

Uji Efek Pelindung Hati Ekstrak Air Tanaman Kulit Lawang, *Cinnamomum Cullilaban* (Lauraceae), melalui Pemeriksaan MDA dan SOD Plasma Sel Darah Tikus

Arif Soeksmanto

Laboratorium Biofarmaka, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI,
Jalan Raya Bogor Km. 46, Cibinong 16911

Diterima 11-12-2009

Disetujui 30-08-2010

ABSTRACT

Industrial growth, pollution, and the change of life style cause environmental degradation. This condition enhances the occurrence of degenerative diseases that more difficult to conquer than infective diseases. This promotes the use of herbs in America up to 385% in period 1990-1997, wasting 4–12 billion dollar each year. World Health Organization (WHO) estimates approximately 4 billion or 80% of world citizens use herbs for their health care. Kulit lawang plants are medicinal plants grown endemically in Papua and Maluku regions. The existence of the plants in Maluku islands is considered as endangered species. Information on the plants in scientific publication is relatively limited. meanwhile *Cinnamomum* sp. is known having high antioxidant compound. This research aimed to find out hepatoprotector effect of kulit lawang water extract through observation of MDA and SOD of venous blood of rat intoxicated with CCl₄. Dosage used was based on result of effective dosage test which showed that water extract of kulit lawang plant of 20 mg/kg bw as highest dosage that did not harm animal health. Result of hepatoprotector effect test showed that MDA and SOD of control were 230.12 U/ml and 1243.00 pmol/ml, whereas water extract of kulit lawang was 414.45 U/ml and 793.00 pmol/ml, α -tocopherol 416.42 U/ml and 782.33 pmol/ml, and curcumin 426.07 U/ml and 734.00 pmol/ml. This showed that water extract of kulit lawang plant has antioxidant properties and potential as hepatoprotector of oxidative damage.

Keywords : Blood, *Cinnamomum cullilaban*, Hepatoprotector, Kulit Lawang, MDA, Rat, SOD, water extract

PENDAHULUAN

Kemajuan teknologi tidak terlepas dari peningkatan jumlah penduduk, pertumbuhan industri, polusi dan perubahan gaya hidup yang berakibat pada memburuknya kondisi lingkungan. Keadaan ini, memicu munculnya jenis penyakit degeneratif yang justru lebih sulit diatasi dibanding penyakit infeksi. Bahkan penyakit degeneratif (seperti kanker, hepatitis, jantung, artritis, diabetes dsb) telah banyak merenggut nyawa manusia.

Belakangan diketahui bahwa kerusakan lingkungan berhubungan dengan perubahan iklim global yang mengancam tenggelamnya daratan, sampai timbulnya penyakit baru yang sulit disembuhkan. Hal tersebut mendorong munculnya istilah *back to nature* yang bukan saja menganjurkan masyarakat untuk peduli pada lingkungan, tetapi juga mengkonsumsi herbal.

Di Amerika pada periode 1990-1997 penggunaan herbal meningkat hingga 385% dengan menghabiskan 4-12 milyar dolar setiap tahunnya (Eisenberg *et al.*, 1993).

Bahkan WHO memperkirakan ada sekitar 4 milyar atau 80% penduduk dunia menggunakan herbal untuk perawatan kesehatannya, sedangkan di Indonesia sendiri, pengobatan tradisional herbal sudah dikenal sejak ratusan tahun lalu dan setiap tahunnya selalu bermunculan produk-produk baru di pasaran. Keadaan ini menunjukkan bahwa pengadaan produk-produk herbal masih sangat dibutuhkan baik di lingkungan masyarakat Indonesia maupun masyarakat dunia.

Penelitian ini bertujuan mengungkap potensi tanaman kulit lawang sumber antioksidan sebagai guna memenuhi kebutuhan masyarakat akan obat herbal. Tanaman kulit lawang merupakan tanaman obat yang tumbuh endemik di daerah Papua dan Maluku. Tanaman ini beraroma seperti cengkeh dan digunakan sebagai penyedap, obat gosok, kulit maupun kolera. Meskipun demikian keberadaan tanaman kulit lawang di Kepulauan Maluku pada saat ini sudah sangat terancam. Sementara publikasi ilmiahnya masih sangat jarang dan umumnya hanya berkisar pada kandungan senyawa kimia minyak atsirinya saja.

Menurut Shan *et al.*, (2005) marga dari tanaman ini mengandung senyawa antioksidan tinggi dan minyak atsirinya memiliki efek antimikroba (López *et al.*, 2005).

Penelitian epidemiologis membuktikan bahwa stress oksidatif selalu berhubungan dengan patogenesis dan perkembangan berbagai penyakit kronis (Sunita *et al.*, 2000). Oleh karena itu pengembangan potensi antihepatotoksik dan antioksidan menjadi penting, khususnya penggunaan bahan alami dalam mengatasi penyakit hati (Hussein *et al.*, 2007).

Penelitian ini menggunakan CCl₄ yang umum digunakan dalam penelitian hepatotoksisitas, meskipun mekanisme aksi CCl₄ rumit, melibatkan banyak faktor dan belum sepenuhnya dapat dimengerti (Sisodia & Bhatnagar, 2009). Prinsipnya CCl₄ masuk ke dalam tubuh, tertimbun di dalam sel-sel parenkimal hati dan dibiotransformasi sistem sitokrom P₄₅₀, sehingga menghasilkan radikal triklorometil (CCl₃). Radikal ini, kemudian dikonversi kembali menjadi radikal peroksi (CCl₃O₂) yang lebih toksik (Recknagel, 1983).

Superoksida Dismutase (SOD) adalah sistem pertahanan tubuh yang berfungsi mengubah radikal superoksida menjadi H₂O₂ yang kurang toksik, Sedangkan Malondialdehid (MDA) adalah produk akhir dari proses peroksidasi lemak yang disebabkan oleh stres oksidatif. Menurut Tokyay *et al.*, (1999) kadar MDA dapat digunakan untuk mendeterminasi awal terjadinya stress oksidatif hati.

Mengingat keberadaan tanaman kulit lawang yang sangat terancam, kebutuhan masyarakat akan obat herbal serta tingginya kandungan senyawa antioksidan marga *Cinnamomum* sp. maka diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi masukan yang berguna dalam melengkapi fitofarmaka Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Material tanaman kulit lawang dikoleksi dari daerah Seram Bagian Barat, Propinsi Maluku. Sampel material tanaman diidentifikasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Peneliti Biologi-LIPI untuk

memastikan jenis tumbuhan yang dimaksud. Setelah dipastikan, maka dilakukan pemotongan dan pengeringan untuk persiapan ekstraksi.

Pencarian dosis efektif ekstrak air tanaman kulit lawang dilakukan pada tikus *Sprague Dawley* jantan dengan dosis 0, 5, 10, 15, 20 dan 30 mg/kg bb secara intragastrik yang diamati selama 7 hari. Pengujian efek pelindung hati dengan tikus yang sama, tetapi perlakuannya adalah pelarut (kontrol normal), kurkumin (kontrol positif 1), á-tokoferol (kontrol positif 2) dan ekstrak air tanaman kulit lawang. Pemberian bahan-bahan tersebut dilakukan selama 7 hari, kemudian tikus diintoksikasi dengan CCl₄ dan diamati hingga 14 hari setelah pemberian CCl₄.

Data kadar MDA dan SOD diambil pada hari ke-7, 3, dan 1 sebelum intoksikasi CCl₄ dan hari 1, 2, 3, 5, 7 dan 14 setelah intoksikasi. Penelitian ini menggunakan 5 ulangan dengan sampel darah dari vena jugularis. Sampel darah tersebut selanjutnya disentrifugasi untuk memisahkan plasma (MDA) dan sel darah merah (SOD) serta diamati menggunakan alat spektrofotometer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan ekstraksi tanaman kulit lawang yang dilakukan, diketahui bahwa 250 g serbuk yang direfluks 5 kali dengan 4 liter aquades, menghasilkan 73,67 g ekstrak air, Pencarian dosis efektif, didapat dosis 20 mg/kg bb sebagai dosis tertinggi yang tidak mengganggu kesehatan hewan. Hasil pemeriksaan kadar MDA dan SOD selama penelitian berlangsung, disajikan, pada Tabel 1 dan 2.

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa pemberian ekstrak air tanaman kulit lawang tidak menyebabkan kerusakan pada sel-sel hati. Hal tersebut juga terlihat dari hasil uji statistik kadar MDA dan SOD seluruh perlakuan yang tidak berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian dosis ekstrak 20 mg/kg bb tidak toksik bagi hewan percobaan. Intoksikasi CCl₄ memberikan pengaruh yang nyata pada gambaran histologi, berupa radang (terdapat banyak sel-sel makrofag) yang mengawali terjadinya nekrosis

Tabel 1. Hasil pengamatan histologi, kadar MDA dan SOD tikus sebelum diintoksikasi CCl₄ pada uji efek pelindung hati ekstrak air tanaman kulit lawang

Hari ke	Kontrol		Kurkumin		α-tocopherol		Kulit lawang	
	MDA	SOD	MDA	SOD	MDA	SOD	MDA	SOD
-7	130	432	130	432	130	432	130	432
-3	140	482	138	418	138	428	138	418
-1	130	218	140	197	143	195	133	202
Σ	400	1132	408	1047	410	1055	401	1052
X	133	377	136	349	137	352	134	351

Tabel 2. Hasil pengamatan histologi, kadar MDA dan SOD tikus setelah diintoksikasi CCl_4 pada uji efek pelindung hati ekstrak air tanaman kulit lawang

Hari ke	Kontrol CCl_4		Kurkumin		α -tocopherol		Kulit Lawang	
	MDA	SOD	MDA	SOD	MDA	SOD	MDA	SOD
1	237	122	210	183	387	142	243	183
2	1505	258	907	335	907	395	1128	312
3	1718	243	1704	348	1775	397	1746	387
5	1613	249	763	475	816	452	924	445
7	1477	253	563	557	587	525	536	530
14	908	255	276	658	222	588	181	630
Σ	7458	1381	4404	2556	4694	2499	4758	2487
\bar{x}	1243	230	344	426	782	416	793	414

sel hati. Menurut Guyton dan Hall (2000) stadium awal peradangan ditandai dengan munculnya sel-sel neutrofil pada daerah yang terpapar toksikan. Penjelasan terjadinya infiltrasi sel-sel radang ke dalam hati diawali dengan masuknya toksikan ke dalam hati yang menyebabkan peningkatan aktivitas sel (khususnya sel-sel sinusoid endotelial dan hepatosit) dan antigen leukosit 1 (LFA-1) disekitar dinding pembuluh. Kemudian toksikan dan LFA-1 tertimbun di daerah nekrosis, sehingga meningkatkan aktivitas sel-sel radang dan menimbulkan hepatotoksitas (Neubauer, 1998).

Kerusakan sel hati akibat intoksikasi CCl_4 berasal dari hasil metabolisme CCl_4 oleh sistem sitokrom P_{450} , yang menghasilkan radikal triklorometil. Menurut Hodgson dan Levi, (2000), aktivasi ikatan kovalen radikal terhadap makromolekul yang tidak tercegah oleh pertahanan antioksidan tubuh akan memicu terjadinya kerusakan peroksidatif pada lemak membran retikulum endoplasmik. Hal ini dapat terjadi karena membran retikulum endoplasmik kaya akan asam-asam lemak tak jenuh (Johnson & Bhutani, 2002). Oleh karena itu kadar SOD dan antioksidan tubuh lainnya akan menurun saat sel hati nekrosis. Kerusakan peroksidatif ini, kemudian menyebabkan membran sel menjadi rentan, mudah pecah dan dapat mengakibatkan kematian sel (Lu, 1995), sehingga menyebabkan terjadinya hepatotoksitas CCl_4 (Cotran *et al.*, 1994).

Sebaliknya saat sel hati nekrosis kadar MDA justru akan meningkat, karena MDA merupakan produk dekomposisi dari proses peroksidasi lemak yang disebabkan stres oksidatif. Menurut Mitra *et al.*, (1998) konsentrasi MDA dalam sirkulasi darah dapat digunakan sebagai penanda kuantitatif akan luas dan tipe kerusakan sel hati (Mitra *et al.*, 1998). Peningkatan kadar MDA ini tampak jelas pada hari ke-2 setelah intoksikasi CCl_4 .

Pada hari ke 5 setelah diintoksikasi CCl_4 , tikus yang diberi pengobatan tampak telah mengalami

regenerasi. Hal ini sesuai dengan hasil pemeriksaan MDA dan SOD yang sangat berbeda antara hari ke 3 dengan hari ke 5, sementara kontrol CCl_4 (tikus tanpa pengobatan), baru mencapai regenerasi pada hari ke 14. Menurut Huxtable, (1988), kerusakan berat dapat menghambat proses regenerasi dan meninggalkan bekas luka halus, meskipun hati telah normal kembali. Pada kasus keracunan berat, kegagalan fungsi hati dapat menyebabkan kematian dalam waktu 12 –24 jam (Huxtable, 1988).

Pada hari ke-7 setelah intoksikasi, tampak sel-sel hati tikus yang diobati telah kembali normal, sedangkan pada kontrol CCl_4 masih memperlihatkan tanda-tanda pemulihan berupa inti sel yang tidak seragam (*pleomorfik*). Penurunan kadar MDA dan meningkatnya kadar SOD yang tertinggi terjadi antara hari ke-5 dan ke-7, diduga saat itu antioksidan tubuh mulai mampu mengatasi gangguan oksidatif toksisitas CCl_4 .

Berdasarkan hasil uji statistik kadar MDA dan SOD (hari ke 5 dan ke-7 setelah intoksikasi CCl_4), diketahui tidak ada perbedaan diantara perlakuan obat yang diberikan. Meskipun demikian seluruh perlakuan obat berbeda nyata dengan kontrol CCl_4 . Hasil ini, membuktikan bahwa ekstrak air tanaman kulit lawang memiliki kemampuan melindungi sel-sel hati dari kerusakan oksidatif yang setara dengan α -tokoferol dan kurkumin.

KESIMPULAN

Pemberian 20 mg/kg bb ekstrak tanaman kulit lawang, tidak toksik bagi hewan percobaan, bahkan berpotensi menghambat kerusakan peroksidatif pada tikus yang diintoksikasi CCl_4 . Daya hambat kerusakan peroksidatif ekstrak tanaman kulit lawang, setara dengan α -tokoferol dan kurkumin yang diketahui mengandung antioksidan tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada penyelenggara “Kegiatan Program Insentif bagi Peneliti dan Perekayasa Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia” yang telah mendanai kegiatan ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada saudara Bustanussalam atas bantuan teknisnya dalam penyediaan ekstrak kulit lawang yang dibutuhkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Cotran, R.S., Kumar, V. & Collins, T.** 1999. Robbins Pathologic Basis of disease, 6th ed. Philadelphia : WB Saunders Co.
- Eisenberg, D.M., Kessler, R.C., Foster, C., Norlock, F.E., Calkins, D.R. & Delbanco, T.L.** (1993). Unconventional medicine in the United states. *N England Journal Med* **328**: 246-252.
- Guyton, A.C. & Hall, J.E.** 2000. *A textbook of Medical Physiology. 10th Edition Saunders WB, Company Philadelphia.*
- Hodgson, E. & Levi, P.E.** 2000. *A Textbook of Modern Toxicology. 2nd edition. McGraw-Hill.*
- Huxley, C.R.** 1993. The tuberosus epiphytes of the rubiaceae 6: A taxonomic history of the hydnohytinae. *Blumea* **37**: 335-340.
- Johnson, L. H. & Bhutani, V. K.** 2002. System based approach to management of neonatal jaundice and prevention of kernicterus. *Journal Pediatric* **140**: 396-403.
- López, P., Sánchez, C., Batlle, R. & Nerín, C.** 2005. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *Journal Agric. Food Chem* **53(17)**: 6939-46.
- Lu, Frank C.** 1995. *Toksikologi Dasar Asas Organ Sasaran dan Penilaian Resiko.* Penerjemah : Edi Nugroho. Penerbit UI. Jakarta.
- Mitra, S.K., Venkataraganna, M.V., Sundaran, R. & Gopumadhavan, S.** (1998). Protective effect of HD-03, a herbal formulation against various hepatotoxic agents in rats. *Journal Ethno. Pharmacol* **63**: 181-6
- Neubauer, K.** 1998. Carbon tetrachloride induced liver injury. *Lab. Invest.* **78(2)**: 185-194
- Recknagel, R. O.** 1983. A new direction in the study of carbon tetrachloride hepatotoxicity, *Life Sci* **33**: 401-408
- Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M. & Corke, H.** 2005. Antioxidant capacity of 26 extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal Agric. Food Chem* **53(20)**: 7749-59.
- Sisodia, S.S. & Bhatnagar, M.** 2009. Hepatoprotective activity of *Eugenia jambolana* Lam. in carbon tetrachloride treated rats. *Indian. Journal Pharmacol* **41**: 23-27.
- Sunita, T., Vupta, V. & Sandeep, B.** 2000. Comparative study of antioxidant potential of tea with and without additives, *Indian. Journal Physiol. Pharmacol* **44**: 215-219.
- Tokyay, R., Kaya, E., Gur, E.S., Tuncel, P., Ozbek, R. & Oztuk, E.** 1999. Prostaglandin Synthetase inhibition reduces peritonitis induced early liver oxidant stress. *Surg. Today* **29(1)**: 42-46.