

EFEK EKSTRAK METANOL DAUN ENKUDUK TALUN (*FAGRAEA RACEMOSA*) PADA PEROKSIDASI LIPID SECARA *IN VIVO*

Ika Fikriah

Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman

e-mail : ika_fikriah@yahoo.com

ABSTRACT

Engkuduk talun plant (Fagraea racemosa) grows in East Kalimantan forest. Stages Extraction research of petroleum eter-cloroform-metanol from leaves, root skin, root, stem skin and Fagraea racemosa's stem toward radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) is proven that the extract of methanol leaves have the strongest scavenger effect, this can be interpreted that the leaves have the strongest antioxidant potency from all plant parts that have been examined. The given single dose 1 gram/kg b.w of the methanol extract from Fagraea racemosa leaves do not caused the death at the female Wistar rats. On the inhibitor test of forming MDA of rat's liver the very high of absorbance value has occurred on control by CCl₄ (0.508 ± 0.039), significant if compared to CCl₄ added with the vitamin E (0.224 ± 0.006) and CCl₄ added with three doses of methanol extract from the Fagraea racemosa's leaves (p=0.000)

Keywords: *Fagraea racemosa*, lipid peroxidation, CCl₄, vitamin E

ABSTRAK

Tumbuhan engkuduk talun (*Fagraea racemosa*) banyak terdapat di hutan Kalimantan Timur. Penelitian ekstraksi bertingkat petroleum eter-kloroform-metanol dari daun, kulit akar, akar, kulit batang dan batang *Fagraea racemosa* terhadap pereaksi radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) terbukti pada ekstrak metanol daun mempunyai efek peredaman paling kuat, ini dapat diartikan daun mempunyai potensi antioksidan yang paling kuat dari semua bagian tumbuhan yang diamati. Pemberian dosis tunggal 1 gram/kgBB ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa* tidak menunjukkan kematian pada hewan coba tikus Wistar betina. Pada uji hambatan pembentukan MDA hepar tikus terjadi peningkatan nilai absorbansi yang sangat tinggi pada kontrol dengan CCl₄ (0.508 ± 0,039), berbeda bermakna jika dibandingkan CCl₄ yang ditambah dengan vitamin E (0.224 ± 0,006) dan CCl₄ yang ditambah dengan tiga dosis ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa* (p=0.000).

Kata Kunci: *Fagraea racemosa*, peroksidasi lipid, CCl₄, vitamin E

PENDAHULUAN

Radikal bebas dan stress oksidatif berperan penting dalam berbagai kelainan patologi seperti arteriosklerosis, keganasan, diabetes, dan penuaan [1]. Radikal bebas bersifat sangat reaktif. Berbagai asam lemak tidak jenuh seperti pada: membran sel, membran endoplasmik retikulum, membran mitokondria dan DNA dapat diserangnya, menyebabkan reaksi berantai pembentukan peroksidasi lipid dan berbagai keadaan patologi pada tubuh [2].

Suplemen antioksidan dari bahan alam dan sintesis dapat digunakan untuk mengobati atau mencegah kelainan yang disebabkan oleh radikal bebas. Tumbuhan engkuduk talun (*Fagraea racemosa*) banyak terdapat di hutan Kalimantan Timur, masyarakat setempat menggunakan kayu pohon tersebut untuk kayu bakar dan bahan bangunan, tetapi potensi daun sebagai antioksidan masih belum dimanfaatkan.

Penelitian ekstraksi bertingkat petroleum eter-kloroform-metanol dari daun, kulit akar, akar, kulit batang dan batang *Fagraea racemosa* terhadap pereaksi radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) terbukti pada ekstrak metanol daun mempunyai efek peredaman paling kuat, ini dapat diartikan daun mempunyai potensi antioksidan yang paling kuat dari semua bagian tumbuhan yang diamati Purwatiningsih [3]. Tetapi penelitian sebagai penghambat peroksidasi lipid secara *in vivo* masih belum ada, sehingga berpotensi untuk diteliti lebih lanjut. Jika ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa* terbukti menghambat peroksidasi lipid secara *in vivo*, maka dapat dikembangkan sebagai suplemen yang berkhasiat sebagai antioksidan untuk menghambat peroksidasi lipid.

METODE PENELITIAN

Spesimen yang akan diambil adalah daun *Fagraea racemosa* dari hutan sekunder di sekitar daerah Balikpapan atau Kutai yang sudah diidentifikasi banyak terdapat habitat tanaman tersebut. Simplisia sebanyak 0,5 kg dimaserasi dengan metanol selama 5 hari sebanyak 3 kali pengulangan, lalu ekstrak metanol dipekatkan dengan vakum rotavapor, ekstrak pekat dimasukkan dalam desikator yang berisi silika gel biru selama satu minggu. Setelah kering disimpan dalam kulkas suhu 4 °C sebelum dilakukan pengujian.

Uji hambatan pembentukan peroksidasi lipid secara *in vivo* digunakan tikus putih Wistar yang berumur 4-6 bulan. Besar sampel untuk setiap perlakuan adalah 5 ekor tikus. Sebelum dilaksanakan uji penghambatan peroksidasi lipid secara *in vivo* dilaksanakan uji toksisitas akut secara oral dengan dosis tunggal dan diamati selama satu minggu untuk mengamati ada atau tidak kematian pada hewan coba. Untuk uji toksisitas akut digunakan 3 dosis setiap dosis akan menggunakan 5 ekor tikus yang dimulai dari dosis 1 gram/kgBB/hari, jika tidak terjadi kematian pada dosis ini maka tidak dilanjutkan untuk dosis yang lebih rendah

Untuk pengujian hambatan pembentukan MDA-hepar secara *in vivo* digunakan metode seperti yang dideskripsikan oleh Gupta, dkk. [4] dengan modifikasi. Tikus dibagi dalam 5 group, setiap group terdiri dari 5 ekor. Semua group mendapat CCl₄ (1 mL/kgBB ip) setiap hari dengan lama pemberian 4 hari. Satu hari sebelum penyuntikan diberikan bahan ekstrak dengan dosis 100, 500, 1.000 mg/kgBB/hari, sedangkan kelompok lain diberikan vitamin E dengan dosis 100 mg/kgBB/hari dan tanpa diberikan apapun. Penyuntikan dilakukan setelah 2 jam

pemberian bahan ekstrak dan pada hari terakhir tikus dibunuh setelah 2 jam penyuntikan terakhir.

Setelah hari ke 5 tikus dibunuh dengan dekapitasi, hepar diambil lalu dicuci dengan larutan NaCl fisiologi dingin dilanjutkan dengan 0.15 M Tris-HCl (pH 7.4), lalu dikeringkan dan ditimbang. 10% w/v homogenat dalam 0.15 M Tris-HCl digunakan untuk pemeriksaan peroksidasi lipid seperti yang dideskripsikan oleh Shenoy, dkk. [5] dan Pattanaik, dkk. [6] dengan sedikit modifikasi. Pada 2,2 mL homogenate hepar 10% dicampur dengan 0,5 mL sodium duodesil sulfonat dan 2 mL HCl serta 0,3 mL asam fosfotungstik. Selanjutnya ditambahkan 1 mL asam tiobarbiturat 0,67%. Masukkan dalam penangas air mendidih selama 60 menit, kemudian dinginkan dalam air mengalir, setelah dingin sentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 6.000 rpm, lalu supernatant dibaca dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 532 nm.

Semua data yang diperoleh di analisa dengan uji statistik *One Way ANOVA*, perbedaannya sangat nyata jika $p \leq 0.05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

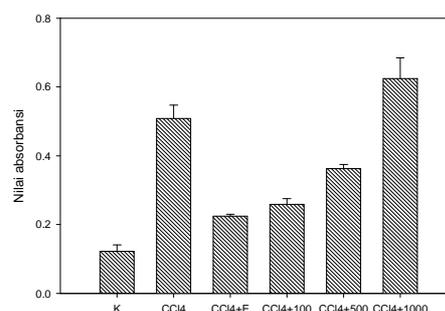
Pada pemberian dosis tunggal 1.000 mg/kgbb ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa* tidak menunjukkan kematian pada hewan coba tikus Wistar betina dengan lama pengamatan satu minggu. Ini membuktikan ekstrak tersebut aman untuk pemberian secara oral dengan dosis tunggal, tetapi perlu diteliti lebih lanjut pada pemberian selama satu minggu dan toksisitas kronik yang disertai dengan parameter pemeriksaan fungsi hati, ginjal dan hematopoetik.

Untuk pengujian hambatan pembentukan MDA-hepar secara *in vivo* digunakan

metode seperti yang dideskripsikan oleh Gupta, dkk. [4] dengan modifikasi.

Tabel 1: Nilai absorbansi MDA-hepar tikus pada pemberian ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa* dan induksi karbon tetraklorida (CCl_4)

Nilai absorbansi MDA hepar tikus (mean \pm SE)	
Fagraea 2.5 mg/mL + CCl_4	0.624 \pm 0.060
Fagraea 1.25 mg/mL + CCl_4	0.363 \pm 0.012
Fagraea 0.25 mg/mL + CCl_4	0.258 \pm 0.017
Vit. E + CCl_4	0.224 \pm 0.006
CCl_4	0.508 \pm 0.039
Kontrol	0.122 \pm 0.019



Gambar 1: Aktivitas penghambatan pembentukan MDA *in vivo* ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa*

Keterangan: K = Kontrol ; CCl_4 = Kontrol+ CCl_4 ; CCl_4 +E = Vitamin E konsentrasi 12.5 mg/mL+ CCl_4 ; CCl_4 +100 = Ekstrak metanol daun *Fagraea* konsentrasi 100 mg/mL+ CCl_4 ; CCl_4 +500 = Ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa* 500 mg/mL+ CCl_4 ; CCl_4 +1000 = Ekstrak metanol daun *Fagraea* 1000 mg/mL+ CCl_4 .

Pada gambar 1 dapat dilihat terjadi peningkatan nilai absorbansi yang sangat tinggi pada kontrol dengan CCl_4 (0.508 \pm 0,039), berbeda bermakna jika dibandingkan CCl_4 yang ditambah dengan vitamin E (0.224 \pm 0,006) dan CCl_4 yang

ditambah dengan tiga dosis ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa* ($p=0.000$). Ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa* dosis 0 mg/mL dapat menghambat peningkatan absorbansi MDA hepar tikus (0.258 ± 0.017) tetapi tidak berbeda bermakna jika dibandingkan dengan vitamin E ($p=0.971$).

Paparan radikal bebas yang terus menerus telah membuktikan dapat menimbulkan penyakit degeneratif, mempercepat terjadinya penyakit jantung, peradangan, parkinson, diabetes dan kanker. Sejumlah besar mekanisme pertahanan antioksidan tubuh bekerja untuk menetralkan pengaruh buruk dari radikal bebas. Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron, secara biologis senyawa ini untuk meredakan dampak negatif oksidan atau sebagai scavenger. Antioksidan juga dapat mengurangi peroksidasi lipid dengan mempertahankan aktivitas enzim antioksidan seperti *superoxide dismutase* (SOD), *Catalase* dan *Gluthation Peroxidase* (GPx) pada kadar yang lebih tinggi. Enzim-enzim ini berperan penting pada regulasi peroksidasi lipid, dimana SOD dapat mengkatalisa dismutasi anion superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). H_2O_2 direduksi menjadi H_2O dan O_2 oleh peroksida seperti *Gluthation Peroxidase* (GPx) dan *Catalase*, sehingga tidak terjadi pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan peroksidasi lipid [2].

Enzim antioksidan merupakan sistem antioksidan terpenting sekaligus sebagai pertahanan pertama bagi tubuh dalam melawan radikal bebas serta dibantu oleh asupan antioksidan non enzimatis dari luar seperti vitamin E, vitamin C atau antioksidan dari bahan alam seperti beta karoten, flavonoid, dan lain-lain. Vitamin E merupakan antioksidan telah dibuktikan kemampuannya dalam menghambat

peroksidasi lipid di membran dan plasma. [7].

Penelitian Purwatiningsih [3] pada ekstraksi bertingkat petroleum eter-kloroform-metanol dari daun, kulit akar, akar, kulit batang dan batang *Fagraea racemosa* terhadap pereaksi radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) terbukti pada ekstrak metanol daun mempunyai efek peredaman paling kuat, ini dapat diartikan daun mempunyai potensi antioksidan yang paling kuat dari semua bagian tumbuhan yang diamati [3].

Hasil skrining fitokimia terhadap simplisia *Fagraea racemosa* yang dilakukan secara kualitatif dengan metode reaksi warna, dan dapat disimpulkan bahwa simplisia daun mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/ terpenoid [3]. Metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid sudah dibuktikan memiliki aktivitas antioksidan [8].

Pada penelitian ini terbukti ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa* memiliki aktivitas penghambatan peroksidasi lipid secara *in vivo*. Penelitian ini mendukung penelitian yang sebelumnya yang telah membuktikan ekstrak metanol *Fagraea racemosa* mengandung aktivitas antioksidan. Jadi kemungkinan aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol *Fagraea racemosa* pada metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid, maka perlu adanya penelitian lebih lanjut.

KESIMPULAN

Pemberian Dosis tunggal 1 gram/kgBB ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa* tidak menunjukkan kematian pada hewan coba tikus Wistar betina dengan lama pengamatan satu minggu.

Ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa* dapat menghambat peningkatan kadar MDA-hepar tikus yang setelah diinduksi dengan CCl₄.

SARAN

Diperlukan penelitian lanjutan uji toksisitas kronik dan uji klinik ekstrak metanol daun *Fagraea racemosa* sebagai suplemen hepatoprotektor.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soury, E; & Amin, A. **2006**, *Taksonomi Omne vivum Classification of the species Fragraea lanceolata*. Akses di internet pada alamat: <http://www.omne-vivum.com/cgi-bin/taxonomy.cgi>, pada tanggal 26 Febuari 2006.
2. Halliwell, B; & Gutteridge, J.M. **1999**, *Free Radicals in Biology and Medicine*. Third edition. Oxford University Press Inc; New York.
3. Purwatiningsih, S. **2003**, *Studi aktivitas dan kandungan kimia tanaman Fagraea racemosa Jack ex Wall. Tesis*. Program Pascasarjana Universitas Airlangga; Surabaya
4. Gupta, M; Mazumder, U.K; Kumar, T.S; Gomathi, P; & Kumar, R.S. **2004**, *Antioxidant and Hepatoprotective Effects of Bauhinia racemosa against Paracetamol and Carbon Tetra-chloride Induced Liver Damage in Rats*. Iranian J. Pharmacology and Therapeutics. 3:12-20.
5. Shenoy, K.A; Somayaji, S.N; & Bairy, K.L. **2001**, *Hepatoprotective effects of Ginkgo biloba against carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats*. Indian J. Pharmacology. 33:260-6.
6. Pattanaik, N; Sigh, A.V; Pandey, R.S; Singh, B.K; Kumar, M; Dixit, S.K; & Tripathi, Y.B. **2003**, *Toxicology and free radicals scavenging property of tamra bhasma*. Indian J. Clin Biochem. 18(2):181-9
7. Luo, J. **2001**, *The Role of Antioxidant in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury*. Review Spring 77 :222.
8. Shahidi, F; Sukla, V.K.S; & Wanasudara, P.K.J.P.D. **1996**, *Natural Antioxidants from Oilseeds*. In F. Shahidi (Ed). *Natural Antioxidant Chemistry, Health Effects and Applications*. Champaign Illinois : AOCS Press.