

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70 % BIJI COKLAT (*Theobroma cacao L.*) TERHADAP PENURUNAN KADAR LDL (*Lower Density Lipoprotein*) PADA MENCIT (*Mus musculus*) GALUR SWISS



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

Oleh :

MEDIANA NUR AMALIA

J 500 140 129

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

HALAMAN PERSETUJUAN

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70 % BIJI COKLAT (*Theobroma cacao L.*) TERHADAP PENURUNAN KADAR LDL (*Lower Density Lipoprotein*) PADA MENCIT (*Mus musculus*) GALUR SWISS

PUBLIKASI ILMIAH

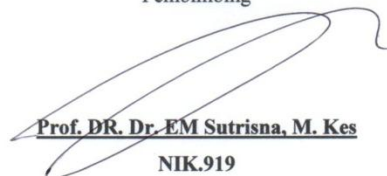
oleh:

MEDIANA NUR AMALIA

J 500 140 129

Telah diperiksa dan disetujui untuk 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 PENURUNAN KADAR LDL (*Lower Density Lipoprotein*) PADA MENCIT (*Mus musculus*) GALUR SWISS

OLEH

MEDIANA NUR AMALIA

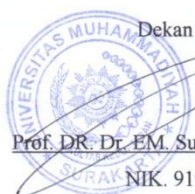
J 500 140 129

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
dan Pembimbing Utama Skripsi
Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Jumat, 5 Januari 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

1. Dr. Sri Wahyu Basuki, M.Kes.
(Ketua Dewan Penguji)
2. Dr. Safari Wahyu Jatmiko, M.Si, Med.
(Anggota I Dewan Penguji)
3. Prof. DR. Dr. EM Sutrisna, M.Kes
(Anggota II Dewan Penguji)

(.....)
(.....)
(.....)

Dekan

Prof. DR. Dr. EM. 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 dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, 5 Januari 2018

Penulis



MEDIANA NUR AMALIA

J500140129

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70 % BIJI COKLAT (*Theobroma cacao L.*) TERHADAP PENURUNAN KADAR LDL (*Lower Density Lipoprotein*) PADA MENCIT (*Mus musculus*) GALUR SWISS

Abstrak

Biji coklat (*Theobroma cacao L.*) mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu zat antioksidan yang bekerja dengan menangkap radikal bebas sehingga dapat menghambat oksidasi LDL. Penelitian ini untuk menguji efektivitas ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao L.*) yang dapat menurunkan kadar LDL pada mencit (*Mus musculus*) galur swiss. Penelitian ini menggunakan desain penelitian *eksperimental laboratorium* dengan metode *pre and post test with control group design*. Penelitian dilakukan pada 25 *Mus musculus* galur Swiss yang diinduksi PTU dan pakan tinggi lemak selama 7 hari. Subjek dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu : kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif (simvastatin 0,0364 mg/20gBB/hari), kelompok perlakuan 1 (0,196mg/20gBB/hari), kelompok perlakuan 2 (0,392mg/20gBB/hari), kelompok perlakuan 3 (kombinasi ekstrak coklat dosis 0,392mg/20gBB/hari dengan simvastatin 0,0182 mg/20gBB/hari). Pengukuran kadar kolesterol LDL dilakukan pada hari ke-7, hari ke-14, dan hari ke-28. Berdasarkan hasil uji statistik *kruskal-wallis*, didapatkan nilai ($p < 0,005$) terdapat perbedaan yang signifikan kadar LDL mencit antar kelompok. Hasil uji *post-treatment* menunjukkan kontrol negatif dengan perlakuan 1 $p = 0,034$, kontrol negatif dengan perlakuan 2 $p = 0,021$, kontrol negatif dengan perlakuan 3 $p = 0,034$. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa seluruh dosis memiliki perbedaan bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif dengan nilai $p < 0,05$. Pemberian ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao L.*) dosis I, II dan dosis kombinasi ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao L.*) serta simvastatin dapat menurunkan kadar LDL mencit (*Mus musculus*).

Kata kunci: *Theobroma cacao L.*, LDL, flavonoid

Abstract

Theobroma cacao L. contains flavonoids. Flavonoid is one of the antioxidants works by scavenging free radicals that can prevent and inhibit LDL oxidation invitro. The aim of this study was to determine the effectiveness of chocolate (*Theobroma cacao L.*) that can decrease of LDL levels in mice (*Mus musculus*) swiss strain. This study was experimental laboratory with pre and post test method with control group design. The study was conducted on 25 *Mus musculus* Swiss strain induced by PTU and high cholesterol feed for 7 days. Subjects were divided into 5 groups: negative control, positive control with simvastatin (0.0364 mg / 20gBW/day), treatment group 1 (0,196 mg/20gBW/day), treatment group 2 (0,392 mg/20gBW/day), and treatment group 3 (combination of extract of chocolate at dose of 0,392 mg/20gBW/day and simvastatin at dose of 0,0182 mg/20gBW/day). Measurements of LDL cholesterol were performed on day 7, day 14, and day 28. The Kruskal-wallis statistical tests showed $p = 0,003$ ($p < 0,05$), so

*there was a significant difference in LDL levels between groups. The results of post-treatment show between negative control with treatment 1 $p=0,034$, negative control with treatment 2 $p=0,021$, negative control with treatment 3 $p=0,034$. The results of Mann-Whitney test was obtained all of doses have a significant different against negative control with $p<0,05$. The 70% ethanol extract of chocolate (*Theobroma cacao* L.) doses I, II and combination between the 70% ethanol extract of chocolate (*Theobroma cacao* L.) and simvastatin have effect on decreasing levels of LDL level.*

Keyword: *Theobroma cacao* L., LDL, flavonoid

1. PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular merupakan penyebab kematian nomor satu secara global. Pada tahun 2015 sekitar 17,7 juta orang meninggal karena penyakit kardiovaskular dan 7,4 juta orang meninggal tersebut disebabkan oleh penyakit jantung koroner (WHO, 2017). Menurut Riskesdas tahun 2013 penyakit jantung koroner menempati urutan ketujuh penyakit tidak menular di Indonesia. Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2014), berdasarkan diagnosis dokter, prevalensi penyakit jantung koroner di Indonesia tahun 2013 sebesar 0,5%, sedangkan berdasarkan diagnosis dokter/gejala sebesar 1,5%.

Menurut Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (2009), kadar lemak yang abnormal atau kadar kolesterol yang tinggi dapat menyebabkan risiko terjadinya aterosklerosis dan penyakit arteri koroner atau penyakit arteri karotis meningkat. Peningkatan kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*) akan meningkatkan risiko terjadinya aterosklerosis. Aterosklerosis inilah yang nantinya akan bermanifestasi menjadi penyakit jantung koroner (Rabie'ah, 2014).

Golongan obat statin telah terbukti dalam menurunkan kadar kolesterol plasma dan juga mencegah penyakit jantung. Statin bekerja dengan menghambat HMG-KoA reduktase dan meningkatkan aktivitas reseptor LDL (Botham & Mayes, 2014). Miopati adalah efek samping paling sering akibat penggunaan statin, manifestasi berupa nyeri dan sakit tulang, kelemahan, ketidakseimbangan, dan mudah lelah (W. Miller Jr, 2015). Oleh karena itu diperlukan alternatif pengobatan, salah satunya adalah dengan menggunakan tanaman kakao.

Coklat adalah sumber yang kaya akan flavonoid, terutama flavanols, epikatein, katein, dan molekul berat ringan prosianidin seperti prosianidin B1 dan B2, metilxantin (terutama theobromine), dan magnesium; semua itu adalah substansi aktif yang secara biologis bermanfaat bagi kesehatan manusia (Ellam & Williamson, 2013).

Selain itu menurut Pusat Penelitian dan Pengembangan (2010), Indonesia merupakan salah satu negara pembudidaya tanaman kakao paling luas di dunia dan termasuk negara penghasil kakao terbesar ketiga setelah Ivory-Coast dan Ghana.

Penelitian oleh Wiryanthini dan Sutadarma (2012) 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(dosis 70 mg), P2(dosis 140 mg) dan P3 (dosis 280 mg) 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)

Mengacu pada uraian diatas, peneliti tertarik ingin mengetahui apakah ekstrak dari biji coklat dapat menurunkan kadar LDL pada hewan uji mencit dengan judul penelitian “Uji Efektivitas Ekstrak Etanol 70% Biji Coklat (*Theobroma cacao L.*) terhadap Penurunan Kadar LDL pada Mencit (*Mus musculus*) Galur Swiss.”

2. METODE

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dengan menggunakan metode *pre test and post test with controlled group design* yang dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta dan Pemeriksaan LDL dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Penelitian dilakukan dari bulan April 2017. Subjek penelitian adalah mencit (*Mus musculus*) jantan dengan galur Swiss, berat badan ± 20 gram, dan berumur 2-3 bulan.

Penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling* untuk pengambilan sampel dan *simple random* untuk pengelompokan hewan uji. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok. KN adalah kelompok kontrol negatif yang diinduksikan aquades, KP adalah kelompok kontrol 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 0,0182 mg/20gBB/hari. Penentuan besar sampel setiap kelompok ditentukan berdasarkan rumus perhitungan *Federer* yang diperoleh hasil minimal 5 ekor mencit per kelompok, sehingga jumlah keseluruhan sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor mencit. Identifikasi variabel terdiri dari variabel bebas: dosis ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao L.*) skala rasio, variabel terikat: kadar LDL skala rasio. 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 tinggu lemak, propiltiourasil, simvsastatin 10 mg, akuades.

Cara kerja :

Langkah 1 : pembuatan ekstrak biji coklat 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 40°C selama 2 jam lalu dituang ke dalam botol steril tertutup dan disimpan di dalam lemari pendingin sampai didapatkan ekstrak pekat.

Langkah 2 : Semua hewan uji diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu di lingkungan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Langkah 3 : Pengukuran kadar LDL awal/sebelum perlakuan dilakukan hari ke 7.

Langkah 4 : Pemberian pakan hiperkolesterolemia dan induksi PTU dilakukan selama 7 hari.

Langkah 5 : Pengukuran kadar *pre-treatment* pada hari ke 15.

Langkah 6 : Perlakuan pemberian ekstrak dan simvastatin dilakukan selama 14 hari, setelah itu diambil darahnya untuk dicek kadar LDL *post-treatment*.

Langkah 7 : Pengambilan darah

Langkah 8 : Terminasi hewan uji

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 HASIL

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 : Sterculiaceae

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

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

Randemen

Randemen ekstrak digunakan untuk membandingkan antara ekstrak dengan simplisia (biji coklat). Randemen dihitung dengan membandingkan jumlah ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal yang digunakan. Perhitungan pada penelitian:

Berat kering simplisia : 250 g

Berat hasil ekstrak : 25 g

Randemen

$$: \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat segar}}$$

$$\frac{25}{250}$$

$$0,1$$

Dari hasil diatas, jadi 1 gram biji coklat=0,1gram ekstrak kental.

Tabel 1. Rerata Berat Badan Mencit Selama Penelitian

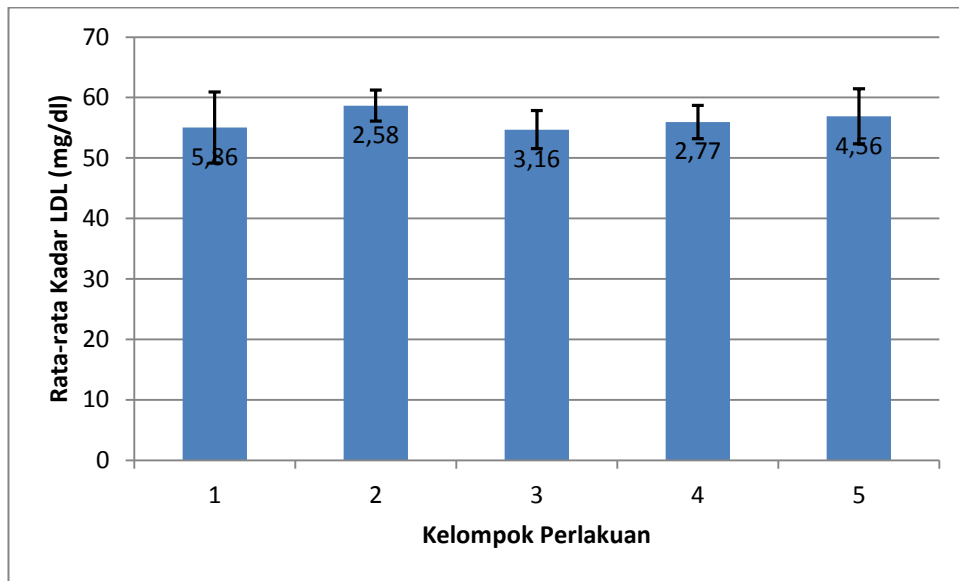
No.	Kelompok	Rerata Berat Badan Sebelum Induksi Hiperkolesterolemia ± SD	Rerata Berat Badan Setelah Induksi Hiperkolesterolemia ± SD
1.	KN	27,77 ± 1,09	34,09 ± 0,89
2.	KP	27,46 ± 1,18	32,06 ± 4,24
3.	K1	26,23 ± 1,43	32,92 ± 1,37
4.	K2	28,13 ± 0,90	33,94 ± 3,43
5.	K3	28,09 ± 1,75	35,56 ± 2,28

Sumber: Data Primer, 2017

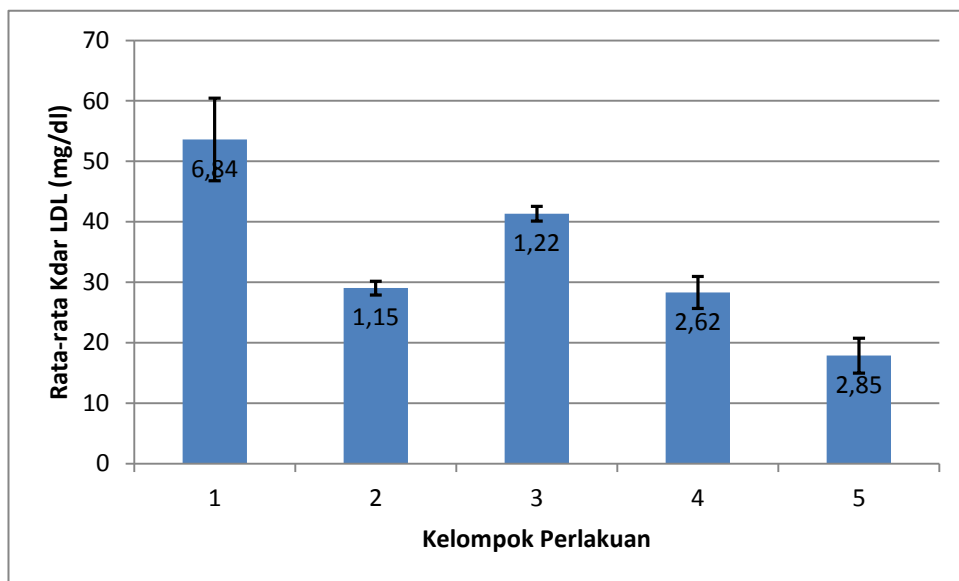
Tabel 2. Rata-rata kadar LDL *pre-treatment* dan *post-treatment*

No.	Kelompok	Rerata Kadar LDL <i>Pre-treatment</i> (mg/dl) ± SD	Rerata Kadar LDL <i>Post-treatment</i> (mg/dl) ± SD
1.	KN	55,04 ± 5,86	53,61 ± 6,84
2.	KP	58,66 ± 2,58	28,62 ± 1,15
3.	K1	54,69 ± 3,16	41,32 ± 1,22
4.	K2	55,94 ± 2,77	28,30 ± 2,62
5.	K3	56,89 ± 4,56	17,85 ± 2,85

Sumber: Data Primer, 2017



Gambar 1. Rerata dan Standar Deviasi Kadar LDL *Pre-treatment*



Gambar 2. Rerata dan Standar Deviasi Kadar LDL *Post-treatment*

Hasil Analisis Statistik Data

1. Distribusi data

Penelitian ini menggunakan *Shapiro Wilk* dikarenakan sampel berjumlah kurang dari 50. Penelitian ini memiliki hasil distribusi data pada kelompok awal $p=0,784$ *pre-treatment* $p=0,409$, dan *post-treatment* sebesar $p=0,196$. Hasil menunjukkan bahwa $p>0,05$ sehingga distribusi data normal.

2. Uji Homogenitas varian

Penelitian ini menggunakan uji homogenitas untuk menganalisis berat badan mencit. Didapatkan nilai $p=0,774$ ($p>0,05$) untuk berat badan mencit sebelum pemberian pakan dan nilai $p=0,152$ ($p>0,05$) untuk berat badan mencit setelah pemberian pakan hal ini menunjukkan bahwa berat badan mencit homogen, tidak ada perbedaan berat badan mencit secara signifikan.

Uji homogenitas juga dilakukan untuk kelompok *pre-treatment* dengan nilai $p=0,058$ ($p>0,05$) artinya varian populasi identik atau homogen dan kelompok *post-treatment* $p=0,013$ ($p<0,05$) artinya varian populasi tidak identik atau tidak homogen.

3. Uji Paired T

Uji *Paired T* untuk mengetahui apakah kadar LDL pada hewan uji setelah diinduksikan pakan hiperkolesterolemia dan diinduksi oleh PTU mengalami kenaikan signifikan atau tidak. Hasil menunjukkan bahwa nilai $p=0,001$ ($p<0,05$), hal ini menunjukkan bahwa terdapat kenaikan kadar LDL yang signifikan setelah pemberian pakan hiperkolesterolemia dan diinduksi PTU.

4. Uji Kruskal Wallis

Hasil uji parametrik *Kruskal Wallis* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada kelompok *post-treatment* ($p<0,05$) pada nilai kadar LDL antar kelompok yang diuji yaitu dengan $p=0,003$ ($p<0,05$).

5. Uji Post Hoc

Pada uji *Mann-Whitney* yang bertujuan untuk menunjukkan perbedaan atau penurunan kadar kolesterol LDL yang signifikan serta adanya perbedaan pengaruh antar kelompok yang dibandingkan tersebut. Hal ini ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Analisis Uji Statistik *Mann-Whitney* LDL

Kelompok Perlakuan	Nilai p	Hasil Uji
KN-KP	0,014*	Berbeda bermakna
KN-K1	0,034*	Berbeda bermakna
KN-K2	0,021*	Berbeda bermakna
KN-K3	0,034*	Berbeda bermakna
KP-K1	0,025*	Berbeda bermakna
KP-K2	0,624	Berbeda tidak bermakna
KP-K3	0,025*	Berbeda bermakna

K1-K2	0,034*	Berbeda bermakna
K1-K3	0,050	Berbeda tidak bermakna
K2-K3	0,034*	Berbeda bermakna

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

Perbandingan antara kelompok kontrol positif dengan kontrol negatif, didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada pengukuran kadar LDL *post-treatment* hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian simvastatin mempunyai efek menurunkan kadar LDL dibanding kontrol negatif yang hanya diberi aquades.

Perbandingan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dosis I, II, dan dosis kombinasi didapatkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak biji coklat dosis I,II dan dosis kombinasi mempunyai efek terhadap penurunan kadar LDL dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan aquades.

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

Perbandingan antar kelompok perlakuan didapatkan hasil pada dosis I dan II dengan dosis II dan kombinasi didapatkan hasil berbeda bermakna. Hal tersebut menunjukkan bahwa dosis kombinasi terlihat nyata dalam menurunkan LDL dibandingkan dosis I dan II.

3.2 PEMBAHASAN

Penelitian yang dilakukan di Laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Surakarta bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol 70% biji coklat (*Theobroma cacao L.*) terhadap penurunan kadar LDL pada tikus (*Mus musculus*) hiperkolesterolemia. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok mencit. KN sebagai kelompok kontrol negatif yang diinduksikan aquades, KP sebagai kelompok kontrol positif yang diinduksikan simvastatin, K1 sebagai kelompok perlakuan diinduksikan ekstrak biji coklat dengan dosis 0,196mg/20gBB/hari, K2 sebagai kelompok perlakuan diinduksikan ekstrak biji coklat dengan dosis 0,392mg/20gBB/hari, K3 sebagai kelompok perlakuan 3

diinduksikan kombinasi ekstrak biji coklat dengan dosis 0,392mg/20gBB/hari dan simvastatin 0,0182 mg/20gBB/hari.

Kadar LDL diukur sebanyak 3 kali. Kadar LDL awal diukur pada hari pertama penelitian sebelum diinduksi perlakuan pada mencit, hal ini akan dijadikan sebagai nilai rujukan normal kadar LDL pada mencit yang nantinya akan dibandingkan dengan pengukuran LDL setelah diinduksikan pakan tinggi kolesterol dan diinduksi propiltiourasil pada hari ke 14. Pakan tinggi kolesterol ini dapat disebut pakan hiperkolesterolemia. Pakan hiperkolesterolemia adalah pakan yang sengaja dibuat untuk meningkatkan konsentrasi kolesterol darah hewan percobaan (Hardiningsih & Nurhidayat, 2006). PTU merupakan antitiroid golongan tionamida. PTU menghambat pembentukan hormon tiroid, sehingga menghambat pembentukan hormon sensitif lipase, akibatnya katabolisme lipid menjadi terganggu dan terjadi peningkatan kolesterol termasuk kolesterol LDL (Retnaningsih *et al.*, 2015). Selanjutnya dilakukan uji *Paired T* untuk melihat apakah terdapat kenaikan kadar LDL.

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* disimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao L.*) berpengaruh sangat signifikan dengan $p=0,003$ ($p<0,05$) sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat pengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar LDL darah mencit. Dari hasil uji *Kruskal-Wallis* dapat disimpulkan bahwa hipotesis 1 peneliti diterima. Maka ekstrak etanol biji coklat (*Theobroma cacao L.*) dapat menurunkan kadar LDL pada hewan uji. Hasil yang didapat signifikan maka dilanjut uji *Mann Whitney*.

Berdasarkan uji statistik yang dilakukan nilai signifikansi dari uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa rerata selisih penurunan kadar LDL antara kelompok K1 dibanding K2 memiliki perbedaan yang bermakna ($p<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas penurunan kadar LDL ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao L.*) dosis 0,196 mg/20gBB sangat berbeda dengan dosis ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao L.*) 0,392mg/20gBB/hari. K1 dibanding K3 dan K2 dibanding K3 menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas penurunan kadar LDL ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao L.*) dosis 0,196 mg/20gBB/hari dibanding dosis kombinasi ekstrak biji coklat dosis

0,392 mg/20gBB/hari dengan simvastatin dosis 0,0182mg/20gBB/hari sangat berbeda begitu juga pada K2 dosis 0,392mg/20gBB dibanding dosis kombinasi ekstrak biji coklat dosis 0,392 mg/20gBB/hari dengan simvastatin dosis 0,0182mg/20gBB/hari. Dosis kombinasi ekstrak biji coklat dosis 0,392 mg/20gBB/hari dengan simvastatin dosis 0,0182mg/20gBB/hari merupakan dosis yang memberikan penurunan terbesar dibandingkan dengan dosis 0,196 mg/20gBB/hari dan 0,392 mg/20gBB/hari.

Berdasarkan nilai signifikansi dari uji *Mann-Whitney* menunjukkan rerata selisih penurunan kadar LDL, KP memiliki perbedaan yang bermakna dengan K1 dan K3 yang berarti bahwa aktivitas KP dalam menurunkan kadar LDL sangat berbeda dengan K1 dan K3. Hal ini menegaskan bahwa pemberian ekstrak biji coklat dosis 0,196 mg/20gBB/hari, 0,392 mg/20gBB/hari dan kombinasi ekstrak biji coklat dosis 0,392 mg/20gBB/hari dengan simvastatin dosis 0,0182mg/20gBB/hari belum mampu menandingi kerja simvastatin dalam menurunkan kadar kolesterol. Simvastatin termasuk dalam golongan statin, senyawa ini merupakan penghambat enzim HMG-CoA. Enzim ini akan mengkatalis pembentukan mevalonat dari HMG-CoA yang merupakan tahap awal dari pembentukan kolesterol. Statin memiliki efek penurunan LDL terbesar, sehingga dijadikan obat pilihan utama untuk mengatasi hiperkolesterolemia (Saragih, 2009).

Coklat mengandung antioksidan fenolik lebih banyak dibandingkan makanan lain. Flavonoids, termasuk katekin, epikatekin, dan prosianidin merupakan senyawa utama dalam aktivitas antioksidan. Struktur trisiklik flavonoids menunjukkan efek antioksidan dalam menangkap ROS (*Reactive Oxygen Species*), kelat Fe^{2+} dan Cu^{+} , menghambat enzim, dan meningkatkan pertahanan antioksidan (Katz *et al.*, 2011). 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.

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 *et al.*, 2012). Oksidasi lipid menurun maka akan menghambat atau menurunkan kerja 3-Hidroksi-3-metilglutaril koenzim A reduktase (HMG Co-A reduktase). Enzim ini mengkatalisis perubahan HMGCo-A menjadi asam mevalonat yang merupakan langkah awal dari sintesa kolesterol. Penghambat HMG Co-A reduktase menghambat sintesis kolesterol di hati dan hal ini akan menurunkan kadar LDL plasma (Ferry S.P. *et al.*, 2015).

Penelitian ini didukung oleh penelitian yang dilakukan terhadap tikus diabetes yang diinduksikan dosis ekstrak coklat 1% menyebabkan penurunan LDL yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$ (Ruzaidi *et al.*, 2005).

Penelitian lainnya dilakukan oleh Jia *et al* (2010) mengenai efek coklat terhadap kolesterol total, kolesterol LDL, dan kolesterol HDL pada 8 percobaan menyertakan 215 partisipan. Kolesterol LDL mengalami penurunan yang signifikan dan secara garis besar kolesterol total mengalami penurunan, sebaliknya tidak ada perubahan yang signifikan pada kolesterol HDL setelah konsumsi coklat.

Penelitian oleh Wiryanthini dan Sutadarma (2012) mengenai pemberian ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap profil lipid dan kadar NO 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).

Pelarut etanol merupakan pelarut universal yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena etanol dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel simplisia sehingga proses ekstraksi lebih efisien dalam menarik komponen polar hingga semipolar dan memiliki titik didih rendah $78,37^{\circ}\text{C}$ serta tidak beracun, larut dalam air dan pelarut organik (Wati *et al.*, 2017). Oleh

karena itu pada penelitian ini menggunakan etanol sebagai pelarut dalam pembuatan ekstrak.

Pada penelitian ini proses ekstraksi biji kakao menggunakan pelarut etanol karena polifenol dari biji kakao bersifat polar dan relatif stabil pada kondisi larutan asam sehingga polifenol dalam biji kakao lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol. Pelarut dapat melarutkan ekstrak yang mempunyai sifat kepolaran yang sama (Sarastani *et al.*, 2002).

Penggunaan etanol sebagai pelarut juga dilakukan oleh penelitian yang pernah dilakukan Wiryanthini 2012. Perbedaannya pada penelitian Wiryanthini 2012 menggunakan etanol 96 %. Pada penelitian ini menggunakan etanol 70%. Etanol dengan konsentrasi 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengekstraksi (Indraswari, 2008).

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 LDL awal pada seluruh hewan uji.

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 menurunkan kadar LDL mencit (*Mus musculus*) galur Swiss. 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 LDL 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. Sri Wahyu Basuki, M. Kes, dan dr. Safari Wahyu Jatmiko, M. Si, M.ed 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

- Botham, K.M. & Mayes, P.A., 2014. *Biokimia Harper*. Edisi 29. Jakarta: EGC. pp.265,266, 270,280-83.
- Ellam & Williamson, 2013. Cocoa and Human Health. [*Annu Rev Nutr.*](#), 33, pp. 105-128.
- Ferry S.P., I Gusti Putu Asus, Manurung., Manuntun, Puspawati., Ni Made, 2015. Efektifitas Antosianin Kulit Buah Jamblang (*Syzygium Cumini*) Sebagai Penurun Low Density Lipoprotein Darah. *CK*, 3(12), p.16.
- Hardiningsih, R. & Nurhidayat, N., 2006. Pengaruh Pemberian Pakan Hiperkolesterolemia terhadap Bobot Badan Tikus Putih Wistar yang Diinduksi Bakteri Asam Laktat. *Biodiv*, 7(2), pp.127-130.
- Indraswari., A, 2008. *Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewan Daru (Eugenia Uniflora L.) Menggunakan Metode Maserasi dengan Paramater Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid*. Skripsi.
- Katz, L.D., Doughty, K. & Ather, A., 2011. Cocoa and Chocolate in Human Health and Disease. [*Antioxid Redox Signal.*](#), 15(10), pp.2779-2811.
- Kelishadi, R., 2005. Cacao to Cocoa to Chocolate: Healthy Food? *ARYA J*, 1(1), pp.29-31.
- Kemenkes, 2014. Situasi Kesehatan Jantung. *Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI*, p.3.
- Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, 2009. Kolesterol. *Pangan dan Kesehatan*. [Online] Available at: <http://www.bit.lipi.go.id/pangan->

kesehatan/documents/artikel_kolesterol/kolesterol.pdf [Accessed 30 Mei 2017]

Pusat Penelitian dan Pengembangan, 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kakao*. Jakarta: Puslitbang Perkebunan, pp.1-18

Rabie'ah, Carlos, F.K., Griselda S, J., Sari, W. P., Kusumawardhani S., Tendean M., 2014. Tatalaksana Terkini Dislipidemia. *JKM*, 20(54), p.28.

Retnaninggalih., Anjani Putri, Efendi., Erfan, Hairuddin, 2015. Perbandingan Efek Air Rebusan Daun Salam dan Daun Seledri terhadap Penurunan Kadar LDL Darah Tikus Wistar Model Dislipidemia. *J. Agromed Med Sci*, 1(1), p.23.

Ruzaidi, A., Amin, I. & Nawalyah, A.G., 2005. The Effect of Malaysian Cocoa Extract on Glucose Levels and Lipid Profiles in Diabetic Rats. *J Ethnopharmacol.* , 98(1-2), pp.55-60.

Saragih, S., 2009. *Pengaruh Pemberian Infusa Daun Seledri (Apium graveolens L.) Terhadap Kadar Kolesterol Serum Darah Marmot (Cavia cobaya)*. Skripsi.

Sarastani, D., Soekarto, S.T., Muhctadi, T.R., Fardiaz, D., Apriyantono, A., 2002. *Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi ekstrak biji antung (Parinarium glaberrimum)*. Jurnal. Teknol. dan Industri Pangan, 13(2), pp. 149-156

Wati, Mila., Erwin, Tarigan, Daniel., 2017. *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Fraksi Etil Asetat Pada Daun Berwarna Merah Pucuk Merah (Syzygium Myrtifilium Walp.)*,JKM,14(2), p.103.

Weisburger, J.H., 2001. Chemopreventive Effects Of Cocoa Polyphenols On Chronic Diseases. *Exp Biol Med.*, 226, pp.891-97.

Wiryanthini , I.D., Sutadarma IWG., Yuliana, 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)*.IJBS, 17, pp.17-21.

W. Miller Jr, Donald, 2015. Fallacies in Modern Medicine: Statins and the Cholesterol-Heart Hypothesis. *AAPS*, 20(2), p.54

World Health Organization, 2017. *Cardiovascular Diseases*. [Online] Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/> [Accessed 26 Juli 2017)