

PENGARUH DAUN ARA (*FICUS AURICULATA*) TERHADAP KADAR GLUTATION JANTUNG TIKUS YANG DIINDUKSI HIPOKSIA SISTEMIK KRONIK

Michael Chen¹, David Limanan², Eny Yulianti³, Frans Ferdinal⁴

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara Jakarta
Surel: chenmichael760@yahoo.com

²Departemen Biologi dan Biologi Mlekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara Jakarta
Surel: davidl@fk.untar.ac.id

³Departemen Biologi dan Biologi Mlekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara Jakarta
Surel : julieny777@gmail.com

⁴Departemen Biologi dan Biologi Mlekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara Jakarta
Surel: frafrdl@fk.untar.ac.id

Masuk: 02-02-2021, revisi: 02-11-2021, diterima untuk diterbitkan: 08-02-2022

ABSTRAK

Hipoksia dapat meningkatkan ROS dan mencetuskan keadaan stres oksidatif yang dapat merusak organ, termasuk jantung. Tubuh memiliki sistem pertahanan antioksidan untuk mencegah stres oksidatif, salah satunya glutathione (GSH). Antioksidan juga dapat berasal dari metabolit sekunder tumbuhan seperti daun ara (*Ficus auriculata*). Akan tetapi masih sangat kurang penelitian mengenai pengaruh pemberian antioksidan eksogen (ekstrak *Ficus auriculata*) terhadap antioksidan endogen (GSH) ini. Tujuan penelitian ini adalah melihat pengaruh antioksidan daun ara terhadap GSH pada tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik. Penelitian eksperimental *in vivo* terhadap hewan coba *Sprague Dawley* yang dibagi menjadi 8 kelompok ($n=4$), yaitu 4 kelompok yang diberi ekstrak daun ara (14 hari) dosis kental (300 mg/KgBB) dan 4 diberi dosis encer (150 mg/KgBB). Ekstrak daun ara dengan metode maserasi menggunakan etanol. Setelah diberikan ekstrak daun ara, keempat kelompok yang diberi dosis kental dan encer tersebut dibagi lagi menjadi kelompok normoksia, hipoksia (8%O₂, 92%N₂) 1, 3, dan 7 hari. Diakhir penelitian, hewan coba dianestesi dengan ketamin (75-100mg/kgBB) dan xylazin (5-10mg/kgBB), dan diambil organ jantungnya. Pengukuran kadar GSH jantung dengan metode Ellman. Hasil penelitian menunjukkan penurunan bermakna (Mann-whitney, $p<0.05$) kadar GSH jantung tikus pada kelompok dosis kental maupun encer yang diinduksi hipoksia 3 dan 7 hari bila dibandingkan kontrol. Kadar GSH didapatkan lebih tinggi pada kelompok dosis kental karena kerjanya dalam mengeliminasi radikal bebas dibantu oleh antioksidan yang terdapat dalam ekstrak daun ara. Dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun ara dapat membantu kerja GSH dalam menghadapi radikal bebas akibat hipoksia.

Kata-kata kunci: Daun Ara (*Ficus auriculata*); Glutathione (GSH); Hipoksia; Reaktif Oksigen Spesies (ROS); Jantung

ABSTRACT

Hypoxia can increase ROS and trigger oxidative stress that can affect the heart. The body has an antioxidants defense system to prevent oxidative stress, one of glutathione (GSH). Antioxidants can also come from secondary plant metabolites such as fig leaves (Ficus auriculata). However, there is still very little research on the effect of giving Ficus auriculata on GSH. The aim of this study was to examine the effect of antioxidant fig leaves on GSH rats that induced by chronic systemic hypoxia. This research was in vivo experimental, using Sprague Dawley rats which were divided into 8 groups (n=4), namely four groups were given fig leaf extract (14days) thick dose (300mg/KgBW) and four were given a dilute dose (150mg/KgBW). Extract of fig leaves using maceration method with ethanol. After being given fig leaf extract, the thick and dilute groups were further divided into normoxia, hypoxia (8%O₂, 92%N₂) 1, 3, and 7 days. At the end of the study, the experimental animals were anesthetized, and the heart are taken. Measurement of GSH levels using the Ellman method. The results showed a significant decrease (Mann-Whitney, $p<0.05$) levels of GSH in the heart of rats in the thick and dilute dose groups induced by hypoxia for 3 and 7 days when compared to controls. GSH levels were found to be higher in the thick dose group because its action in eliminating free radicals was assisted by antioxidants contained in fig leaf extract. It can be concluded that the administration of fig leaf extract can help GSH work in dealing with free radicals caused by hypoxia.

Keywords: Fig leaves (*Ficus auriculata*); Glutathione (GSH); Hypoxia; Reactive Oxygen Species (ROS); Heart

1. PENDAHULUAN

Oksigen (O₂) memiliki peranan penting untuk kelangsungan makhluk hidup dan fundamental untuk proses metabolisme, oleh karena itu untuk mencukupi kebutuhan sel dan jaringan, kadar oksigen yang optimal sangatlah diperlukan (Carreau,2011). Oksigen dibutuhkan agar setiap sel dapat memproduksi energi dalam bentuk *adenosine triphosphate* (ATP) secara efisien (Meneses,2016). Di lain sisi, oksigen merupakan penyebab utama timbulnya radikal bebas, sehingga oksigen sering disebut sebagai gas toksik. Kebutuhan mutlak sel akan oksigen untuk menghasilkan energi memunculkan fakta bahwa produksi radikal bebas selama proses sintesis ATP di mitokondria tidak dapat dihindari (Burton, 2010).

Radikal bebas yang berasal dari oksigen disebut *reactive oxygen species* (ROS) (Santo,2016). *Reactive oxygen species* terdiri dari: anion superoksida (O₂^{•-}), radikal hidroksil (OH[•]), peroksil (RO₂[•]) dan alkoksil (RO[•]) yang bersifat radikal bebas. Selain itu ROS juga terdiri dari: hidrogen peroksida (H₂O₂), *hypochlorous acid* (HOCl), ozon (O₃) dan *singlet oxygen* (¹O₂) yang bersifat kurang radikal atau non-radikal (Ozcan, 2015). Keadaan hipoksia, yaitu suatu keadaan dimana konsentrasi dan/atau tekanan parsial O₂ dalam tingkat sel rendah atau mengalami kekurangan, sehingga dapat menyebabkan peningkatan ROS (MacIntyre, 2014). *Reactive oxygen species* sebagai radikal bebas didefinisikan sebagai molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan yang terdapat pada kulit terluarnya sehingga memiliki sifat reaktif (Burton, 2010). Ketika ROS diproduksi secara berlebihan, ROS dapat merusak makromolekul seperti: lipid, protein, karbohidrat, dan asam nukleat (Taverne, 2013).

Untuk mencegah kerusakan akibat radikal bebas diperlukan adanya antioksidan. Antioksidan merupakan pertahanan lini pertama dalam mencegah dan memperbaiki keadaan stres oksidatif (Rahal, 2014). Stres oksidatif terjadi akibat ketidakseimbangan antara produksi ROS dengan kemampuan antioksidan dalam tubuh. Stres oksidatif berkontribusi dalam patogenesis berbagai macam penyakit, termasuk penyakit kardiovaskuler yang meliputi organ jantung seperti cedera iskemia reperfusi, penyakit jantung iskemik kronik, kardiomiopati, gagal jantung kongestif, aritmia dan juga kelainan pembuluh darah seperti aterosklerosis (Taverne, 2013).

Salah satu antioksidan yang dikenal adalah Glutation (*L-γ-glutamyl-L-cysteinyl -glycine*; GSH) yang merupakan tripeptida pembawa grup thiol dan terlibat dalam sistem pertahanan antioksidan seluler (Abdalla,2011). Glutation berperan sebagai antioksidan yang bekerja secara langsung sebagai *scavenger* radikal bebas (termasuk ROS dan RNS), dan bekerja secara tidak langsung sebagai donor hidrogen reaksi enzimatik (Santo,2016). Fungsi antioksidan GSH secara langsung, terdapat pada bagian thiol redoks-aktif sistein yang akan teroksidasi menjadi GSSG apabila GSH mereduksi molekul seperti ROS atau radikal bebas lainnya (Ribas, 2014). Sedangkan mekanisme kerja secara tidak langsung atau melalui reaksi enzimatik, GSH berperan sebagai pendonor hidrogen untuk enzim glutation peroksidase (GPx) (Burton, 2010). Enzim GPx akan mengkatalisis H₂O₂ menjadi air dengan menggunakan GSH, dan sebagai reduktan dengan reaksi: ROOH + 2GSH → ROH + GSSG + H₂O (Santo, 2016)

Antioksidan juga terdapat pada berbagai senyawa yang berasal dari tumbuhan seperti: fenolik, flavonoid, vitamin C dan senyawa metabolit sekunder lainnya (Agustina, 2017). Salah satu tumbuhan tersebut adalah ficus atau ara yang telah menunjukkan peran signifikan sebagai antioksidan (Shad, 2014). Ekstrak daun ara (*Ficus auriculata*) menunjukkan kemampuan sebagai antioksidan, dimana hal tersebut berhubungan dengan tingginya kadar senyawa fenolik dan flavonoid yang terdapat pada daun ara. Tanaman ara juga telah dipercaya dan digunakan secara empirik dalam mengobati berbagai macam penyakit (Thingbaijam, 2012).

Pemberian antioksidan dari luar seperti yang berasal dari daun ara, akan membantu sistem pertahanan antioksidan yang ada di dalam tubuh seperti supeoksida dismutase, glutathion peroksidase, katalase dan glutathion tereduksi. Akan tetapi penelitian mengenai efek pemberian antioksidan eksogen ini masih kurang diketahui pengaruh dan mekanismenya. Sehingga tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari lebih dalam pengaruh dari pemberian ekstrak daun ara, yang potensial sebagai sumber antioksidan, terhadap kadar GSH pada organ jantung tikus *Sprague Dawley*, yang kemudian diberikan perlakuan spesifik berupa hipoksia sistemik kronik sehingga menginduksi keadaan stres oksidatif. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menunjukkan manfaat daun ara sebagai antioksidan yang berpotensi dalam mencegah atau menghambat berbagai penyakit yang diinduksi oleh stres oksidatif,

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* menggunakan hewan coba. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jakarta. Hewan coba yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba, Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Badan Litbangkes. Hewan coba tersebut adalah tikus *Sprague Dawley* jantan, berusia 8-12 minggu dengan berat badan sekitar 150 – 200 gram, dan dalam keadaan sehat. Studi ini juga telah mendapatkan surat identifikasi tanaman yaitu daun ara (*Ficus auriculata Lour*) dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia dengan nomor 1746/IPH.1.01/lf.07/VIII/2016. Persetujuan lolos kaji etik penelitian ini dengan nomor 111/KER/FK/I/2017 dari komisi etik Universitas Trisakti.

Jumlah tikus yang digunakan ditetapkan melalui rumus Federer, dengan jumlah perlakuan sebanyak 8 kelompok, sehingga diperoleh setiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus dan didapatkan jumlah total tikus yang digunakan sebanyak 32 ekor tikus. Tikus dibagi secara acak menjadi dua kelompok besar yaitu kelompok yang diberi ekstrak daun ara dosis kental (300 mg/kgBB) dan dosis encer (150 mg/kgBB). Setiap kelompok diberikan cekokan ekstrak daun ara selama 14 hari dengan frekuensi 2 kali sehari (volume pemberian 2 mL/hari) sebelum diberi perlakuan hipoksia. Cara pembuatan ekstrak daun ara diawali dengan mengeringkan daun ara dengan cara diangin-angin, tanpa terkena sinar matahari. Daun ara yang sudah kering dihaluskan hingga terbentuk bubuk simplisia. Simplisia kemudian dimaserasi dengan etanol selama 3x24 jam dan ditampung setiap 24 jam sekali. Hasil tampungan disaring dengan kertas saring Whatman no.1, kemudian diuapkan dengan menggunakan *Rotary Evaporator* hingga berbentuk seperti pasta dan siap untuk digunakan. Setelah diberikan cekokan ekstrak daun ara, dilanjutkan dengan perlakuan hipoksia.

Perlakuan hipoksia membagi tiap kelompok besar menjadi 4 subkelompok yang terdiri dari: satu kelompok kontrol atau normoksia dan tiga kelompok yang diberi perlakuan hipoksia dengan durasi waktu 1, 3, dan 7 hari. Setelah pencekokan ekstrak daun ara selesai, kelompok tikus yang diberi perlakuan hipoksia ditempatkan di dalam *hypoxic chamber* yang dihubungkan dengan tabung gas dengan kandungan 8% O₂ dan 92% N₂. Pada akhir perlakuan hipoksia, satu per satu tikus dikeluarkan dari *hypoxic chamber*, lalu secepatnya dilakukan anestesi dengan ketamin (75-100mg/kgBB) dan xylazin (5-10mg/kgBB) yang dilakukan di daerah intraperitoneal. Setelah dalam keadaan teranestesi dalam, dilakukan pembedahan untuk mengambil sampel jaringan jantung. Setelah jaringan jantung diambil, kemudian dilakukan penimbangan. Organ yang digunakan seberat 100mg ditambahkan 1mL fosfat buffer salin (PBS) 0,1 M pH 7,2, kemudian dilumatkan dengan *tissue grinder homogenizer* hingga terbentuk homogenat. Homogenat lalu disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 6000 rpm, untuk diambil bagian

supernatannya. Supernatan yang terbentuk diambil dan disimpan dalam tabung *microtube* baru, untuk dilakukan pemeriksaan kadar GSH dalam organ jantung.

Pengukuran kadar GSH jaringan jantung diawali dengan pembuatan larutan standar dengan menggunakan senyawa *5,5'-Dithiobis 2-Nitrobenzoic Acid* (DTNB), dimana reaksi antara DTNB dengan GSH menghasilkan senyawa berwarna kuning. Senyawa DTNB diambil sebanyak 4 mg kemudian dilarutkan dengan 2 mL dapar fosfat 0,1 M pH 8,0, sehingga didapatkan konsentrasi 2 mg/mL dan disebut sebagai larutan induk. Dari larutan induk, dipipetkan masing-masing sebanyak 0 μ L (blanko), 1 μ L, 2 μ L, 3 μ L 4 μ L, dan 5 μ L, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Selanjutnya ditambahkan larutan TCA 5% sebanyak 200 μ L untuk setiap tabung. Larutan dapar fosfat 0,1 M pH 8,0 ditambahkan ke setiap tabung hingga volume akhir mencapai 2000 μ L, kemudian 25 μ L DTNB dipipetkan untuk setiap tabung. Larutan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 1 jam. Absorbansi blanko dan standar dibaca menggunakan spektrofotometer Uv-vis pada panjang gelombang 412 nm. Setelah didapatkan data hasil percobaan, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi larutan standar (sumbu x) dan absorbansi (sumbu y), kemudian dicari persamaan garis linearnya.

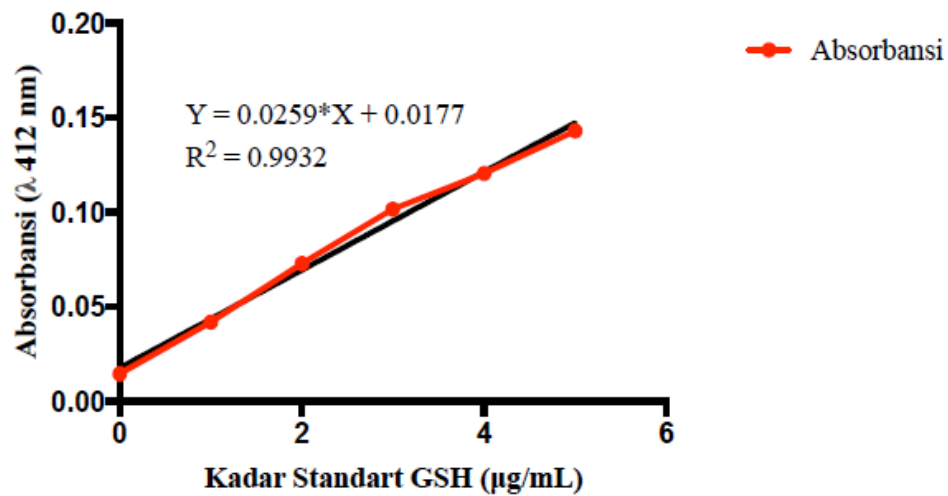
Untuk pemeriksaan GSH sampel, supernatan yang telah dipisahkan dari homogenat kemudian dipipetkan sebanyak 50 μ L ke dalam *microtube* baru, lalu ditambahkan *tricarboxylic acid* (TCA) 5% sebanyak 200 μ L. Setiap *microtube* kemudian divortex dan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Selanjutnya supernatan diambil dan dimasukan ke dalam *microtube* yang baru dan sudah dilabeli. Supernatan ditambahkan dapar fosfat 0,1 M pH 8.0 sebanyak 1.750 μ L dan DTNB sebanyak 25 μ L kemudian *microtube* di vortex dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruangan. Setelah 1 jam diinkubasi, dilakukan pengukuran absorbansi sampel dengan spektrofotometer Uv-vis pada panjang gelombang 412 nm. Nilai absorbansi (Y) digunakan untuk menghitung konsentrasi GSH (X) melalui persamaan garis linear yang didapatkan dari kurva standar GSH.

3. HASIL PENELITIAN

Penentuan kadar GSH sampel, diawali dengan pembuatan kurva standar. Kadar dan absorbansi standar GSH dapat dilihat pada Tabel 1. Dari data tersebut dibuat kurva standarnya dengan kadar sebagai sumbu X dan absorbansi sebagai sumbu Y, kemudian dicari persamaan garis linearnya. Gambar 1. menunjukkan bahwa persamaan garis linear kurva standar yang didapatkan adalah $Y = 0.0259 * X + 0.0177$ dengan nilai $R^2 = 0.9932$. Nilai R^2 atau koefisien determinasi berfungsi untuk menunjukkan tingkat kepercayaan dari analisis regresi linear, dengan angka yang berkisar dari 0 sampai 1, dimana semakin mendekati angka 1 maka analisis semakin terpercaya, dan persamaan kurva standar dapat digunakan. Persamaan garis kurva standar tersebut, digunakan untuk mencari kadar GSH tiap sampel jantung dari hewan coba.

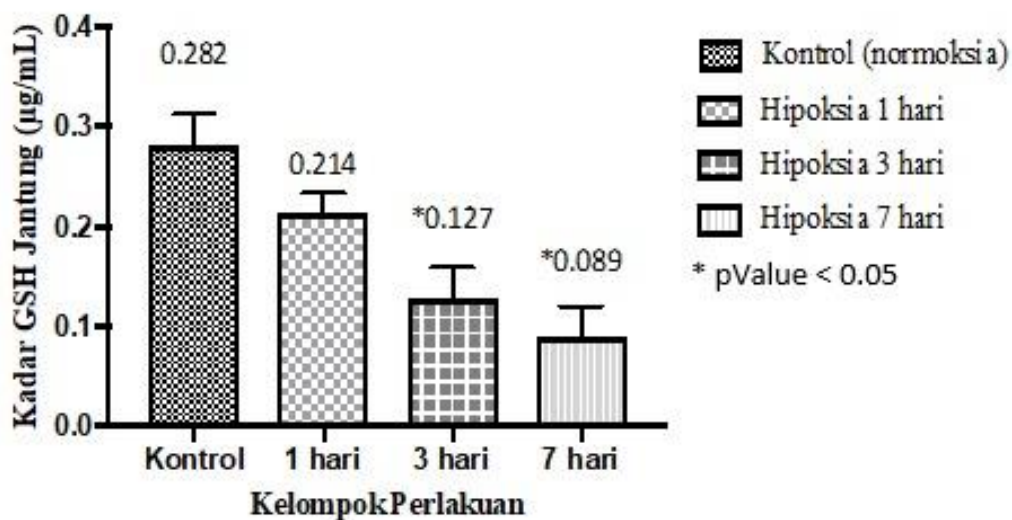
Tabel 1. Kadar dan absorbansi standar GSH

Kadar standar GSH (μ g/mL)	Absorbansi
0	0.0145
1	0.042
2	0.073
3	0.102
4	0.121
5	0.143



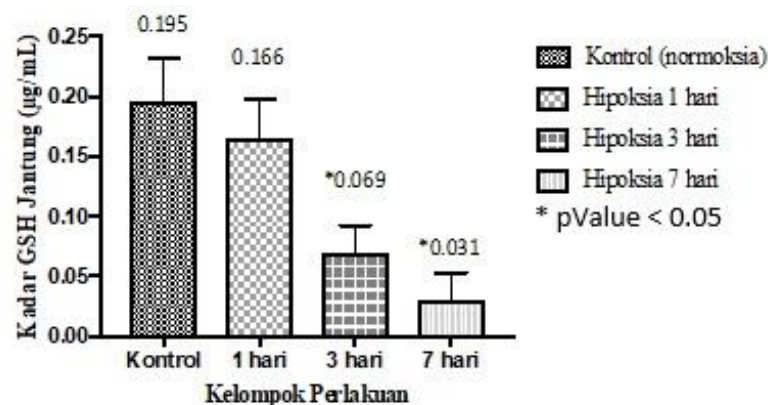
Gambar 1. Kurva Standar GSH

Kadar GSH jantung kelompok yang diberikan ekstrak daun ara dosis kental menunjukkan adanya penurunan kadar GSH sejalan dengan lamanya perlakuan hipoksia bila dibandingkan dengan kontrol. Uji statistik Mann-Whitney menunjukkan penurunan bermakna ($p < 0.05$) pada hipoksia 3 ($p=0.0286$) dan 7 hari ($p=0.0286$) bila dibandingkan dengan kontrol, sedangkan hipoksia 1 hari menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna ($p=0.0571$), seperti pada Gambar 2.



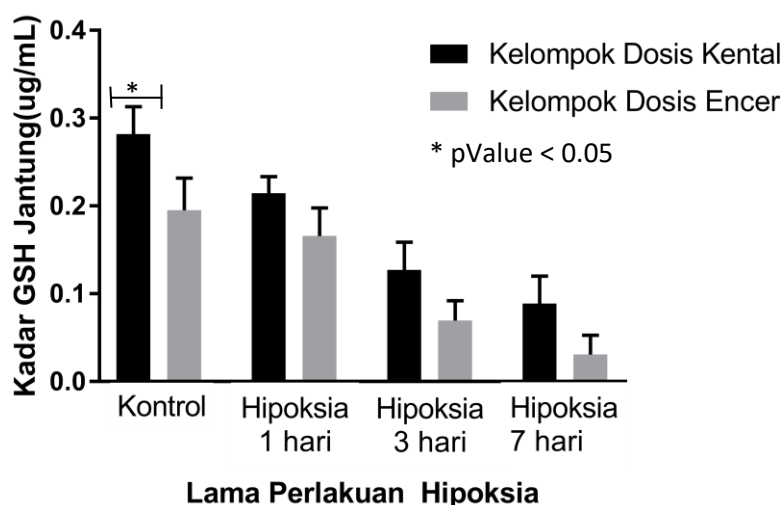
Gambar 2: Grafik Rata-Rata Kadar GSH Jantung (Dosis Kental)

Kadar GSH jantung kelompok yang diberikan ekstrak daun ara dosis encer menunjukkan adanya penurunan kadar GSH sejalan dengan lamanya perlakuan hipoksia bila dibandingkan dengan kontrol. Uji statistik Mann-Whitney menunjukkan penurunan bermakna ($p < 0.05$) pada hipoksia 3 ($p=0.0286$) dan 7 hari ($p=0.0286$) bila dibandingkan dengan kontrol, sedangkan hipoksia 1 hari menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna ($p=0.4857$), seperti pada Gambar 3.



Gambar 3: Grafik Rata-Rata Kadar GSH Jantung (Dosis Encer)

Kadar GSH jantung kelompok dosis kental dan dosis encer bila dibandingkan, memperlihatkan bahwa kadar GSH jantung dosis kental dan encer sama-sama mengalami penurunan. Uji statistik Mann-Whitney antara kelompok dosis kental dengan kelompok dosis encer menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada kelompok kontrol atau kelompok normoksia ($p=0.0286$), sedangkan pada kelompok lain tidak terdapat perbedaan bermakna. Grafik perbandingan kadar GSH jantung kelompok dosis kental dengan kelompok dosis encer selalu menunjukkan bahwa kelompok yang diberikan ekstrak daun ara dosis kental memiliki nilai GSH yang lebih tinggi dibandingkan dengan dosis encer, seperti Gambar 4.



Gambar 4: Grafik Perbandingan Rata-Rata Kadar GSH Jantung Dosis Kental dan Encer

4. PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar GSH jantung baik pada kelompok yang diberikan ekstrak daun ara dosis kental maupun yang diberikan dosis encer memiliki pola yang serupa, yakni terjadi penurunan kadar GSH pada kelompok perlakuan hipoksia 1, 3, dan 7 hari bila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan hipoksia sistemik kronik yang diberikan menyebabkan timbulnya radikal bebas dalam tubuh hewan coba. Peningkatan radikal bebas ini akan ditangani oleh antioksidan endogen yang merupakan *counter regulator* dalam menghadapi radikal bebas agar homeostasis dapat dipertahankan. Berbagai sistem antioksidan terlibat dalam menghadapi radikal bebas yang terbentuk akibat perlakuan hipoksia, seperti superoksida dismutase, glutation peroksidase, katalase dan glutation tereduksi (GSH). Glutacion tereduksi yang terdapat dalam tubuh hewan coba dapat bekerja secara langsung sebagai *scavenger* radikal bebas ataupun dapat berperan

sebagai pendonor hidrogen untuk enzim glutathion peroksidase, hal ini yang menyebabkan terjadinya penurunan kadar GSH sejalan dengan lamanya perlakuan hipoksia.

Penurunan kadar GSH yang bermakna (Mann-Whitney, $p < 0.05$) terjadi pada kelompok perlakuan hipoksia 3 dan 7 hari bila dibandingkan dengan kontrol baik pada kelompok yang diberikan ekstrak daun ara dosis kental maupun yang diberikan dosis encer. Hasil ini menunjukkan bahwa radikal bebas yang terbentuk akibat perlakuan hipoksia sistemik kronik satu hari masih dapat ditangani dengan baik oleh antioksidan endogen ataupun kerja sinergi antara antioksidan endogen dengan antioksidan eksogen, yang dalam penelitian ini berasal dari metabolit sekunder ekstrak daun ara. Dengan bertambah lamanya waktu perlakuan hipoksia yang diberikan, maka radikal bebas yang terbentuk semakin banyak dan sistem antioksidan tubuh semakin sulit untuk mengatasinya walaupun sudah diberikan antioksidan dari luar, hal ini terlihat dari penurunan kadar GSH yang bermakna antara kelompok perlakuan hipoksia 3 dan 7 hari dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Penurunan kadar GSH yang didapatkan dari hasil penelitian sejalan dengan penelitian Samarghandian (2016) yang menyatakan bahwa penurunan kadar GSH menunjukkan adanya peran penting dari GSH sebagai antioksidan dalam melawan stres oksidatif. Ada indikasi bahwa mekanisme pertahanan antioksidan enzimatik tubuh dalam melawan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang dapat merusak jaringan, dimediasi terutama oleh sistem GSH. Glutathion berperan sebagai kofaktor dari enzim glutathion peroksidase (GPx) yang merupakan bagian mekanisme pertahanan antioksidan sel. Selain itu, GSH sebagai senyawa tiol, juga memiliki kapasitas sebagai antioksidan dengan mereduksi H_2O_2 dan peroksida organik selama peroksidasi lipid dengan teroksidasi menjadi GSSG. Pada keadaan fisiologis, glutathion berada dalam bentuk tereduksi (GSH), namun dapat teroksidasi menjadi GSSG saat terpajan radikal bebas, sehingga diperlukan aktivitas enzim glutathion reduktase (GR) agar kembali menjadi bentuk tereduksi (GSH). Siklus redoks enzim GPx dan GR bertanggung jawab dalam mempertahankan konsentrasi GSH. Perubahan aktivitas pada GPx dan GR dapat mempengaruhi kadar GSH, terutama pada keadaan stres oksidatif.

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan bermakna (Mann-Whitney, $p < 0.05$) antara kelompok kontrol yang diberikan ekstrak daun ara dosis kental bila dibandingkan dengan kelompok kontrol yang diberikan ekstrak daun ara dosis encer. Dalam kondisi fisiologis, radikal bebas selalu terbentuk akibat reduksi tidak sempurna oksigen dalam mitokondria, selain itu radikal bebas juga diperlukan untuk transduksi sinyal maupun sistem pertahanan tubuh. Radikal-radikal bebas yang terbentuk ini akan diredam oleh sistem antioksidan, baik antioksidan endogen maupun eksogen. Peranan antioksidan eksogen terlihat dari perbedaan bermakna kelompok kontrol yang diberikan dosis kental, dimana jumlah antioksidan dalam tubuh hewan coba kelompok ini lebih banyak, sehingga penggunaan GSH lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol yang diberikan dosis encer. Pada kelompok perlakuan hipoksia tidak ditemukan perbedaan bermakna (Mann-Whitney, $p < 0.05$) antara kelompok yang diberikan dosis kental dengan yang diberikan dosis encer, akan tetapi pola penurunannya selalu terlihat bahwa kadar GSH dosis kental pada perlakuan hipoksia 1, 3, dan 7 hari selalu lebih tinggi bila dibandingkan kelompok dosis encer. Hal ini juga menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun ara yang diberikan dapat membantu kerja GSH dalam menghadapi radikal bebas yang terbentuk akibat paparan hipoksia. Menurut Jaouad Bouayed et al (2010), senyawa metabolit sekunder seperti polifenol yang terdiri dari fenolik dan flavonoid sangat efisien dalam melawan stres oksidatif di tingkat jaringan dan dapat mencegah kematian sel. Flavonoid secara khusus memiliki kemampuan untuk melawan H_2O_2 yang dapat menginduksi kematian sel. Pemberian flavonoid kemungkinan membantu antioksidan endogen seperti GPx dan membuat kadar GSH bebas meningkat. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa dosis pemberian ekstrak daun ara, akan mempengaruhi efek antioksidan dalam tubuh.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dosis kental dan dosis encer, serta trend yang menunjukkan penurunan kadar GSH yang lebih besar pada kelompok dosis encer dengan perlakuan hipoksia bila dibandingkan dengan kelompok sosis kental dengan perlakuan hipoksia. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun ara dapat membantu kerja antioksidan endogen khususnya glutation (GSH) dalam menghadapi radikal bebas yang terbentuk akibat paparan hipoksia sistemik kronik, dan kerjanya dipengaruhi dosis pemberian ekstrak.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak daun ara dalam membantu melawan stres oksidatif pada antioksidan endogen lain seperti katalase dan SOD yang merupakan proses berkesinambungan. Juga diperlukan penelitian lebih jauh mengenai jumlah dosis efektif yang diberikan.

REFERENSI

- Abdalla, MY. (2011). Glutathione as potential target for cancer therapy more or less is good? (mini review). *Jordan Journal of Biological Sciences*, 4(3), 119-124.
- Agustina, W. Nurhamidah. & Handayani, D. (2017). Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan beberapa fraksi dari kulit batang jarak. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 1(2), 117-122.
- Bouayed, J. & Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants—double-edged swords in cellular redox state. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(4), 228-237.
- Burton, GJ. & Jauniaux, E. (2011). Oxidative stress. *Elsevier*, 25(2011), 287-299.
- Carreau, A. Hafny-Rahbi, BE. Matejuk, A. Grillon, C. & Kieda, C. (2011). Why is the partial oxygen pressure of human tissues a crucial parameter? small molecules and hypoxia. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 15(6), 1239-1253.
- MacIntyre, NR. (2014). Tissue hypoxia: implications for the respiratory clinician. *American Association of Respiratory Care*, 59(10), 1590-1596.
- Meneses, AM. & Wielockx, B. (2016). PHD2: from hypoxia regulation to disease progression. *Dove Medical Press*. 4, 53-67.
- Ozcan, A. & Ogun, M. (2015). Biochemistry of reactive oxygen and nitrogen species. In: Joghi S, editors. Basic principles and clinical significance of oxidative stress. In Tech, Rijeka.
- Rahal, A. Kumar, A. Singh, V. Yadav, B. Tiwari, R. Chakraborty, S. & Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed Research International*, 2014, 1-19.
- Ribas, V. Garcia-Ruiz, C. & Fernandez-Checa, JC. (2014). Glutathione and mitochondria. *Frontiers in Pharmacology*, 5(151), 65-83.
- Samarghandian, S. Farkhondeh, T, Samini, F. & Borji, A. (2016). Protective Effects of Carvacrol against Oxidative Stress Induced by Chronic Stress in Rat's Brain, Liver, and Kidney. *Biochemistry Research International*, 2017, 1-7.
- Santo, A. Zhu, H. & Li, YR. (2016). Free Radicals: From Health to Disease. *Cell Med Press*, 2(4), 245-263.
- Shad, AA. Ahmad, S. Ullah, R. AbdEl-Salam, NM. Fouad, H. Rehman, NU. Hussain, H. & Saeed, W. (2014). Phytochemical and biological activities of four wild medicinal plants. *The Scientific World Journal*, 2014, 1-7.
- Taverne, YJ. Boger, AJ. Duncker, DJ. & Merkus, D. (2013). Reactive oxygen species and the cardiovascular system. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 1-15.
- Thingbaijam, R. Dutta, BK. & Paul, SB. (2012). In vitro antioxidant capacity, estimation of total phenolic and flavonoid content of *Ficus auriculata* lour. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(4), 518-521.