

Efek Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol *Acalypha indica* dan *Centella asiatica* pada Fungsi Hati Tikus Pascahipoksia Sistemik

Agnes Frethernety,¹ Melva Louisa,² Novi S. Hardiany,³ Adisti Dwijayanti,⁴
Erni H. Purwaningsih⁴

¹Program Studi Ilmu Biomedik, ²Departemen Farmakologi dan Terapi,
³Departemen Biokimia dan Biologi Molekular, ⁴Departemen Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Abstrak

Hipoksia adalah defisiensi suplai oksigen ke dalam sel atau jaringan karena gagalnya sistem respirasi yang membawa oksigen sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan. Hati merupakan organ yang sensitif terhadap hipoksia. Tanaman *Acalypha indica* dan *Centella asiatica* memiliki efek antioksidan dan dapat melindungi banyak organ dari hipoksia. Tujuan penelitian ini menganalisis pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol *A.indica* dan *C.asiatica* pascahipoksia sistemik terhadap fungsi hati, stres oksidatif dan aktivitas antioksidan hati. Sebanyak 28 tikus sprague-dawley dibagi secara acak menjadi 7 kelompok. Kelompok kontrol adalah perlakuan tanpa hipoksia, perlakuan enam kelompok lainnya pascahipoksia 7 hari diberikan zat uji sebagai berikut: air, kombinasi dosis 1 dan 2, dosis tunggal *A.indica*, dosis tunggal *C. asiatica* dan dosis tunggal vitamin C selama 7 hari. Parameter yang diukur adalah aktivitas ALT dan AST, kadar MDA, rasio GSH/GSSG. Tidak ada perbedaan aktivitas ALT dan AST yang bermakna pada semua kelompok. Kadar MDA meningkat pada kelompok pascahipoksia 7 hari dibanding kontrol ($p=0,007$). Kelompok kombinasi 1 memiliki MDA yang rendah, rasio GSH/GSSG dan aktivitas SOD yang meningkat dibandingkan kelompok pascahipoksia 7 hari. Pemberian zat uji kombinasi 1 memiliki efek perlindungan pada hati tikus terhadap pascahipoksia 7 hari melalui mekanisme stres oksidatif dan antioksidan.

Kata kunci: *Acalypha indica*, *Centella asiatica*, hipoksia sistemik, antioksidan

The Effect of *A. Indica* and *C.Asiatica* Ethanol Extract Combination on Rats Liver Function Post-Hypoxic Condition

Abstract

Hypoxia occurs due to the deficiency of oxygen supply to cells or tissue caused by the failure of the respiratory system that carries oxygen which results in cell or tissue damage. Liver is an organ sensitive to hypoxia. *Acalypha indica* and *Centella asiatica* are proven to have antioxidant effects and can protect many organs from hypoxic conditions. This study was aimed to analyse the effect of *A. indica* and *C.asiatica* ethanol extract combination on post-hypoxic condition towards liver function, oxidative stress and antioxidant activity of the liver. Twenty-eight sprague-dawley rats divided randomly into 7 groups. Control group was treated without hypoxia and the other six groups were given substances as follows on the 7th day of hypoxia: water, combination of dose 1 and 2, single dose of *A. indica*, single dose of *C.asiatica*, and single dose of vitamin C for 7 days. Parameters measured were activities of ALT and AST, MDA, GSH / GSSG ratio and SOD activity. There was no significant difference in the activity of ALT and AST in all groups. MDA levels was increased in the 7-days post-hypoxic group compared to control ($p=0,007$). The combination 1 group had low MDA and increased GSH/GSSG ratio and SOD activity compared to the post-7-days-hypoxic group. The substance of combination 1 has protective effect on the rats' liver on post-7-days-hypoxic through oxidative stress and antioxidant mechanisms.

Keywords: *Acalypha indica*, *Centella asiatica*, systemic hypoxia, antioxidant

Pendahuluan

Oksigen merupakan senyawa yang penting bagi manusia dan organisme eukariotik karena oksigen diperlukan untuk mendapatkan energi.¹ Hipoksia dapat disebabkan defisiensi suplai oksigen ke dalam sel, jaringan atau organ yang mengakibatkan kegagalan sistem respirasi sehingga terjadi kerusakan sel atau jaringan karena penurunan respirasi oksidatif aerob sel.^{1,2}

Hipoksia dapat terjadi melalui mekanisme: menurunnya kapasitas transpor O₂ oleh Hb (hipoksia anemik), intoksikasi karbon monoksida (CO) pada perokok berat, hipoksia respiratorik akibat penyakit paru obstruktif kronik, hipoksia sekunder akibat ketinggian, hipoksia sirkulatoris, penggunaan O₂ yang tidak adekuat pada pneumonia, dan tekanan parsial oksigen (pO₂) yang rendah dalam arteri.^{1,3}

Pada tingkat seluler hipoksia dapat menginduksi mekanisme adaptasi, kerusakan hingga kematian sel di jaringan yang kaya pembuluh darah. Hal tersebut terutama terjadi di jaringan yang penting bagi keberlangsungan fungsi tubuh seperti otak, ginjal, dan hati. Hati merupakan organ aerobik yang berfungsi metabolisme zat atau senyawa yang masuk ke dalam tubuh dan kelangsungan hidupnya bergantung oksigen. Konsumsi oksigen di hati 100-150 μmol O₂ per jam per gram dari berat basahnya.⁴ Bila terjadi gangguan fungsi organ akibat kompensasi tubuh karena keadaan hipoksia sistemik dapat mengakibatkan kematian.

Saat ini terapi untuk mengatasi kerusakan jaringan di hati masih belum optimal sehingga dicari terapi alternatif dari tanaman yang bersifat antioksidan terhadap perbaikan sel hepatosit. Berbagai penelitian mengenai tanaman obat yang berkhasiat mengatasi kerusakan jaringan hati terus dikembangkan. Tanaman obat seperti sambiloto,⁵ jahe merah,⁶ gambir,⁷ memiliki efek hepatoprotektor karena mengandung antioksidan.

Tanaman lain yang memiliki efek antioksidan adalah akar kucing (*A. indica*) dan pegagan (*C. asiatica*). Pada penelitian pendahuluan oleh Farida et al⁸ diperoleh hasil bahwa kombinasi ekstrak air *A. indica* dengan dosis 200mg/kgBB dan *C. asiatica* 150mg/kgBB menunjukkan efek terapi pada hipoksia otak berupa perbaikan sel normal.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol *A. indica* dan *C. asiatica* pada tikus *sprague dawley* pascahipoksia sistemik terhadap fungsi hati, stres oksidatif dan aktivitas antioksidan organ hati.

Metode

Desain penelitian ini berupa studi pra-klinis eksperimental pada 28 ekor tikus jantan *sprague dawley*, usia 10-12 minggu, dengan berat badan 150-200g yang diperoleh dari Pusat Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kemenkes RI. Penelitian dilakukan di Departemen Farmasi Kedokteran dan Departemen Biokimia pada bulan September 2013-Februari 2014 dilanjutkan pemeriksaan biokimia darah dan jaringan di Departemen Farmakologi & Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada bulan Juli-November 2014.

Tikus dibagi secara acak menjadi 7 kelompok. Kelompok kontrol adalah tikus tanpa hipoksia sedangkan kelompok tikus perlakuan disimpan di dalam ruang hipoksia (makan dan minum bebas) yang dialiri gas CO₂ 10% dan 90% gas N₂ selama 7 hari sebelum pemberian zat uji. Zat uji diberikan selama 7 hari. Pembagian kelompok sebagai berikut: kelompok A (kontrol negatif): air; kelompok B (kombinasi dosis 1): *A. indica* 200mg/kgBB dan *C. asiatica* 150mg/kgBB; Kelompok C (kombinasi dosis 2): *A. indica* 250mg/kgBB + *C. asiatica* 100mg/kgBB; Kelompok D: *A. indica* 250mg/kgBB; Kelompok E: *C. asiatica* 150mg/kgBB; Kelompok F: Vitamin C 100mg/kgBB.

Hari ke-8 setelah perlakuan tikus ditimbang kemudian diterminasi. Darah diambil dari pungsi langsung di jantung dengan cara menusukan jarum langsung ke jantung lalu disedot perlahan dan dikumpulkan dalam tabung sebanyak 5ml untuk pemeriksaan aktivitas enzim ALT dan AST. Setelah dekapitasi, organ hati diangkat dan sebagian dipisahkan 100mg untuk pengukuran lipid peroksidase (MDA), 100mg untuk pemeriksaan rasio GSH/GSSG dan 100mg untuk pemeriksaan SOD .

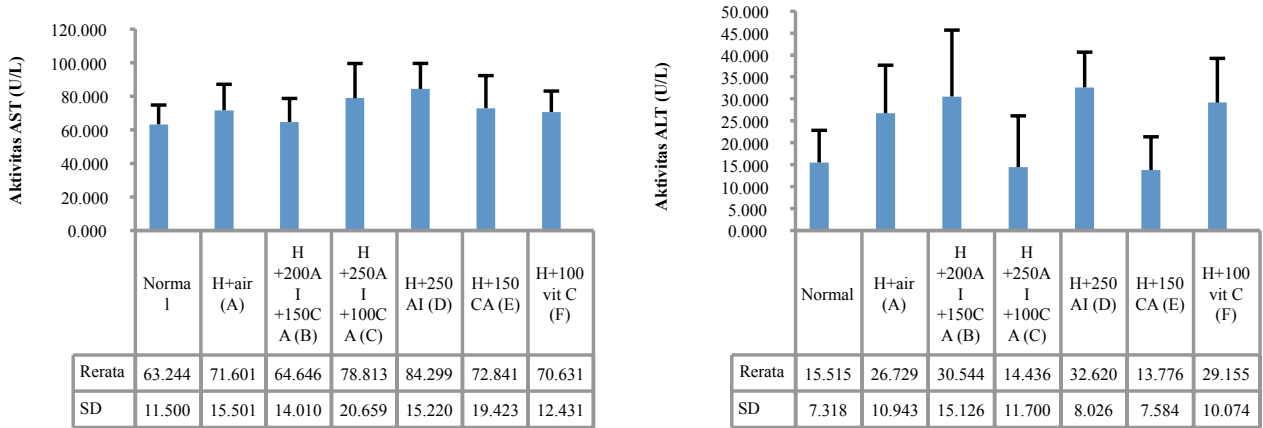
Hasil

Aktivitas ALT dan AST pascahipoksia sistemik ditampilkan di Gambar 1. Tidak terdapat perbedaan aktivitas ALT dan AST secara bermakna (ANOVA, p>0,05) pada semua kelompok. Pemeriksaan kadar ALT dan AST plasma tikus dilakukan setelah pemberian air selama 7 hari.

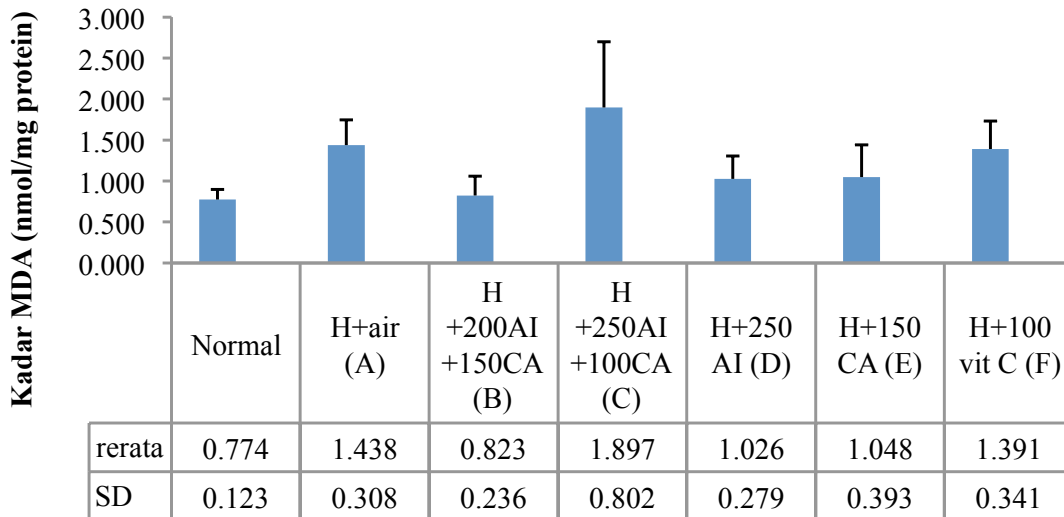
Hasil metabolit peroksidasi lipid pada penelitian ini ditunjukkan dengan pengukuran kadar MDA. Kadar MDA dalam jaringan hati tikus pada semua kelompok perlakuan ditampilkan pada Gambar 2. Pada uji ANOVA kadar MDA meningkat signifikan pascahipoksia 7 hari (A) dibandingkan kelompok normal (p=0,007). Pada perlakuan hanya kelompok pascahipoksia 7 hari dengan kombinasi 200mg/

kgBB *A.indica* dan 150mg/kgBB *C.asiatica* (B) yang menurunkan kadar MDA secara signifikan

($p=0,011$) mendekati kelompok kontrol. Setelah uji ANOVA dilanjutkan dengan *multiple comparisons post hoc* uji LSD pada $\alpha=0,05$.



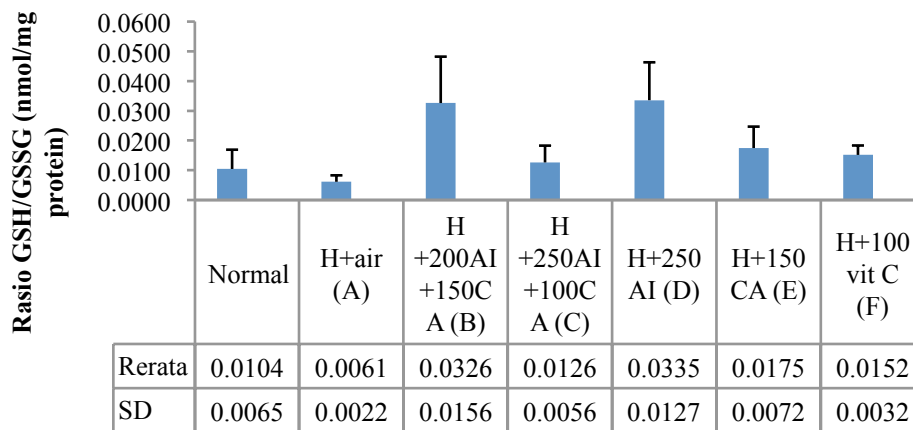
Gambar 1. Aktivitas Enzim AST(GOT) dan Enzim ALT(GPT) Pascahipoksia Sistemik. H: Hipoksia, AI: *A. indica*, CA: *C. asiatica*; n=4.



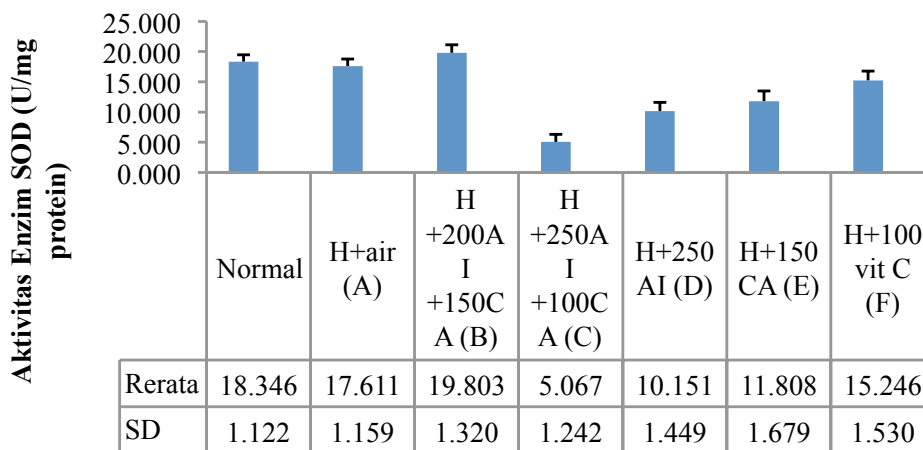
Gambar 2. Kadar MDA dalam Homogenat Hati Tikus Pascahipoksia Sistemik. H: Hipoksia, AI: *A. indica*, CA: *C.asiatica*. n=4

Rasio GSH/GSSG ditampilkan pada Gambar 3. Pada uji ANOVA terdapat perubahan rasio GSH dan GSSG secara signifikan pada kelompok perlakuan $p=0,003$. Rasio GSH dan GSSG meningkat pada kelompok pascahipoksia yang diberi dosis 200mg/kgBB *A.indica* dan dosis tunggal 150mg/kgBB *C.asiatica* (B) dan dosis tunggal 250mg/kgBB *A.indica* (D) 1 dibandingkan kelompok normal ($p=0,001$) dan kontrol negatif (A) ($p<0,001$). Setelah uji ANOVA dilanjutkan dengan *multiple comparisons post hoc* uji LSD pada $\alpha=0,05$.

Aktivitas enzim SOD dalam jaringan hati tikus pada semua kelompok ditampilkan pada gambar 4. Pada uji ANOVA aktivitas enzim SOD tidak berbeda bermakna pada kelompok pascahipoksia 7 hari dibandingkan kelompok normal $p<0,001$. Kombinasi 200mg/kgBB *A.indica* dan 150mg/kgBB *C. asiatica* (B) secara bermakna meningkatkan aktivitas enzim SOD dibandingkan kelompok kombinasi yang lain terhadap kontrol negatif $p<0,001$. Setelah uji ANOVA dilanjutkan dengan *multiple comparisons post hoc* uji LSD pada $\alpha=0,05$.



Gambar 3. Kadar Rasio GSH dan GSSG dalam Homogenat Hati Tikus Pascahipoksia Sistemik. H: Hipoksia, AI: *A. indica*, CA: *C. asiatica*; n=4.



Gambar 4. Aktivitas enzim SOD dalam homogenat hati tikus pascahipoksia sistemik. H: Hipoksia, AI: *A. indica*, CA: *C. asiatica*; n=4.

Aktivitas enzim SOD dalam jaringan hati tikus pada semua kelompok ditampilkan pada gambar 4. Pada uji ANOVA aktivitas enzim SOD tidak berbeda bermakna pada kelompok pascahipoksia 7 hari dibandingkan kelompok normal $p < 0,001$. Kombinasi 200mg/kgBB *A.indica* dan 150mg/kgBB *C. asiatica* (B) secara bermakna meningkatkan aktivitas enzim SOD dibandingkan kelompok kombinasi yang lain terhadap kontrol negatif $p < 0,001$. Setelah uji ANOVA dilanjutkan dengan multiple comparisons post hoc uji LSD pada $\alpha = 0,05$.

Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol *A. indica* dan *C. asiatica* pada tikus *sprague dawley* pascahipoksia sistemik terhadap fungsi hati, stres oksidatif dan aktivitas antioksidan organ hati.

Model eksperimental yang dilakukan adalah dengan menginduksi hipoksia yang bersifat sistemik terhadap tikus selama 7 hari. Model tersebut telah dilakukan oleh Zainuri⁹ yang menyimpulkan bahwa induksi hipoksia sistemik hingga 7 hari menyebabkan kerusakan oksidatif sel-sel hati ditandai dengan peningkatan MDA diikuti dengan respons penurunan aktivitas antioksidan MnSOD dan katalase. Jusman¹⁰ melaporkan bahwa induksi hipoksia sistemik dapat meningkatkan pembentukan ROS selama hipoksia dan berkurangnya konsentrasi GSH dalam hati. Hati adalah organ yang sangat aerobik yang metabolisme dan kelangsungan hidupnya bergantung oksigen sehingga sensitif terhadap hipoksia.

Pascahipoksia 7 hari (kontrol negatif) tidak memperlihatkan perubahan fungsi hati yang bermakna. Gratiela¹¹ melaporkan aktivitas AST dan ALT meningkat 3 jam dan 6 jam setelah

hipoksia. Mekanisme adaptasi yang baik pada hati tikus juga dapat menyebabkan perubahan fungsi hati yang tidak berbeda bermakna pada semua kelompok. Pemberian *A. indica* dan *C. asiatica* belum memperlihatkan perbaikan pada uji fungsi hati. Berdasarkan penelitian Armansyah et al¹² aktifitas hepatoprotektor ekstrak etanol daun *A. indica* dengan dosis 50, 100, dan 200mg/kgBB selama 7 hari pada tikus putih yang diinduksi parasetamol memperlihatkan penurunan kadar SGPT dan SGOT dalam darah tikus seiring dengan peningkatan dosis yang diberikan. Hasil penelitian Vidyanati et al¹³ ekstrak metanol *C. asiatica* dosis 200mg/kgBB yang diberikan selama 7 hari pada tikus wistar yang diinduksi karbon tetralorida (CCL₄) terdapat perubahan SGPT antara awal dan akhir pada kelompok yang diberi pagagan dibandingkan kelompok kontrol positif.

Kadar MDA dalam jaringan hati tikus pada kelompok tikus yang mendapat perlakuan pascahipoksia 7 hari secara signifikan meningkat dibandingkan kelompok normal. Peningkatan kadar MDA dalam jaringan hati karena peningkatan pembentukan ROS akibat induksi hipoksia sistemik. Peningkatan kadar MDA juga terjadi pada penelitian Zainuri⁹ dan Jusman.¹⁰

Peningkatan ROS biasanya dapat diatasi dengan sistem antioksidan endogen dalam tubuh seperti glutathion peroksidase dan SOD. Dari hasil pemeriksaan rasio GSH/GSSG secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok normal dan kelompok pascahipoksia 7 hari walaupun rerata rasio GSH/GSSG pascahipoksia 7 hari memperlihatkan penurunan dibanding kontrol yang tampak pada gambar 3. Pada penelitian Jusman¹⁰ hipoksia sistemik dapat meningkatkan ROS dan berkurangnya konsentrasi GSH dalam hati. Kadar GSH yang tidak berbeda bermakna juga berarti proses tereduksinya GSSG menjadi GSH masih dapat berlangsung. Jika kadar ROS yang terbentuk meningkat, namun kadar GSH tetap sama maka tetap terjadi ketidakseimbangan kadar hidrogen peroksida di dalam sel. Pada kelompok perlakuan pemberian senyawa uji pascahipoksia sistemik pada dosis kombinasi 200 mg/kgBB *A. indica* dan 150 mg/kgBB *C. asiatica* rasio GSH/GSSG meningkat dibandingkan kelompok normal. Pada penelitian Mathew et al¹⁴ pemberian ekstrak etanol *A. indica* (100mg/kgBB) secara bermakna meningkatkan aktivitas GSH pada kelompok preventif, protektif dan dibandingkan dengan kontrol negatif (induksi paracetamol 1g/kg). Pada penelitian Sarumathi

et al¹⁵ mengenai status antioksidan pada hati dan ginjal selama immobilisasi stres yang diberikan *C. asiatica* 200mg/kgBB selama 21 hari menunjukkan aktivitas enzim katalase, SOD dan GPx memiliki tingkat yang sama dengan kelompok kontrol dan kelompok yang diberi *C. asiatica*.

Aktivitas enzim SOD menurun pada kelompok pascahipoksia 7 hari yang disebabkan penurunan kapasitas antioksidan di dalam jaringan hati. Penelitian Zainuri et al⁹ menunjukkan kenaikan kadar MDA terjadi sampai hipoksia hari ke-7 disertai penurunan aktivitas antioksidan MnSOD. Kombinasi dosis 200 mg/kgBB *A. indica* dan 150mg/kgBB *C. asiatica* meningkatkan aktivitas enzim SOD secara bermakna dalam menangkap radikal bebas yang terbentuk oleh induksi hipoksia selama 7 hari. Penelitian Armansyah et al¹¹ menunjukkan aktifitas hepatoprotektor ekstrak etanol daun *A. indica* karena kandungan senyawa flavonoid.

Kesimpulan

Pemberian kombinasi 200mg/kgBB *A. indica* dan 150mg/kgBB *C. asiatica* dapat membantu memproteksi hati pascahipoksia dengan menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas antioksidan endogen berupa rasio GSH/GSSG dan aktivitas SOD pada tikus *sprague dawley* pascahipoksia sistemik.

Daftar Pustaka

1. Sadikin AH. Stres oksidatif pada hati tikus yang diinduksi hipoksia [tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia; 2008
2. Saleh RA, Dkhil MA, Al-Quraishy A. Effect of hypoxia on the hepatic tissue of rat: histological and histochemical studies. Life Science Journal. 2013;10(3).
3. Silvia FS. Aktivitas spesifik hipoksia [skripsi]. Jakarta: Universitas Indonesia; 2009.
4. Taylor CT, Pouyssegur JP. Oxygen, hypoxia, and stress. Ann NY Acad Sci. 2007;1113:87-94.
5. Wayuni S. Pengaruh daun sambiloto (*andrographis paniculata, nees*) terhadap kadar SGPT dan SGOT tikus putih. Gamma. 2005;1(1):45-53.
6. Bachri MS. Efek hepatoprotektif ekstrak metanol jahe merah (*zingiber officinale roscoe*) pada mencit jantan yang diinduksi CCl₄. Jurnal Ilmiah Kefarmasian. 2011;1(2):35-41.
7. Hasti S, Muchtar H, Bakhtia A. Uji aktivitas hepatoproteksi dan toksisitas akut dari ekstrak gambir terstandarisasi. Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia. 2012;1(1):34-8.
8. Farida S, Krisnamurti DGB, Sianipar I, Mudjihartini N. Efek neuroterapi kombinasi ekstrak akar kucing (*A. indica L*) dan pegagan (*C. Asiatica L*) pada sel neuron tikus *sprague dawley* pascahipoksia. In press.

9. Zainuri M, Wanandi SI. Aktivitas spesifik *manganese superoxide dismutase (Mnsod)* dan katalase pada hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik: hubungannya dengan kerusakan oksidatif. *Media Litbang Kesehatan*. 2012;22(2):87-92.
10. Jusman SWA. Respons jaringan hati terhadap hipoksia sistemik kronik: regulasi ekspresi gen sitoglobin oleh *Hypoxia-Inducible Factor-1 α* [disertasi]. Jakarta: Universitas Indonesia, 2010.
11. Gratiela MI, Niculina M, Raluca P, Catalina C, Anca1 B. Redox status in wistar rat blood after hypoxia. *Farmacia*. 2012;60(3):358-65.
12. Armansyah TR, Sutriana A, Aliza D, Vanda H, Rahmi E. Aktivitas hepatoprotektif ekstrak etanol daun kucing-kucingan (*A. indica* L.) pada tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi parasetamol. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. 2010; 13(6):292-8.
13. Vidyaniati P, Ariyoga A, Satramihardja HS. Perlindungan hepatotoksisitas ekstrak metanol pegagan dibanding vitamin E pada tikus model hepatitis. *MKB*. 2010;42(3):101-7.
14. Mathew M, Nair C, Shenoy T, Varghese J. Preventive and curative effects of *A. indica* on acetaminophen-induced hepatotoxicity. *IJGP*. 2011;5:49-54.
15. Sarumathi A, Saravanan N. Antioxidant status in kidney and liver of rats during immobilization stress and treated with *C. asiatica*. *URP Journals*. 2012;2(4):165-9.