

**POTENSI EKSTRAK RUMPUT LAUT COKLAT (*Sargassum prismaticum*)
UNTUK MENINGKATKAN AKTIVITAS SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD)
DAN GAMBARAN HISTOLOGI JARINGAN HEPAR PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*) DIABETES MELITUS TIPE 1**

Ardian Retno, Aulanni'am*, Sasangka Prasetyawan

*Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran Malang 65145*

*Alamat korespondensi, Tel : +62-341-575838, Fax : +62-341-575835
Email: aulani@ub.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum prismaticum*) dapat meningkatkan aktivitas SOD dan perbaikan jaringan hepar pada tikus diabetes mellitus tipe 1 hasil induksi *multiple low dose-streptozotocin* (MLD-STZ) dengan dosis 20 mg/kg BB selama 5 hari berturut-turut. Tikus sebanyak 24 ekor terbagi dalam 6 kelompok masing-masing 4 ekor. Kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol, diabetes mellitus tipe 1, dan diabetes mellitus tipe 1 yang mendapatkan terapi ekstrak *Sargassum prismaticum* secara oral dengan variasi pemberian terapi pada hari yang berbeda yakni hari ke 1, 3, 5, dan 7. Aktivitas SOD diukur menggunakan Kit Elisa Reader di ukur pada panjang gelombang 450 nm dan gambaran histologi dengan menggunakan pewarnaan hemaktosin-Eosin. Hasil penelitian didapatkan bahwa aktivitas SOD setelah di terapi dengan ekstrak *Sargassum prismaticum* mengalami kenaikan dengan hasil aktivitas SOD berturut-turut yakni 53,80 (unit/mL), 63,78 (unit/mL), 73,67 (unit/mL), 83,85 (unit/mL). Terapi *Sargassum prismaticum* mampu memperbaiki kerusakan pada jaringan hepar tikus DM tipe 1 yang terinduksi MLD-STZ.

Kata kunci : Diabates mellitus, histologi, hepar , SOD

ABSTRACT

The aim of this research was to investigate the ability of brown seaweed (*Sargassum prismaticum*) extract that can increase the activity of SOD and improvement of hepar tissue on rats *Rattus norvegicus* type 1 diabetes mellitus the results of *multiple low dose-streptozotocin* (MLD-STZ) induction with 20 mg/kg (bw) dose for 5 consecutive days. As many as 24 rats were devided into 6 groups of 4 each tail. Group treatments were the group of control, type 1 diabetes mellitus, and type 1 diabetes mellitus that given by therapy of *Sargassum prismaticum* extract orally with variations of given therapy on the different days to 1, 3, 5, and 7. SOD activity were measured by Elisa Reader Kit on the wavelength at 450 nm and histology description with hematoxylin-eosin staining. The results of this research obtained that SOD activity after given by *Sargassum prismaticum* extract have been raised and the results as follow as 53,80 (unit/mL), 63,78 (unit/mL), 73,67 (unit/mL), 83,85 (unit/mL). *Sargassum prismaticum* therapy can fixed the damage of DM type 1 hepar tissue on rats that have been induction by MLD-STZ.

Keyword : Diabetes Mellitus, Hepar, Histology, SOD

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolismik karbohidrat, dimana glukosa yang ditandai dengan kadar gula dalam darah yang meningkat (Hiperglikemia) akibat dari gangguan sekresi insulin. Hiperglikemia kronik berhubungan dengan kerusakan, disfungsi dan gangguan berbanggai organ khususnya mata, ginjal, jantung [1]. DM dapat menyebabkan stress oksidatif sehingga radikal bebas dalam tubuh meningkat. Radikal bebas dapat merusak berbagai jaringan tubuh seperti sel hepar. Hepar merupakan organ yang berpotensi mengalami kerusakan karena organ pertama setelah saluran pencernaan yang terpapar oleh bahan yang bersifat toksik [2]. Toksisitas pada hepar dapat diperiksa melalui histopatologi yaitu pada sel khupfer.

Kehadiran hiperglikemia pada DM memicu terjadinya autooksidasi glukosa, yang menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS). Keberadaan ROS yang berlebihan menyebabkan terjadinya stress oksidatif karena adanya ketidakseimbangan antara radikal bebas yang dihasilkan antioksi dan dalam tubuh sehingga terjadi kerusakan membran sel yang ditandai dengan penurunan kadar antioksidan tubuh. Salah satu antioksidan didalam tubuh untuk melawan ROS adalah superoksid dismutase (SOD) [3].

ROS dapat dicegah melalui terapi herbal yaitu menggunakan ekstrak rumput laut coklat sehingga menurunkan kadar glukosa dalam darah. Rumput laut coklat memiliki kandungan antioksidan dari golongan polifenol (flavanoid), yang memiliki aktivitas antioksidan yang berguna untuk menangkal radikal bebas serta dapat mempengaruhi metabolisme dari insulin. Flavanoid berperan sebagai *scavenger* radikal karena mampu menangkap radikal bebas dalam tubuh dengan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan atom H sebagai donor dari gugus hidroksil (-OH) fenolik [4].

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum prismaticum*) dalam meningkatkan aktivitas SOD dan memperbaiki kerusakan jaringan hepar tikus DM tipe 1.

METODA PENELITIAN

Bahan dan Alat

Pada penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattusnorvegicus*) galur wistar jantan umur 2 bulan dengan berat rata-rata 200 gram sebagai hewan coba diperoleh dari Universitas Brawijaya. Tikus dibunuh dengan cara dislokasi leher dan diambil organ ginjal.

Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini telah mendapat sertifikat laik etik No.149-KEP-UB dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Streptozotocin (STZ), PFA, NaCl Fisiologis, etanol 70%, aquades, rumput laut coklat, Parafincair, Kloroform, H₂SO₄, NH₃, Plat KLT, dietileter, etilasetat, asamasetat, NaOH, NH₃, dilution buffer, WST working solution, hematoxylen, pereaksi wragner, toluene.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini ialah seperangkat alat gelas (cawan petri, labutakar, gelas objek, spatula, pipet tetes, gelasukur 100mL, tabungreakksi, coronggelas), mortar, mikro pipet, stirrer, seperangkat kandang tikus, gunting, pinset, spuit, glukotest strip, vortex, ependorf, sentrifuge, spektrofotometer UV-Vis, plastik, Spektrofotometer IR, freezer - 20 °C, kulkas 4 °C, waterbath, pisau mitikrom, neraca analitik, seperangkat alat sentrifugasi, mikroskop cahaya, toples, tissue, sarung tangan.

Prosedur pengukuran aktivitas SOD dengan menggunakan kit SOD (Cat. K335-100 Biovision)

Satu sampel akan mempunyai 3 larutan blanko. Sampel isolat sebanyak 20 µL dimasukkan ke dalam sumuran sampel dan sumuran blanko 2, pada sumuran blanko 1 dan 3 di masukkan 20 µL di aquades. 200µL working , solution pada setiap sumuran, selanjutnya 20 µL dilution buffer ditambahkan kedalam sumuran blanko 2 dan 3. 20 µL larutan enzim ditambahkan pada setiap sumuran dan homogenasi larutan dilakukan dengan meletakkan mikroplate yang telah di tutup aluminium foil diatas shaker. Campuran diinkuasi pada suhu 37°C selama 20 menit. Campuran di ukur absorbansinya pada panjang gelombang 450 nm.

Pengamatan gambaran histologis hepar

Pembuatan preparat histologis hepar menggunakan metode pewarnaan hemaktosilin-eosin (HE). Gambaran histologis sel khupfer diamati menggunakan mikroskop Olympus BX51 dengan perbesaran perbesaran kuat (400x). Gambaran histologis digunakan untuk melihat kerusakan jaringan .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Ekstrak *Sargassum prismaticum* terhadap Penurunan Kadar Glukosa dan Peningkatan Aktivitas SOD DMT1

STZ merupakan agen diabetogenik yang berperan sebagai sumber NO eksogen. Induksi MLD-STZ dapat menyebabkan DM tipe 1 yang diindikasikan dengan hiperglikemia sehingga

menyebabkan autooksidasi yang mengakibatkan pembentukan ROS, terutama radikal anion superoksida (O_2^-). Keberadaan radikal anion superoksida (O_2^-) dapat diketahui melalui pengukuran aktivitas SOD. Aktivitas SOD didefinisikan sebagai banyaknya mikromolekul (μmol) radikal anion superoksida yang diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh tiap (mL) enzim SOD permenit pada kondisi optimum [3]

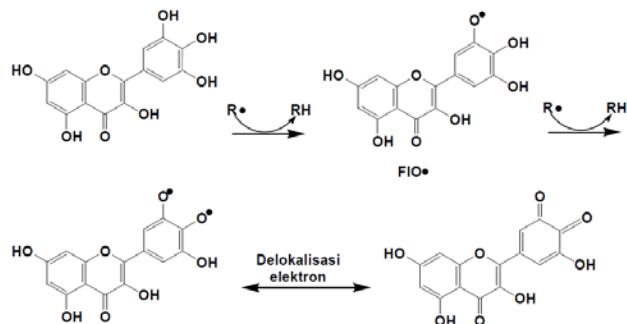
Pengukuran Aktivitas SOD dengan menggunakan Kit- SOD (Cat. K335-100,Biovosion) dengan mengukur absorbansi konsentrasi WST-diformazan melalui microplate reader dengan panjang gelombang 450 nm, sehingga diperoleh aktivitas SOD dalam satuan unit (Tabel 1). Paparan MLD-STZ menyebabkan DMT1 dan penurunan aktivitas SOD pada jaringan hepar, setelah diterapi dengan menggunakan ekstrak *Sargassum prismaticum* menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa dan peningkatan aktivitas SOD.

Tabel 1. Rata- rata Kadar glukosa darah (mg/dL) dan aktivitas SOD (unit/mL) pada tikus kontrol, tikus terpapar MLD-STZ dan Terapi *Sargassum prismaticum*

No	Perlakuan	Rata-rata Glukosa Darah (mg/dL)	Rata-rata Aktivitas SOD (unit/mL)
1	Sehat	98±3	94,291 ±3
2	Sakit	290±9	44,226±1
3	Terapi hari ke-1	273±3	53,741±1
4	Terapi hari ke-3	260±6	63,741±2
5	Terapi hari ke-5	214±5	73,688±1
6	Terapi hari ke-7	166±7	83,858±1

Pada tikus DM yang mendapat terapi rumput laut coklat dengan variasi hari pemberian yaitu 1,3,5, dan 7 hari menunjukkan peningkatan aktivitas SOD berturut-turut sebesar 53,741 (unit/mL), 63,741 (unit/mL) 73,688 (unit/mL), 83,858 (unit/mL). Hal tersebut menunjukkan penghambatan radikal bebas dan peningkatan aktivitas SOD dikarenakan kemampuan

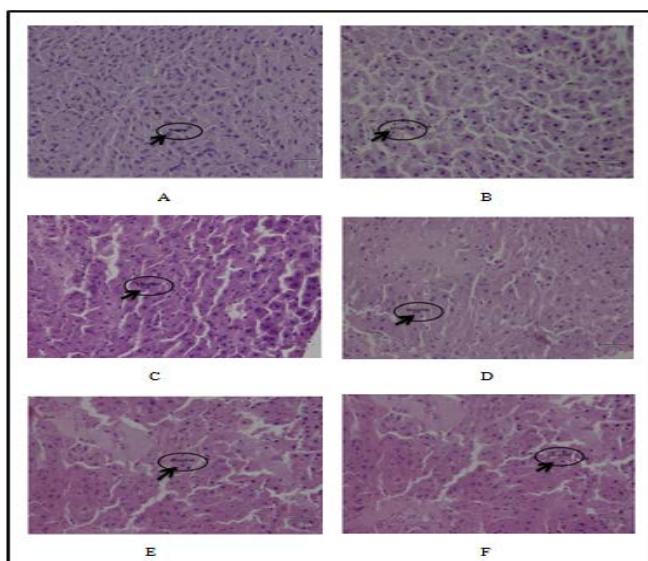
flavanoid yang bekerja sebagai *scavenger* radikal bebas dengan adanya gugus hidroksil dalam susunan gugus fenol serta ikatan rangkap terkonjugasi [4].



Gambar 1. Reaksi *scavenging* radikal bebas oleh flavonoid

Gambaran Histologi Hepar dengan Pewarnaan Hematoksilin-Eosin Tikus Kontrol, Tikus yang Dipapar MLD-STZ dan Hasil Terapi Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum prismaticum*)

Dengan dilakukannya pengamatan gambaran histologi maka dapat diketahui tingkat kerusakan dan perbaikan dari jaringan tersebut. Gambaran histologi hepar tikus dilakukan dengan pewarnaan HE. Hasil dari gambaran histologi menunjukkan organ hepar yang telah diterapi oleh ekstrak *Sargassum prismaticum* dapat memperbaiki kerusakan jaringan hepar (Gambar 2).



Gambar 2. Histologi hepar tikus dengan pewarnaan He, perbesaran 400X

Keterangan :

- () = merupakan sel khupfer yang mengalami jumlah perubahan pada sel khupfer yang ditunjukkan pada anak panah .

Pada kelompok tikus kontrol (A), sel kupfer dalam kondisi baik yaitu dengan jumlah yang sedikit dan tidak mengalami kerusakan pada jaringan tersebut. Kelompok tikus saki (B), sel kupfer bertambah sangat banyak pada jaringan hepar yang berarti dengan pemberian MLD-STZ mengakibatkan adanya radikal bebas yang berlebih sehingga menurunkan aktivitas SOD pada jaringan hepar. Gambaran jaringan dari tikus yang sudah diterapi dengan ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum prismaticum*) selama 1,3,5, dan 7 hari berturut-turut semakin berkurang sehingga menunjukkan bahwa terjadi perbaikan kerusakan jaringan hepar (C, D, E, F).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dengan pemberian terapi ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum prismaticum*) selama 1, 3, 5, dan 7 hari yang diberikan pada tikus yang terkena DM tipe 1 mempengaruhi aktivitas SOD secara berturut-turut yaitu dengan peningkatan aktivitas SOD sebesar 53,80 (unit/mL), 63,78 (unit/mL), 73,67 (unit/mL), 83,85 (unit/mL) dan juga mampu memperbaik gambaran histologi pada jaringan hepar.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Dr. Sulistiana Prabowo, dr, MS yang telah memberi kesempatan untuk menjadi bagian dalam payung penelitiannya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sanusi H,2004. *Diabetes mellitus dan tuberkulosis paru*. Med.Nusantara 25 :1-5
2. Sulaiman, dkk. 1997. *Gastroenterologi Hepatologi*. Jakarta: CV Sagung Seto.
3. Fiqriyana, Maulidya A., 2010, *Pengaruh Pemberian ekstrak Euchema Spinom Terhadap Kadar Glukosa dalam Darah dan Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) pada Tikus Terpapar Multiple Low Doses Streptozotocin (MLD-STZ)* , Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.
4. Shofia,V., 2013, *Studi Pemberian Ekstrak Rumput Laut coklat (Sargassum prismaticum) Terhadap kada MDA, Ekspresi iNOS dan Gambaran Histologi Ginjal Pada Tikus (Rattus norvegicus) Diabetes mellitus Tipe 1*, Skripsi , Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

5. Aulanni'am,A. Roosdiana, dan N.L Rahmah, 2012, The Potency of Sargassum duplicatum Bory Extract on Inflammatory Bowel Disease Therapy in Rattusnorvegicus, *Journal of Life Sciences* , Vol.6, pp 144-154.