

**PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KELOR
(*Moringa oleifera* Lam.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI DAN
KADAR SGPT DAN SGOT PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR
YANG INDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT**

A.A. Hesti Wulan S. *), Slamet Nur Sholeh, Dyan Wigati
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Pharmasi Semarang”
Jl. Letjend Sarwo Edie Wibowo Km. 1 Semarang 50193
* Email :ost25hesti@gmail.com

ABSTRAK

Hepar berfungsi sebagai organ metabolisme yang ada di dalam tubuh. Konsumsi monosodium glutamat yang berlebihan dapat menyebabkan peningkatan produksi Reactive Oxygen Spesies (ROS) yang berakibat pada kerusakan hati. Parameter kerusakan hati dapat terlihat dari peningkatan kadar SGPT (Serum Glutamic Pyruvic Transaminase) dan SGOT (Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase) dalam darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan dosis efektif pemberian fraksi etil asetat daun kelor terhadap gambaran histopatologi hati, dan kadar SGPT dan SGOT pada tikus yang diinduksi monosodium glutamat. Hewan uji sebanyak 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok normal, kelompok negatif, peringkat dosis fraksi etil asetat daun kelor (20,17; 30,26; dan 45,39) mg/kgBB tikus. Hewan uji diberikan induksi monosodium glutamat 3,6 mg/gBB tikus selama 10 hari kecuali kelompok kontrol normal, kemudian diberi perlakuan selama 14 hari. Pengambilan data darah dilakukan pada hari ke-0, hari ke-10, dan hari ke-24. Hewan uji dikorbankan pada hari ke 24. Hasil histopatologi menggambarkan bahwa induksi monosodium glutamat menghasilkan degenerasi melemak pada sel hati (steatosis, semakin tinggi fraksi yang diberikan steatosis semakin sedikit. Hal ini sebanding dengan semakin tinggi dosis fraksi maka kadar SGOT dan SGPT semakin mendekati kontrol normal. Dosis efektif fraksi etil asetat daun kelor yang dapat menurunkan kadar SGPT dan SGOT tikus yang diinduksi monosodium glutamat adalah 20,17 mg/kgBB.

Kata kunci : *daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), monosodium glutamat, histopatologi, SGPT-SGOT*

PENDAHULUAN

Konsumsi monosodium glutamat dalam waktu lama dan jumlah berlebihan bisa menyebabkan ketidakseimbangan antara antioksidan dan reactive oxygen species yang menyebabkan stress oksidatif.

Peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) menyebabkan kerusakan hati dan menyebabkan gangguan fungsi hati yang ditandai dengan meningkatnya kadar enzim transaminase yang spesifik terhadap kerusakan hati yaitu kadar SGPT (ALT) dan SGOT (AST) pada aliran darah (Sharma, 2015).

Antioksidan alami yang terkandung dalam tumbuhan umumnya merupakan senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid meliputi flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, katekin dan kalkon (Markham, 1988). Daun kelor merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa polifenol. Polifenol merupakan kandungan senyawa pada tanaman yang berfungsi sebagai antioksidan (Wiwit *et al.*, 2015). Penelitian Syahrin *et al* (2016) menunjukkan ekstrak daun kelor berfungsi sebagai hepatoprotektor pada tikus yang diinduksi

CCl₄. Ekstrak etanol daun kelor dosis 200 mg/kgBB menurut penelitian Krisnaveni dan Ananti (2011) mampu memberikan efek hepatoprotektor pada tikus yang diinduksi isoniasid. Kadar flavanoid total, fenolik total, dan nilai IC₅₀ fraksi etil asetat daun kelor paling besar dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana, butanol, dan kloroform (Gothai *et al.*, 2017).

METODE PENELITIAN

Objek Penelitian: Objek dalam penelitian ini adalah kadar SGPT dan SGOT tikus yang diinduksi monosodium glutamat.

Variabel Bebas: Dosis fraksi etil asetat daun kelor yaitu 20,17 mg/kgBB tikus, 30,26 mg/kgBB tikus, dan 45,39 mg/kgBB tikus

Variabel Terikat: Kadar SGPT (U/L) dan SGOT (U/L) tikus jantan galur Wistar, gambaran histopatologi sel hepar

Variabel Terkontrol: Daun kelor diambil dari daerah Weleri, Kendal. Hewan uji tikus jantan galur wistar, umur 2-3 bulan, berat badan 150 – 250 g, jenis makanan, tempat pemeliharaan, waktu pemeliharaan, cara perlakuan. Dosis monosodium glutamat adalah 3,6 g/kgBB tikus.

Cara Kerja

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor

Serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang sudah diayak dengan ayakan mesh no 30/40, ditimbang sebanyak 800,0 g. Serbuk diremaserasi dengan 8,0 L etanol 96% selama 3 hari dengan pergantian pelarut setiap 1x24 jam dengan jumlah yang sama. Filtrat kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *waterbath* sampai didapat ekstrak kental.

Pembuatan Fraksi Etil Asetat Daun Kelor

Ekstrak kental daun kelor ditimbang seksama sebanyak 10,0 g, dilarutkan dalam 100 mL akuades, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah, lalu difraksinasi dengan *n*-heksan sebanyak 3 x 100 mL dan diambil fase air-nya. Fraksi air difraksinasi lagi dengan etil asetat sebanyak 3 x 100

mL, diambil fase etil asetatnya. Masing-masing fraksi diuapkan di atas *waterbath*.

Skrining Fitokimia dan Uji KLT Ekstrak dan Fraksi Etil Asetat Daun Kelor

Skrining fitokimia dan uji KLT ekstrak dan fraksi etil asetat daun kelor terhadap senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan steroid.

Perlakuan Hewan Uji

Hewan uji sebanyak 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok, kelompok normal dan kelompok induksi (kelompok negatif, dosis I, dosis II, dosis III), setiap kelompok masing-masing 5 ekor tikus. Selanjutnya 5 ekor tikus diberi pakan dan minum seperti biasa (tanpa diinduksi) dan 20 ekor tikus sisanya di induksi dengan monosodium glutamat 3,6 mg/gBB selama 10 hari. Pada hari ke 10 dilakukan pengukuran kadar SGPT dan SGOT semua kelompok tikus. Berikutnya kelompok kontrol negatif hanya diberi CMC Na 0,5% dan kelompok dosis diberikan fraksi etil asetat sesuai dosisnya (20,17; 30,26; 45,39 mg/kgBB) secara peroral selama 14 hari (hari ke-24). Kemudian hasil data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan SPSS versi 19.

Preparat histopatologi

Pada hari ke 14, setelah hewan uji diambil darahnya, kemudian dieutensia dengan cara dimasukkan dalam toples yang telah berisi uap jenuh eter, dibiarkan beberapa saat sampai tikus mati. Kemudian tikus dibedah, diambil organ hepar dan disimpan dalam larutan buffer formalin. Kemudian dibuat preparat dengan blok formalin untuk pembuatan slidanya. Pewarnaan slide menggunakan Hmatoxylin Eonosin.

ANALISIS DATA

Hasil histopatologi dibaca secara deskriptif, dan kadar SGOT, SGPT dilakukan uji statistika dengan SPSS versi 19. Uji diawali dengan uji normalitas dan homogenitas. Data yang berdistribusi

normal dan homogen dilanjutkan dengan uji parametrik. Uji parametrik dengan *One-Way ANOVA* dilanjutkan dengan *Post-Hoc LSD*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahap pertama yang dilakukan untuk mendapatkan fraksi etil asetat daun kelor adalah ekstraksi. Fraksi etil asetat daun kelor dipilih karena memiliki didapatkan kadar flavonoid total, fenolik total, dan nilai IC_{50} pada fraksi etil asetat paling besar dibandingkan fraksi *n*-heksan, butanol, dan kloroform (Gothai, et al., 2017).

Hasil skrining uji fitokimia pada fraksi etil asetat daun kelor positif mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin.

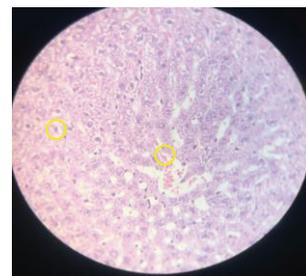
Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Daun Kelor

Golongan senyawa	Ekstrak Etanol Daun kelor	Fraksi Etil asetat Daun Kelor
Flavonoid	Endapan merah coklat (+)	Endapan merah coklat (+)
Alkaloid	Endapan Coklat (+)	Endapan Coklat (+)
Saponin	Busa Stabil (+)	Busa stabil (+)
Tanin	Biru kehitaman (+)	Biru kehitaman (+)
Steroid	Terbentuk warna hijau (+)	Cokelat (-)

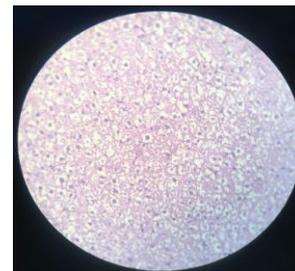
Monosodiun glutamate (MSG) dapat menyebabkan steatosis (degenerasi melemak), hal ini menyebabkan sel hepatosit secara fungsional kehilangan kemampuan melakukan metabolisme dan mobilisasi lemak, akibatnya terjadi penimbunan abnormal dari trigliserida dalam sel parenkim hepatosit. Perubahan berlemak berawal dari timbulnya inklusi kecil terikat selaput (lisosom) yang bertaut

erat pada retikulum endoplasma yang mungkin berasal dari lisosom. Mula-mula tampak di bawah mikroskop cahaya sebagai vakuola lemak kecil dalam sitoplasma di sekitar inti. Pada proses selanjutnya, vakuola melebar membentuk ruang jernih yang mendesak inti ke tepi sel. Kerusakan hepar yang berupa degenerasi melemak merupakan kerusakan yang bersifat reversibel atau kerusakan yang dapat kembali pulih (Mulyono A, dkk, 2013).

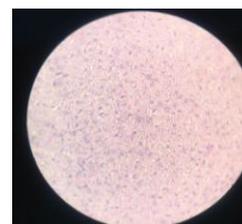
Hasil histopatologi sel hepar dapat dilihat pada gambar berikut. Pada control negative terlihat adanya degenerasi melemak dari sel hepar dan sel hepatosit semakin berkurang. Setelah diberikan terapi prefentif selama 14 hari degenerasi melemak sel hati semakin sedikit, artinya terjadi perbaikan sel hati. Hal ini sejalan dengan hasil SGOT dan SGPT yang semakin mendekati kadar normal.



Kontrol Negatif

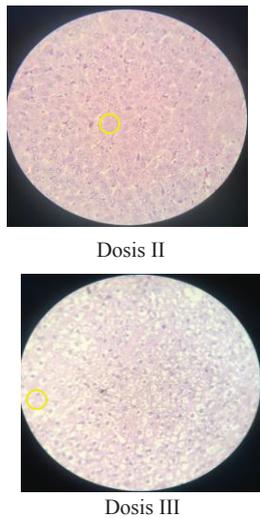


Kontrol Normal



Dosis I





Gambar 1. Penampang melintang organ hati dengan perbesaran 400x. Pada kontrol negatif tampak degenerasi meleak/vakuolisasi yang lebih banyak daripada kontrol normal. Semakin besar dosis semakin berkurang degenerasi meleak/jumlah vakuolisasi sel hati.

Fraksi etil asetat yang dihasilkan digunakan untuk uji farmakologi. Induksi MSG dosis 3,6 g/kgBB terbukti dapat meningkatkan kadar SGPT dan SGOT berdasarkan uji statistik menggunakan uji T. Hasil uji T antara hari ke-0 dan ke-10 menunjukkan adanya perbedaan signifikan untuk kadar SGPT maupun SGOT sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa induksi monosodium glutamat telah berhasil.

Setelah dilakukan perlakuan, diambil darah pada hari ke-24 untuk diukur kadar SGPT dan SGOT. Rerata kadar SGPT semua tikus pada hari ke-0 menunjukkan hasil antara 22,4-28,4 U/L (Tabel 2). Rerata kadar SGOT semua tikus pada hari ke-0 menunjukkan hasil antara 70,2-76,2 U/L (Tabel 3).

Tabel 2. Rerata Kadar SGPT Tikus pada Hari ke-0, ke-10, dan ke-24

Kelompok	Rata-rata±SD		
	Hari Ke-0 (U/L)	Hari Ke-10 (U/L)	Hari Ke-24 (U/L)
Kelompok 1	23,2±2,59	26,8±4,21	23,6±4,72
Kelompok 2	25,8±4,71	68,4±11,68	63,8±6,06
Kelompok 3	26,8±5,63	63,8±7,09	27,8±3,90
Kelompok 4	22,4±6,66	71,8±17,91	26,6±6,50
Kelompok 5	28,4±4,16	73,4±12,34	24,8±4,71

Tabel 3. Rerata Kadar SGOT Tikus pada Hari ke-0, ke-10, dan ke-24

Kelompok	Rata-rata±SD		
	Hari Ke-0 (U/L)	Hari Ke-10 (U/L)	Hari Ke-24 (U/L)
Kelompok 1	70,2±5,07	58,6±8,73	69,2±3,19
Kelompok 2	75,2±5,35	186±12,22	157,4±14,89
Kelompok 3	73,8±2,86	191,4±38,29	82,4±8,53
Kelompok 4	73,8±5,26	171,2±25,83	87,8±25,74
Kelompok 5	76,2±4,81	176,6±41,52	84,6±8,96

Data kadar SGPT dan SGOT yang telah diperoleh diuji secara statistik menggunakan SPSS versi 19. Data yang diperoleh berdistribusi homogen. Uji *One-Way Anova* pada hari ke-24 menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Selanjutnya, dilakukan analisis *Post-Hoc LSD* yaitu kelompok II jika dibandingkan dengan kelompok III, IV, dan V menghasilkan perbedaan yang signifikan. Hal ini membuktikan bahwa ketiga dosis dapat berpengaruh dalam menurunkan kadar SGPT dan SGOT tikus yang diinduksi MSG. Kelompok I jika dibandingkan dengan kelompok III, IV dan V terdapat perbedaan yang tidak signifikan ($P > 0,05$), sehingga fraksi etil asetat dengan dosis 20,17, 30,26, dan 45,39 mg/kgBB dapat menurunkan kadar SGPT dan SGOT sebanding dengan kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa dosis efektif fraksi etil asetat daun kelor yang dapat berpengaruh dalam mengembalikan kadar SGPT dan SGOT tikus yang diinduksi MSG yaitu 20,17 mg/kgBB.

MSG terdiri dari 78% glutamat, 12% natrium, dan 10% air (Sukmaningsih *et al.*, 2012), glutamat sendiri sebenarnya ada di dalam tubuh namun ketika jumlahnya berlebihan akan mengakibatkan efek toksik, ketika glutamat berlebihan didalam tubuh, maka akan mengaktifkan reseptor NMDA. Akibat dari aktivasi reseptor NMDA adalah peningkatan ion Ca^{2+} sehingga mengakibatkan beberapa efek, diantaranya gangguan produksi ATP, aktivasi NO sintase dan protein kinase yang dapat membentuk radikal bebas (Srejavic *et al.*, 2015). Pembentukan

radikal bebas akan meningkatkan ROS (Reactive Oxygen Species) yang berakibat terjadinya stress oksidatif (James dan Oliver, 2015). Stress oksidatif dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid, yang berakibat pada rusaknya struktur membran sel hepar, selain itu stress oksidatif mampu mengakibatkan penurunan kadar glutathion yang berakibat teraktivasinya proses apoptosis sel hepar. Monosodium glutamat juga dapat memacu diproduksinya mediator-mediator hepatotoksik seperti TNF- α , IL-1 dan IFN- γ (Shalie, 2015). Ketika terjadi kerusakan hati, enzim transaminase (SGPT dan SGOT) dapat digunakan sebagai parameter kerusakan organ hati karena, ketika hati mengalami kerusakan kedua enzim ini akan secara otomatis keluar dari sel hati dan kadarnya akan meningkat didalam darah (Gajawat *et al.*, 2006).

Kerusakan oksidatif atau kerusakan akibat radikal bebas didalam tubuh pada dasarnya dapat diatasi oleh antioksidan endogen, akan tetapi jika senyawa radikal bebas terdapat berlebih dalam tubuh, maka dibutuhkan antioksidan eksogen (Reynertson, 2007). Senyawa flavonoid diketahui merupakan antioksidan kuat yang mampu meredam radikal bebas. Penelitian Owolabi *et al.*, (2012) menyatakan quersetin merupakan jenis flavonoid yang paling banyak ditemukan dalam daun kelor. Hal ini dibuktikan pada hasil KLT flavonoid.

Mekanisme kerja quercetin adalah membloks pengeluaran Ca^{2+} yang berlebihan (Bruneti *et al.*, 2013) sehingga Ca^{2+} yang sudah terlanjur keluar karena MSG dapat dikurangi jumlahnya. Quercetin juga mampu menstimulasi pengeluaran antioksidan endogenous seperti SOD (*Superoxide Dismutase*), menghambat produksi TNF- α dan meningkatkan produksi IL-10 melalui penghambatan aktivasi NF- κ B pada makrofag (Comalada, 2006), IL-10 dan IL-6 merupakan hepatoprotektor (Jihan, 2013), sehingga kerusakan hati akibat

mediator-mediator hepatotoksik dapat diperbaiki oleh quercetin.

SIMPULAN

Pemberian fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dapat berpengaruh dalam menurunkan kadar SGPT dan SGOT pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi monosodium glutamate ditandai dengan jumlah vakuolosis yang semakin sedikit. Dosis efektif fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang dapat berpengaruh menurunkan kadar SGPT dan SGOT pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi monosodium glutamat sebesar 20,17 mg/kgBB.

DAFTAR PUSTAKA

- Bruneti, C., Martina, D.F., Alessio, F., dan Susanna, P. 2013. Flavonoids as Antioxidants and Developmental Regulators:Relative Significance in Plants and Humans. *Int. J. Mol. Sci.* Vol 14. 3540-3555
- Comalada M. 2006. Inhibition Of Pro-Inflammatory Markers In Primary Bone Marrow-Derived Mouse Macrophages By Naturally Occurring Flavanoids: Analysis Of The Structure-Activity Relationship. *Biochemical Pharmacology.* 72:1010-1021
- Gajawat, S., Sancheti G., dan Goyal, P.K. 2006. Protection Against Lead Induced Hepatic Lesion in Swiss Albino Mice by absorbis Acid. *Pharmacologyonline.* 1 :140-149.
- Gothai, S., Katyakyini, M., Mazni, A. Z., Tan, W. S., Suresh, S. K., Murugan, A.M., Sharida, F., Palanisamy, A. 2017. Chemical Composition of *Moringa oleifera* Ethyl Acetate Fraction and its Biological Activity in Aiabetic Human Dermal Fibroblasts. *Pharmacognosy Magazine.* 13 (51): 462-469..

- James, P.K., dan Oliver, L. 2015. Free Radical And Related Reactive Species As Mediators Of Tissue Injury Disease: implication for health. *Critical Review In Toxicology*. **25**(9):770-785
- Jihan, S. 2013. Uji Aktivitas Hepatoprotektor Fraksi Methanol Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi *cisplatin*. *Skripsi*. Pontianak: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura
- Krisnaveni, J, dan Ananti, T. 2011. Hepatoprotective Effect of *Moringa Oleifera* in Isoniazid Induced Rats. *Research J Pharm And Tech*. **4**(12): 550-563
- Markham, K.R. 1998. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Terjemahan K. Padmawinata. Bandung : Penerbit ITB.
- Mulyono A, Farida, Susanti.Noor. 2013. Histopatologi Hepar Tikus Rumah (*Rattus tarnezumi*) Infektif Patogenik spp. *Leptospira* *Jurnal Vektora* **5**(1): 7-11.
- Owolabi, J. O., Ghazal, O. K., Williams, F. E., and Gurusu, O. O. 2012. Assessment of the Prophylactic and Rejuvenative Effects of *Moringa oleifera* Phytochemicals Extracts on Lead-induced Renal Tissue Disruption in Adults Male Wistar Rats Models, in *Proceedings of the Moringa at the Leading Edge: International Conference on Moringa oleifera*. **1**: 1–12.
- Reynertson, K. A. 2007. Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents from Edible Myrtaceae Fruit. *Dissertation*. The City University of New York: New York.
- Shalie, L., Howyou, T., Wang, N., dan Zhang, Z. 2015. The Role Of Oxidative Stress And Antioxidant In Liver Disease. *International Jurnal Of Moleculer Science*. **16**: 345-353
- Sharma, A. 2015. Monosodium Glutamate-induced Oxidative Kidney Damage and Possible Mechanism: a Mini Review. *Journal of Biomedical Science*. **22** (93) : 1-6.
- Srejavic, I., Jacovljevic, V., Zivcovic, V., Jeremic, N., dan Jevdjevic, N. 2015. The effects of glycine, glutamate and their Combination on cardiodynamics, coronary flow and Oxidative stress in isolated rat hearts. *Curr res cardiol*. **2**(2)
- Sukmaningsih, A., Ermayanti, G., Wiratmini, N., dan Sudatri, N. Gangguan. 2011. Spermatogenesis Setelah Pemberian Monosodium Glutamat Pada Mencit (*Mus musculus* l.). *Jurnal Biologi*. **15**(2):49-52.
- Syahrin, S., Kairupan, C, dan Loho,L. 2016. Gambaran Histopatologik Hati Tikus Wistar Yang Diberi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Setelah Diinduksi Karbon Tetrklorida (CCL). *Jurnal e- Biomedik (eBm)*. **4**(2):. 15-22.
- Wiwiet, D. F., Sri F., Taslim, E. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH dan ABTS Fraksi-Fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains*. **25**(2): 657 – 660.
- Zarina, N., dan Tan, S.Y. 2013. Determination of Flavanoid in *Citrus grandis* (Pomelo) and Their Inhibition Activity on Lipid Peroxydation in Fish Tissue. *International of Food Journal*. **20**:313-317