

Efek Proteksi Fraksi Etil Asetat Daun Surian (*Toona sureni* (Blume) Merr.) terhadap Aterosklerosis

Protection Effect of Ethyl Acetate Fraction of Toona sureni (Blume) Merr. Against Atherosclerosis

Suhatri¹, Netty Marusin², Delva Yeni¹, Rahmi Yosmar¹

Keywords:
ethyl acetate
fraction,
toona sureni,
atherosclerosis,
hypercholes-
terolemia.

ABSTRACT: *A study of the protection effect of ethyl acetate fraction of toona leaves (*Toona sureni* (Blume) Merr.) to the atherosclerotic blood vessel on the hypercholesterolemic quails has been carried out. The observation was conducted for histopathology of the blood vessel. The hypercholesterolemic quails were obtained through high-fat diet and propylthiouracil (PTU) induction. Aortic wall thickness, changes on the aortic lumen are, and visual endothelial cell dysfunction were determined. The study showed that the ethyl acetate fraction of toona leaves on the dose of 50 mg/kg body weight exhibited the best protection effect, indicated by aortic wall thickness and lumen area, and the degree of endothelial cell dysfunction which were not significantly different with the negative control group ($p>0.05$), but significantly different with positive control group ($p<0.05$).*

Kata kunci:
fraksi etil asetat,
Toona sureni
aterosklerosis,
hiperkolesterol.

ABSTRAK: Studi tentang efek proteksi fraksi etil asetat daun surian (*Toona sureni* (Blume) Merr.) terhadap aterosklerosis pada burung puyuh hiperkolesterol sudah dilakukan. Metoda yang digunakan adalah metoda hispatologi. Hiperkolesterol di induksi dengan pemberian makanan lemak tinggi (MLT) dan profil tio urasil (PTU). Parameter yang diamati adalah adanya perbaikan tebal dinding pembuluh darah aorta, perubahan luas lumen aorta dan keadaan sel endothelia. Hasil penelitian menunjukkan pemberian fraksi etil asetat daun surian dosis 50 mg/ kgBB memberikan efek proteksi yang terbaik, ditandai dengan tebal dinding pembuluh darah aorta, luas lumen dan tingkat kerusakan sel endotelia aorta tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif ($p>0,05$) dan berbeda nyata dengan hewan kelompok positif ($p<0,05$).

¹Fakultas Farmasi Universitas Andalas

²Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas

Korespondensi:

Suhatri

(suhatriaini@rocketmail.com)

PENDAHULUAN

Tanaman surian mengandung zat pengelat (1). Dari hasil penelitian terdahulu diketahui bahwa daun surian mengandung senyawa flavonoid kuersetin (2), terpenoid/tetranortriterpenoid yaitu surenon, surenin (3), steroid, karotenoid, dan metil galat (4,5). Fraksinasi etil asetat daun surian ini terbukti memiliki efek antioksidan dengan metode pengikatan radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (6). Adanya aktivitas antioksidan tersebut disebabkan oleh daun Surian mengandung metabolit sekunder golongan flavonoid dan metil galat.

Penyakit aterosklerosis merupakan penyakit yang sangat berbahaya. Penyakit ini ditandai dengan terjadi penimbunan lemak yang disebut dengan ateroma pada permukaan dalam arteri (7). Penyakit ini diawali dengan kerusakan sel endotelium pada arteri dan adanya radikal bebas berlebih (stress oksidatif) yang bereaksi dengan LDL (*Low Density Lipoprotein*) membentuk LDL teroksidasi. LDL yang teroksidasi ini bermigrasi bersama sel monosit ke dalam lapisan sub-endotel. Monosit akan berubah bentuk menjadi makrofag. Makrofag pada lapisan ini akan menfagosit LDL teroksidasi sehingga terbentuk sel busa, akibatnya terjadilah akumulasi sel busa pada dinding pembuluh darah. Perkembangan selanjutnya makrofag menghasilkan faktor pertumbuhan, sehingga menyebabkan proliferasi sel otot polos pembuluh darah. Akibatnya terbentuklah plak pada pembuluh darah. Plak akan menyebabkan lumen pembuluh darah menyempit (8,9).

Aterosklerosis timbul dibagian arteri dengan arus kuat seperti pembuluh darah koroner, serebral, renal, aorta, dan pembuluh

darah tungkai (9). Manifestasi klinik dari terjadinya aterosklerosis yaitu gagal jantung, infark miokardium akut, angina pektoris, stroke (7). Berdasarkan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun surian diantaranya flavonoid dan metil galat. Metil galat yang diekstrak dari daun *Cercis chinensis* tumbuhan obat Korea dikenal sebagai antioksidan utama, telah terbukti dapat memproteksi sel manusia dari stres oksidatif. Digunakan sel endotel vena umbilikalis manusia (HUVECs) dan stres oksidatif diinduksi dengan H_2O_2 . Metil galat menunjukkan efek antioksidan dengan mengikat radikal pada konsentrasi rendah yaitu 0,02 mM. Metil galat meningkatkan viabilitas sel HUVECs yang rusak oleh H_2O_2 , mengurangi peroksidasi lipid (LPO) dan penurunan spesies oksigen reaktif (ROS) internal dirangsang oleh H_2O_2 (10).

Flavonoid ini bisa menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang produksi oksidasi nitrit yang dapat melebarkan (relaksasi) pembuluh darah dan juga bereaksi dengan radikal bebas (11). Seperti telah diketahui bahwa pencetus aterosklerosis adalah oksidasi LDL (12). Proses oksidasi LDL ini bisa dicegah oleh flavonoid. Flavonoid menangkap radikal bebas (*free radical scavengers*) dengan melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya. Pemberian atom hidrogen ini akan menyebabkan radikal bebas menjadi stabil dan berhenti melakukan oksidasi dan merangsang nitrit oksida untuk menvasodilatasi pembuluh darah dan menurunkan tingkat oksidasi LDL, sehingga akumulasi kolesterol pada pembuluh darah berkurang (13).

Berdasarkan uraian di atas dan efek samping yang disebabkan obat penurun

kolesterol sintetis, dan banyak fakta menyatakan pencegahan tentu jauh lebih baik dari pengobatan, dengan adanya aktivitas antioksidan polifenol (flavonoid dan metil galat) yang terdapat dalam fraksi etil asetat daun surian (*Toona sureni* Blume Merr.), bersamaan dengan kecendrungan global untuk kembali ke alam dan dalam rangka menggali potensi tumbuhan obat Indonesia khususnya tanaman surian.

METODE PENELITIAN

Bahan

Daun surian, etanol 96%, n-heksan, etil asetat, NaCMC, aquadest, makanan standar burung puyuh, NaCl fisiologis, pewarna haematoxyllin-eosin, formalin buffer 10%, xylol, burung puyuh jantan, propylthiourasil, minyak kelapa, lemak sapi, aseton, paraffin cair, paraffin keras, putih telur, gliserin, entellan, cairan empedu ayam, kloroform, amoniak, dan pereaksi mayer.

Cara Kerja

Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Tumbuhan surian diambil di daerah Maninjau, Kab. Agam. Sampel diambil bagian daun dan diidentifikasi di Herbarium Andalas (ANDA) Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, UNAND.

Pembuatan Fraksi Etil Asetat Daun Surian

Daun surian segar dimaserasi dengan etanol 96%. Selanjutnya difraksinasi dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya di dalam corong pisah. Fraksinasi diawali dengan menggunakan pelarut non polar n-heksan, sehingga diperoleh fraksi n-heksan dan fraksi air. Kemudian fraksi heksan

dikumpulkan dan dimasukkan kedalam botol, sedangkan fraksi air dilakukan fraksinasi lagi dengan etil asetat. Fraksinasi dengan etil asetat didapatkan fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat dipekatkan sehingga didapat ekstrak kental fraksi etil asetat daun surian. Selanjutnya ekstrak kental fraksi etil asetat yang dilakukan uji terhadap aterosklerosis.

Penyiapan dan Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah burung puyuh jantan ras *parenstop* yang berumur tiga bulan dengan bobot 110-150 gram. Hewan diadaptasikan selama tujuh hari untuk membiasakan hewan pada kondisi percobaan dan diberi makanan standar dan minuman yang cukup. Burung puyuh jantan yang digunakan adalah burung puyuh jantan yang sehat dan selama aklimatisasi berat badannya tidak berubah lebih dari 10%.

Burung puyuh dikelompokkan atas kontrol negatif (hewan normal), kontrol positif (hewan yang diberi Makanan Lemak Tinggi (MLT) dan Profiltiourasil (PTU), 3 kelompok yang diberikan MLT dan PTU dan fraksi etil asetat dan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB, satu kelompok diberi vitamin C.

Semua kelompok diperlakukan selama 60 hari, dan pada hari ke-60 perlakuan, semua hewan percobaan dikorbkan, setelah sebelumnya ditimbang. Kemudian diambil jantung untuk pemeriksaan lesi aterosklerosis, hati dan ginjal untuk pemeriksaan efek yang tidak diinginkan dari fraksi etil asetat daun surian.

Pemeriksaan Aterosklerosis

Pembuatan preparat hispatologi dengan menggunakan metoda paraffin menurut

Tabel 1. Hasil pengamatan tebal dinding aorta pada burung puyuh jantan dari faktor perlakuan/dosis

Perlakuan	N	Subset, $\alpha = 0,05$		
		1	2	3
Kontrol negatif	3		10,46967	10,46967
Kontrol positif	3	8,77767		
Dosis 50 mg/kgBB	3		10,05533	
Dosis 100 mg/kgBB	3		10,76133	10,76133
Dosis 200 mg/kgBB	3			11,18867
Vit. C 100 mg/kgBB	3		10,79333	10,79333
P	3	1,000	0,109	0,132

Keterangan: subset yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$).

metode Kiernan (14). Preparat histopatologi kemudian diamati di bawah mikroskop. Tingkat keparahan lesi arterosklerosis ditentukan dengan mengukur tebal dinding pembuluh darah aorta, persentase luas lumen aorta, tingkat kerusakan sel endotel dan sel otot polos pembuluh darah aorta.

Analisa Data

Semua data diolah dengan bantuan perangkat lunak SPSS. Data tebal dinding pembuluh darah aorta, persentase luas lumen, besarnya kerusakan sel endotel, dianalisa secara statistik dengan ANOVA 1 arah dan dilanjutkan dengan Duncan's MRT.

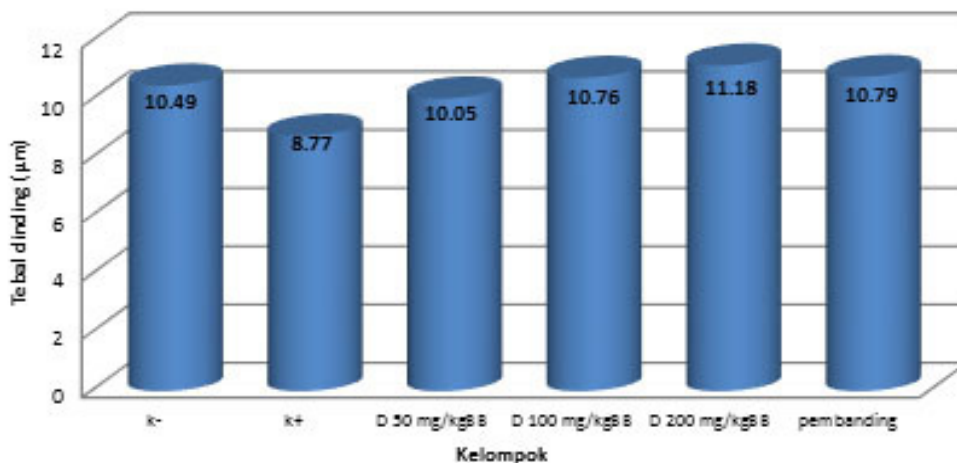
HASIL DAN DISKUSI

Tebal Dinding Pembuluh Darah Aorta

Tebal dinding pembuluh aorta hewan kontrol negatif; kontrol positif; yang diberi fraksi etil asetat daun surian dengan dosis 50 mg/kgBB; 100 mg/kgBB; 200 mg/kgBB

dan vitamin C berturut-turut adalah $10,49 \pm 0,2888 \mu\text{m}$; $8,777 \pm 0,09584 \mu\text{m}$; $10,055 \pm 0,7515 \mu\text{m}$; $10,7613 \pm 0,3821 \mu\text{m}$; $11,188 \pm 0,4163 \mu\text{m}$; $10,793 \pm 0,675 \mu\text{m}$. Tebal dinding pembuluh aorta dipengaruhi faktor perlakuan secara bermakna ($p < 0,05$) seperti terlihat pada Tabel 1.

Seperti terlihat pada tabel 1 di atas didapatkan tebal dinding aorta hewan uji kelompok kontrol positif lebih tebal dari pada hewan uji kelompok kontrol negatif ($P < 0,05$) karena terjadi proliferasi sel otot polos dinding pembuluh aorta. Pemberian fraksi etil asetat daun surian dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB juga dengan pemberian vitamin C bersamaan dengan koktail aterogenik bisa memproteksi dan mempertahankan tebal dinding pembuluh aorta sama dengan tebal dinding aorta hewan normal dan tebal ini tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Hal ini disebabkan karena pada fraksi etil asetat daun surian mengandung polifenol (flavonoid dan metilgalat). Polifenol



Gambar 1. Grafik hubungan perlakuan terhadap tebal dinding pembuluh aorta burung puyuh jantan yang diinduksi dengan koktail aterogenik

Tabel 2. Hasil pengamatan tebal dinding aorta pada burung puyuh jantan dari faktor perlakuan/ dosis

Perlakuan	N	Subset, $\alpha = 0,05$		
		1	2	3
Kontrol negatif	3			27,67767
Kontrol positif	3	17,94867		
Dosis 50 mg/kgBB 3		22,69467		
Dosis 100 mg/kgBB	3			26,33833
Dosis 200 mg/kgBB	3			27,5700
Vit. C 100 mg/kgBB	3	27,5700		
P	3	0,083	1,000	0,271

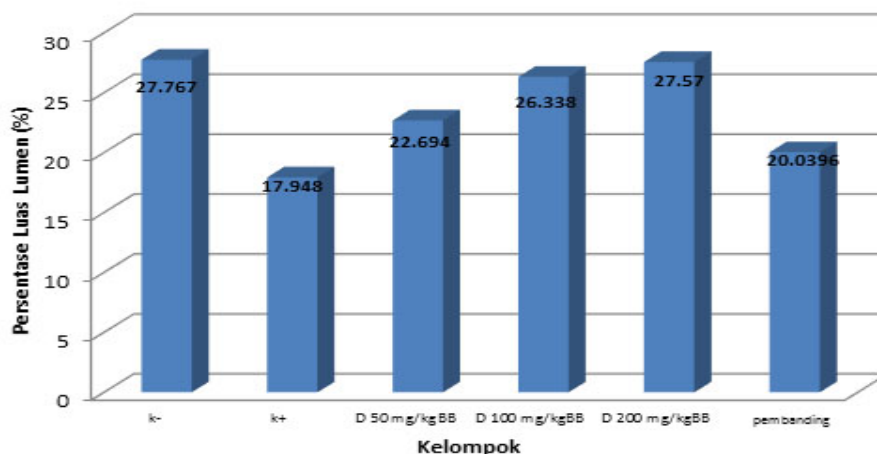
Keterangan: subset yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$).

ini dapat mencegah terjadinya reaksi oksidasi dari LDL dan akan mencegah proses aterosklerosis (13).

Persentase luas lumen aorta hewan kontrol negatif; kontrol positif; yang diberi fraksi etil asetat daun surian dengan dosis 50; 100; dan 200 mg/kgBB dan vitamin C berturut-turut adalah $27,6776 \pm 2,2935\%$; $17,948 \pm 0,4600\%$; $22,946 \pm 0,4668\%$; $26,338 \pm 0,5913\%$; $27,570 \pm 1,213\%$; $20,039$

$\pm 1,8593\%$. Persentase luas lumen aorta dipengaruhi oleh faktor perlakuan secara bermakna ($p < 0,05$) sebagaimana yang terlihat pada Tabel 2.

Persentase luas lumen pembuluh darah aorta hewan uji kelompok kontrol positif lebih kecil dari pada hewan uji kelompok kontrol negatif ($P < 0,05$). Penyempitan lumen pembuluh aorta disebabkan oleh terjadi penebalan dinding aorta akibat terjadinya



Gambar 2. Grafik hubungan perlakuan terhadap persentase luas lumen pembuluh aorta burung puyuh jantan yang diinduksi dengan koktail aterogenik

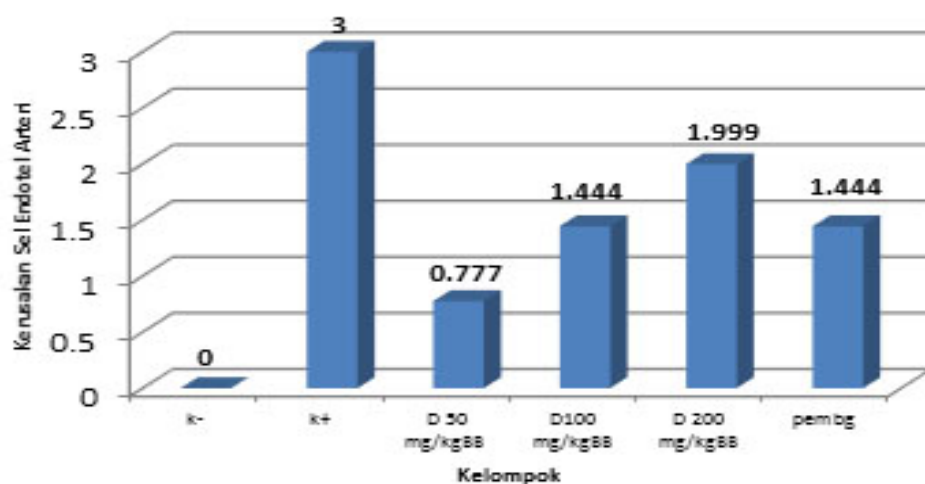
Tabel 3. Hasil pengamatan tebal dinding aorta pada burung puyuh jantan dari faktor perlakuan/ dosis

Perlakuan	N	Subset, $\alpha = 0,05$			
		1	2	3	4
Kontrol negatif	3	0,0000			
Kontrol positif	3				3,000
Dosis 50 mg/kgBB	3		0,7776		
Dosis 100 mg/kgBB	3			1,4444	
Dosis 200 mg/kgBB	3			1,9996	
Vit. C 100 mg/kgBB	3			1,4444	
P	3	1,000	1,000	0,075	1,000

Keterangan: subset yang berbeda menunjukkan perbedaan

proliferasi sel otot polos dinding aorta dan penumpukan lemak. Pemberian fraksi etil asetat daun surian dosis 50 mg/kgBB luas lumenya lebih besar dari kontrol positif dan berbeda nyata ($p < 0,05$), dan luas lumen ini lebih kecil dari luas lumen kontrol negatif dan pemberian dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB. Pemberian fraksi dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB bersamaan koktail

aterogenik dapat luas lumen pembuluh darah aorta sama dengan luas lumen aorta hewan kontrol negatif dan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Hal ini dikarenakan pemberian fraksi etil asetat mengandung polifenol yang mencegah oksidasi LDL yang menyebabkan aterosklerosis. Pemberian vitamin C tidak mempengaruhi persentase luas lumen pembuluh darah arteri secara



Gambar 3. Grafik hubungan perlakuan terhadap tebal dinding pembuluh aorta burung puyuh jantan yang diinduksi dengan koktail aterogenik

nyata dibandingkan dengan hewan uji kontrol positif. Hal ini berkemungkinan dosis vitamin C yang digunakan tidak mencukupi, sehingga efeknya kurang terlihat Tabel 2 dan Gambar 3.

Tingkat Kerusakan Sel Endotel Pembuluh Darah Arteri

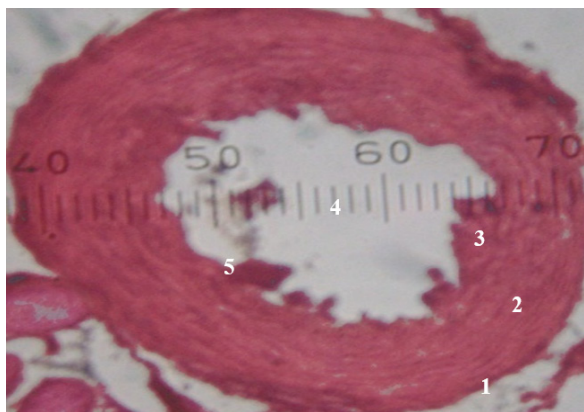
Tingkat kerusakan sel endotel pembuluh darah aorta hewan kontrol negatif; kontrol positif; yang diberi fraksi etil asetat daun surian dengan dosis 50 mg/kgBB; 100 mg/kgBB; 200 mg/kgBB dan vitamin C berturut-turut adalah $0,0000 \pm 0,000$; $3,0000 \pm 0,000$; $0,7776 \pm 0,6937$; $1,444 \pm 0,1922$; $1,9996 \pm 0,3335$; $1,444 \pm 0,1922$. Tingkat kerusakan sel endotel pembuluh darah aorta dipengaruhi oleh faktor perlakuan secara bermakna ($P < 0,05$) pada Tabel 3.

Pembuluh darah aorta hewan uji kelompok kontrol positif menunjukkan terjadinya kerusakan sel endotelium dan terlihat pada Gambar 4 lapisan sel endotelium terputus-putus. Hal ini disebabkan karena endapan kolesterol (plak) yang terbentuk pada pembuatan preparat histopatologi

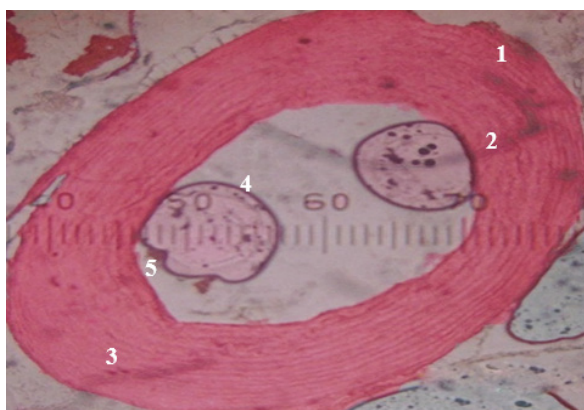
aorta memakai etanol dan kolesterol ini terlarut. Pemberian fraksi etil asetat daun surian disamping MLT dan PTU dapat memperbaiki kerusakan sel endotel dan sel otot polos pembuluh aorta, terutama pada dosis 50 mg/kgBB fraksi etil asetat daun surian. Pemberian fraksi etil asetat daun surian dosis 100 mg/kgBB tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) memperbaiki kerusakan sel endotel dan sel otot polos pembuluh aorta dibandingkan dosis 200 mg/kgBB dan vitamin C. Akan tetapi dengan peningkatan dosis fraksi etil asetat memberikan efek yang berbeda dalam memperbaiki kerusakan sel endotelium Tabel 3.

Perbaikan kerusakan sel endotelium ini mungkin disebabkan oleh kandungan dari fraksi etil asetat itu sendiri yang mengandung polifenol (flavonoid dan metilgalat) dengan aktivitas antioksidannya yang tinggi, bekerja sebagai penangkap radikal bebas yang dapat digunakan untuk memperbaiki atau mengembalikan fungsi endotel pembuluh darah (5). Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan yang menghambat reaksi radikal bebas pada sel endotel dan mencegah

oksidasi LDL (9), sehingga secara tidak langsung flavonoid dan metilgalat yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun

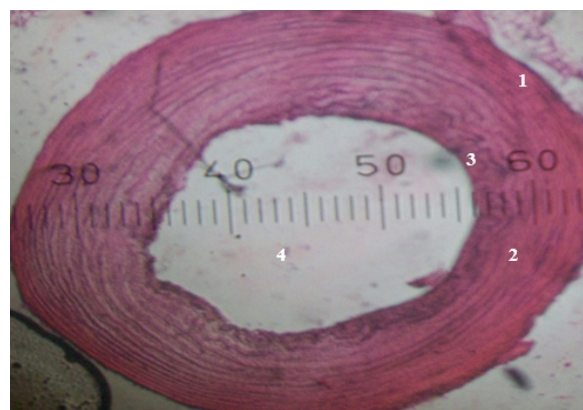


Gambar 4. Gambar hispatologi pembuluh aorta burung puyuh yang diinduksi dengan koktail aterogenik. (1) tunika adventisia, (2) tunika media, (3) tunika intima dengan sel endotelial yang terputus, (4) lumen arteri, (5) gumpalan darah. Pembesaran mikroskop 4×10, 4 kali zoom kamera 6,1 MP.

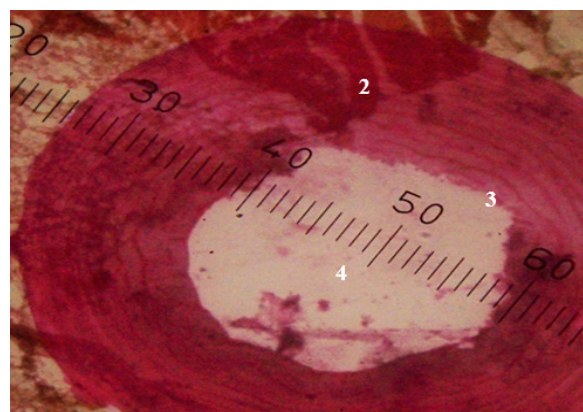


Gambar 5. Gambar hispatologi pembuluh aorta burung puyuh normal. (1) tunika adventisia, (2) tunika media dengan jaringan otot utuh, (3) tunika intima (4) lumen arteri (5) gelembung udara. Pembesaran mikroskop 4×10, 3 kali zoom kamera 6,1 MP.

surian dapat memproteksi aorta dari aterosklerosis.



Gambar 6. Gambar hispatologi pembuluh aorta hewan yang diinduksi dengan koktail aterogenik dan diberi dosis fraksi etil asetat daun surian 50 mg/kgBB. (1) tunika adventisia, (2) tunika media yang utuh, (3) tunika intima dengan sel endotelial yang teratur, (4) lumen. Pembesaran mikroskop 4×10, 4 kali zoom kamera 6,1 MP.



Gambar 7. Gambar hispatologi pembuluh aorta hewan yang diinduksi dengan koktail aterogenik dan diberi dosis fraksi etil asetat daun surian 100 mg/kgBB. (1) tunika adventisia, (2) tunika media (3) tunika intima dengan sel endotelialnya sedikit rusak, (4) lumen. Pembesaran mikroskop 4×10, 4 kali zoom kamera 6,1 MP.



Gambar 8. Pembuluh aorta hewan yang diinduksi dengan koktail aterogenik dan diberi dosis fraksi etil asetat daun surian 200 mg/kgBB. (1) tunika adventisia, (2) tunika media, (3) tunika intima yang berproliferasi, (4) lumen, (5) sel otot polos yang berproliferasi. Pembesaran mikroskop 4×10, 4 kali zoom kamera 6,1 MP.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sastroamidjyo, S. (2001). *Obat Asli Indonesia*. Jakarta: Dian Rakyat.
2. Ifmaily. (1996). *Isolasi Flavonoid dari Daun Surian (Toona sureni BL. Merr)* (Skripsi sarjana farmasi). FMIPA Universitas Andalas. Padang.
3. Kraus, W. (1982). Surenone, surenine and surenolacton, three model tetranortriterpenoid from *Toona sureni* BL. Merr. *Tetrahedron letter* No. 29.
4. Ekaprasada, M. T., Nurdin, H., Ibrahim, S., & Dachriyanus, D. (2010). Antioxidant activity of methyl gallate isolated from the leaves of *Toona sureni*. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9(3), 457-460.
5. Suhatri, Arifin H., & Irma, H. F. L. (2009). Efek proteksi ekstrak daun surian (*Toona sureni* BL. Merr) terhadap gangguan fungsi sel endotel pembuluh darah tikus”, *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 14(2), 17-24.
6. Romy. (2009). Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol dan Hasil Fraksinasi Daun Surian (*Toona sureni* BL. Merr) secara in-vitro (Skripsi sarjana farmasi). Fakultas Farmasi, Universitas Andalas. Padang.
7. Iman, S. (2004). *Serangan jantung dan stroke* (edisi II). Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
8. Guyton, A. C., & Hall J. E. (2006). *Medical physiology* (11th ed). Philadelphia: Elsevier Saunders Company.
9. Price, S. A., & Lorraine. (2006). *Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit* (ed 6). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

KESIMPULAN

Pemberian fraksi etil asetat daun surian dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB juga dengan pemberian vitamin C bersamaan dengan koktail aterogenik bisa memproteksi dan mempertahankan tebal dinding pembuluh aorta sama dengan tebal dinding aorta hewan normal. Pemberian fraksi etil asetat daun surian juga dapat memperbaiki kerusakan sel endotel dan sel otot polos pembuluh aorta.

10. Whang, W. K., Park, H. S., Ham, I., Oh, M., Namkoong, H., Kim, H. K., ... & Kim, J. W. (2005). Methyl gallate and chemicals structurally related to methyl gallate protect human umbilical vein endothelial cells from oxidative stress. *Experimental and molecular medicine*, 37(4), 343.
11. Reiterer, G., Toborek, M., & Hennig, B. (2004). Quercetin protects against linoleic acid-induced porcine endothelial cell dysfunction. *The Journal of nutrition*, 134(4), 771-775.
12. Prasetyo, A., Udadi, S., & Ika, P. M. (2000). Profil lipid dan ketebalan dinding arteri abdominalis tikus wistar pada injeksi inisial adrenalin intra vena dan diet kuning telur intermitten. *Media Medika Indonesia*, 35(3), 149-157.
13. Sofia, Dinna. (2005). Antioksidan dan Radikal Bebas. Diakses 25 Desember 2010 dari <http://www.khasiatantioksidan/radikalbebas>.
14. Kiernan J. A. (1990). *Histological & histochemical methods: Theory and practice*. New York: Pergamon Press.