

Pengaruh Pemberian Bubuk Kakao (*Theobroma cacao L*) Fermentasi Terhadap Profil Lipid Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Hiperlipidemia

The Effect of Fermented Cocoa Powder (*Theobroma cacao L*) on Lipids Profile of Hyperlipidemic Rats (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769)

Rinda Binugraheni¹, Nastiti Wijayanti²

¹Jurusan D-III Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi

²Jurusan S2 Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Kakao (*Theobroma cacao L*) merupakan salah satu komoditas perkebunan yang besar di Indonesia. Penelitian-penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa kakao (*Theobroma cacao L*) mengandung senyawa polifenol antara lain katekin, epikatekin, proantosianidin, dan antosianin yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian bubuk kakao (*Theobroma cacao L*) fermentasi terhadap profil lipid tikus hiperlipidemia. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan lima perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan terdiri dari kelompok normal, kontrol positif, 3 kelompok uji bubuk kakao fermentasi masing-masing dengan dosis 0,2, 0,4, dan 0,8 gram /200 gram BB. Tikus diberi diet tinggi lemak selama 8 minggu, dan larutan bubuk kakao diberikan 4 minggu terakhir masa penelitian. Pengukuran uji profil lipid darah dilakukan pada minggu ke-0, 4 dan 8. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian bubuk kakao fermentasi secara oral mampu menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, serta meningkatkan kadar HDL.

Kata kunci: bubuk kakao fermentasi, profil lipid, hiperlipidemia

ABSTRACT

Cocoa (*Theobroma cacao L*) is one of the large commodities in Indonesia. Based on the researchs, cocoa contain polyphenols (catechin, epicatechin, proantosianidin, and antisoanin), that potentially became antioxidant. The research aim to study was to study the effect of cocoa fermented powder on lipids profile of hyperlipidemic rats. Research design using RCD (Randomized Complete Design) with five treatment and three replication. Experimental rats divided into 5 groups (normal group, high lipid diet group, 3 cocoa fermented group dose 0,2, 0,4, and 0,8 g /200 g BB). Rats were fed with high lipid diet for 8 weeks and cocoa powder was given orally for 4 weeks from 4 weeks later in experimental days. The level of lipid profile was measure at 0, 4 and 8 weeks. The results showed the fermented cocoa powder decreased serum total cholesterol, LDL, triglycerides, and increased HDL levels.

Keywords : fermented cocoa powder, lipip profile, hyperlipidemic

PENDAHULUAN

Penyakit degeneratif menjadi penyakit pembunuh manusia terbesar di dunia. Penyakit degeneratif antara lain penyakit jantung koroner, diabetes melitus, kanker, obesitas, dislipidemia, dan stroke. Faktor yang menyebabkannya adalah pola makan yang menyukai masakan cepat saji (*fast food*) dan mengkonsumsinya secara berlebihan sehingga terjadi hiperlipidemia.

Hiperlipidemia merupakan gangguan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total, *Low Density Lipoprotein* (LDL), trigliserida dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) (Price &

Wilson, 2006). Faktor-faktor yang menyebabkan hiperlipidemia adalah obesitas, usia, kurang olah raga, stres, gangguan metabolisme, gangguan genetik, dan pola konsumsi makanan sehari-hari yang dapat meningkatkan konsentrasi lipid. Adanya dampak negatif dari hiperlipidemia, maka perlu adanya upaya untuk mengatasinya, salah satunya yaitu dengan pengaturan pola makan dan minum antara lain dengan mengkonsumsi makanan atau minuman yang kaya akan antioksidan sehingga dapat menetralkan radikal bebas.

Kakao (*Theobroma cacao L*) merupakan salah satu komoditas perkebunan yang besar di Indonesia

(Mulato & Suharyanto, 2011). Biji kakao kaya akan senyawa fenolik antara lain katekin, epikatekin, proantosianidin, asam fenolat, tannin, dan flavonoid lainnya (Othman *et al.* 2007). Laboratorium Brunswick di Amerika Serikat melaporkan bahwa bubuk kakao mempunyai nilai ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) paling tinggi di antara berbagai jenis makanan dan minuman seperti sayuran, buah-buahan, cereal gandum, telur, daging, kacang dan jus buah (Mulato & Suharyanto, 2011). Lecumberri *et al.* (2007) menyatakan bahwa konsumsi kakao fiber pada tikus hiperkolesterolemia dapat memperbaiki profil lipid dan mengurangi peroksida lipid.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian bubuk kakao (*Theobroma cacao* L) fermentasi terhadap profil lipid antara lain kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan HDL pada tikus putih hiperlipidemia.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) jantan galur Spargue Dawley, umur 3 - 4 bulan dengan berat badan 200-300 gram yang dibeli dari Unit Pra klinik LPPT UGM. Bubuk kakao Varietas Forastero bebas lemak fermentasi diperoleh dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia di Jember. Akuades untuk melarutkan bubuk kakao. Pakan AD II, minyak babi dan kuning telur puyuh yang diperoleh dari Pasar Kranggan, Yogyakarta. Bahan kimia yang digunakan untuk menganalisis profil lipid meliputi reagen kolesterol total, presipitan HDL, dan trigliserida dari DyaSis.

Alat

Alat yang digunakan adalah kandang hewan uji beserta perlengkapannya (penutup kandang dan botol minum), jarum kanul, timbangan Ohaus, kapiler hematokrit, tabung mikro, mikropipet 10, 100 μl dan 1000 μl , sentrifuse, vorteks, ice box, kuvet mikro, spektrofotometer UV Vis Shimadzu.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap yang dimulai dari persiapan hewan uji, persiapan

diet tinggi lemak, persiapan larutan bubuk kakao fermentasi dengan berbagai dosis perlakuan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan terdiri dari kelompok kontrol, kontrol positif, perlakuan bubuk kakao fermentasi (0,2, 0,4 dan 0,8 gram/200 gram BB/hari). Pemberian diet tinggi lemak dilakukan selama 8 minggu, dan larutan bubuk kakao diberikan 4 minggu terakhir masa penelitian. Pengukuran uji profil lipid darah dilakukan setelah masa aklimasi, setelah 4 minggu diet tinggi lemak, dan diakhiri masa penelitian setelah perlakuan dengan bubuk kakao

Kadar Kolesterol Total

Kadar kolesterol total diukur secara enzimatis dengan metode CHOD-PAP (*Cholesterol Oxidase Para Aminophenazon*) yang dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kolesterol total (mg/dl)} = \frac{\Delta \text{ a sampel}}{\Delta \text{ a standar}} \times \text{konsentrasi standar (mg/dl)}$$

Kadar Trigliserida

Pengukuran kadar trigliserida dengan menggunakan metode GPO-PAP. Kadar trigliserida dihitung dengan rumus:

$$\text{Trigliserida (mg/dL)} = \frac{\Delta \text{ a sampel}}{\Delta \text{ a standar}} \times \text{konsentrasi standar (mg/dl)}$$

Kadar HDL

Pengukuran kadar HDL dilakukan dengan metode CHOP-PAP. Prinsip dari metode ini adalah pengendapan lipoprotein densitas rendah (LDL dan VLDL) dengan penambahan reagen presipitan yang tersusun oleh asam fosfatungstat dan magnesium klorida (MgCl_2). Kadar HDL dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{HDL (mg/dl)} = \frac{\Delta \text{ a sampel}}{\Delta \text{ a standar}} \times \text{konsentrasi standar (mg/dl)}$$

Kadar LDL

Kadar LDL diperoleh dari perhitungan dengan persamaan Friedewald sebagai berikut (Lee *et al.* 2011) :

$$\text{LDL (mg/dL)} = \frac{\text{Kolesterol Total} - \text{HDL}}{5} - \text{Trigliserida}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Kolesterol Total

Berdasarkan hasil penelitian, Kadar kolesterol ata-rata sebelum perlakuan (kecuali kontrol) adalah 77,70 mg/dl, setelah diberi pakan tinggi lemak selama 4 minggu kadar kolesterol total tikus menjadi 101,38 mg/dl. Dengan demikian terjadi peningkatan kadar kolesterol total sebesar 30,47% akibat induksi pakan tinggi lemak yang berupa minyak babi dan kuning telur puyuh.

Pada penelitian ini terjadi penurunan kadar kolesterol total kelompok perlakuan bubuk kakao pada tingkat yang bervariasi. Penurunan paling tinggi terjadi pada kelompok bubuk kakao dengan dosis 0,8 g. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian bubuk kakao fermentasi selama 4 minggu berpotensi menurunkan kadar kolesterol total pada tikus hiperlipidemia. Penurunan ini diduga disebabkan adanya senyawa fenolik yang terdapat pada bubuk kakao. Othman *et al.* (2007) menyatakan bahwa pada bubuk kakao terdapat senyawa fenolik antara lain katekin, epikatekin, proantosianidin, asam fenolat, tannin, dan flavonoid lainnya.

Kandungan epikatekin yang tinggi pada biji kakao memiliki aktivitas antioksidan dan

berpotensi dalam mencegah atherosklerosis (Bravo *et al.* 2008). Baba *et al.* (2000) juga menyatakan bahwa epikatekin dalam bubuk kakao dapat meningkatkan aktivitas antioksidan plasma. Penelitian yang dilakukan oleh Suzuki *et al.* (2005), menyatakan bahwa senyawa katekin dalam teh (*Camelia sinensis*), dapat menurunkan kolesterol total yaitu dengan cara meningkatkan ekskresi kolesterol feses. Menurut Aremu *et al.* (1995), selain polifenol bubuk kakao juga mengandung serat, mineral dan theobromin. Serat yang terdapat pada bubuk kakao juga berpotensi sebagai penghambat penyerapan kolesterol oleh vili intestinum sehingga kadar kolesterol total darah menurun.

Kadar Trigliserida

Kadar trigliserida rata-rata sebelum perlakuan (kecuali kontrol) adalah 63,53 mg/dl, setelah diberi pakan tinggi lemak selama 4 minggu kadar trigliserida menjadi 90,26 mg/dl. Dengan demikian terjadi peningkatan kadar trigliserida sebesar 42,07%.

Berdasarkan penelitian ini, pada minggu ke-8 penurunan kadar trigliserida paling besar terjadi pada kelompok bubuk kakao dosis 0,8 g/200 g BB, sedangkan penurunan yang paling kecil terjadi pada kelompok bubuk kakao fermentasi 0,2 g/200 g BB.

Tabel 1. Kadar Kolesterol Total Tikus Putih

Kelompok	KOLESTEROL TOTAL (mg/dl)			Peningkatan(+) atau Penurunan(-) (%)
	Awal Minggu ke-0	Hiperlipid Minggu ke-4	Akhir Minggu ke-8	
Kontrol	72,00±2,20 ^a	83,47±6,73 ^b	85,33±1,69 ^a	+2,24±11,17 ^a
Kontrol positif	83,47±2,27 ^a	114,13±2,88 ^a	124,67±2,76 ^b	+9,29±3,05 ^a
Bubuk 0,2 g	77,60±6,00 ^a	90,67±9,61 ^a	86,67±24,11 ^a	-4,56±10,87 ^a
Bubuk 0,4 g	72,53±9,05 ^a	106,67±9,61 ^a	95,475±5,33 ^a	-10,50±5,25 ^a
Bubuk 0,8 g	82,93±2,37 ^a	112,00±4,62 ^a	98,67±3,13 ^a	-11,90±11,31 ^a

Tabel 2. Kadar Trigliserida Tikus Putih

Kelompok	TRIGLISERIDA (mg/dl)			Peningkatan(+) atau Penurunan(-) (%)
	Awal Minggu ke-0	Hiperlipid Minggu ke-4	Akhir Minggu ke-8	
Kontrol	61,33±8,83 ^a	68,33±4,60 ^a	65,00±1,83 ^{a,b}	-4,26±0,46 ^a
Kontrol positif	69,67±3,83 ^a	89,00±9,52 ^b	115,67±5,49 ^d	+29,03±11,40 ^c
Bubuk 0,2 g	68,67±9,62 ^a	97,67±6,36 ^b	72,00±1,16 ^{b,c}	-25,50±6,01 ^{a,b}
Bubuk 0,4 g	60,00±25,27 ^a	103,00±6,25 ^b	68,33±2,03 ^{a,b,c}	-33,35±2,92 ^{a,b}
Bubuk 0,8 g	58,00±4,04 ^a	93,33±8,82 ^b	55,33±4,91 ^a	-40,39±3,55 ^b

Kadar trigliserida setelah pemberian bubuk kakao selama 4 minggu mengalami penurunan yang signifikan. Menurut Zern & Fernandez (2005), polifenol merupakan sebuah antioksidan yang dapat menyebabkan peningkatan aktivitas enzim lipoprotein lipase dan juga berpengaruh terhadap penurunan aktivitas MTP (*Microsomal triglyceride-Transfer Protein*). Trigliserida yang terdapat pada kilomikron dan VLDL akan dihidrolisis menjadi asam lemak dan gliserol oleh enzim lipoprotein lipase. Kerja enzim lipoprotein lipase tersebut menyebabkan hilangnya trigliserida lipoprotein dari sirkulasi sekitar 90% trigliserida yang ada pada kilomikron dan menghasilkan sisa kilomikron yang kaya kolesterol dan ester kolesterol. Dengan demikian peningkatan aktivitas lipoprotein lipase dapat menurunkan kadar trigliserida darah (Roach *et al.* 2003).

Kadar HDL

Pemberian diet tinggi lemak berpengaruh terhadap kadar HDL tikus putih. Kadar HDL tikus putih cenderung mengalami peningkatan walaupun secara tidak signifikan. Kadar HDL tikus setelah pemberian bubuk kakao juga mengalami peningkatan pada beberapa tingkat dosis yang bervariasi (Tabel 3).

Pada tabel 3, diketahui bahwa perlakuan pemberian bubuk kakao fermentasi dengan

beberapa tingkat variasi dosis dapat meningkatkan kadar HDL secara tidak signifikan. Kelompok bubuk kakao fermentasi dengan dosis 0,8 g/200 g BB dapat meningkatkan kadar HDL paling besar apabila dibandingkan dengan kelompok yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar dosis yang diberikan semakin baik dalam meningkatkan kadar HDL.

Senyawa polifenol yang terdapat pada bubuk kakao berfungsi menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL, yang pada akhirnya akan menyebabkan peningkatan metabolisme kolesterol empedu untuk dikeluarkan. Kandungan flavonoid dapat meningkatkan kadar HDL melalui mekanisme peningkatan kadar Apolipoprotein A yang merupakan apolipoprotein utama dalam pembentukan HDL oleh hati. Baba *et al.* (2007), berpendapat bahwa *dark chocolate* dan bubuk kakao yang kaya akan polifenol dapat meningkatkan kadar HDL-kolesterol plasma.

Kadar LDL

Masa induksi 4 minggu dengan pemberian pakan tinggi lemak pada penelitian ini dapat meningkatkan rerata kadar LDL tikus penelitian dari 36,91 mg/dl menjadi 49,09 mg/dl. Dengan demikian pemberian pakan tinggi lemak secara umum mengakibatkan peningkatan rerata kadar LDL tikus penelitian sebesar 32,99% (Tabel 4).

Tabel 3. Kadar HDL Tikus Putih

Kelompok	HDL (mg/dl)			Peningkatan (+) atau Penurunan (-) (%)
	Awal Minggu ke-0	hiperlipid Minggu ke-4	Akhir Minggu ke-8	
Kontrol	28,00±2,92 ^a	31,38±4,29 ^a	30,22±1,22 ^a	-3,68±16,73 ^a
Kontrol positif	27,11±2,71 ^a	33,33±1,75 ^a	30,22±2,93 ^a	-9,89±11,86 ^a
Bubuk 0,2 g	28,40±1,27 ^a	30,58±2,00 ^a	31,11±1,94 ^a	+1,66±12,74 ^a
Bubuk 0,4 g	29,24±3,94 ^a	37,07±4,44 ^a	37,78±2,35 ^a	+1,90±19,93 ^a
Bubuk 0,8 g	31,11±3,20 ^a	37,78±4,51 ^a	39,11±1,94 ^a	+3,46±7,34 ^a

Tabel 4. Kadar LDL Tikus Putih

Kelompok	LDL (mg/dl)			Peningkatan(+) atau Penurunan (-) (%)
	Awal Minggu ke-0	hiperlipid Minggu ke-4	Akhir Minggu ke-8	
Kontrol	35,20±3,48 ^a	37,36±5,79 ^a	44,44±4,36 ^a	+18,68±13,90 ^a
Kontrol positif	42,42±0,43 ^a	63,00±3,75 ^a	71,11±4,34 ^b	+12,62±10,67 ^a
Bubuk 0,2 g	35,46±7,02 ^a	40,56±10,65 ^a	41,22±12,59 ^a	+1,43±11,53 ^a
Bubuk 0,4 g	31,29±7,97 ^a	49,00±15,02 ^a	44,02±5,08 ^a	-10,46±28,83 ^a
Bubuk 0,8 g	40,22±4,06 ^a	55,55±8,22 ^a	48,49±8,33 ^a	-12,67±25,44 ^a

Pemberian pakan tinggi lemak selama 4 minggu pada tikus penelitian dapat meningkatkan kadar LDL karena terjadi akumulasi kolesterol yang berlebih dalam tubuh. Setelah pemberian bubuk kakao fermentasi selama 4 minggu pada tikus penelitian dapat terjadi penurunan kadar LDL pada dosis 0,4 dan 0,8 g/200 g BB sebesar 12,72 dan 10,16 %, sedangkan pada dosis 0,2 g/200 g BB terjadi peningkatan sebesar 3,84%.

Secara umum rata-rata kadar kolesterol LDL tikus penelitian mengalami penurunan. Hal ini diduga karena kandungan katekin dan epikatekin dalam bubuk kakao mampu mencegah percepatan oksidasi kolesterol LDL. Penghambatan oksidasi kolesterol LDL dapat mencegah penyumbatan pembuluh darah (Osakabe *et al.* 2000; Baba *et al.*, 2001). Biji kakao tergolong bahan pangan yang mempunyai senyawa polifenol yang tinggi. Flavonoid dalam biji kakao merupakan senyawa polifenol yang termasuk dalam kategori antioksidan yang sangat aktif dalam melindungi sel-sel tubuh dari serangan radikal bebas (Mulato & Suharyanto, 2011). Aktivitas flavonoid dalam bubuk kakao mampu menghambat reaksi oksidasi LDL juga dikemukakan oleh Wan *et al.* (2001).

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

Pemberian bubuk kakao fermentasi dapat menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL serta mampu meningkatkan kadar HDL tikus putih hiperlipidemia. Pemberian bubuk kakao fermentasi dapat menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL serta mampu meningkatkan kadar HDL tikus putih hiperlipidemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Aremu, C.Y., Agiang, M.A., & Ayatse, J.O. 1995. Nutrient & Antinutrient Profiles of Raw and Fermented Cocoa Beans. *Plants Foods Human Nutrition.* 48: 217223.
- Baba, S., Osakabe, N., Natsume, M., Yasuda, A., Takizawa, T., Nakamura, T., & Terao, J. 2000. Cocoa Powder Enhance The Level of Antioxidative Activity in Rat Plasma. *British Journal of Nutrition.* 84: 673680.
- Baba, S., Osakabe, N., Natsume, M., Muto, Y., Takizawa T., & Terao, J. 2001. Absorbtion and Uninary Excretion of () Epicatechin after Administration of Different Levels of Cocoa Powder or ()Epicatechin in Rats. *Journal Agriculture Food Chemistry.* 49:60506056.
- Baba, S., Natsume, M., Yasuda, A., Nakamura, Y., Tamura, T., Osakabe, N., Kanegae, M., & Kondo, K. 2007. Plasma LDL and HDL Cholesterol and Oxidized LDL Concentrations are Alterd in Normoand Hypercholesteromic Humans after intake of Different Levels of Cocoa Powder. *The Journal of Nutrition.* 137:14361441.
- Bravo, L., Lecumberri, E., Mateos, R., Ramos, S., Izquierdo Pulido, M., & Goya, L. 2008. A Diet Rich in Dietary Fibre from Cocoa Improves Lipid Profile. *AgroFOOD industry hi-tech.* 19:1012.
- Mulato, S., & Suharyanto, E. 2011. *Kakao, Cokelat & Kesehatan.* Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. Jember.
- Lecumberri, E., Goya, L., Mateos, R., Alfa, M., Ramos, S., Izquierdo Pulido, M., & Bravo, L. 2007. A Diet Rich in Dietary Fiber from Cocoa Improves Lipid Profile and Reduces Malondialdehyde in Hypercholesterolemic Rats. *Journal nutrition.* 23: 332341.
- Lee, S.J., Kim, C.W., Jang, H.J., Cho, S.Y., Choi, J.W. 2011. AntiHyperlipidemia and Antiarteriosclerosis Efefct of *Laminaria japonica* in Sprague Dawley Rats. *Fisheries and Aquatiq Sciences.* 14(4):235241.
- Osakabe, N., Natsume, M., Adachi, T., Yamagishi, M., Hirano, R., Takizawa T., Itakura, H., & Kondo, K. 2000. Effect of Cacao Liquor Polyphenols on the Susceptibility of Low Density Lipoprotein to Oxidation in Hypercholesteromic Rabbits. *Journal Atherosclerosis Thrombrosis.* 7:164168.
- Othman, A., Ismail, A., ghani, N.A., & Adenan, I. 2007. *Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cacao Bean : Food Chemistry.* 15231530.
- Price, S.A. & Wilson, L.M. 2006. *Patofisiologi, Konsep Klinis, ProsesProses Penyakit.* Edisi 6. EGC. Jakarta.
- Roach. 2003. *Metabolism an Nutrition, Elsevier,* Philadelpia.
- Suzuki, Y., Kobayashi, M., Unno, T., Nozawa, A., Sagesaka, Y.M. & Kakuda, T. 2005. Hypolipidemic Effect of Tea Catechin with a Galloy Moiety in Hamster Fed a High Fat Diet. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi.* 52:167171.
- Wan, Y., Vinson, J.A., Etherton, T.D., Proch, J., Lazarus, S.A., & Kriseetherton, P.M. 2001. Effect of Cocoa Powder and Dark Chocolate on LDL Oxidative Susceptibility and Prostaglandin Concentrations in Human. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 74:596 – 602.
- Zern, T.L., & Fernandez, M.L. 2005. Cardioprotective Effects of Dietary Polyphenols. Recent Advances in Nutritional Sciences. *Journal Nutrition.* 135: 2291–229.