

## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Kadar Malondialdehid (MDA) Hepar

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor 10/Ka.Kom.Et/70/KE/XII/2016. Penelitian ini dilaksanakan pada pada bulan November 2016 sampai dengan bulan Januari 2017. Hasil pengukuran kadar MDA hepar lobus kiri didapatkan hasil sebagai berikut (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Kadar MDA Hepar

No	Kelompok Perlakuan		Kadar MDA hepar (nmol/g)	Rata-rata $\pm$ standar deviasi (nmol/g)
1.	K (-)	1	1,30	1,33 $\pm$ 0,079
2.		2	1,35	
3.		3	1,22	
4.		4	1,26	
5.		5	1,39	
6.		6	1,43	
7.	K (+)	1	7,62	7,45 $\pm$ 0,288
8.		2	7,36	
9.		3	7,93	
10.		4	7,23	
11.		5	7,40	
12.		6	7,14	
13.	P 1	2	5,18	5,23 $\pm$ 0,375
14.		3	4,88	
15.		4	5,57	
16.		5	5,23	
17.		6	5,75	
18.		7	4,79	
19.	P 2	1	3,70	3,67 $\pm$ 0,387
20.		2	4,01	
21.		4	4,22	
22.		5	3,44	
23.		6	3,18	
24.		7	3,48	

Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa terdapat peningkatan kadar MDA hepar pada kelompok kontrol positif yang diberi diet tinggi lemak standar dan kedua kelompok perlakuan yang diberi diet mentega putih dosis 1:5 dan 1:10. Rata-rata kadar MDA tiap kelompok disajikan dalam bentuk rata-rata $\pm$ Standar Deviasi (SD), antara lain: kelompok kontrol negatif sebesar  $1,33\pm 0,079$  nmol/g, kelompok kontrol positif sebesar  $7,45\pm 0,288$  nmol/g, kelompok perlakuan 1 sebesar  $5,23\pm 0,375$  nmol/g, dan kelompok perlakuan 2 sebesar  $3,67\pm 0,387$  nmol/g. Dilihat dari rata-rata tiap kelompok diketahui bahwa peningkatan kadar MDA paling tinggi terjadi pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Diantara kedua kelompok perlakuan, peningkatan kadar MDA pada kelompok perlakuan 1 lebih besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2.

#### 4.2 Hasil Analisis

Analisis dilakukan menggunakan *software* statistika. Hal pertama yang dilakukan adalah melakukan uji normalitas data. Uji normalitas data menggunakan uji Saphiro-Wilk dan didapatkan nilai  $p > 0,05$  di setiap kelompok, artinya data terdistribusi secara normal. Analisis dilanjutkan dengan menguji homogenitas data menggunakan uji Levene dan didapatkan hasil  $p > 0,05$ , sehingga disimpulkan bahwa variansi data homogen. Hasil uji normalitas dan uji homogenitas data ditampilkan dalam bentuk tabel di dalam lampiran. Jika distribusi data normal dan data homogen, maka hasil uji *one way* ANOVA valid. Berdasarkan hasil uji *one way* ANOVA didapatkan nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ), artinya terdapat perbedaan kadar MDA hepar yang bermakna pada kelompok kontrol dan perlakuan (tabel 4). Analisis dilanjutkan menggunakan uji *post hoc* Bonferroni untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan bermakna (tabel 5).

Tabel 4. Hasil Uji *One Way Anova*

	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	119.767	3	39.922	420.525	.000
<i>Within Groups</i>	1.899	20	.095		
<i>Total</i>	121.666	23			

Tabel 5. Hasil Uji *Post Hoc Bonferroni*

(I) Kelompok	(J) Kelompok	<i>Mean Difference (I-J)</i>	<i>Std. Error</i>	<i>Sig.</i>	<i>95% Confidence Interval</i>	
					<i>Lower Bound</i>	<i>Upper Bound</i>
K-	K+	-6.12167*	.17789	.000	-6.6424	-5.6010
	P1	-3.90833*	.17789	.000	-4.4290	-3.3876
	P2	-2.34667*	.17789	.000	-2.8674	-1.8260
K+	K-	6.12167*	.17789	.000	5.6010	6.6424
	P1	2.21333*	.17789	.000	1.6926	2.7340
	P2	3.77500*	.17789	.000	3.2543	4.2957
P1	K-	3.90833*	.17789	.000	3.3876	4.4290
	K+	-2.21333*	.17789	.000	-2.7340	-1.6926
	P2	1.56167*	.17789	.000	1.0410	2.0824
P2	K-	2.34667*	.17789	.000	1.8260	2.8674
	K+	-3.77500*	.17789	.000	-4.2957	-3.2543
	P1	-1.56167*	.17789	.000	-2.0824	-1.0410

\*. *The mean difference is significant at the 0.05 level.*

Hasil uji *post hoc* Bonferroni menunjukkan bahwa perbedaan rerata antar kelompok yang paling besar adalah K+ terhadap K-, selanjutnya kelompok P1 terhadap K-, dan kelompok P2 terhadap K-. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa urutan peningkatan kadar MDA hepar dari yang tertinggi sampai dengan terendah yaitu K+ > P1 > P2 > K-. Dari uji *post hoc* yang dilakukan, didapatkan signifikansi sebesar  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ) artinya hasil yang didapatkan signifikan (Dahlan, 2011). Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa terdapat

perbedaan kadar mda hepar yang bermakna pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1, dan perlakuan 2. Hasil analisis ini juga menunjukkan bahwa mentega putih terbukti dapat meningkatkan kadar mda hepar pada kelompok perlakuan 1 dan 2.

### 4.3 Pembahasan

Berdasarkan hasil analisis didapatkan adanya peningkatan kadar MDA hepar paling tinggi terjadi pada kelompok kontrol positif yang diberi pakan tinggi lemak standar, lalu kelompok perlakuan 1 dengan dosis mentega putih 1:5, kelompok perlakuan 2 dengan dosis mentega putih 1:10, dan peningkatan paling kecil terjadi pada kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan diet tinggi lemak. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar lemak yang diberikan, maka semakin tinggi kadar MDA hepar yang terukur.

Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian lain yaitu pada penelitian El-Sayed *et al.* (2014), yang melakukan penelitian berupa pemberian diet basal dicampur dengan berbagai jenis lemak seperti *butter*, margarin, minyak zaitun, minyak jagung, dan minyak bunga matahari selama 7 minggu dan dilihat jenis lemak apa yang paling signifikan dalam meningkatkan kadar MDA hepar. Hasil penelitian yang didapat semua jenis lemak mengalami peningkatan kadar MDA hepar dengan kadar (rata-rata $\pm$ SD): minyak zaitun sebesar 8,37 $\pm$ 0,77 pmol/mg, *butter* sebesar 8,48 $\pm$ 0,78 pmol/mg, minyak bunga matahari sebesar 8,49 $\pm$ 0,78 pmol/mg, margarin sebesar 8,51 $\pm$ 0,80 pmol/mg, dan yang paling tinggi adalah minyak jagung sebesar 12,44 $\pm$ 1,25 pmol/mg. Hasil penelitian ini juga signifikan karena didapatkan  $p < 0,001$ . Minyak jagung menghasilkan kadar MDA hepar yang paling tinggi karena memiliki kandungan PUFA yang paling tinggi diantara jenis lemak lainnya yang diteliti.

Pada penelitian Wulandari *et al.* (2012) juga menunjukkan peningkatan kadar MDA hepar pada kelompok kontrol positif yang diberi diet tinggi lemak dengan rata-rata kadar MDA sebesar 0,6778 $\pm$ 0,04011, sedangkan kelompok kontrol negatif dengan rata-rata sebesar 0,2202 $\pm$ 0,03731. Diet tinggi lemak pada penelitian ini

menggunakan minyak babi, asam kolat, dan kuning telur puyuh rebus menggunakan sonde lambung dan ditambah dengan diet pakan standar. Induksi ini diberikan selama 2 minggu. Hasil yang didapat juga signifikan, dengan  $p < 0,05$ . Penelitian lain yang menunjukkan peningkatan kadar MDA hepar dengan diet tinggi lemak dibuktikan oleh Putri *et al.* (2012), diet tinggi lemak yang digunakan yaitu campuran pakan *Hi-Gro* 551, minyak kelapa, dan kuning telur puyuh selama 4 minggu. Peneliti menggunakan kuning telur puyuh karena memiliki kandungan kolesterol yang tinggi yaitu 16-17 mg/g. Rerata kadar MDA hepar yang terukur sebesar  $923 \pm 46,56$  ng/ml pada kelompok kontrol positif yang diberi diet tinggi lemak dan  $734,5 \pm 58,97$  ng/ml pada kelompok kontrol negatif yang tidak diberi diet tinggi lemak. Signifikansi hasil penelitian ini sebesar  $p < 0,05$ .

Penelitian oleh Korish & Arafah (2013), menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA hepar setelah diberi diet tinggi lemak yang dibuat dengan cara menambahkan 1,5 % kolesterol dan 8% minyak kelapa ke dalam diet basal sehingga 42% energi diet tersebut berasal dari lemak. Diet tinggi lemak tersebut diberikan selama 8 minggu. Kadar MDA hepar pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak sebesar  $1,95 \pm 0,16$   $\mu\text{M/g}$ , sedangkan pada kelompok kontrol yang diberi diet standar didapatkan kadar MDA hepar sebesar  $1,35 \pm 0,13$   $\mu\text{M/g}$ . Hasil penelitian ini memiliki nilai  $p < 0,001$ . Penelitian Qu *et al.* (2016), juga menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA hepar setelah pemberian diet tinggi lemak selama 10 minggu. Diet tinggi lemak yang digunakan merupakan diet tinggi lemak standar untuk hewan coba tikus yang mengandung lemak sebanyak 60% kkal, karbohidrat 20% kkal, dan protein sebanyak 20% kkal. Hasil percobaan menunjukkan kadar MDA hepar pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak sebesar  $24,1 \pm 4,17$  nmol/mg, sedangkan kelompok kontrol yang tidak diberi diet tinggi lemak sebesar  $8,18 \pm 1,34$  nmol/mg. Hasil penelitian ini memiliki nilai  $p < 0,001$ .

Bukti bahwa diet tinggi lemak dapat meningkatkan kadar MDA hepar juga dibuktikan oleh penelitian Jiang *et al.* (2013), penelitian ini menggunakan diet tinggi lemak yang mengandung diet standar sebanyak 86 %, minyak babi 12 % dan

kolesterol sebanyak 2 % yang diberikan selama 3 minggu. Pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak kadar MDA hepar yang terukur sebesar  $0,89 \pm 0,30$  nmol/ml dan pada kelompok yang diberi diet standar sebesar  $0,52 \pm 0,03$  nmol/ml ( $p < 0,05$ ). Penelitian Chan *et al.* (2015) menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA hepar pada kelompok yang diberikan diet tinggi lemak. Diet tinggi lemak mengandung diet standar sebanyak 77%, kolesterol 2%, asam kolat 1%, dan minyak jagung sebanyak 20%. Diet tinggi lemak diberikan selama 4 minggu. Hasil yang didapat, kadar MDA hepar pada kelompok yang diberi diet standar sebesar  $1,08 \pm 0,16$  nmol/mg dan pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak sebesar  $2,01 \pm 0,14$  nmol/mg ( $p < 0,05$ ). Sejauh ini peneliti belum menemukan adanya penelitian yang tidak sejalan dengan penelitian ini. Berbagai macam penelitian yang ada selalu menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA hepar setelah diberi intervensi berupa diet tinggi lemak.

Penyebab utama peningkatan kadar MDA hepar pada penelitian ini adalah diet tinggi lemak. Diet tinggi lemak dapat berasal dari mentega putih, campuran minyak kelapa dan kuning telur puyuh (Putri *et al.*, 2015), minyak babi (Fatmawati *et al.*, 2012), *butter*, margarin, minyak zaitun, minyak jagung, dan minyak bunga matahari (El-Sayed *et al.*, 2014). Mentega putih atau *shortening* merupakan lemak padat berwarna putih yang sering digunakan sebagai bahan dasar pembuatan produk *pastry* karena dapat memperbesar volume *pastry*, memperbaiki cita rasa, dan menghasilkan tekstur yang lebih lembut dibandingkan dengan produk *pastry* yang tidak menggunakan mentega putih (Ghotra *et al.*, 2002). Dalam 100 gram *shortening* terdapat lemak jenuh sebanyak 91 gram, lemak tidak jenuh ganda sebanyak 1 gram, dan lemak tidak jenuh tunggal sebanyak 2,2 gram (Sari *et al.*, 2015).

Lemak yang berasal dari diet mentega putih akan diserap di dalam usus halus dan dieliminasi menggunakan garam empedu, selanjutnya diangkut menuju hepar melalui sirkulasi enterohepatik menggunakan kilomikron. Asam lemak bebas yang terkumpul di dalam hepar tidak hanya berasal dari diet tinggi lemak, namun juga berasal dari lipolisis jaringan adiposa dan *de novo* lipogenesis dari asam amino serta karbohidrat yang berlebih. Di dalam hepar, sebagian asam lemak diesterifikasi

menjadi triasilgliserol untuk disimpan di dalam sel hepar dan sel adiposa atau dikemas menjadi lipoprotein VLDL yang akan membawa triasilgliserol menuju jaringan adiposa atau jaringan lainnya untuk metabolisme energi. Hepar juga merupakan organ utama untuk metabolisme lemak, sebagian asam lemak bebas akan mengalami beta oksidasi untuk menghasilkan acetyl-CoA yang selanjutnya akan diubah menjadi ATP (Chiang, 2014). Proses beta oksidasi akan menghasilkan hasil sampingan berupa ROS yang merupakan radikal bebas dan dapat menginisiasi terjadinya peroksidase lipid (Korish & Arafah, 2013).

Diet tinggi lemak menyebabkan peningkatan jumlah asam lemak bebas yang dimetabolisme dan berefek pada peningkatan jumlah radikal bebas sebagai hasil sampingan dari proses beta oksidasi asam lemak. Jumlah radikal bebas yang berlebih menyebabkan terjadinya kondisi stres oksidatif dimana jumlah radikal bebas lebih banyak daripada antioksidan. Radikal bebas yang tidak diikat oleh antioksidan akan menyerang lipid yang ada di dalam hepar terutama PUFA. Lipid merupakan komponen utama membran sel, sehingga jika radikal bebas menyerang lipid maka membran sel akan rusak dan sel akan mengaktifkan sinyal apoptosis atau nekrosis. Peroksidase lipid juga akan menyebabkan reaksi berantai yang akan menghasilkan produk primer berupa radikal bebas yaitu lipid hidroperoksidase sehingga jumlah radikal bebas akan semakin meningkat dan berefek pada kerusakan sel lebih lanjut. Produk lainnya adalah produk sekunder yang sering digunakan sebagai parameter peroksidase lipid yaitu 4-HNE dan MDA (Ayala *et al.*, 2014).

Malondialdehid (MDA) merupakan senyawa turunan aldehid yang digunakan sebagai parameter peroksidase lipid dan indikator kerusakan organ akibat radikal bebas (Ustun *et al.*, 2014). Peningkatan kadar MDA dipercaya berhubungan dengan beberapa penyakit seperti penyakit jantung, kanker, Al-zhaimer, diabetes, Parkinson, dan kerusakan hepar (Ayala *et al.*, 2014). Salah satu kerusakan hepar yang dapat terjadi akibat adanya peroksidase lipid adalah *Non Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD) atau biasa disebut dengan penyakit perlemakan hepar non alkoholik. Penyakit ini paling sering disebabkan oleh kebiasaan konsumsi diet tinggi lemak.

Perlemakan hepar yang tidak ditangani akan menyebabkan jumlah radikal bebas yang terus meningkat dan menyerang sel-sel hepatosit sehingga menyebabkan kondisi yang disebut steatohepatitis yaitu peradangan hepar akibat akumulasi lemak. Kondisi peradangan ini jika dibiarkan akan menyebabkan terjadinya sirosis hepar (Basaranoglu & Ormeci, 2014). Sirosis hepar adalah suatu keadaan patologis yang menggambarkan stadium akhir fibrosis hepar yang berlangsung progresif. Jika telah terjadi sirosis hepar, maka penyembuhannya akan menjadi sulit dan dapat berujung kepada kematian (Hasan, 2009).