

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 95% Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap Kadar MDA Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* yang Dipaparkan Asap Rokok

Brandon Caesario¹, Syazili Mustofa², Dwita Oktaria³

¹ Mahasiswa Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

² Bagian Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³ Bagian Pendidikan Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Merokok merupakan perilaku membahayakan kesehatan. Rokok adalah olahan tembakau kering yang dibungkus oleh kertas dan dibentuk silinder. Rokok telah menyebabkan lebih dari 6 juta kematian secara global. Hal ini disebabkan karena asap rokok mengandung bahan-bahan berbahaya yang menimbulkan stres oksidatif. Sehingga menimbulkan berbagai kelainan pada organ. Upaya mencegah stres oksidatif adalah dengan pemberian antioksidan eksogen. Ekstrak kulit batang bakau diduga memiliki kemampuan antioksidan yang menangkal radikal bebas. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan metode *Post-test only Control Group*, yang dilakukan selama 30 hari. Sebanyak 30 ekor tikus dibagi ke dalam 5 kelompok. Kelompok K- tidak diberikan perlakuan khusus, kelompok K+, P1, P2, P3 dipaparkan asap dari 24 batang rokok kretek. Ekstrak kulit batang bakau minyak diberikan untuk kelompok P1 dengan dosis 28,275 mg/kgBB, kelompok P2 dengan dosis 56,55 mg/kgBB, dan kelompok P3 dengan dosis 113,1 mg/kgBB. Uji *One Way ANOVA* menunjukkan $P < 0,05$. Kemudian pada uji *Post Hoc LSD* didapatkan perbedaan bermakna pada semua kelompok. Pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak dapat menurunkan kadar MDA sesuai dengan perbedaan dosis bertingkat pada tikus putih yang diberikan ekstrak kulit batang bakau.

Kata kunci: Asap rokok, malondialdehida, stres oksidatif

Effect of Ethanol 95% Marine Mangrove (*Rhizophora apiculata*) Bark Extract on MDA Levels in *Sprague dawley* White Rats (*Rattus norvegicus*) Exposed to Cigarette Smoke

Abstract

Smoking is bad for health. Cigarette is made from dried tobacco and covered in sheet with cylinder shape. Cigarette has caused more than 6 millions death globally. This is related toxic chemicals contained by cigarette smoke that can cause oxidative stress. Prevention of oxidative stress includes administration of exogenous antioxidant. Marine mangrove bark extracts are thought to have antioxidant capability to stabilize free radicals. This study is experimental with *Post-test only Control Group* method, which will be run in 30 days. Thirty white rats is divided to 5 group. K- group didn't get any special treatment, K+ group, P1 group, P2 group, P3 group is exposed to smoke from 24 kretek cigarette. Marine mangrove bark extract is given to P1 group with 28,275 mg/kg dose, to P2 group with 56,55 mg/kg dose, and to P3 group 113,1 mg/kg dose. *One Way ANOVA* test produced $P < 0,05$. Then *Post Hoc LSD* test showed statistically significant difference in all group. Administration of marine mangrove bark extract with different dosage has decreased MDA level in a multilevel manner in white rats exposed to cigarette smoke.

Keywords: Cigarette smoke, malondialdehyde, oxidative stress

Korespondensi: Brandon Caesario, alamat Jl. Abdul Muis VIII no. 46, Gedong Meneng, Rajabasa, Bandar Lampung, HP 081906307694, e-mail bcaesario@gmail.com

Pendahuluan

Merokok merupakan kegiatan yang berbahaya bagi kesehatan. Rokok adalah olahan dari tembakau (*Nicotiana tabacum*) yang dikeringkan kemudian dibakar, dan dihisap asapnya. Secara global, diperkirakan terjadi lebih dari 6 juta kematian disebabkan oleh kebiasaan merokok, termasuk di dalamnya sekitar 600 ribu kematian perokok pasif. Sebagian besar kematian yang terjadi adalah kematian prematur karena dampak buruk rokok bagi kesehatan. Menurut Riskesdas tahun 2013, merokok dilakukan oleh 36,3% penduduk Indonesia yang berusia lebih dari 15 tahun. Dengan rata-rata jumlah rokok yang dihabiskan perhari sebanyak 12,3 batang.^{1,2}

Rokok mengandung banyak bahaya berbahaya seperti tar, arsenik, dan golongan nitrosamin yang bersifat karsinogenik. Juga nikotin yang dapat menyebabkan gangguan pada sistem kardiovaskular.³ Selain bahan-bahan di atas, beberapa kandungan rokok diketahui menyebabkan stres oksidatif seperti gas karbon monoksida dan asetaldehid.^{4,5}

Stres oksidatif adalah keadaan dimana jumlah prooksidan lebih banyak dibandingkan dengan antioksidan, sehingga terjadi kerusakan pada jaringan-jaringan tubuh.⁶ Bentuk prooksidan yang paling banyak di tubuh adalah *reactive oxygen species* (ROS). Sebagai bagian dari imunitas, ROS dihasilkan secara fisiologis oleh tubuh dari transport elektron mitokondria, namun jika ROS diproduksi secara berlebih maka mampu merusak struktur sel-sel lain.⁷

Kelebihan ROS akan memicu proses dekomposisi jaringan lemak, khususnya *poly unsaturated fatty acid* (PUFA). Ikatan antara PUFA-ROS akan menghasilkan suatu ketoaldehid yang disebut malondialdehid (MDA). Bila kadar MDA plasma suatu organisme semakin tinggi, dapat dikatakan bahwa jumlah prooksidan dalam tubuhnya semakin tinggi juga. Untuk mencegah terjadinya kondisi tersebut, diperlukan antioksidan dalam jumlah adekuat.⁸

Antioksidan adalah sistem pertahanan dari prooksidan yang dihasilkan oleh tubuh, ataupun didapatkan dari luar tubuh.

Antioksidan mengubah bentuk ROS menjadi bentuk yang tidak reaktif. Ada dua bentuk antioksidan, yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen dihasilkan dari tubuh dan bekerja secara enzimatik, seperti enzim katalase dan enzim superoksida dismutase. Antioksidan eksogen didapatkan dari makanan ataupun minuman yang dikonsumsi contohnya flavonoid, vitamin E, dan tannin. Dalam keadaan stress oksidatif, diperlukan asupan antioksidan tambahan.⁶

Bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) adalah spesies bakau yang biasa tumbuh di iklim tropis dan sub-tropis. Bakau minyak memiliki fungsi dalam bidang ekologis dan biologis, namun juga dalam bidang medis. Bakau minyak memiliki kemampuan antiviral, antialergi, dan antioksidan karena kandungan aktifnya.⁹

Metode

Desain penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan metode *Post-test only Control Group*. Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih yang dibagi ke dalam lima kelompok secara *random*. Tikus yang diikutsertakan dalam penelitian berumur 10-12 minggu dengan berat 200-250 gram. Semua tikus mengikuti masa aklimatisasi selama 7 hari, dalam masa ini tikus hanya mendapatkan pakan standard dan minum.

Kelompok K- tidak mendapatkan perlakuan khusus. Kelompok K+ hanya dipaparkan asap dari 24 batang rokok kretek/hari. Kelompok P1 mendapatkan ekstrak kulit batang bakau dengan dosis 28,275 mg/kgBB dan paparan asap dari 24 batang rokok kretek/hari. Kelompok P2 mendapatkan ekstrak kulit batang bakau dengan dosis 56,55 mg/kgBB dan paparan asap dari 24 batang rokok kretek/hari. Kelompok yang terakhir, P3 mendapatkan ekstrak kulit batang bakau minyak dengan dosis 113,1 mg/kgBB dan paparan asap dari 24 batang rokok kretek/hari.

Semua perlakuan diberikan selama 30 hari, dan pada hari ke 31 sampel darah tikus diambil dari vena periorbita. Sampel darah lalu diukur kadar MDAnya dengan metode

Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) secara kolorimetrik. Data dianalisa dengan uji *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD*.

Hasil

Untuk mengetahui kadar MDA pada sampel, terlebih dulu dibuat kurva standar dari larutan standar MDA dengan berbagai konsentrasi. Konsentrasi dan absorbansi yang didapat lalu dianalisis dengan regresi linear dan menghasilkan rumus $y=7,925x-0,338$.

Dari rumus yang telah didapat, dilakukan perhitungan kadar MDA tiap sampel yang tertulis pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata kadar MDA tiap kelompok

| Kelompok | Rerata Kadar MDA (nmol/nl) | P value ANOVA |
|----------|----------------------------|---------------|
| K- | 0,89±0,08 | 0,01 |
| K+ | 3,29±0,10 | |
| P1 | 2,85±0,07 | |
| P2 | 2,30±0,08 | |
| P3 | 1,83±0,06 | |

Berdasarkan tabel 1, terlihat bahwa kelompok K- memiliki rerata kadar MDA yang terendah dibandingkan kelompok lain. Sedangkan kelompok K+ memiliki rerata kadar MDA yang tertinggi. Sementara kelompok P1, P2, dan P3 mengalami penurunan kadar MDA yang lebih jauh seiring dengan peningkatan dosis.

Dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk melihat perbedaan tiap kelompok secara statistik, dari uji tersebut didapatkan nilai $P=0,01$ yang berarti perbedaan tiap kelompok bermakna secara statistik. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk melihat perbedaan tiap kelompok dengan lebih rinci, hasilnya tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Post Hoc LSD

| Kelompok | K- | K+ | P1 | P2 | P3 |
|----------|------|------|------|------|------|
| K- | - | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| K+ | 0,01 | - | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| P1 | 0,01 | 0,01 | - | 0,01 | 0,01 |

| | | | | | |
|----|------|------|------|------|------|
| P2 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | - | 0,01 |
| P3 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | - |

Uji *Post Hoc LSD* menghasilkan perbedaan yang bermakna secara statistik dari tiap kelompok perlakuan, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian dosis ekstrak kulit batang bakau secara bertingkat memberikan pengaruh dalam menurunkan kadar MDA lebih jauh.

Pembahasan

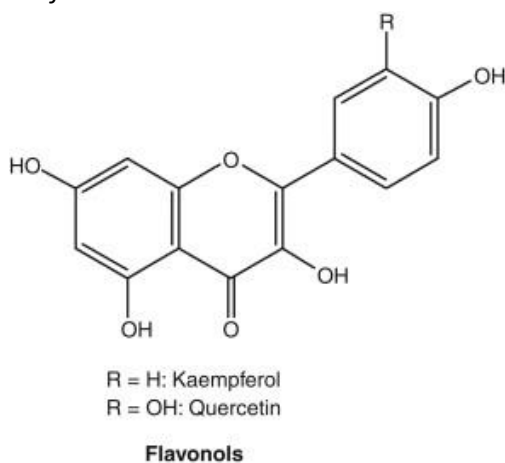
Rerata kadar MDA pada tikus putih di kelompok K- merupakan yang terendah dari kelompok lain. Hal ini disebabkan oleh tidak adanya paparan prooksidan tambahan, selain prooksidan yang dihasilkan secara fisiologis oleh tikus sendiri.

Pada kelompok K+, P1, P2, dan P3, tikus mendapatkan paparan asap rokok yang mengandung banyak prooksidan menimbulkan peningkatan kadar MDA plasma tikus putih. Asap rokok mengandung tar yang diketahui dapat menstimulus pembentukan H_2O_2 (hidrogen peroksida), gas nitrit oksida (NO) yang membentuk $ONOO^-$ (perioksinitrit), dan gas karbon monoksida (CO) yang mengikat hemoglobin sehingga terjadi kondisi hipoksia. Hal-hal ini merangsang pembentukan ROS yang berlebihan, sehingga antioksidan tidak dapat mencegah stres oksidatif yang terjadi. Bila kadar ROS tinggi, maka ROS akan mengikat *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) sehingga terjadi dekomposisi lemak. Ikatan PUFA-ROS ini akan mengalami siklisasi berulang sehingga terbentuk MDA.^{8,10}

Tikus pada kelompok P1, P2, dan P3 diberikan ekstrak batang bakau minyak dalam berbagai dosis. Kelompok P1 mendapatkan dosis 28,275 mg/kgBB, kelompok P2 mendapatkan dosis 56,55 mg/kgBB, dan kelompok P3 mendapatkan dosis 113,1 mg/kgBB. Pada tabel 1 terlihat rerata kadar MDA semakin menurun seiring dengan peningkatan dosis pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak. Uji *Post Hoc LSD* lebih lanjut memperlihatkan penurunan rerata kadar MDA tersebut bermakna secara statistik.

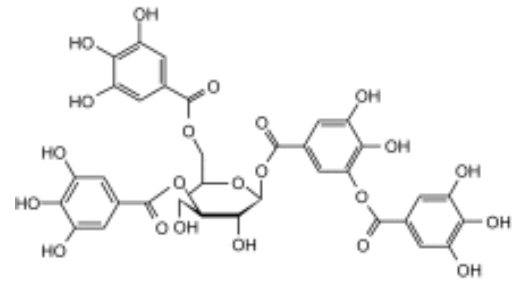
Ekstrak kulit batang bakau minyak diketahui memiliki kandungan flavonoid dan tannin. Kedua senyawa tersebut berfungsi sebagai antioksidan dan mencegah stres oksidatif akibat paparan asap rokok.¹¹

Flavonoid merupakan kelompok senyawa yang biasanya terkandung pada sayur, buah, batang, dan bunga tanaman. Flavonoid bekerja sebagai antioksidan eksogen dengan kemampuan menstabilkan elemen radikal bebas. Hal ini dikarenakan strukturnya yang dapat mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas. Selain itu, flavonoid juga menghambat enzim yang memproduksi radikal bebas seperti enzim *xanthine oxidase*, *lipoxigenase*, *cyclooxygenase*, serta menguatkan enzim antioksidan endogen seperti enzim *glutathione S-transferase*.¹²



Gambar 1. Struktur flavonol¹³

Tannin merupakan salah satu dari antioksidan eksogen yang banyak terkandung pada buah-buahan. Tannin memiliki kemampuan menstabilkan radikal bebas yang sama dengan flavonoid, namun dalam jumlah yang lebih banyak. Hal ini dikarenakan strukturnya yang memiliki amat banyak gugus hidroksil (-OH), hingga mampu melakukan polimerisasi hingga 7 kali.¹⁴



Gambar 2. Struktur tannin¹⁵

Pada penelitian ini didapatkan bahwa dosis pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak sebanyak 28,275 mg/kgBB, 56,55 mg/kgBB, dan 113,1 mg/kgBB. Pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak dengan dosis tersebut dapat menurunkan kadar MDA tikus putih.

Selama penelitian, ditemukan keterbatasan yaitu tempat pemeliharaan yang kurang bersih dan lembab sehingga dapat memicu infeksi.

Simpulan

Pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak dapat menurunkan kadar MDA tikus putih yang terpapar asap rokok. Penurunan kadar MDA dapat meningkat seiring dengan bertambahnya dosis pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).

Daftar Pustaka

1. Departemen Kesehatan. INFODATIN-Hari Tanpa Tembakau Sedunia. Jakarta: Departemen Kesehatan; 2013.
2. World Health Organization. WHO global report on trends in prevalence of tobacco smoking. Geneva: World Health Organization; 2015
3. West R. Tobacco smoking: health impact, prevalence, correlates and interventions. *Psychol Health*. 2017; 32(8):1018–1036.
4. Piantadosi CA. Carbon monoxide, reactive oxygen signaling, and oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2009; 45(5):562–569.

5. Stickel F, Datz C, Hampe J, Bataller R. Pathophysiology and management of alcoholic liver disease: Update 2016. *Gut Liver*. 2017; 11(2): 173–188.
6. Birben E, Murat SU, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *WAO Journal*. 2012; 5(January):9–19
7. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011; 25(3):287–299.
8. Grotto D, Maria LS, Valentini J, Paniz C, Schmitt G, Garcia SC. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quím Nova*. 2009; 32(1); 169-174.
9. Duke N, Kathiresan K, Miyagi, T, Fernando ES, Peras J, Sukardjo S, dkk. *Rhizophora apiculata*. *Red List*. 2010; 5(2):1–6.
10. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis, K. Tobacco smoke: Involvement of reactive oxygen species and stable free radicals in mechanisms of oxidative damage, carcinogenesis and synergistic effects with other respirable particles. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2009; 6(2):445–462.
11. Mustofa S, Bahagia W, Kurniawaty E, Rahmanisa S, Audah K. The effect of mangrove (*Rhizophora apiculata*) bark extract ethanol on histopathology pancreas of male white rats sprague dawley strain exposed to cigarette smoke. *Acta Biochimica Indonesia*. 2018; 1(1):7–13.
12. Banjarnahor SDS, Artanti N. Antioxidant properties of flavonoids. *Med J Indones*. 2015; 23(4):239-44.
13. Bone K, Mills S. Principles of herbal pharmacology. Dalam: *Principles and Practice of Phytotherapy*. London: Churchill Livingstone; 2013:17-82.
14. Serrano J, Puupponen-Pimiä R, Dauer A, Aura AM, Saura-Calixto F. Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Mol Nutr Food Res*. 2009; 53(Suppl 2):S310–329.
15. Schmidt-Przewoźna K, Brandys A. Utilization of contaminated lands for cultivation of dye producing plants. Dalam: Prasad MNV, editor. *Bioremediation and Bioeconomy*; 2016:329–359.