

Efek Antioksidan dari Ekstrak Biji Petai Cina (*Leucaena leucocephala* L.) pada Tikus Putih

FATTY NURHASANAH, SYAMSUDIN*

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila Jakarta
Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, 12640

Diterima 14 Desember 2004, Disetujui 3 Februari 2005

Abstract: The study deals with the examination of the antioxidative effect of a *Leucaena leucocephala* L. seed extract on diabetic rats induced with streptozotocin. The rats were divided into 6 groups, each consisting of 5 rats i.e. group 1: normal, group 2: control (chlorpropamide), group 4: low dose of *Leucaena* seed extract 0,5/kg BW and group 6: high dose of *Leucaena* seed extract 1 g/kg BW. The malon dialdehyde (MDA) and superoxid dismutase (SOD) contents were analyzed by ANOVA and continued with the t-test. The result obtained shows that an increase of SOD could be observed by a *Leucaena* seed extract of resp 0.25; 0.5 and 1 g/kg BW.

Key words: diabetes, *Leucaena leucocephala* L, malon dialdehyde, superoxide dismutase

PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah penyakit yang berkorelasi dengan kerusakan sel β pankreas karena adanya radikal bebas di dalam tubuh⁽¹⁾. Dengan rusaknya sel β pankreas dapat menyebabkan kekurangan hormon insulin. Beberapa penelitian memperlihatkan adanya hubungan antara radikal bebas dengan diabetes melitus^(2,3,4). Baynes dkk melakukan penelitian tentang peran stres oksidatif pada penderita diabetes yang menunjukkan adanya peningkatan peroksidasi lipid dan peningkatan kerusakan DNA pada penderita diabetes⁽⁴⁾. Peningkatan stres oksidatif ini akan mengakibatkan perubahan pada berbagai senyawa antara lain protein dan lipid. Pada penelitian sebelumnya diperlihatkan tentang pengaruh ekstrak biji Petai Cina (*Leucaena leucocephala* L) yang dapat menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL serta dapat meningkatkan kadar HDL pada tikus yang dibuat diabetes dengan menginduksi streptozotocin⁽⁵⁾. Mekanisme efek hipolipidemik dari ekstrak biji petai cina kemungkinan disebabkan karena ekstrak biji petai cina mengandung senyawa aktif yang bekerja mereduksi lipoperoksida di hati melalui efek antioksidannya atau mencegah oksidasi LDL. Pada penelitian ini ingin dilihat efek antioksidan dari ekstrak biji petai cina secara in vivo. Parameter yang diambil

adalah dengan mengukur kadar malondialdehid (MDA) salah satu dari petanda proses peroksidasi lipid dan kadar enzim *superoksida dismutase* (SOD) yang merupakan salah satu dari enzim antioksidan yang terutama dapat berperan dalam katalisis proses dekomposisi oksigen reaktif.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan yang digunakan adalah biji Petai Cina yang diperoleh dari BALITRO Bogor dan dideterminasi di Herbarium Bogoriense LIPI Bogor, Jawa Barat. Streptozotocin dari Sigma (CAS 1883-664) pelarut yang digunakan adalah dapar sitrat 0,1M pada pH 4,5, Asam tiobarbiturat (TBA), Asam trikloroasetat (TCA), MDA standar (CAS 102-523), kloroform, etanol, efinefrin 0,01M, heparin, dapar karbonat 0,0518. Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus jantan galur Wistar. Hewan percobaan dibuat diabetes dengan diinduksi streptozotocin (stz) dosis 50 mg/kg secara intra vena. Metode percobaan yang digunakan adalah metode eksperimental, tikus dibagi menjadi 6 kelompok dimana masing-masing terdiri dari 5 ekor. Kelompok pertama adalah kelompok normal, kelompok kedua kelompok kontrol negatif (diinduksi stz 50mg/kg), kelompok ketiga adalah kelompok yang diberikan klorpropamid dosis 4,5 mg/200g, kelompok keempat adalah kelompok yang disuntik stz dan diberikan ekstrak biji petai cina dosis 0,25g/kg seraca oral, kelompok kelima adalah kelompok yang disuntik stz dan diberikan ekstrak biji

* Penulis untuk korespondensi, Hp. 08128170958,
email: syamsudin27@yahoo.com

Petai Cina dosis 0,5g/kg secara oral, kelompok keenam adalah kelompok yang disuntik stz dan biji Petai Cina dosis 1g/kg secara oral selama 14 hari. Pemeriksaan kadar MDA dan SOD dilakukan pada hari ke-14.

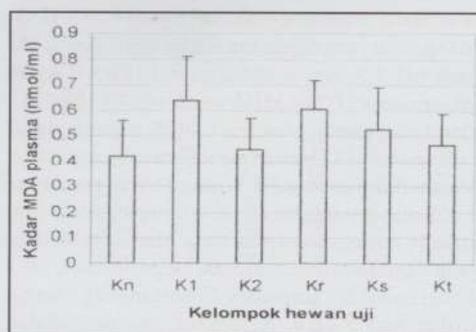
Kadar MDA. Kadar MDA diukur dari plasma darah menurut metode Wills⁽⁶⁾, 2,0 ml larutan sampel (plasma darah) ditambahkan 1,0 ml asam trikloroasetat (TCA) 20% dan 2 ml asam tiobarbiturat (TBA) 0,067%. Larutan dicampur homogen dengan dipanaskan di atas tangas air selama 10 menit. Setelah dingin disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Filtrat yang berwarna merah muda diukur serapannya pada λ 530 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar MDA dihitung menggunakan kurva baku MDA dengan konsentrasi 0; 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 dan 1,6 nmol/ml.

Kadar SOD. Kadar SOD ditetapkan menurut metode Misra dan Fridovich⁽⁷⁾. Dua ratus lima puluh μ l hemolisis sel darah merah ditambahkan 400 μ l campuran larutan kloroform-etanol (3:5), kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Filtrat yang berwarna kuning muda jernih diambil 10 μ l lalu ditambahkan 90 μ l air suling dan ditambahkan 2775 μ l dapar karbonat 0,0518M dan 125 μ l larutan efrinefrin 0,01M, campuran dihomogenkan kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur serapannya setelah menit ke 1,2,3 dan 4 pada λ 480 nm suhu 30°C. Dengan cara yang sama dilakukan juga untuk air suling (blangko) pada pembacaan serapan setelah menit ke 1,2,3 dan 4. Rata-rata serapan permenit pada blangko kurang dari 0,025/menit.

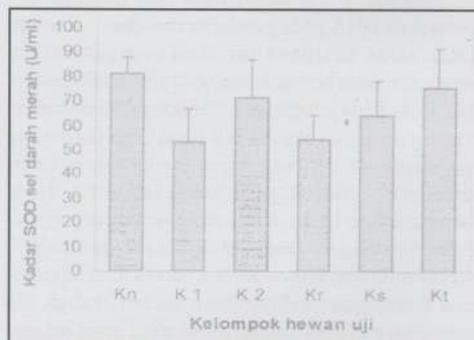
Analisis statistik. Data yang diperoleh dilakukan uji homogenitas dengan uji Bartlett dan uji normalitas dengan menggunakan distribusi frekuensi. Jika data yang diperoleh penyebarannya homogen dilanjutkan dengan uji parametrik menggunakan metode analisis variansi (Anova) satu arah. Apabila menunjukkan perbedaan bermakna, dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata terkecil (BNT). Jika data tidak homogen dan tidak normal dilakukan uji non parametrik Kruskal Wallis, dilanjutkan dengan uji berganda Friedman⁽⁸⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peningkatan peroksidasi lipid disajikan pada Gambar 1. Peroksidasi lipid adalah deteriorasi oksidatif asam lemak tidak jenuh berantai panjang (PUFA atau polyunsaturated fatty acid). PUFA pada membran plasma mudah teroksidasi oleh radikal superoksida (O_2^{\bullet}) melalui reaksi berantai radikal bebas yang disebut peroksidasi lipid. Produk akhir dari peroksidasi lipid berupa hidrokarbon dan gugus karbonil (C=O) terutama aldehid seperti malondialdehid (MDA), MDA dapat dipakai sebagai tolok ukur dalam menentukan kadar peroksida lipid jaringan atau organ⁽⁹⁾. Pemberian streptozotocin 50 mg/kg secara iv menyebabkan kenaikan kadar MDA plasma pada kelompok kontrol dibanding kelompok lainnya. Kenaikan kadar MDA plasma menunjukkan adanya peningkatan oksidasi lemak tidak jenuh yang banyak terdapat pada sel β pankreas, sehingga menyebabkan gangguan terhadap sekresi insulin yang kemudian menyebabkan hiperglikemik.



Gambar 1. Kadar Malondialdehid (MDA) pada semua kelompok perlakuan (nmol/ml). Kn : Kelompok normal, K₁ : Kelompok yang diinduksi streptozotocin 50 mg/kg secara iv, K₂ : Kelompok yang diberi klorpropamid dosis 4,5 mg/200 g, K_r : Kelompok yang diberi ekstrak biji petai cina dosis 0,25g/kg, K_s : Kelompok yang diberi ekstrak biji petai cina dosis 0,5g/kg, K_t : Kelompok yang diberi ekstrak biji petai cina dosis 1 g/kg



Gambar 2. Kadar superoksida dismutase (SOD) sel darah merah pada semua kelompok perlakuan (U/ml). Kn: Kelompok normal, K₁:Kelompok yang diinduksi streptozotocin 50 mg/kg secara iv, K₂: Kelompok yang diberi klorpropamid dosis 4,5 mg/200 g, K_r: Kelompok yang diberi ekstrak biji petai cina dosis 0,25g/kg, K_s: Kelompok yang diberi ekstrak biji petai cina dosis 0,5g/kg, K_t: Kelompok yang diberi ekstrak biji petai cina dosis 1 g/kg

Mekanisme dari streptozotocin adalah sebagai berikut: a) streptozotocin menyebabkan rantai DNA putus pada pulau pankreas dan menstimulasi *polinukleat (ADP-ribose)sintetase* sehingga menurunkan kadar NAD⁺ dan NADP⁺ intraseluler yang menghambat sintesis proinsulin dan menginduksi hiperglikemi. b) mengaktivasi spesies oksigen reaktif seperti: superoksida (O₂•), radikal hidroksil (•OH) dan hidrogen peroksida (H₂O₂)⁽¹⁰⁾.

Pemberian ekstrak biji petai cina pada dosis 0,25g/kg, 0,5g/kg dan 1g/kg memperlihatkan kecenderungan penurunan kadar MDA (Gambar 1) walaupun tidak terdapat perbedaan antar tiap kelompok.

SOD adalah enzim yang terdapat pada sitoplasma dan mitokondria. Untuk menganalisisnya, enzim ini harus dilepaskan dari sel atau organel. Pelepasan ini diusahakan sedemikian rupa sehingga aktivitas biologinya tidak rusak. Aktivitas suatu enzim ditentukan dengan mengukur jumlah produk yang terbentuk atau jumlah substrat yang digunakan per satuan waktu. Pengukuran tersebut berdasarkan reaksi produk atau substrat dengan senyawa yang dapat menghasilkan warna⁽⁷⁾. Dari Gambar 2 memperlihatkan aktivitas SOD pada kelompok kontrol menurun bila dibandingkan dengan kelompok normal. Penurunan kadar SOD kemungkinan disebabkan pada kelompok tikus yang diinduksi dengan streptozotocin terjadi stres oksidatif yang dapat dilihat dari peningkatan kadar MDA pada kelompok ini. SOD adalah salah satu antioksidan enzimatis yang memiliki fungsi menetralkan radikal bebas menjadi H₂O₂ dan O₂⁽⁹⁾.



Scalecky dkk memperlihatkan terjadinya penurunan sistem enzimatis (SOD dan glutathion peroksidase) pada keadaan stres oksidatif⁽¹¹⁾. Pemberian ekstrak biji Petai Cina dosis 1g/kg dapat meningkatkan kadar SOD sel darah merah. Efek penurunan kadar MDA dan peningkatan kadar SOD sel darah merah, kemungkinan disebabkan senyawa aktif dari ekstrak biji petai cina memiliki efek antioksidan. Tanaman biji petai cina banyak mengandung alkaloid, saponin, flavonoid dan asam amino⁽¹²⁾. Beberapa penelitian memperlihatkan kebanyakan tanaman yang mengandung flavonoid memiliki efek antioksidan^(13,14). L.Bartosikova dkk meneliti tentang pengaruh senyawa morin yang diisolasi dari *Morus tinctoria* terhadap tikus yang diinduksi dengan aloksan⁽¹⁵⁾. Penelitian tersebut memperlihatkan adanya peningkatan dari kadar SOD, glutathion peroksidase pada kelompok tikus yang diberikan morin dibandingkan dengan kelompok kontrol.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak biji petai cina dosis 0,25g/kg, 0,5g/kg dan 1g/kg dapat meningkatkan kadar SOD sel darah merah. Peningkatan kadar SOD tertinggi terdapat pada dosis 1g/kg. Peningkatan ini kemungkinan disebabkan karena efek antioksidannya.

DAFTAR PUSTAKA

1. West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine*. 2000; 17:171-80.
2. Giugliano D, Ceriello A, Paulisio G. Oxidative stress and diabetic vascular Complications. *Diabetic Care*. 1996. 19(3):257-67.
3. Chowienzyck, Brett SE, Gopaul NK, Meecking D, Marchetti A, Russel J. Oral treatment with an oxydant reduce oxydative stress and improved endothelial function in men with type 2. *Diabetologia*. 2000. 43:947-77.
4. Baynes JW. Role of oxidative stressing the complications in diabetes. *Diabetes*. 1991; 40:405-12.
5. Hanan H, Syamsudin. Efek ekstrak biji petai cina *Leucaena leucocephala* terhadap profil lipid darah tikus diabetes NIDDM yg diinduksi dengan streptozotocin. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2004;2(1):4-6.
6. Will ED. Evaluation of lipid peroxidation on lipid and biological membranes. Dalam: *Biochemical Toxicology* 5thed. K Snell and B Mullock Press Oxford Washington DC; 1987.p.139.
7. Misra and Fridovich. The role of superoxide dismutase anion in the auto-oxidation of epinephrin and asimple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biochemical*. 1972; 247(10):3170-75.
8. Scheffler WC. *Statistika untuk biologi Farmasi, Kedokteran dan ilmu yang Bertautan*. Terbitan kedua. Diterjemahkan oleh Suroso, Bandung: ITB; 1987. p. 107.
9. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radical in biology and medicine* Third edition. New York: Oxford University Press; 1998.
10. Ling li. *Streptozotocin in free radical and biology program*. Iowa City: The University IOWA; 2001.p.3-4.
11. Scalecky E,Prechl J, Feher J, Somogy. Alteration in enzymatic antioxidant defence in diabetes mellitus. A rational approach. *Post graduate Med Journal*. 1999; 75:15-17
12. Syamsuhidayat S, S. Hutapea, JR. *Inventaris tanaman obat Indonesia*. Jakarta: Balai Penelitian dan Pengembangan Departemen Kesehatan RI; 1991.hal. 46-347.
13. Pari L, Latha M. Effect of *Cassia auriculata* Flowers on blood sugar levels, serum and tissue lipids in streptozotocin diabetic rats. *Singapore Med Journal*. 2002; 43(12): 620.

14. Anoja, Yun-Pin Zhou, Jing-Tian xie et.al. Antidiabetic effects of panax ginseng, berry extract and the identification of an effective component. *Diabetes*. 2002; 51:1851-58.
15. Bartosikova, Necas, Suchy R et al. Monitoring of antioxidative effect of Morine in alloxan-induced diabetes mellitus in the Laboratory Rats. *ActaVet.BRNO*. 2003; 72:91-200.