

Potensi Antioksidan Ekstrak Air Cincau Hitam sebagai Hepatoprotektor pada Tikus yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik

(Antioxidant potential of Black Cincau Water Extract as Hepatoprotector Agent on Rats Induced by Hepatotoxic Paracetamol)

Fafa Nurdyansyah^{1)*}, Tri Dewanti Widyaningsih²⁾

1) Program Studi Teknologi Pangan Universitas PGRI Semarang

2) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya Malang

Korespondensi penulis: fafa.nurdy@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study is to test the antioxidant potential of black cincau water extract as hepatoprotector agent in rats induced by hepatotoxic dosage paracetamol. This research was divided into two steps. The first step was black cincau water extraction (EACH) treated by using infusa method dan testing the antioxidant activity. The second step was treated by using In vivo testing, in which there are 24 wistar rats were divided into 4 groups, they were 0 group, which was treated with aquadest (controlled), group II was positive control group which were received paracetamol 500 mg/kgBW only. The group III dan IV were treated by giving pretreatment paracetamol 500 mg/kgBW per day for 14 day dan continued by giving 250 mg/kg BW dan 500 mg/kgBW EACH for 21 day. All group were observed body weight dan daily feed intake. The result showed that black cincau water extract (500mg/kgBW) has the % inhibition of DPPH antioksidan activity in the amount of 82,760%, SOD dan GSH level of EACH treated groups increases significantly compare to the positive control group, MDA level decreases but it was significantly different with the positive controlled group. Based on the observation data, black cincau water extract can protect liver damage from hepatotoxic paracetamol induced. The giving of 500 mg/kgBW EACH is the best hepatoprotective activity.

Keywords: Black cincau; Hepatoprotector; antioxidant; Paracetamol

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan antioksidan ekstrak air cincau hitam dalam melindungi sel liver tikus yang dipapar parasetamol dosis toksik. Penelitian ini dibagi menjadi 2 tahap. Tahap pertama adalah proses ekstraksi daun cincau hitam dengan metode infusa dan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak air cincau hitam (EACH). Tahap kedua yaitu tahap pengujian secara *In vivo*, pada tahap ini sebanyak 24 ekor tikus strain wistar dibagi menjadi 6 kelompok yaitu, kelompok 1 tanpa perlakuan (kontrol), kelompok perlakuan II mendapat parasetamol 500 mg/kgBB, kelompok perlakuan III dan IV diberikan perlakuan parasetamol 500 mg/kgBB selama 14 hari kemudian masing-masing diberikan EACH 250 dan 500 mg/kgBB selama 21 hari. Semua kelompok dilakukan pengamatan berat badan dan asupan pakan harian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air cincau hitam 500 mg/kgBB memiliki aktivitas antioksidan DPPH yang hampir menyamai BHT yaitu sebesar 82,760%, pemberian EACH pada berbagai dosis mampu meningkatkan kadar SOD dan GSH secara signifikan dibanding kelompok kontrol positif, serta mampu menurunkan pembentukan peroksidasi lipid melalui pengamatan kadar MDA serum secara signifikan ($P < 0,05$). Ekstrak air cincau hitam dosis 500 mg/kgBB memiliki sifat antioksidasi terbaik yang berperan sebagai hepatoprotektor akibat paparan parasetamol dosis toksik.

Kata Kunci : cincau hitam; hepatoprotektor; antioksidan; parasetamol

PENDAHULUAN

Parasetamol (acetaminophen) merupakan obat analgesik dan antipiretik yang banyak digunakan secara bebas. Penggunaan parasetamol yang tidak sesuai dengan anjuran dapat menyebabkan terjadinya kerusakan hati / liver yang bersifat akut (Ahmed dan Khater, 2001). Metabolisme parasetamol yang berlebih di dalam tubuh akan menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat reaktif yang menyebabkan terjadinya kerusakan oksidatif pada tingkat sel maupun jaringan hati (nekrosis) (Sylvia, 2006). Penggunaan agen herbal sebagai salah satu alternatif yang digunakan dalam pengobatan atau pencegahan kerusakan hati akibat paparan senyawa toksik sangat dianjurkan dan dapat diklaim sebagai pangan fungsional yang bersifat hepatoprotektif.

Cincau hitam (*Mesona palustris* BL) merupakan salah satu bahan makanan tradisional Indonesia yang sudah sejak lama digunakan sebagai pengobatan tradisional masyarakat. Dalam penelitian terhadap spesies cincau yang berbeda, Hung dan Yen (2002) menyebutkan bahwa senyawa fenol pada cincau hijau/Hsian tsao (*Mesona procumbens* Hems!) berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan dan penghambatan radikal bebas. Berdasarkan hasil penelitian Yen et al. (2004) baik secara in vitro maupun in vivo bahwa daun cincau hitam dari spesies yang berbeda yaitu Hsian tsao (*Mesona procumbens*) memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektif akibat induksi TBHQ (Tert-Butyl Hydroperoxyde), antiinflamasi, antioksidan, antimutagenik, serta mampu mencegah penyakit seperti hipertensi dan liver (Yen et al. 2008).

Komponen bioaktif yang terkandung dalam cincau antara lain, golongan sterol, stigmasterol, tripterpene *oleanolic acid*, *ursolic acid* (Hung dan Yen, 2001) flavonoid, polifenol, glikosida, dan saponin. Penelitian terdahulu juga menyebutkan bahwa senyawa fenolik yang terdapat pada *Hsian tsao* (cincau hijau) maupun cincau hitam memiliki kemampuan sebagai antioksidan (Yen dan Hung, 2001); immunomodulator dan senyawa antikanker pada mencit yang diinduksi benzo(a)pyrene (Widyaningsih, 2010). Hasil penelitian Widyaningsih dan Pujangga (2013) juga menyebutkan bahwa ekstrak ethanol dan ekstrak air cincau hitam berfungsi sebagai hepatoprotektor dengan menurunkan kadar SGOT dan SGPT dengan nilai IC50 ekstrak air cincau hitam sebesar 66,67 ppm.

Berdasarkan potensi dan kandungan cincau hitam tersebut, maka perlu dilakukan investigasi mengenai potensi antioksidan dalam ekstrak air cincau hitam terhadap perubahan kadar antioksidan superoxyde dismutase (SOD), dan glutathion (GSH), serta malondialdehyde (MDA) serum pada tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan yaitu simplisia cincau hitam (*Mesona Palustris* BL) diperoleh dari Magetan, parasetamol dari PT Errita Pharma Bandung, reagen DPPH 0,2 mM, BHT, pakan diet standart AIN 93-M, tikus wistar dengan berat 200 ± 20 gram umur 6-8 minggu, kloroform, kit MDA, SOD, dan GSH. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan digital merek Olympus, glass ware, *rotary vaccum evaporator*, kompor gas, alat bedah, spektrofotometer UV-Vis Hitachi, sentrifuge, blender, thermometer, tube, mikropipet, inkubator, spuit disposabel, tabung vial, kain saring, dan kandang hewan coba

Metode Penelitian

Preparasi Ekstrak Air cincau Hitam : ekstraksi simplisia cincau hitam menurut modifikasi Hung dan Yen (2001) dilakukan dengan metode infusa yaitu perebusan dengan pemanasan tidak langsung selama 2 jam, sebanyak 50 gram serbuk simplisia cincau hitam ditambah 1000 ml akuades dipanaskan 90°C selama 2 jam, hasil ekstraksi dilakukan filtrasi dengan kain saring dan kemudian dievaporasi menggunakan *rotary vaccum evaporator* selama 3-4 jam dengan suhu 50°C tekanan 200 mBar. Residu hasil evaporasi kemudian dikeringkan dengan *freeze dryer* dan serbuk disimpan dalam plastik kedap udara dan dilakukan analisis antioksidan DPPH (Okawa *et al.*, 2001).

Penelitian eksperimental : tikus wistar jantan (200 ± 20 g) sebanyak 24 ekor (6 ekor/grup) dilakukan aklimatisasi selama 7 hari sebelum masa perlakuan dalam kandang individual (suhu ruang $20 \pm 5^{\circ}\text{C}$, RH 60-65%, siklus gelap terang 12 jam) dan diberikan pakan standart AIN 93-M 20 g/hari/ekor (Tabel 1) dengan minum secara *ad libitum*. Pada tahap penelitian utama tikus dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu :

Grup 1 : kontrol / K (tanpa perlakuan)

Grup 2 : kontrol positif / K+(parasetamol 500 mg/kgBB)

Grup 3 : Dosis I / D1 (parasetamol 500 mg/kgBB + EACH 250 mg/kgBB)

Grup 4 : Dosis II / D2 (parasetamol 500 mg/kgBB + EACH 500 mg/kgBB)

Tabel 1. Komposisi Pakan AIN 93-M

Komposisi	jumlah (g)
pati jagung	620,692
kasein (>85% protein)	140
sukrosa	100
minyak kedelai	40
CMC	50
mineral mix (AIN-93M-MX)	35
vitamin mix (AIN-93-VX)	10
L-cystein	1,8
choline bitartrate	2,5
<i>tert-butylhydroquinone</i> (TBHQ)	0,008

Tikus grup 1 sebagai kontrol atau tanpa perlakuan (diberikan sonde berupa akuades), tikus grup 2 berupa perlakuan kontrol positif diberikan perlakuan berupa parasetamol 500 mg/kgBB secara oral. Tikus pada grup 3 dan 4 diberikan masing-masing parasetamol 500 mg/kgBB selama 14 hari dan setelah itu diberikan masing-masing EACH 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB selama 21 hari berikutnya. Selama masa perlakuan seluruh hewan percobaan dilakukan pengukuran berat badan secara berkala dan perhitungan asupan pakan. Pada akhir masa perlakuan semua tikus masing-masing grup diambil sampel darah melalui pembuluh *retro orbital plexus*. Sampel darah kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit untuk mendapatkan serum untuk analisis biokimia.

Analisis parameter biokimia : Pengukuran aktivitas SOD dengan menggunakan metode Kakkar *et al.*(1984), pengukuran aktivitas GSH menggunakan metode Ellman (1959), sedangkan pengukuran MDA metode Wills (1987) dengan modifikasi metode uji asam tiobarbiturat (TBA) secara spektrofotometri. Analisis Data : Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisa statistik *One way Anova* dan dilanjutkan uji Duncan dengan α 0,05 untuk melihat perbedaan tiap kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN)

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Cincau Hitam

Aktivitas antioksidan (Uji DPPH) berturut-turut dari yang tertinggi yaitu BHT (89,931 %), EACH 500mg/kgBB (82,760 %), EACH 25 mg/kgBB (76,228 %) (Tabel 2). Hasil pengukuran aktivitas antioksidan DPPH menunjukkan bahwa EACH memiliki nilai yang hampir sama dengan aktivitas antioksidan standart yang digunakan yaitu BHT sehingga dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan EACH cukup tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian Widyaningsih dan Pujangga (2013) bahwa kandungan senyawa fenolik, dan fenolik lainnya berperan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan total fenol, semakin tinggi kandungan fenol dalam suatu bahan semakin tinggi pula aktivitasnya sebagai antioksidan (Huang dan Prior, 2005).

Tabel 2. Analisis Antioksidan DPPH

Sampel	% Inhibisi
BHT	87,931
EACH 250 mg/kgBB	76,228
EACH 500 mg/kgBB	82,760

Perubahan Berat Badan Dan Asupan Pakan Hewan Coba

Selama masa perlakuan semua hewan coba dilakukan pengukuran berat badan hewan coba pada awal dan akhir masa perlakuan, sedangkan data asupan pakan dilakukan setiap hari. Data pengukuran berat badan dan asupan pakan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata perubahan berat badan dan asupan pakan

Grup	Berat Badan (g)			Asupan pakan (g)
	awal	akhir	Δ BB	
K	197,4	290,2	92,8	18,57 \pm 1,77
K+	199,0	279,7	80,7	16,80 \pm 1,84
DI	200,3	291,3	91,0	17,20 \pm 1,80
DII	201,8	295,2	93,3	18,99 \pm 1,94

Berdasarkan data perubahan berat badan selama masa perlakuan, semua kelompok tikus rata-rata mengalami kenaikan berat badan antara 80,7 – 93,3 gram, dengan asupan pakan standar harian berkisar antara 16,80 \pm 1,84 - 18,99 \pm 1,94 g/ekor/hari. Pengamatan yang dilakukan terhadap perubahan berat badan dan asupan pakan digunakan untuk memantau perkembangan hewan coba selama masa perlakuan serta meminimalisir terjadinya kematian selama masa perlakuan.

Pengamatan parameter SOD, GSH, dan MDA serum

Induksi parasetamol dosis toksik menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan hati yang diiringi dengan peningkatan peroksidasi lipid serta penurunan status antioksidan endogen. SOD merupakan parameter antioksidan enzimatis yang mendismutasikan O₂. Hasil pengukuran kadar SOD serum (unit/ml) secara berturut-turut yaitu kelompok perlakuan kontrol (61,43 \pm 2,76), dosis II (500 mg/kgBB) (58,92 \pm 3,31), dosis I (250 mg/kgBB) (56,48 \pm 2,95), dan terendah yaitu kelompok kontrol positif (40,61 \pm 3,05).

Pemberian ekstrak air cincau hitam baik pada dosis 250 mg/kgBB maupun 500 mg/kgBB secara signifikan mampu meningkatkan kadar SOD serum pada tikus yang diberikan parasetamol dosis toksik. Kandungan senyawa antioksidan dalam ekstrak air cincau hitam mampu meningkatkan status antioksidan endogen yang mampu mengurangi kerusakan oksidatif pada jaringan serta meningkatkan aktivitas antioksidan enzimatis dalam hati (Veereshwarayya dan Thiruvengadam, 2004). Peningkatan status antioksidan SOD pada kelompok perlakuan EACH dibuktikan dengan besarnya persentase penghambatan DPPH oleh EACH (Tabel 1) yaitu sebesar 76,228 % (250 mg/kgBB) dan 82,760% (500 mg/kgBB).

Gluthation, salah satu antioksidan endogen dan dapat berada dalam bentuk gluthation tereduksi (GSH) paling banyak ditemukan pada hati. Fungsi utama dari GSH yaitu berperan

dalam detoksikasi dan sebagai antioksidan seluler yang mampu memecah pembentukan peroksidasi lipid (Ahmed dan Khater, 2001). Rata-rata kadar GSH kelompok kontrol (tanpa perlakuan) tertinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya yaitu sebesar $4,288 \pm 0,319 \mu\text{mol/mg}$, sedangkan kadar GSH pada kelompok lainnya berturut-turut sebesar dosis II ($3,714 \pm 0,508 \mu\text{mol/mg}$), dosis I ($3,047 \pm 0,503 \mu\text{mol/mg}$), dan terendah yaitu kontrol + ($1,310 \pm 0,661 \mu\text{mol/mg}$).

Kadar GSH pada kelompok kontrol positif terendah dan secara signifikan berbeda dengan kelompok lainnya, hal ini sesuai dengan pendapat Dash *et al.* (2007) bahwa parasetamol pada dosis toksik akan menyebabkan terjadinya peningkatan peroksidasi lipid (MDA) akibat radikal bebas senyawa NAPQI. Kadar GSH pada kelompok dosis II yaitu EACH 500 mg/kgBB tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan kelompok tikus kontrol (tanpa perlakuan).

Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan yang secara alami berfungsi sebagai pelindung terhadap peroksidasi lipid. Perlakuan EACH 500 mg/kgBB mampu meningkatkan antioksidan endogen secara signifikan sehingga mampu mengurangi terbentuknya senyawa radikal bebas akibat induksi parasetamol (diimbangi dengan penurunan kadar MDA). Perlakuan dosis I (250 mg/kgBB) menunjukkan peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan, namun masih lebih rendah secara signifikan dibanding dengan dosis II (500 mg/kgBB).

Tabel 4. Hasil pengukuran kadar SOD, GSH, dan MDA serum kelompok perlakuan

Grup perlakuan	SOD (Unit/ml)	GSH (μ mol/mg)	MDA (ng/ml)
Kontrol (K)	61,43 \pm 2,76 ^c	4,288 \pm 0,319 ^c	0,911 \pm 0,049 ^a
Kontrol positif (K+)	40,61 \pm 3,05 ^a	1,310 \pm 0,661 ^a	2,599 \pm 0,220 ^d
Dosis 1 (250 mg/kgBB)	56,48 \pm 2,95 ^b	3,047 \pm 0,503 ^b	2,339 \pm 0,176 ^c
Dosis II (500 mg/kgBB)	58,92 \pm 3,31 ^b	3,714 \pm 0,508 ^c	1,438 \pm 0,163 ^b

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda signifikan

Ekstrak air cincau hitam memiliki kandungan senyawa antioksidan yang cukup tinggi yang berasal dari golongan flavonoid, polifenol, maupun saponin. Menurut Widyarningsih dan Pujangga (2013) bahwa ekstrak air cincau hitam memiliki nilai IC₅₀ 66,67 ppm serta total fenol sebesar 829,7 ppm. Nilai IC₅₀ tersebut membuktikan bahwa potensi cincau hitam sebagai bahan pangan fungsional yang memiliki potensi sebagai antioksidasi dalam tubuh akibat paparan senyawa radikal bebas.

Peroksidasi lipid merupakan salah satu mekanisme perusakan hati akibat paparan parasetamol dosis toksik. Pada penelitian ini dapat dilihat (Tabel 4) bahwa pemberian parasetamol dosis toksik pada kelompok kontrol positif menunjukkan peningkatan kadar MDA serum yang signifikan dibanding dengan perlakuan lainnya. Peningkatan kadar MDA serum tersebut menunjukkan terjadinya peningkatan peroksidasi lipid yang menyebabkan kerusakan jaringan terutama pada jaringan hati serta kegagalan mekanisme pertahanan antioksidan dalam menghambat pembentukan radikal bebas (Dash *et al.* 2007).

Kadar MDA akibat pemberian EACH baik pada dosis 250 dan 500 mg/kgBB berturut-turut yaitu 2,339 \pm 0,176 dan 1,438 \pm 0,163 ng/ml dan secara signifikan lebih rendah dibanding kontrol positif. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian EACH pada kedua dosis secara efektif mampu mengurangi terbentuknya peroksidasi lipid dengan mekanisme sebagai antioksidan yang mampu menghambat terbentuknya radikal bebas dalam hati. Menurut Melodita (2011), cincau hitam memiliki senyawa bioaktif antara lain

flavonoid, polifenol, glikosida saponin, terpenoid, dan steroid. Senyawa fenol yang terdapat pada cincau hitam berkontribusi pada aktivitas antioksidan dan efek *scavenging* pada radikal bebas untuk mengobati suatu penyakit tertentu maupun bertindak sebagai hepatoprotektor.

KESIMPULAN

Ekstrak air cincau hitam memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi yaitu sebesar 76,228 % (250 mg/kgBB) dan 82,760% (500 mg/kgBB). Pemberian perlakuan ekstrak air cincau hitam baik 250 mg/kgBB maupun 500 mg/kgBB secara signifikan mampu meningkatkan kadar

antioksidan enzimatis SOD dan GSH, serta mampu menurunkan pembentukan peroksidasi lipid melalui pengamatan kadar MDA serum secara signifikan ($P < 0,05$). Ekstrak air cincau hitam memiliki sifat antioksidasi yang berperan sebagai hepatoprotektor akibat paparan parasetamol dosis toksik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, M.B. dan M.R. Khater, 2001. Evaluation of the protective potential of *Ambrosia maritima* extract on acetaminophen-induced liver damage. *J. Ethnopharmacol.*, 75(2): 169-174.
- Dash D. K, Veerendra C.Y., Siva S. N., Tirtha G., Rajalingnam D., Pinaki S., Bhim C. M., Tapan K. M. 2007. Evaluation of hepatoprotective dan antioxidant activity of *Ichnocarpus frutescens* (Linn) R.Br. on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Trop. Journal of Pharm. Research.* 6(3) :755-765.
- Hung, C.Y. dan G.C. Yen, 2001. Extraction dan Identification of Antioxidative Components of *Hsian-tsao* (*Mesona Procumbens* Hemsl). Academic Press. Retrieved from: <http://www.idealibrary.com>. diakses tanggal 11 November 2016.
- Hung, C.Y. dan G.C Yen. 2002. Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Isolated from *Mesona procumbens* Hemsl. *Journal Agric Food Chem* 8:50(10):2993-7
- Kakkar P, Das B, Viswanathan PN. A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase. *Ind J Biochem Biophys* 1984; 21: 131-132.
- Melodita, R. 2011. Identifikasi Pendahuluan Senyawa Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau Hitam (*Mesona palustris* BL) dengan Perlakuan Jenis Pelarut. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Okawa M, Kinjo J, Nohara T, Ono M (2001). DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *Boil. Pharm. Bull.* 24: 1202-1205.
- Sylvia, Price A. Lorraine M. Wilson. 2006. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit. Jakarta: EGC
- Ulilalbab A., Bambang W., dan Merryana A. 2015. Ekstrak kelopak rosella merah mencegah kenaikan Malondialdehid tikus wistar yang dipapar asap rokok. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia.* 13(2) : 215-220.
- Veereshwarayya V, Thiruvengadam D. 2004. Hepatoprotective effect of allicin on tissue defense system in galactosamine/endotoxin challenged rats. *J Ethno Pharmacol* 90: 151-154.
- Yen, G.C., P.D. Duh, dan Y.L. Hung. 2001. Contributions of major components to the Antimutagenic effect of *hsian-tsao* (*Mesona procumbens* Hemsl.). *Journal Agric dan Food Chem* 49:5000-5004.
- Yen, G.C., C.T. Yeh dan Y.T. Chen, 2004. Protective effect of *Mesona procumbens* against tert-butyl hydroperoxide-induced acute hepatic damage in rats. *J. Agric. Food Chem.* 52: 4121-412.

- Widyaningsih, T.D., 2010. Potential black cincau (*Mesona palustris* BL) as functional food ingredients is imunomodulator. Seminar of Proceeding of the Local Food. LIPI, Yogyakarta.
- Widyaningsih, T.D. dan Pujangga A. 2013. Hepatoprotective Effect of Extract of Black Cincau (*Mesona palustris* BL) on Paracetamol-Induced Liver Toxicity in Rats. *Advance Journal of Food Science dan Technology* 5(10): 1390-13