

PRODUK BIOTEKNOLOGI FERMENTASI BERUPA KOMBUCHA BUNGA KECOMBRANG (*Etilingera elatior* (JACK) R.M.SM.) SEBAGAI ANTIKOLESTEROL PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus* L.) GALUR DDY

Fermentation Biotechnology Products In The Form Of Kombucha Flower Of Kecombrang (*Etilingera elatior* (JACK) R.M.SM.) As Anticolesterol In Male White Mice (*Mus musculus* L.) DDY Strain

Usman Setiawan¹⁾, Iin Yuwinani²⁾, Firman Rezaldi^{3*)}, Rina Nurmaulawati⁴⁾, M. Fariz Fadillah⁵⁾

^{1,2} Program Studi Biologi, Fakultas Sains, Farmasi, dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar, Banten

^{3*,4} Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bhakti Husada Mulia, Madiun, Jawa Timur

⁵ Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi dan Informatika, Universitas Mathla'ul Anwar, Banten

^{3*} Corresponding Author e-mail: firmanrezaldi417@gmail.com

Informasi	Abstrak.
Kata kunci: Bunga Kecombrang, Galur DDY. Kolesterol, Kombucha, Mencit Putih Jantan,	Kolesterol merupakan suatu zat lemak yang terdapat di dalam darah, dihasilkan oleh hati dan sangat dibutuhkan oleh tubuh. Asupan makanan dengan kandungan kolesterol tinggi dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam darah (hiperkolesterolemia). Tanaman bunga Kecombrang (<i>Etilingera elatior</i>) mempunyai kandungan senyawa flavonoid, saponin, dan triterpenoid yang dapat menurunkan hiperkolesterolemia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh fermentasi bunga kecombrang terhadap penurunan kolesterol darah mencit putih (<i>Mus musculus</i> L.) jantan galur DDY. Metode penelitian dilakukan secara <i>pre-post randomized experimental design</i> . Pengujian penurunan kadar kolesterol darah dilakukan terhadap 20 individu mencit yang di uji kedalam 5 perlakuan yaitu aquadest sebagai kontrol negatif (K-), simvastatin sebagai kontrol positif (K+), kombucha fermentasi <i>E. elatior</i> konsentrasi 10% (P1), 20% (P2), dan 30% (P3). Hasil induksi dan penurunan kadar kolesterol darah mencit dianalisis dengan uji ANOVA (<i>Analysis of Variance</i>) ($\alpha = 0,05\%$), Jika berbeda signifikan dilanjutkan dengan uji <i>Duncan</i> . Hasil penelitian menunjukkan ada pengaruh yang signifikan terhadap penurunan kadar kolesterol darah mencit putih jantan. Hasil kadar kolesterol yang efektif untuk menurunkan kadar kolesterol yaitu sebesar 84,5 mg/dl dari kolesterol awal sebesar 141,5 mg/dl pada konsentrasi 30%.
Information	Abstract.
Key words: Cholesterol, Kecombrang Flower (<i>E. elatior</i>), Kombucha, Male White Mice (<i>Mus musculus</i>) DDY strain.	Cholesterol is a fatty substance found in the blood, produced by the liver and is needed by the body. Intake of foods with high cholesterol content can increase cholesterol levels in the blood (hypercholesterolemia). The Kecombrang flower plant (<i>Etilingera elatior</i>) contains flavonoids, saponins and triterpenoids which can reduce hypercholesterolemia. The aim of this study was to determine the effect of kecombrang flower fermentation on reducing blood cholesterol in male white mice (<i>Mus musculus</i> L.) DDY strain. The research method was carried out in a pre-post randomized experimental design. Tests for reducing blood cholesterol levels were carried out on 20 individual mice which were tested into 5 treatments, namely distilled water as a negative control (K-), simvastatin as a positive control (K+), kombucha fermented <i>E. elatior</i> concentration of 10% (P1), 20% (P2), and 30% (P3). The results of induction and decrease in blood cholesterol levels of mice were analyzed by ANOVA test ($A = 0.05\%$). If it was significantly different, it was continued with Duncan's test. The results showed that there was a significant effect on reducing blood cholesterol levels in male white mice. The results of effective cholesterol levels for lowering cholesterol levels were 84.5 mg/dl from the initial cholesterol of 141.5 mg/dl at a concentration of 30%.

Received: 6 Januari 2023

Accepted: 25 Maret 2023

©2023 Jurusan Biologi FMIPA Unpatti, IAIFI Cab. Ambon

A. PENDAHULUAN

Zat yang secara natural diproduksi oleh tubuh berdasarkan sifat fisik seperti lemak dan memiliki rumus steroid, terdapat dalam bentuk senyawa yang bersifat esensial pada tubuh yang berperan penting sebagai zat pembentuk meliputi membran sel, sel saraf, hormone kelamin, vitamin D, serta asam empedu dikenal sebagai kolesterol. Kolesterol idealnya dibawa menuju suatu jaringan dengan bantuan senyawa dalam bentuk lipoprotein. Lipoprotein merupakan senyawa yang tersintesis dari lemak dan protein. Senyawa lipoprotein ini dapat dikarakterisasikan berdasarkan asupan makanan (Kolo *et al.*, 2022).

Asupan makanan yang tinggi berpotensi dalam menyebabkan kandungan kolesterol darah menjadi meningkat. Istilah tersebut dikenal sebagai hiperkolesteromia. Hiperkolesteromia merupakan salah satu kondisi yang ditandai pada peningkatan kadar kolesterol darah dibandingkan dengan kondisi normal. Salah satu faktor pemicu terjadinya hiperkolesteromia adalah pola makan yang tidak sehat, cepat saji seperti makanan yang diolah atau dimasak dengan cara digoreng menggunakan minyak dengan berulang kali (Firnanda *et al.*, 2014). Hiperkolesteromia juga dapat mensintesis terjadinya aterosklerosis. Aterosklerosis merupakan salah satu kondisi tubuh yang mengalami penyumbatan dan penyebab terjadinya hipertensi. Pembuluh darah yang tersumbat merupakan salah satu indikasi kolesterol, sehingga menyebabkan terjadinya penyakit yang berkaitan dengan kardiovaskular seperti jantung koroner (Rezaldi *et al.*, 2022).

Penyakit yang berhubungan dengan kardiovaskular membutuhkan banyak perhatian terutama dalam hal terapeutik. Hiperkolesteromia membutuhkan pengobatan cukup panjang dan biaya yang cukup mahal. Obat yang berbahan aktif dari senyawa kimia (farmakosintetik) secara idealnya bekerja dalam menghambat enzim HMG CoA, yaitu salah satu enzim yang berperan penting dalam mensintesis kolesterol. Reaksi farmakodinamik (efek obat terhadap tubuh) dari terapi bahan kimia diantaranya adalah rabdomiolisis, mioglobulinuria, dan miopati. Solusi yang dapat dijadikan sebagai alternatif dalam mengatasi permasalahan yang berhubungan dengan penurunan kolesterol adalah *back to nature* yaitu pemanfaatan bahan alam yang ramah lingkungan dan tidak memberikan reaksi farmakodinamik buruk terhadap tubuh. Salah satu bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai solusi dalam mencegah kolesterol adalah bunga kecombrang yang dikenal dengan nama ilmiah *Eclipta alata* (JACK) R.M.SM. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Smith dan Andlawano telah membuktikan bahwa bunga kecombrang memiliki senyawa metabolit sekunder berupa saponin yang berpotensi memiliki aktivitas farmakologi sebagai antikolesterol. Penelitian mengenai kombucha yang berpotensi sebagai antikolesterol telah dilakukan oleh Rezaldi *et al.*, (2022) yang menyatakan bahwa kombucha bunga telang berpotensi dalam menurunkan kadar kolesterol pada bebek pedaging dengan substrat gula stevia dan konsentrasi gula stevia sebesar 40% merupakan perlakuan yang terbaik dalam menurunkan kadar kolesterol pada bebek pedaging.

Berbicara mengenai substrat pada proses fermentasi kombucha berupa konsentrasinya telah terbukti memiliki aktivitas farmakologi yang berbeda-beda dalam menurunkan kadar kolesterol. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Rezaldi *et al.*, (2022) telah membuktikan bahwa larutan fermentasi kombucha bunga telang pada konsentrasi gula aren sebesar 40% merupakan perlakuan terbaik dalam menurunkan kadar kolesterol bebek pedaging. Sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Kolo *et al.*, (2022) konsentrasi gula pasir putih

sebesar 40% pada fermentasi kombucha bunga telang merupakan perlakuan yang terbaik dalam menurunkan kadar kolesterol ayam pedaging.

Berangkat dari latar belakang yang dimuat diatas baik mengenai kolesterol dan metode pemecahan masalahnya menggunakan fermentasi kombucha, maka penulis dalam kesempatan ini tertarik untuk meneliti mengenai produk bioteknologi fermentasi kombucha bunga kecombrang untuk menurunkan kadar kolesterol pada mencit putih jantan galur DDY.

B. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan dilaboratorium terpadu Fakultas Sains, Farmasi, dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar, Banten, Indonesia. Penelitian dilakukan pada bulan februari sampai agustus 2021.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain kandang pemeliharaan tikus, tempat minum, tempat makan, sonde lambung 1 ml, timbangan analitik, termometer ruangan HTC-1/HTC-2, termometer suhu tubuh Infra Red, peralatan gelas laboratorium yaitu gelas kimia, gelas ukur 100 ml, erlenmeyer 500 ml, beaker glass 1000 ml, labu ukur 100 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan digital, kaca arloji, pipet, corong kaca, sarung tangan karet, sarung tangan plastik, blender, penangas air, bunsen, pipet, corong kaca, kapas, tissue, panci perebusan, spatula, baskom, batang pengaduk, cawan porselin, pisau, kompor, toples kaca, ayakan 60 mesh, kain serbet, karet gelang, pemisah telur, spuit injeksi 5 ml, spatel, box, kertas koran, aluminium foil, kamera, alat tes kolesterol easy touch, test strip kolesterol, termometer air, kertas saring, pH meter, bubuk kalibrasi (pH 4.01 dan pH 6.86).

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) yang diambil secara acak (random) dari Cisata, Pandeglang, hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan (*Mus musculus* L.) galur DDY dengan BB 30 g yang berumur 2-3 bulan sebanyak 20 ekor, SCOBY (Symbiotic Culture of bacteria and yeast) kombucha 35 gram, larutan gula 210 g, air mineral, simvastatin dan propiltiourasil (PTU) yang diperoleh di apotek menes. Bahan-bahan sebagai penunjang penelitian adalah pelarut aquadest, reagen yang digunakan untuk identifikasi kandungan kimia secara kualitatif yaitu serbuk Mg, Fe(Cl)₃, HCL pekat, HCL 2N, larutan gelatin, asam klorida 2 N, etanol, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, asam asetat anhidrat, eter, asam sulfat pekat, EDTA, pakan standar pellet 512 bravo, pakan jagung, dan penginduksi kolesterol kuning telur bebek.

Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia diawali dengan pengumpulan bunga kecombrang segar sebanyak 3 kg, bunga yang diambil adalah bunga yang segar dan berwarna kemerahan, yang diperoleh dari kecamatan cisata dan sekitarnya. Sortasi basah dilakukan dengan cara memisahkan kotoran-kotoran maupun bahan-bahan asing lainnya dari bunga kecombrang. Pencucian menggunakan air mengalir untuk menghilangkan tanah dan kontaminan lainnya yang masih melekat pada bunga kecombrang. Perajangan untuk mempermudah proses pengeringan,

pengepakan, dan penggilingan. Pengeringan simplisia bunga kecombrang dengan cara menjemur bunga kecombrang dengan sinar matahari dengan cara ditutupi kain hitam untuk menghindari sinar matahari secara langsung, supaya tidak menurunkan kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam bunga kecombrang, bunga kecombrang kering ditandai dengan bunga kecombrang yang layu dan berwarna kecoklatan. Sortasi kering simplisia bunga kecombrang yang kering diinginkan hingga benar-benar kering kemudian disortasi kembali dengan cara memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian dari bunga kecombrang yang tidak diinginkan dan kontaminan-kontaminan lainnya yang masih ada bahkan tertinggal pada simplisia kering bunga kecombrang. Pemplenderan menjadi serbuk dengan cara menggiling sampel kering menggunakan blender sampai menjadi serbuk kemudian dilakukan pengayakan 60 mesh guna memperoleh ukuran yang seragam dan supaya kandungan metabolit sekunder pada bunga kecombrang pada saat fermentasi lebih banyak, setelah itu ditimbang dan disimpan didalam wadah yang kering, tertutup rapat dan terlindung dari cahaya matahari.

Fermentasi Kombucha Bunga Kecombrang

Kombucha dibuat dengan menggunakan simplisia bunga kecombrang dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu P1 (10 g), P2 (20 g) dan P3 (30 g). Pemanis yang digunakan adalah gula, starter dan SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteri and Yeast) kombucha diperoleh dari Rumah Fermentasi. Pembuatan fermentasi kombucha bunga kecombrang yang pertama adalah rebus air mineral sebanyak 100 ml menggunakan panci stainless, suhu diukur menggunakan termometer sampai suhu 60°C lalu kompor dimatikan. Kedua masukkan simplisia bunga kecombrang yang sudah menjadi serbuk sesuai konsentrasi, diseduh dengan segera supaya suhu tidak turun kembali, lalu dihomogenkan. Setelah itu, ditutup serta diamkan selama 3 menit sampai dingin. Ketiga ditambahkan sebanyak 7,0 gram gula pada setiap toples kaca pada seduhan bunga kecombrang, lalu dihomogenkan. Keempat masukkan air rebusan bunga kecombrang ke dalam masing-masing toples kaca dan tunggu sampai dengan temperatur pada suhu ruang. Kelima tambahkan larutan starter sebanyak 10 mL dan SCOBY kombucha 3,5 gram pada setiap toples kaca yang berisi seduhan bunga kecombrang. Keenam tutup bagian atas toples kaca menggunakan kain serbet lalu diikat dengan menggunakan karet gelang. Ketujuh kondisikan toples kaca yang berisi fermentasi kombucha bunga kecombrang untuk tidak terkena guncangan dan sinar matahari (Rezaldi *et al.*, 2021).

Pemberian Perlakuan

Uji kadar kolesterol dilakukan untuk mengetahui kemampuan fermentasi bunga kecombrang dalam menurunkan kadar kolesterol darah mencit putih jantan galur DDY sebelum perlakuan dan setelah perlakuan. Pemberian perlakuan dosis masing-masing kelompok adalah terdiri dari kontrol positif (+) diberikan simvastatin dengan dosis 0,18 mg/100 ml aquadest, kontrol negatif (-) diberikan aquadest, perlakuan pertama (P1) diberikan aquadest ditambahkan dengan kombucha bunga kecombrang sebanyak (10 g) dengan dosis 1,0 ml, perlakuan kedua (P2) diberikan aquadest ditambahkan kombucha bunga kecombrang sebanyak (20 g) dengan dosis 2,0 mL, dan perlakuan ketiga (P3) diberikan aquadest ditambahkan kombucha bunga kecombrang sebanyak (30 g) dengan dosis 3,0 mL/20 g BB. Penginduksian kolesterol menggunakan Prophyliourasil (PTU) dan makanan lemak tinggi (MLT).

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali ulangan yang ditentukan sebagai berikut:

Rumus Federer:

$$(n - 1) (t - 1) > 15$$

n = besar sampel

t = jumlah kelompok

Banyaknya jumlah sampel yang diperlukan dihitung dengan rumus:

$$(n - 1) (t - 1) > 15 ; t = 5$$

$$(n - 1) (5 - 1) > 15$$

$$5n - 4 > 15$$

$$5n > 19$$

$n > 3,8$ dibulatkan menjadi 4, sehingga sampel yang digunakan dalam penelitian ini harus melebihi 4 dan pada penelitian ini menggunakan 5 ekor mencit dan pada setiap kelompok yang sudah memenuhi persyaratan.

Pengukuran Kadar Kolesterol

Pengukuran kadar kolesterol dilakukan dengan menggunakan alat *Easy Touch* GCU (Taiwan). *Easy Touch* GCU Taiwan digunakan untuk pengukuran kadar kolesterol total (Hari ke-7, ke-14, dan ke-21). Alat terlebih dahulu dikalibrasi dengan nomer kode disesuaikan dengan test strip yang digunakan. Test strip diselipkan pada tempat khusus pada alat *Easy Touch* GCU, kemudian pada alat akan muncul gambar “tetes darah” yang menandakan alat siap digunakan. Pengambilan darah mencit dilakukan sebelum mencit makan (berpuas). Ekor mencit dibersihkan menggunakan alkohol 70%, setelah itu darah diambil dari ujung ekor mencit dengan cara menggantung ujung ekor mencit. Tetesan darah pertama dibuang, dan tetesan selanjutnya (tetesan kedua) ditempatkan pada *strip test* yang telah diselipkan pada alat darah akan terserap sesuai dengan kapasitas serap *strip test* sampai terdengar bunyi “bip”. Setelah itu pendarahan mencit dihentikan kemudian hasil tes akan terlihat pada layar alat setelah 150 detik untuk uji kolesterol. Pengambilan darah mencit untuk uji kolesterol pada hari ke 7, 14 dan 21 (Mariana *et al.*, 2020).

Analisis Data

Kadar kolesterol darah mencit dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA (Analysis of Variance) dengan tingkat kepercayaan 95%, jika berbeda signifikan dilanjutkan dengan uji Duncan. Analisis statistik dilakukan menggunakan software SPSS 16.0.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran Rata-Rata Kadar Kolesterol

Rerata kadar kolesterol masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Rerata Kadar Kolesterol Darah Mencit Putih Jantan

Kelompok	Rerata Kadar Kolesterol Darah Mencit			Selisih Kadar Kolesterol Hari ke-14 dan 21
	Kadar Awal (Hari ke-7)±SD	RerataInduksi (Hari ke-15)±SD	Rerata Perlakuan (Hari ke-22)±SD	
P1	120 ± 22,93	140 ± 15,16	104,7 ± 2,872	35.3

P2	134,5 ± 34,02	148 ± 27,11	136,75 ± 29,45	11,25
P3	139,25 ± 12,28	141,5 ± 13,07	84,5 ± 7,702	57
K (+)	122,5 ± 5,196	125,2 ± 4,5	112,7 ± 3,947	12,5
K (-)	105,2 ± 5,057	110,7 ± 6,396	113,2 ± 4,473	2,5

Keterangan : K+= Pemberian Simvastatin, K-= Pemberian aquadest, P1= Pemberian kombucha bunga *E. elatior* konsentrasi 10%, P2= Pemberian kombucha bunga *E. elatior* konsentrasi 20% dan P3= Pemberian kombucha bunga *E. elatior* konsentrasi 30%

Berdasarkan tabel 1 diatas dapat diketahui hasil rerata dari pemeriksaan kadar kolesterol darah mencit pada setiap tahapan. Rerata kadar awal tiap perlakuan diukur pada hari ke-7. Adapun hasilnya berturut-turut yakni 120 mg/dl; 134,5 mg/dl; 139,25 mg/dl; 122,5 mg/dl; 105,2 mg/dl. Kemudian pada tahapan penginduksian kolesterol menggunakan kuning telur dilakukan selama 7 hari. Pada hari ke 15 dilakukan pengukuran kadar kolesterol dimana masing-masing kelompok perlakuan mengalami peningkatan kadar kolesterol total. Adapun hasil pengukurannya yakni 140 mg/dl; 148 mg/dl; 141,5 mg/dl; 125,2 mg/dl dan 110,7 mg/dl. Kemudian selama 7 hari tiap kelompok diberi perlakuan dan pada hari ke 22 dilakukan pengukuran kadar kolesterol akhir. Hasil yang diperoleh berturut-turut yakni 104,7 mg/dl; 136,75 mg/dl; 84,5 mg/dl; 112,7 mg/dl; 113,2 mg/dl.

Uji ANOVA (*Analysis of Variance*) data hasil setelah perlakuan *E. elatior* mencit secara oral.

Tabel 2. Uji ANOVA (*Analysis of Variance*) data hasil setelah perlakuan *E. elatior* mencit secara oral

Hasil perlakuan		Keterangan
Sum-Square	12.269	Berbeda Signifikan
Df	19	
Sig	0.00	

Keterangan : $\geq 0,05$: Tidak signifikan, $\leq 0,05$: Berbeda Signifikan

Berdasarkan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) pada Tabel 2 diatas diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($P > 0,05$) maka H_0 ditolak sedangkan H_1 diterima, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian kombucha fermentasi kombucha *E. elatior* berpengaruh sangat signifikan terhadap penurunan kadar kolesterol total mencit. Hasil uji ANOVA (*Analysis of Variance*) dapat juga dikatakan bahwa perlakuan setiap kelompok memiliki perbedaan yang signifikan. Oleh karena itu untuk mengetahui mana yang berbeda dan yang paling efektif dalam menurunkan kolesterol darah mencit dilanjutkan uji lanjut *Post Hoc Duncan*. Uji *Duncan* bertujuan untuk mengetahui secara detail data mana yang berbeda secara signifikan dari kelompok perlakuan yang terletak pada tabel 3 dibawah ini.

Uji Duncan Setelah Perlakuan Bunga *E. elatior*

Hasil uji ANOVA (*Analysis of Variance*) menunjukkan hasil berbeda nyata sehingga dilanjutkan dengan uji lanjut duncan pada tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Hasil uji Duncan

No	Perlakuan	Rata-rata
1	K+	1,16 ^c
2	K-	1,06 ^{ab}
3	P1	1,04 ^a
4	P2	1,25 ^d

5	P3	1,09 ^b
---	----	-------------------

Keterangan : huruf yang terletak dibelakang angka menunjukkan beda nyata pada tabel Duncan.

Kadar kolesterol total normal pada mencit yaitu 26-82,4 mg/dl, akan tetapi rerata hasil pengukuran kadar kolesterol total pada hari ke-7 menunjukkan kadar kolesterol lebih dari kondisi normal. Hal ini dikarenakan kemungkinan dari faktor fisiologis dari mencit, dimana ketidakmampuan hati sebagai tempat pembentukan kolesterol untuk mengeskresikan kolesterol lama dari darah ke dalam empedu sehingga kadar kolesterolnya tinggi, dapat juga dikarenakan oleh faktor genetik (Rezaldi *et al.*, 2022) pada mencit.

Dimulai hari ke-7 sampai hari ke-14 mencit diberi induksi kuning telur sebanyak 2% BB. Pada hari ke-14 dilakukan pengukuran kadar kolesterol total. Adapun rerata hasil yang diperoleh menunjukkan semua mencit mengalami peningkatan kadar kolesterol. Peningkatan kadar kolesterol ini dikarenakan meningkatnya jumlah konsumsi asam lemak jenuh dan adanya radikal bebas akibat proses hidrolisis dan oksidasi dari pakan kuning telur. Radikal bebas yang terkandung dalam pakan kuning telur dan PTU dapat mempengaruhi metabolisme dan eksresi kolesterol dari dalam tubuh sehingga kadar kolesterol meningkat (Kolo *et al.*, 2022).

Adapun proses metabolisme kolesterol dan pembentukan kolesterol terdiri dari lima tahapan. Tahap pertama yaitu biosintesis mevalonat, dimana biosintesis mevalonat yang terdiri dari tiga molekul asetil Ko-A membentuk mevalonat melalui reaksi regulatorik penting di jalur ini, yang dikatalis oleh HMG-KoA reduktase. Tahap kedua pembentukan unit isoprenoid dimana mevalonat mengalami fosforilasi secara sekuensial oleh ATP dengan tiga kinase setelah dekarbosisasi terbentuklah unit isoprenoid aktif yaitu isopentil difosfat. Tahap ketiga yakni enam unit isoprenoid membentuk skualen dimana isopentil difosfat mengalami isomerisasi melalui pergeseran ikatan rangkap untuk membentuk dimetilalil difosfat untuk membentuk zat karbon geranyl difosfat kemudian terjadi kondensasi lebih lanjut dengan isopentil difosfat membentuk farnesil difosfat. Dari farnesil difosfat kemudian membentuk lanostreol. Tahap keempat yaitu pembentukan lanosterol, dimana skualen membentuk lipatan yang mirip dengan steroid. Tahap kelima yakni pembentukan kolesterol, dimana kolesterol terbentuk dari lanosterol yang berlangsung di dalam retikulum endoplasma.

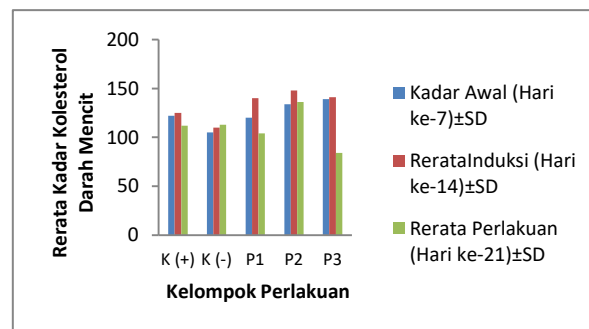
Dimulai hari ke-14 sampai hari ke-21 mencit diberikan perlakuan fermentasi kombucha bunga kecombrang dengan kelompoknya masing-masing dan diukur kembali pada hari ke-21. Berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa kelompok yang diberi perlakuan fermentasi kombucha bunga kecombrang 10%, 20%, dan 30% memiliki kecenderungan penurunan kadar kolesterol begitu juga dengan kelompok kontrol positif.

Hasil pemeriksaan kadar rata-rata kolesterol pada hari ke-14 setelah induksi kuning telur dan setelah perlakuan kombucha bunga kecombrang menunjukkan hasil yang bervariasi. Kelompok kontrol negatif diberikan pakan standar 512 bravo tanpa diinduksi kuning telur dan PTU menunjukkan kadar kolesterol yang stabil.

Berdasarkan hasil uji ANOVA (Analysis of Variance) menunjukkan bahwa penurunan kadar kolesterol kelompok (K+) memiliki perbedaan dibandingkan dengan kelompok P1, P2, dan P3. Hal ini setelah pemberian simvastatin hari ke-14 terhadap kelompok kontrol positif menunjukkan perbedaan yang bermakna artinya kelompok kontrol positif yang diberikan simvastatin mampu menurunkan kadar rata-rata kolesterol secara signifikan. Simvastatin yang digunakan sebagai pembanding pada kelompok kontrol positif yang diberikan pada

mencit selama 1 minggu terlihat rerata kolesterol mengalami penurunan kolesterol sebesar 112,7 mg/dl dari kadar awal sebesar 125,2 mg/dl. Simvastatin merupakan senyawa penurun kolesterol yang diperoleh dari sintesis hasil fermentasi *Aspergillus terreus*. Statin memiliki efek penurunan terbesar. Oleh karena itu statin dijadikan sebagai obat pilihan utama mengatasi penyakit kolesterol (Rezaldi *et al.*, 2022).

Mekanisme kerja simvastatin menghambat enzim HMG-CoA reduktase mengubah asetil CoA menjadi asam mevalonat. Asam mevalonat merupakan precursor dari pembentukan kolesterol (Sari *et al.*, 2019). Hasil pemberian fermentasi kombucha bunga *E. elatior* pada tiga kelompok yang berbeda yaitu konsentrasi 10%, 20% dan 30% terlihat adanya perbedaan yang signifikan. Konsentrasi 30% merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menurunkan kadar kolesterol mencit dengan nilai 84,5 mg/dl dari rata-rata awal sebesar 141,5 mg/dl. Kelompok P1 10%, P2 20% dan P3 30% pada hari ke-22 menunjukkan bahwa ketiga konsentrasi tersebut dapat menurunkan kadar kolesterol rata-rata pada mencit. Bahkan kelompok P3 untuk konsentrasi 30% memberikan penurunan yang lebih tinggi dibandingkan konsentrai 10% dan 20%. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh suhartatik *et al.*, (2009) menunjukkan bahwa fermentasi kombucha rosella dengan konsentrasi 40 g/L dengan lama fermentasi 5 hari memberikan pengaruh yang lebih baik dalam menurunkan kolesterol darah mencit. Penelitian lain dilakukan oleh Mariana (2020) menunjukkan bahwa 14 hari setelah pemberian cuka mandai kadar kolesterol yaitu dari 76,6 mg/dl menjadi 54,8 mg/dl.



Gambar 1. Rerata Kadar Kolesterol Darah Mencit

Berdasarkan grafik pada gambar 1. dapat diperoleh adanya perbedaan kadar kolesterol total awal (hari ke 8), setelah induksi (hari ke 15) dan setelah pemberian perlakuan (hari ke 22). Pada grafik tersebut menunjukkan adanya peningkatan kadar kolesterol total (pada hari ke 15) disetiap perlakuan. Hal ini dikarenakan induksi kuning telur secara terus-menerus sehingga kadar kolesterol total pada mencit meningkat dari kadar awalnya. Pada grafik juga terlihat adanya penurunan kadar kolesterol total hari ke 22 (setelah pemberian fermentasi kombucha bunga *E. elatior*). Adanya penurunan menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi kombucha memiliki efektivitas antikolesterol.

Berdasarkan hasil penelitian, bahwa terjadi penurunan kadar kolesterol mencit setelah pemberian fermentasi kombucha bunga kecombrang. Kandungan dari fermentasi kombucha bunga kecombrang salah satunya adalah senyawa flavonoid. Flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Flavonoid dapat bereaksi dengan radikal bebas melalui penangkapan langsung radikal bebas seperti siklooksigenase dan lipoksigenase. Senyawa flavonoid diduga bekerja dengan cara menghambat enzim HMG-CoA reduktase yang berfungsi sebagai

pengkatalis dalam pembentukan kolesterol dan meningkatkan aktivitas *Letchitin Cholesterol Transferase* (LCAT) (Umami et al., 2016).

Mekanisme biologi molekuler pada kombucha dalam menurunkan kolesterol disebabkan oleh pengikatan asam empedu oleh metabolit (yang terkandung dalam teh kombucha) di dalam usus halus yang menyebabkan meningkatnya eksresi asam empedu fekal, sehingga terjadi penurunan absorpsi lemak dalam kolesterol hal ini mengakibatkan kolesterol dalam hati pindah sehingga kolesterol untuk memproduksi asam empedu kurang. Kondisi ini merangsang terjadinya konsentrasi HDL dalam hati untuk memenuhi kekurangan kolesterol tersebut. Semakin lama fermentasi teh kombucha yang diberikan, semakin menurun kadar kolesterol pada mencit putih dibandingkan dengan kontrol. Metabolit yang terkandung dalam teh kombucha antara lain adalah Niasin atau Vitamin (Vitamin B3) yang juga disebut asam nikotinat bekerja dalam tubuh seperti koenzim dalam bentuk nikotinamida adenine dinukleotida (NAD) dan Nikotinamida Adenine Dinukleotida Fosfat (NADP). Koenzim ini adalah reseptor hidrogen berikatan dengan atom hidrogen dalam bentuk koenzim hidrogenase yang merupakan katalis pada reaksi oksidasi reduksi (Rezaldi *et al.*, 2022).

NAD^+ berfungsi sebagai koenzim berfungsi sebagai reaksi oksidasi alkohol dalam reaksi berikut : $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{CHO} + \text{NADH} + \text{H}^+$. Reaksi ini akan menghasilkan ion H^+ , maka akan berjalan baik pada pH rendah (suasana asam) (Rezaldi *et al.*, 2022). Nikotinamide merupakan komponen dari semua zat pembawa elektron dalam sel hidup ($\text{NAD} + \text{NADH} + \text{H}^+$) dan berfungsi dalam banyak lintasan metabolisme terutama dalam : glikolisis anaerob, oksidatif fosforilasi siklus kreb dan sintesis β -oksidasi asam lemak. Penurunan kadar kolesterol oleh niasin dapat dilakukan dengan cara menghambat perubahan lemak jaringan, mengurangi pengambilan asam lemak bebas oleh hati dan meningkatkan pengeluaran kolesterol oleh hepar melalui getah empedu (Waskita *et al.*, 2023).

D. KESIMPULAN

Pemberian fermentasi kombucha dari bunga kecombrang (*E. elatior* R.M. Sm) pada konsentrasi 10%, 20% berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar kolesterol darah mencit putih jantan (*Mus musculus* L.).

Pemberian fermentasi kombucha dari bunga kecombrang (*E. elatior* R.M. Sm) pada konsentrasi 30% paling berpengaruh dalam menurunkan kadar kolesterol darah mencit sebesar 84,5 mg/dl dari kolesterol total awal sebesar 141,5 mg/dl pada hari ke-21.

E. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada seluruh Author yang terlibat dalam penelitian ini, kemudian kepada Dewan Redaksi Jurnal Agromedicine & Medical Sciences yang telah memberikan banyak peluang untuk dapat diterima hasil penelitian kami sehingga layak untuk diterbitkan.

F. DAFTAR PUSTAKA

Frinanda D., R. Rahayu. 2014. Efektivitas Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) sebagai Anti Hiperkolesterolemia dan Stabilisator Nilai Darah pada Mencit Putih (*Mus musculus*) Jantan. *Jurnal Biologi UNAND*, 3(3). <https://doi.org/10.25077/jbioua.3.3.%25p.2014>

- Kolo Y., Rezaldi F., Fadillah M. F., Trisnawati D., Pamungkas B. T., Ma'ruf A., F. D. Pertiwi. 2022. Antikolesterol Pada Ayam Boiler (*Gallus Domesticus*) Dari Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Melalui Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha. *Jurnal Teknologi Pangan Dan Ilmu Pertanian (JIPANG)*. 4(2), 30-36.
- Mariana, M., Rahmadi, A., H. Syahrumsyah. 2020. Pengaruh pemberian cuka mandai terhadap kadar kolesterol total, lipoprotein dan trigliserida pada mencit (*Mus musculus*) dengan induksi kuning telur. *Journal of Tropical AgriFood*. 2(1), 45-52.
- Rezaldi F., Ningtyas R. Y., Anggraeni S. D., Ma'ruf A., Fatonah N. S., Pertiwi F. D., Fitriyani F., A. L. D., US, S., Fadillah M. F., A. I. Subekhi. 2021. Pengaruh Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Sebagai Antibakteri Gram Positif Dan Negatif. *Jurnal Biotek*. 9(2), 169-185. <https://doi.org/10.24252/jb.v9i2.25467>
- Rezaldi F., Fadillah M. F., Agustiansyah L. D., Trisnawati D., , F. D. Pertiwi. 2022. Pengaruh Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Sebagai Penurun Kadar Kolesterol Bebek Pedaging Berdasarkan Konsentrasi Gula Aren Yang Berbeda-Beda. *Jurnal Biogenerasi*. 7(2), 57-67. <https://doi.org/10.30605/biogenerasi.v7i2.1772>
- Rezaldi F., Setiawan U., Kusumiyati K., Trisnawati D., Fadillah M. F., D. Y. Setyaji. 2022. Bioteknologi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Dengan Variasi Gula Stevia Sebagai Antikolesterol Pada Bebek Pedaging. *Jurnal Dunia Farmasi*. 6(3), 156-169. <https://doi.org/10.33085/jdf.v6i3.5279>
- Sari, A. N., Hidayat, M., Faizah, S., & Diningrat, D. S. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daging Buah Asam Keranji (*Dialium indum* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Mencit Jantan (*Mus musculus*) Hiperlipidemia. *Biofaal Journal*. 2(1), 1-10.
- Suhartatik N., Karyantina M., I. T. Purwanti. 2009. Kombucha Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dan Kemampuannya Sebagai Anti Hiperkolesterolemia. *Journal Agritech*. 29(1), 29-35.
- Umami S. R., Hapizah S. S., Fitri R., A. Hakim. 2016. Uji Penurunan Kolesterol Pada Mencit Putih (*Mus Musculus*) Secara In-Vivo Menggunakan Ekstrak Metanol Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L) Sebagai Upaya Pencegahan Cardiovascular Disease. *Jurnal Pijar Mipa*, 11(2). <https://doi.org/10.29303/jpm.v11i2.113>
- Waskita K. N., Nurmaulawati R., F. Rezaldi. 2023. Efek Penambahan Substrat Madu Hutan Baduy Pada Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Dalam Menurunkan Kolesterol Ayam Broiler (*Gallus galus*) Sebagai Inovasi Produk Bioteknologi Konvensional Terkini. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Dan Kesehatan*. 2(1), 112-119. <https://doi.org/10.55606/klinik.v2i1.883>