

ISSN: 0854 - 1159, VOL. 21 NO. 1 JANUARI - APRIL 2013

DAFTAR ISI

Artikel penelitian / Research articles:

Gambaran Low Back Pain pada Komunitas Fitness Center Dengan Instruktur dan Tanpa Instruktur di Yogyakarta

Profile of Low Back Pain in Fitness Center Communities With and Without Instructor in Yogyakarta

M. Ardiansyah Adi Nugraha, Daniswara

001-007

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kola (*Cola nitida*) Pada Kualitas Sperma Manusia In Vitro

Effect of Kola (Cola Nitida) Leaf Extract on Human Sperm Quality In Vitro

T. Susmiarsih dan Susi Endrini

008--013

Purifikasi Parsial dan Karakterisasi β -Galactosidase dari *Lactobacillus plantarum* Strain D-210

*Partial Purification and Characterization of β -Galactosidase from *Lactobacillus plantarum* Strain D-210*

**Nur Nunu Prihantini, Tatik Khusniati, Maria Bintang, Abdul Choliq dan Sulistiani
Efek Ekstrak Etanol Akar Anting-Anting (*Acalypha indica*) terhadap Libido Mencit**

014-026

The Effect of Anting-Anting Root Ethanol Extract on Sexual Arousal of Mice

Cut Yasmin, Kartini Eriani, Widya Sari

027-032

Pengaruh Infusa Wortel (*Daucus carota* L.) Terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Jantan Yang Diinduksi Uranium

*The Influence of Carrot (*Daucus carota* L.) Infusion on the Histopathology of Kidney Male Rats Induced by Uranium*

Windhartono W., Zainul Kamal, Ediati Sasmito

033-040

Studi kepustakaan/Review article:

Disfungsi Telomer Pada Penyakit Autoimun

Telomere Dysfunction in Autoimmune Diseases

Endang Purwaningsih

041-049

JURNAL KEDOKTERAN YARSI

JURNAL KEDOKTERAN YARSI merupakan jurnal ilmiah yang telah diakreditasi oleh DIRJEN DIKTI DEPDIKNAS RI dan diterbitkan tiga kali setahun. Jurnal ini disebarluaskan pada seluruh fakultas kedokteran negeri dan swasta, lembaga-lembaga penelitian kedokteran/kesehatan, rumah sakit terpilih, perpustakaan nasional dan lembaga-lembaga lain terpilih.

Jurnal ini terutama menerima tulisan asli laporan penelitian, sementara studi kepustakaan dan bedah buku merupakan pelengkap. Setiap tulisan yang dimuat dalam jurnal ini akan dinilai lebih dahulu oleh mitra bestari (peer reviewer) yang merupakan pakar di bidang yang sesuai.

Tulisan yang dimuat dalam jurnal ini merupakan tanggung jawab ilmiah para penulis dan tidaklah otomatis mencerminkan pandangan redaksi.

PENDIRI

Prof. Dr. H. Jurnalis Uddin, PAK.

PELINDUNG

Rektor Universitas YARSI

PEMIMPIN REDAKSI

Susi Endrini, SSi, MSc, PhD.

DEWAN REDAKSI

Prof. Dr. Abdul Salam M. Sofro, PhD, SpKT(P); Susi Endrini, SSi, MSc, PhD.; Prof. Dr. H. Jurnalis Uddin, PAK.; DR. Drh. Hj. Titiek Djannatun; Dr. H. Insan Sosiawan A Tunru, PhD.; Dr. Salmy Nasir, SpPA.; Prof. DR. Dr. H. Armen Mukhtar, DAF DCP, SpFK(K); Dr. Suharti K. Suherman, SpFK.; Dr. Hj. Rika Yuliwulandari, PhD.; Prof. Dr. Haryoto Kusnoputranto, SKM DR.PH; Prof. DR. Buchari Lapau, Dr. MPH; Dr. Sumedi Sudarsono, MPH; Prof. DR. Oentoeng Soeradi; Dr. Din Syafruddin, PhD.; Prof. DR. Endang Purwaningsih, MS, PA; Prof. Dr. Siti Budina Kresno, SpPK; Prof. DR. Dr. Rustadi Sosrosumihardjo, DMM,MS, SpPK(K); Prof. Dr. H. Husein Alatas, SpA(K); DR. Dr. Tjahyono D. Gondhowiardjo, SpM; DR. Dr. Ratna Sitompul, SpM(K); Prof. Dr. Zubaeri Djoerban, SpPD, KHOM; Prof. DR. Ir. Suminar S. Achmadi; Chandra Prasetyo Utomo, MS

PENYUNTING

DR. Dr. Artha Budi Susila Duarsa, M.Kes; DR. Drg. Hj. Helwiah Umniyati, MPH;
DR. Much.Restu Syamsul Hadi, M.Kes.

SEKRETARIS REDAKSI

Yos Sugandi

PENERBIT

Fakultas Kedokteran
UNIVERSITAS YARSI
Jakarta

PERCETAKAN

CV. Langgeng Sejati, Jakarta

UCAPAN TERIMA KASIH

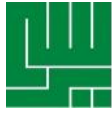
Ucapan terima kasih dan penghargaan diberikan kepada para pakar yang telah diundang sebagai penelaah oleh Jurnal Kedokteran YARSI dalam Volume 21. Berikut ini adalah daftar nama pakar yang berpartisipasi:

Prof. Dr. Abdul Salam M. Sofro, PhD, SpKT(P); Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran
Universitas YARSI, Jakarta

Prof. Dr. Jurnal Uddin, PAK; Departemen Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas YARSI,
Jakarta

Prof. Dr. Endang Purwaningsih, MS, PA, Departemen Anatomi/Biologi, Fakultas Kedokteran
Universitas YARSI, Jakarta

Prof. Dr. Ir. Suminar S. Achmadi; Departemen Kimia Institut Pertanian Bogor



Gambaran *Low Back Pain* pada Komunitas *Fitness Center* Dengan Instruktur dan Tanpa Instruktur di Yogyakarta

Profile of Low Back Pain in Fitness Center Communities With and Without Instructor in Yogyakarta

M. Ardiansyah Adi Nugraha¹, Daniswara²

¹Department of Neurology, Faculty of Medicine, Muhammadiyah University, Yogyakarta

²Student of Faculty of Medicine, Muhammadiyah University, Yogyakarta

KATA KUNCI *Nyeri Pinggang Bawah; pusat kebugaran; latihan; pemanasan*
KEYWORDS *Low Back Pain; fitness center; exercise; warming up*

ABSTRAK *Prevalensi Low Back Pain (LBP) atau nyeri punggung bawah sepanjang hidup adalah antara 60-90% dan di AS sebanyak 30% atlet pernah mengalami LBP akut karena efek latihan yang mereka lakukan. Pada saat ini di Indonesia telah muncul komunitas-komunitas pusat kebugaran yang melakukan berbagai macam latihan untuk membentuk tubuh atau memperbaiki kebugaran mereka. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui demografi nyeri punggung bawah pada komunitas fitness center di Yogyakarta.*

Penelitian ini merupakan penelitian cross sectional dengan pendekatan secara observasi. Populasinya adalah semua anggota komunitas pusat kebugaran baik laki-laki maupun perempuan yang diambil secara acak sejumlah 90 sampel. Berdasarkan umur, sampel dibagi menjadi 3 kelompok umur yaitu 18-30, 31-50, dan >50 tahun. Penelitian dilakukan di 3 tempat yaitu Kartika Dewi Group, Lembah Fitness, dan Bahtera Fitness Center. Setelah diperoleh data yang dibutuhkan, kemudian dilakukan pengolahan data dengan menggunakan frequency, cross tabulation, dan uji Chi Square.

Hasil analisis deskriptif menunjukkan sebanyak 36 dari 90 sampel atau 40% menyatakan pernah mengalami nyeri punggung bawah LBP setelah selama ini melakukan latihan di pusat kebugaran. Hasil uji statistik dengan menggunakan cross tabulation dan Chi square test menunjukkan tidak signifikannya pengaruh umur, jenis kelamin, dilatih oleh instruktur, lama dan frekuensi berlatih dengan timbulnya kejadian LBP dengan nilai $p > 0.05$. Penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh antara umur, jenis kelamin, dilatih oleh instruktur, lama berlatih dan frekuensi berlatih dengan timbulnya kejadian LBP pada komunitas pusat kebugaran dan kejadian LBP yang cukup tinggi pada komunitas pusat kebugaran yaitu sebesar 40%.

ABSTRACT *The prevalence of life long low back pain (LBP) is about 60-90% and approximately 30% athletes in the US ever suffered from acute LBP because of exercise effect they had practiced. Nowadays, fitness communities have been growing in Indonesia with so many exercises for keeping body shape or health. This study was performed to find out LBP demography in fitness centre communities in Yogyakarta.*

A cross sectional study design was employed and an observational approach was

used for data collection. Population and subject selected were all of community member either male or female taken by purposive method. Based on the age, samples were divided into 3 groups i.e. group of 18-30, 31-50, and >50 years. This study was done in 3 community fitness centers i.e. Kartika Dewi Group, Lembah Fitness, and Bahtera Fitness Centre. A special questionnaire was used to collect the data and frequency distribution, cross-tabulation and Chi-Square test were used for statistical analysis.

Descriptive analysis result showed 36 out of 90 subjects or 40% ever suffered from LBP following exercise in fitness center. Statistical analysis by using cross tabulation and Chi square test showed that the influence of age, gender, trained by instructor, duration and frequency of exercise on LBP incidence was not significant and the P value was > 0.05. In conclusion, age, gender, trained by instructor, long duration and exercise frequency had no influence on LBP incidence in fitness center community. The LBP incidence was relatively high in fitness center community i.e. about 40% of the sample.

Peningkatan jumlah orang dewasa dan remaja yang secara teratur berpartisipasi dalam aktivitas atletik telah meningkatkan angka kejadian cedera punggung bawah yang biasa terjadi (luka memar, *overstretching*, maupun robek ringan sampai sedang jaringan lunak paraspinal). Di AS, angka kejadian kumulatif sepanjang hayat nyeri punggung bawah atau *Low Back Pain* (LBP) adalah mendekati 80%, dengan hampir 30% atlet pernah mengalami LBP akut yang dianggap karena berpartisipasi dalam olahraga. Rata-rata tertinggi LBP ditemukan pada pemain sepakbola, pesenam, pegulat dan pendayung yang didukung dengan penelitian pada 4790 akademi atlet dengan insidensi cedera vertebra lumbal sebanyak 7%, paling banyak pada pemain sepakbola dan pesenam (Dunn *et al.*, 2007).

Kesalahan dalam pemilihan latihan fisik yang dilakukan di pusat kebugaran dapat menimbulkan nyeri pinggang bawah. Latihan fisik yang dipilih dan dilakukan tidak hanya menentukan seberapa besar, kuat dan fleksibel otot seperti yang diinginkan, tetapi juga berpengaruh pada fungsi tubuh dan apakah menderita nyeri dan cedera seperti nyeri punggung dan ada tidaknya nyeri skiatika (Cannone, 2005). Kesalahan-kesalahan dalam melakukan latihan yang

cocok untuk masing-masing individu, dapat diminimalisasi dengan bantuan seorang instruktur. Umumnya, rata-rata orang dan atlet yang masih amatir sering bingung dalam hal kebugaran tubuh, informasi kesehatan dan isu-isu yang berhubungan dengan olahraga. Oleh karena itu mereka membutuhkan seseorang yang mempunyai kemampuan tinggi dan mempunyai pengalaman di bidangnya untuk membantu yaitu seorang pelatih atau instruktur (Ebel, 2006).

Latihan fisik baik di pusat kebugaran maupun di rumah jika dilakukan dengan benar dapat mencegah maupun mengurangi derajat nyeri penderita LBP. Setelah melakukan aktivitas fisik selama 5 tahun sesuai dengan program dari peneliti, baik laki-laki atau wanita yang menderita LBP dilaporkan mengalami penurunan intensitas nyeri dan ketidakmampuan (*disability*), namun hanya beberapa yang sembuh total (Mortimer *et al.*, 2007). Latihan yang meregangkan dan menguatkan otot abdomen dan tulang belakang dapat membantu mencegah masalah pada tulang belakang (The UMHS Clinical Care Guidelines Committee, 2007).

Correspondence:

M. Ardiansyah Adi Nugraha, Department of Neurology, Faculty of Medicine, Muhammadiyah University, Yogyakarta, Jalan Pendidikan Sonopakis, Ngestihardjo, Kasihan, Bantul, Yogyakarta.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana demografi nyeri punggung bawah atau *Low Back Pain* (LBP) pada komunitas *fitness center* di Yogyakarta.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian dilaksanakan dengan rancangan *cross sectional* dan data diperoleh dengan menggunakan metode observasi. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Februari tahun 2009 di 3 tempat yaitu Kartika Dewi Group, Lembah Fitness, dan Bahtera Fitness Center, Yogyakarta.

Populasi dalam penelitian ini adalah semua anggota komunitas *pusat kebugaran* di Kartika Dewi Group, Lembah Fitness, dan Bahtera Fitness. Adapun subjek dalam penelitian ini adalah anggota komunitas *pusat kebugaran* yang bersedia untuk mengikuti penelitian ini dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi meliputi semua anggota *pusat kebugaran*. Kriteria eksklusi meliputi orang yang sudah mengalami nyeri punggung bawah terlebih dahulu sebelum melakukan latihan di *pusat kebugaran*. Teknik yang digunakan dalam penetapan dan pengambilan subjek sebagai sampel adalah secara random dengan jumlah subjek sebanyak 90 orang.

Alat dan bahan penelitian yang digunakan adalah kuesioner yang berisi identitas subjek, pertanyaan-pertanyaan yang berhubungan dengan latihan di *pusat kebugaran*, VAS, dan lama nyeri yang dirasakan. Langkah-langkah penelitian ini meliputi pendistribusian dan pengisian kuesioner dengan terlebih dahulu mengisi *informed consent*.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah anggota komunitas *pusat kebugaran* dan sebagai variabel terikat adalah timbulnya nyeri punggung bawah. Variabel pengganggu pada penelitian ini adalah menderita

nyeri punggung bawah terlebih dahulu sebelum melakukan latihan di *pusat kebugaran*.

Data dari kuesioner yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis deskriptif berupa *frequency* dan *cross tabulation* untuk mengetahui demografi nyeri punggung bawah di *fitness center*. Sementara itu untuk mengetahui ada tidaknya hubungan timbulnya nyeri punggung bawah dengan umur, jenis kelamin, lama dan frekuensi berlatih serta penggunaan instruktur digunakan uji *Chi Square*.

HASIL

Pada penelitian ini subjek yang dapat diperiksa berjumlah 90 orang. Karakteristik subjek yang diperiksa meliputi jenis kelamin, umur, lama berlatih, frekuensi berlatih, dan penggunaan instruktur selama latihan. Subjek dibagi menjadi beberapa kelompok berdasarkan jenis kelamin, kelompok umur (18-30 tahun, 31-50 tahun, dan >50 tahun), lama berlatih, frekuensi berlatih, dan penggunaan instruktur.

Hasilnya sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 1, sebagian besar subjek (70%) berlatih lebih dari 1 bulan, sedangkan sisanya (30%) berlatih kurang dari 1 bulan. Sebanyak 42,2% responden pernah mengalami LBP setelah selama ini melakukan latihan di *pusat kebugaran*, tetapi sebanyak 2 orang responden tersebut mengalami LBP sebelum melakukan latihan di *pusat kebugaran*. Ini dapat dimasukkan dalam kriteria eksklusi sehingga responden yang mengalami *low back pain* setelah selama ini melakukan latihan adalah sebanyak 40%. Tabel 1 juga menunjukkan bahwa *low back pain* (LBP) yang terjadi kebanyakan berupa nyeri akut (≤ 3 Bulan) yaitu sebanyak 91,7% dan hanya 8,3% yang menderita nyeri kronik (> 3 Bulan).

Tabel 1. Hasil pengamatan beberapa kriteria komunitas tiga *pusat kebugaran* (Kartika Dewi Group, Lembah Fitness, dan Bahtera Fitness) di Yogyakarta

Kriteria		Jumlah	Persentase (%)
Lama Berlatih	<1 Bulan	27	30
	>1 Bulan	63	70
Frekuensi Latihan dalam 1 minggu (kali)	2	3	3,3
	3	26	28,9
	4	16	17,8
	5	19	21,1
	6	15	16,7
	7	11	12,2
Instruktur	Ya	42	46,7
	Tidak	48	53,3
LBP setelah latihan	Ya	38	42,2
	Tidak	52	57,8
LBP sebelum latihan	Ya	11	12,2
	Tidak	79	87,8
VAS	Tidak Nyeri (0)	7	19,4
	Nyeri Ringan (1-4)	11	30,6
	Nyeri Sedang (5-6)	10	27,8
	Nyeri Berat (7-10)	8	22,2
Lama Nyeri	Akut (≤ 3 Bulan)	33	91,7
	Kronik (> 3 Bulan)	3	8,3

Tabel 2 menunjukkan hasil *cross tabulation* antara umur, lama berlatih, frekuensi berlatih dalam 1 minggu dan dilatih tidaknya oleh instruktur terhadap timbulnya LBP setelah melakukan latihan. Kemudian hasil tersebut diuji dengan menggunakan *Chi Square test* untuk mengetahui signifikansinya. Pada Tabel 2 didapatkan adanya perbedaan kelompok umur pada responden, yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu 18-30, 31-50 dan >50 tahun, tetapi tidak mempengaruhi kejadian timbulnya LBP ($p>0.05$). Hal serupa juga tampak pada lama responden berlatih yaitu tidak adanya pengaruh pada kejadian timbulnya LBP pada

lama berlatih <1 bulan dan >1 bulan ($p>0.05$). Perbedaan yang tidak signifikan ($p>0.05$) juga terlihat antara frekuensi latihan setiap minggunya dengan kejadian timbulnya LBP. Hal ini menunjukkan bahwa frekuensi latihan setiap minggu tidak berpengaruh pada timbulnya kejadian LBP. Kejadian timbulnya LBP juga tidak dipengaruhi oleh ada tidaknya instruktur yang melatih, karena tak ada perbedaan signifikan ($p>0.05$) antara yang dilatih maupun tidak dilatih oleh instruktur. Dengan kata lain, dilatih atau tidaknya responden oleh instruktur tidak berpengaruh terhadap timbulnya LBP.

Tabel 2. Hasil tabulasi hubungan antara Umur, Lama berlatih, Frekuensi latihan dalam 1 minggu, dan dengan/tanpa Instruktur Terhadap Timbulnya LBP

		LBP setelah melakukan latihan		P value
		Tidak	Ya	
Umur (Tahun)	18-30	36	31	.340
	31-50	15	7	
	>50	1	0	
Lama berlatih	<1 bulan	18	9	.264
	>1 bulan	34	29	
Frekuensi latihan dalam 1 minggu	2	2	1	.466
	3	16	10	
	4	8	8	
	5	14	5	
	6	6	9	
	7	6	5	
Dilatih oleh Instruktur	Tidak	25	23	.242
	Ya	27	15	

PEMBAHASAN

Sebanyak 36 responden (40%) anggota komunitas *pusat kebugaran* pernah mengalami episode nyeri punggung bawah setelah beberapa waktu melakukan latihan. Hal ini tidak jauh berbeda dengan insidensi kejadian LBP pada atlet profesional yaitu berkisar antara 1-30% dimana pesenam dan pegulat mempunyai insidensi yang paling tinggi untuk menderita LBP dengan insidensi 70% dan 59% (Graw & Wiesel 2008).

Cedera yang dialami oleh *weightlifter*, *powerlifter*, *bodybuilders*, maupun atlet amatir dan profesional yang menggunakan latihan beban disebabkan oleh 2 faktor yaitu, faktor eksternal antara lain rusaknya peralatan, bertabrakan dengan lawan, maupun program latihan yang melebihi toleransi musculoskeletal atlet tersebut. Disamping itu ada faktor yang dapat dikontrol yaitu antara lain kurang pemanasan, peregangan yang berlebihan, teknik yang buruk, perubahan berat tubuh yang cepat, kurang konsentrasi,

belum pulih dari cedera, maupun nutrisi yang kurang mencukupi (Ames, 1998).

Dari responden yang menyatakan nyeri setelah melakukan latihan di pusat kebugaran, sebagian besar yaitu sebanyak 91,7% menyatakan bahwa nyeri yang dirasakan menetap selama kurang dari 3 bulan atau termasuk dalam nyeri akut. Sebagian besar kasus nyeri punggung bawah atau LBP adalah akut dan dapat membaik dalam 4-6 minggu (American Academy of Family Physicians, 2009). Nyeri punggung bawah tersering adalah karena tegang otot atau ligament karena melakukan latihan yang berlebihan (Graw & Wiesel 2008).

Dari data yang telah diperoleh dan telah dianalisis, ternyata perbedaan kelompok umur pada komunitas *pusat kebugaran* tidak mempengaruhi kejadian timbulnya *low back pain*. Puncak insidensi kejadian nyeri punggung bawah adalah pada kelompok umur antara 30 sampai 50 tahun (Graw & Wiesel, 2008), sedangkan menurut penelitian lain cedera pada punggung bawah

dan atas serta bahu pada komunitas *pusat kebugaran* paling banyak terjadi pada remaja dan dewasa Lombardi (1992). Peningkatan jumlah orang dewasa dan remaja yang secara teratur berpartisipasi dalam aktivitas atletik meningkatkan kewaspadaan terjadinya cedera pada punggung bawah (Dunn *et al.*, 2007).

Ditinjau dari sudut jenis kelamin pada komunitas *pusat kebugaran* ternyata laki-laki lebih banyak yang mengalami kejadian LBP yaitu sekitar 49,15% daripada kejadian yang timbul pada perempuan yaitu sebanyak 29,03%. Memang, LBP lebih sering terjadi pada wanita daripada laki-laki (Graw & Wiesel, 2008). Prevalensi pada wanita banyak terjadi pada wanita yang *overweight*, dukungan social yang rendah, inaktivitas fisik, perokok, usia lanjut, tidak bekerja dan golongan sosioekonomi yang rendah (Schneider *et al.*, 2006).

Perbandingan antara responden yang menggunakan instruktur dengan yang tidak menggunakan instruktur selama latihan menunjukkan tidak ada pengaruh pada timbulnya LBP. Salah satu penyebab timbulnya kejadian LBP pada komunitas pusat kebugaran adalah kesalahan dalam memilih latihan yang sesuai dengan masing-masing individu. Biasanya yang menimbulkan terjadinya LBP adalah latihan *leg extention* dan *bench press* (Cannone, 2005). Penyebab yang lain terjadinya cedera waktu melakukan latihan di *pusat kebugaran* adalah kurangnya teknik dalam menggunakan alat latihan, selain itu juga dapat karena kurangnya pemanasan, melakukan latihan melebihi batas kemampuannya, maupun melakukan latihan sebelum rehabilitasi lengkap (Stone *et al.*, 1994).

Hasil analisis hubungan frekuensi dan lama berlatih pada komunitas *pusat kebugaran* dengan kejadian timbulnya LBP menunjukkan tidak adanya hubungan atau pengaruh lama dan frekuensi berlatih dengan timbulnya LBP. Dari berbagai penelitian yang terkait kebugaran serta olahraga dengan

timbulnya LBP dapat disimpulkan tidak adanya hubungan antar keduanya. Sementara itu, latihan dan seringnya berpartisipasi dalam olahraga meningkatkan risiko terjadinya LBP maupun mempercepat degenerasi diskus (Rainville, 2003).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Kartika Dewi Group, Lembah Fitness, dan Bahtera Fitness, dapat disimpulkan bahwa insidensi LBP atau Nyeri Punggung Bawah pada komunitas *pusat kebugaran* adalah sebesar 40%. Kejadian LBP lebih banyak diderita laki-laki daripada perempuan dan sebagian besar merupakan nyeri akut. Tidak terbukti adanya pengaruh usia, penggunaan instruktur, lama dan frekuensi berlatih setiap minggunya dengan timbulnya nyeri punggung bawah pada komunitas *pusat kebugaran*.

Penelitian lebih lanjut masih diperlukan terutama tentang faktor-faktor yang dapat mempengaruhi atau bahkan mengurangi timbulnya LBP pada komunitas *pusat kebugaran*. Disamping itu perlu dikaji pula bentuk latihan yang berisiko dan yang tidak berisiko menimbulkan nyeri punggung bawah.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada pimpinan dan anggota Kartika Dewi Group, Lembah Fitness dan Bahtera Fitness Yogyakarta atas kerjasama yang baik untuk berlangsungnya penelitian ini.

KEPUSTAKAAN

- American Academy of Family Physicians. 2009. Caring for Patients Who Have Chronic Low Back Pain.
- Ames R 1998. Weightlifting injuries and their chiropractic management: a clinical review. A clinical framework for management In Journal of Sports Chiropractic & Rehabilitation 1998 Jun 12, 2, p. 65-70, 105-6 (28 ref) Author

- Cannone J 2005. Body Building Sins that Cause Back Pain & Missed Workouts. *Body Building*. Diakses 10 April 2008, dari <http://www.bodybuilding.com/fun/jessec14.htm>
- Dunn IF, Proctor MR, & Day AL 2007. Lumbar Spines Injuries in Athletes. *The Medscape Journal*. Diakses 13 April 2008, dari <http://www.medscape.com/viewarticle/553959>
- Ebel K 2006. Choosing a Health, Fitness, or Sports Training Expert. *NtS Athletic Development*. Diakses 22 April 2008, dari http://www.nts-ad.com/choosing_an_expert.htm
- Graw, Bradley P and Sam W Wiesel 2008. Low Back Pain in the Aging Athlete. *Sports Med Arthrosc Rev* _ Volume 16, Number 1, March 2008
- Lombardi 1992. Recreational Weight training Injuries & Deaths: Trends Over The Most Recent Decade In The U.S. *Medicine and Science in Sports and Exercise* S98, 27(5).
- Mortimer M, Pernold G, Wiktorin C 2007. Low Back Pain in a General Population. Natural Course and Influence of Physical Exercise-A 5-Year Follow-up of the Musculoskeletal Intervention Center-Norrträlje Study. *The Medscape Journal*. Diakses 9 April 2008, <http://www.medscape.com/viewarticle/551814>
- Rainville, James 2003. Exercise for Low Back Pain: What it Can and Cannot Do For Your Patients. New England Baptist Hospital Harvard Medical School
- Schneider S, Randoll D, Buchner M 2006. Why do women have back pain more than men? A representative prevalence study in the federal republic of Germany. *Clin J Pain*. 2006 Oct; 22(8):738-47.
- Stone M *et al.*, 1994. Injury Potential and Safety Aspects of Weightlifting Movements Strength and Conditioning 16(3):15-21, 1994.
- The UMHS Clinical Care Guidelines Committee. 2007. Low Back Pain Exercises. *University of Michigan Health System*. Diakses 9 April 2008, dari <http://www.med.umich.edu/1libr/guides/Adult%20LBP%20Exercises.pdf>



Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kola (*Cola nitida*) Pada Kualitas Sperma Manusia *In Vitro*

Effect of Kola (Cola Nitida) Leaf Extract on Human Sperm Quality In Vitro

T. Susmiarsih¹ dan Susi Endrini²

¹Department of Biology, Faculty of Medicine, YARSI UNIVERSITY, Jakarta

²Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, YARSI UNIVERSITY, Jakarta

KATA KUNCI Kola; kualitas sperma; motilitas; integritas membrane
KEYWORDS Cola nitida; sperm quality; motility; membrane integrity

ABSTRAK Studi terhadap tanaman yang berpengaruh terhadap proses reproduksi masih menjadi skala prioritas. Salah satunya adalah Kola (*Cola nitida*), yang dikenal mempunyai efek stimulan. Telah dilakukan studi untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun Kola terhadap viabilitas, motilitas dan integritas membran spermatozoa manusia *in vitro*. Sampel sperma diperoleh dari 20 orang pria dengan kategori normozoospermia. Sampel semen dibagi menjadi 1 kelompok kontrol (kontrol negatif) dan 2 kelompok perlakuan dengan ekstrak daun Kola (0.05% dan 0.025%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun Kola tidak berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa tetapi secara bermakna meningkatkan motilitas dan integritas membran spermatozoa ($p < 0.05$). Hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun Kola berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa manusia *in vitro*.

ABSTRACT Study on medicinal plants that have potential effect on reproductive process is still important to be done. One of the plant is Kola (*Cola nitida*) that has a stimulant effect. This study evaluated the effects of Kola leaf extract toward viability, motility and membrane integrity on human sperm *in vitro*. Normozoospermia semens from twenty volunteers were taken and divided into 3 groups: 1 group was treated as control and 2 groups were treated with Kola leaf extracts (0.05% dan 0.025%). The results showed that Kola leaf extract had no significant effect in viability but increased significantly ($p < 0.05$) the motility and membrane integrity. It indicates that Kola leaf extract influences human semen quality *in vitro*.

Kola merupakan tanaman asli Afrika Barat dan Sudan yang sejak dulu banyak dikonsumsi untuk stimulan. Ekstrak biji kola digunakan dalam industri makanan sebagai bahan penambah rasa. Dua spesies tanaman yang banyak dipakai dalam industri makanan adalah *Cola nitida* (Vent.) Schott et

Endl. dan *Cola acuminata* (Beauv.) Schott et Endl. dari famili Sterculiaceae.

Correspondence:

T. Susmiarsih, Department of Biology, Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta, Jalan Letjen. Suprpto, Cempaka Putih, Jakarta Pusat 10510, Telephone 021-4206674-76, Facsimile: 021-4244574, email: tri.panjiasih@yarsi.ac.id

Tanaman Kola banyak mengandung metabolit sekunder antara lain alkaloid, saponin, tanin dan cardenolida. Tanaman ini mengandung banyak kafein, proantosianidin dan katecin. Kandungan senyawa yang banyak terdapat dalam biji Kola adalah metilxantin (yaitu kafein dan theobromin), flavanoid, antosianin dan tanin (Harborne *et al.*, 1999a,b,c; Burdock, 2005). Penelitian membuktikan bahwa metabolit sekunder pada daun Kola (*Cola nitida* (Vent.) Schott & Endl., *Cola millenii* and *Cola gigantea* A. Chev.) dapat berfungsi sebagai anti mikroba (Sonibare *et al.*, 2009). Proantosianidin Kola secara aktif dapat menghambat *reactive oxygen species* (ROS) (Daels-Rakotoarison *et al.*, 2003), ekstrak biji Kola dapat menginduksi perubahan bifasik aktivitas lokomotor mencit pada dosis dan durasi tertentu, meningkatkan aktivitas lokomotorik pada dosis 5 mg/kg dan berefek depresif pada dosis 10 mg/kg (Ajarem, 1990).

Kafein, merupakan senyawa alkaloid purin (1, 3, 7-trimethylxanthine), yang dapat ditemukan dalam beberapa minuman populer seperti kopi, teh, coklat dan kola. Pada anak-anak dan orang dewasa, konsumsi kafein tertinggi berasal dari industri yang mengolah kola. Beberapa penelitian kafein pada organ reproduksi antara lain kafein dihubungkan dengan peningkatan aborsi secara spontan, menurunkan kesuburan wanita namun tidak berpengaruh pada kesuburan pria (Nawrot *et al.*, 2003 dan Dlugosz *et al.*, 1992). Pengaruh Kola pada organ reproduksi masih kontroversi dan belum banyak dipelajari, informasi tentang farmakologi dan toksikologi kafein dalam Kola masih sedikit karena data biologik yang ada sangat terbatas dan diyakini efek toksikologi kafein berbanding lurus dengan dosis pemakaiannya. Kafein dapat dimetabolisme menjadi paraxantin (1,7-dimethylxanthin), theofilin (1,3-dimethylxantin) dan theobromin (3,7-dimethylxantin). Pada

manusia, kafein lebih banyak dimetabolisme menjadi paraxantin dalam sistem mikrosomal oksidatif P-450 hati. Metabolisme kafein dipengaruhi antara lain oleh genetik, merokok, kehamilan, gangguan hati dan umur (Dlugosz dan Bracken, 1992). Konsumsi kafein dalam jumlah tinggi dapat menurunkan konsentrasi, jumlah dan morfologi sperma (Jensen *et al.*, 2009).

Sehubungan masih belum banyaknya penelitian tentang Kola pada organ reproduksi dan bahan ini sering digunakan dalam industri makanan maka perlu dilakukan penelitian pengaruh ekstrak daun Kola terhadap beberapa parameter spermatozoa. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh ekstrak daun Kola terhadap motilitas, viabilitas dan integritas membran sperma *in vitro*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menyumbangkan referensi mengenai peran Kola terhadap fungsi reproduksi pria.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Serbuk simplisia daun Kola 500 gram dimasukkan dalam wadah labu erlenmeyer dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1 liter, kemudian dilakukan perendaman selama 48 jam sambil dikocok sesekali dan ditutup rapat. Ekstrak etanol yang didapat dengan penyaringan kemudian diuapkan menggunakan rotari evaporator hingga didapat ekstrak pekat.

Sampel semen sebanyak 20 orang berasal dari pria yang telah memiliki anak atau istrinya sedang hamil. Semen diperoleh secara masturbasi dengan abstenensia paling sedikit tiga hari dari pengeluaran semen terakhir. Kriteria semen yang diambil sebagai sampel adalah semen yang tergolong normozoospermia, yaitu jumlah sperma minimal 20 juta/ml, volume semen minimal 2 ml dan kecepatan gerak sperma 12 detik/0.05 mm.

Cara Kerja

Sperma kategori normozoospermia dikoleksi dengan metode *percoll-density gradient centrifugation* 90% dan 45%. Secara berurutan, 1 ml larutan *percoll* 90% dimasukkan ke dalam tabung falcon 15 ml, kemudian 1 ml larutan *percoll* 45% dimasukkan secara perlahan ke dalam tabung agar tidak tercampur dengan larutan *percoll* sebelumnya, selanjutnya 1 ml sampel semen manusia dimasukkan secara perlahan ke dalam tabung sehingga terbentuk tiga lapisan. Tabung falcon disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 30 menit. Supernatan dibuang dan *pellet* yang ter-sedimentasi di bagian bawah tabung disuspensikan dengan 3 ml medium Cramer. Suspensi di bagi menjadi 3 kelompok, masing-masing sejumlah 1 ml dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 0.5 jam. Ketiga kelompok tersebut adalah kontrol negatif/PI (*pellet* dalam medium cramer), perlakuan 0.05% ekstrak Kola/PII (*pellet* dalam medium cramer ditambah 0.05% ekstrak Kola) dan perlakuan 0.025% ekstrak Kola/PIII (*pellet* dalam medium cramer ditambah 0.025% ekstrak Kola). Setelah

diinkubasi, dilakukan uji motilitas (dihitung jumlah sperma motil dalam prosentase), uji viabilitas (dihitung jumlah sperma hidup yang telah diwarnai dengan Eosin Nigrosin, dalam prosentase) dan integritas membran sperma (dengan uji *Hypoosmotic Swelling/HOS*, dalam prosentase).

Data yang diperoleh dari setiap kelompok dievaluasi secara statistika. Jika data berdistribusi normal dan homogen, dilakukan uji anova satu arah. Jika data berdistribusi tidak normal, dilakukan uji Friedman dan dilanjutkan dengan uji perbandingan multipel.

HASIL

1. Motilitas sperma

Nilai rata-rata motilitas sperma pada kelompok PI, PII dan PIII adalah 72.5%, 89.07% dan 82.13% (Tabel 1). Setelah dilakukan analisis statistik, PII berbeda secara bermakna dengan PI ($p=0.002$). Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun Kola 0.05% dapat meningkatkan motilitas spermatozoa.

Tabel 1. Nilai rata-rata $\pm$ SD parameter kualitas sperma yang diukur dari masing-masing kelompok

Perlakuan	Motilitas sperma (% sp motil)	Viabilitas sperma (% sp hidup)	Integritas membran (% sp HOS positif)
Kontrol negatif/PI	72.50 $\pm$ 4.57	74.00 $\pm$ 10.85	69.57 $\pm$ 6.11
Ekstrak Kola 0.05%/PII	89.07 $\pm$ 6.43*	78.33 $\pm$ 11.91	85.27 $\pm$ 8.31*
Ekstrak Kola 0.025%/PIII	82.13 $\pm$ 7.43 (* $p=0.002$, $p<0.05$)	75.73 $\pm$ 14.22 ($p=0.77$, $p>0.05$)	77.67 $\pm$ 6.79 (* $p=0.005$, $p<0.05$)

2. Viabilitas sperma

Nilai rata-rata viabilitas sperma pada kelompok PI, PII dan PIII adalah 74.0%, 78.33% dan 75.33% (Tabel 1). Setelah dilakukan analisis statistik, PI dan PII tidak berbeda

bermakna dengan nilai $p>0.05$. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun Kola 0.05% dan 0.025% tidak berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa.

3. Integritas membran sperma

Nilai rata-rata viabilitas sperma pada kelompok PI, PII dan PIII adalah 69.57%, 85.27% dan 77.67% (Tabel 1). Analisis statistik menunjukkan bahwa PII berbeda bermakna dengan PI dengan nilai $p=0.005$. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun Kola 0.05% dan 0.025% berpengaruh terhadap integritas spermatozoa.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun Kola 0.05% mempunyai pengaruh terhadap motilitas dan integritas membran spermatozoa. Referensi ini penting sebagai acuan untuk menggali lebih jauh pengaruh Kola pada reproduksi karena ekstrak biji Kola sering kali digunakan dalam industri makanan sebagai penambah rasa. Ekstrak Kola biasanya diambil dari dua spesies *Cola* yaitu species *Cola nitida* (Vent.) Schott et Endl. dan *Cola acuminata* (Beauv.) Schott et Endl. *Food and Drug Administration* (FDA) Amerika Serikat melaporkan bahwa konsumsi ekstrak biji Kola saat ini sekitar 0.69 mg/kg/day. Kafein dan theobromida merupakan komponen utama dalam biji Kola, namun informasi tentang farmakologi dan toksikologi bahan tersebut masih sedikit karena data biologik yang ada sangat terbatas. Sementara ini diyakini efek toksikologi kafein berbanding lurus dengan dosis pemakaiannya (Burbock *et al.*, 2009).

Ekstrak daun Kola (0.05%) mempunyai pengaruh meningkatkan motilitas spermatozoa. Pengaruh ini dapat disebabkan oleh aktivitas kafein yang banyak terkandung dalam ekstrak daun. Dijelaskan oleh Burbock *et al.*, (2009), kafein yang merupakan komponen utama dalam Kola berpengaruh bagi kesuburan laki-laki. Zat ini ditimbun dalam jaringan gonad dan disekresikan melalui cairan seminal. Penambahan 2 mM kafein dan 5 mM theofilin pada sperma kambing

yang *dithawing* dari hasil simpan beku mempunyai efek stimulator bagi motilitas spermatozoa, dimana kafein lebih efektif memperbaiki motilitas sperma hasil simpan beku dibanding theofilin (Sinha *et al.*, 1995). Peran kafein terhadap sperma juga dibuktikan oleh Khazei *et al.*, (2012) yang meneliti efek protektif kafein terhadap sperma. Pemberian cisplatin pada semen menyebabkan motilitas sperma menurun, selanjutnya dengan penambahan kafein pada semen menyebabkan motilitas sperma meningkat. Pemberian kafein berfungsi memperbaiki toksisitas yang diinduksi oleh cisplatin melalui mekanisme sebagai antioksidan, aktivitas diuretik dan blokade transporter kation. Kafein secara bermakna mampu membersihkan radikal bebas reaktif tinggi (Devasagayam *et al.*, 2000). Demirtas *et al.*, (2012) telah membuktikan bahwa kafein mempunyai aktivitas antioksidan pada dosis 30 mg/kg dan 100 mg/kg. Kafein juga dapat menurunkan peroksidasi lipida dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan pada hati tikus yaitu superoxide dismutase (SOD), katalase, glutathione peroxidase (GPx) dan glutathione S transferase (GST).

Metilxantin, senyawa penyusun kafein dan theofilin, dapat meningkatkan motilitas spermatozoa melalui peningkatan adenosine 3'5'-cyclic monophosphate (cAMP) karena aksi metilxantin sebagai inhibitor fosfodiesterase (Jian *et al.*, 1984). Hambatan pada fosfodiesterase dapat meningkatkan level cAMP dan mengaktifasi fungsi sel cAMP *dependent*. Peningkatan level cAMP menyebabkan disosiasi protein kinase A (PKA) yang semula tidak aktif menjadi aktif. Aktivasi PKA menyebabkan fosforilasi berbagai macam protein yang terlibat dalam ekspresi gen, inflamasi dan migrasi (Krymskaya dan Panettieri. 2007). PKA meningkatkan kontraksi tubulin dengan cara meningkatkan aktifitas ion Ca^{2+} dan *calcium binding calmodulin* (Feneck, 2007). Mekanisme

molekular pergerakan dinein mikrotubula spermatozoa dimulai dengan adanya ion Ca^{2+} yang berikatan dengan lengan dinein, ikatan ini menyebabkan perubahan konformasi dan mengaktifasi motor dinein untuk melakukan fosforilasi dan defosforilasi dengan bantuan *cAMP-dependent protein kinase* dan *type-1 phosphatase* (Sakato *et al.*, 2007). Kafein sebagai inhibitor fosfodiesterase memicu fosforilasi protein untuk fungsi gen atau fungsi sel lainnya sehingga aktivitas metabolisme sel terpacu dan motilitas terstimulasi.

Ekstrak daun Kola 0.05% mempunyai pengaruh meningkatkan integritas membran spermatozoa. Diduga zat yang berperan besar dalam ekstrak daun Kola ini adalah kafein yang merupakan komponen terbesar. Integritas membran sangat diperlukan untuk proses reaksi akrosom saat kapasitas dan fertilisasi. Kafein dapat memodulasi dan mempercepat terjadinya reaksi akrosom (Martecikova *et al.*, 2010). Kafein berperan dalam menciptakan permeabilitas membran terhadap kanal kation dan aliran ion (Guerrero *et al.*, 1994). Aliran ion ini penting bagi akrosom karena kapasitas akrosom membutuhkan ion Ca^{2+} , K^+ , Na^+ dan Cl^- (Baldi *et al.*, 2000).

SIMPULAN

Ekstrak daun Kola (*Cola nitida*) dapat meningkatkan motilitas dan integritas membran akrosom spermatozoa pada dosis 0.05%. Pengaruh ini diduga karena adanya kafein yang bertanggungjawab terhadap pembentukan cAMP yang diperlukan untuk fungsi sel, fasilitasi ion Ca^{2+} yang diperlukan untuk pergerakan mikrotubula spermatozoa, peningkatkan permeabilitas membran akrosom dan fasilitasi aliran ion yang diperlukan untuk kapasitas.

KEPUSTAKAAN

- Azam S, Hadi N, Khan NU, Hadi SM. 2003. Antioxidant and prooxidant properties of caffeine, theobromine and xanthine. *Med Sci Monit*. 9: 330-5.
- Baldi E, Luconi M, Bonaccorsi L, Muratori M, Forti G. 2000. Intracellular events and signaling pathways involved in sperma acquisition of fertilizing capacity and acrosome reaction . *Frontiers in Bioscience* 5, e110-123.
- Burdock, G.A., 2005. Kola nut (cola nut). In: Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients, fifth ed. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 993-994.
- Burdock GA, Carabin LG, Crincoli CM. 2009. Safety assessment of kola nut extract as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology* 47 :1725-1732.
- Daly JW .2007. Caffeine analogs: biomedical impact. *Cell Mol Life Sci* 64, 2153-2169.
- Demirtas C, Ebru Ofluoglu E, Hussein A, Paşaoğlu H. 2012. Effects of Caffeine on Oxidant-Antioxidant Mechanisms in the Rat Liver. *Gazi Med J* 23: 13-8
- Devasagayam TP, Kamat JP, Mohan H, Kesavan PC. 1996. Caffeine as an antioxidant; inhibition of lipid peroxidation induced by ROS. *Biochim et Biophys Acta* 1282: 63-70.
- Devasagayam TP, Kesavan PC. 2000. Radioprotective and antioxidant action of caffeine: mechanistic considerations. *Clin Chim Acta*. 295:141
- Dlugosz L, Bracken MB. 1992. Reproductive Effects of Caffeine: A Review and Theoretical Analysis. *Epidemiologic Reviews* 14:82-100.
- Guerrero A, Fay FS, Singer J. 1994. Caffeine activates a Ca^{2+} permeable nonselective cation channel in smooth muscle cells. *Gen Physiol* 104:375-394.
- FDA, 2008. Inactive Ingredients Database. Kola nut extract. US Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm>>.
- Feneck R. 2007. Phosphodiesterase inhibitors and the cardiovascular system *Critical Care & Pain*. 7:203-207.
- Jian CS, Kilfeather SA, Pearson RM, Turner P. 1984. The stimulatory effects of caffeine, theophylline, lysinetheophylline and 3-isobutyl-1-methylxanthine on human sperm motility. *Br. J. clin. Pharmacol.* 18: 258-262.
- Khazaei M, Bayat PD, Ghanbari A, Khazaei S, Feizian M, Khodaei A, Alian HAS. 2012. Protective effect of subchronic caffeine administration on cisplatin induced urogenital toxicity in male mice. *Indian J Exp Biol*. 50:638-644.

- Lee C. 2000. Antioxidant ability of caffeine and its metabolites based on the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition of LDL peroxidation. *Clin Chim Acta* 295: 141-54.
- Mandel HG. 2002. Update on caffeine consumption, disposition and action. *Food and Chemical Toxicology* 40, 1231-1234.
- Martecikova S, Hulinska P, Reckova Z, Pavlik A, eseta M, Machatkova M. 2010. Effect of acrosome reaction progress in frozen-thawed boar spermatozoa on the efficiency of in vitro oocyte fertilization. *Veterinarni Medicina*, 55 (9): 429-437
- Nawrot, P., Jordan, S., Eastwood, J., Rotstein, J., Hugenholtz, A., Feeley, M., 2003. Effects of caffeine on human health. *Food Additives and Contaminants* 20, 1-30.
- Ribeiro JA, Sebastião AM. 2010. Caffeine and Adenosine. *Journal of Alzheimer's Disease* 20: S3-S15 S3.
- Sakato M, Sakakibara H, King SM. *Chlamydomonas* Outer Arm Dynein Alters Conformation in Response to Ca^{2+} Molecular Biology of the Cell. Sept 2007. Vol. 18:3620-3634.
- Sinha MP, Sinha AK, Singh BK. 1995. Effect of methylxanthines on motility and fertility of frozen-thawed goat semen. *Theriogenology*. 44(6):907-14.
- Stavric, B., 1988. Methylxanthines: toxicity to humans 2. Caffeine. *Food and Chemical Toxicology* 26, 645-662.



Purifikasi Parsial dan Karakterisasi β -Galaktosidase dari *Lactobacillus plantarum* Strain D-210

*Partial Purification and Characterization of β -Galactosidase from *Lactobacillus plantarum* Strain D-210*

Nur Nunu Prihantini¹, Tatik Khusniati², Maria Bintang¹, Abdul Choliq², Sulistiani²

¹Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Christian University of Indonesia, Jakarta

²Field of Microbiology, Research Center for Biology, Indonesian Institute of Sciences

KATA KUNCI β -galaktosidase; purifikasi parsial; aktivitas total; inhibitor galaktosidase
KEYWORDS β -galactosidase; partial purification; total activity; galactosidase inhibitor

ABSTRAK Pemurnian parsial dan karakterisasi β -galaktosidase dari *Lactobacillus plantarum* strain D-210 belum dilaporkan. *L. plantarum* strain D-210 ditemukan sebagai bakteri penghasil β -galaktosidase sebagian dimurnikan dengan dialisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas optimum dalam 24 jam dengan dan total protein adalah 0,454 mg/ml pada pH 6.5 aktivitas enzim 252,341 U/ml, dan suhu 45°C dengan aktivitas 0,582 U/ml. Total aktivitas β -galaktosidase *L. plantarum* strain D-210 adalah 138,396 U dan endapan dengan amonium sulfat dicapai pada 40% - 50% dengan aktivitas total 87,030 U. Setelah dialisis, aktivitas total adalah 50,420 U. Penghambat β -galaktosidase adalah Hg dan Cu dengan aktivitas relatif adalah 56,82% dan 1,04%, sedangkan aktivator adalah Mg, Mn, Ca, Co, Zn. V_{maks} dari enzim adalah 0.093 μ mol/menit dan K_M enzim β -galaktosidase *L. plantarum* adalah 0,491 mM. Berdasarkan karakteristik β -galaktosidase, dapat disimpulkan bahwa *L. plantarum* strain D-210 adalah bakteri baik dan unggul yang dapat memproduksi β -galaktosidase. Studi lebih lanjut diperlukan untuk mengeksplorasi kemungkinan menggunakan bakteri ini dalam pengolahan susu pada bayi dengan intoleransi laktosa.

ABSTRACT Partial purification and characterization of *Lactobacillus plantarum* strain D-210 β -galactosidase has not been reported yet. *L. plantarum* strain D-210 known as bacteria producing β -galactosidase was partially purified by membrane dialysis. The results showed that optimum activity in 24 hour with total protein yield 0.454 mg/ml at pH 6.5 the enzyme activity was 252.341 U/ml, and at 45°C the activity was 0.582 U/ml. The total activity of β -galactosidase *L. plantarum* strain D-210 was 138.396 U and precipitated by sulphate ammonium at 40%-50% with total activity was 87.030 U. Following dialysis, the total activity was 50.420 U. The inhibitors of β -galactosidase were Hg and Cu with relative enzyme activities of 56.82% and 1.04% respectively, while the activators were Mg, Mn, Ca, Co, Zn. V_{max} of the enzyme was 0.093 μ mol/min and K_M was 0.491 mM. Based on the characteristics of the enzyme, it

can be concluded that L. plantarum strain D-210 was a good β -galactosidase producing bacteria. Further studies are required to explore the possibility of using this bacteria in milk processing for lactose intolerance babies.

Seiring dengan kemajuan teknologi dewasa ini, pemanfaatan enzim di berbagai sektor kehidupan sangat luas. Peran enzim sebagai biokatalis untuk menunjang pengembangan industri dan pangan fungsional bahan tambahan kepentingan rumah tangga dan farmasi meningkat dengan tajam. Meskipun demikian, pengadaan enzim khususnya dalam industri di Indonesia masih diperoleh dari impor. Oleh karena itu, sumber-sumber enzim terutama enzim β -galaktosidase (EC 3.2.1.2.3) yang didapatkan dari bahan-bahan hayati lokal, diharapkan dapat mengurangi impor enzim. Penerapan enzim β -galaktosidase dalam kehidupan, cukup beragam. Enzim ini terutama digunakan dalam produk-produk pangan fungsional (terutama "fermented and probiotic milk products"), dan farmasi (terutama produk suplemen berkhasiat obat untuk penanggulangan penderita "lactose intolerance"). Enzim ini digunakan juga untuk biosintesis galaktooligosakarida dan laktulosa, yang merupakan senyawa-senyawa prebiotik, pemacu pertumbuhan mikroba probiotik, yang penting dalam keseimbangan mikroflora dalam usus pencernaan manusia (Khusniati, 2010).

Pada manusia, β -galaktosidase berguna untuk mengubah laktosa menjadi glukosa dan galaktosa. Laktosa merupakan karbohidrat utama pada susu dengan jumlah 4.7% dari total susu (Chaplin, 2004) dan menyediakan energi bagi tubuh setelah terlebih dahulu diuraikan menjadi glukosa dan galaktosa agar dapat diserap oleh usus. Pada keadaan tertentu seseorang tidak dapat mencerna laktosa menjadi glukosa dan galaktosa dikarenakan rendahnya aktivitas β -galaktosidase pada *brush border* usus halus

yang dikenal sebagai intoleransi laktosa (Marsh dan Riley, 1998). Enzim β -galaktosidase banyak digunakan untuk biosintesis galaktooligosakarida dan laktulosa yang merupakan senyawa prebiotik, pemacu pertumbuhan mikroba probiotik yang terpenting dalam keseimbangan mikroflora dalam usus pencernaan manusia. Manfaat lain dari β -galaktosidase adalah untuk mengkonversi limbah industri susu hewani menjadi substrat untuk bioindustri (Gonzales Siso, 1996). Terkait dengan penderita intoleransi laktosa, susu dapat dimodifikasi dengan ultrafiltrasi, fermentasi dan hidrolisis. Proses ultrafiltrasi adalah untuk menghilangkan makromolekul nutrisi berbobot besar seperti laktosa dan protein, sehingga ultrafiltrasi dapat mengurangi bobot nutrisi (Fox dan McSweeney, 1981). Hidrolisis laktosa yang dilakukan secara enzimatis menggunakan β -galaktosidase dapat menghidrolisis laktosa menjadi glukosa dan galaktosa (Winarno, 1999) tanpa mengurangi bobot nutrisi. Dalam hal ini telah lama dikenal pemanfaatan bakteri dalam fermentasi bahan makanan antara lain bakteri asam laktat. Wood (1992) menyatakan bahwa kriteria bakteri asam laktat (BAL) antara lain gram positif, katalase negatif, berbentuk batang atau bulat dapat bersifat homofermentatif ataupun heterofermentatif. Beberapa keunggulan yang dimiliki BAL yaitu meningkatkan nilai cerna pada makanan fermentasi karena dapat melakukan pemotongan pada bahan makanan yang sulit dicerna.

Correspondence:

Nur Nunu Prihantini, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Christian University of Indonesia Jakarta, Jalan Mayjen Sutoyo No.2, Cawang, Jakarta Timur 13630, Email: nunuprihantini23@gmail.com

BAHAN DAN CARA KERJA

L. plantarum strain D-120 yang merupakan bakteri indigenus asal dari fermentasi tradisional yang diisolasi dan diidentifikasi secara molekular dan diperoleh dari “working culture” Mikrobiologi, LIPI dan di “subculture” menggunakan media MRS (Man Rogose Sharpe) (Man *et al.*, 1960).

Produksi β -Galaktosidase (Wang dan Sakakibara, 1997)

Sebanyak 2% inokulum Bakteri *L. plantarum* strain D-210 dengan kerapatan optik 0,7 setara dengan 1.40×10^{10} sel/ml diinokulasikan ke dalam 1000 ml media produksi yang telah steril, diinkubasi pada suhu 37°C. Kemudian, sel dipanen setelah inkubasi selama 18 jam (waktu produksi β -galaktosidase optimum). Setelah itu, cairan disentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm (15.880 g) selama 15 menit pada suhu 4°C. Peletnya dicuci sebanyak dua kali dengan buffer fosfat 0,05 M pH 6,5. Setelah itu, pelet yang diperoleh dilarutkan dalam 30 ml buffer fosfat 0,05 M pH 6,5 dan dilakukan pemecahan sel dengan sonikator 50 kHz selama 5 menit pada suhu 4°C. Suspensi sel disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim β -galaktosidase.

Pengendapan dengan Amonium Sulfat (Scopes, 1987)

Ekstrak kasar β -galaktosidase sebanyak 20 ml diendapkan menggunakan amonium sulfat. Amonium sulfat ditambahkan secara bertahap dengan berbagai konsentrasi yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, dan 70%, lalu diaduk dengan *magnetic stirer* secara perlahan selama 1 jam. Setelah itu, campuran disentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm selama 15 menit dengan suhu 4°C. Endapan enzim dipisahkan dan dilarutkan

dalam 1 mL bufer fosfat 0.05 M pH 6.5. Aktivitas yang tinggi menunjukkan persentase kejenuhan amonium sulfat yang optimum.

Dialisis (Bintang, 2011)

Membran Selofan yang mengandung sejumlah kecil enzim dibasahi dan dididihkan selama 30 menit dalam alkali EDTA (Na_2CO_3 10 g/L, EDTA 1 mmol/L) selanjutnya tiriskan dan dinginkan setelah didinginkan tabung-tabung tersebut dicuci dengan aquades. Salah satu ujung membran Selofan diikat dan enzim dimasukkan ke dalam kantung dialisis lalu kedua ujung diikat. Kantung dialisis dimasukkan ke dalam buffer fosfat 0,01 M pH 6,5 sambil digoyang dengan pengaduk bermagnet dengan kecepatan 100 rpm setelah 1 jam ganti buffer, putar lagi setelah 1 jam diganti lagi untuk selanjutnya didialisis yang dilakukan pada suhu 4°C selama 24 jam.

Penentuan Kadar Protein (Bradford, 1976)

Enzim β -galaktosidase diambil sebanyak 100 μl ditambahkan 5 ml larutan *coomassie brilliant blue* 0.1%. Larutan divorteks dan didiamkan selama 5 menit lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 595 nm. Pembuatan kurva standar protein yang digunakan adalah *bovine serum albumin* (BSA) dengan berbagai konsentrasi dari 0.005 - 1.25 mg/ml serta perlakuan yang sama dengan penentuan kadar protein.

Uji Aktivitas Enzim β -galaktosidase (Modifikasi Lu *et al.*, 2009).

Uji aktivitas enzim dilakukan dengan cara sebanyak 1.000 μl buffer fosfat 0.1 M pH 7 dan 100 μl enzim dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 5 menit. Kemudian tambahkan 200 μl ONPGal 2 mg/ml dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 10 menit. Pada menit ke-10 ditambahkan 1.000 μl Na_2CO_3 1 M untuk

menghentikan reaksi. Larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV VIS pada λ 420 nm. Kemudian dilakukan pembuatan kurva standar dengan cara membuat konsentrasi *O*-Nitrofenol (ONP) dari 0 – 0.500 μ mol dengan selang 0.100 μ mol yang dilarutkan dalam buffer fosfat 0.01 M pH 7. Sebanyak 1000 μ l buffer fosfat 0.1 M pH 7 dan 100 μ l akuades dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 200 μ l ONP berbagai konsentrasi, kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 10 menit. Selanjutnya terhadap campuran ditambahkan 1.000 μ l Na_2CO_3 1 M. Larutan divorteks dan intensitas warna kuning yang terbentuk diukur adsorbansinya pada λ 420 nm. Hasil pembacaan aktivitas β -galaktosidase sampel akan diplotkan pada hasil kurva standar. Satu unit aktivitas enzim β -galaktosidase dinyatakan dalam banyaknya enzim yang diperlukan untuk menghasilkan 1 μ mol ONP dari substrat ONPGal per menit pada kondisi percobaan.

Karakterisasi β -Galaktosidase (Lu *et al.*, 2009)

Karakterisasi enzim meliputi suhu optimum, pH optimum, dan efek ion logam. Enzim diujikan pada suhu inkubasi (25-45°C) dengan selang 5°C, dan pH pada kisaran pH 5.5-8.5 selang 0.5 diinkubasi selama 5 menit sebelum ditambahkan ONPGal 4 mg/ml.

Enzim diujikan pada berbagai suhu dan pH, diinkubasi selama 1 jam, kemudian ditambahkan ONPGal 4mg/ml dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C, ion-ion logam yang digunakan (Hg^+ , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}) disiapkan pada konsentrasi 0.01 M. Untuk aktivitas enzim pada berbagai konsentrasi substrat dilakukan

dengan cara sebanyak 1.000 μ l buffer fosfat 0,1 M pH optimum, 100 μ l enzim dan substrat ONPGal yang diujikan pada konsentrasi 0, 1, 2, 4, 5 mg/ml dan waktu inkubasi 5-20 menit selang 0.5 mg/ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian campuran diinkubasi selama 25 menit dengan suhu optimum. Setiap 5 menit tambahkan 1.000 μ l Na_2CO_3 1 M untuk menghentikan reaksi dan kemudian larutan dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada λ 420 nm.

HASIL

Optimasi Waktu Produksi Enzim Galaktosidase

Produksi optimum β -galaktosidase *L.plantarum* strain D-210 tercapai pada jam ke-24 dimana jumlah ONP paling tinggi sekitar 13.302 μ mol, serta kadar protein sebesar 0.454 mg/ml. Produksi β -galaktosidase mengalami penurunan pada jam ke-36 sampai ke-48 dimana pada jam ke-36 jumlah produk yang dihasilkan sebesar 9.0542 μ mol dan makin berkurang seiring dengan pertambahan pertambahan waktu pada jam ke-48 sebesar 2.673 μ mol (Tabel 1).

Aktivitas β -galaktosidase meningkat pada jam ke-24 dengan aktivitas sebesar 27.669 U/mg, dan pertumbuhan optimum pada jam ke-24 serta *optical density* optimum sebesar 1.984 dengan jumlah sel 1.81×10^{-8} sel/ml (Tabel 2).

Penentuan pH Optimum

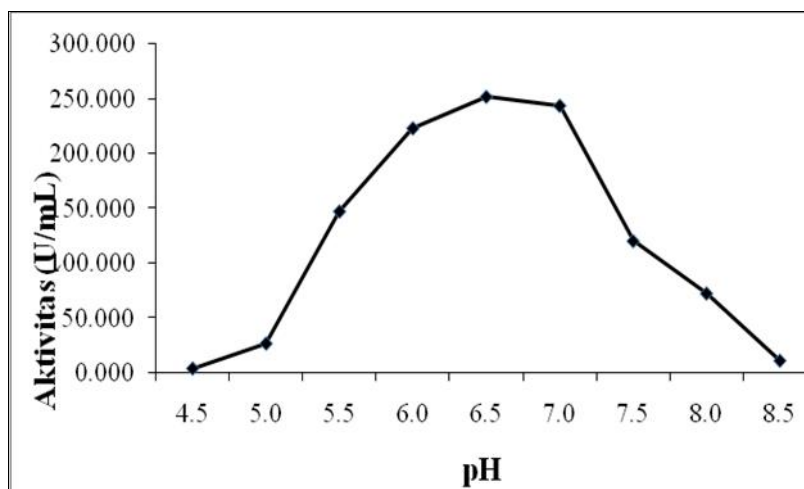
Pada gambar 1 terlihat bahwa pada kondisi mendekati pH 6.5 (pH 5 – 8) aktivitas β -galaktosidase *L. plantarum* strain D-210 cenderung mengalami peningkatan dan mencapai optimum pada pH 6.5 dengan nilai aktivitas sebesar 0.822 U/ml.

Tabel 1. Produksi β -galaktosidase *L. plantarum* strain D-210

Jam Ke-	ONP(μ mol)	Absorban		Absorban rerata	Kadar Protein(mg/ml)
		Ulangan1	Ulangan2		
0	0	0	0	0	0
6	0,529	0,069	0,070	0,062	0,017
12	4,713	0,073	0,051	0,062	0,436
18	6,496	0,084	0,085	0,085	0,213
24	13,302	0,084	0,087	0,087	0,454
30	12,837	0,073	0,084	0,084	0,260
36	9,054	0,119	0,118	0,118	0,378
42	4,093	0,060	0,054	0,054	0,318
48	2,673	0,324	0,346	0,346	0,260

Tabel 2. Aktivitas β -galaktosidase *L. plantarum* strain D-210 dan Jumlah sel

Jam Ke-	Jumlah Sel	Optical density	Aktivitas(U/mg)
0	1.18×10^{10}	0,013	0
6	2.28×10^9	0,250	1,154
12	1.72×10^8	1,884	9,238
18	1.79×10^8	1,959	12,992
24	1.81×10^8	1,984	27,669
30	1.60×10^8	1,759	24,647
36	1.58×10^8	1,729	19,557
42	1.72×10^8	1,887	10,151
48	1.73×10^8	1,982	5,346



Gambar 1 Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim β -galaktosidase *L. plantarum* strain D-210

Produksi dan Purifikasi β -galaktosidase

Enzim β -galaktosidase *L. plantarum* strain D-210 merupakan enzim intraseluler yang memerlukan pemecahan dinding sel terlebih dahulu. Produksi β -galaktosidase dari *L. plantarum* strain D-210 dapat dilakukan pada media cair yang mengandung laktosa 3% kemudian diinkubasi selama penentuan waktu produksi optimum yaitu pada suhu 37°C selama 24 jam tanpa pengocokan. Bakteri asam laktat ini merupakan bakteri aerotoleran anaerob. Sehingga sel dapat dipanen dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan sebesar 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C dimana tidak terjadi kerusakan enzim dan pada sel yang berbobot molekul lebih besar akan mengendap dikarenakan adanya gaya gravitasi. Kemudian sel yang didapat dicuci sebanyak dua kali dengan menggunakan buffer fosfat 0.05 M pH 6.5 supaya terhindar dari bahan pengotor lainnya yang berasal dari media. Setelah itu dilakukan pemecahan sel dengan menggunakan gelombang suara tinggi dimana pemecahan dilakukan dalam buffer fosfat 0.05 M pH 6.5 pada suhu 4°C agar enzim tidak rusak, kemudian sel dipisahkan dengan cara disentrifugasi dan dianalisis dengan menggunakan substrat *O*-Nitrofenil- β -galaktopiranosida (ONPgal), β -galaktosidase akan menghidrolis ONPgal dan menghasilkan galaktosa dan *O*-nitrofenol (ONP). Berdasarkan hasil percobaan, aktivitas spesifik β -galaktosidase kasar yang diperoleh adalah sebesar 138.396 U/ml (Tabel 3).

Purifikasi selanjutnya dilakukan pengendapan dengan garam ammonium sulfat. Pengendapan dilakukan pada konsentrasi optimum yaitu 40% sampai 50% dengan aktivitas spesifik β -galaktosidase sebesar 238.44 U/mg. Pengendapan dengan garam ammonium sulfat berhubungan dengan jumlah protein yang terbentuk setelah dilakukan purifikasi dimana pengendapan dengan ammonium sulfat ini dilakukan pada kondisi

suhu dingin agar tidak terjadi denaturasi protein. Penambahan garam ammonium sulfat ini dilakukan secara bertahap dan perlahan-lahan agar tercampur merata dan berikatan dengan enzim sehingga dapat terjadi reaksi sempurna. Setelah tercampur pelet ditambahkan buffer agar kondisi enzim stabil. Pengendapan dengan ammonium sulfat ini dengan beberapa variasi konsentrasi yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%.

Gambar 2 menunjukkan pengendapan enzim dengan ammonium sulfat mempunyai aktivitas spesifik tertinggi pada fraksi 40-50%. Aktivitas spesifik menurun pada fraksi lebih dari 50% karena pada fraksi tersebut lebih banyak enzim yang terendap bukan enzim β -galaktosidase. Aktivitas spesifik β -galaktosidase hasil semipurifikasi ammonium sulfat pada fraksi 40-50% adalah sebesar 238.438 U/ml. Aktivitas spesifik enzim kasar lebih rendah dibandingkan aktivitas spesifik enzim pengendapan dengan ammonium sulfat karena konsentrasi protein yang diperoleh pada enzim kasar lebih tinggi dibandingkan hasil pengendapan dengan ammonium sulfat sebesar 0.365 mg (Tabel 1). Tingkat kemurnian pengendapan dengan ammonium sulfat dan mengalami peningkatan dari 1 kali menjadi 2.97 kali dan rendemen sebesar 62.88%.

Dari Tabel 3 terlihat bahwa proses purifikasi parsial β -galaktosidase dari *L. plantarum* D-210 ini memperlihatkan aktivitas spesifik β -galaktosidase setelah dialisis adalah sebesar 243.574 U/mg, rendemen 36.43%, dan kemurnian meningkat hingga 3.04 kali.

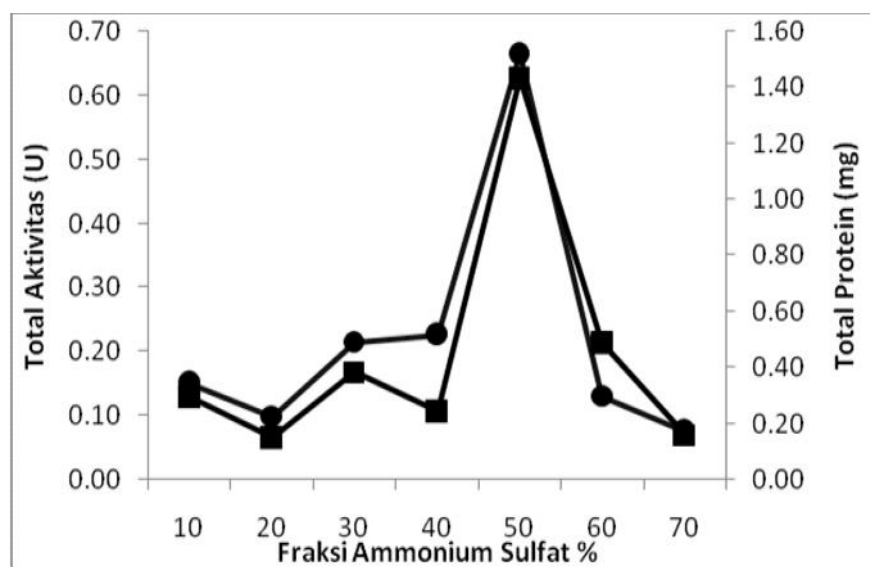
Karakterisasi β -Galaktosidase (Lu *et al.*, 2009)

Aktivator dan Inhibitor

Logam Hg^{2+} , Cu^{2+} merupakan inhibitor kuat terhadap β -galaktosidase dari *L. plantarum* strain D-210 sehingga menurunkan aktivitas β -galaktosidase. Aktivitas relatif Hg sebesar 56.82% dengan aktivitas rata-rata

19.008 U/mg dan Cu sebesar 1.04% dengan aktivitas rata-rata 3.532 U/ml. Logam Hg^{2+} dan Cu^{2+} bersifat sebagai inhibitor karena merupakan logam berat yang mem-bentuk endapan proteinat sehingga akan memutuskan jembatan disulfida. Semen-tara itu Mg^{2+} Mn^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} me-rupakan akti-vator. Kation

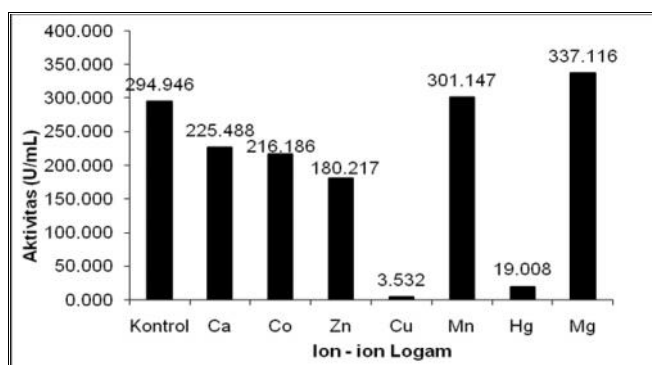
Hg^{2+} dan Cu^{2+} merupakan inhibitor kuat β -galaktosidase dari *L.plantarum* strain D-210 karena dapat menurunkan aktivitas sebesar 26.35% dan 53.97% dari kontrol (yaitu enzim yang tidak mendapatkan pe-nambahan kation) serta merupakan logam berat (Gambar 3).



Gambar 2 Hasil semipurifikasi dengan garam ammonium sulfat aktivitas total (■) dan total protein (●)

Tabel 3. Purifikasi parsial β -galaktosidase dari *L. plantarum* strain D-210

Tahapan	Total Aktivitas (U)	Total Protein (mg)	Aktivitas Spesifik (U/mg)	Rendemen (%)	Kemurnian (kali)
Enzim Kasar	138.396	1.729	80.043	100.00	1.00
Pengendapan Amonium Sulfat 40%-50%	87.030	0.365	238.438	62.88	2.97
Dialisis	50.420	0.207	243.574	36.43	3.04

Gambar 3 *L.plantarum* strain D-210 terhadap pengaruh logam

Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kinerja enzim. Gambar 4 menunjukkan aktivitas β -galaktosidase optimum pada suhu 45°C dengan aktivitas sebesar 0.582 U/ml. Penentuan suhu optimum dan stabilitas suhu dilakukan pada suhu 25–50°C. Gambar 4 menunjukkan peningkatan aktivitas β -galaktosidase dari *L.plantarum* strain D-210 mencapai 45°C. Bila kenaikan temperatur jauh di atas temperatur optimum maka enzim akan terdenaturasi. Dengan aktivitas tertinggi sebesar 0.582 U/ml. Kemudian terjadi penurunan aktivitas pada β -galaktosidase pada suhu 55°C dikarenakan pada suhu tersebut enzim sudah tidak pada suhu optimum dan kehilangan aktivitasnya.

pH

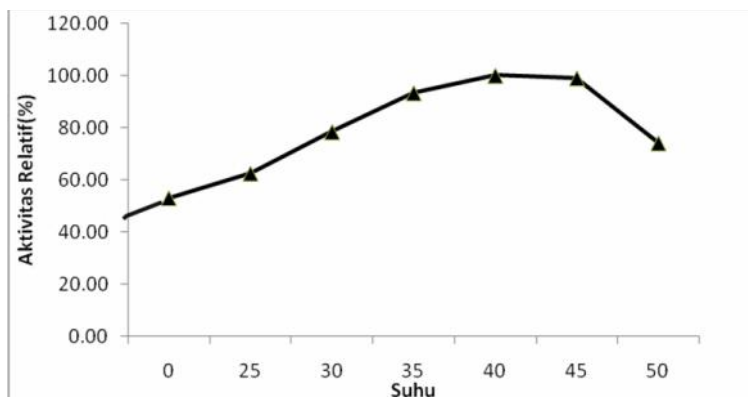
Beberapa keadaan yang mempengaruhi kinerja enzim salah satu diantaranya adalah pH dimana β -galaktosidase bebas

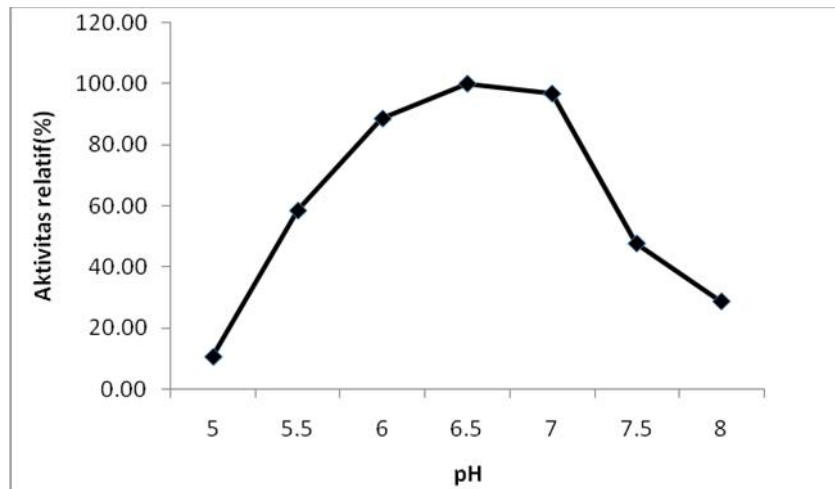
mencapai optimum pada pH 6.5 dengan aktivitas tertinggi sebesar 252.341 U/mg. Gambar 5 menunjukkan optimasi pH β -galaktosidase bebas cenderung lebih rendah yaitu pH 6.5 dengan aktivitas relatif 100%.

Pada kondisi pH larutan buffer pH 5.5–8.0 dengan selang 0.5 menggunakan 2 jenis buffer yaitu buffer asetat pH 5.5–6.0 dan buffer fosfat pH 6.5–8.0 β -galaktosidase menunjukkan dengan aktivitas tertinggi sebesar 0.815 U/ml pada pH 6.5.

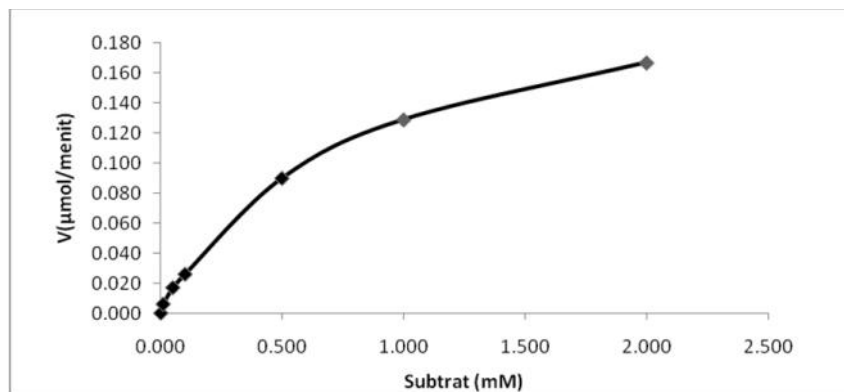
Parameter Kinetik

Penentuan nilai K_M dan V_{maks} dilakukan dengan pemetaan data menggunakan persamaan Lineweaver Burk (Gambar 6 dan 7). Persamaan Lineweaver Burk adalah $y = 5.286x + 10.75$ dengan nilai R^2 sebesar 0.971 sehingga kecepatan maksimum aktivitas β -galaktosidase sebesar 0.093 $\mu\text{mol}/\text{menit}$ dan nilai K_M sebesar 0,491 mM.

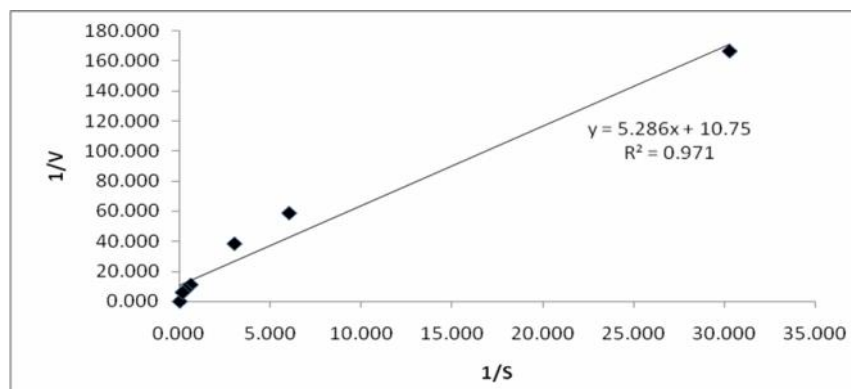
Gambar 4 Profil pengujian pengaruh suhu terhadap aktivitas β -galaktosidase



Gambar 5 Profil hasil pengujian pengaruh pH terhadap aktivitas β -galaktosidase



Gambar 6 Kurva Michaelis Menten β -galaktosidase



Gambar 7 Kurva Lineweaver Burk dari β -galaktosidase

PEMBAHASAN

Produksi dan Purifikasi β -galaktosidase

Pada saat produksi, bakteri berkembang biak dan menghasilkan enzim yang diinginkan. Setelah itu dilakukan pemanenan pada saat fase eksponensial dimana pada fase ini terjadi pembentukan enzim. Penurunan aktivitas enzim dikarenakan telah terbentuknya produk yang berupa glukosa dan galaktosa. Glukosa dan galaktosa akan menghambat kerja β -galaktosidase dalam menghidrolisis substrat laktosa (Mahoney, 2004).

L.plantarum strain D-210 dtumbuhkan pada media *Mann Rogosa Sharpe* (MRS) dengan sumber karbon glukosa diganti dengan laktosa sebanyak 3%. Media ini merupakan media selektif untuk bakteri asam laktat dan laktosa berfungsi sebagai sumber energi, karbon dan inducer enzim β -galaktosidase (Kilara dan Shahani, 1975). Bakteri asam laktat memperoleh energi hanya dari metabolisme gula dan berhubungan dengan komponen fermentasi sehingga habitat pertumbuhannya hanya terbatas pada lingkungan yang menyediakan gula atau bisa disebut lingkungan yang kaya nutrisi (Madigan *et al.*, 2006). Pepton dan *beef extract* berguna sebagai sumber karbon nitrogen dan vitamin untuk pertumbuhan bakteri dalam berkembang biak menghasilkan enzim yang diharapkan. Sementara itu Tween 80 merupakan surfaktan untuk membantu penyerapan nutrisi oleh bakteri asam laktat dan sumber Nitrogen merupakan hal yang penting untuk produksi enzim.

Menurut Wood (1992), kriteria bakteri asam laktat antara lain adalah gram positif, katalase negatif, berbentuk batang atau bulat dan dapat bersifat homofermentatif ataupun heterofermentatif. Menurut Steamer (1979) bakteri asam laktat mempunyai suhu pertumbuhan yang optimum pada kisaran 30-40°C.

Aktivitas β -galaktosidase yang meningkat pada jam ke-24 dengan aktivitas yang diperoleh sebesar 27.669 U/mg menunjukkan pada fase ini terjadi proses pembelahan sel yang konstan serta berlipat ganda sehingga produksi enzim meningkat (Pelczar dan Chan, 1986). Menurut Lu *et al.*, (2009) β -galaktosidase intraseluler yang berasal dari bakteri memerlukan pemecahan dinding sel terlebih dahulu. Hasil penelitian Chen *et al.*, (2008) menyebutkan bahwa pengendapan dengan amonium sulfat pada fraksi 65% mampu meningkatkan aktivitas spesifik β -galaktosidase dari *Bacillus stearothermophilus* sebesar 80.3 U/mg. Sementara itu Shaikh *et al.*, (1999) menunjukkan adanya peningkatan aktivitas spesifik β -galaktosidase dari *Rhizomucor* sp pada pengendapan amonium sulfat 90% sebesar 10.5 U/mg.

Purifikasi Parsial β -Galaktosidase

Purifikasi parsial *L.plantarum* strain D-210 dilakukan dengan pengendapan menggunakan ammonium sulfat dan diikuti dengan dialisis dengan menggunakan membran dialisis. Pengendapan dengan amonium sulfat berhubungan dengan jumlah protein yang terbentuk, dimana pada kisaran protein 40% sampai 50% terjadi peningkatan aktivitas β -galaktosidase. Pemberian ammonium sulfat dilakukan pada suhu dingin agar tidak terjadi denaturasi protein. Pengendapan dengan ammonium sulfat ternyata menghasilkan total protein yang lebih tinggi dibandingkan dengan enzim kasar karena pada tahap semi-purifikasi ini enzim yang diharapkan yaitu enzim β -galaktosidase sudah bisa diperoleh dengan kemurnian yang lebih tinggi hasilnya dari enzim kasar. Hasil penelitian Chen *et al.*, (2008) menyebutkan bahwa pengendapan dengan amonium sulfat pada fraksi 65% mampu meningkatkan aktivitas spesifik β -galaktosidase dari *Bacillus stearothermophilus* sebesar 80.3 U/mg. Menurut Shaikh *et al.*, (1999) pada pengendapan ammonium sulfat

90% terjadi peningkatan aktivitas spesifik β -galaktosidase dari *Rhizomucor* sp sebesar 10.5 U/mg.

Karakterisasi β -galaktosidase *L.plantarum* strain D-210

Menurut Dawn *et al.*, (2000) ion-ion logam berperan dalam proses katalitik yang berfungsi sebagai elektrofil (gugus penarik-elektron) dimana ion logam membantu pengikatan substrat, menerima dan memberi elektron dengan mengubah distribusi muatan parsial pada molekul substrat. Laju suatu reaksi enzimatis sangat dipengaruhi oleh ion-ion logam tertentu yang diperlukan untuk meningkatkan aktivitasnya. Karakterisasi enzim dipengaruhi oleh aktivator dan inhibitor karena dengan adanya aktivator maka proses katalis enzim dalam mengubah substrat akan semakin cepat, sedangkan inhibitor senyawa yang menurunkan kecepatan reaksi enzim serta menghambat afinitas enzim terhadap substrat. Kation Hg^{2+} dan Cu^{2+} merupakan inhibitor kuat β -galaktosidase dari *L.plantarum* strain D-210 karena dapat menurunkan aktivitas sebesar 26.35% dan 53.97% dibanding kontrol (yaitu enzim yang tidak mendapatkan penambahan kation) serta merupakan logam berat. Menurut Suriawiria (2005) ion-ion logam berat dapat bereaksi dengan gugusan senyawa sel, Hg^{2+} dapat bergabung dengan gugusan sulfhidril (Sh) pada enzim dan akan menghambat kerja enzim yang dapat memutuskan jembatan disulfida sehingga merupakan inhibitor non kompetitif.

pH

Penentuan pH optimum diperlukan karena reaksi enzim dipengaruhi oleh pH. pH optimum berkaitan dengan kinerja enzim dimana *L.plantarum* strain D-210 merupakan bakteri yang normofilik dengan kondisi optimum pada pH 6 sampai 6.5. Kecepatan reaksi meningkat seiring dengan peningkatan

pH. Pada kondisi asam terjadi ionisasi gugus tapak aktif oleh karena peningkatan H^+ dan pembentukan ikatan hidrogen serta hilangnya aktivitas pada sisi basa akibat ionisasi residu asam amino pada enzim yang tidak sesuai (Dawn *et al.*, 2000). Enzim memiliki pH optimum yang menyebabkan aktivitas maksimal pemberi atau penerima proton yang penting pada sisi katalitik enzim dalam tingkat ionisasi yang diinginkan (Lehninger, 1994). Aktivitas katalitik enzim di dalam sel diatur sebagian oleh perubahan pH medium lingkungan dengan aktivitas sebesar 252.341 U/ml. Menurut Iswari dan Yuniastuti, (2006) jika pH rendah atau kadar H^+ meningkat maka gugus yang bermuatan negatif menjadi terprotonisasi, karena menetralkan muatan negatif, dan jika pH meningkat atau konsentrasi OH^- meningkat maka gugus yang bermuatan positif berdisosiasi sehingga dinetralkan. Aktivitas enzim dapat berubah akibat perubahan pH lingkungan dikarenakan ionisasi enzim, substrat atau kompleks enzim substrat (Winarno, 1999). Medium fermentasi untuk memproduksi enzim diketahui pada kisaran pH 3,4,5,6,7,8 dan aktivitas tertinggi β -galaktosidase ditemukan pada pH 5 dan mengalami penurunan sampai pH 8. Rajoke *et al.*, (2003) mengatakan bahwa produksi β -galaktosidase oleh *Klumeromyces marxians* berlangsung optimal pada pH 5.5.

Suhu

Karakterisasi suhu *L.plantarum* strain D-210 memiliki suhu optimum berkisar 40 sampai 45°C. Menurut Matheus dan Rivas (2003) suhu optimum β -galaktosidase dari *Klumeromyces lactis* untuk memproduksi enzim adalah 30.3°C dengan waktu fermentasi 18.5 jam, dan suhu optimum untuk bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus murinus* sekitar 45°C (Macias *et al.*, 1983). Sementara itu suhu optimum bakteri *Lactobacillus bulgaricus* adalah sekitar 55

sampai 57°C (Itoh *et al.*, 1980). Penentuan suhu optimum dan stabilitas suhu dilakukan pada suhu 25 sampai 50°C. Menurut Wang *et al.*, (2004) diperlukan suhu optimum 35°C untuk produksi maksimum enzim β -galaktosidase dari *Klumeromyces marxianus*.

Penurunan aktivitas β -galaktosidase bebas pada suhu 45°C terjadi karena pada suhu tersebut enzim sudah terdenaturasi dan kehilangan aktivitasnya. Pada β -galaktosidase amobil terjadi penurunan aktivitasnya pada suhu 40°C dan terus mengalami penurunan serta kehilangan aktivitasnya. Hasil penelitian Yuningtias (2008) menyebutkan bahwa β -galaktosidase dari bakteri *Lactobacillus bulgaricus* aktif pada suhu optimum 43°C. Hal ini menunjukkan bahwa enzim β -galaktosidase dari *L.plantarum* strain D-210 aktif pada suhu yang lebih rendah jika dibandingkan dengan bakteri lain penghasil enzim ini. Oleh karena itu, konsumsi energi yang diperlukan lebih rendah, sehingga menguntungkan untuk digunakan pada bioindustri. Menurut Suriawiria (2005) dalam reaksi kimia kenaikan temperatur akan menaikkan kecepatan reaksi dikarenakan proses metabolisme pada dasarnya adalah reaksi kimia. Meskipun demikian kenaikan tersebut terjadi sampai nilai batas optimum dalam mempercepat proses metabolisme, sedangkan temperatur tinggi melebihi batas maksimum akan menyebabkan denaturasi protein dan enzim yang berakibat terhentinya reaksi.

Parameter Kinetik

Parameter kinetik pada β -galaktosidase *L.plantarum* strain D-210 memperlihatkan adanya peningkatan kecepatan reaksi. Konsentrasi enzim tetap dengan pertambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi pada batas konsentrasi tertentu dan tidak akan meningkatkan kecepatan reaksi lagi walaupun konsentrasi substrat diperbesar (Poedjiadi dkk, 1994).

Dengan kata lain konsentrasi substrat rendah menyebabkan kecepatan reaksi yang rendah tetapi kecepatan akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi substrat, dan tercapai titik batas setelah titik ini dilampaui. Hasil penelitian Chandra (2010) menyatakan bahwa galaktosidase dari *Lactobacillus bulgaricus* mempunyai parameter kinetik V_{maks} 0.385 $\mu\text{mol}/\text{menit}$ dan K_M 1.075 mM.

SIMPULAN

Lactobacillus plantarum strain D-210 merupakan bakteri penghasil enzim β -galaktosidase yang terletak intraseluler. Waktu inkubasi optimum jam ke-24 dengan *optical density* 1.984, jumlah sel 1.81394E-08 sel/ml, protein total 0.454 mg/ml dan suhu optimum 45°C dengan aktivitas 0.582 U/ml dan pH 6.5 dengan aktivitas 252.341 U/ml. Purifikasi parsial β -galaktosidase menghasilkan aktivitas spesifik sebesar 243.574 U/mg dengan rendemen 36.43% dan tingkat kemurnian sebesar 3.04 kali dari enzim kasar. Logam Hg dan Cu merupakan inhibitor β -galaktosidase *L.plantarum* strain D-210, sedangkan Mg, Mn, Ca, Co, Zn merupakan aktivator. Enzim β -galaktosidase secara berturut-turut memiliki nilai V_{maks} sebesar 0.093 $\mu\text{mol}/\text{menit}$ dan K_M sebesar 0.491 mM.

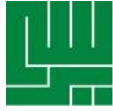
Ucapan terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Proyek PKPP dan DIPA Tematik, 2012-2013, Puslit Biologi, LIPI atas pemberian dana dalam penelitian ini, beserta Sdri Neneng Karimaryati dan Sdri Febriati Rahayu atas bantuan teknis dalam penelitian ini.

KEPUSTAKAAN

- Bintang M 2011. Teknik Penelitian Biokimia. Jakarta: Erlangga, edisi 1:79
Bradford MM 1976. Rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein

- utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal Biochem* 72:248-254.
- Chandra AB 2010. Karakterisasi dan Kinetika Enzimatis β -galaktosidase Isolat Bakteri AV-1 pada Susu Pasteurisasi [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
- Chaplin M 2004. The Use of lactases in dairy industry <http://www.isbu.ac.uk/biology/enztech/lactase/html>
- Chen W, Chen H, Xia Y, Zhao J, Tian F, Zhang H 2008. Production, purification, and characterization of a potential thermostable β -galactosidase for milk lactose hydrolysis from *Bacillus stearothermophilus*. *J Dairy Sci* 91:1751-1758.
- Dawn B, Marks, Allian D, Marks MD, Colleen M Smith, PhD 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar Sebuah Pendekatan Klinis*, Penerbit EGC.
- Fox PF, Mc Sweeney PLH 1981. Dairy chemistry and Biochemistry. London Blackie Academic & Professional.
- Gonzales Siso MI. 1996. The Biotechnological utilization of cheese whey. *Areview Bioros Technol*.
- Iswari Retno, Yuniastuti A 2006. *Biokimia*, Graha ilmu, hal: 45
- Itoh T, Ohhashi M, Toba T, Adachi S 1980. Purification and properties of β galactosidase from *Lactobacillus bulgaricus*. *Milchwissenschaft* 35:593-597.
- Khusniati T 2010. Purifikasi, Karakterisasi dan Sifat Hidrolisis Enzim β -Galaktosidase Bakteri Unggul Terseleksi yang Diisolasi dari Buah-buahan di Gunung Salak, laporan penelitian LIPI.
- Kilara A, Shahani KM 1975. Lactase activity of cultured and acidified dairy products. *J. Dairy Sci* 59:2031-235.
- Lehninger AL 1994. Principles of Biochemistry 4rd Edition. Amhrest: Elsevier Science.
- Lu LL, Xiao M, Li ZY, Li YM, Wang FS 2009. A novel transglycosylating β -galactosidase from *Lactobacillus Indigen* B5. *Process Biochemistry* 44: 232-236.
- Macias N de *et al*. 1983. Isolation and purification of β -galactosidase of *L. murinus* CNRZ313. *Curr Microbiol* 9:99-104.
- Madigan MT, Martinko JM 2006. Brock: Biology of Microorganism. Pearson Education International. ISBN 0-13-196893-9 Page.375-377.
- Mahoney RR 2004. Galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: A review. *Food Chem* 63:147-154.
- Man JC de, Rogosa M, Sharpe ME 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl Bacteriol* 23:130-135.
- Marsh MN, Riley SA 1998. Digestion and Absorption of Nutrients and Vitamins *Sleisenge amd fordtran'Na2CO3 Gastrointestinal and Liver Disease* 26: 1495-1496.
- Matheus and Rivas N 2003. Production and partial characterization of β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis* grown in deproteinized whey. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 53(2): 194-201.
- Pelczar MJ Jr, Chan ECS 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Volume ke-1. Hadjoetomo RS, Imas, T, Tjitrosomo SS, Angka SL, penerjemah; Jakarta UI Pr. Terjemahan.
- Poedjiadi A 1995. Dasar-Dasar Biokimia, Universitas Indonesia Press hal:159-160.
- Rajoke MI, Samia K, Riaz S 2003. Kinetics and Regulation Studies of the Production of β -Galactosidase from *Klumeromyces marxianus* Grown on Different Substrates. *Food Technol. Biotechnol.* 41(4): 315- 320. eng.2.(4):1
- Scopes RK 1993. Protein Purification. New York: RR Doneley and Sons
- Shaikh SA, Khire JM, Khan MI 1999. Characterization of a thermostable extracellular β -galactosidase from a thermophilic fungus *Rhizomucor* sp. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1472(1-2):314-322.
- Steamer JR 1979. Lactic acid bacteria. Di dalam: de Fuguredo M.P. & Splittoesser, D.F. *Food Microbiology*. Public Health and Spoilage aspect. Westport: AVI Pub.
- Suriawiria Unus 2005. *Mikrobiologi Dasar*, Papas Sinar Sinanti, Jakarta hal: 111-112.
- Wang D, Sakakibara M 1997. Lactose hydrolysis and β -galaktosidase activity in
- Winarno FG 1999. *Enzim Pangan*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Wood BJB 1992. The Lactic Acid Bacteria in Health and Diseases. London: Blackie Academic and Professional.
- Yuningtias 2008. Isolasi dan Karakterisasi β -galaktosidase Bakteri Asam Laktat dari Hasil Fermentasi [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.



Efek Ekstrak Etanol Akar Anting- Anting (*Acalypha indica*) terhadap Libido Mencit

The Effect of Anting-Anting (Acalypha indica) Root Ethanol Extract on Sexual Arousal of Mice

Cut Yasmin, Kartini Eriani, Widya Sari

Faculty of Mathematics and Natural Science, SYIAH KUALA UNIVERSITY, Banda Aceh

KATA KUNCI *anting-anting; Acalypha indica; mencit; libido*
KEYWORDS *Acalypha indica; mice; and sexual arousal*

ABSTRAK Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek pemberian ekstrak etanol akar anting-anting (*Acalypha indica*) terhadap libido mencit. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap, terdiri atas empat perlakuan dengan lima ulangan. Perlakuan terdiri atas pemberian ekstrak etanol akar anting-anting dengan dosis: 0, 150, 300, dan 600 mg/kg bb yang diberikan sekali sehari selama 7 hari. Parameter libido yang diamati adalah mounting latency, intromission latency, dan jumlah orgasme. Data hasil penelitian dianalisis dengan analisis varian dan dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol akar anting-anting berpengaruh nyata dalam penyingkatan bermulanya mounting dan intromission, serta meningkatkan jumlah orgasme. Pemberian ekstrak etanol akar anting-anting dengan dosis 300 dan 600 mg/kg bb merupakan dosis yang dapat meningkatkan libido.

ABSTRACT This research was aimed to evaluate the effect of anting-anting (*Acalypha indica*) root ethanol extract on sexual arousal of mice. The experimental method with completely randomized design was applied, that consisted of four treatments and five repetition. The treatments were 0, 150, 300, dan 600 mg/kg bw anting-anting root ethanol extract given once a day for 7 days. Observed parameter were mounting latency, intromission latency, and the number of orgasm. The data was analyzed by analysis of variance and continued by Duncan's multiple range test. The result showed that anting-anting root ethanol extract was significantly difference to shorten the starting of mounting, intromission, and increasing the number of orgasm. The application of anting-anting ethanol extract with dose of 300 and 600 mg/kg bw was able to increase sexual arousal.

Tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica*) merupakan tumbuhan yang bermanfaat dalam pengobatan tradisional. Daunnya dapat mengobati mimisan, batuk, disentri, diare, muntah darah, pendarahan, dan luka luar (Dalimartha, 2003). Menurut Keumala (2010), tumbuhan ini mampu

meningkatkan stamina dan libido pada kucing jantan. Hal ini dikuatkan oleh uji

Correspondence:

Cut Yasmin, Faculty of Mathematics and Natural Science, SYIAH KUALA UNIVERSITY, Banda Aceh, Jalan Syeh Abdurrauf 3 Darussalam, Banda Aceh, HP 081361353522, e-mail: cutyasmin@gmail.com

fitokimia tumbuhan anting-anting yang menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, triterpenoid, steroid, dan saponin (Halimah, 2010). Kandungan senyawa kimia dari tanaman anting-anting berupa senyawa turunan saponin, triterpenoid, steroid, flavonoid, dan senyawa lainnya menjadikan tanaman ini berpotensi sebagai tumbuhan afrodisiak (Sirait, 2007).

Khasiat tumbuhan afrodisiak pada hewan jantan untuk meningkatkan libido dapat diamati dengan mengamati perilaku kawin dari pejantan. Perilaku kawin dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu pencahayaan, kepadatan, feromon, dan hormon (androgen/testosteron) (Widyaatmoko, 2000). Hormon testosteron merupakan hormon yang masuk ke dalam aliran darah dan berfungsi mengatur pertumbuhan karakteristik seksual sekunder jantan dan libido (Hafez, 2000). Berdasarkan hal ini, perlu dilakukan penelitian untuk mengevaluasi potensi afrodisiak dari tumbuhan anting-anting terhadap libido dan kualitas spermatozoa mencit.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Hewan uji yang digunakan adalah 20 ekor mencit jantan dan 40 ekor mencit betina (*Mus musculus*) berumur dua bulan. Mencit diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) Unsyiah, Banda Aceh. Kandang perawatan mencit terbuat dari bak plastik dengan ukuran 31 cm x 19 cm x 22 cm yang bagian atasnya ditutupi jaring kawat dan bagian bawahnya dialasi sekam padi dengan ketebalan 3 cm. Semua mencit ini diaklimatisasi selama 7 hari. Hewan coba diberi pakan jenis 789-S produksi PT Charoen Pokphan Medan, Indonesia. Mencit diberi pakan dan minum secara *ad libitum*.

Akar anting-anting yang digunakan sebanyak 2 kg yang diperoleh dari Desa

Limpok, Kecamatan Darussalam. Anting-anting merupakan tumbuhan herba semusim. Akar yang digunakan adalah akar yang diperoleh dari tumbuhan tua dengan dengan ciri-ciri akar bagian dalam umbi yang berwarna putih. Akar yang digunakan merupakan akar yang diperoleh dari tumbuhan dengan tinggi sekitar 40-60 cm, dengan kondisi tanah yang relatif kering. Setelah itu akar anting-anting dicuci dengan air mengalir.

Akar anting-anting diiris tipis-tipis dan dikeringanginkan. Setelah kering akar dimasukkan ke dalam blender untuk dihancurkan menjadi serbuk kasar. Serbuk anting-anting dengan bobot 50 g selanjutnya dimaserasi dalam etanol 95% sehari semalam di atas *shaker*, kemudian larutan disaring. Residu dimaserasi kembali berulang-ulang hingga filtrat yang diperoleh jernih. Filtrat kemudian diuapkan dalam evaporator pada suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak sebanyak 22,2 g.

Ekstrak etanol akar anting-anting ditimbang. Ekstrak dilarutkan dalam akuades dengan volume tertentu sebagai stok. Dari larutan stok dibuat larutan ekstrak untuk dosis 150, 300, dan 600 mg/kg bw.

Perlakuan hewan coba

Dua puluh ekor mencit jantan dikelompokkan secara acak menjadi lima perlakuan dengan empat ulangan untuk setiap perlakuan, yaitu diberi akuades (kontrol), ekstrak akar anting-anting dengan dosis 150 mg/kg bw, 300 mg/kg bw, dan 600 mg/kg bw.

Mencit jantan ditimbang terlebih dahulu sebelum diberi perlakuan. Pemberian ekstrak dilakukan setiap hari mulai pukul 09.00-10.00 WIB. Pemberian ekstrak diberikan secara oral pada mencit jantan dengan menggunakan alat pencekokan (*gavage*). Pengamatan perilaku kawin dilakukan setelah pemberian perlakuan selama 4 hari.

Mencit jantan digabungkan dengan mencit betina yang sedang proestrus. Setiap mencit jantan dikandangkan dengan 2 ekor mencit betina. Mencit jantan dan mencit betina yang akan diamati perilaku kawinnya ditempatkan pada kandang pengamatan perilaku kawin berupa kandang yang dindingnya terbuat dari material transparan sehingga mudah diamati. Mencit betina pada fase proestrus akhir disatukan dengan mencit jantan mulai pukul 17.00 - 06.30 WIB, kemudian diamati setiap perilaku yang ditunjukkan mencit jantan sehingga dapat didata kategori perilaku kawinnya. Pada pukul 06.30 mencit betina dipisahkan dari mencit jantan.

Pengamatan libido dilakukan dengan mengamati tahapan perilaku kawin yang terdiri atas perilaku mendekati pasangan kawin, perilaku percumbuan, perilaku prakopulasi, dan perilaku kopulasi (Yakubu, 2006). Dari keseluruhan perilaku tersebut, pengamatan dilakukan dengan menghitung waktu bermulanya perilaku kawin tersebut. Pengamatan perilaku kawin berupa penghitungan *mounting latency* (interval waktu dari perkenalan pada hewan betina sampai tunggangan pertama oleh hewan jantan), *intromission latency* (interval waktu dari perkenalan pada hewan betina sampai *intromission* pertama oleh hewan jantan), dan jumlah orgasme. Pengamatan perilaku kawin dilakukan dengan alat bantu berupa perangkat *closed circuit television* (CCTV).

Analisis Data

Data hasil pengamatan parameter libido dianalisis dengan menggunakan analisis varian. Apabila perlakuan berpengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan.

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak menyebabkan semakin singkatnya waktu bermulanya *mounting* dan *intromission* selama berlangsungnya perkawinan. Analisis varian memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak berpengaruh nyata terhadap *mounting latency* dan *intromission latency* ($P < 0,05$). Setelah dilanjutkan dengan uji jarak berganda hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Pengamatan perilaku kawin selama penelitian diawali dengan pendekatan hewan jantan terhadap hewan betina. Mencit jantan mencium tubuh dan kelamin pasangan kawin. Perilaku mendekati pasangan kawin dilanjutkan dengan perilaku bercumbu, melalui perilaku bercumbu hewan jantan memperoleh informasi tentang kesiapan hewan betina untuk melakukan perkawinan. Hewan jantan akan berusaha menarik perhatian hewan betina dan mencoba menunggangi atau menaiki tubuh pasangannya. Hewan betina reseptif akan memberikan isyarat berupa gerakan *lordosis*, yaitu suatu gerakan melengkungkan punggungnya dan

Tabel 1. Rata-rata *mounting* dan *intromission latency* pada tiap taraf perlakuan dosis ekstrak etanol akar anting-anting

Perlakuan (mg/kg bw)	Rata-rata <i>mounting latency</i> (menit)	Rata-rata <i>intromission latency</i> (menit)
Kontrol	161,70 ^a ± 14,83	197,83 ^a ± 8,74
150	155,06 ^a ± 6,94	189,97 ^a ± 5,89
300	136,05 ^b ± 11,03	184,43 ^a ± 7,73
600	120,87 ^c ± 5,43	132,47 ^b ± 16,53

Keterangan: Superskrip huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

menjauhkan ekor dari vulva. Mencit merupakan salah satu hewan yang menunjukkan aktivitas *lordosis*. Pada Tabel 1 terlihat rata-rata *mounting* dan *intromission latency* menjadi lebih singkat dibandingkan dengan kondisi normal (kontrol) yang berlangsung selama 3 jam menjadi 2 jam.

Pemberian ekstrak menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah orgasme pada

mencit. Analisis varian memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak berpengaruh nyata terhadap jumlah orgasme pada mencit ($P < 0,05$). Setelah dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2, yaitu perbedaan rata-rata jumlah orgasme antar perlakuan. Hanya pengaruh perlakuan 150 dan 300 mg/kg bw.

Tabel 2. Rata-rata jumlah orgasme pada tiap taraf perlakuan dosis ekstrak etanol akar anting-anting

Perlakuan mg/kg bw	Perlakuan	Rata-rata jumlah orgasme ($\bar{x} \pm SD$)
Kontrol	P0 (Kontrol, 0 g/kg bw)	$1,20^a \pm 0,45$
150	P1 (150 mg/kg bw)	$1,20^a \pm 0,45$
300	P2 (300 mg/kg bw)	$1,80^b \pm 0,45$
600	P3 (600 mg/kg bw)	$2,00^b \pm 0,00$

Keterangan: Superskrip huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

PEMBAHASAN

Mounting latency dan intromission latency

Pemberian ekstrak menunjukkan semakin singkatnya waktu dari pengenalan awal hingga tunggangan pertama jantan terhadap pasangannya (*mounting*) dan semakin singkatnya waktu dari pengenalan awal hingga *intromission* pertama oleh hewan jantan (Tabel 1). Peningkatan dosis ekstrak yang diberikan pada mencit jantan menyebabkan semakin singkatnya waktu bermulanya *mounting* dan *intromission*. Hal ini sejalan dengan perilaku mencit jantan pada penelitian Winarni (2010) yang menyatakan bahwa pemberian senyawa afrodisiak akan mempersingkat bermulanya *mounting* dan *intromission* dan meningkatkan *mounting* dan *intromission frequency*. Aktivitas *mounting* yang ditunjukkan dengan naiknya jantan ke tubuh betina, memeluknya, dan ditanggapi betina dengan perilaku *lordosis* akan berakhir dengan *intromission*. Mencit

jantan melakukan aktivitas *intromission* secara terus menerus selama estrus (berahi) mencit betina.

Pemberian ekstrak dapat meningkatkan stamina dan libido seksual (gairah seksual) sehingga terjadinya penurunan waktu bermulanya *mounting* dan *intromission*. Penurunan bermulanya *mounting* dan *intromission* diduga karena pengaruh dari senyawa afrodisiak yang terkandung dalam ekstrak seperti steroid, flavonoid, dan saponin. Menurut Nugroho *et al.* (2005). Pada umumnya tanaman yang berkhasiat sebagai afrodisiak mengandung senyawa turunan saponin dan flavonoid yang berkhasiat sebagai penguat tubuh yang mampu memberikan vitalitas dan tenaga sehingga mengatasi kelelahan dan membangkitkan libido mencit jantan. Peningkatan vitalitas diduga mengakibatkan hewan menjadi lebih aktif dan mampu mengawali aktivitas *mounting* dan *intromission* dalam waktu yang relatif singkat.

Tabel 1 menunjukkan bahwa bermulanya *mounting* dan *intromission* menurun sejalan dengan peningkatan dosis. Waktu bermulanya *mounting* dan *intromission* paling singkat terlihat pada dosis 600 mg/kg bw dengan selisih waktu antarperlakuan ± 40 menit. Rerata penurunan bermulanya *mounting* tidak berbeda nyata antara kontrol dan dosis 150 mg/kg bw, diduga karena dosis yang diberikan belum cukup untuk mempengaruhi bermulanya *mounting*. Penurunan waktu bermulanya *mounting* sudah terlihat berbeda nyata pada perlakuan dosis 300 mg/kg bw, hal ini berbeda dengan penurunan bermulanya *intromission* dimana pengaruh peningkatan dosis baru terlihat berbeda nyata pada perlakuan dengan dosis tertinggi dengan selisih waktu antar perlakuan ± 60 menit. Perbedaan pengaruh pemberian ekstrak etanol akar anting-anting terhadap bermulanya *mounting* dan *intromission* mempengaruhi kadar hormon testosteron sebagai pencetus *mounting* dan *intromission*. Hafez (2000) menyatakan mencit jantan perilaku kawin terdiri atas perilaku *courtship*, *copulatory* (*mounting*, *intromission*, dan ejakulasi) dan *postcopulatory*. Pada mencit betina perilaku kawin berupa *mounting* dan penerimaan terhadap jantan berupa *lordosis*. Dengan demikian *mounting* merupakan perilaku yang sifatnya tidak spesifik pada jantan dan bersifat sebagai perilaku dasar dalam perilaku kawin. Perilaku dasar umumnya lebih mudah dipengaruhi oleh faktor luar berupa kondisi lingkungan atau stimulus. Perbedaan antarjenis kelamin terletak pada kuantitas dari perilaku tersebut.

Bermulanya *mounting* hewan perlakuan dengan dosis 300 mg/kg bw lebih singkat secara nyata dibandingkan dengan kontrol dan dosis 150 mg/kg bw, akan tetapi tidak disertai dengan semakin singkatnya *intromission*. Hal ini diduga karena terdapatnya perbedaan kadar kandungan steroid ekstrak yang memicu perbedaan kadar

hormon testosteron mencit jantan. *Mounting* yang merupakan perilaku dasar dan mudah dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan stimulus, akan memberikan reaksi yang lebih cepat terhadap kandungan steroid yang terdapat dalam akar anting-anting yang salah satunya adalah testosteron dibandingkan dengan *intromission* yang merupakan perilaku spesifik pada jantan. Hal ini sejalan dengan penelitian Arletti *et al.* (1999) yang menyatakan dibutuhkan suatu ambang batas hormonal pada jumlah tertentu untuk mempersingkat *mounting latency* dan *intromission latency*. Akan tetapi penyingkatan *intromission latency* membutuhkan kadar hormonal yang lebih tinggi dibandingkan dengan *mounting latency*.

Jumlah Orgasme

Peningkatan jumlah orgasme hewan perlakuan diduga karena peningkatan hormon testosteron yang dipengaruhi oleh kandungan steroid dalam akar anting-anting. Peningkatan jumlah orgasme ini erat kaitannya dengan kejantanan yang dipengaruhi oleh senyawa steroid. Menurut Kussuryani (2010) hasil uji fitokimia menunjukkan adanya steroid dalam ekstrak etanol akar anting-anting. Hafez (2000) menyatakan testosteron disintesis dari prekursor kolesterol. Sintesis testosteron diawali oleh terjadinya pembentukan pregnenolon dari kolesterol. Pregnenolon selanjutnya diubah menjadi progesteron yang akan berperan sebagai prekursor dalam menginduksi androgen seperti testosteron. Pengaruh kejantanan yang mampu meningkatkan jumlah orgasme terjadi setelah pengubahan testosteron menjadi estrogen dalam otak. Turner dan Bagnara (2001) menyatakan senyawa sterol (bentuk steroid dalam tumbuhan) yang berstruktur mirip kolesterol dapat diubah menjadi pregnenolon, jika tingkatan hormon steroid dan hormon gonadotropin telah tercapai maka hipotalamus melalui pengeluaran

hormon *Luteinizing Hormone Releasing Factor* (LRF) menyebabkan pengeluaran hormon FSH dan LH yang menjaga agar testis berfungsi setiap saat dan apabila betina pada periode proestrus maka hipotalamus melalui pengeluaran hormon LRF menyebabkan pengeluaran hormon ovulasi yaitu LH, sehingga mulailah terjadi berahi pada akhir proestrus. Kandungan steroid yang terdapat dalam akar tumbuhan anting-anting dapat meningkatkan jumlah orgasme. Peningkatan jumlah orgasme ini erat kaitannya dengan kemampuan kejantanan seperti ereksi. Kemampuan ereksi jantan sangat dipengaruhi oleh testosteron, hilangnya testosteron menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas seksual. Karakteristik penting dari testosteron adalah peningkatan dosis testosteron meningkatkan level atau tingkatan jumlah kopulasi.

Peningkatan jumlah orgasme hewan perlakuan juga dipengaruhi oleh kandungan saponin dalam ekstrak etanol akar anting-anting yang diduga melancarkan sirkulasi darah. Menurut Nugroho *et al.* (2005) kandungan saponin dalam tumbuhan afrodisiak mampu menekan jumlah prolaktin dalam darah yang mengakibatkan meningkatnya libido dengan melancarkan sirkulasi darah selama ereksi.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol akar anting-anting pada mencit berpengaruh pada libido berupa singkatnya waktu bermulanya *mounting* dan *intromission*, serta meningkatkan jumlah orgasme. Dalam penelitian ini dosis 300 mg/kg bw sampai 600 mg/kg bw merupakan dosis yang dapat meningkatkan libido. Potensi penggunaan anting sebagai tumbuhan afrodisiak selain karena kandung-

an fitokimianya yang mengandung senyawa afrodisiak. Tumbuhan ini juga relatif mudah ditemukan dikarenakan tumbuh liar dan mudah untuk ditumbuhkan jika ingin dikembangkan hingga skala budidaya.

KEPUSTAKAAN

- Arletti R, Benelli A, Cavazzuti E, Scarpetta G, Bertolini A 1999. Stimulating Property of *Turnera Diffusa* and *Pfaffia paniculata* Extracts on the Sexual-Behavior of Male Rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 143(1):15- 19.
- Dalimartha S 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Trubus Agriwidya, Jakarta.
- Hafez ESE 2000. *Reproduction in Farm Animals*. Lea and Febiger, USA.
- Halimah N 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Keumala CI 2010. Bayam Uteun' Bangkitkan Birahi Kucing Jantan. *Serambi Indonesia*. 3 Oktober.
- Kussuryani Y 2010. Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia dalam Akar Tanaman *Acalypha indica* L. Serta Uji Aktivitas Biologinya. *Tesis*. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Nugroho YA, Widyana L, Astoeti P, Naryono B 2005. Toksisitas Akut dan Khasiat Ekstrak Som Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) Sebagai Stimulan. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 3(1) :17-20.
- Shivayogi, Hiremath K, Rudresh B, Sarasawati and Shrishailappa 1998. Post-Coital Antifertility Activity of *Acalypha indica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*. 67(3) : 253-258.
- Turner CD dan Bagnara 2001. *Endokrinologi Umum*. Diterjemahkan dari General Endocrinology, oleh Harsojo. Airlangga Press, Yogyakarta.
- Widyaatmoko D 2000. Aktivitas Androgenik Infusa Daun Maitan (*Lunasia amara* B.) pada Anak Ayam Jantan. *Skripsi*. Universitas Padjajaran, Bandung.
- Winarni D 2010. Efek Ekstrak Ginseng Jawa dan Korea Terhadap Perubahan Perilaku Mencit Jantan. Laporan Penelitian. *Abstrak*. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Yakubu 2006. Aphrodisiac Potentials And Toxicological Evaluation of Aqueous Extract of *Fadogia agrestis* (Schweinf. Ex Hiern) Stem in Male Rats. *Thesis*. University of Ilorin, Nigeria.



Pengaruh Infusa Wortel (*Daucus carota* L.) Terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Jantan Yang Diinduksi Uranium

*The Influence of Carrot (*Daucus carota* L.) Infusion on the Histopathology of Kidney Male Rats Induced by Uranium*

Windhartono W.¹, Zainul Kamal², Ediati Sasmito³

¹Faculty of Mathematics & Natural Sciences, Islamic University of Indonesia, Yogyakarta

²Research Center for the Development of Advance Technology National Nuclear Energy Agency, Yogyakarta

³Faculty of Pharmacy, Gadjah Mada University, Yogyakarta

KATA KUNCI gangguan sel ginjal; uranium; wortel
KEYWORDS kidney cell disorder; uranium; carrot

ABSTRAK Ginjal merupakan organ vital yang berperan sangat penting dalam mempertahankan kestabilan lingkungan dalam tubuh dengan fungsi utama yaitu filtrasi oleh glomerulus, reabsorpsi dan sekresi tubulus. Kerusakan sel ginjal sampai kematian sel akan menyebabkan fungsi ginjal terganggu. Efek paparan senyawa radioaktif salah satunya dapat menyebabkan terjadinya gangguan sel-sel ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh infusa wortel (*Daucus carota* L.) dalam mencegah gangguan sel ginjal akibat paparan uranium. Uji proteksi dilakukan dengan membagi 30 tikus jantan dewasa menjadi enam kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Kelompok I tanpa diberi perlakuan, kelompok II diberi uranium 8 ppm dosis 0,01 mL/g BB sebagai kontrol negatif, kelompok III sebagai kontrol positif dengan vitamin C 200 mg/70 kg BB yang diberikan 15 menit sebelum pemajanan uranium, kelompok IV, V, dan VI sebagai kelompok uji proteksi kerusakan sel ginjal diberi infusa wortel (*Daucus carota* L.) berturut-turut 10%, 20%, 30% dengan dosis 0,01 mL/g BB 15 menit sebelum diberi uranium 8 ppm dosis 0,01 mL/g BB. Lima hari kemudian hewan dikorbankan dan diambil organ ginjalnya untuk dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis berupa pengamatan kondisi fisik organ ginjal, pengamatan terhadap nekrosis sel ginjal, dan skoring tipe kerusakan untuk menganalisis efek proteksinya. Hasil pemeriksaan histopatologi menyimpulkan bahwa infusa wortel dapat mengurangi kerusakan sel ginjal akibat paparan senyawa radioaktif uranium.

ABSTRACT Kidney is the vital organ which has an importance role in maintaining environmental stability of the body, with the main functions are glomerulus filtration, reabsorption and secretion by tubulus. The damage of kidney cells will reduce kidney function. If a kidney is exposed to radioactive substance it could deteriorate the kidney. The aim of this research was to find out the effect of carrot infusion used to prevent kidney cells disorder due to uranium exposure. Thirty rats wistar strain divided into 5 groups were used in this study, comprising of 5 rats in each groups throughout the experiment. Group I was a normal control group. Group II was given uranium of 8 ppm 0,01 mL/g BW as negative control group. Group III was given vitamin C of 200 mg/70 kg BW 15

minute prior to uranium exposure. Group IV-VI were given carrot infusion at 10%, 20%, 30% dose of 0,01 mL/g BW 15 minutes prior to uranium exposure. The rats were sacrificed in day-5, to observe the kidney's damage upon macroscopy and microscopy examination, involving physical condition of the kidney, necrosis of kidney cells and scoring the damage of kidney cells. The microscopic examination toward necrosis of kidney cells showed that carrot infusion can reduce cell damage due to radioactive compound of uranium.

Setiap orang terpapar sejumlah kecil uranium melalui makanan, udara, dan air. Secara alami uranium telah ada di seluruh lingkungan. Paparan uranium pada tingkat tinggi dapat menyebabkan penyakit ginjal (Anonim, 2006). Percobaan terhadap hewan dan manusia membuktikan bahwa uranium bersifat nefrotoksik, tidak hanya pada tubulus ginjal namun juga meliputi kerusakan glomerulus. Pada dosis kecil uranium menyebabkan luka pada glomerulus, dengan nekrosis koagulasi glomerulus dan udem kapsular, penyumbatan pembuluh eferen, dan degenerasi hialin (Durakoviæ, 1999). Efek langsung radiasi terhadap materi adalah terjadinya ionisasi pada materi, sedangkan efek tidak langsung adalah radikal bebas yang terbentuk akibat interaksi radiasi dengan media air berinteraksi dengan materi dan membentuk persenyawaan lain (Nelly, 2005).

Wortel (*Daucus carota* L.) adalah suatu sayuran akar dari suku umbelliferae (apiaceae) dengan kandungan utama beta karoten yang bersifat sebagai antioksidan yang dapat melawan kerja radikal bebas dalam merusak sel-sel tubuh. Hambatan kerusakan sel ginjal akibat paparan uranium yang dilakukan oleh infusa wortel dapat mengurangi kerusakan ginjal/gagal ginjal lebih lanjut.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh infusa wortel (*Daucus carota* L.) dalam mencegah gangguan sel ginjal akibat paparan uranium.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan dan Alat

1. Bahan

Subyek uji yang digunakan adalah 30 ekor tikus putih jantan galur Wistar, umur 2-3 bulan, berat badan 150-300 gram, dan diberi pakan BR2-F serta minum *ad-libitum*. Bahan lain yang digunakan antara lain: wortel, asam askorbat/vitamin C, uranium alam dalam bentuk uranyl nitrat, formalin 10% untuk fiksasi organ, hematoxilin eosin sebagai larutan pewarna dan lain-lain.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain: kandang plastik sebanyak 6 buah diberi penutup jaring kawat dengan ukuran 20 x 30 cm dengan tinggi 10 cm, mikroskop cahaya, spuit injeksi, seperangkat alat bedah (gunting, pinset), mikrofilter 0,22 µL.

Cara Penelitian

1. Pemilihan hewan uji

Penelitian menggunakan tikus putih jantan galur Wistar dewasa umur 2-3 bulan, berat 150-300 gram sebanyak 30 ekor dan makanan formula 521 yang diberikan secara *ad libitum*.

Correspondence:

Ediati Sasmito, Faculty of Pharmacy, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telephone: (0274) 543120 Faksimile: (0274) 543120, email: ediatiasmito@yahoo.com

2. Pengelompokkan Hewan Uji

Tiga puluh ekor tikus jantan dibagi menjadi 6 kelompok secara acak, masing-masing kelompok uji terdiri dari lima ekor tikus putih jantan. Perincian pembagian kelompok berdasarkan perlakuan adalah sebagai berikut:

- Kelompok I adalah tikus putih jantan tanpa pemberian uranium 8 ppm maupun infusa senyawa uji sebagai kontrol normal.
- Kelompok II adalah tikus putih jantan dengan pemberian uranium 8 ppm sebanyak 0,01 mL/g BB sebagai kontrol negatif.
- Kelompok III adalah tikus putih jantan dengan pemberian uranium dan 15 menit sebelumnya diberi vitamin C dosis 200 mg/70 kg BB sebagai kontrol positif.
- Kelompok IV adalah tikus putih jantan dengan pemberian uranium dan 15 menit sebelumnya diberi infusa wortel 10% sebanyak 0,01 mL/g BB.
- Kelompok V adalah tikus putih jantan dengan pemberian uranium dan 15 menit sebelumnya diberi infusa wortel 20% sebanyak 0,01 mL/g BB.
- Kelompok VI adalah tikus putih jantan dengan pemberian uranium dan 15 menit sebelumnya diberi infusa wortel 30% sebanyak 0,01 mL/g BB.

3. Koleksi dan Determinasi Tanaman

Wortel didapatkan dari perkebunan wortel di Dusun Jerakah, Tegal Kopen, Kabupaten Boyolali Jawa Tengah, dengan usia kurang lebih 4 bulan. Untuk identifikasi dan determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Islam Indonesia Yogyakarta dengan berpedoman pada dua buku yaitu *Flora Voor de Scholen In Indonesia* karangan DR. C. G. G. J. Van Steenis, dan *Flora of Java* karangan Backer and Bakhuizen Van De Brink (1968).

4. Pembuatan larutan uji

Bahan uji yang dipakai adalah wortel, asam askorbat (vitamin C) dan senyawa uranium. Uranium yang digunakan diperoleh dalam konsentrasi 8 ppm dari BATAN Yogyakarta, sehingga tidak perlu dilakukan pengenceran maupun pemekatan sebelum diujikan pada kelompok II-VI.

a. Pembuatan suspensi asam askorbat

Dosis vitamin C untuk manusia secara parenteral adalah 200 mg/mL (Anonim, 2003). Dengan konversi dosis dari manusia 70 kg ke tikus 200 g adalah 0,018. Maka dosis vitamin C yang digunakan untuk tikus adalah:

$$0,018 \times 200 \text{ mg} = 3,6 \text{ mg}/200\text{g}$$

Volume pemecatan = 3 mL untuk 200 g BB tikus

$$\text{Dosis tikus} = 3,6 \text{ mg}/200 \text{ g} / 3\text{mL}$$

$$\text{Pembuatan larutan stok untuk 8 tikus } 3,6 \text{ mg} / 3 \text{ mL} \times 8 = 28,8 \text{ mg} / 24 \text{ mL}$$

$$\text{Volume pemecatan} = 3 \text{ mL} / 200 \text{ g} \times \text{BB tikus (g)}$$

b. Pembuatan infusa wortel

Infusa wortel diperoleh dengan cara merebus parutan wortel dalam aquades selama 15 menit, dihitung setelah larutan mendidih. Untuk mendapatkan konsentrasi 10% digunakan 50 gram / 500 mL, untuk konsentrasi 20% digunakan 100 gram / 500 mL, dan untuk konsentrasi 30% digunakan 150 gram / 500 mL. Selanjutnya larutan yang diperoleh disaring menggunakan kertas saring hingga diperoleh filtrat yang lebih encer. Filtrat kemudian disaring kembali menggunakan mikrofilter dengan diameter pori 0,22 μm untuk mengeliminasi kandungan mikroba yang dapat menimbulkan penyimpangan hasil.

5. Waktu Pengambilan Sampel Organ Ginjal

Pada akhir masa uji, yaitu hari ke-5, dilakukan preparasi jaringan atau organ ginjal pada hewan uji, dengan cara memisahkan ginjal dari organ lain, dicuci

dengan aquades, difiksasi dengan formalin 10%, dan dibuat preparat histopatologi.

6. Pemeriksaan Makroskopis Dan Mikroskopis Ginjal

a. Pemeriksaan Makroskopis

Pemeriksaan makroskopis dilakukan pengamatan kondisi fisik organ yang

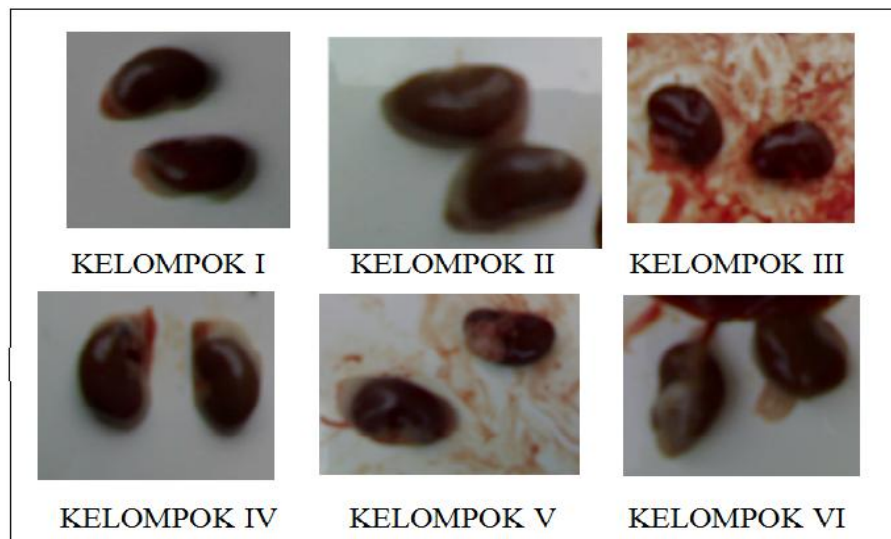
dibandingkan dengan organ ginjal tikus kelompok 1 (kontrol normal).

b. Pemeriksaan Mikroskopis

Pada pemeriksaan mikroskopis dilakukan pengamatan nekrosis sel-sel ginjal dan skoring tipe-tipe kerusakan.

HASIL

Hasil Pemeriksaan Makroskopis Ginjal diberikan pada Gambar 1.



Gambar 1: Hasil pemeriksaan makroskopis ginjal dari masing-masing kelompok perlakuan

Pada pemeriksaan ini dilakukan pengamatan kondisi fisik organ dibandingkan dengan organ ginjal normal.

Pengamatan fisik organ pada kelompok I (kontrol normal) terlihat bahwa ginjal tampak normal tanpa ada perubahan patologik. Ginjal berwarna merah segar dengan tekstur permukaan terlihat halus. Pada kelompok II (kontrol negatif) kondisi ginjal tidak ditemukan adanya perubahan yang mencolok. Ukuran tampak normal/tidak bengkak, namun warna terlihat lebih pucat atau tidak segar. Pada kelompok III (kontrol

positif) maupun kelompok perlakuan infusa wortel (kelompok IV-VI) tidak tampak adanya perubahan patologik.

B. Pemeriksaan Mikroskopis Ginjal

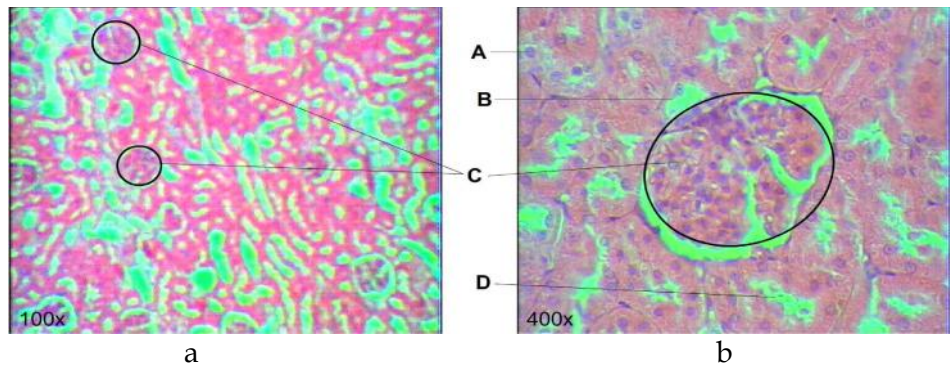
Telah dilakukan pula penghitungan jumlah sel-sel ginjal yang rusak untuk mengetahui persentase kerusakan sel pada tiap kelompok, untuk kemudian dilakukan penilaian dengan menentukan skor/derajat nekrosisnya berdasarkan persentase kerusakan sel tersebut (Tabel I).

Tabel 1. Hasil pemeriksaan mikroskopis sel ginjal tikus 5 hari setelah pemberian nefrotoksin uranium

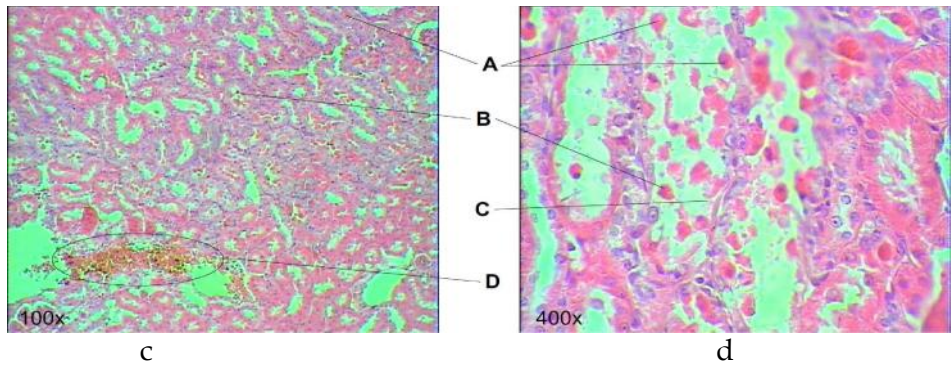
Kelompok	Hasil Pengamatan
Kelompok I (kontrol normal)	Tidak ada perubahan (normal)
Kelompok II (kontrol negatif)	Nekrosis +3
Kelompok III (kontrol positif)	Nekrosis +1
Kelompok IV (infusa wortel 10%)	Nekrosis +2
Kelompok V (infusa wortel 20%)	Nekrosis +2
Kelompok VI (infusa wortel 30%)	Nekrosis +1

Keterangan :
Kerusakan 1% - 2,99% = (+1)
Kerusakan 3% - 4,99% = (+2)
Kerusakan 5% - 6,99% = (+3)

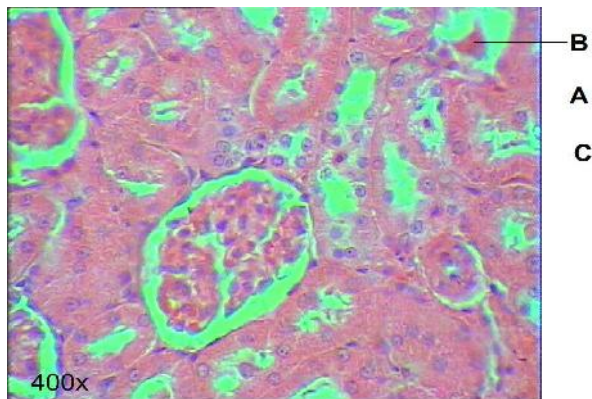
Gambaran mikroskopis sel ginjal dari setiap kelompok ditunjukkan pada Gambar 2-7



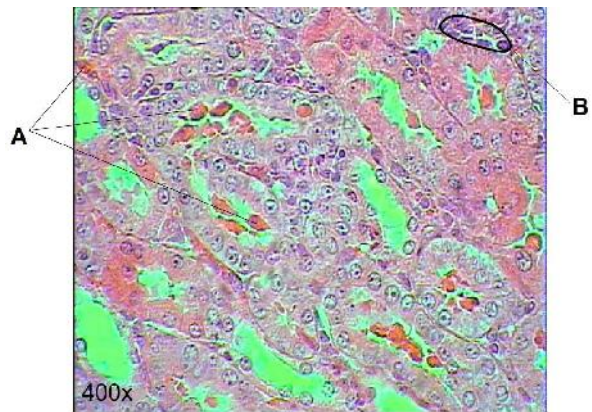
Gambar 2 (a dan b). Hasil pemeriksaan mikroskopis sel ginjal kontrol normal. A. Inti sel, B. Tubulus distal, C. Glomerulus, D. Tubulus proksimal.



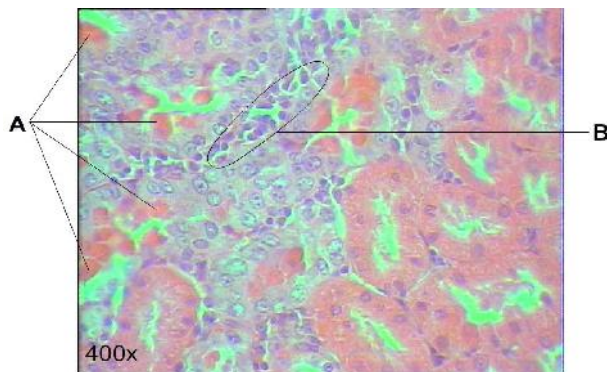
Gambar 3 (c dan d). Hasil pemeriksaan mikroskopis sel ginjal tikus kelompok II (kontrol negatif). A. Nekrosis sel, B. Sel epitel tubulus nekrosis, C. Tubulus distal kehilangan sel-sel epitel, D. Perdarahan.



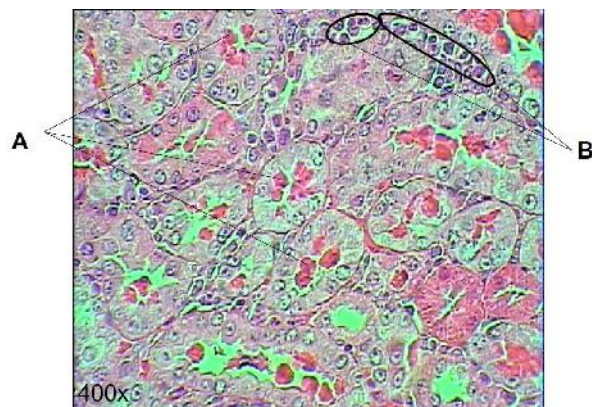
Gambar 4. Hasil pemeriksaan mikroskopis sel ginjal tikus dengan perlakuan vitamin C 200 mg/70 kg BB + uranium 8 ppm. A. Tubulus distal, B. Nekrosis di tubulus proksimal, C. Nekrosis di tubulus distal.



Gambar 7. Hasil pemeriksaan mikroskopis sel ginjal tikus dengan perlakuan infusa wortel 30% + uranium 8 ppm. A. Nekrosis, B. Infiltrasi sel leukosit.



Gambar 5. Hasil pemeriksaan mikroskopis sel ginjal tikus dengan perlakuan infusa wortel 10% + uranium 8 ppm. A. Nekrosis, B. Infiltrasi sel leukosit.



Gambar 6. Hasil pemeriksaan mikroskopis sel ginjal tikus dengan perlakuan infusa wortel 20% + uranium 8 ppm. A. Nekrosis, B. Infiltrasi sel leukosit.

PEMBAHASAN

Menurut Underwood (1999) bahwa pada kasus gagal ginjal akut intrinsik tipe Nekrosis Tubuler Akut (ATN) yang disebabkan oleh toksin (merkuri, karbon tetraklorida, uranium, dll) ditemukan perubahan ginjal secara makroskopik tampak bengkak dan berwarna merah keabuan. Tidak tampaknya perubahan pada pengamatan kelompok II ini kemungkinan disebabkan oleh derajat kerusakan yang rendah sehingga adanya lesi tidak terlihat secara makroskopis.

Pada gambar 2 diatas tidak tampak adanya perubahan pada struktur jaringan ginjal. Sel-sel ginjal tampak normal. Glomerulus tampak sebagai kumpulan sel-sel yang rapat yang bentuknya menyerupai lingkaran (gambar 2C). Pada tubulus distal (gambar 2B) terlihat sel inti lebih rapat pada bagian yang lebih dekat dengan glomerulus, warna sel lebih biru. Sedangkan pada tubulus proksimal (gambar 2D) sel lebih jarang, dan pada bagian dalam terdapat serabut-serabut/fili.

Pada kelompok perlakuan nefrotoksin uranium 8 ppm (Gambar 3) terlihat bahwa jaringan ginjal mengalami kerusakan.

Terdapat nekrosis di sel epitel tubulus yang secara jelas tampak perubahan warna dari biru menjadi merah (gambar 3A). Struktur dan susunan sel ginjal berubah dan tidak teratur sehingga menjadi agak sulit membedakan antara tubulus proksimal dengan tubulus distal. Sebagian tubulus distal telah kehilangan sel-sel epitel (gambar 3B), sehingga mengurangi fungsinya dalam melakukan reabsorpsi. Di beberapa tempat ditemukan infiltrasi sel leukosit, PMN, MN. Juga tampak adanya perdarahan karena pecahnya pembuluh darah di ginjal yang diawali dengan pelebaran pembuluh darah. Nekrosis yang terjadi memiliki skor +3 dengan persentase kerusakannya sebesar 6,42%.

Pada kelompok III kontrol positif (Gambar 4) gambaran mikroskopis selnya terdapat nekrosis baik di tubulus proksimal maupun di tubulus distal. Terdapat perbaikan sel-sel ginjal dibandingkan kontrol negatif. Tidak banyak terdapat kehilangan sel-sel epitel pada tubulusnya, sehingga masih dapat terlihat jelas perbedaan struktur antara tubulus proksimal dengan tubulus distal. Adanya regenerasi sel ditunjukkan pada sel yang berwarna lebih putih atau transparan. Derajat atau skor nekrosisnya adalah +1 atau dengan persentase kerusakan sebesar 1,02%. Dari hasil tersebut memperkuat bukti bahwa vitamin C mempunyai aktivitas sebagai antioksidan.

Dari gambar 5, pada perlakuan infusa wortel 10% terjadi kerusakan sel ginjal, nekrosis terjadi di sebagian epitel tubulus kontortus. Pada gambar tersebut juga tampak adanya infiltrasi / penyusupan sel leukosit (gambar 5B), yaitu keluarnya sel leukosit dari pembuluh darah menuju daerah yang mengalami nekrosis sel untuk membantu melakukan proses fagositosis (proses peradangan). Hal ini ditandai dengan munculnya sel-sel yang jumlahnya banyak, letaknya rapat satu sama lain dan warnanya lebih ungu dari sel epitel tubulus. Kerusakan pada kelompok ini

mencapai persentase 3,93% atau memiliki skor kerusakan +2. Berdasarkan hasil tersebut kelompok dosis 10% telah dapat menurunkan tingkat kerusakan sel ginjal, namun tidak sebaik kontrol positif (vitamin C).

Pada perlakuan infusa wortel 20% yang ditunjukkan oleh gambar 6 terjadi kerusakan sel ginjal, nekrosis terjadi di sebagian epitel tubulus kontortus. Juga tampak terjadi infiltrasi sel leukosit (gambar 6B) untuk melakukan proses fagositosis sel-sel yang rusak atau mengalami kematian. Pada beberapa sel terlihat adanya lubang putih di tubulus menandakan adanya degenerasi sel, seharusnya pada warna putih itu adalah sel, tetapi ada cairannya sehingga tampak putih. Kerusakan pada kelompok V ini memiliki skor +2, yaitu dengan persentase kerusakan sel mencapai 3,78%. Hasil yang sama dengan kelompok infusa wortel 10%, dan dapat dinyatakan memiliki daya proteksi terhadap kerusakan ginjal akibat paparan zat radioaktif uranium.

Pada kelompok perlakuan infusa wortel 30% (gambar 7) juga ditunjukkan adanya kerusakan sel-sel epitel tubulus. Struktur dari jaringan ginjal di daerah tubulus kontortus tampak tidak teratur. Infiltrasi sel juga terjadi (gambar 7B). Perlakuan infusa wortel 30% berdasarkan data mikroskopis dapat menurunkan kerusakan sel ginjal yang memberikan derajat kerusakan +1 atau sama derajatnya dengan kontrol positif vitamin C. Dapat dikatakan memiliki daya proteksi terhadap kerusakan sel ginjal dengan persentase kerusakan sebesar 2,42%.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa infusa wortel 30% dapat mencegah kerusakan sel ginjal lebih baik dibandingkan dengan kadar 10% dan 20%, setara dengan penghambatan kerusakan sel

ginjal tikus oleh vitamin C dosis 200 mg/70 kg BB. Berdasarkan pemeriksaan histopatologi disimpulkan bahwa sediaan infusa wortel memiliki daya proteksi terhadap nekrosis sel ginjal akibat senyawa radioaktif yang bersifat nefrotoksik.

Saran

Dalam rangka pengembangan penelitian tentang daya proteksi kelainan sel ginjal oleh infusa wortel, maka perlu penelitian lanjutan yang sama tetapi infusa wortel diberikan secara oral mengingat perbedaan kecepatan dan jumlah absorpsi yang berbeda pada pemberian oral dan intra peritoneal. Perlu dilakukan variasi penetapan waktu pemberian senyawa uji sediaan infusa wortel diatas 15 menit, misalnya pemberian infusa wortel pada 3 hari berturut-turut sebelum pemejanaan uranium.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih dan penghargaan kami tujukan kepada PTAPB BATAN

Yogyakarta atas ijin dan fasilitas penelitian yang diberikan.

KEPUSTAKAAN

- Anonim 2003. *ISO Indonesia volume 38*, Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia, Jakarta.
- Anonim 2006. *ToxFAQs™ for Uranium*, available at [http:// ATSDR - ToxFAQs™ Uranium.cdc.gov](http://ATSDR-ToxFAQsUranium.cdc.gov) (diakses 06 Desember 2006)
- Durakovia A 1999. *Medical Effect of Internal Contamination with Uranium*, available at <http://www.cmj.hr/index.php?P=1760> (diakses 08 Mei 2007).
- Nelly 2005. *Buku Ajar Radiofarmasi*, Departemen Farmasi FMIPA UI, Percetakan ARI CIPTA, Jakarta.
- Price SA 1995. *PATOFISIOLOGI: Konsep Klinis dan Proses-Proses Penyakit*, diterjemahkan oleh Peter Anugrah, EGC, Jakarta, 767, 770-777.
- Underwood JCE 1999. *Patologi dan Sistematika* Vol 2, E.G.C. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Wardhana WA 1995. *Radiasi dan Ekologi*, Penerbit Andi, Yogyakarta, 111-117.
- Widatama A 2006. Efek Perasan Umbi Jalar (*Ipomoea batatas L.*) Pada Tikus Putih Jantan Yang Mengalami Gangguan Sel Hati Akibat Induksi Uranium, *Skripsi*, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.



Disfungsi Telomer Pada Penyakit Autoimun

Telomere Dysfunction in Autoimmune Diseases

Endang Purwaningsih

Department of Anatomy, Faculty of Medicine, YARSI University

KATA KUNCI

telomere; imun; rematoid artritis; lupus

KEYWORDS

telomere; immune; rheumatoid arthritis; systemic lupus erythematosus

ABSTRAK

Telomer merupakan bagian ujung kromosom yang terdiri atas nukleotida non koding dan berfungsi mencegah terjadinya aberasi kromosom. Pemendekan telomer pada setiap kali siklus replikasi sel berhubungan dengan proses penuaan sel. Proses penuaan akan meningkatkan resiko penyakit autoimun. Faktor genetik dapat memicu hilangnya telomer yang diikuti dengan berkembangnya penyakit autoimun. Beberapa penyakit autoimun seperti rematoid artritis (RA), Systemic Lupus Erythematosus (SLE) atau lupus mengalami disfungsi telomer. Pada penderita SLE telomer sel-sel darahnya mengalami pemendekan bermakna terutama pada usia di bawah 45 tahun, yaitu sebesar 35 – 40 bp pertahun, sedangkan usia di atas 60 tahun, pemendekan telomer kurang bermakna. Tetapi aktifitas telomerase sel-sel darah pada pasien SLE cukup tinggi. Pada penderita rematoid artritis, pemendekan telomer mulai terjadi pada usia 25 – 40 tahun. Pada rematoid artritis HLA -DR+ mengalami pemendekan telomer 26 bp lebih besar pertahun dibandingkan HLA-DR-. Telomer pada penderita rematoid artritis laki-laki lebih pendek daripada penderita perempuan. Reduksi panjang telomer tidak berhubungan dengan lamanya menderita rematoid tetapi dipengaruhi oleh genotip HLA-DRB1. Aktivitas telomerase sel T penderita rematoid rendah sehingga mempercepat apoptosis.

ABSTRACT

Telomeres are the natural ends of linear chromosomes, consisting of non coding nucleotides and function to prevent chromosome aberration, whereas aging is considered as the effect of telomere shortening due to cell replication. In addition aging will increase the risk of autoimmune diseases. Genetic factor can trigger telomere loss, followed by the development of autoimmune diseases. Dysfunction of telomeres occurs in some of autoimmune diseases such as Rheumatoid Arthritis (RA) and Systemic Lupus Erythematosus (SLE). Telomere in blood cells of SLE patient significantly shortened in those under 45 years old, around 35-40 bps per year. However, in patients above 60 years old, no significant different is observed. Regardless the age, telomerase activity in blood cells in SLE patient is quite high. Telomere shortening occurs at the age of 25-40 years in RA patients. In RA patients, telomere in HLA -DR+ is shortened by 26 bp higher than HLA-DR- per year. RA male patients have shorter telomere than the female patients. Reduction of telomere length is not related with the period of rheumatic but affected by HLA-DRB1 genotype. Telomerase activity in T cells of RA patient are insufficient and lead to advance apoptosis.

Penyakit autoimun adalah penyakit dimana sistem kekebalan yang terbentuk salah mengidentifikasi benda asing, dimana sel, jaringan atau organ tubuh manusia justru dianggap sebagai benda asing sehingga dirusak oleh antibodi. Jadi adanya penyakit autoimmun tidak memberikan dampak peningkatan ketahanan tubuh dalam melawan suatu penyakit, tetapi justru terjadi kerusakan tubuh akibat kekebalan yang terbentuk.

Ada dua teori utama yang menerangkan mekanisme terjadinya penyakit autoimun. Pertama, autoimun disebabkan oleh kegagalan pada delesi DNA limfosit normal untuk mengenali antigen tubuh sendiri. Kedua, autoimun disebabkan oleh kegagalan regulasi normal sistem imunitas (yang mengandung beberapa sel imun yang mengenali antigen tubuh sendiri namun mengalami supresi). Terjadinya kombinasi antara faktor lingkungan, faktor genetik dan tubuh sendiri berperan dalam ekspresi penyakit autoimun. Beberapa contoh penyakit autoimun tersebut antara lain adalah *Rheumatoid arthritis* (RA), *Systemic Lupus Erythematosus* (SLE), *Antiphospholipid Syndrome* (APS) (Branch and Poster, 2000; Cunningham *et al.*, 2001).

Telomer merupakan bagian ujung kromosom yang terdiri atas DNA nonkoding dan berfungsi mencegah terjadinya aberasi kromosom tertentu. Panjang pendeknya telomer ada hubungannya dengan umur seseorang (Greider and Blackburn, 1996; Rochmah dan Aswin, 2001). Telomer ini akan memendek setiap kali sel membelah dan pada panjang tertentu, sel akan berhenti membelah, atau yang disebut sel yang menua yang selanjutnya akan mati. Sel-sel germinal (sel sperma dan sel telur), kromosomnya memiliki telomer yang normal panjang untuk persiapan kehidupan jangka panjang. Sedangkan sel-sel somatik telomernya sudah mengalami pemendekan, dan akan terus memendek selama perkembangan sel (Greider and Blackburn, 1996). Kestabilan telomer di-

pelihara dan dipertahankan oleh enzim telomerase. Pemendekan telomer pada setiap siklus replikasi berhubungan dengan proses menua sel.

Pada beberapa penyakit autoimun seperti *Rheumatoid Arthritis*, *Systemic Lupus Erythematosus* (SLE) diketahui mengalami kekurangan atau disfungsi enzim telomerase sehingga menyebabkan pemendekan telomer (Kaszubowska, 2008; Fujii *et al.*, 2009; Hohensinner *et al.*, 2011). Dalam makalah ini akan disampaikan hal-hal yang berhubungan dengan kejadian disfungsi telomer pada penyakit autoimun, seperti *rheumatoid arthritis* dan penyakit lupus.

PENYAKIT AUTOIMUN

Autoimun adalah respon imun terhadap antigen jaringan sendiri yang disebabkan kegagalan mekanisme normal yang berperan untuk mempertahankan *self-tolerance* sel B, sel T atau keduanya. Potensi autoimun ditemukan pada semua individu oleh karena limfosit dapat mengeskpresikan reseptor spesifik untuk banyak self antigen (Baratawijaya, 2006). Autoimun terjadi karena self-antigen dapat menimbulkan aktivasi, proliferasi serta diferensiasi sel T autoreaktif menjadi sel efektor yang menimbulkan kerusakan jaringan dan berbagai organ. Baik antibodi maupun sel T atau keduanya dapat berperan dalam pathogenesis penyakit autoimun, seperti *Rheumatoid arthritis* (RA) dan *Systemic lupus erythematosus* (SLE).

Rheumatoid arthritis (RA)

Rheumatoid arthritis (RA) adalah gangguan kronis inflamasi sistemik yang dapat mempengaruhi banyak jaringan dan

Correspondence:

Prof. DR. Endang Purwaningsih, MS,PA., Department of Anatomy, Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta, Jalan Letjen. Suprpto, Cempaka Putih, Jakarta Pusat 10510, Tel. 021-4206674-76, Faksimile: 021-4244574

organ, tetapi terutama menyerang sendi fleksibel (sinovial). Penyakit ini di Indonesia sering juga disebut rematik saja. Penyakit RA mengenai sendi pergelangan tangan, lutut, bahu, metakarpal-phalangeal. Penyakit ini merupakan penyakit progresif, biasanya mempunyai potensi untuk menyebabkan kerusakan sendi dan kecacatan fungsional. Penyakit ini telah lama dikenal dan tersebar luas di seluruh dunia dan lebih sering dijumpai pada wanita daripada pria (Price *et al.*, 2003).

Ditemukan antibodi yang khas disebut rheumatoid faktor yang bereaksi dengan antigen membentuk kompleks imun yang ditemukan pada synovial dan cairan pleura. Ada kecenderungan timbulnya penyakit RA ini dapat diwariskan secara genetik. Ada dugaan infeksi tertentu atau lingkungan dapat memicu pengaktifan sistem kekebalan tubuh pada individu yang rentan. Serangan RA sering terjadi pada umur 25 sampai 35 tahun; prevalensi tertinggi antara umur 35 sampai 55 tahun (Branch and Poster, 2000; Cunningham *et al.*, 2001).

Rheumatoid arthritis bukan merupakan penyakit yang mendapat perhatian seperti penyakit jantung, kanker dan AIDS, tetapi merupakan masalah kesehatan yang terjadi di mana-mana. Fakta statistik adalah sebesar 14,3% dari populasi Amerika Serikat menderita RA. Data di Amerika Serikat menunjukkan bahwa prevalensi tertinggi dari RA adalah pada suku Indian dibanding dengan suku non Indian. Lebih dari 36 juta penduduk Amerika menderita 1 dari 100 jenis. Di Indonesia diperkirakan kasus rheumatoid berkisar antara 0,1% sampai dengan 0,3% di kelompok orang dewasa dan 1:100 ribu jiwa dikelompok anak-anak (Price *et al.*, 2003).

Penderita penyakit *Rheumatoid arthritis* mempunyai masalah dalam menjaga aktivitasnya. Kemampuan tersebut meliputi berdiri, berjalan, bekerja, makan, minum dan

lain sebagainya. Kemampuan aktivitas seseorang berhubungan dengan sistem persyarafan dan sistem muskuloskeletal. Penyakit ini dapat mengakibatkan ketidakmampuan melakukan aktivitas sehari-hari seutuhnya. Keterlibatan tangan akibat RA sering dijumpai (Widiani *et al.*, 2012). Dilaporkan bahwa 90% penderita RA mengeluhkan masalah pada tangan. Keterlibatan sendi pergelangan tangan hampir selalu dijumpai (Bennet and Belza, 2005 *cit* Widiani *et al.*, 2012).

Systemic lupus erythematosus (SLE)

Systemic lupus erythematosus (SLE) adalah suatu penyakit inflamasi kronik yang idiopatik, dengan manifestasi klinik yang kompleks mengenai kulit, sendi, ginjal, paru-paru, membrana serosa, sistem saraf, hati dan berbagai organ tubuh yang lain. Kelainan ini dapat menyebabkan kematian (Kahlenberg and Kaplan, 2011). Gejala yang paling sering ditemukan adalah kelelahan. Demam, penurunan berat badan, myalgia dan arthralgia juga merupakan gejala yang sering ditemukan (Branch and Potter, 2000).

Prevalensi penyakit ini berkisar 5-100 per 100.000 individu, wanita dewasa mempunyai kemungkinan 5-10 kali lebih besar untuk menderita penyakit ini dibandingkan dengan pria. Populasi tertentu mempunyai prevalensi yang lebih tinggi, misalnya pada wanita Amerika turunan Afrika prevalensinya tiga kali lebih tinggi dibanding dengan wanita turunan Kaukasia.

Predisposisi genetik untuk SLE mencakup beberapa faktor. Kejadian SLE berkisar 5-12% pada keluarga penderita SLE, pada penderita yang kembar monozigot kejadianya lebih dari 50%. Sejumlah petanda genetik ditemukan lebih sering pada penderita SLE dibanding kelompok kontrol, meliputi HLA-B8, HLA-DR3 dan HLA-DR2. Penderita SLE juga mempunyai frekuensi defisiensi protein komplemen C2 dan C4 yang lebih tinggi

(Cunningham *et al.*, 2001). SLE adalah penyakit radang multisistem yang sebabnya belum diketahui, dengan gambaran klinis dapat akut atau kronik eksaserbasi yang dimediasi oleh adanya autoantibodi dalam tubuh. Neuropeptide *substance P*, sitokin proinflamasi seperti IL-1 dan IL-6 merupakan mediator yang penting dalam peradangan pada lupus erytematosus. Pada stres akan terjadi peningkatan CRH, yang secara langsung dapat menginduksi sintesis *substance P* serta meningkatkan pelepasan sitokin proinflamasi oleh sel Th1, sehingga stres dapat merupakan faktor risiko atau memperberat keadaan lupus erytematosus (Jacob *et al.*, 2001 cit Whardana, 2012).

Penyakit SLE dapat menyebabkan lesi pada kulit, glomerulus ginjal, dinding pembuluh darah, dan tempat-tempat yang lain. Hal ini ditandai dengan terbentuknya auto-antibodi yang dikenal dengan *antinuclear antibody*, yang bereaksi dengan berbagai bahan kandungan inti termasuk DNA. Antibodi ini tidak sitotoksik, dan mungkin tidak merusak sel normal. Akan tetapi apabila mengalami kehancuran, antigen nukleus akan dilepaskan dan akan membentuk kompleks imun dengan auto antibodi (Underwood, 2002).

Prognosis dan harapan hidup penderita SLE terus membaik dalam dua dekade terakhir. Diagnosis dini, spesifitas auto-antibodi baru, dan perbaikan teknik serologik telah memperbaiki prognosis SLE. Faktor lain yang juga berpengaruh adalah peningkatan pengetahuan tentang SLE, perbaikan pelayanan kesehatan, serta pemakaian obat anti-inflamasi, immunosupresor dan immunomodulator (Cervera and Font, 2005 cit Musai, 2010).

TELOMER DAN IMUNITAS

Telomer adalah bagian ujung kromosom yang berfungsi untuk integritas kromosom dan replikasi seluler. Telomer

menjaga agar antar kromosom tidak saling bergandengan dan untuk menjaga keutuhan genom (materi genetik) selama perkembangan sel (Greider and Blackburn, 1996; Weng, 2012). Telomer ini akan memendek setiap kali sel membelah dan pada panjang tertentu, sel akan berhenti membelah, atau yang disebut sel yang menua yang selanjutnya akan mati (Greider and Blackburn, 1996; Weng, 2012).

Pada sel mamalia, telomer terdiri dari replikasi (pengulangan) heksanukleotida (TTAGGG), bersama-sama dengan protein yang terkait banyak. Dengan tidak adanya mekanisme kompensasi, sel membelah diri mengalami erosi telomer secara bertahap sampai tingkat kritis memperpendek menyebabkan kelainan kromosom dan kematian sel atau penuaan. Untuk sel T dan sel B, kemampuan untuk mengalami pembelahan sel yang luas dan ekspansi klonal sangat penting untuk fungsi kekebalan tubuh yang efektif (Hodes *et al.*, 2002).

Sejumlah kelainan genetik pada manusia dan pada model binatang diketahui dapat menyebabkan pemendekan telomer yang dipercepat, yang pada gilirannya menyebabkan kelainan fenotip. Panjang telomer, paling sering diukur sebagai nilai rata-rata dalam populasi heterogen leukosit darah perifer pada manusia, telah dikaitkan dengan berbagai kondisi kesehatan dan penyakit kekebalan dan non-imun (Weng, 2012).

Kemampuan sistem kekebalan tubuh untuk merespon secara efektif terhadap antigen sangat bergantung pada sinyal yang mengatur differensiasi dan proliferasi antigen limfosit yang spesifik. Limfosit dapat mengekspresikan telomerase pada tahap-tahap perkembangan dan aktivitas tertentu. Misalnya sumsum tulang dan timosit mengekspresikan telomerase sedang kan limfosit T yang dalam keadaan istirahat tidak mengekspresikan telomerase, dan baru akan mengekspresikan telomerase jika ada rangsangan (Hathcock, 2009).

Pada respon imun adaptif ada dua jenis limfosit, yaitu limfosit T dan limfosit B (sel B dan sel T). Sel T dapat dibagi lagi menjadi T helper (CD4) dan sel T sitotoksik (CD 8). Sel T helper (CD4) bertanggung jawab untuk memfasilitasi kemampuan sel T sitotoksik CD8 untuk membunuh sel-sel target yaitu sel patogen intraseluler. Sedangkan kemampuan sel B untuk memproduksi antibodi yang mengenali dan memfasilitasi penghancur sel patogen yang berikutnya (Weng, 2006).

Selama dekade terakhir, telah banyak dipelajari peran telomere dan telomerase dalam diferensiasi dan fungsi limfosit dalam kondisi normal. Hal ini juga menimbulkan pertanyaan mengenai peran telomer dalam fungsi limfosit selama dalam proses penuaan *in vivo*. Berdasarkan analisis cross-sectional, tingkat pemendekan telomer adalah berkisar 20 sampai 60 bp / tahun pada limfosit orang dewasa normal. Selama 80 tahun hidup, pengurangan telomer sekitar 2-5 kb dalam limfosit ditambah hilangnya 1-2 kb dalam awal kehidupan. Dengan demikian mengurangi panjang telomer pada kisaran 3-5 kb selama diproyeksikan berdasarkan *cross-sectional analysis*, dengan asumsi bahwa rata-rata panjang telomer awal adalah 10 kb. Pertanyaan penting yang diajukan oleh temuan ini adalah apakah panjang telomer yang tersisa cukup untuk mempertahankan fungsi telomer dalam limfosit? Studi lebih lanjut diperlukan, terutama analisis longitudinal panjang telomer dan aktivitas telomerase, untuk lebih memahami peran telomer dalam fungsi limfosit selama proses penuaan *in vivo* (Weng, 2008).

Penemuan cacat genetik dalam gen TERC (*telomerase RNA template*) dan TERT (*telomerase reverse transcriptase*) menunjukkan peran penting dari telomerase dalam proliferasi sel hematopoietik dan pertumbuhan. Analisis individu yang mengalami stres psikologis yang berkepanjangan juga me-

nunjukkan adanya penurunan fungsi limfosit pada individu-individu yang berhubungan dengan pemendekan telomer yang dipercepat (Weng, 2008). Pada sel-sel imun yang mengalami penuaan dapat terjadi gangguan pada sistem imun. Pada kasus ini diketahui, bahwa telomer mengalami pemendekan yang nyata (Miller, 2000).

DISFUNGSI TELOMER PADA PENYAKIT AUTOIMUN

Selama beberapa dekade terakhir ini penelitian mengenai penyakit yang diperantarai sistem imun berkembang dengan pesat, terutama karena penyakit degeneratif yang dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan inflamasi. Kebanyakan kasus dialami oleh individu di atas umur 50 tahun dengan usia sebagai faktor risiko terkuat. Penuaan juga meningkatkan risiko penyakit autoimun klasik seperti *Rheumatoid Arthritis* (RA). Angka kejadian RA paling banyak terjadi pada wanita post menopause, yang kemudian menimbulkan dugaan bahwa proses penuaan mengubah fungsi sistem imun yang seharusnya bersifat proteksi menjadi bersifat melukai host itu sendiri (Andrew *et al.*, 2009).

Telomer adalah DNA-protein kompleks yang menutupi ujung kromosom dan melindungi kromosom dari kerusakan dan mutasi. Telomer yang mengalami pemendekan dikaitkan dengan peningkatan risiko beberapa penyakit seperti kanker, penyakit jantung, neurodegeneratif, dan penyakit autoimun serta kematian dini. Dalam populasi, sekitar 3,5% orang menderita penyakit autoimun, 94% dari jumlah tersebut berupa penyakit Grave (hipertiroidism), diabetes mellitus tipe 1, *arthritis rheumatoid*, *systemic lupus erythematosus* (SLE). Penyakit ini ditemukan lebih banyak pada wanita (2,7 x disbandingkan pria), diduga karena pengaruh faktor hormon (Baratawijaya, 2006; Musai, 2010).

Abnormalitas panjang telomer telah dideskripsikan pada penyakit autoimun seperti SLE, sistemik sklerosis, RA, insulin-dependent diabetes mellitus, Wegener's granulomatosis, atopik dermatitis, psoriasis. Individu normal dengan haplotipe HLA-DR4 yang merupakan faktor resiko utama RA, mengalami pemendekan telomer secara signifikan selama 20 tahun di awal masa hidupnya. Dengan demikian maka terdapat komponen genetik yang memicu hilangnya telomer yang kemudian memicu timbulnya atau berkembangnya penyakit autoimun. Meningkatnya jumlah telomer yang hilang menyebabkan kerentanan seseorang terhadap penyakit autoimun dan merupakan faktor predisposisi untuk penyakit inflamasi terkait usia (Andrew *et al.*, 2009).

Pada sel-sel imun yang mengalami penuaan, telomernya akan mengalami pemendekan yang drastic pada sel limfosit manusia sehingga dapat menimbulkan gangguan pada sistem imun. Disisi lain gangguan sistem imun dapat menyebabkan pemendekan telomer. Akan tetapi hal yang kontradiksi adalah pada sel limfosit hewan seperti tikus dan mencit, sel-sel imun yang mengalami penuaan, telomer tidak mengalami pemendekan (Miller, 2000). Lebih lanjut dilaporkan bahwa pada sel limfosit T/sel T akan selalu mengalami pemendekan telomer pada setiap kali pembelahan dan penuaan, terutama pada pasien Wegener's granulomatosis. Ekspresi CD28 pada sel T dilaporkan mengalami reduksi (Vogts *et al.*, 2003).

Disfungsi Telomer pada penderita *Systemic Lupus Erythematosus* / SLE

Beberapa penelitian melaporkan bahwa pada penderita SLE terjadi disfungsi telomer yang meliputi pemendekan panjang telomere dan peningkatan aktivitas enzim telomerase. Dilaporkan bahwa dari 55 penderita Lupus / SLE berumur 20 sampai 72 tahun menunjukkan bahwa aktivitas

telomerase pada sel mononuklear darah tepi (*peripheral blood mononuclear cells*/PBMC) penderita SLE meningkat secara bermakna dibandingkan kelompok orang normal pada semua tingkatan umur. Pada kelompok SLE non aktif tidak tampak adanya peningkatan aktivitas telomerase bermakna dibandingkan kelompok kontrol, sedangkan panjang telomer pada PBMC mengalami pemendekan bermakna pada penderita SLE dibandingkan kelompok orang normal pada usia muda. Sebaliknya pada usia lanjut (60 tahun ke atas) panjang telomer tidak mengalami pemendekan bermakna dibandingkan kelompok orang normal pada usia yang sama (Kurosaka *et al.*, 2003). Hal ini sesuai dengan penelitian Honda *et al* (2001) yang menunjukkan karakteristik panjang telomer sel PBMC pasien SLE. Pada penderita SLE usia muda, telomer mengalami pemendekan walaupun aktivitas telomerase tinggi pada sel PBMC pasien SLE. Peningkatan aktivitas telomerase pada sel PBMC pasien SLE sebelumnya juga sudah dilaporkan (Katayama and Kohriyama, 2001).

Penelitian lainnya di Taiwan pada penderita SLE berumur 16-76 tahun, melaporkan bahwa panjang telomer pada sel-sel darah (*polymorphonuclear*/PMN dan *mononuclear*/MNC) akan berkurang (memendek) dibanding orang normal. Panjang telomer pada penderita SLE dari kedua sel darah tersebut akan berkurang sekitar 35 – 40 bp per tahun. Pemendekan telomer akan lebih cepat pada penderita SLE yang berumur dibawah 45 tahun dibandingkan penderita SLE di atas umur 45 tahun. Tidak ditemukan adanya perbedaan bermakna antara panjang telomer pasien SLE antara jenis kelamin laki-laki dan perempuan pada tingkatan umur yang sama (Wu *et al.*, 2007).

Ekspresi gen-gen yang berperan pada pemeliharaan panjang telomer dan degradasi telomer seperti gen *TRF*, *TIN*, *POT1*, *MRE*, dan *KU80* telah dilaporkan (Zhou *et al.*, 2011).

Gen tersebut ikut berperan dalam patogenesis SLE. Ekspresi gen *TPPI*, *TIN2*, *POT1* dan *KU80* pada sel PBMC penderita SLE menurun atau berkurang secara bermakna dibanding orang normal. Akan tetapi ekspresi gen *TRF2* dan *MRE11* meningkat secara bermakna. Sementara itu ekspresi gen-gen yang lain seperti *TRF1*, *RPA1*, *hRPA1*, dan *Ki67* tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara penderita SLE dengan orang normal. Dilaporkan pula bahwa tidak ada korelasi antara gen-gen tersebut terkait umur, baik pada penderita SLE maupun orang normal Zhou *et al.*, 2011).

Disfungsi Telomer pada penderita Rheumatoid Arthritis (RA)

Penderita RA mengalami pemendekan telomer lebih awal dibandingkan orang normal pada usia sekitar 25 – 40 tahun. Dilaporkan oleh Schonland *et al* (2003) bahwa pada HLA-DR4+ dari limfosit T/ sel T akan mengalami pemendekan telomer secara bermakna, yaitu sebanyak 25 bp per tahun dibandingkan HLA-DR4-. Haplotype HLA-DR berhubungan dengan faktor risiko timbulnya RA. Pada penderita RA HLA-DR+ dilaporkan mengalami pemendekan telomer pada sel granulosit dan limfositnya dibandingkan pada individu normal. Hubungan antara HLA-DR4 haplotype dengan penuaan sel T dapat menjelaskan terjadinya gangguan imunologi pada penderita RA.

Penderita RA memiliki karakteristik adanya peningkatan reaksi inflamasi dan peningkatan stress oksidatif, sehingga pada penderita RA akan mengalami penuaan dini pada sel T dan kehilangan/penurunan ekspresi CD28. Hal ini akan berakibat pada pemendekan telomer sel limfosit T dan sel granulosit. Dalam hal ini timbul pertanyaan, apakah jenis kelamin dan lamanya menderita RA berhubungan erat dengan penurunan panjang telomer pada sel-sel darah putih? Dilaporkan, bahwa penderita RA laki-laki

memiliki telomer yang lebih pendek daripada perempuan. Reduksi panjang telomer tidak berhubungan dengan lamanya menderita RA tetapi dipengaruhi oleh genotip HLA-DRB 1 (Steer *et al.*, 2007).

Pada penderita RA, CD4 sel T gagal meregulasi aktivitas enzim telomerase; selanjutnya aktifitas telomerase yang rendah menyebabkan meningkatnya apoptosis sel T itu sendiri. Peran telomerase dalam mempengaruhi apoptosis sel T tidak bergantung pada panjang telomer. Pada RA, disfungsi CD4 sel T ini menimbulkan respon imun yang tidak adekuat (Fujii *et al.*, 2009; Hohensinner *et al.*, 2011). Dilaporkan oleh Raafat *et al* (2011) bahwa ekspresi gen *Human Telomerase Reverse Transcriptase (hTERT)* pada penderita RA yang diberi radiasi (sebagai antiinflamasi) ataupun yang tidak diradiasi, lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Penderita yang tidak diradiasi menunjukkan ekspresi gen hTERT lebih tinggi daripada penderita yang diberi radiasi. Selanjutnya dilaporkan juga, bahwa pada RA yang tidak diradiasi terjadi proses perbaikan telomer yang lebih baik dan menunjukkan peningkatan apoptosis sel T.

Panjang telomer dapat menjadi biomarker yang potensial dalam penyakit RA dan dapat digunakan untuk memprediksi tingkat keparahan penyakit RA. Penderita RA akan mengalami penurunan dalam pengaturan sistem imun dan sistem imun mengalami penuaan dini. Penderita RA berumur 20 – 30 tahun, sel T mengalami pemendekan telomer sebesar 9 bp per tahun; sedangkan pada umur 50 – 60 tahun terjadi pemendekan sebesar 45 bp per tahun. Selanjutnya dilaporkan juga bahwa di Jerman, penderita RA selama kurang dari satu tahun, aktivitas telomerasenya (berupa mRNA TERT) akan mengalami penurunan dibanding kelompok kontrol (Costenbänder *et al.*, 2011).

SIMPULAN

Telomer merupakan bagian ujung kromosom yang terdiri atas DNA nonkoding yang menutupi ujung kromosom dan melindungi kromosom dari kerusakan dan mutasi. Telomer dapat mengalami pemendekan yang dikaitkan dengan peningkatan risiko beberapa penyakit seperti penyakit neurodegeneratif dan penyakit autoimun. Pada penyakit autoimun seperti *Rheumatoid Arthritis* dan *Lupus (Systemic Lupus Erythematosus)* telomere dapat mengalami pemendekan bermakna dibandingkan individu normal. Besarnya derajat pemendekan telomer ini tergantung usia. Aktivitas enzim telomerase pada penyakit autoimun seperti RA dan Lupus menunjukkan hal yang sangat berbeda.

KEPUSTAKAAN

- Andrews NP, Fujii H, Goronzy JJ, Weyand CM 2010. Telomeres and Immunological Diseases of Aging. *Gerontology* 56 : 390-403
- Baratawidjaya, Karnen Garna 2006. *Imunologi Dasar*. Universitas Indonesia Press.
- Branch D, Porter T 2000. Autoimmune disease. In: James D, Steer P, Weiner C, Gonik B, editors. *High risk pregnancy management option*. 2 nd ed. New York: W.B Saunders; p. 853-84.
- Costenbänder KH, Prescott J, Zee RY, and De Vivo I 2011. Immunosenescence and Rheumatoid : Does Telomere Shortening Predict Impending disease? *Autoimmune Rev* 10 (9): 569 – 573.
- Cunningham F, MacDonald P, Gant N, Leveno K, Gilstrap L, Hankins Gea 2001. *Connective tissue disorders*. In: Williams Obstetrics. 21 st ed. New York: McGraw Hill. p. 1383-99.
- Fujii H, Shao L, Colmegna I, Goronzy JJ, and Weyand 2009. Telomerase insufficiency in Rheumatoid arthritis. *PNAS* 106 (11): 4360 - 4365
- Greider CW and Blackburn EH 1996. Telomeres, Telomerase and Cancer. *Scientific American*, p: 92. <http://www.genethik.de/telomerase.htm> Diakses pada tanggal 5 /10/2010
- Hathcock KS 2009. Telomere Biology and Immune System. <http://www.discoverymedicine.com/Karen-S-Hathcocok/2009/07/25>. Diakses pada tanggal 4 Desember 2012.
- Hodes RJ, Hatchcock KS, Weng NP 2002. Telomere in T and B Cells. *Nature Rev Immunology* 2 : 699 - 706
- Hohensinner PJ, Goronzy JJ, and Weyang CM 2011. Telomere Dysfunction, Autoimmunity and Aging. *Aging and Disease* 2 (6): 524 - 537
- Honda M, Mengesha E, Albano S et al 2001. Telomere shortening and decreased replicative potential, contrasted by continued proliferation of telomerase positive CD8+CD28 (lo) T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol* 99 : 211 – 221.2001
- Kahlenberg JM and Kaplan MJ 2011. The interplay of Inflammation and Cardiovascular Disease in Systemic Lupus Erythematosus . *Arthritis Res and Therapy* 13 : 203 -213.
- Kaszubowska L 2008. Telomere Shortening and Ageing of The Immune System. *J of Physiol Pharmacol* 59: Suppl 9: 169 – 186.
- Katayama Y and Kohriyama K 2001. Telomerase activity in peripheral blood mononuclear cells of Systemic connective tissue diseases. *J Rheumatoid* 28 : 288- 289
- Kurosaka D, Yasuda J, Yoshida K, Yokoyama T, Ozama Y, Obayashi Y, Kingetsu I, Saito S, and Yamada A 2003. Telomerase Activity and Telomere length of Peripheral Blood Mononuclear Cells in SLE patients. *Lupus* 12 : 591 - 599
- Miller RA 2000. Telomere Diminution as cause of Immune Failure in Old Age.: an unfashionable demurral. *BST* 28 (2); 241 - 245
- Musai M 2010. Terapi Lupus Erythematosus Sistemik dengan Penghambatan Konstimulasi Sel T. *MKI* 60 (10): 474 – 479.
- Price A, Sylvia, Wilson M, Lorraine 2003. *Patofisiologi*, Edisi 6, Jakarta. Penerbit buku kedokteran ECG, p 1385-1389.
- Raafat BM, Aziz SW, Latif NA, and Hanafi AM 2011. Human Telomerase Reverse Transcriptase (hTERT) Gene Expression in Rheumatoid Arthritis (RA) Patients after Usage of Low Level Laser Therapy (LLL). *Austr Journal of Applied Sci* 5 (10): 1 – 8.
- Rohmah W and Aswin S 2001. Tua dan Proses menua. *Berkala ilmu Kedokteran* 33 (4): 221-227
- Steer SE, Williams MK, Kato B et al 2007. Reduce Telomere Length in Rheumatoid Arthritis is Independent of Disease activity and duration. *Ann Rheum Dis* 66: 476 – 480. Doi: 10.1136/ard.2006.059188
- Schonland SO, Lopez C, Widmann T, Zimmer J, Bry E, Goronzy JJ, and Weyland CM 2003. Premature telomeric loss in Rheumatoid Arthritis is genetically determined and involves both myeloid and lymphoid cell lineages. *PNAS* 100 (23): 13471 - 13476

- Underwood JCE 2002. Patologi. Umum dan sistematik. Second Ed. Terjemahan Sarjadi. Penerbit EGC, Jakarta.
- Vogts S, Iking-Konect T, Hug F, Andrassy K, Hansch GM 2003. Evidence for Replicative Senescence of T Cells derived from patients with Wegner's Granulomatosis. *Kidney Int* 63 (6): 2144 - 2151
- Wardana M 2012. Psikoneuroimunologi di bidang Dermatologi.
<http://madewardhana.com/artikel/psikoneuroimunologi-di-bidang-dermatologi.html>. Diakses pada tanggal 18/12-2012
- Weng NP 2006. Aging of Immune System: How Much Can the Adaptive Immune System Adapt? *Immunity* 24 (5): 495-499
- Weng NP 2008. Telomere and Adaptive Immunity. *Mech Ageing Dev*, doi:10.1016/j.mad.2007.11.005
- Weng NP 2012. Telomeres and Immune Competency. *Current Opinion on Immunology* 24 (Issue 4) : 470 - 475
- Widiani W, Nuhonni SA, Murdana IN, Sumariyono, Bardosono 2011. Efek Program Latihan Tangan di Rumah terhadap Deksteritas Bimanual Penderita Arthritis Reumatoid. *J Indon Med assoc* 61 (11) : 435 - 441.
- Wu CH, Hsieh SC, Li KJ, Lu MC, and Yu CL 2007. Premature Telomere Shortening in polymorphonuclear neutrophils from patients with systemic lupus erythematosus is related to the lupus disease activity. *Lupus* 16 : 265 - 272
- Zhou JG, Qing YF, Yang QB, Xie WG, and Zhao MC 2011. Changes in the expression of Telomere maintenance genes might play a role in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 20 : 820 - 828.

ISI

ISSN: 0854 – 1159

JURNAL KEDOKTERAN YARSI

Volume 21 Nomor 1

Januari – April 2013

Gambaran <i>Low Back Pain</i> pada Komunitas <i>Fitness Center</i> Dengan Instruktur dan Tanpa Instruktur di Yogyakarta. M. Ardiansyah Adi Nugraha, Daniswara	001-007
Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kola (<i>Cola nitida</i>) Pada Kualitas Sperma Manusia <i>In Vitro</i>. T. Susmiarsih dan Susi Endrini	008--013
Purifikasi Parsial dan Karakterisasi β-Galactosidase dari <i>Lactobacillus plantarum</i> Strain D-210. Nur Nunu Prihantini, Tatik Khusniati, Maria Bintang, Abdul Choliq dan Sulistiani	014-026
Efek Ekstrak Etanol Akar Anting-Anting (<i>Acalypha indica</i>) terhadap Libido Mencit. Cut Yasmin, Kartini Eriani, Widya Sari	027-032
Pengaruh Infusa Wortel (<i>Daucus carota</i> L.) Terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Jantan Yang Diinduksi Uranium. Windhartono W., Zainul Kamal, Ediati Sasmito	033-040
Disfungsi Telomer Pada Penyakit Autoimun. Endang Purwaningsih	041-049

Jurnal Kedokteran YARSI YARSI Journal of Medicine

PETUNJUK BAGI PENULIS

1. Karangan yang dikirim kepada Redaksi adalah karangan yang belum pernah dan tidak akan dipublikasikan di tempat lain dalam bentuk cetakan.
2. Naskah harus diketik dengan komputer. Dikirim rangkap dua disertai disket yang berisikan naskah tersebut dan harus memakai program Microsoft Words.
3. Naskah ditulis dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris yang baik, jelas, lugas dan ringkas. Diketik di atas kertas berukuran 21.5 x 28 cm dengan kerapatan 2 spasi, kecuali untuk abstrak harus dengan kerapatan 1 spasi. Ketikan dibuat dalam satu muka saja. Diberi nomor halaman mulai dari halaman judul. Setiap halaman ketikan dimulai 2.5 cm dari tepi atas, bawah, kiri dan kanan. Maksimal halaman adalah 30 halaman dalam ukuran kertas seperti ditentukan diatas.
4. Untuk keseragaman penulisan, setiap naskah **laporan penelitian** harus terdiri dari: judul dalam bahasa Indonesia dan Inggris; nama penulis dan instansi tempat bekerja; abstrak dalam bahasa Indonesia dan Inggris; pendahuluan yang mencakup latar belakang permasalahan, masalah dan pertanyaan penelitian, serta tujuan penelitian; bahan dan cara kerja; hasil; pembahasan; simpulan dan saran; ucapan terima kasih; serta daftar pustaka. Dapat pula disertakan tabel, grafik, foto/gambar dan keterangan foto/gambar. **Hasil** harus dipisah dengan **pembahasan**.
5. Judul ditulis dengan huruf besar, sebaiknya tidak lebih dari 12 kata. Bila perlu, dapat dilengkapi dengan anak judul. Naskah yang telah pernah disajikan dalam pertemuan ilmiah atau tesis yang belum pernah diterbitkan dan diedarkan secara nasional, dibuat keterangan berupa catatan kaki. Nama penulis dan instansi tempat bekerja ditulis dengan huruf kecil. Terjemahan judul dalam bahasa Inggris diketik dengan huruf italic.
6. Nama penulis ditulis tanpa gelar. Nama penulis yang dicantumkan paling banyak 5 (lima) orang. Bila lebih, cukup diikuti dengan kata-kata: dkk. atau *et. al.* Nama penulis harus disertai nama lembaga tempat ybs. bekerja. Alamat korespondensi ditulis lengkap dengan nomor telepon, Fax dan E-mail (kalau ada).
7. Kata kunci (keywords) yang menyertai abstrak harus ditulis dalam bahasa Inggris. Diletakkan di bawah judul sebelum abstrak. Tidak lebih dari 5 kata, dan **sebaiknya bukan merupakan pengulangan dari kata-kata dalam judul**.
8. Abstrak harus dibuat dalam bahasa Indonesia dan Inggris, panjangnya tidak melebihi 250 kata dan diletakkan setelah judul makalah dan nama penulis. Abstrak harus memuat ringkasan dari: **latar belakang, tujuan, bahan dan cara kerja, hasil, pembahasan, simpulan dan saran**.
9. Untuk naskah **makalah ilmiah** (bukan laporan penelitian) maka sistematika penulisan adalah: judul (dalam bahasa Indonesia dan Inggris), nama penulis, instansi tempat bekerja, abstrak (dalam bahasa Indonesia dan Inggris), pendahuluan (termasuk masalah yang akan dibahas), pembahasan, simpulan, saran, dan daftar pustaka.
10. Laporan penelitian yang memakai manusia sebagai subjek percobaan, harus melampirkan surat persetujuan dari Komite Etik Penelitian setempat.

11. Tidak menulis singkatan atau angka pada awal kalimat, tetapi ditulis dengan huruf secara lengkap. Angka yang dilanjutkan dengan simbol ditulis dalam angka Arab, misalnya 2 cm, 3 kg.
12. Kata asing yang belum diubah menjadi kata Indonesia diberi garis bawah, tidak dalam huruf italic (miring).
13. Kutipan pustaka harus diikuti dengan nama pengarang dan tahun publikasi dari mana kutipan diambil, misalnya: (Briggs and Porter, 1975). Bila kutipan berasal dari lebih satu tulisan, tetapi berasal dari penulis yang sama dan tahun yang sama, ditulis sebagai berikut:
Holland TD 1986. Sex determination of fragmentary crania by analysis of the cranial base. *Am.J.Phys.Anthrop.* 70: 203-208.
Holland TD 1986a. Race determination of fragmentary crania by analysis of the cranial base. *J.Forensic sci.* 31: 719-725.
14. Kutipan yang lebih dari 4 baris, diketik dengan spasi tunggal tanpa tanda petik. Kutipan yang pendek disambung dengan kalimat naskah diantara tanda petik.
15. Daftar pustaka disusun menurut sistem Harvard, dimana nama-nama pengarang disusun menurut abjad tanpa nomor urut dengan susunan sebagai berikut: nama penulis (surname), tahun publikasi, judul lengkap artikel (bila bukan buku), judul majalah atau buku, volume, edisi, nama kota penerbit, nama penerbit dan nomor halaman.
Contoh: La Vail JH. 1975. Retrograde cell degeneration and retrograde transport techniques. In: WM Cowan and M Cuenod (eds): *The use of axonal transport for studies of Neuronal Connectivity*. New York: Elsevier, p 217-248.
16. Singkatan nama jurnal dalam daftar pustaka mengacu pada Index Medicus dan indeks lain yang sejenis. Hanya pustaka yang dikutip saja yang boleh dimuat dalam daftar pustaka.
17. Tabel dan gambar dibuat sesederhana mungkin, bagus dan jelas pada kertas HVS dalam halaman tersendiri dengan tinta hitam, dan dijelaskan dimana seharusnya ditempatkan. Judul tabel ditempatkan di atas tabel, sedangkan judul gambar ditempatkan di bawah gambar. Foto yang akan dimuat harus berkualitas tinggi dan dibuat dari kertas kilat hitam putih. Di belakang foto (cetakan hitam putih, kilau) atau gambar ditulis (dengan pensil) nama pengarang, ringkasan judul karangan, nomor dan orientasi gambar. Gambar/foto tidak boleh diklips, dijepret atau dilipat.
18. Bila ada bagian naskah yang hendak diperkecil, dikirimkan dalam bentuk yang telah diperkecil dengan ketentuan sebagai berikut:
 - ◆ tidak lebih kecil dari 20% ukuran normal
 - ◆ masih terbaca dengan jelas.
19. Pernyataan terima kasih dan Kepustakaan harus diketik di lembaran terpisah. Nama-nama yang diutarakan dalam pernyataan harus disertai dengan gelar dan alamat kerja.

Alamat korespondensi adalah:

Redaksi Jurnal Kedokteran YARSI
Fakultas Kedokteran UNIVERSITAS YARSI
Jl. Letjen Soeprapto, Cempaka Putih, Jakarta 10510
Telp. 4206674, 4206675, 4206676; Fax. No. 021-4243171
www.yarsi.ac.id