

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN PAKU SISIK NAGA (*DRYMOGLOSSUM PILOSELLOIDES* L.PRESL) TERHADAP PEROKSIDASI LIPID HATI PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI CCl₄

Ayu Fauzia Malinda, Fatimawali, Adithya Yudistira
Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado

ABSTRACT

The aims of this research was to determine the effect of ethanol extract paku sisik naga leaves against lipid peroxidation in male wistar liver induced by CCl₄. Method of this research used laboratory experiment using 9 white male wistar were divided into 3 treatment groups. All groups were given treatment during ten days. The first group (negative control) was given distilled water *ad libitum*, the second group was given ethanol extract of paku sisik naga leaves 97.02 mg/kg body weight per oral and the third group (positive control) was given Curcuma 45 mg/kg body weight per oral. On the tenth day, after two hours of treatment all groups were given CCl₄ 1mL/kg body weight *intraperitoneal*, eighteen hours after that rats in all groups were dissected and taken his liver. Then rat liver analyzed by TBARS method (*Thiobarbiturate Acid Reactive Substance*) to measure the levels of MDA (*Malondialdehyde*) which is an indicator of lipid peroxidation in the rat liver. Data were analyzed by SPSS ver.20, significant difference between treatments was tested by one-way ANOVA. The results showed a significant difference with 95% confidence level ($\alpha = 0.05$) with a mean value of MDA 3,828 μ M negative control group, group of ethanol extract of paku sisik naga leaf was 2,666 μ M and 2,211 μ M for positive control group. Ethanol extract of paku sisik naga leaves with dose 97.02 mg/kg body weight can prevent the process of lipid peroxidation in rat liver.

Keywords: *Drymoglossum piloselloides* L. Presl, CCl₄, TBARS, lipid peroxidation

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun paku sisik naga terhadap peroksidasi lipid hati tikus jantan galur wistar yang diinduksi CCl₄. Metode yang digunakan merupakan eksperimen laboratorium dengan menggunakan subjek penelitian berupa tikus putih jantan galur wistar berjumlah 9 ekor yang dibagi dalam 3 kelompok perlakuan. Perlakuan awalnya dimulai selama sepuluh hari berturut-turut yaitu kelompok pertama (kontrol negatif) hanya diberikan minum aquades *ad libitum*, kelompok kedua diberikan ekstrak etanol daun paku sisik naga 97,02mg/KgBB peroral dan kelompok ketiga (kontrol positif) diberi Curcuma 45 mg/KgBB peroral. Pada hari ke sepuluh setelah dua jam perlakuan semua kelompok diberikan CCl₄ 1mL/KgBB secara *intraperitoneal*, selanjutnya delapan belas jam setelah pemberian CCl₄ semua kelompok tikus dibedah dan diambil hatinya. Hati tikus kemudian dianalisis menggunakan metode TBARS (*Thiobarbiturate Acid Reactive Substance*) untuk mengukur kadar MDA (*Malondialdehyd*) yang merupakan indikator terjadinya proses peroksidasi lipid di hati tikus. Data dianalisis dengan spss ver.20, beda nyata antar perlakuan diuji dengan *one way* ANOVA. Hasil analisis statistika menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$), dengan nilai rerata kadar MDA kelompok kontrol negatif 3,828 μ M, kelompok ekstrak etanol daun paku sisik naga 2,666 μ M dan kelompok kontrol positif 2,211 μ M. Ekstrak etanol daun paku sisik naga dengan dosis 97,02 mg/KgBB dapat mencegah terjadinya proses peroksidasi lipid di hati tikus.

Kata Kunci : *Drymoglossum piloselloides* L. Presl, CCl₄, TBARS, peroksidasi lipid

PENDAHULUAN

Dewasa ini masyarakat perkotaan cenderung mengkonsumsi pangan yang tidak seimbang pemenuhan gizinya, serta makanan siap saji seringkali dihidangkan dengan menggunakan zat aditif pangan yang tidak sesuai aturan (Rohmatussolihat, 2009). Selain faktor gizi, faktor lingkungan luar seperti paparan asap rokok, bahan kimia toksik, polusi udara dan radiasi juga dapat menjadi pemicu terjadinya reaksi peradangan dan penyakit degeneratif (Droge, 2002). Penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskular, hipertensi, stroke, sirosis hati, diabetes mellitus, penyakit parkinson, kanker dapat disebabkan karena penyerangan radikal bebas terhadap tubuh. Radikal bebas dihasilkan oleh tubuh pada proses metabolisme normal dan merupakan partikel kecil yang memiliki energi besar. Radikal bebas sebagai molekul atau atom dengan elektron bebas dalam jumlah normal dapat berfungsi dalam membunuh virus dan bakteri, namun dalam jumlah sangat banyak dan energi yang sangat besar zat ini dapat merusak jaringan normal, mengganggu produksi DNA, merusak dinding sel khususnya lapisan lipid, serta mempengaruhi pembuluh darah (Halliwell, 1991).

Senyawa antioksidan merupakan zat yang mengurangi atau menghambat kerusakan oksidatif suatu molekul. Substansi yang bersifat antioksidatif dapat menangkap radikal bebas sehingga dapat melindungi dari kerusakan dan peradangan yang tidak terkontrol (Pham-Huy *et al.*, 2008). Tumbuhan paku sisik naga (*Drymoglossum piloselloides* L.) merupakan tumbuhan yang memiliki aktifitas antioksidan (Dalimunthe dan Anjelisa, 2011). Secara empiris masyarakat menggunakan daun paku sisik naga ini untuk mengobati penyakit kanker, gondok, batuk darah, keputihan, kencing nanah, reumatik, sakit kuning, sariawan. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui ada tidaknya pengaruh

pemberian ekstrak etanol daun paku sisik naga terhadap peroksidasi lipid hati tikus jantan galur wistar yang diinduksi CCl_4 .

METODOLOGI PENELITIAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun paku sisik naga yang diperoleh di Kecamatan Mapanget pada bulan Januari 2013. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70%, aquadest, larutan CCl_4 , larutan dietil eter, larutan asam trikloroasetat (TCA) 10% *Merck*, larutan asam tiobarbiturat (TBA) 0,02M *Merck*, obat pembanding yang digunakan Curcuma (Soho[®]). Hewan uji yang akan digunakan adalah Tikus putih jantan (*Rattus novergicus* L.) galur Wistar serta pakan tikus berupa makanan standar.

Alat yang digunakan yaitu kandang tikus beserta kelengkapan makanan dan minuman, sarung tangan, neraca analitik, *water bath*, *sentrifuge* (EBA Hettich), spektrofotometer (*Thermo Scientific GENESYS 20*), *vortex*, seperangkat alat gelas, seperangkat alat soxhlet, mortir, ayakan, oven, evaporator, blender (*Philips*), seperangkat peralatan bedah, *hot plate*, dispo 1cc (*Terumo*).

Persiapan Sampel

Tumbuhan diambil bagian daunnya, dicuci bersih, disortasi untuk memisahkan dari bagian tumbuhan yang rusak dan tumbuhan lain. Sampel ditimbang sebanyak 2700 gram (berat basah) lalu dirajang. Rajangan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu $45^{\circ}C$. Daun paku sisik naga kering lalu ditimbang (berat kering) dan dihitung rendemen simplisia kering. Setelah itu simplisia diserbuk dengan blender untuk memperkecil permukaan partikel agar kontak antara bahan dan larutan penyari lebih besar, lalu diayak dengan menggunakan ayakan 65 mesh.

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi simplisia daun paku sisik naga menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstraksi dilakukan dengan cara panas yaitu soxhletasi. Sebanyak 25 gram simplisia kering dimasukkan dalam kertas

saring kemudian diletakkan dalam *thimble soxhlet*. Pelarut etanol 70% sebanyak 250 mL. Ekstraksi dilakukan sekitar 6-7 jam hingga cairan tidak berwarna. Ekstrak yang didapat kemudian dipekatkan dengan menggunakan *evaporator* dan *water bath*.

Uji Peroksidasi Lipid Hati

Tikus putih jantan yang berjumlah 9 ekor dengan umur 2-3 bulan diadaptasikan terlebih dahulu selama tiga minggu dengan diberikan pakan standar setiap hari secara *ad libitum*. Pada hari terakhir masa adaptasi tikus ditimbang. Setelah masa adaptasi tikus dibagi menjadi 3 kelompok secara random, yaitu kelompok kontrol negatif (-), kontrol positif (+), kelompok perlakuan ekstrak etanol daun paku sisik naga (EDSN), masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus.

Sesudah masa adaptasi pengujian dilakukan dari hari ke-1 sampai ke-10 dengan perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif (-) diberikan aquadest *ad libitum*, kelompok kontrol positif (+) diberikan Curcuma (Soho[®]) 45mg/KgBB, kelompok perlakuan ekstrak diberi dosis ekstrak etanol daun paku sisik naga 97,02 mg/KgBB.

Pada hari ke-10 setelah 2 jam pemberian ekstrak semua kelompok diberikan pemberian CCl₄ sebesar 1 mL/KgBB secara *intraperitoneal*. Pada hari ke-11 setelah 18 jam pemberian CCl₄ semua kelompok tikus dianestesi dengan larutan dietil eter dan dilakukan pembedahan untuk diambil hatinya.

Analisis Malondialdehid (MDA)

Hati tikus diambil dipotong kecil-kecil lalu dicampur homogen dan ditimbang sebanyak 0,5 gram, setelah itu ditambahkan 4 mL asam trikloroasetat (TCA) 10% kemudian di vortex selama 1 menit lalu disentrifugasi pada 3500 rpm selama 10 menit. Supernatannya dipisahkan dan ditambah 2,5 mL asam tiobarbiturat (TBA) 0,02M lalu larutan divortex selama 1 menit agar homogen. Larutan homogen kemudian dipanaskan ke dalam *water bath* suhu 100⁰C selama 10

menit. Larutan yang berwarna merah muda didinginkan lalu diukur serapannya pada λ 532nm menggunakan spektrofotometer. Kadar MDA dihitung menggunakan kurva baku standar 1,1,3,3, *tetraethoxypropane* (TEP) konsentrasi 60 μ M kemudian diencerkan menjadi 0,3 μ M, 6 μ M, 9 μ M, 12 μ M (Suyanto, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penetapan kadar MDA dihitung setelah membuat kurva kalibrasi TEP dengan menggunakan larutan standar yaitu 1,1,3,3-tetraetoksiopropan (TEP) sebagai sumber MDA. Data pengukuran absorbansi konsentrasi larutan TEP standar ditampilkan pada lampiran 1.

Kurva hubungan antara konsentrasi TEP dan absorbansi pada panjang gelombang 532 nm diperoleh persamaan garis $y = 0,033x + 0,011$ serta memberikan nilai korelasi r (0,999) ditunjukkan (Lampiran 2). Hubungan antara konsentrasi larutan TEP dengan absorbansi ditunjukkan oleh kurva kalibrasi dengan nilai (r) yang mendekati 1.

Data yang ditampilkan merupakan nilai rata-rata dari 3 kali pengulangan. Kemudian, data dianalisis secara statistika menggunakan program SPSS versi 20.0. Analisis statistika dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan antar perlakuan terhadap peroksidasi lipid hati dan jumlah kadar MDA yang dihasilkan.

Ekstrak etanol daun paku sisik naga dengan aktifitas antioksidannya dapat mengurangi kadar produk MDA yang dihasilkan dari proses peroksidasi lipid yang dipicu radikal bebas. Pada penelitian ini juga dapat dilihat bahwa efek antioksidan yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun paku sisik naga dosis 97,02mg/KgBB dan curcuma 45mg/KgBB adalah sebanding punya efek yang sama dalam mencegah peroksidasi lipid yang ditimbulkan radikal bebas.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun paku sisik naga dosis 97,02mg/KgBB selama 10 hari mampu mencegah terjadinya proses peroksidasi lipid di hati tikus dengan total jumlah produk MDA yang terbentuk adalah sebesar 2,666µM pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi CCl₄.

DAFTAR PUSTAKA

Dalimunthe, A., Anjelisa, P. 2011. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (Drymoglossum piloselloides (L.) Presl)*. Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara.

Droge, W. 2002. Free Radical In The Physiological Control Of Cell Function. *Physiol rev*, 82:47-95.

Halliwell, B. 1991. Reactive Oxygen Species In Living Systems : Source, Biochemistry, And Role In Human Disease. *Am J Medicine 91*

Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C. 2008. Free Radical, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, vol 4 no 2.

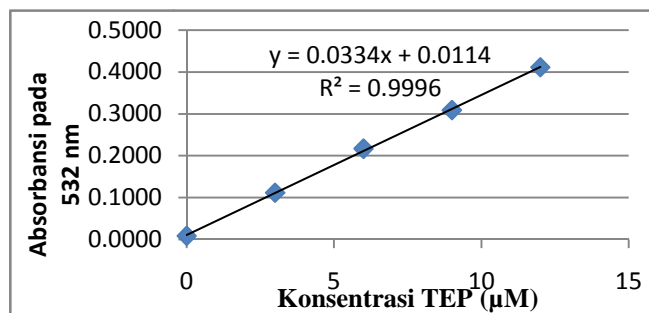
Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan Penyelamat Sel – Sel Tubuh Manusia. *BioTrends* vol 4.

LAMPIRAN

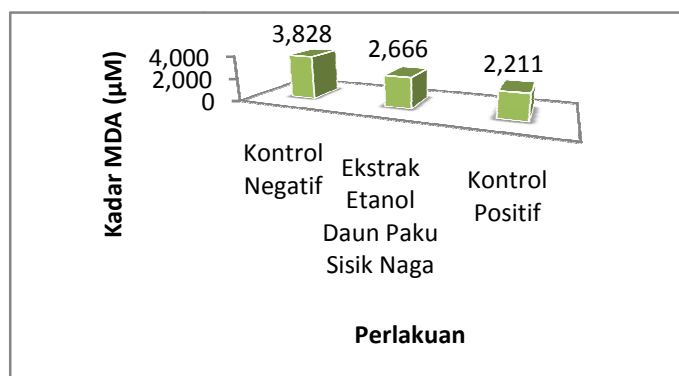
Lampiran 1. Pengukuran absorbansi konsentrasi larutan TEP standar

No	Konsentrasi µM	Absorbansi 532nm
1	0	0.0090
2	3	0.1120
3	6	0.2170
4	9	0.3090
5	12	0.4110

Lampiran 2. Kurva standar TEP



Lampiran 3. Grafik kadar rata – rata MDA kelompok perlakuan



Filename: 13
Directory: G:\jurnal pharmacon\pharmacon ed 4\terbit
Template: C:\Documents and Settings\User\Application
Data\Microsoft\Templates\Normal.dotm
Title:
Subject:
Author: MyLove99
Keywords:
Comments:
Creation Date: 5/12/2013 8:02:00 PM
Change Number: 12
Last Saved On: 2/13/2013 11:11:00 AM
Last Saved By: Guest Farmasi
Total Editing Time: 48 Minutes
Last Printed On: 5/13/2013 1:16:00 PM
As of Last Complete Printing
Number of Pages: 4
Number of Words: 1,748 (approx.)
Number of Characters: 9,970 (approx.)