

Profil protein lambung tikus model ulkus peptikum hasil induksi aspirin dengan terapi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*)

Janice Enola¹, Sasangka Prasetyawan², Dian Vidiastuti^{3,*}

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang

²Laboratorium Biokimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang

³Bagian Klinik Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang

ABSTRAK: Ulkus peptikum dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang menginduksi terjadinya perubahan profil protein berupa *Heat Shock Proteins* (HSPs). Penelitian ini mempelajari efek antioksidan flavonoid daun katuk untuk pengobatan ulkus peptikum hasil induksi aspirin pada tikus. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 20 ekor dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu kontrol positif (ulkus peptikum), kontrol negatif, terapi P1 (8,1 mg/100 gram BB), terapi P2 (16,2 mg/100 gram BB), dan terapi P3 (24,3 mg/100 gram BB). Perlakuan diberikan selama 14 hari. Induksi ulkus peptikum dilakukan dengan pemberian aspirin 200 mg/kg BB selama 5 hari secara peroral. Isolasi protein lambung dan penentuan profil protein dilakukan dengan metode *SDS-PAGE*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa protein yang muncul adalah HSP70, HSP60, HSP47, dan ubiquitin. HSP47 dengan ukuran protein 47 kDa muncul pada kelompok P2 dan P3 sedemikian sehingga dapat diduga sebagai marker dalam proses kesembuhan ulcer pada kasus ulkus peptikum.

Keywords:

pita protein, SDS PAGE, ulkus peptikum, daun katuk

■ PENDAHULUAN

Ulkus peptikum adalah luka kecil pada mukosa esofagus, lambung dan duodenum (Torpy *et al*, 2012). Kejadian ulkus lambung pada hewan dilaporkan terjadi pada anjing (Parrah *et al*, 2013) dan kuda (Niето, 2102). Produksi asam lambung berlebih menyebabkan inflamasi dan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) penyebab kerusakan jaringan sehingga merubah profil protein berupa *Heat Shock Proteins* (HSPs). Protein tersebut memfasilitasi sintesis dan perbaikan protein sel (Fornai *et al*, 2011). Daun katuk memiliki flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ 80,81 ppm (Zuhra dkk, 2008). Penelitian ini bertujuan mempelajari efek antioksidan flavonoid daun katuk untuk pengobatan ulkus peptikum.

■ BAHAN DAN METODE

Hewan coba. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan, 150-200 g, umur 8-12 minggu, sebanyak 20 ekor dibagi dalam 5 kelompok yaitu kontrol negatif (K-), kontrol positif (induksi ulkus peptikum, K+), P1 terapi ekstrak daun katuk (8,1 mg/100 gram BB), P2 (16,2 mg/100 gram BB) dan P3 (24,3 mg/100 gram BB) sekali sehari selama 14 hari. Induksi ulkus peptikum dengan aspirin 200 mg/kg BB selama 5 hari secara peroral (Acarturk *et al*, 2014). Daun katuk diekstrak dengan pelarut etanol.

Penentuan profil protein metode SDS-PAGE. Hewan coba dieuthanasi secara dislokasi leher. Lambung diambil dan dicuci dalam NaCl fisiologis 0,9%, lalu dimasukkan

PBS-azida pH 7,4. Lambung ditimbang 0,50 mg, ditambah 1 mL larutan PBS-Tween : PMSF (9 : 1), dan sedikit pasir kuarsa lalu digerus dengan mortar yang diletakkan di atas balok es. Homogenat ditambah 2 mL larutan PBS-Tween : PMSF dalam mikrotube untuk dihomogenkan dan disentrifus 15 menit (6000 rpm). Supernatan diambil, dimasukkan mikrotube dan ditambah etanol absolut dingin 1:1 dan biarkan semalam. Sentrifugasi campuran pada 10.000 rpm 15 menit. Endapan dikeringkan dan ditambah larutan 0,02 M Tris-HCl pH 6,5 dingin perbandingan 1:1.

Persiapan gel. Plat gel dibuat dua lapis yaitu gel sebagai tempat sampel (*Stacking gel*) dan sebagai media untuk pemisahan protein (*Separating gel*). *Separating gel* dituangkan dalam cetakan. Berikutnya *Stacking gel* dituang di atas *separating gel* yang telah memadat dan dipasang sisir hingga terbentuk sumuran gel.

Running sampel. Ekstrak kasar isolasi lambung 150 µl, ditambahkan 150 µl *Reducing Sampel Buffer* (RSB), dan dipanaskan pada 100 °C (5 menit). Setelah dingin, 20 µl sampel dimasukkan sumuran, salah satu sumuran gel diisi protein standar *marker*. Perwarnaan dengan merendam gel dalam larutan *staining* (30-60 menit). Warna latar dihilangkan dengan merendam gel dalam larutan *destaining*.

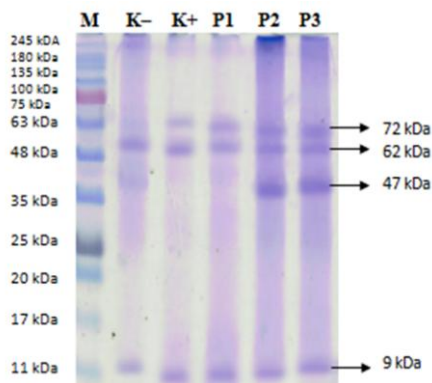
Diterima: 08-11-2017 | **Direvisi:** 10-12-2017 | **Disetujui:** 09-01-2018

© 2018 CC-BY-SA. Ini adalah artikel Open Access yang didistribusikan berdasarkan ketentuan dari Creative Commons Attribution ShareAlike 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).

Penentuan berat molekul (BM). Penentuan BM dilakukan dengan menghitung nilai Rf (*Retardation factor*). Kurva standar dibuat dengan Rf sebagai sumbu X dan logaritma berat molekul sebagai sumbu Y.

■ HASIL DAN PEMBAHASAN

Protein 72 kDa (HSP70) terekspresi pada kelompok K+, P1, P2 dan P3. HSP70 muncul pada sel yang stres (Stetler *et al*, 2010). HSP70 berperan dalam sistem pertahanan mukosa lambung dari kematian sel oleh *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) dan terekspresi akibat radikal bebas (Tsukimi and Okabe, 2001; Burkat *et al*, 2000). Protein 62 kDa (HSP60) muncul pada semua perlakuan. HSP60 merupakan protein mitokondria sel eukariot untuk regulasi pelipatan protein, apoptosis, interaksi molekuler, dan normal pada sel lambung (Cappello *et al*, 2008). Protein 47 kDa (HSP47) muncul pada kelompok P2 dan P3 (Gambar 1) dan diduga sebagai marker proses kesembuhan ulkus peptikum.



Gambar 1. Ekspresi protein lambung tikus model ulkus peptikum dengan metode SDS PAGE dengan berat molekul 72 kDa, 62 kDa, 47 kDa dan 9 kDa. M:marker, K-:kontrol negatif, K+:kontrol positif, P1:perlakuan 1, P2:perlakuan 2, P3:perlakuan 3

HSP47 berperan spesifik dalam biosintesis kolagen pada proses kesembuhan luka (Ishida and Nagata, 2011). Pembentukan kolagen adalah tahap penting dalam pembentukan jaringan granulasi, sehingga terekspresi pada sel yang mengalami perbaikan (Tsukimi and Okabe, 2001). Daun katuk (*Sauropus androgynus*) mengandung flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan menangkap radikal bebas (gugus hidroksil) pada kerusakan lambung akibat induksi aspirin. Gugus hidroksil senyawa flavonoid memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga menjadi stabil dan proses kerusakan lipid lambung terhenti (Tremel and Smejkal, 2016). Gugus hidroksil yang stabil menghambat aktivasi *Nuclear Factor kappa B* (NF- κ B) yaitu faktor transkripsi dari sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , sehingga pelepasan TNF- α berkurang (Fornai *et al*, 2011). Protein 9 kDa (ubiquitin) terekspresi pada semua perlakuan yang secara normal terdapat pada sitoplasma semua sel eukariotik (Chiechanover, 1994). Fungsi utama ubiquitin dalam regulasi protein adalah degradasi protein dengan kompleks multienzimatik pada kasus kesalahan pelipatan protein, kerusakan atau malfungsi protein (Herrmann *et al*, 2007)

■ SIMPULAN

Terapi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dosis 16,2 mg/100 gram BB dan 24,3 mg/100 gram mampu menginduksi ekspresi protein marker kesembuhan ulkus dengan berat molekul 47 kDa.

■ INFORMASI PENULIS

Penulis untuk Korespondensi

* DV: dianvidiastuti@gmail.com.

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.
Jalan MT Haryono, Kota Malang, Jawa Timur.

■ UCAPAN TERIMA KASIH

Klinik Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya atas bantuan pendanaan publikasi artikel

■ PUSTAKA ACUAN

- Acarturk G, Senol A, Akin M, Sutcu R, Sahin O, Isler M. 2014. The protective effects of kefir in aspirin induced gastric mucosal damage: an experimental study. *Acta Medica Mediterranea*. 30(4): 875-879.
- Burkart V, H. Liu, K. Bellmann, D. Wissing, M. Jaattela, M. Cavallo. 2000. Natural resistance of human beta cells toward nitric oxide is mediated by heat shock protein 70. *J Biol Chem* 275:19521-528.
- Cappello F, Everly C, Lorenzo M, Giovanni Z, and Alberto J. 2008. Hsp60 expression, new locations, functions, and perspectives for cancer diagnosis and therapy. *Journal Cancer Biology and Therapy*, 1555-8576.
- Ciechanover A. 1994. The ubiquitin proteasome proteolytic pathway. *Cell*. 79:13-21
- Fornai M, Antonioli L, Colucci R, Tuccori M, Blandizzi C. 2011. Pathophysiology of gastric ulcer development and healing: molecular mechanisms and novel therapeutic options. In *Peptic Ulcer Disease*. InTech.
- Herrmann J, Lilach O, and Amir L. 2007. Ubiquitin-Like Proteins in Protein Regulation. *Ahajournals*; 100:1276-1291.
- Ishida Y, Nagata K. 2011. Hsp47 as a collagen-specific molecular chaperone. *Methods in enzymology*. 499:167.
- Nieto J. 2012. Diagnosing and treating gastric ulcers in horse. Center for equine health-the horses report.<http://vetmed.ucdavis.edu>
- Parrish JD, Moulvi BA, Gazi MA, Makhdoomi DM, Athar H, Dar S, Mir AQ. 2013. Gastric ulceration in dog: a review. *Vet world*. 6(7): 449-454
- Stetler RA, Gan Y, Zhang W, Liou AK, Gao Y, Cao G, Chen J. 2010. Heat shock proteins: cellular and molecular mechanism in the CNS. *Progress in neurobiology*. 92(2): 184-211.
- Torpy JM, Lynn C, Golub RM. 2012. Peptic ulcer disease. *JAMA*. 307(12):1329
- Tsukimi Y, Okabe S. 2001. Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: role of heat shock proteins in mucosal defense and ulcer healing. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 24(1):1-9.
- Zuhra CF, Tarigan JB, Sihotang H. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr). *Jurnal Biologi Sumatera*. 3(1): 7-10.