

## EFEK EKSTRAK MAHKOTA DEWA (*Phaleria Macrocarpa*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID SERUM PADA MENCIT DIABETES MELITUS AKIBAT INDUKSI ALOKSAN

Zulkarnain Edward, Eti Yerizel

Bagian Biokimia Fakultas kedokteran Universitas Andalas  
E-mail : majalahkedokteranandalas@gmail.com

### Abstrak

Stress oksidatif yang terjadi pada diabetes melitus (DM) yang tidak terkontrol dapat menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid yang menghasilkan malondialdehid (MDA). Untuk menekan stress oksidatif diperlukan antioksidan tambahan dari ekstrak mahkota dewa. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek ekstrak mahkota dewa terhadap kadar malondealdehide serum pada mencit DM akibat induksi aloksan.

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dengan menggunakan binatang percobaan 12 ekor mencit yang berumur 3 bulan. Binatang percobaan dibagi dalam 3 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif (175 mg aloksan/kg BB) dan kelompok perlakuan (175 mg aloksan/kg BB dan 500 mg ekstrak mahkota dewa extract/kg BB). Data yang didapat dianalisa secara statistik dengan uji *One Way Anova*.

Hasil penelitian menunjukkan kadar MDA serum kelompok kontrol negatif  $4,43 \pm 0,02$  nmol/ml, kelompok kontrol positif  $5,32 \pm 0,74$  nmol/ml dan kelompok perlakuan  $3,98 \pm 0,38$  nmol/ml. Terdapat perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) antara kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak mahkota dewa bisa menurunkan kadar MDA serum pada mencit DM akibat induksi aloksan.

*Kata kunci* : mahkota dewa, aloksan, diabetes melitus, MDA

### Abstract

Malondialdehyde (MDA) is the important marker of lipid peroxidation and showed that progression of diabetic evidence is corelated with oxidative stress and can be folowed up by MDA measurement. This research was conducted to study the effect of mahkota dewa extract on the MDA serum level on diabetes mellitus aloxan-induced rats.

This research was held at Biochemistry Laboratory Medical Faculty of Andalas University Padang. Twelve Wistar rats of 3 months age were used. The rats were

grouped into 3 treatment i.e. 1) negative control, 2) positive control (175 mg aloxan/kg BW) and 3) treated group (175 mg aloxan/kg BW and 500 mg mahkota dewa extract/kg BW). The data was analyzed by one way anova test.

The results showed that MDA serum level was  $4.43 \pm 0.02$  nmol/ml for the negative control group,  $5.32 \pm 0.74$  nmol/ml for positive control group and  $3.98 \pm 0.38$  nmol/ml for treated group. There were significant differences ( $p$ ; 0.05) between negative control, positive control and treated groups. It can be concluded that the mahkota dewa extract decreases MDA level in diabetes mellitus aloxan-induced rats.

*Keywords : mahkota dewa, aloxan, diabetes mellitus, MDA*

## Pendahuluan

Mahkota dewa adalah suatu tanaman perdu yang bila dibudidayakan tingginya mencapai 1,5 – 2,5 meter tetapi dapat mencapai tinggi 6 meter bila tumbuh secara liar, dimana buah Mahkota dewa merupakan ciri khas tanaman ini. Buah Mahkota dewa berbentuk bulat seperti telur, tunggal dengan panjang 4-6 cm dan lebar 3-5 cm terdiri dari kulit, daging, cangkang dan biji.<sup>(1)</sup> Kandungan kimia buah mahkota dewa antara lain berisi alkaloid, flavonoid (terutama quercetin yang terbukti mempunyai sifat anti-oksidan), saponin (mengurangi kadar gula darah), folifenol (bersifat antioksidan), terpenoid dan tanin.<sup>(2-4)</sup> Penggunaan tanaman mahkota dewa merupakan alternatif untuk mencegah efek radikal bebas pada DM. Selain itu dikenal juga beberapa obat antidiabetes seperti brotowali, mimba, daun salam dll. Mahkota dewa sebagai obat asli Indonesia banyak digunakan untuk berbagai macam penyakit diantaranya sebagai anti-diabetes.

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit degeneratif yang jumlah penderitanya selalu meningkat dari tahun ke tahun. Peningkatan penderita DM untuk 20 sampai 30 tahun mendatang disebabkan oleh peningkatan kemakmuran, perubahan pola makan, demografi dan urbanisasi. Perubahan pola makan menjadi pola makan yang beresiko, seperti konsumsi karbohidrat dan lemak yang tinggi, kurangnya aktivitas fisik yang mengakibatkan kegemukkan dan hipertensi, selain itu ada faktor resiko yang tidak bisa dikendalikan seperti umur, jenis kelamin faktor genetik yang cukup berpengaruh dalam meningkatkan angka kejadian.

Prevalensi DM di dunia diperkirakan 110,4 juta penderita. Jumlah ini

akan meningkat terus menjadi kira-kira 239,3 juta pada tahun 2010. Di Indonesia tahun 1994 kira-kira 2,5 juta dan pada tahun 2010 diperkirakan mencapai 5 juta, hal ini menunjukkan suatu peningkatan yang tajam yang harus diwaspadai.

Diabetes Melitus adalah gangguan metabolisme yang secara genetik dan klinis termasuk heterogen dengan manifestasi hilangnya toleransi terhadap karbohidrat. DM ditandai oleh kadar glukosa yang meningkat secara kronis.<sup>(5)</sup> DM yang tidak terkontrol akan menimbulkan komplikasi pada berbagai organ tubuh, baik secara mikrovaskuler yang membutuhkan waktu 10 tahun seperti nefropati, retinopati dan neuropati maupun makrovaskuler seperti pembentukan aterosklerosis, penyakit jantung koroner, serebrovaskuler dan penyakit kaki diabetik.<sup>(6)</sup>

Hiperglikemia dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas melalui beberapa mekanisme, dengan arti kata terjadinya peningkatan "stress oksidatif". Peningkatan stress oksidatif pada penderita DM menyebabkan terjadinya peningkatan produksi MDA di dalam membran eritrosit. MDA merupakan petanda peroksidasi lipid. Untuk mengetahui secara dini komplikasi kronis dari DM dapat melalui pemeriksaan HbA1C, hal ini dilaporkan oleh Eti Yerizel dan Yophy A pada tahun 2000. Hasil penelitian menunjukkan terjadinya peningkatan kadar HbA1C sekitar 80% dari 30 penderita DM tipe 2 dengan kelainan pembuluh darah perifer.

Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu produk final dari peroksidasi lipid, senyawa ini terbentuk akibat degradasi dari radikal bebas hidroksil terhadap asam lemak tak jenuh. Selanjutnya ditransformasikan menjadi radikal yang sangat reaktif.

Kemampuan radikal hidroksil membentuk reaksi rantai dengan abstraksi satu atom hydrogen dari membran sel dan terbentuklah peroksida lipid. Kelanjutan dari reaksi ini terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa MDA, 9-hidroksi nonenal, etana dan pentane.<sup>(7)</sup> Untuk pengukuran kadar MDA dipakai metode kolorimetri dengan alat spektrofotometer spectronic 21 digital

Penggunaan tanaman mahkota dewa merupakan alternatif untuk mencegah efek radikal bebas pada DM. Selain itu dikenal juga beberapa obat antidiabetes seperti brotowali, mimba, daun salam dan lain-lain. Mahkota dewa sebagai obat asli Indonesia banyak digunakan untuk berbagai macam penyakit diantaranya sebagai anti-diabetes.

### **Radikal Bebas pada Diabetes Melitus**

Stress oksidatif berperan penting dalam berbagai macam penyakit degeneratif kronik seperti diabetes melitus. Oleh sebab itu radikal bebas dan diabetes melitus memiliki hubungan sebab akibat.

Pada diabetes melitus, reaksi radikal bebas jauh melebihi proteksi antioksidan jaringan tubuh penderita. Di dalam darah penderita diabetes melitus, peningkatan senyawa radikal bebas reaktif dan lipid peroksida bersamaan dengan penurunan antioksidan tubuh.

Peningkatan produksi radikal bebas pada diabetes melitus terjadi melalui tiga mekanisme, yaitu;<sup>(8)</sup>

#### **1. Polyol Pathway**

Merupakan jalur alternatif untuk metabolisme glukosa di mana pada penyakit diabetes melitus terjadi hiperglikemia dan

kekurangan insulin. Melalui jalur ini glukosa di dalam sel berubah menjadi sorbitol dengan bantuan enzim aldose reduktase. Pada polyol pathway ini juga dibutuhkan suatu koenzim yang dinamakan NADPH. Selain berperan sebagai koenzim, NADPH berperan dalam peningkatan penangkapan radikal bebas. Oleh sebab itu, pada polyol pathway fungsi NADPH dalam penangkapan radikal bebas menurun sehingga jumlah radikal bebas dalam tubuh meningkat.

#### **2. Autooksidasi Glukosa**

Terjadi peningkatan produksi radikal bebas berupa hidrogen peroksida dan aktivitas radikal superoksida, kerusakan enzim superoksid dismutase dan pembentukan protein glikasi dalam plasma penderita diabetes melitus

#### **3. Glikasi atau Glikasi Protein**

Glikasi menyebabkan ikatan ireversibel glukosa dengan molekul protein. Meskipun glikosilasi selalu terjadi di dalam tubuh manusia, reaksi ini akan meningkat ketika terjadi peningkatan kadar glukosa darah.

## **METODE PENELITIAN**

### **1. Pemeliharaan Hewan Percobaan**

Kandang dibersihkan terlebih dahulu sebelum digunakan dengan cara menyemprot formalin 10% sebagai desinfektan. Kandang ditempatkan dalam suhu kamar

dan mendapatkan cahaya secara tidak langsung. Kandang hewan berupa kandang kawat dengan alas yang menggunakan sistem battery sehingga kotoran langsung jatuh ke dalam bak penampung agar kotoran tersebut tidak berkontak dengan hewan percobaan. Bak penampung kotoran dibersihkan setiap hari dan di beri sekam agar kering dan tidak bau. Makanan dan minuman di beri secukupnya dalam wadah yang dibersihkan setiap hari.

## 2. Persiapan Hewan Percobaan

Sebelum penelitian dilakukan, mencit diaklimatisasi dalam kondisi laboratorium selama 1 minggu dan diberi makanan yang cukup. Pada hari terakhir diukur kadar glukosa darah puasa mencit dengan menggunakan *glucose meter*.

Tikus yang memiliki kadar glukosa darah puasa normal diambil secara acak dan dibagi ke dalam 3 kelompok di mana masing – masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus.

## 3. Pembuatan Ekstrak Buah Mahkota Dewa

Irisan daging buah kering mahkota dewa sebanyak 1 kg. Buah mahkota dewa yang telah dihaluskan, dimasukkan ke dalam sebuah botol gelap dan dima-serasi dengan 2 liter etanol 96% selama 5 hari sambil sesekali diaduk lalu disaring. Proses ini dilakukan sebanyak 3 kali. Filtrat etanol yang di dapat dari hasil

perendaman ketiga diuapkan dengan cara *invacuo* sampai di dapat ekstrak kental etanol.

## 4. Pembuatan Suspensi Sediaan Uji

Ekstrak etanol buah mahkota dewa dibuat suspensi dalam air dengan penambahan Na CMC 0,5% b/v. konsentrasi yang dibuat adalah 5,5% b/v, sehingga setiap 0,1 ml terdapat 5,5 mg ekstrak mahkota dewa. Untuk konsentrasi 5,5% ditimbang ekstrak 2750 mg, Na CMC 250 mg dan air suling 50 ml. Na CMC sebanyak 250 mg ditaburkan di atas air panas sebanyak 20 kalinya dalam lumpang panas, dibiarkan mengembang selama 15 menit, kemudian digerus menjadi massa yang homogen. Kemudian masukkan ekstrak, gerus homogen. Tambah-kan sedikit demi sedikit air sambil digerus sampai homogenad 50 ml. Volume pemberian sediaan uji 1% dari berat badan hewan percobaan dalam ml.

Hewan percobaan dibagi dalam 3 kelompok yang dikandangkan secara terpisah :

- Kelompok I (kontrol negatif) diberi makan dan minum *ad libitum*.
- Kelompok II (kontrol positif) mencit diinduksi dengan aloksan dengan dosis 175 mg/kgBB secara *intra peri-toneal*. Mencit yang dipilih untuk percobaan adalah yang memiliki glukosa darah di atas 200 mg/dl. Darah yang digunakan untuk

pemeriksaan kadar glukosa darah diambil dengan cara memotong ekornya.

- Kelompok III (perlakuan) diberikan aloksan dengan dosis 175 mg/kgBB intra peritoneal dan ekstrak mahkota dewa sebanyak 500 mg/kgBB dengan cara sonde oral setiap hari selama 10 hari

Pada hari ke 14, seluruh darah mencit diambil dengan cara memotong bagian leher dan diukur kadar MDA serum melalui metode Kalometrik.

#### Pengukuran Kadar MDA

Prinsip; pengaruh panas dan asam akan mempercepat dekomposisi lipid peroksida menjadi MDA. MDA diproduksi selama perok-sida dapat bereaksi dengan TBA menghasilkan kromogen merah muda. Intensitas warna diukur dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. Kadar MDA dengan satuan nmol/ml.

#### Hasil dan Pembahasan

Untuk menentukan dosis optimal aloksan yang bisa menyebabkan glukosa darah puasa hewan percobaan di atas 200 mg/dl, maka dilakukan uji percobaan pendahuluan terlebih dahulu. Dalam percobaan ini digunakan 4 ekor mencit yang masing-masingnya diberi variasi aloksan, yaitu; 125, 150, 175 dan 200 mg/kgBB.

Tabel. 1. Kadar Glukosa Darah Mencit dengan Variasi Dosis Aloksan

Dosis aloksan yang diberikan (mg/kgBB)	Glukosa darah awal (mg/dl)	Glukosa darah akhir (mg/dl)
125	87	189
150	81	193
175	83	201
200	86	220

Dari table.1. diatas dapat diketahui bahwa dosis minimal aloksan yang dapat menimbulkan DM dan dipakai dalam penelitian adalah sebesar 175 mg/kgBB.

Tabel 2. Kadar Malondialdehid (MDA) Serum Mencit Percobaan (nmol/ml)

No	Kelompok kontrol negatif	Kelompok kontrol positif	Kelompok perlakuan
1	3,87	5,08	4,13
2	4,15	4,73	4,27
3	4,11	6,16	3,55
Rata-rata	4,43 ± 0,02	5,32 ± 0,74	3,98 ± 0,38

Berdasarkan hasil dari tabel 2. terlihat bahwa kadar rata-rata MDA darah mencit pada kelompok kontrol negatif adalah 4,43 ± 0,02 nmol/ml, kelompok kontrol positif adalah 5,32 ± 0,74 nmol/ml dan pada kelompok perlakuan adalah 3,98 ± 0,38 nmol/ml.

#### Pembahasan

Berdasarkan hasil yang didapatkan. kadar MDA serum rata-rata pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan berturut-turut adalah 4,43 ± 0,02; 5,32 ± 0,74 dan 3,98 ± 0,38 nmol/ml. Kadar

MDA pada masing – masing kelompok menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $P=0.05$ ).

Pada kelompok kontrol negatif mencit hanya diberi makan dan minum seperti biasa, sehingga kadar MDA darahnya berada dalam batas normal (4,13 nmol/ml). Selanjutnya pada kelompok kontrol positif mencit diberi aloksan dengan dosis 175 mg/KgBB, akibat pemberian aloksan terjadi kerusakan sel beta pankreas sehingga mencit mengalami hiperglikemia yang menyebabkan terjadinya peningkatan produksi radikal bebas melalui tiga mekanisme, yaitu peningkatan aktivitas jalur poliol, glukotauksidasi dan glikasi protein. Peningkatan radikal bebas ini menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid membran, akibat reaksi ini maka lipid akan terurai menjadi malondialdehid (MDA). Peningkatan kadar MDA ( $5,32 \pm 0,74$  nmol/ml) pada kelompok ini sebagai gambaran stress oksidatif.

Pada kelompok perlakuan rata-rata kadar MDA 3,98 nmol/ml, karena pada kelompok ini mencit diberi ekstrak mahkota dewa sehingga kadar MDA mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini disebabkan karena kandungan dari mahkota dewa berupa senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan polifenol, semua senyawa ini bersifat antioksidan sehingga dapat merendam radikal bebas pada mencit DM akibat pemberian aloksan. Jadi berdasarkan hasil penelitian ini jelas terlihat bahwa penggunaan ekstrak mahkota dewa sebagai obat alami dapat menurunkan kadar MDA serum sebagai parameter dari reaksi oksidasi lipid pada DM di tingkat molekuler maka mahkota dewa sebagai antioksidan telah dapat merendam

radikal bebas pada mencit DM akibat pemberian aloksan.

### **Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut ;

1. Kadar MDA serum mencit pada masing-masing kelompok percobaan menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik.
2. Ekstrak mahkota dewa berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA serum mencit DM akibat pemberian aloksan.

### **Saran**

1. Perlu penelitian lebih lanjut untuk pemeriksaan aktivitas enzim-enzim antioksidan.
2. Melakukan isolasi senyawa aktif dari mahkota dewa dan mengaplikasikannya pada penelitian selanjutnya.

### **Daftar Pustaka**

1. Haryono, 2003. Mahkota dewa sebagai tanaman obat. Diakses dari: [www.database.deptan.go.id/tanaman\\_obat/mahkota\\_dewa](http://www.database.deptan.go.id/tanaman_obat/mahkota_dewa).
2. T. Okuda, 26-Antioxidant in Herbs. Polyphenols, Antioxidant Food Supplements in Human Health, 393 - 410, 1999.
3. Kardono BS. 2003, Kajian Kandungan Kimia Mahkota Dewa. Seminar sehari mahkota dewa. Jakarta.
4. Sumastuti R. Pengaruh infus daun dan buah mahkota dewa pada rahim marmot. Medika, 2004. hal.17.

5. Darvey.P. Diabetes Melitus. At a Glande Medicine. Terjemahan, Penerbit Erlangga. 2006.
6. Murray RK, Grammer DK, et all.2002 Harper's Biochemistry. Jakarta. EGC.
7. Askandar Tjokroprawiro, Angiopati Diabetik (makro dan mikro angiopati diabetik). Pengenalan dan Penanganan. Buku ajar IPD jilid I FKUI, Jakarta. 1999.
8. Suryohudono P. 2000. Oksidan, antioksidan dan radikal bebas. Pengaruh radikal bebas terhadap proses penuaan.