

## Pengaruh pemberian ekstrak daun Berenuk (*Crescentia cujete*) terhadap aktivitas spesifik katalase darah dan hati tikus *Sprague dawley* yang diinduksi hipoksia

Jessica Englo<sup>1</sup>, Oentarini Tjandra<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jakarta, Indonesia

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

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

### ABSTRAK

Berenuk (*Crescentia cujete*) merupakan tanaman yang tumbuh di Indonesia dan telah digunakan sebagai obat sakit kepala, diuretik, serta menyembuhkan luka. Hal ini mungkin karena efek antioksidannya sebagai penangkal pengaruh buruk radikal bebas yang dapat menimbulkan berbagai macam penyakit. Tujuan studi ini untuk mengetahui kandungan dan kadar antioksidan ekstrak etanol daun berenuk serta pengaruhnya terhadap aktivitas spesifik enzim katalase darah dan hati tikus *Sprague dawley* yang diinduksi hipoksia. Studi ini merupakan studi eksperimental dengan uji *in vitro* dan *in vivo*. Studi dilakukan dalam 2 kelompok (cekok dan kontrol), dengan 4 perlakuan yaitu normoksia, hipoksia 3 hari, 7 hari dan 14 hari. Parameter yang diukur adalah aktivitas spesifik katalase hati dan darah tikus. Data diolah dengan *GraphPad Prism v7.01*, uji Mann-Whitney dan uji korelasi Pearson. Hasil didapatkan aktivitas spesifik katalase hati dan darah semakin menurun seiring dengan lamanya hipoksia dan berkorelasi sangat kuat (cekok  $r=0.9939$ ; kontrol  $r=0.9918$ ) baik pada tikus cekok maupun kontrol. Aktivitas spesifik katalase darah dan hati kelompok tikus cekok lebih tinggi dibandingkan kontrol.

**Kata kunci:** daun Berenuk, *Crescentia cujete*, hipoksia, katalase hati, katalase darah

### PENDAHULUAN

Oksigen merupakan salah satu elemen penting yang dibutuhkan tubuh manusia untuk melakukan berbagai fungsi antara lain pemebntukan ATP di dalam sel.<sup>1</sup> Hipoksia terjadi karena insufisiensi oksigen dan dapat meningkatkan senyawa *reactive oxygen species* (ROS). ROS merupakan spesies molekular yang mengandung electron yang tidak berpasangan dalam orbital atom.<sup>2</sup> Stres oksidatif terjadi ketika produksi radikal bebas dan pertahanan antioksidan tidak

seimbang.<sup>2,3</sup> Hal ini menyebabkan kerusakan protein, molekul dan gen di dalam tubuh. Pembentukan radikal bebas terjadi secara terus menerus di dalam sel sebagai hasil dari reaksi enzimatik dan non enzimatik. Konsentrasi intraseluler ROS dipengaruhi oleh produksi antioksidan. Di dalam tubuh manusia memiliki beberapa mekanisme pertahanan dan pencegahan terhadap stress oksidatif dengan memproduksi antioksidan.<sup>4,5</sup> Sumber antioksidan dapat

diproduksi oleh tubuh manusia sendiri atau bisa didapat dari luar tubuh seperti dari suplai makanan ataupun suplemen. Antioksidan endogen di dalam tubuh manusia antara lain katalase. Katalase adalah enzim yang mengkatalisis hidrogen peroksida menjadi molekul oksigen dan molekul air. Konsentrasi enzim katalase tertinggi terdapat pada organ hati.<sup>2</sup>

Salah satu sumber antioksidan eksogen bisa didapatkan dari ekstrak daun berenuk. Daun berenuk (*Crescentia cujete*) banyak tumbuh di Indonesia dan telah digunakan oleh banyak suku untuk mengobati berbagai macam jenis penyakit secara tradisional.<sup>6,7</sup> Daun ini dapat menyembuhkan luka dan bubuknya dapat digunakan sebagai obat sakit kepala, diuretik, dan pengobatan hematoma dan tumor. Selain itu daun dan kulit berenuk juga memiliki aktivitas anti inflamasi dan antibakteri yang memiliki potensi terapeutik terhadap infeksi bakteri.<sup>8</sup> Penggunaan daun berenuk (*Crescentia cujete*) dalam pengobatan kemungkinan juga ada hubungannya dengan aktivitas antioksidannya.<sup>9,10</sup> Namun, studi mengenai pengaruhnya terhadap stres oksidatif masih sedikit. Maka, studi ini akan mengukur kadar antioksidan ekstrak daun berenuk dan pengaruhnya terhadap aktivitas spesifik enzim katalase pada organ hati tikus yang

diinduksi hipoksia dalam waktu 3, 7, dan 14 hari.

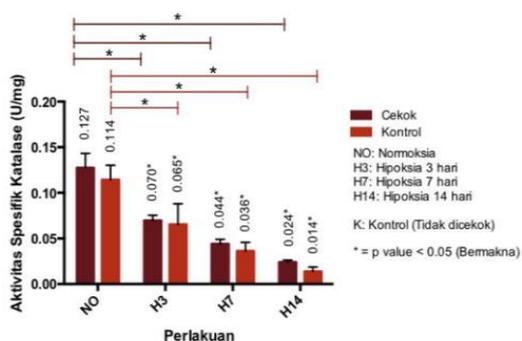
## METODE PENELITIAN

Studi ini bersifat eksperimental *in vivo* terhadap 32 ekor hewan coba tikus *Sprague Dawley* jantan berumur 10-12 minggu dengan berat badan 180-300 gram. Studi ini telah mendapatkan surat identifikasi tanaman yang diuji (*Ficus auriculata Lour*) dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia dengan nomor 1986/IPH.1.01/lf.07/VIII/2016 dan persetujuan lolos kaji etik dengan nomor 125/KER/FK/XII/2017.

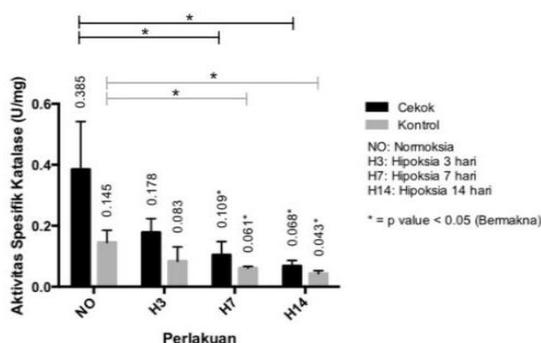
Hewan coba dibagi dalam 2 kelompok yaitu kelompok cekok dan kontrol dengan masing-masing kelompok terdapat 4 perlakuan yaitu normoksia (NO), hipoksia 3 hari (H3), hipoksia 7 hari (H7) dan hipoksia 14 hari (H14). Pembagian ini didapatkan menggunakan rumus Federer dengan masing-masing kelompok terdapat 4 ekor tikus. Tikus kelompok cekok dan control yang diinduksi hipoksia dengan komposisi udara oksigen 8% dan nitrogen 92%. Setelah perlakuan, tikus dianestesi dan diambil bahan dan organ yang diperlukan yaitu darah EDTA dan hati dan dibuat sampel uji. Sampel uji dilakukan pengukuran aktivitas spesifik katalase.

## HASIL PENELITIAN

Aktivitas spesifik katalase darah pada kelompok cekok normoksia memiliki hasilnya tertinggi sebesar 0.127 U/ml dan pada kelompok kontrol memiliki hasil terendah sebesar 0.014 U/ml. (Gambar 1) Aktivitas spesifik katalase hati pada kelompok cekok normoksia memiliki hasilnya tertinggi sebesar 0.379 U/ml dan pada kelompok kontrol memiliki hasil terendah sebesar 0.061 U/ml. (Gambar 2) Terjadi penurunan aktivitas spesifik katalase darah dan hati seiring dengan lamanya perlakuan hipoksia. Namun, pada kelompok cekok aktivitas spesifik katalase darah dan hati lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol.

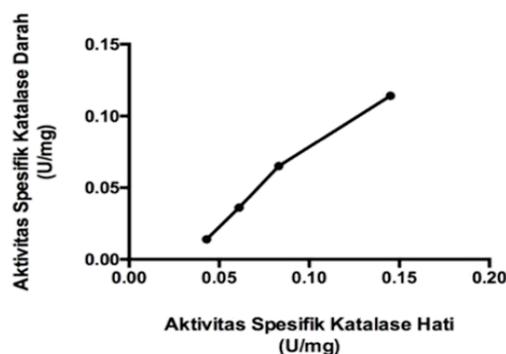


Gambar 1. Aktivitas spesifik katalase darah kelompok cekok dan kontrol

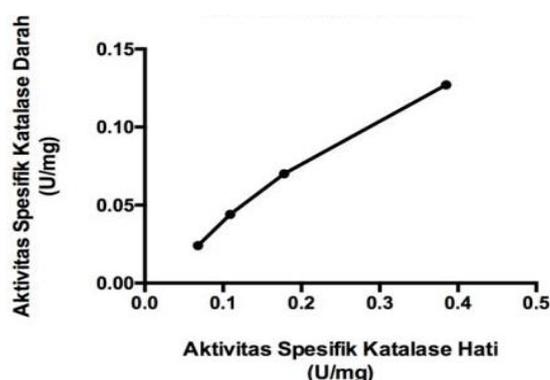


Gambar 2. Aktivitas spesifik katalase hati kelompok cekok dan kontrol

Aktivitas spesifik katalase darah dan hati kelompok cekok pada uji korelasi Pearson menunjukkan adanya korelasi yang sangat kuat, terlihat adanya peningkatan nilai Y sejalan dengan peningkatan nilai X,  $r = 0.9939$ . Hal yang sama juga terjadi pada kelompok kontrol dengan nilai  $r = 0.9918$ . (Gambar 3 dan 4) Hal ini menunjukkan aktivitas spesifik katalase hati berkorelasi sangat kuat dengan darah tikus baik pada tikus cekok maupun tikus kontrol ( $r = 0.80-1.0$ ).



Gambar 3. Kurva korelasi aktivitas spesifik katalase darah dan hati kelompok kontrol



Gambar 4. Kurva korelasi aktivitas spesifik katalase darah dan hati kelompok cekok

## PEMBAHASAN

Uji aktivitas spesifik katalase pada darah kelompok cekok maupun kontrol menunjukkan hasil kelompok perlakuan normoksia (NO) memiliki aktivitas tertinggi dan kelompok hipoksia 14 hari (H14) memiliki aktivitas terendah. Hal ini disebabkan oleh peningkatan ROS yang terus menerus terbentuk seiring dengan lamanya perlakuan hipoksia. Pada awalnya, katalase (antioksidan endogen) akan semakin meningkat seiring dengan peningkatan ROS tetapi jika ROS terus meningkat dengan sangat cepat, lama kelamaan katalase tidak lagi mampu menguraikan hidrogen peroksida yang terbentuk, sehingga aktivitasnya menurun. Hasil ini sesuai dengan studi yang dilakukan Rauchova et al.<sup>11</sup> Aktivitas spesifik katalase darah tikus kelompok cekok lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol (Gambar 1). Hal ini terjadi karena kelompok tikus cekok mendapatkan antioksidan eksogen (ekstrak daun berenuk) yang berperan dalam membantu mengompensasi ROS yang diproduksi akibat perlakuan hipoksia.

Uji aktivitas spesifik katalase pada hati tikus cekok maupun kontrol menunjukkan aktivitas yang semakin menurun dari kelompok normoksia (NO C/K) hingga kelompok hipoksia 14 hari

(H14 C/K). Hal ini terjadi karena perlakuan hipoksia dapat meningkatkan stres oksidatif, ketika hipoksia berkepanjangan dan berulang maka terjadi peningkatan produksi hydrogen peroksida yang dapat menimbulkan kerusakan jaringan hati sehingga hati tidak lagi dapat memproduksi katalase untuk menangkal ROS. Penurunan produksi katalase oleh hati berdampak terhadap penurunan aktivitas spesifik katalase yang terjadi pada kelompok perlakuan hipoksia berkepanjangan. Hasil ini sebanding dengan hasil studi Zainuri et al.<sup>12</sup> Pada kelompok tikus cekok, aktivitas spesifik katalase hatinya lebih tinggi dibandingkan tikus kontrol. (Gambar 2) Hal ini karena kelompok tikus cekok mendapatkan antioksidan eksogen yang berperan dalam mengompensasi ROS yang diproduksi akibat perlakuan hipoksia.

Pada uji korelasi Pearson didapatkan korelasi yang sangat kuat antara aktivitas spesifik katalase darah dan hati baik pada kelompok cekok ( $r = 0.9939$ ) maupun kontrol ( $r = 0.9918$ ).

## KESIMPULAN

Aktivitas spesifik katalase darah dan hati kelompok cekok maupun kontrol semakin menurun seiring dengan lamanya

perlakuan hipoksia, tetapi aktivitas spesifik katalase darah dan hati kelompok cekok lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Terdapat korelasi yang sangat kuat antara aktivitas spesifik katalase darah dan hati baik pada kelompok cekok maupun control.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 2010;4(8):118–26.
2. Weydert CJ, Cullen JJ. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nat Protoc.* 2010;5(1):51–66.
3. Fruehauf JP, Meyskens FL. Reactive Oxygen Species: A Breath of Life or Death? *Clin Cancer Res.* 2007 Feb 1;13(3):789–94.
4. Chandel NS, McClintock DS, Feliciano CE, Wood TM, Melendez JA, Rodriguez AM, et al. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  during hypoxia: a mechanism of O<sub>2</sub> sensing. *J Biol Chem.* 2000 Aug 18;275(33):25130–8.
5. Nigerian Natural Medicine development Agency. 1st ed. Lagos: Medicinal plants of Nigeria, SouthWest Nigeria. Nigeria Natural Development Agency; 2009.240 p
6. Stuartxchange. Philippine medicinal plants. [www.stuartxchange.com/cujete.html](http://www.stuartxchange.com/cujete.html) [Accessed 02 September 2015].
7. Pravin MS, Das N, Jahan N, Akhter MA, Nahar L, Islam ME. Evaluation of in vitro antiinflammatory and antibacterial potential of *Crescentia cujete* leaves and stem bark. *BMC Res Notes.* 2015; 8(1): 412. /doi: 10.1186/s13104-015- 1384-5.
8. National Institute of health. Institutional administrator's manual for laboratory animal care and use (Revised). 8th ed. Maryland: National Institute of health; 2011. 82 p.
9. Zengin G, Aktumsek A, Guler GO, Cakmak YS, Yildiztugay E. Antioxidant properties of methanolic extract and fatty acid composition of *Centaurea urvillei*. *Hayekiana wagenitz. Rec. Nat. Prod.* 2011; 5(2): 123–132.
10. Francisco G, Ana P, Cristiane M, Raimundo G, Iza M, et al. Phytochemical screening and antioxidant activity of methanolic fraction from the leaves of *Crescentia cujete* L. (Bignoniaceae). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2016, 8(2):231-236
11. Rauchová, H., M. Vokurkova, and J. Koudelova. Developmental changes of erythrocyte catalase activity in rats exposed to acute hypoxia. *Physiological research.* 2005; 54(5):527.
12. Zainuri, Masagus, Wanandi, Septelia. Aktivitas spesifik manganese superoxide dismutase (mnsod) dan katalase pada hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik: hubungannya dengan kerusakan oksidatif. 2012 June 2; 22.