentdkk, 2008).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

Pemberian ekstrak daun jeruk nipis dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus putih jantan galur *Wistar* yang diberi diet tinggi lemak dan glukosa.

Dosis yang optimum dalam menurunkan kadar kolesterol total pada tikus putih jantan galur *Wistar* yang diberi diet tinggi lemak dan glukosa adalah ekstrak dosis 0,6125 g /kgbb

## DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, N.R. 2015. *Makanan-makanan tinggi kolesterol*. Yogyakarta: Flashhook.
- Adam, J. M. F., Sudoyo, A. W., Setiyohadi, B. Idrus, K. Marcellus S. dan Setiati, S. (Ed IV). 2006. *Buku ajar ilmu penyakit dalam*. (Jilid III, IV). Jakarta : Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Djamal, R. 2010. *Kimia bahan alam: Prinsip-prinsip dasar isolasi dan identifikasi*. Padang: Universitas Baiturrahmah.
- Fajarwati, N. 2013. *Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak daun jeruk nipis (citrus aurantifolia) dengan menggunakan metode dpph (1,1-diphenyl-2-2-picrylhydrazyl)*. (Skripsi). Jakarta- UIN Syarif Hidayatullah.
- Purnamasari, A.W., Isnawati, M. 2014. Pengaruh Pemberian Jus Pare (*Momordica Charantia L.*) Dan jus jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap kadar kolesterol total tikus sprague dawley hiperkolesterol. *Journal of Nutrition College*, Volume 3, Nomor 4, tahun 2014, Halaman 894-902 Online di. <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jnc>.

- Loizzo, M. R., Tundis, R., Bonesi, M., Menichini, F., Luca, D. D., Colica, C., & Menichini, F. 2012. Evaluation of citrus aurantifolia peel and leaves extracts for their chemical composition, antioxidant and anti-cholinesterase activities. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 92, 2960-2967.
- Pinent, M. Castell., A. Baiges, I., Montagut, G., Arola, L., & Ardevol, A. 2008. Bioactivity of flavonoids on insulin-secreting cells. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 7, 299-308.
- Mutiyani, M., Soeatmadji, D.J., & Sunindya, B.R. 2014. Efek diet tinggi karbohidrat dan diet tinggi lemak terhadap kadar glukosa darah dan kepadatan sel beta pankreas pada tikus wistar. *Jurnal of human nutrition*, 1(2), 106-113.
- Turoan, P.L., 2012. *Fat-loss not weight-loss for diabetes: sakit tapi sehat*. Jakarta: Transmedia
- Wahjoeni, R. Mewo, M. Y. Dan Peruntu. M,E. 2015. *Gambaran kadar kolesterol total darah pada mahasiswa vegetarian lacto-ovo*. Manado. Fakultas kedokteran sam ratulangi.
- Wira, G. Dkk. 2006. Hubungan antara obesitas sentral dengan adiponektin pada pasien geriatri dengan penyakit jantung koroner. *Jurnal penyakit dalam*, 7(2).

