

Tebal Dinding dan Diameter Lumen Arteria Koronaria Tikus Putih Setelah Pemberian Teh Kombucha Kadar 75% Waktu Fermentasi 6, 9 dan 12 Hari

The Thickness Of Wall and Lumen Diameter of Coronary Artery of Rats After Consumption of Fermented Kombucha Tea By 6, 9 and 12 Days on 75% Level

Sri Isdadiyanto

Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro

Email: isdadiyanto@yahoo.com

Diterima 1 Agustus 2018 / Disetujui 18 Oktober 2018

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian teh kombucha kadar 75% sebagai *drinking water* dengan variasi waktu fermentasi. Penelitian ini menggunakan Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sebanyak 16 ekor umur 2 bulan, dengan perlakuan Teh kombucha yang difermentasi selama 6, 9 dan 12 hari pada suhu 25°C *per oral*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan (selama 28 hari) dan 4 ulangan, yaitu : P0 = kontrol, tanpa tambahan teh kombucha, P1 = air minum + 1,8 ml teh kombucha pagi dan sore fermentasi 6 hari, P2 = air minum + 1,8 ml teh kombucha pagi dan sore fermentasi 9 hari, P3 = air minum + 1,8 ml teh kombucha pagi dan sore fermentasi 12 hari. Variabel yang diukur adalah kadar kolesterol, HDL dan LDL. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA yang dilanjutkan dengan Uji Duncan dengan taraf kepercayaan 95% dengan menggunakan perangkat lunak SPSS 10,0. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian teh kombucha tidak mempengaruhi tebal dinding dan diameter lumen arteria koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Kata kunci: Rattus norvegicus, teh kombucha kadar 75%, tebal dinding, diameter lumen, arteri koronaria

ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the influences of 75% kombucha tea level on wall thickness and lumen diameter of coronary artery in rats. Sixteen male *Rattus norvegicus* rats, 2 months of age were used as experimental animals, with treatment kombucha tea that has been fermented for 6, 9 and 12 days at the temperature of 25°C per oral. The research design used to a completely randomized with 4 treatment (for 4 weeks) and 4 replications, i.e., P0 = control, without of kombucha tea, P1 = water + 1,8 ml kombucha tea that has been fermented for 6 days in the morning and afternoon, P2 = water + 1,8 ml kombucha tea that has been fermented for 9 days in morning and afternoon, P3 = water + 1,8 ml kombucha tea that has been fermented for 12 days in morning and afternoon. Variables measured were wall thickness and lumen diameter of coronary artery. Data were analyzed with ANOVA followed by Duncan test at 95% confidence level were performed using SPSS version 10,0. The result showed that kombucha tea did not influences the wall thickness and lumen diameter of coronary artery in rats.

Keywords: Rattus norvegicus, 75% kombucha tea level, wall thickness, lumen diameter, coronary artery

PENDAHULUAN

Teh kombucha mengandung senyawa-senyawa kimia yaitu vitamin B (tiamin / B1, riboflavin / B2, niasin / B3, piridoksin / B6, sianokobalamin / B12), vitamin C dan polifenol. Teh kombucha diduga berperan dalam metabolisme lemak sehingga mempunyai potensi

untuk menurunkan kadar kolesterol LDL dan trigliserida, serta meningkatkan kadar HDL, hingga bisa mengurangi risiko terhadap penyakit pembuluh darah dan jantung koroner. Teh kombucha adalah minuman yang murah dan mudah dibuat oleh masyarakat di Indonesia yang memiliki beberapa khasiat bagi tubuh antara lain dapat mempengaruhi tubuh secara menyeluruh

dengan menstabilkan metabolisme tubuh. Melalui peningkatan metabolisme, penimbunan lemak di dalam tubuh yang terlalu banyak dapat dihindari. Katekin merupakan salah satu unsur dari polifenol dapat mencegah tekanan darah tinggi, mengurangi penimbunan kolesterol dalam darah, mempercepat pembuangan kolesterol melalui feses, menangkalkan radikal bebas, serta dapat mengurangi risiko penyakit kardiovaskuler (Naland, 2008).

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Purwaning (2010) dan Rahayu (2005) menggunakan teh kombucha terhadap tikus putih menunjukkan penurunan kadar kolesterol. Hal ini didukung pula oleh Adriani *et al.* (2011) yang menggunakan itik sebagai hewan percobaan menyatakan bahwa teh kombucha dapat menurunkan kadar kolesterol total darah, selain itu juga mengurangi kolesterol LDL dan menaikkan kolesterol HDL sesudah mengkonsumsi teh kombucha selama 4 minggu. Hasil penelitian Pratiwi *et al.* (2012) menyatakan pembuatan teh kombucha mempunyai kandungan alkohol tertinggi pada fermentasi hari ke-12 dan menurun pada hari ke-16, kandungan vitamin C menurun pada hari ke-4 dan meningkat kembali hingga hari ke-16. Asam total terus meningkat sampai hari ke-16, nilai pH dan gula total semakin menurun pada hari ke-16.

Kolesterol di dalam darah beredar tidak dalam keadaan bebas, akan tetapi berada dalam partikel – partikel lipoprotein. Lipoprotein merupakan senyawa kompleks antara lemak dan protein. Lipoprotein terdiri atas 4 jenis yaitu kilomikron, VLDL, *low density lipoprotein* (LDL), dan *high density lipoprotein* (HDL) (Devlin, 2002; Mayes & Botham, 2003^a). Satu atau lebih apoprotein (protein dan polipeptida) ditemukan pada setiap lipoprotein. Apoprotein utama HDL adalah apoprotein A, apoprotein utama LDL adalah apoprotein B, yang juga ditemukan pada VLDL dan kilomikron. Fungsi apoprotein A sebagai reseptor HDL dan apoprotein B sebagai reseptor LDL. Aterosklerosis berkaitan dengan rasio yang tinggi LDL:HDL atau rasio tinggi apoprotein B:A dalam plasma (Mayes & Botham, 2003^b). Apoprotein B merupakan protein utama dalam partikel lipoprotein aterogenik dan terutama terdapat dalam partikel LDL. Setiap

partikel LDL mengandung satu molekul apo B, dengan demikian konsentrasi apoprotein B mencerminkan jumlah partikel LDL dalam tubuh (Haksa, 2010).

Aterosklerosis berhubungan dengan peningkatan LDL. Pengaruh peningkatan kadar LDL akan diikuti akumulasi ester kolesterol dalam makrofag sehingga kemudian makrofag disebut sebagai sel busa. Kadar LDL yang tinggi menyebabkan tingginya kadar LDL intimal. LDL intimal akan mengalami oksidasi dan menarik monosit dari sirkulasi darah serta berubah secara fenotipik menjadi makrofag. Peningkatan LDL teroksidasi pada dinding arteri disertai dengan terbentuknya sel busa, akan berkembang menjadi lempeng lemak (Yanuartono, 2007).

Berdasarkan latar belakang di atas, perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan bukti dan informasi tentang tebal dinding dan diameter lumen arteria koronaria tikus putih setelah pemberian teh kombucha kadar 75% sebagai *drinking water* dengan variasi waktu fermentasi.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang. Hewan percobaan menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sebanyak 16 ekor umur 2 bulan (dewasa), sedang untuk bahan perlakuan yaitu teh kombucha kadar 75% yang difermentasi selama 6, 9 dan 12 hari pada suhu 25°C *per oral* dengan spuit injeksi ujung berkanul. Adapun alat-alat yang digunakan yaitu 16 kandang individu yang dilengkapi dengan tempat minum dan pakan, gelas ukur, timbangan digital, disetting set.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan yaitu : P0 = kontrol, tanpa tambahan teh kombucha, P1 = air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 6 hari, P2 = air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 9 hari, P3 = air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 12 hari. Pakan dan minum diberikan secara *ad libitum*.

Preparat histopatologi arteri koronaria dibuat dengan metode parafin dan fiksatif yang digunakan adalah larutan 10% *neutral buffered formalin*. Tahapan yang dilakukan setelah proses fiksasi adalah melakukan pemotongan tipis jaringan setebal kurang lebih 4 mm dengan orientasi sesuai dengan organ yang akan dipotong (*trimming*). Pisau yang digunakan untuk *trimming* adalah pisau skalpel No. 22-24. Jumlah potongan jaringan yang dapat dimuat dalam *embedding cassette* berkisar antara 1-5 buah disesuaikan dengan ukuran organ. Dehidrasi jaringan dilakukan setelah *trimming* menggunakan *tissue processor* (Leica, Germany), ini dimaksudkan untuk mengeluarkan air yang terkandung dalam jaringan dengan menggunakan cairan dehidran seperti etanol atau iso propyl alkohol. Cairan dehidran kemudian dibersihkan dari dalam jaringan dengan menggunakan reagen pembersih (*clearing agent*) yaitu xylol. Reagen pembersih ini akan diganti dengan parafin dengan cara dimasukkan dalam larutan parafin cair sehingga parafin terpenetrasi ke dalam jaringan; proses ini

disebut impregnasi. Parafin yang digunakan mempunyai titik cair 56-58°C. Pengaturan waktu dehidrasi pada *tissue processor* diberikan pada pada Tabel 1. Setelah melalui proses dehidrasi, jaringan yang berada di dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam *base mold*, kemudian diisi dengan parafin cair dan dilekatkan pada *embedding cassette* yang disebut blok. Jaringan dalam blok yang telah dingin, selanjutnya dipotong pada ketebalan irisan 4 µ dengan *rotary microtome*. Irisan tersebut ditempel pada gelas objek yang sebelumnya diolesi *Mayer's egg albumin* dan ditetesi aquades kemudian dibiarkan kering pada suhu kamar. Untuk selanjutnya setelah preparat mikroanotomi kering dilakukan pewarnaan dengan metode pewarnaan Hematoxylin Ehrlich-Eosin, kemudian dilakukan *mounting* dengan meneteskan entelan secukupnya dan ditutup dengan *coverglass*. Pengamatan preparat pada setiap perlakuan dilakukan dengan mikroskop cahaya untuk menentukan tebal dinding dan diameter lumen arteri koroner antar kelompok perlakuan.

Tabel 1. Pengaturan waktu dehidrasi pada *tissue processor*

Proses	Cairan	Waktu
Dehidrasi	Alkohol 80%	2 jam
	Alkohol 95%	2 jam
	Alkohol 95%	1 jam
	Alkohol absolut	1 jam
	Alkohol absolut	1 jam
	Alkohol absolut	1 jam
Clearing	Xylol	1 jam
	Xylol	1 jam
	Xylol	1 jam
Impregnasi	Parafin	2 jam
	Parafin	2 jam

Variabel yang diukur adalah tebal dinding dan diameter lumen arteri koronaria. Data yang diperoleh dianalisis dengan Anova, berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) (Mattjik dan Sumertajaya, 2006). Analisis keseluruhan menggunakan perangkat lunak software SPSS 10,0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data hasil analisis penelitian terhadap rata-rata tebal dinding dan diameter lumen arteri koronaria pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan setelah pemberian teh kombucha kadar 75% yang difermentasi selama 6, 9 dan 12 hari disajikan pada Tabel 2.

Hasil analisis pemberian teh kombucha kadar 75% yang difermentasi menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($P < 0.05$) baik pada tebal dinding arteri koronaria maupun diameter lumen arteri koronaria. Fermentasi teh kombucha 6,9 dan 12 hari yang diberikan, tidak mempengaruhi tebal dinding dan diameter lumen arteri koronaria pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada semua

perlakuan seperti tampak pada Tabel 1. Gambar histologis arteria koronaria terlihat jelas struktur pada masing-masing perlakuan yaitu adanya lumen aorta, dinding arteri koronaria, tunika intima, tunika media maupun tunika adventisia seperti terlihat pada Gambar 1, Gambar 2, Gambar 3 dan Gambar 4.

Tabel 2. Hasil analisis rata-rata tebal dinding dan diameter lumen arteri koronaria (μm) pada Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan setelah pemberian teh kombucha kadar 75% yang difermentasi selama 6, 9 dan 12 hari

Variabel	P0	P1	P2	P3
Tebal dinding	18.74 ^a ± 2.16	18.31 ^a ± 1.28	18.55 ^a ± 3.00	18.36 ^a ± 2.00
Diameter lumen	88.57 ^a ± 4.85	83.18 ^a ± 6.11	86.22 ^a ± 1.34	87.25 ^a ± 4.23

Keterangan : Angka dengan superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan pada taraf 95%. P0 = kontrol, tanpa tambahan teh kombucha kadar 75%, P1 = air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 6 hari, P2 = air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 9 hari, P3 = air minum 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 12 hari.

Hasil penelitian Isdadiyanto dan Tana (2016) menyatakan bahwa tikus putih yang diberi teh kombucha menunjukkan terjadinya hubungan LDL dengan kolesterol total yang berbanding lurus. Hal tersebut terjadi karena 45% kolesterol berada dalam bentuk LDL (Mathews & Van Holde, 2012). Artinya jika kolesterol total turun maka LDL juga turun. Hal ini terjadi karena terhambatnya atau terganggunya proses absorpsi kolesterol di usus halus dan meningkatnya ekskresi asam empedu melalui feses. Asam empedu merupakan hasil metabolisme akhir dari kolesterol. Dengan tingginya ekskresi asam empedu maka akan semakin banyak kolesterol yang diubah menjadi asam empedu untuk mengemulsikan lemak, sehingga kolesterol total dan LDL serum menurun. Lebih lanjut Isdadiyanto dan Tana (2016) menjelaskan bahwa mekanisme naiknya kadar HDL karena pengaruh pemberian Teh kombucha kemungkinan disebabkan oleh pengikatan asam empedu oleh metabolit (yang terkandung dalam teh kombucha) di dalam usus halus yang menyebabkan meningkatnya ekskresi asam empedu fekal, sehingga terjadi penurunan absorpsi lemak dan kolesterol, hal ini mengakibatkan kolesterol dalam hati rendah sehingga kolesterol untuk memproduksi asam

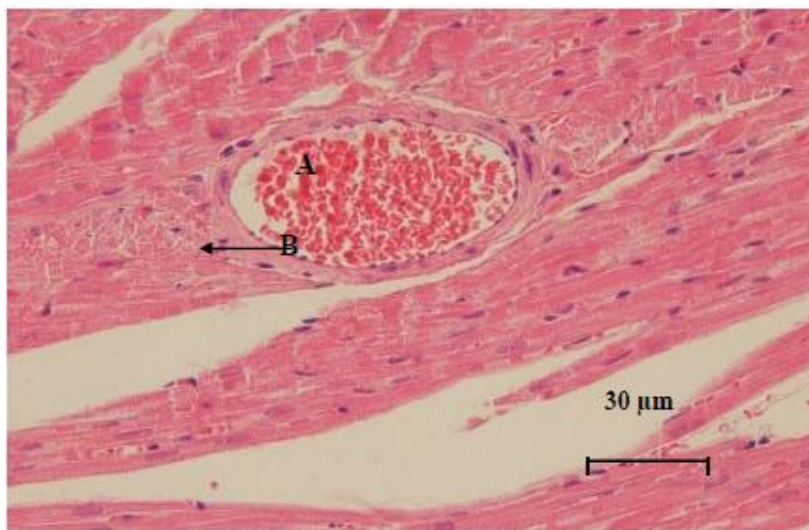
empedu kurang. Kondisi ini merangsang terjadinya sintesis HDL dalam hati untuk memenuhi kekurangan kolesterol tersebut. Akibatnya LDL serum lebih rendah daripada HDL serum.

Salah satu penyakit arteri koroner adalah aterosklerosis. Aterosklerosis terjadi bila arteri koroner tersumbat dan menyempit, sehingga menghambat aliran darah ke otot jantung. Tanpa darah yang mencukupi, jantung akan kekurangan oksigen dan nutrisi vital yang dibutuhkan jantung untuk bekerja sebagaimana mestinya. Bila satu pembuluh atau lebih arteri koroner tertutup total, dapat menyebabkan serangan jantung dan akhirnya terjadi kematian (Lewis *et al.*, 2004). Dinding arteri terdiri dari tiga tunika berturut-turut dari bagian dalam ke arah luar yaitu tunika intima, tunika media dan tunika adventisia. Tunika intima terdiri atas satu lapis sel endotelium, tunika media terdiri dari lapisan sel-sel otot polos dan jaringan elastin, tunika adventisia terdiri atas jaringan ikat (Junqueira dan Carneiro, 2003).

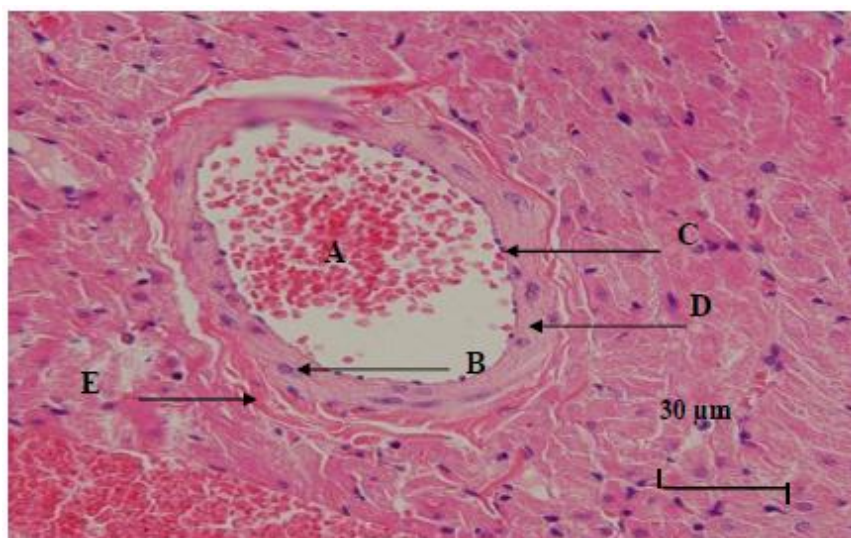
Penyakit pada arteria dapat terjadi dengan peningkatan kadar kolesterol LDL dan VLDL

dalam darah (hiperkolesterol). Kenaikan kadar kolesterol ini dapat terjadi bila ada gangguan pembentukan kolesterol dalam hepar atau usus halus (Sherwood, 2001). Kadar kolesterol LDL yang tinggi akan memicu penimbunan kolesterol di sel pembuluh darah, yang menyebabkan munculnya aterosklerosis dan terbentuknya plak di dinding pembuluh darah (Libby & Theroux, 2005). Aterosklerosis berhubungan dengan peningkatan LDL. Pengaruh peningkatan kadar LDL akan

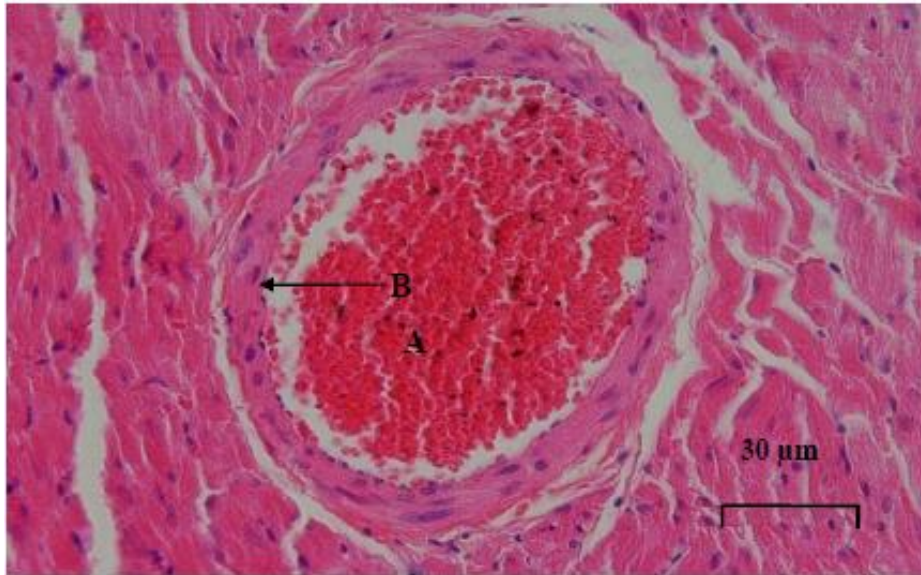
diikuti akumulasi ester kolesterol dalam makrofag sehingga kemudian makrofag disebut sebagai sel busa. Kadar LDL yang tinggi menyebabkan tingginya kadar LDL intimal. Selanjutnya LDL intimal akan mengalami oksidasi dan menarik monosit dari sirkulasi darah serta berubah secara fenotipik menjadi makrofag. Peningkatan LDL teroksidasi pada dinding arteri disertai dengan terbentuknya sel busa, akan berkembang menjadi lempeng lemak (Yanuartono, 2007).



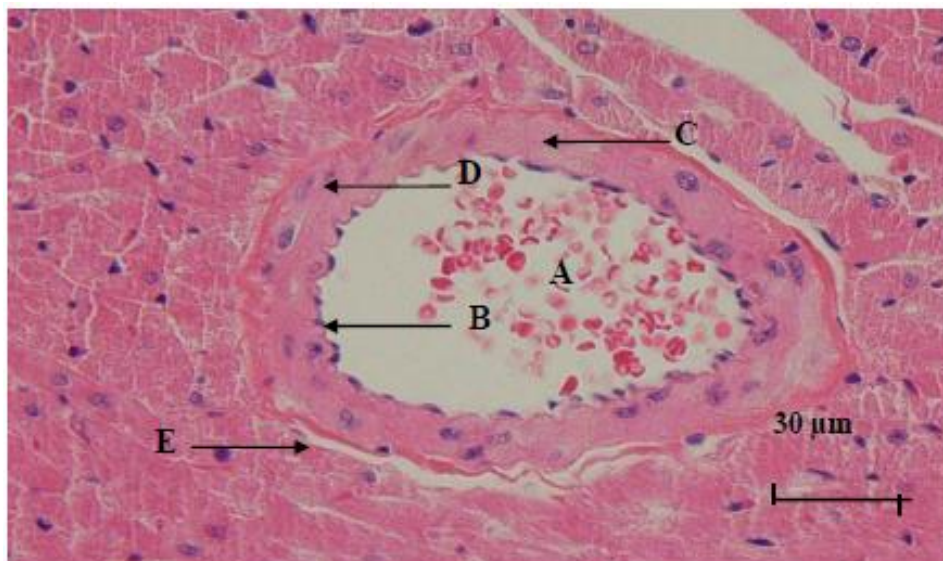
Gambar 1. Arteri koroner tikus putih P0 = kontrol, tanpa tambahan teh kombucha kadar 75%. A. Lumen arteri koroner dan B. Dinding arteri koroner (H&E, 40x10)



Gambar 2. Arteri koroner tikus putih P1 = diberi air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 6 hari. A. Lumen arteri koroner B. Dinding arteri koroner C Tunika intima D. Tunika media dan E. Tunika adventisia (H&E, 40x10)



Gambar 3. Arteri koroner tikus putih P2 = diberi air minum 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 9 hari. A. Lumen arteri koroner dan B. Dinding arteri koroner (H&E, 40x10)



Gambar 4. Arteri koroner tikus putih P3 = diberi air minum 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 12 hari. A. Lumen arteri koroner B. Dinding arteri koroner C. Tunika intima D. Tunika media dan E. Tunika adventisia (H&E, 40x10)

Hasil penelitian Isdadiyanto (2018) bahwa Teh kombucha kadar 100% yang difermentasi selama 6, 9 dan 12 hari berpotensi digunakan sebagai suplemen untuk pencegahan risiko terhadap penyakit pembuluh darah dan jantung koroner. Hasil tersebut sesuai dengan hasil

penelitian ini bahwa pemberian teh kombucha kadar 75% tidak menyebabkan terbentuknya plak pada dinding arteri koronaria hal ini dibuktikan dengan hasil analisis yang tidak berbeda pada diameter lumen arteria koronaria seperti terlihat pada Tabel 1, bahkan diduga dapat mencegah

terbentuknya plak yang akan terbentuk pada arteria koronaria. Hal ini dapat dijelaskan menurut Rahayu (2005) bahwa kandungan teh kombucha mengandung niasin yang berperan dalam merangsang pembentukan hormon prostaglandin I₂ yaitu hormon yang mencegah penggumpalan (agregasi) trombosit sehingga dapat memperkecil risiko aterosklerosis.

KESIMPULAN

Teh kombucha kadar 75% yang difermentasi selama 6, 9 dan 12 hari berpotensi digunakan sebagai suplemen untuk pencegahan risiko terhadap penyakit pembuluh darah dan jantung koroner.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, L., Mayasari, N., Angga and Kartasudjana, R. 2011. The effect of fermented Kombucha tea on HDL, LDL and Total Cholesterol levels in the duck bloods. Faculty of Animal Husbandry, Padjadjaran University, Bandung, Indonesia. *Biotechnology in Animal Husbandry*, Volume 27, No. 4. 1749-1755. 1 maret 2012.
- Devlin, M. 2002. *Textbook of Biochemistry, with Clinical Correlations*. Willeyliss. New York.
- Haksa, K. 2010. *Kadar kolesterol normal bukan jaminan terbebas dari risiko penyakit jantung koroner*. 17 September 2010. Kompas.com. All rights reserved.
- Isdadiyanto, S. dan Tana, S 2016. Pengaruh waktu fermentasi the Kombucha kadar 75% terhadap profil lipid tikus putih. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. Vol. 1. No.1: 30-35.
- Isdadiyanto, S. 2018. Tebal dinding dan diameter lumen arteria koronaria tikus putih setelah pemberian teh kombucha kadar 100% waktu fermentasi 6, 9 dan 12 hari. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. Vol. 3. No.1: 97-104.
- Junquiera LC, Carneiro J. 2003. *Basic Histology: Text & Atlas*. 10 Edition. London. The McGraw-Hill Companies. Inc. Pp. 203-218.
- Lewis R, Gaffin D, Hoefnagels M, Parker B. 2004. *Life fifth edition*. London. McGraw Hill Book Company. Inc.699-703.
- Libby, P. and P. Theroux. 2005. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation*. 111:3481-3488.
- Linder, M.C. 2010. *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme*, dengan Pemakaian secara klinis. Penerjemah Aminuddin Parakkasi. Cetakan ke 1. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta.
- Mathews, K.C. and K. E. Van Holde. 2012. *Biochemistry*. The Benjamin/Cummings Co.Inc. New York.
- Mattjik, A.A. dan I.M. Sumertajaya. 2006. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab*. Ed. Ke-3. IPB-Press. Bogor.
- Mayes, P.A. and K.M. Botham. 2003^a. *Lipid Storage & Transport*. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 26th edition. Mc.Graw Hill, 205-217.
- Mayes, P.A. and K.M. Botham. 2003^b. *Cholesterol Synthesis, Transport, and Excretion*. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 26th edition. Mc.Graw Hill, 219-227.
- Naland, H. 2008. *Kombucha; Teh dengan seribu khasiat*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Poedjiadi, A. 2009. *Dasar-dasar Biokimia*. UI Press. Jakarta.
- Pratiwi, A. Elfira, Aryawati, R. 2012. Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap sifat fisik dan kimia pada pembuatan minuman kombucha dari Rumput Laut Sargassum sp. *Maspari Journal*. 2012. 4(1). 131-136.
- Purwaning, A. 2010. Pengaruh kombucha Teh (*Acetobacter xylinum*) terhadap kadar kolesterol tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Department of Biology Universitas Muhammadiyah, Malang*. Studentresearch.um.ac.id/print/student_research_4178.html 4 Maret 2012

- Rahayu, T. 2005. Kadar kolesterol darah tikus putih setelah pemberian cairan kombucha per oral Jurusan Pendidikan Biologi, FKIP Universitas Muhammadiyah, Surakarta. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, Volume 6, No.2.
- Sherwood, L. 2001. *Human Physiology: From Cells to Systems*. A Division of Internasional Thomson Publishing Inc. All Right Reserved.
- Yanuartono. 2007. Role of high cholesterol and high fat diet on lipid profiles in *Sprague Dawley* rats. *Jurnal Sain Vet*. 25: 25-33.