

## Efek perlindungan ekstrak buah maja (*Aegle marmelos*) pada paru tikus *Sprague dawley* terhadap stres oksidatif yang diinduksi hipoksia sistemik kronik

David Limanan<sup>1,\*</sup>, Natasha Olivia Christian<sup>2</sup>, Erics Efrany<sup>2</sup>, Clareta Vero Patricia Widya<sup>1</sup>, Ngestinuari Salim<sup>2</sup>, Jessica Geselda Salim<sup>2</sup>, Rizky Putri Agustina<sup>2</sup>, Eny Yulianti<sup>1</sup>, Frans Ferdinal<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jakarta, Indonesia

<sup>2</sup> Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jakarta, Indonesia

\*korespondensi email: davidl@fk.untar.ac.id

### ABSTRAK

Paru-paru merupakan organ yang terpapar dengan berbagai macam zat yang dapat berpotensi memicu oksidan berlebihan dan menyebabkan stres oksidatif yang berujung timbulnya berbagai macam kelainan paru. Salah satu marker yang umum diperiksa bila terjadi oksidan berlebihan adalah malondialdehid (MDA). Untuk mengatasi oksidan yang berlebihan tubuh memiliki sistem antioksidan seperti GSH dan enzim katalase. Untuk membantu kerja antioksidan endogen, dapat diberikan antioksidan dari luar, seperti tanaman maja yang kaya akan fenolik dan flavonoid yang diketahui memiliki kemampuan antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui dan memahami potensi buah maja sebagai antioksidan dengan model hewan coba yang diinduksi hipoksia sistemik sebagai sumber ROS. Penelitian ini merupakan eksperimental *in vivo*, menggunakan hewan percobaan tikus *Sprague Dawley* jantan yang dibagi dalam 8 kelompok (n=4), dan dibagi menjadi 2 group (dicekok ekstrak etanol buah maja (400mg/KgBB/hr, 14 hari) dan tidak dicekok). Tiap group dibagi menjadi 4 sub group (normoksia, hipoksia (O<sub>2</sub> 8%, N<sub>2</sub> 92%) selama 3, 7 dan 14 hari). Pada akhir masa percobaan, darah hewan coba diperiksa kadar malondialdehid (metode Wills ED), kadar glutation (metode Ellman), dan aktivitas spesifik katalase (metode Mates). Hasil penelitian menunjukkan terjadinya peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar GSH serta aktivitas spesifik katalase pada kelompok hipoksia bila dibandingkan normoksia. Akan tetapi peningkatan MDA lebih rendah pada kelompok yang dicekok ekstrak buah maja bila dibandingkan yang tidak dicekok. Hal serupa terlihat pada GSH dan aktivitas spesifik katalase dimana kadarnya lebih tinggi pada kelompok yang dicekok ekstrak buah maja. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak buah maja memiliki kemampuan antioksidan.

**Kata kunci:** Hipoksia, malondialdehid, antioksidan dan buah maja

### PENDAHULUAN

Paru-paru merupakan jaringan yang terpapar langsung dengan oksigen (O<sub>2</sub>) yang masuk, selain itu sel alveolar tipe 1 sangat mudah mengalami kerusakan.<sup>1</sup> Pada keadaan fisiologis, paru-paru dapat terpapar oleh lebih dari 8000 zat dari udara yang dihirup setiap hari seperti oksigen, patogen, polutan ataupun

alergen yang semuanya berpotensi untuk memicu terbentuknya oksidan berlebih pada paru-paru dan menyebabkan stres oksidatif.<sup>2</sup> Salah satu penyebab stres oksidatif pada paru-paru adalah terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS) atau *reactive nitrogen species* (RNS) yang dihasilkan oleh tubuh.<sup>3</sup> Berbagai penyakit yang dapat dilatar belakangi akibat terjadinya stress

oksidatif antara lain seperti hipertensi pulmonal, *chronic obstructive pulmonary disease* (COPD), atau emfisema dan lain-lain. Terbentuknya ROS didalam tubuh, dapat disebabkan oleh proses fisiologis, hipoksia maupun hiperoksia. *Reactive oxygen species* dapat memicu terjadinya kerusakan pada biomolekul seperti protein, karbohidrat, asam nukleat dan lipid.<sup>4,5</sup> Salah satu biomarker stres oksidatif yang paling sering digunakan adalah *malondialdehyde* (MDA) yang merupakan marker kerusakan lipid karena radikal bebas seperti ROS.<sup>6</sup> Untuk mencegah efek oksidan yang berbahaya terhadap sel, tubuh mempunyai sistem mekanisme pertahanan yaitu antioksidan. Antioksidan dapat dibagi menjadi 2 golongan, yakni endogen (enzimatik dan non-enzimatik) dan eksogen.<sup>7</sup> Salah satu antioksidan endogen enzimatik yang diproduksi didalam tubuh adalah katalase (EC 1.11.1.6), yang mengkatalis reaksi dekomposisi hidrogen peroksida. Antioksidan endogen non-enzimatik contohnya glutathion (GSH), yang ditemukan hampir di semua sel, berfungsi dalam metabolisme, transportasi, dan perlindungan sel dalam melawan ROS. Antioksidan eksogen didapat dari luar tubuh, seperti asam askorbat (vitamin C),  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E), carotenoid, fenolik, dan metabolit sekunder lainnya, yang terdapat dalam buah (contoh, buah

maja) dan sayuran.<sup>8,9</sup> Buah maja (*Aegle marmelos*) tumbuh luas di beberapa wilayah seperti Indonesia, India, Sri Lanka, Malaysia, dan Vietnam dan digunakan sebagai obat tradisional. *Aegle marmelos* diketahui memiliki metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, sterol, tannin, flobatanin, dan flavonoid glikosida.<sup>10</sup> Beberapa metabolit sekunder diperkirakan memiliki kemampuan antioksidan. Melihat banyaknya metabolit sekunder buah maja (*Aegle marmelos*) yang berpotensi sebagai antioksidan yang dapat menghambat terbentuknya radikal bebas dan mampu mencegah timbulnya kelainan pada paru, mendorong penulis untuk melakukan penelitian mengenai efek buah maja terhadap marker stres oksidatif dan antioksidan pada paru tikus akibat kondisi hipoksia sistemik kronik.

## METODE PENELITIAN

Desain penelitian ini merupakan eksperimental *in vivo*, terhadap hewan coba tikus *Sprague Dawley* jantan yang dilakukan di laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara. Hewan coba dibagi dalam 8 kelompok (n=4). Kelompok 1 (P1) adalah kelompok tikus yang tidak diberi cekokan ekstrak buah maja dan tidak dihipoksia. Tiga kelompok

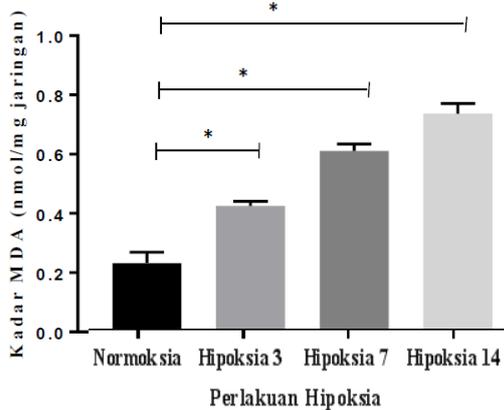
berikutnya (P2-P4), adalah kelompok tikus yang tidak diberi cekokan ekstrak buah maja tetapi dihipoksia 3, 7 dan 14 hari. Kelompok 5 (P5) adalah kelompok tikus yang diberi cekokan ekstrak buah maja tapi tidak dihipoksia. Tiga kelompok berikutnya (P6-P8) adalah kelompok tikus yang diberi cekokan ekstrak buah maja serta dihipoksia 3, 7 dan 14 hari. Penelitian ini telah mendapatkan keterangan lolos kaji etik (*ethical approval*) dari Komite Etik Riset Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti dengan nomor 124/KER/FK/XII/2017. Buah maja yang didapatkan dari taman buah mekarsari, dibuat simplisia dan dimaserasi dengan menggunakan etanol, yang kemudian dievaporasi hingga mendapatkan ekstrak kental yang akan dicekokan pada hewan coba dengan dosis 400mg/KgBB/hr yang terbagi dalam dua dosis perhari selama 14 hari. Setelah masa pencekokan berakhir dilakukan hipoksia menggunakan *hypoxic chamber* dengan komposisi gas 8% oksigen (O<sub>2</sub>) dan 92% nitrogen (N<sub>2</sub>). Pada akhir masa percobaan, dilakukan pembedahan terhadap hewan coba untuk mengambil organ parunya. Dari organ paru yang telah didapat dilakukan pemeriksaan kadar malondialdehid (metode Wills ED), kadar glutation (metode Ellman), dan aktivitas spesifik katalase (metode Mates). Hasil yang didapat diolah secara statistik

dengan GraphPad Prism v.7.0 la jolla, CA, USA dengan uji *Mann Whitney*. Variabel yang dianalisis dianggap bermakna apabila  $p < 0,05$ .

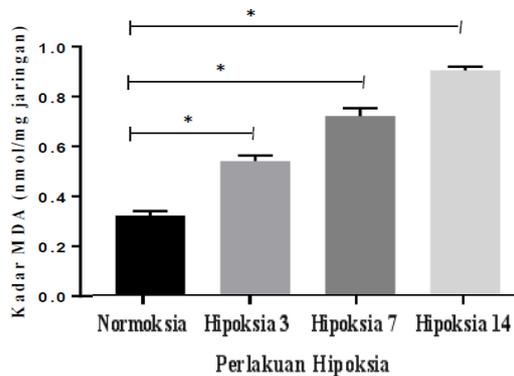
## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan kadar MDA pada jaringan paru hewan coba menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA yang bermakna (mann whitney,  $p < 0,05$ ) pada kelompok hipoksia bila dibandingkan kontrol sejalan dengan semakin lamanya perlakuan hipoksia, baik pada kelompok yang dicekok ekstrak buah maja (Gambar 1) maupun yang tidak (Gambar 2). Hal ini sejalan dengan penelitian Ho et al<sup>11</sup> yang menyatakan tingginya ROS yang bersifat prooksidan, dapat secara langsung merusak lipid pada membran sel, menginisiasi proses peroksidasi lipid membran sel yang bersifat asam lemak tak jenuh menjadi senyawa aldehyd. Akumulasi ROS ini dapat menyebabkan peningkatan jumlah lipid yang dioksidasi, sehingga kadar MDA semakin meningkat seiring lamanya hipoksia. Pada kelompok yang diberikan cekokan ekstrak buah maja terlihat bahwa kadar MDA lebih rendah dibandingkan yang tidak dicekok, hal ini menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak buah maja mampu menekan laju

pembentukan radikal bebas. Hal ini sejalan dengan penelitian Marwan et.al<sup>12</sup> yang menunjukkan bahwa kadar MDA pada kelompok tikus yang diberi ekstrak tanaman lebih rendah dibanding yang tidak diberikan.



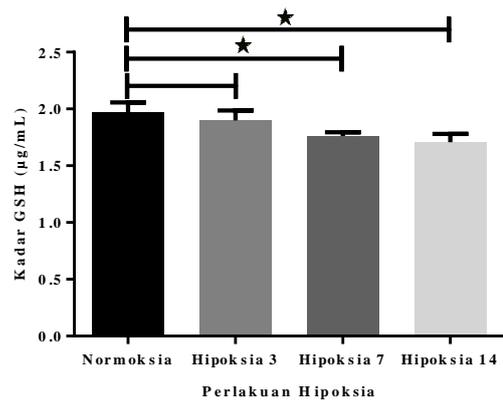
Gambar 1. Kadar MDA kelompok dicekok ekstrak buah maja



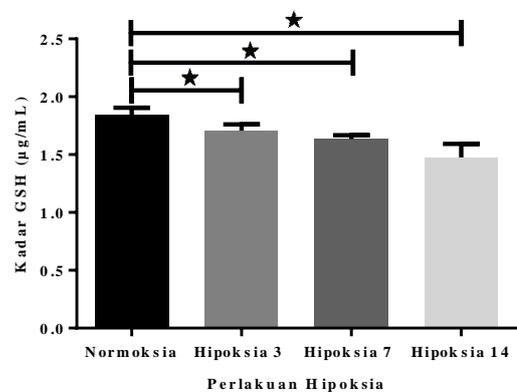
Gambar 2. Kadar MDA kelompok tidak dicekok ekstrak buah maja

Hasil pemeriksaan kadar GSH (Gambar 3 dan Gambar 4) dan aktivitas spesifik katalase (Gambar 5 dan Gambar 6) menunjukkan adanya penurunan bermakna (mann whitney,  $p < 0.05$ ) baik pada kelompok yang dicekok maupun tidak dicekok, hal ini menunjukkan bahwa antioksidan endogen bekerja melawan

radikal bebas yang terbentuk selama terjadinya pemaparan hipoksia. Dengan semakin lamanya perlakuan hipoksia maka radikal bebas yang terbentuk akan meningkat dan kadar antioksidan akan semakin menurun untuk mengatasi kondisi tersebut. Hal ini sejalan dengan penelitian Cao. et al<sup>13</sup> yang menyatakan bahwa hipoksia akan menyebabkan peningkatan dari radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh akan digunakan sebagai untuk mengkompensasi terhadap keadaan tersebut sehingga terjadi penurunan kadar antioksidan.

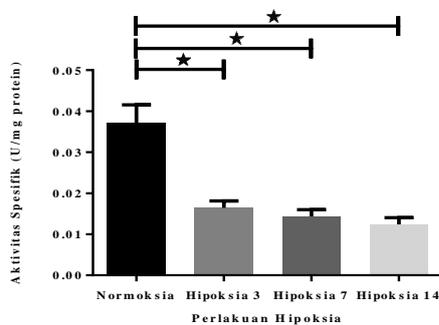


Gambar 3. Kadar GSH kelompok dicekok ekstrak buah maja

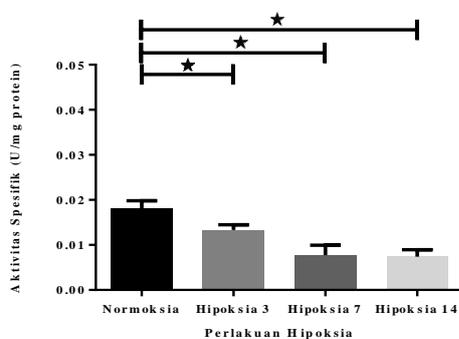


Gambar 4. Kadar GSH kelompok tidak dicekok ekstrak buah maja

Hasil penelitian menunjukkan terjadinya penurunan antioksidan, akan tetapi jumlah antioksidan pada kelompok yang dicekok ekstrak buah maja lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok yang tidak dicekok. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah maja dapat membantu antioksidan endogen dalam mengeliminasi radikal bebas yang terbentuk selama perlakuan hipoksia. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bouayed et al<sup>14</sup>, yang menyatakan bahwa penambahan antioksidan eksogen dapat membantu mekanisme antioksidan endogen dalam mempertahankan keseimbangan antara prooksidan – antioksidan.



**Gambar 5. Aktivitas Spesifik Katalase kelompok dicekok ekstrak buah maja**



**Gambar 6. Aktivitas Spesifik Katalase kelompok tidak dicekok ekstrak buah maja**

## KESIMPULAN

Pada proses hipoksia terjadi peningkatan radikal bebas yang akan mengoksidasi lipid sehingga didapatkan MDA yang meningkat, dan penurunan antioksidan sebagai kompensasi untuk mengatasi hal tersebut. Pemberian ekstrak buah maja mampu membantu tubuh dalam menghadapi radikal bebas, dimana ekstrak buah maja memiliki metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antioksidan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Gutteridge JMC, Halliwell B. Free Radicals in Biology and Medicine. 4th ed. New York: Oxford University Press Inc.; 2007.
2. Bialas AJ, Sitarek P, Milkowska-Dyamnowska J, Piotrowski WJ, Górski P. The Role of Mitochondria and Oxidative/Antioxidative Imbalance in Pathobiology of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016; 2016.
3. Villamena FA. Chemistry of Reactive Species. In: Villamena FA, editor. *Molecular Basis of Oxidative Stress*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc; 2013.
4. Espinosa-Diez et al. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress (Review article). *Redox Biology* 6; 2015: 183–97.
5. Birben et al. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J*. 2012; 5(1): 9–19. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3488923/9-11>
6. Khoubnasabjafari et al. Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in psychological disorders. *Bioimpacts*. 2015; 5(3): 123–127. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4597159/>

7. Kabel, Ahmed M. Free radicals and antioxidants: role of enzymes and nutrition. *World Journal of Nutrition and Health*, 2014; 2(3): 35-38. Available from: <http://pubs.sciepub.com/jnh/2/3/2>
8. Nimse S, Pal D. Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanism. 2015. Available from: <http://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2015/ra/c4ra13315c>
9. Vanitha R, Sahana N, Asna U. Antioxidant Activity of *Aegle marmelos* and *Psidium guajava* Leaves. *Int. J. Med. Arom. Plants*. 2012;2(1): 155-160.
10. Charoensiddhi S, Anprung P. Bioactive Compounds and Volatile Compounds of Thai Bael Fruit (*Aegle marmelos* (L.) Correa) as a Valuable Source for Functional Food Ingredients. *International Food Research Journal*. 2008;15(3): 287-295.
11. Ho E, Galougahi K, Liu C, Bhindi R, Figtree G. Biological markers of oxidative stress: Application to cardiovascular research and practice. *Redox Biology*. 2013;1:483-91
12. Marwan, Widjajanto E, Karyono S. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Kadar GSH, MDA, Jumlah Serta Fungsi Sel Makrofag Alveolar Paru Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok Kronis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2005; 21(3).
13. Cao C; Leng Y; Lui X; Yi Y; Li P; Kufe D. Catalase Is Regulated by Ubiquitination and Proteosomal Degradation. Role of the c-Abl and Arg Tyrosine Kinases. *Biochemistry*. 2003; 42(35): 10348-53.
14. Bouayed J, Bohn T. Exogenous Antioxidants—Double-Edged Swords in Cellular Redox State: Health Beneficial Effects at Physiologic Doses versus Deleterious Effects at High Doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2010; 3(4).