



## Pengaruh pemberian ekstrak daun Alfalfa (*Medicago sativa*) terhadap profil lipid dan kadar malondialdehida tikus hiperkolesterolemia

*Effect of Alfalfa (Medicago sativa) leaf extract on lipid profile and malondialdehyde level in hypercholesterolemic rats*

Joyeti Darni<sup>1</sup>, Kusmiyati Tjahjono<sup>2</sup>, Muchlis Achsan Udji Sofro<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Magister Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

<sup>3</sup>Bagian Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Kariadi

### ABSTRACT

**Background:** Hypercholesterolemic as an indicator of cardiovascular disease is a major cause of morbidity and mortality in the world. Increased oxidative stress in hypercholesterolemic triggers lipid peroxidation effect directly on the cell membrane damage and initiate various diseases. The use of natural materials with relatively few side effects is an hypercholesterolemic management alternative. Experimental studies showed that Alfalfa leaf extract had an effective antioxidant activity. **Objectives:** To determine the effect of Alfalfa leaf extract on serum lipids and malondialdehyde (MDA) level of hypercholesterolemic rats. **Method:** Pre-posttest randomized control group used twenty eight male Sprague Dawley rats were randomly divided into four groups, hypercholesterolemic without treatment (control), hypercholesterolemic with extract at dose 20 mg/200 g/d (X<sub>1</sub>), dose 40 mg/200 g/d (X<sub>2</sub>), dose 60 mg/200 g/d (X<sub>3</sub>) for 21 days after the rats got hypercholesterolemic. Serum lipid was measured by CHOD-PAP method and level of MDA plasma was measured by TBARS method. Hypothesis test was analyzed by One Way Anova continued by Post hoc LSD test. **Results:** Alfalfa extract significant decrease in serum total cholesterol (114.18±3.0 mg/dl; p<0.001). LDL cholesterol level was the lowest in group X<sub>3</sub> (45.26±6.03 mg/dL; p<0.001), and triglycerides level was the lowest in group X<sub>3</sub> (77.33±2.69 mg/dL; p<0.001). There were no differences in MDA plasma level was the lowest in the group X<sub>3</sub> (2.07±0.09 nmol/ml; p<0.001) and significant increase in serum HDL cholesterol (43.21±7.80 mg/dL; p<0.001). **Conclusion:** The treatment of Alfalfa (*Medicago sativa*) leaf extract gives an effect of lower total cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, MDA and gives an effect higher HDL cholesterol.

**KEY WORDS:** Alfalfa; hypercholesterolemic; lipid profile; MDA

### ABSTRAK

**Latar belakang:** Hiperkolesterolemik sebagai indikator penyakit kardiovaskuler yang menjadi penyebab utama kesakitan dan kematian di seluruh dunia. Peningkatan stres oksidatif pada hiperkolesterolemik memicu terjadinya peroksidasi lipid yang berefek langsung pada kerusakan membran sel dan mengawali berbagai penyakit. Penggunaan bahan alami dengan efek samping relatif sedikit merupakan alternatif penatalaksanaan hiperkolesterolemik. Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun Alfalfa memiliki aktivitas antioksidan yang efektif. **Tujuan:** Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak daun alfalfa (*Medicago sativa*) terhadap profil lipid dan kadar MDA (*malondialdehid*) pada tikus hiperkolesterolemik. **Metode:** Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *pre-post test with control group design* pada 28 tikus putih jantan *Sprague Dawley* yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu 1 kelompok tanpa pemberian ekstrak Alfalfa (kontrol) dan kelompok dengan pemberian ekstrak Alfalfa dengan dosis 20 mg/200 g BB (X<sub>1</sub>), dosis 40 mg/200 g BB (X<sub>2</sub>), dosis 60 mg/200 g BB (X<sub>3</sub>) selama 21 hari setelah tikus mengalami hiperkolesterolemik. Profil lipid diukur dengan metode CHOD-PAP dan kadar MDA dengan metode TBARS. Uji hipotesis dianalisis dengan One Way Anova dilanjutkan Post hoc LSD. **Hasil:** Ekstrak Alfalfa signifikan menurunkan kadar kolesterol total (114,18±3,0 mg/dL; p<0,001). Kadar kolesterol LDL lebih rendah terdapat pada kelompok III (45,26±6,03 mg/dL; p<0,001) dan tidak berbeda dengan kadar trigliserida (77,33±2,69 mg/dL; p<0,001). Kadar MDA lebih rendah pada kelompok III (2,07±0,009 nmol/ml; p<0,001) dan signifikan dapat meningkatkan kolesterol HDL (43,21±7,80 mg/dL; p<0,001). Analisis statistik terhadap profil lipid dan kadar MDA menunjukkan perbedaan yang bermakna pada semua kelompok. **Simpulan:** Pemberian ekstrak daun Alfalfa (*medicago sativa*) dapat menurunkan kadar kolesterol total, kadar kolesterol LDL, kadar trigliserida, kadar MDA serta dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL.

**KATA KUNCI:** Alfalfa; hiperkolesterolemia; profil lipid; MDA

**Korespondensi:** Joyeti Darni, Program Studi Magister Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Jl. Dr. Soetomo No.18, Gd. Dekanat FK Semarang, e-mail: ummunillah21@gmail.com

## PENDAHULUAN

Peningkatan kadar kolesterol dapat menyebabkan penyempitan pembuluh darah (aterosklerosis). Aterosklerosis telah diketahui sebagai indikator penyakit kardiovaskuler yang menjadi penyebab utama kesakitan dan kematian di seluruh dunia (1). Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO), prevalensi kematian akibat penyakit kardiovaskuler pada tahun 2015 meningkat menjadi 20 juta orang meninggal (2). Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013, penduduk di atas usia 15 tahun dengan kolesterol total abnormal mencapai 35,9%; kolesterol *high-density lipoprotein* (HDL) rendah sebesar 22,9%; kolesterol *low-density lipoprotein* (LDL) tidak optimal dengan kategori gabungan *near optimal-borderline* 60,3% dan kategori tinggi-sangat tinggi sebesar 15,9%; trigliserida abnormal dengan kategori *borderline* tinggi 13,0% dan kategori tinggi-sangat tinggi 11,9% (3).

Peningkatan stres oksidatif pada hiperkolesterolemia memicu terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid yang tidak terkendali berefek langsung pada kerusakan membran sel dan mengawali berbagai penyakit (4). Salah satu indikator yang sering digunakan untuk mengetahui adanya peroksidasi lipid dalam tubuh adalah kadar malondialdehida (MDA) plasma. Malondialdehida terbentuk dari peroksidasi lipid pada membran sel yaitu reaksi radikal bebas dengan *poly-unsaturated fatty acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai, akibat akhir dari reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel (5).

Pengendalian kadar kolesterol dalam tubuh sangat diperlukan. Penatalaksanaan hiperkolesterolemia meliputi pengaturan diet dan pemberian obat (6). Penggunaan bahan alami sebagai obat tradisional telah banyak diteliti dan mempunyai efek samping yang relatif sedikit dibanding dengan obat modern (7). Alfalfa (*Medicago sativa*) mengandung komponen yang bersifat fungsional bagi tubuh, tidak hanya zat gizi vitamin dan mineral, tetapi juga fitokimia karoten, klorofil, kumarin, betasitosterol, isoflavan, flavonoid, saponin, kriptosantin, daidzein, genistin, limonene, lutein, dan zeaxantin (8). Alfalfa umum dikonsumsi dalam bentuk kecambah, batang, biji, akar, dan daun. Masyarakat Amerika,

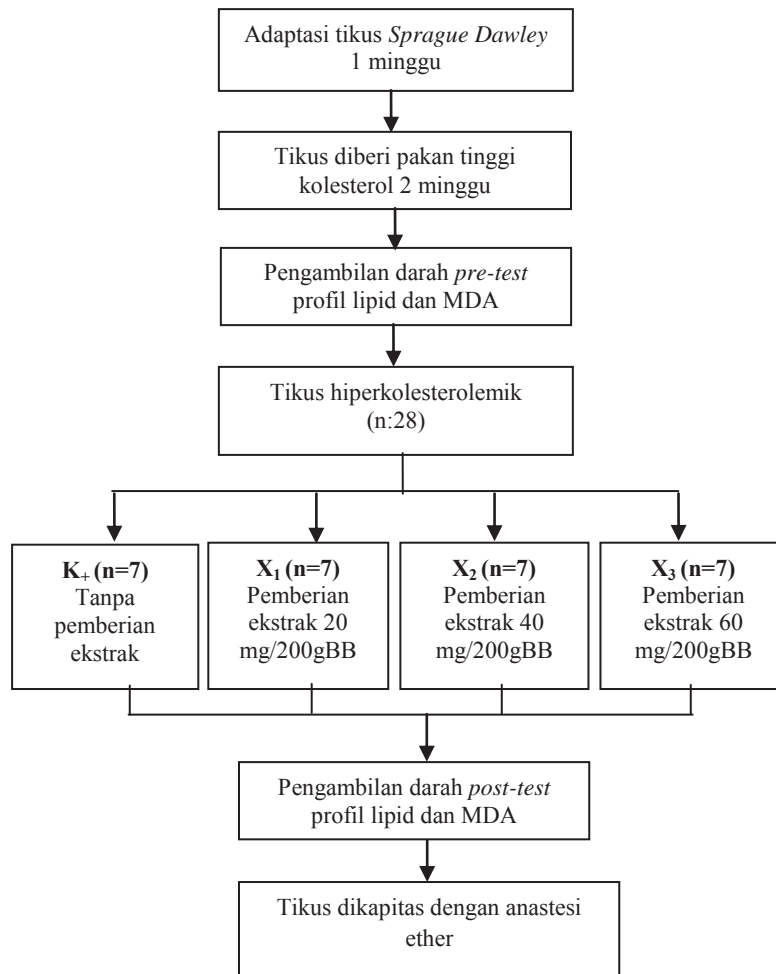
Australia, dan Cina biasa mengkonsumsi bagian daun Alfalfa yang digunakan sebagai salah satu bahan salad dan sup, direbus, jus, dan teh. Bagian terbaik dari Alfalfa adalah bagian daun Alfalfa (tanpa akar dan batang) yang mengandung klorofil empat kali tanaman sayur lainnya dan mengandung sekitar 2-3% saponin (9).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tanaman Alfalfa dosis 250 mg/kg dan 500 mg/kg pada tikus dapat menurunkan kadar kolesterol total (10). Disebutkan juga bahwa ekstrak saponin Alfalfa dapat menurunkan kadar kolesterol (11). Flavonoid meningkatkan aktivitas lipoprotein lipase sehingga berpengaruh terhadap kadar trigliserida serum (12). Penelitian lain menunjukkan *extract of Medicago sativa stem* (EMsS) pada tikus dosis 100 mg/kg dan 150 mg/kg dapat menurunkan peroksidasi lipid (13). *European food safety authority* (EFSA) merekomendasikan konsumsi Alfalfa sebagai suplemen makanan sebanyak 10 g/hari (14).

Penelitian di Indonesia tentang tanaman Alfalfa (*Medicago sativa*) masih kurang. Penelitian ini merupakan awal pemberian ekstrak daun Alfalfa dengan dosis tertentu yang diberikan ke hewan coba. Berdasarkan rekomendasi EFSA dan dosis penelitian sebelumnya, pemberian dosis harian pada penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh dosis yang paling efektif terhadap profil lipid dan kadar MDA pada tikus *Sprague Dawley* hiperkolesterolemia yang diberikan dosis 20 mg/200 g berat badan (BB), 40 mg/200 g BB, dan 60 mg/200 g BB.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Februari-April 2016 di laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Pembuatan ekstrak daun Alfalfa dilakukan di laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Unit II Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental murni dengan rancangan *randomized pre-post test with control group design*. Pada rancangan ini tikus-tikus yang telah dibuat hiperkolesterolemia dilakukan randomisasi kemudian dibagi menjadi 4 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 7



Gambar 1. Skema alur penelitian

ekor tikus hiperkolesterolemia. Dua puluh delapan tikus putih jantan *Sprague Dawley* dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok hiperkolesterolemia tanpa pemberian ekstrak ( $K_+$ ); kelompok hiperkolesterolemia dengan pemberian ekstrak dosis 20 mg/200 g BB ( $X_1$ ); dosis 40 mg/200 g BB ( $X_2$ ); dan dosis 60 mg/200 g BB ( $X_3$ ).

Daun Alfalfa segar berasal dari Selo, Boyolali dan dilakukan determinasi daun Alfalfa di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik, Jurusan Biologi Universitas Diponegoro Semarang untuk memperoleh kepastian bahwa tanaman yang digunakan adalah Alfalfa. Daun alfalfa segar dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari selama 2 x 8 jam. Simplisia daun Alfalfa kering dibuat serbuk dan ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 3 x 24 jam, dengan perbandingan

pelarut dan serbuk 3:1. Proses diulang sekali dengan jenis dan jumlah pelarut setengah dari pelarut semula, disaring, kemudian filtrat yang diperoleh dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental.

Variabel independen penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun Alfalfa sementara variabel dependen meliputi profil lipid dan kadar MDA. Total sampel tikus putih jantan *Sprague Dawley* berjumlah 28 ekor dengan berat badan 200-250 g dan berumur 8-10 minggu. Tikus ditempatkan dalam kandang (individual) yang terbuat dari plastik dialasi kertas dan diberi jerami, dipelihara dalam lingkungan sama dengan temperatur suhu 18-26°C serta sirkulasi udara dan cahaya yang cukup. Setelah adaptasi selama 1 minggu, tikus diberikan diet tinggi kolesterol selama 2 minggu. Tikus hiperkolesterolemia dilakukan random menjadi 4

kelompok masing-masing 7 ekor kemudian dilakukan pengambilan darah tikus untuk *pre-test* kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan kadar MDA. Kelompok kontrol diberikan pakan standar AD II dan ditambah air minum *ad libitum* sementara tiga kelompok perlakuan diberikan ekstrak daun Alfalfa dengan dosis bertingkat yaitu 20 mg/200 g BB, 40 mg / 200 g BB, dan 60 mg / 200 g BB. Setelah perlakuan selama 3 minggu dilakukan pemeriksaan *post-test* kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan MDA (**Gambar 1**).

Pengambilan sampel darah melalui pembuluh darah mata (*plexus reorbitalis*) sebanyak 1,5 cc. Darah yang diperoleh dimasukkan dalam *microtube*, setelah itu disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit untuk diambil serumnya. Pengukuran kadar serum profil lipid meliputi kadar kolesterol total, kolesterol

LDL, dan kolesterol HDL dengan metode *cholesterol oxidase - para amino antipyrine* (CHOD-PAP); kadar trigliserida dengan metode *glycerol 3 phosphate oxidase - phenol aminophenazone* (GPO-PAP); dan kadar MDA menggunakan metode *thioarbituric acid reactive substances* (TBARS) reagen kits.

Analisis statistik yang digunakan untuk menguji perbedaan secara keseluruhan rerata perubahan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, trigliserida, dan kadar MDA pada kelompok tanpa pemberian ekstrak (kontrol) dan kelompok dengan pemberian ekstrak adalah analisa varian satu arah (*One-way ANOVA*). Apabila antarperlakuan didapatkan hasil yang bermakna ( $p < 0,05$ ) maka dilanjutkan dengan uji beda *Post Hoc LSD*. Penelitian dilakukan setelah memperoleh *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro /

**Tabel 1. Karakteristik rerata perubahan profil lipid dan kadar MDA hewan coba pada awal dan akhir perlakuan**

Variabel	Kelompok	Awal (Mean ± SD)	Akhir (Mean ± SD)	Δ	% Δ	p
Kolesterol total	K <sub>+</sub>	215,41 ± 6,52	215,48 ± 6,59	0,07	0,03	0,984 <sup>a</sup>
	X <sub>1</sub>	210,60 ± 6,24	177,91 ± 4,81	32,69	15,52	0,328 <sup>a</sup>
	X <sub>2</sub>	215,70 ± 9,19	131,97 ± 4,34	83,73	38,81	0,538 <sup>a</sup>
	X <sub>3</sub>	212,56 ± 4,46	114,18 ± 3,00	98,38	46,28	0,347 <sup>a</sup>
	p		0,460 <sup>b</sup>	0,001 <sup>b</sup>		
Trigliserida	K <sub>+</sub>	132,95 ± 5,11	133,33 ± 5,50	0,38	0,28	0,400 <sup>a</sup>
	X <sub>1</sub>	134,41 ± 3,13	116,23 ± 2,69	18,18	13,52	0,701 <sup>a</sup>
	X <sub>2</sub>	135,24 ± 2,21	96,04 ± 2,40	39,20	28,98	0,591 <sup>a</sup>
	X <sub>3</sub>	135,77 ± 2,76	77,33 ± 2,69	58,44	43,04	0,993 <sup>a</sup>
	p		0,470 <sup>b</sup>	0,001 <sup>b</sup>		
Kolesterol HDL	K <sub>+</sub>	25,60 ± 1,49	24,72 ± 2,92	0,88	3,43	0,380 <sup>a</sup>
	X <sub>1</sub>	25,21 ± 0,67	33,71 ± 3,74	8,50	33,71	0,149 <sup>a</sup>
	X <sub>2</sub>	25,11 ± 1,94	38,77 ± 4,75	13,66	54,40	0,265 <sup>a</sup>
	X <sub>3</sub>	24,22 ± 2,03	43,21 ± 7,80	18,99	78,40	0,672 <sup>a</sup>
	p		0,458 <sup>b</sup>	0,001 <sup>b</sup>		
Kolesterol LDL	K <sub>+</sub>	73,94 ± 2,90	75,57 ± 4,10	1,64	2,20	0,474 <sup>a</sup>
	X <sub>1</sub>	75,55 ± 3,00	70,81 ± 3,78	4,74	6,27	0,601 <sup>a</sup>
	X <sub>2</sub>	77,36 ± 1,59	61,34 ± 6,22	16,02	20,70	0,800 <sup>a</sup>
	X <sub>3</sub>	76,51 ± 2,59	45,26 ± 6,03	31,25	40,84	0,926 <sup>a</sup>
	p		0,392 <sup>b</sup>	0,001 <sup>b</sup>		
MDA	K <sub>+</sub>	7,56 ± 0,24	7,67 ± 0,24	0,11	1,45	0,846 <sup>a</sup>
	X <sub>1</sub>	7,63 ± 0,20	4,90 ± 0,16	2,73	35,77	0,503 <sup>a</sup>
	X <sub>2</sub>	7,60 ± 0,13	3,17 ± 0,19	4,43	58,28	0,619 <sup>a</sup>
	X <sub>3</sub>	7,48 ± 0,22	2,07 ± 0,09	5,41	72,32	0,976 <sup>a</sup>
	p		0,523 <sup>b</sup>	0,001 <sup>b</sup>		

<sup>a</sup> = Uji Shapiro-Wilk; <sup>b</sup> = Uji One Way ANOVA

**Tabel 2. Uji *Post Hoc*<sup>1</sup>**

Kelompok		P				MDA
		Kolesterol total	Trigliserida	Kolesterol HDL	Kolesterol LDL	
K <sub>+</sub>	X <sub>1</sub>	0,001	0,001	0,006	0,019	0,001
	X <sub>2</sub>	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
	X <sub>3</sub>	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
X <sub>1</sub>	K <sub>+</sub>	0,001	0,001	0,006	0,019	0,001
	X <sub>2</sub>	0,001	0,001	0,111	0,001	0,001
	X <sub>3</sub>	0,001	0,001	0,003	0,001	0,001
X <sub>2</sub>	X <sub>1</sub>	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
	K <sub>+</sub>	0,001	0,001	0,111	0,001	0,001
	X <sub>3</sub>	0,001	0,001	0,100	0,001	0,001
X <sub>3</sub>	K <sub>+</sub>	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
	X <sub>1</sub>	0,001	0,001	0,003	0,001	0,001
	X <sub>2</sub>	0,001	0,001	0,100	0,001	0,001

<sup>1</sup>Fisher's least significant difference (LSD)

Rumah Sakit Umum Pusat dr. Kariadi No.087/EC/FK-RSDK/2016 tertanggal 19 Februari 2016.

## HASIL

Karakteristik kondisi awal semua tikus dalam kondisi homogen, baik untuk kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL, kolesterol LDL, maupun kadar MDA. Rerata kolesterol total hewan coba kelompok X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, dan X<sub>3</sub> menurun pada akhir perlakuan dengan rerata penurunan kolesterol total paling banyak pada kelompok X<sub>3</sub> (46,28%) dan rerata penurunan kolesterol total paling sedikit pada kelompok X<sub>1</sub> (15,52%) sedangkan rerata kolesterol total kelompok K<sub>+</sub> meningkat pada akhir perlakuan sebesar (0,03%). Rerata trigliserida kelompok X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, dan X<sub>3</sub> juga menurun pada akhir perlakuan dengan rerata penurunan trigliserida paling banyak pada kelompok X<sub>3</sub> (43,04%) dan rerata peningkatan trigliserida paling sedikit pada kelompok X<sub>1</sub> (13,52%).

Lebih lanjut, rerata kolesterol HDL hewan coba pada kelompok X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, dan X<sub>3</sub> meningkat pada akhir perlakuan dengan rerata peningkatan kolesterol HDL paling banyak pada kelompok X<sub>3</sub> (78,40%) dan rerata peningkatan kolesterol HDL paling sedikit pada kelompok X<sub>1</sub> (33,71%) sedangkan rerata kolesterol HDL hewan coba kelompok K<sub>+</sub> menurun pada akhir perlakuan (3,43%). Rerata kolesterol LDL hewan coba

yang mengalami penurunan pada akhir perlakuan terdapat pada kelompok X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> dan kelompok X<sub>3</sub> mengalami penurunan paling banyak (40,84%). Demikian juga dengan rerata kadar MDA yang mengalami penurunan terbesar terdapat pada kelompok X<sub>3</sub> (72,32%).

Uji statistik diawali dengan melakukan uji normalitas data perubahan berat badan, perubahan kolesterol total, perubahan trigliserida, perubahan kolesterol HDL, perubahan kolesterol LDL, dan perubahan MDA. Uji *Shapiro-Wilk* ( $p > 0,05$ ) untuk perubahan berat badan, kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL, kolesterol LDL, dan MDA menunjukkan data terdistribusi normal dan dianalisis menggunakan *One-way ANOVA*. Berdasarkan **Tabel 1** didapatkan hasil uji *One-way ANOVA* untuk data perubahan kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL, kolesterol LDL, dan MDA diperoleh nilai p kurang dari 0,05 ( $p = 0,001$ ), artinya terdapat perbedaan perubahan kolesterol total, perubahan trigliserida, perubahan kolesterol HDL, perubahan kolesterol LDL, dan perubahan MDA yang bermakna pada semua kelompok perlakuan.

Hasil Uji lanjutan *Post Hoc* LSD menunjukkan adanya perbedaan perubahan kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, dan MDA secara bermakna pada semua kelompok X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> dan K<sub>+</sub>. Namun, perbedaan perubahan kolesterol HDL tidak berbeda secara bermakna antara kelompok X<sub>1</sub> dan X<sub>2</sub>, antara kelompok X<sub>2</sub> dan K<sub>+</sub>, dan antara kelompok X<sub>3</sub> dan X<sub>2</sub> (**Tabel 2**).



## BAHASAN

Penelitian meta-analisis mengungkapkan bahwa saponin, flavonoid, phitoestrogen, kumarin, alkaloid, asam amino, pitosterol, vitamin, dan serat merupakan komponen utama tanaman Alfalfa (*Medicago sativa*) yang digunakan sebagai antioksidan dan hipokolesterolemia (15). Saponin adalah deterjen atau glikosida alami, kemampuan busa dari saponin disebabkan oleh kombinasi dari saponin yang bersifat hidrofobik dan bagian rantai gula yang bersifat hidrofilik (16). Efek aktivitas hipokolesterolemia dari saponin adalah efek merugikan pada penyerapan kolesterol dan derivat garam empedu. Inti cincin steroid planar dari saponin berinteraksi dengan cincin planar dari kolesterol dan garam empedu sehingga menghalangi penyerapannya (17).

Penelitian yang dilakukan di Ohio bahwa saponin mempunyai kemampuan membentuk misel antara garam empedu dan kolesterol secara *in vitro* (18). Agregasi saponin dengan garam empedu dapat mempengaruhi sirkulasi enterohepatik asam empedu dan selanjutnya berpengaruh secara tidak langsung terhadap metabolisme kolesterol. Secara normal, garam empedu dibawa kembali 90% oleh sirkulasi enterohepatik, tetapi dengan adanya saponin mengikat garam empedu pada saluran pencernaan menyebabkan tidak terserapnya garam empedu dan meningkatkan ekskresi garam empedu feses dan mempercepat sintesis garam empedu endogenus yang akhirnya dapat menurunkan tingkat kolesterol di serum dan di hati (19).

Senyawa lain yaitu flavonoid sebagai senyawa aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dari flavonoid dapat menurunkan kadar kolesterol dengan cara menghambat aktivitas enzim HMG KoA reduktase. Pembentukan kolesterol di dalam tubuh diawali dengan pembentukan senyawa HMG KoA dari asetil KoA yang disintesis oleh enzim HMG KoA sintase, selanjutnya HMG KoA akan diubah menjadi mevalonat oleh aktivitas enzim HMG KoA reduktase. Mevalonat kemudian diubah menjadi skualin lanosterol sehingga terbentuk kolesterol (20).

Lebih lanjut, trigliserida atau triasilgliserol adalah senyawa lipid utama dalam makanan dan timbunan lemak tubuh (21). Klorofil dapat menghambat proses oksidasi lipid yang mengakibatkan terhambatnya proses

pembentukan asetil Ko-A yang berperan dalam biosintesis trigliserida sehingga trigliserida yang ditransfer ke serum akan menurun. Pemberian alga yang mengandung klorofil dapat meningkatkan aktivitas lipoprotein lipase, suatu enzim yang berperan utama dalam metabolisme lipoprotein kaya trigliserida (22).

Kandungan flavonoid pada daun Alfalfa dapat meningkatkan aktivitas enzim lipoprotein lipase, dengan meningkatnya enzim tersebut lipoprotein *very low-density lipoprotein* (VLDL) yang mengangkut trigliserida akan mengalami hidrolisis menjadi asam lemak dan gliserol. Asam lemak yang dibebaskan kemudian diserap oleh otot dan jaringan lain yang dioksidasi untuk menghasilkan energi dan oleh jaringan adiposa disimpan sebagai cadangan energi (23). Flavonoid dapat menghambat *fatty acid synthase* (FAS) yaitu enzim penting dalam metabolisme lemak. Adanya hambatan pada FAS secara langsung menurunkan pembentukan asam lemak, dengan demikian penurunan asam lemak dapat menyebabkan penurunan dalam pembentukan trigliserida (24).

Alfalfa juga dikenal sebagai salah satu tanaman yang tinggi akan kandungan saponin (2-3%). Saponin dapat memperbaiki kadar kolesterol LDL dan HDL. Penelitian di Cina menyebutkan bahwa pemberian saponin yang diekstrak dari Alfalfa dapat menurunkan kadar kolesterol LDL secara bermakna ( $p < 0,05$ ). Saponin dalam penelitian ini terbukti menghambat enzim yang berperan dalam proses sintesis kolesterol yaitu HMG CoA reduktase, enzim *Acyl-CoA cholesterol O-acyltransferase 2* (ACAT<sub>2</sub>) yang berperan dalam produksi lipoprotein aterogenik, meningkatkan ekskresi kolesterol melalui peningkatan *cholesterol 7-alpha-hydroxylase* (CYP<sub>7A1</sub>) yang berperan dalam pemecahan kolesterol serum dan hati, serta meningkatkan aktivitas reseptor LDL (11).

Mekanisme hipokolesterolemia juga didukung oleh keberadaan serat. Konsumsi serat diketahui dapat menurunkan kadar kolesterol LDL. Sebuah penelitian meta-analisis menjelaskan bahwa asupan serat dapat menurunkan kadar LDL secara signifikan (25). Serat dapat meningkatkan ekskresi garam empedu dan kolesterol melalui feses. Serat menyebabkan perubahan pada *pool* garam empedu dari asam kolat menjadi asam dioksikolat yang menghambat aktivitas HMG KoA reduktase yang dibutuhkan agar kolesterol dapat disintesis (26).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan di Iran bahwa tanaman Alfalfa signifikan meningkatkan kadar kolesterol HDL. Antioksidan dapat meningkatkan kadar HDL dengan cara meningkatkan mRNA Apo A1 hati yang berperan dalam menginisiasi sintesis Apo A1 yang merupakan komponen utama HDL. Apo A1 juga dapat menekan perbanyakkan LDL (27). Ekstrak *Medicago sativa* mengandung senyawa polifenol yang tinggi dan berperan sebagai antioksidan (28). Antioksidan berperan dalam mempengaruhi reaksi rantai dengan memindahkan produk intermediet radikal bebas, menghambat agen oksidasi lain. Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung adalah dengan mendonorkan ion hidrogen untuk menangkap radikal hidroksil (OH) agar tidak menjadi reaktif sehingga menghambat radikal bebas. Flavonoid bekerja melalui penangkapan dan menghilangkan O- pada peroksida nitrit (ONOO<sup>-</sup>) yang terbentuk dari nitrit oksida (NO) dengan superoksida (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) yang bersifat radikal bebas (29).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya di India yang juga menunjukkan bahwa ekstrak Alfalfa dapat menurunkan peroksidasi lipid (30). Kandungan flavonoid sebagai antioksidan di dalam tanaman Alfalfa dapat menghambat proses inisiasi sehingga mencegah pembentukan radikal lipid yang bersifat tidak stabil karena hilangnya satu atom hidrogen (H) dari molekul lipid akibat radikal hidroksil (OH<sup>-</sup>) dan mencegah proses propagasi sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan oksigen dan secara tidak langsung menurunkan kadar MDA (31).

Penurunan rerata profil lipid dan kadar MDA pada kelompok X<sub>3</sub> lebih banyak daripada kelompok X<sub>1</sub> dan X<sub>2</sub> karena dosis ekstrak daun Alfalfa kelompok X<sub>3</sub> (60 mg) dua kali lebih tinggi daripada dosis ekstrak daun Alfalfa kelompok X<sub>1</sub> (20 mg) dan X<sub>2</sub> (40 mg). Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian di Mesir bahwa kandungan antioksidan pada Alfalfa dapat memperbaiki profil lipid dan menurunkan kadar MDA (32). Selain itu, hasil penelitian ini sejalan juga dengan penelitian di Iran yang mendapatkan pemberian ekstrak Alfalfa dosis 500 mg/kg menunjukkan penurunan tingkat LDL, trigliserida, kolesterol, dan VLDL serta meningkatkan kadar HDL yang lebih tinggi dan lebih signifikan daripada pemberian ekstrak Alfalfa dosis 250 mg/kg (33). Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar dosis ekstrak daun

Alfalfa, dapat memperbaiki profil lipid dan menurunkan kadar MDA semakin besar pula. Alfalfa adalah sumber kaya vitamin dan fitoestrogen sehingga digunakan sebagai aditif makanan di banyak negara maju (34).

## SIMPULAN DAN SARAN

Pemberian ekstrak daun Alfalfa (*Medicago sativa*) dapat menurunkan kadar kolesterol total, kadar kolesterol LDL, kadar trigliserida, dan kadar MDA serta meningkatkan kadar kolesterol HDL dengan dosis yang paling efektif sebesar 60 mg/200 g BB. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan uji toksisitas dan uji lebih lanjut terhadap senyawa aktif daun Alfalfa yang berperan memperbaiki profil lipid dan menurunkan kadar MDA.

### *Pernyataan konflik kepentingan*

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini.

## RUJUKAN

1. Amin KA, El-Twab TM. Oxidative markers, nitric oxide and homocysteine ateration in hypercholesterolemic rats: role of atorvastatine and cinnamon. *Int J Clin Med* 2009;2(2):54-65.
2. World Health Organization. World health statistic 2013. Italy: WHO; 2013.
3. Badan Penelitian dan Pengembangan Kemenkes RI. Hasil riset kesehatan dasar (Rikesdas). Jakarta: Kemenkes RI; 2013.
4. Utami DFR. Peroksidasi lipid pada tikus hiperkolesterolemia selama pemberian ekstrak kulit batang Mahoni (*Swietenia macrophylla*). Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2010.
5. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci P. Potensial marker of oxidative stress in stroke. *Free Radic Biol Med* 2005;39(7):841-52.
6. World Health Organization. Prevention and treatment both work says WHO study on heart disease. Geneva: WHO; 2010.
7. Subashini R, Rajadurai M. Evaluation of cardioprotective efficacy of *Nelumbo nucifera* leaf extract on isoproterenol-induced myocardial infarction in Wistar rats. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2011;2(4):285-94.
8. Rahmayanti E, Sitanggang M. Taklukan penyakit dengan klorofil Alfalfa. Jakarta: Agromedia; 2006.
9. Colodny LR, Montgomery A, Houston M. The role of ester in processed Alfalfa saponins in reducing cholesterol.

- Journal of the American Nutraceutical Association 2001;3:1-10.
10. Nazir A, Zia UR, Nafees A, Shujait A, Maqbool A, Ijaz A. Effects of *Medicago sativa* on some serum biochemical metabolites in rats. Int J Agric Biol 2013;15(2):297-300.
  11. Shi Y, Guo R, Wang X, Yuan D, Zhang S, Wang C, et al. The regulation of Alfalfa saponin extract on key genes involved in hepatic cholesterol metabolism in hyperlipidemic rats. PLoS One 2014;9(2):e88282.
  12. Ling WH, Cheng QX, Ma J, Wang T. Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits. J Nutr 2001;131(5):1421-6.
  13. Gomathi R, Vijipriya M, Usha K. Cardioprotective effect of ethanolic extract of *Medicago sativa* stem (EMsS) on isoproterenol induced myocardial infarction in Wistar albino rats. Intr J Pharm Pharm Sci 2014;6(2):839-42.
  14. Bresson JL, Albert F, Marina H, Karin H, Hannu K, Pagona L, et al. Scientific opinion of the panel on dietetic products nutrition and allergies on a request from the European Commission on the safety of 'Alfalfa protein concentrate' as food. The EFSA Journal 2009;7(4):1-19.
  15. Bora KS, Sharma A. Phytochemical and pharmacological potential of *Medicago sativa*: a review. Pharm Biol 2011;49:211-20.
  16. Jorge FS, Ferreira, Monica V, Cornacchione, Xuan Liu, Donald L, et al. Nutrient composition, forage parameters, and antioxidant capacity of Alfalfa (*Medicago sativa*, L.) in response to saline irrigation water. Agriculture 2015;5:577-97.
  17. Sirohi SK, Goel N, Singh N. Utilization of saponins, a plant secondary metabolite in enteric methane mitigation and rumen modulation. Annual Research & Review in Biology 2014;4(1):1-19.
  18. Carlson BSEM. Saponin: biactivity and potential impact on intestinal health [Thesis]. Amerika Serikat: The Ohio State University; 2009.
  19. Levy E, Spahis S, Sinnott D, Peretti N, Maupas SF, Delvin E, et al. Intestinal cholesterol transport proteins: an update and beyond. Curr Opin Lipidol 2007;18:310-18.
  20. Zou Y, Lu Y, Wei D. Hypocholesterolemic effect of flavonoid-rich extract of hypericum perforatum in rat fed a cholesterol-rich diet. J Agric Food Chem 2005;53(7):2462-6.
  21. Ros E. Intestinal absorption of triglyceride and cholesterol. Dietary and pharmacological inhibition to reduce cardiovascular risk. Atherosclerosis 2000;151:357-79.
  22. Botham KM, Mayes PA. Metabolisme asilgliserol dan sfingolipid. In: Jensen GS, Gisberg DI, Drapeau C. Blue-green algae as an immuno-enhancer and biomodulator. JANA 2001;3(4):24-30.
  23. Marks AD, Smith CM. Biokimia kedokteran dasar: sebuah pendekatan klinis. Jakarta: ECG; 2000.
  24. Tian W, Ma X, Zhang S, Sun Y, Li, Bing-hui L. Fatty acid synthase inhibitor from plants and their potential application in the prevention of metabolic syndrome. Clin Oncol Cancer Res 2011;8:1-9.
  25. Brown L, Rosner B, Willett WW, Frank M. Sacks cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. Am J Clin Nutr 1999;69(1):30-42.
  26. Groppers SS, Smith JL, Graff JL. Advanced nutrition and human metabolism 4th. Belmont, CA: Thomson Wadsworth; 2005.
  27. Asgary S, Moshtaghian J, Hosseini M, Naderi. Effects of Alfalfa on lipoproteins and fatty streak formation in hypercholesterolemic rabbits. Pak J Pharm Sci 2008;21(4):460-4.
  28. Rana MG, Katbamna RV, Padhya AA, Dudhrejiya AD, Jivani NP, Sheth NR. In vitro antioxidant and free radical scavenging studies of alcoholic extract of *Medicago sativa*. Rom J Biol – Plant Biol 2010;55(1):15-22.
  29. Valcheva KS, Kuzmanov K, Mihova V, Krasnaliev I, Borisova P, Belcheva A. Antihyperlipidemic effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice in rats fed a high-cholesterol diet. Plant Foods Hum Nutr 2007;62(1):19-24.
  30. Gomathi R, Vijipriya M, K Usha. Cardioprotective effect of ethanolic extract of *Medicago sativa* stem (EMsS) on isoproterenol induced myocardial infarction in Wistar Albino rats. Intr J Pharm Pharm Sci 2014;6(2):839-42.
  31. Chen XN, Fan JF, Yue X, Wu XR, Li LT. Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Mopan). J Food Sci 2008;73(1):24-8.
  32. Khaleel AE, Mohamed Z, Shohda A, Maraghy, Mohamed S, Hifnawy, et al. Study of hypocholesterolemic and antiatherosclerotic properties of *Medicago sativa* L. cultivated in Egypt. J Food Drug Anal 2005;13(3):212-8.
  33. Amraie E, Farsani MK, Sadeghi L, Khan TN, Babadi VY, Adavi Z. The effects of aqueous extract of Alfalfa on blood glucose and lipids in alloxan-induced diabetic rats. Interv Med Appl Sci 2015;7(3):124-8.
  34. Barends DK, Sheaffer C. Alfalfa. Agriculture 1995;2:205-16.