

Perbedaan Efek Infusa Bubuk Kedelai (*Glycine max*), Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*), dan Campuran Keduanya terhadap Kadar Kolesterol LDL, Ekspresi Gen Reseptor LDL Hati, dan Berat Omentum Majus Mencit Model Hiperlipidemia

Rizky Suganda Prawiradilaga,¹ M. Nurhalim Shahib,² Siti Nur Fatimah³

Departemen Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung, ²Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, ³Departemen Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran

Abstrak

Angka kejadian dislipidemia di Indonesia semakin meningkat. Dislipidemia dan obesitas abdominal merupakan faktor risiko penyakit kardiovaskular. Diperlukan solusi yang efektif dengan bahan alami seperti kedelai dan jamur tiram. Tujuan penelitian ini melihat efektivitas infusa bubuk kedelai, jamur tiram, dan campuran keduanya terhadap kadar kolesterol LDL, ekspresi gen *LDLR* hati, dan berat omentum majus mencit percobaan. Penelitian eksperimental di Laboratorium Farmakologi RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung tahun 2010 memakai rancangan postes kelompok kontrol. Mencit jantan sebanyak 20 ekor dibagi 5 kelompok perlakuan, yaitu A) pakan standar, B) induksi kolesterol, C) infusa kedelai dengan induksi kolesterol, D) infusa jamur tiram dengan induksi kolesterol, dan E) infusa campuran dengan induksi kolesterol. Pada akhir penelitian mencit dikorbankan lalu dibedah untuk diambil darah jantung, juga sedikit bagian hati dan omentum majus. Kolesterol LDL darah kelompok E ($12 \pm 5,48$ mg/dL) sama dengan kelompok D ($12 \pm 6,06$ mg/dL), tetapi lebih rendah daripada kelompok C ($15 \pm 5,35$ mg/dL) dan kelompok B ($13,5 \pm 5,45$ mg/dL), namun tidak signifikan. Didapatkan ekspresi gen *LDLR* yang sedang pada kelompok A dan C, ekspresi gen *LDLR* yang lemah pada kelompok B, dan tidak terekspresi pada kelompok D dan E. Berat basah omentum majus kelompok E ($0,40 \pm 0,07$ g) lebih rendah bermakna dibanding kelompok A ($0,55 \pm 0,07$ g), B ($0,8 \pm 0,49$ g), C ($1,28 \pm 0,28$ g), D ($0,74 \pm 0,11$ g) ($p < 0,05$). Berat kering omentum majus kelompok E ($0,16 \pm 0,03$ g) lebih rendah bermakna daripada kelompok B ($0,27 \pm 0,25$ g), C ($0,39 \pm 0,06$ g), dan D ($0,31 \pm 0,07$ g) ($p = 0,025$). Simpulan, infusa kedelai 100 mg/hari meningkatkan kadar kolesterol LDL darah dan berat omentum majus, tetapi jamur tiram 75 mg/hari sebaliknya, menurunkan kadar kolesterol LDL darah dan berat omentum majus mencit.

Kata kunci: Ekspresi gen, jamur tiram, kedelai, LDL, omentum majus

Differences in Giving Effect of Soybean Powder Infusion (*Glycine max*), Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*), and Mixed of Both on LDL-C Levels, LDL-R Gene Expression, and Greater Omentum Weight of Hyperlipidemia Model Mice

Abstract

The incidence of hypercholesterolemia in Indonesia are increase. Hyperlipidemia and abdominal obesity is a risk factor for cardiovascular disease. Needed an effective solution with natural substance like soy and oyster mushrooms. The purpose of this study was to see the effectiveness of the soybean powder infusion, oyster mushrooms, and a mixture of both on LDL cholesterol levels, liver LDLR gene expression, and the weight of the experimental mice greater omentum. This experimental study conducted in the Laboratory of Pharmacology Dr. Hasan Sadikin Hospital Bandung in 2010, using a posttest only. Twenty male mice were divided in five treatment groups, namely A) standard diet, B) induction of cholesterol, C) soybean infuse with cholesterol induction, D) oyster mushrooms infuse with induction of cholesterol, and E) mixed infuse with cholesterol induction. At the end of the study mice were dissected for blood drawn from the heart, taken little part of his liver, and the greater omentum were taken. The results of blood LDL cholesterol measurement group E (12 ± 5.48 mg/dL) similar to group D (12 ± 6.06 mg/dL) but lower than group C (15 ± 5.35 mg/dL) and group B (13.5 ± 5.45 mg/dL) but they were not significant. Medium LDLR gene expression was found in group A and group C, a weak LDLR gene expression in group B, and no expression LDLR gene in group D and group E. Measurement results of greater omentum wet weight group E (0.40 ± 0.07 g) was lower than in group A (0.55 ± 0.07 g), B (0.8 ± 0.49 g), C (1.28 ± 0.28 g), D (0.74 ± 0.11 g), with significance level significant ($p < 0.05$). Measurement results of greater omentum dry weight group E (0.16 ± 0.03 g) was lower than in group B (0.27 ± 0.25 g), C (0.39 ± 0.06 g), D (0.31 ± 0.07 g), and they were significant ($p = 0.025$). In conclusion, soy infuse at 100 mg/day increase blood LDL cholesterol levels and increase the weight of greater omentum, whereas the opposite oyster mushrooms at 75mg/day lower blood LDL cholesterol levels and reduce the weight of greater omentum.

Key words: Gene expression, greater omentum, LDL, oyster mushroom, soy

Pendahuluan

Kolesterol yang mengalir di dalam darah kita terdapat dalam bentuk lipoprotein. Terdapat empat lipoprotein utama yang mempunyai makna penting secara fisiologis dan untuk diagnosis klinis, salah satunya lipoprotein densitas rendah atau *low density lipoprotein* (LDL).¹

Kolesterol LDL merupakan lipoprotein turunan dari VLDL yang terdiri atas 21% protein serta 79% lipid. Komponen lipid yang utamanya adalah kolesterol (50%). Kadar LDL di dalam darah terutama dipengaruhi oleh asupan lemak jenuh dari diet dan faktor lain yang memengaruhi sintesis VLDL. LDL yang berfungsi mengangkut kolesterol ini kurang lebih 30% akan diuraikan di jaringan ekstrahepatik dan 70% yang lainnya di dalam hati.¹ Terdapat korelasi yang positif antara insidensi aterosklerosis koroner dan konsentrasi kolesterol LDL darah.¹

Lipoprotein densitasnya rendah atau LDL yang bersirkulasi ini dibutuhkan oleh sel dan kemudian ditangkap oleh reseptor yang spesifik, yaitu reseptor LDL (LDLR) (B-100, E).¹ LDLR melalui mekanisme pengaturan *sterol respons element binding proteins* (SREBPs) mempunyai peran yang penting dalam mengatur kadar kolesterol darah.² Reseptor ini mengalami defek dalam keadaan hiperkolesterolemia familial, yaitu keadaan kelainan genetik pada LDLR yang ditandai oleh kadar kolesterol yang tinggi terutama kadar LDL dan penyakit jantung dini.³ Dalam berbagai studi pada populasi, angka kejadian hiperkolesterolemia familial itu terjadi 1:500 orang pada hiperkolesterolemia familial heterozigot dan 1:1000.000 pada homozigot.³ Pada pasien yang homozigot perkembangan lesi aterosklerosis berkembang secara cepat.⁴ Hal ini akan mempercepat penyakit jantung koroner.

Di Indonesia ternyata angka kejadian atau insidensi hiperkolesterolemia itu pada penelitian yang dilakukan oleh *Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease* (MONICA) I pada tahun 1988 sebesar 16% untuk wanita dan 13,6% untuk pria.⁵ Pada penelitian oleh MONICA II pada tahun 1994 menunjukkan peningkatan menjadi 17% untuk wanita dan 16,5% pada pria. Berdasarkan atas data Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) pada tahun 2004, prevalensi hiperkolesterolemia masyarakat pedesaan yang mencapai 200–248 mg/dL adalah 10,9% total populasi pada tahun 2004. Penderita pada generasi muda, yakni usia

25–34 tahun mencapai 9,3% sementara usia 55 hingga 64 tahun sekitar 15,5%.⁶

Beberapa faktor sebagai penyebab yang mendasari terjadi hiperkolesterolemia itu adalah diet tinggi kolesterol, diet tinggi asam lemak jenuh dan asam lemak trans, berat badan yang meningkat, serta makin bertambahnya faktor usia, faktor genetik, dan juga kehilangan estrogen pada wanita pascamenopause. Proses penuaan itu akan diikuti dengan penurunan penggunaan LDL dari sirkulasi yang diperkirakan disebabkan oleh penurunan fungsi mekanisme pengaturan reseptor LDL. Setelah terjadi menopause dengan kehilangan estrogen akan menyebabkan aktivitas reseptor LDL itu menurun. Banyak penderita hiperkolesterolemia yang berat disebabkan oleh penurunan aktivitas reseptor LDL, walaupun peningkatan kadar kolesterol LDL pada sebagian penderita disebabkan oleh peningkatan produksi lipoprotein yang berlebihan pada hati.⁷ Untuk mendapatkan penurunan kadar kolesterol darah dapat dilakukan dengan perubahan gaya hidup dan penggunaan obat penurun kolesterol.

Di dalam rangka meningkatkan relevansi anjuran makanan sebagai pencegahan primer penyakit jantung maka *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP ATP III) dan *American Heart Association* atau AHA sudah merekomendasikan makanan fungsional atau makanan yang mengandung bahan atau komponen yang dapat menurunkan kolesterol sebagai pilihan untuk meningkatkan keefektifan makanan itu yang dapat menurunkan kolesterol. Bahan-bahan fungsional ini termasuk serat yang/ larut, protein kedelai, dan fitosterol.⁸ Kedelai mempunyai kandungan lesitin, asam lemak tidak jenuh, fitoestrogen, niasin, dan penghambat enzim HMG KoA.⁹ Sementara jamur tiram memiliki kandungan statin, lentinan, serta fenolik.¹⁰

Kedelai adalah sumber pangan yang sangat populer di Indonesia dan juga di negara-negara Asia. Kedelai mengandung gizi yang cukup tinggi dan protein kedelai itu merupakan satu-satunya *leguminosae* yang mengandung semua asam amino yang esensial. Meskipun kadar minyaknya tinggi (kadar sekitar 18%), namun kadar lemak jenuhnya rendah dan sebaliknya kedelai banyak mengandung lemak tidak jenuh seperti linoleat, oleat, serta arakidat yang juga terbebas terhadap kolesterol. Kedelai tersebut juga mengandung unsur fosfolipida penting, yaitu lesitin, sepalin, dan lipositol, serta juga nilai kalori yang rendah.

Selain itu, kedelai juga mengandung vitamin A, B, B1, dan B2 yang lebih banyak bila dibandingkan dengan jenis kacang lainnya serta mineral seperti Fe, Ca, P, isoflavon seperti genistein dan daidzein yang dapat mengurangi kadar kolesterol dalam darah. Kandungan serat kedelai pun sangat baik untuk membantu sistem pencernaan kita. Dalam beberapa penelitian terbukti bahwa kedelai itu dapat meningkatkan kadar HDL (lipoprotein yang dikenal dengan kolesterol baik), sementara kadar LDL tetap rendah,⁹ namun dalam penelitian lain ada juga yang memberikan hasil yang berbeda tidak ada pengaruh kedelai terhadap HDL.¹¹

Agen bersifat hipokolesterolemia lainnya yang juga dapat dipergunakan sebagai makanan yang fungsional menurunkan kadar kolesterol adalah jamur tiram atau *Pleurotus ostreatus*. Jamur tiram itu di Jepang disebut *hiratake* yang mengandung karbohidrat 50–60%, protein 19–30%, serat 11,5%, asam amino, vitamin B1, B2, B3, B5, B7, C, mineral Ca, Fe, Mg, K, P, S, dan Zn. Menurut penelitian, kandungan logam yang ada pada jamur ini masih jauh di bawah ambang batas yang ditetapkan *Fruit Product Order and Prevention of Food Adulteration Act* tahun 1954 sehingga aman untuk dikonsumsi.¹² Beberapa penelitian menunjukkan bahwa jamur tiram memiliki efek hipokolesterolemia.^{10,13} Hal ini dapat terjadi karena jamur ini mengandung statin yang mampu menurunkan kadar kolesterol serum dengan caranya menghambat biosintesis endogen kolesterol. Statin juga dapat efektif untuk menurunkan kolesterol LDL sebanyak 20–60% dan mengurangi *coronary event* sampai dengan satu per tiga dalam periode 5 tahun.¹⁴ Selain itu, juga statin mempunyai efek yang moderat terhadap peningkatan HDL.⁷ Statin telah terbukti memiliki efek langsung terhadap *human apoA-1 promoter activity* dan menyebabkan aktivasi gen *PPARA* sehingga meningkatkan ekspresi gen *apo A-1*, serta meningkatkan *apo A-1* dan HDL.¹⁵

Pada uraian di atas diketahui terdapat berbagai penelitian mengenai kedelai dan jamur tiram dan efeknya terhadap lipoprotein, namun belum ada penelitian tentang efek kedelai dan jamur tiram itu terhadap ekspresi gen *LDLR*. Ekspresi gen merupakan suatu proses informasi berasal dari gen yang digunakan dalam sintesis produk gen fungsional, di dalam penelitian ini yaitu reseptor LDL. Mekanisme efek penurunan kolesterol yang diperoleh dari kedelai dan jamur tiram ini mungkin melibatkan regulasi ekspresi reseptor LDL.

Berkaitan dengan keadaan di atas maka dilakukan penelitian ini untuk dapat mengetahui perbedaan pengaruh antara pemberian bubuk kedelai serta jamur tiram tersebut terhadap kadar kolesterol LDL dalam darah, ekspresi gen reseptor LDL (LDLR) hati, dan berat omentum majus mencit jantan (*Mus musculus*).

Metode

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimental laboratorium menggunakan *control group post test only design* atau postes kelompok kontrol. Data yang diamati adalah kadar kolesterol LDL darah, ekspresi gen reseptor LDL hati, dan berat omentum majus.

Subjek penelitian ini adalah mencit jantan umur 2–3 bulan dengan bobot badan rata-rata 30 gram sebanyak 20 ekor dari Institut Teknologi Bandung (ITB) yang biasa dikembangbiakkan untuk subjek penelitian ini. Sebelum penelitian ini dilaksanakan, mencit percobaan diadaptasi dalam kandang pada temperatur 22±1°C dengan kelembabannya sekitar 52,5±2,5% dan diberikan makanan standar selama 7 (tujuh) hari. Selama adaptasi diamati tingkah laku dan bobot badan mencit.

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah kedelai yang berasal dari perkebunan di Jawa Timur yang kemudian dijadikan bubuk, lalu jamur tiram yang berasal dari perkebunan Bogor, pelet, reagen untuk analisis kolesterol LDL, reagen untuk isolasi hati mencit, reagen untuk memeriksakan ekspresi gen reseptor LDL, dan larutan *salin* fisiologis (NaCl 0,9%) dipakai untuk mencuci jaringan. Alat yang dipergunakan dalam penelitian ini termasuk kandang mencit, timbangan, tempat makanan dan minum mencit, kompor, panci infusa, batang pengaduk, alat penyaring, termometer, pisau bedah, spuit, pipet mikro, mesin sentrifugasi, ketamin, papan fiksasi mencit, tabung reaksi, dan tabung sampel darah.

Subjek penelitian ini ditempatkan secara acak ke dalam 5 (lima) kelompok. Kelompok A diberikan makanan berupa standar pelet (kontrol negatif). Pada kelompok B diberikan makanan standar pelet+DTL dan PTU 0,01% (kontrol positif). Kelompok C diberikan makanan standar pelet+DTL dan PTU 0,01% ditambah dengan infusa bubuk kedelai 100 mg setiap hari. Kelompok D diberikan makanan standar pelet + DTL dan PTU 0,01% ditambah infusa jamur tiram 75 mg per hari. Kelompok E diberikan makanan

standar pelet+DTL dan PTU 0,01% ditambah dengan infusa campuran kedelai (100 mg/hr) dan jamur tiram (75 mg/hr) selama 21 hari. Setelah itu subjek percobaan dipuasakan selama waktu 12 jam, kemudian dilaksanakan pembedahan untuk dilakukan pengambilan darah dari jantungnya subjek untuk pemeriksaan kadar kolesterol LDL darah, lalu diambil hatinya untuk dilaksanakan pemeriksaan ekspresi gen reseptor LDL, dan dilakukan pematangan saluran pencernaan serta direndam dalam formalin 10% selama 24 jam. Bahan tersebut dipotong kemudian ditimbang berapa berat basah omentum majusnya, setelah itu dikeringkan pada suhu 110°C dan dihitung berapa berat kering omentum majusnya pada keesokan harinya. Hasil pemeriksaan sesudah perlakuan lalu dibandingkan kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol untuk melihat seberapa besar keefektifan perlakuan.

Analisis data penelitian mempergunakan metode *one way analysis of variance* (ANOVA) untuk dapat mengetahui perbedaan antara kadar kolesterol LDL dan ekspresi gen reseptor LDL hati antarkelompok serta berat omentum majus mencit, kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan. Apabila data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen maka dipergunakan uji Kruskal Wallis. Analisis data diproses mempergunakan program SPSS V.16.0 dengan tingkat signifikansi sebesar $p=0,05$. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung dan juga di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung.

Hasil

Berdasarkan atas Tabel 1 ternyata nilai terendah kadar kolesterol LDL berada pada kelompok kontrol negatif (sebesar 4). Nilai tertinggi berada pada kelompok kontrol positif dan infusa bubuk

kedelai (sebesar 21). Pada hasil penghitungan kadar LDL rata-rata terlihat pada Tabel 1 masing-masing kelompok berkisar 5,25–15,00 mg/dL. Pada hasil perhitungan secara statistik datanya berdistribusi normal dan mempunyai varian homogen ($p>0,05$) maka dilakukan uji ANOVA untuk mengetahui apakah perbedaan antara tiap kelompok itu bermakna atau tidak. Hasil analisis tersebut menunjukkan $p=0,116$ yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna kadar kolesterol LDL antara kelima kelompok.

Hasil dari ekspresi gen reseptor LDL hati mencit jantan ditentukan menggunakan teknik RT-PCR didapatkan ketebalan pita cDNA yang berukuran 330 bp terlihat pada pemeriksaan. Dari Tabel 2 didapatkan data bahwa kelompok A dan kelompok C terekspresi sedang, kelompok B terekspresi lemah, sedangkan kelompok D dan E tidak terekspresi.

Pada hasil penghitungan dari omentum majus basa rata-rata pada kelompok masing-masing berkisar sekitar 0,40–1,28. Karena data berdistribusi normal ($p>0,05$) dan mempunyai varian homogen ($p=0,059$) maka dilakukan uji ANOVA menunjukkan $p=0,003$. Karena $p<0,05$ maka dinyatakan bahwa minimal ada 2 (dua) kelompok yang berbeda secara signifikan. Untuk menentukan kelompok mana yang berbeda dilakukan uji *post hoc*, yaitu LSD. Pada hasil uji LSD diketahui menunjukkan perbedaan yang bermakna persentase momentum majus basah pada kelompok kontrol negatif dibanding dengan kelompok infusa bubuk kedelai ($p=0,001$), juga pada kelompok kontrol positif dibanding dengan kelompok infusa bubuk kedelai ($p=0,020$) dan kelompok infusa campuran ($p=0,050$), kelompok infusa bubuk kedelai dibanding dengan kelompok yang mendapat infusa jamur tiram ($p=0,011$) dan dengan kelompok yang diberi infusa campuran ($p=0,000$).

Tabel 1 Kadar Kolesterol LDL Darah pada Akhir Penelitian (mg/dL)

Kelompok Hewan Coba	A	B	C	D	E	Kemaknaan
1	6	9	18	6	9	
2	5	21	11	20	8	
3	6	14	21	9	11	
4	4	10	10	13	20	
Mean	5,25	13,50	15,00	12,00	12,00	$p=0,116$
SD	0,96	5,45	5,35	6,06	5,48	

Tabel 2 Hasil Ekspresi Gen LDL Hati Mencit

Sampel	Nilai Ekspresi Gen	Interpretasi	Keterangan
Kontrol negatif 1	2	Sedang	Pelet standar
Kontrol negatif 2	2	Sedang	Pelet standar
Kontrol negatif 3	2	Sedang	Pelet standar
Kontrol negatif 4	2	Sedang	Pelet standar
Kontrol positif 1	1	Lemah	Pelet + DTL & PTU
Kontrol positif 2	1	Lemah	Pelet + DTL & PTU
Kontrol positif 3	1	Lemah	Pelet + DTL & PTU
Kontrol positif 4	1	Lemah	Pelet + DTL & PTU
Bubuk kedelai 1	2	Sedang	Pelet + DTL & PTU + Bubuk kedelai
Bubuk kedelai 2	2	Sedang	Pelet + DTL & PTU + Bubuk kedelai
Bubuk kedelai 3	2	Sedang	Pelet + DTL & PTU + Bubuk kedelai
Bubuk kedelai 4	2	Sedang	Pelet + DTL & PTU + Bubuk kedelai
Jamur tiram 1	0	Tidak terekspresi	Pelet + DTL & PTU + Jamur tiram
Jamur tiram 2	0	Tidak terekspresi	Pelet + DTL & PTU + Jamur tiram
Jamur tiram 3	0	Tidak terekspresi	Pelet + DTL & PTU + Jamur tiram
Jamur tiram 4	0	Tidak terekspresi	Pelet + DTL & PTU + Jamur tiram
Campuran 1	0	Tidak terekspresi	Pelet + DTL & PTU + Campuran
Campuran 2	0	Tidak terekspresi	Pelet + DTL & PTU + Campuran
Campuran 3	0	Tidak terekspresi	Pelet + DTL & PTU + Campuran
Campuran 4	0	Tidak terekspresi	Pelet + DTL & PTU + Campuran

Pada perhitungan secara statistik berat omentum majus kering karena data yang tidak berdistribusi normal maka dipergunakan dengan uji nonparametrik Kruskal-Wallis, didapatkan $p=0,025$. Hal ini menunjukkan perbedaan berat omentum majus kering yang nyata. Pada data tersebut ada petunjuk perbedaan metabolisme lemak, terutama pada infusa campuran.

Gambar tersebut memperlihatkan hasilnya $r=0,526$ yang berarti bahwa terdapat korelasi

positif antara LDL dan omentum majus basah, yaitu peningkatan kadar LDL itu berhubungan dengan peningkatan omentum majus basah. Hasil ini signifikan ($p=0,017$). Hasil lain juga menunjukkan korelasi yang positif LDL dengan omentum majus kering, yaitu peningkatan kadar LDL berhubungan dengan peningkatan omentum majus kering. Hasil ini signifikan dengan nilai $p=0,009$ dan terdapat korelasi negatif antara LDL dan ekspresi gen, yaitu bahwa peningkatan

Tabel 3 Berat Omentum Majus Basah pada Akhir Penelitian (g)

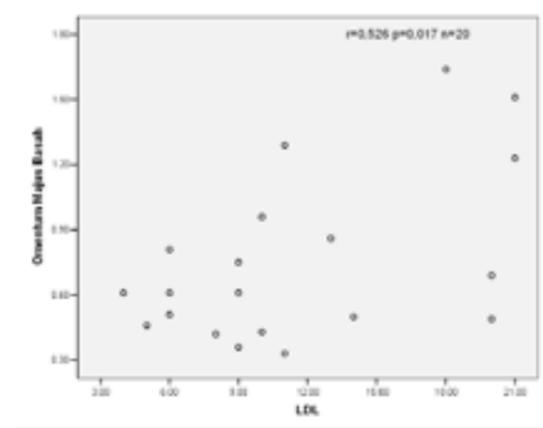
Kelompok Hewan Coba	A	B	C	D	E	Kemaknaan
1	0,51	0,75	1,64	0,81	0,36	
2	0,46	1,51	1,29	0,69	0,42	
3	0,61	0,5	1,23	0,61	0,33	
4	0,61	0,43	0,96	0,86	0,49	
Mean	0,55	0,80	1,28	0,74	0,40	$p=0,003$
SD	0,07	0,49	0,28	0,11	0,07	

Uji kemaknaan menggunakan uji ANOVA

Tabel 4 Berat Omentum Majus Kering pada Akhir Penelitian (g)

Kelompok Hewan Coba	A	B	C	D	E	Kemaknaan
1	0,14	0,17	0,34	0,35	0,12	
2	0,12	0,65	0,47	0,33	0,16	
3	0,14	0,14	0,37	0,2	0,14	
4	0,15	0,13	0,37	0,35	0,2	
Mean	0,14	0,27	0,39	0,31	0,16	p=0,025
SD	0,01	0,25	0,06	0,07	0,03	

Uji kemaknaan menggunakan uji ANOVA



Gambar Korelasi LDL dengan Omentum Majus Basah

kadar LDL itu berhubungan dengan penurunan ekspresi gen. Hasil tersebut tidaklah signifikan dengan nilai $p=0,530$.

Pembahasan

Untuk mengetahui keefektifan pemberian pada infusa bubuk kedelai selama 3 (tiga) minggu (21 hari) maka dibandingkan antara kelompok C (pemberian pelet, DTL+PTU, infusa kedelai) dan kelompok B (pemberian pelet dan DTL+PTU). Menurut uji statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok tersebut ($p=0,678$). Kadar kolesterol LDL darah rata-rata kelompok C lebih tinggi 11,11% dibanding dengan nilai rata-rata kelompok B ($15 \text{ mg/dL} \pm 5,35413 \text{ mg/dL}$ v.s $13,5 \text{ mg/dL} \pm 5,44671 \text{ mg/dL}$). Hal ini memperlihatkan pemberian infusa bubuk kedelai secara rata-rata tidaklah lebih rendah daripada kontrol positif, tetapi sebaliknya menunjukkan

hasil lebih tinggi.

Keadaan ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya, yaitu penelitian Jenkins dkk.¹⁶ yang mendapatkan bahwa pemberian 25 gram protein kedelai per hari dalam diet rendah lemak jenuh dan kolesterol dapat menurunkan kadar LDL darah lebih kurang sekitar 5%. Lalu penelitian Ridges dkk.¹⁷ pada pemberian kedelai dan minyak biji rami terhadap wanita hiperkolesterolemia sedang selama 3 (tiga) minggu serta 8 (delapan) minggu mampu menurunkan kadar kolesterol total, LDL, dan juga non-HDL secara signifikan. Hal ini berkaitan dengan kandungan kedelai di antaranya lesitin yang memiliki sifat emulsif terhadap lemak, juga membantu meningkatkan mobilisasi lemak, serta kandungan isoflavon dan niasin yang merupakan antioksidan juga mempunyai peran dalam menghambat tingginya kadar kolesterol.

Penelitian yang telah dilaksanakan juga oleh Moundras dkk.¹⁸ ternyata bahwa hewan mencit yang diberikan protein kedelai yang tidak difortifikasi dengan metionin sebesar 13% dari total kalori mengalami peningkatan yang cukup besar kolesterol LDL. Mencit ini didapatkan memiliki kadar GSH yang rendah dan tidak tumbuh seperti pada kelompok mencit yang lain yang diberikan protein dengan nilai biologis lebih tinggi. Beberapa penelitian yang lain juga memperlihatkan bahwa pemberian kedelai itu memberikan efek peningkatan kolesterol LDL.¹⁶ Penelitian yang memberikan efek peningkatan kolesterol LDL tersebut mempergunakan subjek kontrol hiperkolesterolemia yang rendah.¹⁶

Pada penelitian ini efek dari pemberian infusa bubuk kedelai yang sangat diharapkan adalah berupa hipokolesterolemia atau mampu menurunkan kolesterol. Hasil dari pemeriksaan kadar kolesterol itu pada akhir dari perlakuan

memperlihatkan bahwa kadarnya lebih tinggi daripada kontrol positif. Salah satu yang perlu diperhatikan adalah kenyataannya bahwa kedelai itu mengandung “antinutrisi” yang mengganjal pencernaan dan juga penyerapan banyak nutrisi. “Antinutrisi” utama yang didapatkan di dalam kedelai itu adalah lektin dan protease inhibitor. Lektin telah dibuktikan menyebabkan berbagai masalah, salah satunya adalah gangguan usus. Protease merupakan enzim yang akan membantu pencernaan protein. Inhibitor protease itu bukan hanya akan mengganggu protease, tetapi juga enzim pencernaan yang lainnya, yaitu tripsin dan *chymotrypsin*.¹⁷

Keadaan lain yang mungkin dapat membuat kadar kolesterol LDL meningkat adalah kedelai mengandung asam amino leusin atau *leucine* yang diketahui merupakan satu-satunya asam amino yang pada katabolisme membangkitkan HMG CoA yang merupakan perantara penting dalam sintesis kolesterol.¹⁸ Meskipun seperti itu, asam amino lainnya menghasilkan asetil Koa yang dapat dimetabolisme di hati untuk proses lipogenesis.¹⁸ Lipogenesis itu dan juga sintesis kolesterol bergantung keduanya pada berapa banyak kalori yang diberikan dibanding dengan kebutuhan sehingga secara bertahap kalori yang berlebih akan bergeser ke dalam jalur glikogenesis dan lipogenesis, dari lipogenesis akan masuk ke dalam proses sintesis kolesterol, efek asupan sendiri tidak bermakna sangat tinggi oleh karena kolesterol darah lebih dari 50% dipengaruhi oleh kolesterol endogen yang bergantung pada ekspresi gen untuk sintesis apolipoprotein yang bersangkutan.¹⁸

Terdapat beberapa bukti nyata bahwa efek penurunan kolesterol LDL itu bergantung pada kandungan isoflavonnya,^{19,20} tetapi data-data yang ada masih kurang. Bukti yang lain menyatakan bahwa konsumsi tinggi protein kedelai dapat menyebabkan sedikit penurunan kadar kolesterol LDL, terutama ketika menggantikan makanan produk hewani.²⁰ Hal lainnya dapat disebabkan oleh beberapa faktor, di antaranya ialah varietas kedelai yang dipergunakan di dalam penelitian, pengolahan kedelai tersebut, atau juga dosis yang diberikan pada hewan coba. Pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan sebelum (pretes) dan sesudah perlakuan (postes), tetapi hanya dilakukan pemeriksaan sesudah perlakuan, lalu membandingkannya dengan kelompok kontrol positif sehingga untuk menilai secara individual apakah pemberian infusa bubuk kedelai ini

meningkatkan kadar LDL darah atau tidak belum dapat dipastikan.

Kadar kolesterol LDL yang lebih rendah pada pemberian infusa jamur tiram dikarenakan terdapat molekul yang penting untuk penurunan kolesterol, yaitu statin. Statin yang kandungan jamur tiram ini menjadi inhibitor bagi enzim *hydroxymethylglutaryl coenzym A (HMGCoA)* reduktase yang akan mengkatalisis penurunan HMGCoA menjadi *mevalonate* selama proses sintesis kolesterol tersebut. Jamur mengandung polisakarida lentinan yang juga mempunyai efek untuk menurunkan kolesterol. Selain itu, jamur tiram dapat meningkatkan kecepatan katabolisme dan *plasma clearance* lipoprotein, menyebabkan efek hipokolesterolemik. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya.²¹

Kelompok E ternyata secara rata-rata kadar kolesterol LDL lebih rendah 11,11% dibanding dengan kelompok B, keadaan ini membuktikan bahwa campuran kedelai dengan jamur tiram menyebabkan kadar kolesterol LDL lebih rendah daripada kontrol memakai induksi kolesterol yang sama. Efek dari campuran jamur tiram dan bubuk kedelai secara rata-rata lebih rendah jikalau dibanding dengan kelompok B, C dan D, namun secara statistik bila dibanding antara kelompok E dan kelompok C serta kelompok D, tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini kemungkinannya karena bubuk kedelai dan jamur tiram tidak bekerja secara sinergis bila dicampurkan atau dosis yang telah diberikan tidak optimal sehingga efek peningkatan LDL oleh kedelai jauh lebih kuat daripada efek penurunan oleh jamur tiram. Meskipun demikian, terdapat kecenderungan bahwa campuran kedelai dengan jamur tiram memiliki efek rendah kolesterol yang lebih kuat daripada bubuk kedelai saja atau jamur tiram saja karena memiliki kadar kolesterol LDL rata-rata yang rendah.

Pada pemberian infusa bubuk kedelai, jamur tiram, dan infusa campuran terhadap ekspresi gen reseptor LDL pada hati mencit, ekspresi gen reseptor kolesterol LDL mencit paling tinggi didapatkan pada kelompok C, sedangkan yang paling rendah atau juga bahkan tidak terekspresi sama sekali didapatkan pada kelompok D dan kelompok E. Ekspresi gen reseptor LDL (*LDLR*) pada kelompok C yang diberikan bubuk kedelai 100 mg ternyata meningkat dibanding dengan ekspresi gen *LDLR* hati kelompok DTL+PTU.

Keadaan ini sesuai dengan penelitian Mustad dan Etherton²⁴ bahwa pengurangan asupan lemak

jenus berhubungan dengan peningkatan ekspresi gen *LDLR* pada sel mononuklear pada laki-laki dan perempuan yang sehat. Kadar ekspresi *LDLR* yang rendah pada kelompok DTL+PTU sesuai dengan asupan lemak dan kolesterol yang tinggi akan menyebabkan penumpukan kolesterol di hati sehingga mengurangi pembentukan *LDLR*. Peningkatan yang bermakna ekspresi *LDLR* pada kelompok DTL+PTU yang ditambahkan kedelai 100 mg ini sesuai dengan penelitian oleh Plat dan Mensink²⁷ yang mendapatkan bahwa fitostanol ester dapat meningkatkan kadar mRNA *LDLR* sel darah mononuklear laki-laki dan perempuan sehat.²²

Reseptor LDL tersebut merupakan protein pada permukaan sel yang mengikat partikel LDL dan memindahkannya dari dalam darah. Sel normal memiliki reseptor afinitas tinggi pada permukaan sel dengan cara berikatan dengan partikel LDL yang mengangkut kolesterol darah. Proses endositosis tersebut dinamakan *receptor-mediated endocytosis*. Pengaturan gen reseptor LDL terjadi di hati. Di dalam hati aktivitas *LDLR* diatur dengan mekanisme umpan balik (jalur *sterol regulatory element binding protein* atau *SREBP*). Pada sel-sel yang kekurangan kolesterol, *SREBP* diangkut ke aparatus golgi dan membelah dengan dua protease yang melepaskan fragmen bHLH yang kemudian memasuki nukleus yang mengaktifkan gen untuk *LDLR*. Bila manusia dan binatang mengonsumsi makanan yang tinggi lemak maka kolesterol menumpuk terlalu banyak di sel-sel hati dan hal ini menghambat proses *SREBP* untuk pindah ke aparatus golgi serta membelah sehingga sel hati memproduksi lebih sedikit *LDLR*. Dengan reseptor yang lebih sedikit hati kurang efisien mengambil LDL dari darah, dengan demikian kadar LDL darah meningkat.^{23,24} Kedelai berperan dalam meningkatkan ekspresi *LDLR*, yaitu dengan menghambat penyerapan kolesterol, keadaan ini akan dapat meningkatkan pembentukan *LDLR*. Peningkatan ekspresi *LDLR* juga berperan dalam menurunkan pembentukan LDL sepanjang *cascade* apo B.²²

Pada pengujian korelasi berdasar statistik didapatkan bahwa peningkatan ekspresi gen *LDLR* hati itu mempunyai hubungan dengan penurunan kadar kolesterol LDL, namun nilai ini tidak bermakna. Hal ini dapat disebabkan oleh pengurangan absorpsi kolesterol di usus, namun peningkatan penyerapan lemak di hati sehingga meningkatkan sintesis *de novo* pembentukan kolesterol di hati sehingga pembentukan *LDLR*

hati juga tidak optimal. Pada penelitian ini kelompok D dan E gen *LDLR* (*LDLR*)-nya tidak terekspresi, hal ini mungkin disebabkan oleh efek jamur tiram dalam menurunkan kolesterol LDL darah tidak melalui jalur metabolisme di hati, tetapi efek HMG CoA reduktase inhibitor itu berada pada tingkat sel di seluruh tubuh ataupun melalui jalur meningkatkan ekskresi kolesterol melalui empedu.

Berdasarkan hasil pemeriksaan berat basah omentum majus, kelompok B tidak berbeda signifikan dengan kelompok D ($p=0,772$). Hal ini berarti perlakuan infusa jamur tiram tidak memberikan efek perbedaan yang signifikan terhadap berat basah omentum majus dibanding dengan perlakuan memberi induksi kolesterol. Akan tetapi, terdapat kecenderungan perlakuan infusa jamur tiram menyebabkan berat omentum majus lebih rendah daripada kontrol positif oleh karena berat basah omentum majus rata-rata kelompok D lebih rendah 7,5% dibandingkan dengan kelompok B ($0,74\pm 0,11$ g v.s $0,8\pm 0,49$ g). Hal sebaliknya terjadi pada kelompok C yang bila dibanding secara rata-rata lebih tinggi 60% dibanding kelompok B ($1,28\pm 0,28$ g v.s $0,8\pm 0,49$ g) dan signifikan secara statistik ($p=0,02$). Hal ini dapat disebabkan oleh pemberian dosis kurang optimal atau protein tinggi yang terkandung di dalam kedelai meningkatkan jumlah asupan kalori mencit setiap hari. Pada saat kelebihan energi dan juga asupan protein ditambah dengan asupan zat karbohidrat yang adekuat, kerangka asam amino dapat digunakan untuk menyintesis asam lemak melalui jalur siklus Krebs.¹

Kelompok E secara signifikan lebih rendah 50% dibandingkan kelompok B ($0,40\pm 0,07$ g v.s $0,80\pm 0,49$ g) dengan $p=0,05$. Artinya, perlakuan campuran kedelai dan jamur tiram itu dapat menyebabkan berat basah omentum majus lebih ringan 50% daripada perlakuan induksi kolesterol saja. Kelompok E pun lebih rendah dibanding dengan kelompok C dan kelompok D ($0,40\pm 0,07$ g v.s $1,28\pm 0,28$ g v.s $0,74\pm 0,11$ g). Perbandingan berat omentum majus dapat menggambarkan perbandingan lemak visceral abdominal sehingga beratnya omentum yang lebih rendah dibanding kelompok E kemungkinan disebabkan oleh efek kedelai dan jamur tiram yang dapat menurunkan kadar lemak, katabolisme serta mobilisasi lemak meningkat, dan juga mengurangi anabolisme lemak dalam tubuh.

Dari pemeriksaan berat kering omentum majus, bilamana kelompok B dibanding dengan

kelompok A maka secara rata-rata berat kering omentum majus kelompok A lebih rendah 48,15%. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh akumulasi lemak visceral yang tinggi pada omentum karena induksi kolesterol pada kelompok B. Berbeda dengan berat basah, pada berat kering kandungan air sudah diminimalisir sehingga akan dapat lebih menggambarkan perbandingan berat lemak visceral.

Kelompok perlakuan E ternyata memiliki rata-rata yang lebih rendah daripada kelompok B ($0,16\pm 0,03$ g v.s $0,27\pm 0,25$ g), sedangkan kelompok C dan kelompok D sebaliknya memiliki rata-rata yang lebih tinggi daripada kelompok B. Kelompok C lebih tinggi 44,44%, kelompok D lebih tinggi 14,81%, dan kelompok E lebih rendah sebesar 40,74% bila dibanding dengan kelompok B yang juga bersama-sama mendapat induksi kolesterol, meskipun berdasarkan statistik tidak berbeda bermakna. Keadaan ini menggambarkan bahwa perlakuan infusa jamur tiram dan infusa campuran memiliki kecenderungan menurunkan deposisi lemak visceral, khususnya pada omentum. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kandungan jamur tiram, yaitu lentinan dan juga statin yang dapat menurunkan kadar lipid dan kolesterol. Perlakuan bubuk kedelai memiliki kecenderungan mampu meningkatkan deposisi lemak visceral yang kemungkinan disebabkan oleh dosis kedelai yang kurang optimal atau tingginya kandungan protein yang dimiliki kedelai itu menyebabkan asupan kalori mencit meningkat.

Kelompok E berdasar statistik mempunyai berat kering omentum majus rata-ratanya yang paling kecil bila dibanding dengan kelompok C dan kelompok D ($0,16\pm 0,03$ g v.s $0,39\pm 0,06$ g v.s $0,31\pm 0,07$ g). Kelompok E diberi perlakuan infusa campuran bubuk kedelai dan jamur tiram sehingga mampu memberikan pengaruh yang lebih kuat. Hasil penelitian ini pemberian infusa bubuk kedelai, infusa jamur tiram, dan juga infusa campuran terhadap berat omentum majus ini memperkuat penelitian yang telah dilakukan sebelumnya.²⁵

Penelitian ini memiliki keterbatasan, yaitu tidak dilaksanakan pemeriksaan kadar kolesterol LDL sebelum perlakuan (pretes) sehingga tidak didapatkan berapa kadar kolesterol LDL darah sebelum perlakuan yang dapat dibanding dengan data pada akhir perlakuan (postes) pada subjek yang sama. Keadaan tersebut disebabkan karena darah yang diambil untuk pemeriksaan berasal dari jantung mencit yang sebelumnya harus

dikorbkan terlebih dulu sebelum darah mencit itu diambil. Tidak dilakukan pemeriksaan kadar apolipoprotein dan pengukuran kadar trigliserida ataupun pemeriksaan histologis pada omentum majus juga merupakan keterbatasan penelitian ini.

Simpulan

Konsumsi kedelai dengan dosis sebesar 100 mg/hari dapat meningkatkan kadar kolesterol LDL darah, meningkatkan ekspresi gen *LDLR* hati dan berat omentum majus mencit, sedangkan jamur tiram dengan dosis 75 mg/hari sebaliknya dapat menurunkan kadar kolesterol LDL darah, sedangkan ekspresi gen *LDLR* tidak terekspresi, dan juga menurunkan berat omentum majus pada mencit.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan banyak terima kasih kami tujukan kepada institusi, dosen, serta staf Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Program Pascasarjana Unpad Bandung, serta Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung, staf Farmakologi RSHS Bandung, para staf Departemen Biokimia Universitas Padjadjaran Bandung, Laboratorium Klinik, keluarga, sahabat serta seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Mayes PA. Transport & lipid storage. Dalam: Murray RK, penyunting. Harper's illustrated biochemistry. Edisi ke-27. USA: Mc Graw-Hill Companies; 2006. hlm. 205–18
2. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. Science. 1986;232:34–47.
3. Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. J Clin Investig. 2003;111(12):1795–803.
4. Ishibashi S, Goldstein JL, Brown MS, Herz J, Burns DK. Massive xanthomatosis and atherosclerosis in cholesterol-fed low density lipoprotein receptor-negative mice. J Clin Investig. 1994;93:1885–93.
5. Jamal S. Deskripsi penyakit sistem sirkulasi penyebab utama kematian di Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan

- Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Cermin Dunia Kedokteran. 2004;143:5-9.
6. (SKRT) LSKRT. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI 2004 (diunduh 17 April 2009). Tersedia dari: www.depkes.co.id.
 7. Grundy SM. Nutrition and diet in the management of hyperlipidemia and atherosclerosis. Dalam: Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC, penyunting. Modern nutrition in health and disease. Maryland: Lippincott Williams & Wilkins; 1999. hlm. 1199-214.
 8. Krummel DA. Medical nutrition therapy in cardiovascular disease. Dalam: Mahan LK, Escott-Stump S, penyunting. Krause's food, nutrition, & diet therapy. USA: Saunders; 2004. hlm. 860-96.
 9. Cahyadi W. Kedelai: khasiat dan teknologi. Edisi pertama. Jakarta: PT. Bumi Aksara; 2007.
 10. Widyastuti N, Koesnandar. Shiitake & jamur tiram: penghambat tumor & penurunan kolesterol. Jakarta: PT. Agro Media Pustaka; 2005.
 11. Erdman JW. Soy protein and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the AHA. American Heart Association. Circulation. 2000;2555-9.
 12. Muchroddji, Bakrun M. Jamur tiram. Jakarta: Penebar Swadaya; 2007.
 13. Bobek P, Ozdin L, Galbavy S. Dose- and time-dependent hypocholesterolemic effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in rats. Nutr J. 1997;14(3):282-6.
 14. Fons F, Rapior S. Biological and pharmacological activity of higher fungi: year retrospective analysis. Mycologie. 2006;27(4):311-33.
 15. Martin G, Duez H, Blanquart C, Berezowski V, Poulain P, Fruchart JC, dkk. Statin-induced inhibition of the Rho-signaling pathway activates PPAR α and induces HDL apoA-I. J Clin Investig. 2001;107(11):1423-32.
 16. Jenkins DJ, Kendall CW, Vidgen E, Mehling CC, Parker T, Seyler H, dkk. The effect on serum lipids and oxidized low-density lipoprotein of supplementing self-selected low-fat diets with soluble fiber, soy, and vegetable protein foods. Metabolism. 2000;49:67-72.
 17. Ridges L, Sunderland R, Moerman K, Meyer B, Astheimer L, Howe P. Cholesterol lowering benefits of soy and linseed enriched foods. Asia Pacific J Clin Nutr. 2001;10(3):204-11.
 18. Moundras C, Révész C, Levrat M-A, Demigné C. Methionine deficiency in rats fed soy protein induces hypercholesterolemia and potentiates lipoprotein susceptibility to peroxidation. Metabolism. 1995;44(9):1146-52.
 19. Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. N Eng J Med. 1995;333(5):276-82.
 20. Grooper SS, Smith JL, Groff JL. Protein. Dalam: Williams P, penyunting. Advanced nutrition and human metabolism. Edisi ke-4. Belmont: Thomson Wadsworth; 2005. hlm. 172-229.
 21. Crouse JR, Morgan T, Terry JG, Ellis J, Vitoliins M, Burke GL. A randomized trial comparing the effect of casein with that of soy protein containing varying amounts of isoflavones on plasma concentrations of lipids and lipoproteins. Arch Intern Med. 1999;159:2070-6.
 22. Grundy SM, Cleeman JI, Becker D, Clark LT, Cooper RS, Denke MA, dkk. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. Circulation. 2004;110:227-39.
 23. Bobek P, Ozdin L, Kuniak L. Effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and its ethanolic extract in diet on absorption and turnover of cholesterol in hypercholesterolemic rat. Pubmed. 1996;40(4):222-4.
 24. Mustad V, Etherton T. Reducing Saturated fat intake is associated with increased level of LDL receptor on mononuclear cells in healthy men and women. J Lipid Res. 1997;38:459-68.
 25. Champe PC, Richard A, Denise RF. Cholesterol and steroid metabolism. Biochemistry. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins; 2005.
 26. Davalos A, Fernandez-Hernando C, Cerrato F, Martinez-Botas J, Gomez-Coronado D, Gomez-Cordoves C, dkk. Red grape juice polyphenols alter cholesterol homeostasis and increase LDL-receptor activity in human cells in vitro. J Nutr. 2006;136:1766-73.
 27. Plat J, Mensink RP. Effects of plant stanols on LDL receptor protein expression and on LDL receptor and HMG-CoA reductase mRNA expression in mononuclear blood cells of healthy men and women. FASEB J. 2002;16:258-60.
 28. Shidiq KM. Efek infusa kedelai, jamur tiram, dan campuran keduanya terhadap kadar kolesterol total, kolesterol HDL, dan berat omentum majus tikus jantan galur Wistar yang diinduksi kolesterol [skripsi]. Bandung: Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran; 2009.