

ARTIKEL PENELITIAN

Efek Ekstrak Pomegranat terhadap Kadar Malondialdehida dan Pembuluh Darah Jantung Tikus**Feri Fadillah,* Fransisca Tjakrawidjaja****Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah**

*Korespondensi: in_feri@yahoo.com

Diterima 20 November 2015; Disetujui 5 April 2016

Abstrak

Pomegranat (Punica granatum) adalah buah yang mengandung antioksidan tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak pomegranat terhadap kadar malondialdehid (MDA) dan gambaran mikroskopik pembuluh darah jantung tikus. Penelitian eksperimental menggunakan tikus strain sprague dawley yang dipajankan asap rokok 2-3 jam perhari selama 2 minggu. Tikus dibagi menjadi tiga kelompok: kelompok pertama sebagai kontrol positif, kelompok kedua mendapatkan ekstrak pomegranat 5% dan kelompok ketiga mendapatkan ekstrak pomegranat k 10%. Pengambilan sampel dilakukan pada awal penelitian, hari ke-8 dan hari ke-15. Hasil analisis menunjukkan kadar MDA lebih tinggi pada kelompok tikus kontrol dibandingkan dengan kelompok tikus intervensi ($p < 0,05$). Gambaran mikroskopik menunjukkan kerusakan sel endotel dan perdarahan mikro di pembuluh darah tikus sebagai dampak hipoksia jaringan.

Kata kunci: *Punica granatum, malondialdehida, pembuluh darah*

Effect of Pomegranate's Extract to Malondialdehyde Level and Rat's Heart Vessel**Abstract**

Pomegranate (Punica granatum) contains high level of antioxidant. The aim of this study is to evaluate the effect of pomegranate extract on MDA level and histopathological findings in rat's heart vessel that is exposed to cigarette smoking. Experimental study included sprague dawley rats that were exposed to cigarette smoke 2-3 hours a day for 2 weeks. The rats were divided into 3 groups: the first group was a control group, the second group received 5% pomegranate extract, and the third group was given 10% pomegranate extract. Measurement of MDA levels was done before and after the intervention (at the 8th day and 15th day). The MDA levels were significantly higher in control group than those among intervention group ($p < 0,05$). Histopathological finding showed damage of endothelial cell and microhemorrhagic in rat's heart vessel due to tissue hypoxia.

Keywords: *Punica granatum, malondialdehyde, heart vessel*

Pendahuluan

Berbagai reaksi oksidatif di dalam tubuh memproduksi radikal bebas, suatu atom atau molekul yang mengandung elektron tidak berpasangan di orbit luarnya.¹ Semakin banyak radikal bebas dari polusi kendaraan bermotor dan gaya hidup tidak sehat meningkatkan prevalensi penyakit jantung koroner (PJK). Kementerian Kesehatan RI² menyatakan prevalensi PJK dari tahun ke tahun terus meningkat disertai pergeseran penyebab kematian terbesar di Indonesia dari penyakit infeksi ke penyakit kardiovaskular. Gangguan jantung dan pembuluh darah tersebut tidak terlepas dari radikal bebas yang terdapat dalam asap rokok.

Berdasarkan hasil Riskesdas 2013, perilaku merokok pada populasi berusia di atas 15 tahun meningkat dari 34,2% pada tahun 2007 menjadi 36,3% pada tahun 2013. Selain itu, rerata jumlah batang rokok yang dihisap sekitar 12,3 batang, bervariasi dari yang terendah di DI Yogyakarta (10 batang) dan tertinggi di Bangka Belitung (18,3 batang).² Radikal bebas yang terhirup merupakan zat prooksidan beracun dan menyebabkan stres oksidatif serta peroksidasi lipid *poly unsaturated fatty acids* (PUFA) membran sel sehingga menghasilkan metabolit akhir peroksidasi lipid yang toksik yaitu MDA. Kadar MDA darah dapat digunakan sebagai indikator kerusakan oksidatif dan keberadaan radikal bebas dalam tubuh.³⁻⁴

PJK berawal dari pembentukan plak aterosklerosis.⁵ Plak aterosklerosis terbentuk akibat gabungan berbagai faktor predisposisi seperti peningkatan kolesterol darah, merokok, hipertensi, diabetes.⁵ Mekanisme aterogenesis akibat merokok antara lain melalui stimulasi sistem saraf simpatis oleh nikotin, penggeseran oksigen (O_2) yang terikat dalam hemoglobin oleh karbondioksida (CO_2), reaksi imunologis langsung di dinding pembuluh darah, peningkatan adhesi trombosit dan permeabilitas endotel terhadap lemak. Pada orang yang merokok diduga terjadi hipoksia sehingga merangsang proliferasi sel otot polos.⁶

Inflamasi berperan besar dalam PJK dan berbagai manifestasi aterosklerosis.⁷ Lesi aterosklerosis merupakan penebalan asimetris di bagian terdalam arteri yaitu tunika intima. Lesi tersebut terdiri atas sel, elemen jaringan ikat fibroblas, lemak, dan debris. Lesi ateroma diawali pembentukan *fatty streak* yaitu akumulasi sel bermuatan lemak di bawah endotel. Sel yang paling banyak terdapat di *fatty streak* adalah makrofag.⁷

Buah pomegranat (*Punica granatum*) atau delima banyak mengandung senyawa polifenol seperti antosianin dan tannin.⁸ Buah tersebut memiliki efek anti-aterosklerosis karena memiliki komponen bersifat antioksidan tinggi. Penelitian klinis menunjukkan kelompok subjek yang mengkonsumsi jus pomegranat setiap hari selama 3 bulan mengalami penurunan stres oksidatif, sedangkan kelompok kontrol justru mengalami peningkatan stres oksidatif.⁷ Berdasarkan data tersebut penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak pomegranat terhadap kadar MDA dan gambaran mikroskopik pembuluh darah jantung tikus.

Metode

Penelitian rancangan acak lengkap dilaksanakan selama 2 minggu di *Animal House* Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, dan Laboratorium mikroskopik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah pada bulan Mei-Juni 2010. Penentuan jumlah tikus di setiap kelompok dihitung berdasarkan rumus Federer: $(n-1)(t-1) > 15$; t menunjukkan jumlah perlakuan dan n jumlah ulangan dari tiap perlakuan.

Digunakan 30 ekor tikus yang dibagi menjadi tiga kelompok yaitu: 10 ekor tikus sebagai kontrol (R0), 10 ekor tikus mendapat ekstrak pomegranat 5% (R1), dan 10 ekor tikus mendapat ekstrak pomegranat 10% (R2). Ekstrak dicampur makanan dan diberikan setiap hari selama 14 hari. Pengambilan sampel darah dilakukan sebelum, hari ke-8, dan sesudah intervensi. Tikus dipajankan dengan asap rokok selama 2-3 jam setiap hari.

Pengukuran kadar MDA hari pertama dan hari ke-15 dilakukan dengan mengambil darah tikus dari bagian ekor sedangkan pengukuran kadar MDA pada hari ke-15 diambil dari jantung. Kadar MDA diukur dengan memasukkan 0,25ml hemolizat darah kemudian dilarutkan dalam 0,5ml asam trikloroasetat (TCA) 10%, lalu disentrifusi untuk diambil supernatan yang tersisa dan ditambahkan dengan larutan asam tiobarbiturat (TBA) 0,67% sebanyak 0,75ml. Campuran dimasukkan ke penangas mendidih selama 10 menit kemudian didinginkan dan dibaca serapan pada panjang gelombang 532nm.

Penelitian ini mengukur kadar MDA dan gambaran mikroskopik jantung. Indikator yang digunakan adalah kadar MDA, dinilai dengan skala

rasio nominal dengan metode spektrofotometri serta sel busa dan sel otot polos dengan pemeriksaan mikroskop cahaya.

Hasil

Asupan makanan yang diberikan pada setiap kelompok tikus pada minggu pertama dan kedua berbeda. Rata-rata asupan makanan yang diberikan selama 2 minggu pada setiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-Rata Asupan Makanan Tikus Minggu Pertama dan Kedua

Kelompok Tikus	Rerata Asupan Makanan (mg)	
	Asupan minggu pertama	Asupan minggu kedua
R0	10,4±0,97 [^]	10,5±0,52 [*]
R1	10,5±0,52 [^]	11,3±1,70 [*]
R2	10,3±0,48 [^]	10,7±0,48 [*]

[^]nilai p pada asupan makanan minggu pertama: 0,8

^{*}nilai p pada asupan makanan minggu kedua: 0,236

Tabel 1 menunjukkan perbedaan tidak bermakna antara asupan makanan minggu pertama dan minggu kedua. Berdasarkan rerata asupan minggu kedua, kelompok tikus R1 dan R2 menunjukkan asupan makanan paling banyak yaitu 11,3mg dan 10,7mg bila dibandingkan dengan kelompok tikus R0.

Asupan makanan setiap kelompok tikus berbeda jumlahnya (Tabel 2). Subjek R1 mendapat makanan subjek kontrol (R0) ditambah 5% bubuk pomegranat, sedangkan R2 mendapat makanan subjek kontrol (R0) ditambah 10% bubuk pomegranat.

Tabel 2. Rata-rata Kandungan Zat Makanan

Kandungan zat makanan	Makanan		
	R0	R1	R2
Bahan kering (%)	89,35	91,50 [*]	91,46 [*]
Abu (%BK)	8,66	8,81 [^]	8,28 [^]
Protein kasar (%BK)	18,18	17,41 [^]	18,47 [^]
Serat kasar (%BK)	10,44	11,47 [^]	15,22 [^]
Lemak kasar (%BK)	3,67	4,14 [^]	4,20 [^]
Beta N (%BK)	48,60	56,67 [^]	45,29 [^]
Energi bruto (kkal/gram)	3,88	4,04 [^]	4,07 [^]

BK = bahan kering, ^{*}p=0,01 dibandingkan R0, [^]p<0,001 dibandingkan R0

Pada Tabel 2, terlihat perbedaan bermakna dalam kandungan zat makanan perlakuan kelompok tikus R1 dan R2 dengan R0. Masing-masing kelompok tikus mendapat makanan dengan kandungan pomegranat berbeda pada minggu pertama dan kedua. Hasil pengukuran kadar MDA sebelum dan sesudah perlakuan dapat dilihat di Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Kadar MDA pada Masing-masing Kelompok Tikus (dalam nmol/g)

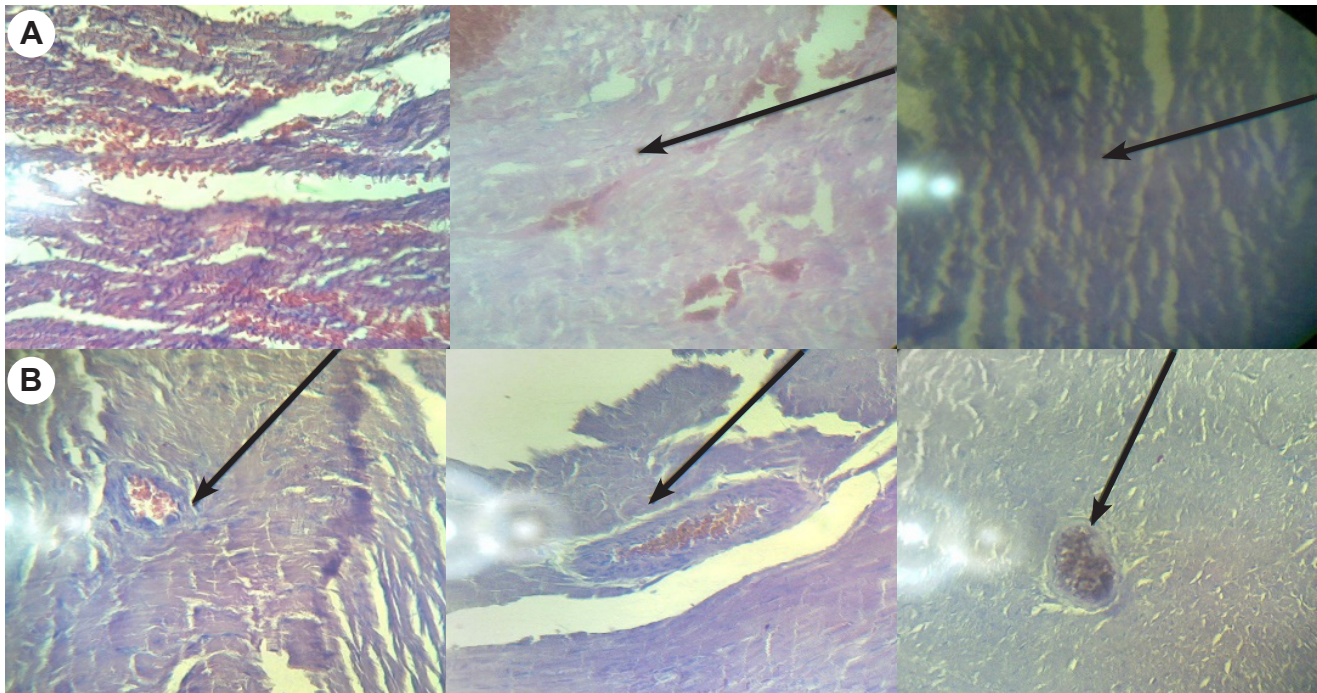
Kelompok Tikus	Kadar MDA		
	H0	H8	H15
R0	354±57,63	697±92,32	1018±106,78
R1	375±56,03 ^α	569±108,74 ^α	887±106,75 ^α
R2	375±62,07 ^β	556±74,07 ^β	800±80,58 ^β

Data disajikan dalam bentuk rerata (SD), H0: pengukuran MDA awal, H8: pengukuran MDA hari ke-8, H15: pengukuran MDA hari ke-15. ^α: p=0,022 R1 dibandingkan dengan R0. ^β: p<0,001 R2 dibandingkan R1

Berdasarkan Tabel 3 terdapat perbedaan bermakna kadar MDA pada hari pertama, ke-8, dan ke-15 antara kelompok tikus R1 dan R2 dengan R0. Terdapat perbedaan kadar MDA yang bermakna antara kelompok tikus yang tidak diberi pomegranat dan yang diberi pomegranat 5% dan 10%. Semua kelompok tikus memiliki kadar MDA tidak berbeda sebelum intervensi. Setelah periode intervensi 2 minggu terjadi peningkatan kadar MDA yang lebih besar pada kelompok tikus tanpa intervensi pomegranat dibandingkan dengan kelompok tikus dengan intervensi pomegranat.

Pada Gambar 1 tampak hasil pemeriksaan histopatologi pembuluh darah jantung tikus belum menunjukkan tanda-tanda proliferasi sel otot polos dan sel busa namun terdapat perdarahan mikro dan kerusakan endotel akibat hipoksia jaringan yang merupakan awal kerusakan jaringan yang lebih berat pada semua kelompok tikus.

Pada tabel 4, dengan perbesaran 400 kali tampak jumlah perdarahan mikro lebih sedikit pada kelompok intervensi dibandingkan dengan kelompok kontrol.



Gambar 1. Gambaran Hasil Pemeriksaan Mikroskopik A= jaringan sekitar pembuluh darah tikus yang mengalami mikrohemoragik. Tanda panah menunjukkan mikrohemoragik. B= gambaran pembuluh darah jantung. Tanda panah menunjukkan pembuluh darah. Kedua gambar diambil dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400X.

Tabel 4. Hasil Pemeriksaan Mikrohemoragik pada Gambaran Mikroskopik

Lapang pandang	R0	R1	R2
1	+	+	-
2	+	+	-
3	+	-	-
4	+	+	+
Jumlah	+4	+3	+1

Pembahasan

Penelitian ini menunjukkan pemberian pomegranat 5% dan 10% dapat mencegah peningkatan kadar MDA pada tikus yang dipajankan asap rokok. Berbagai oksidan dan radikal bebas dihasilkan oleh asap rokok dan semua zat tersebut dapat menginisiasi kerusakan oksidatif serta berbagai proses degeneratif. Peningkatan kadar MDA terjadi karena peningkatan reaksi peroksidasi lipid akibat radikal bebas. Penelitian Dae *et al*,⁹ menunjukkan terdapat peningkatan kadar MDA yang bermakna di jaringan *passive-smoke-exposed* kelompok tikus yang diberi pajanan asap rokok 2 jam perhari selama 24 minggu. Radikal bebas dalam jaringan dapat ditekan menggunakan

antioksidan karena senyawa antioksidan dapat mencegah teroksidasinya asam lemak jenuh agar tidak membentuk lipid peroksida sehingga mencegah reaksi berantai senyawa radikal.³ Pada percobaan ini, antioksidan yang digunakan adalah pomegranat. Sari buah pomegranat yang telah difermentasi dan kulitnya memiliki antioksidan kuat yang lebih banyak dibandingkan dengan anggur merah dan teh hijau.

Peningkatan kadar MDA paling rendah pada kelompok tikus R2, yaitu tikus yang diintervensi dengan pomegranat 10%. Antioksidan menghambat peroksidasi lipid oleh radikal bebas dalam tubuh. Pomegranat mengandung senyawa polifenol yang berpotensi untuk mengurangi kerusakan jaringan akibat pajanan radikal bebas. Senyawa polifenol dalam pomegranat merupakan antioksidan kuat sehingga kelompok yang mendapatkan bubuk pomegranat 5% dan 10% memiliki kadar MDA lebih rendah dibandingkan kontrol.

Penelitian Kharb *et al*¹⁰ membandingkan status antioksidan dan peroksidasi radikal bebas pada orang sehat. Penelitian tersebut menyatakan bahwa kadar MDA serum perempuan dewasa yang tidak merokok lebih tinggi dari laki-laki dewasa yang

tidak merokok. Kadar vitamin E serum perempuan lebih rendah dari laki-laki sehingga terdapat korelasi terbalik kadar MDA dan vitamin E pada laki-laki dan perempuan. Pemberian antioksidan mencegah peningkatan lipid peroksidasi dan sitokin proinflamasi interleukin-6 (IL-6) pada tikus yang dipajankan asap rokok selama 30 menit/hari selama 4 bulan.¹¹

Hasil pemeriksaan histopatologi pembuluh darah jantung tikus pada penelitian ini tidak menunjukkan pembentukan plak aterosklerosis tetapi telah terjadi perdarahan mikro di jaringan sekitar pada semua hewan uji. Asap rokok menyebabkan berkumpulnya sel radang dalam jaringan sebagai respon terhadap bahan kimia dalam rokok. Peradangan di jaringan ditandai dengan infiltrasi neutrofil dan makrofag sebagai efek terhadap *reactive oxygen species* yang terkandung dalam rokok. Selain menimbulkan kerusakan endotel radikal bebas juga akan menghancurkan protein struktur antara lain kolagen dan elastin.¹²

Kesimpulan

Ekstrak pomegranat mencegah peningkatan kadar MDA akibat asap rokok secara bermakna. Selain itu, ekstrak pomegranat juga mencegah kerusakan sel endotel dan perdarahan mikro akibat asap rokok.

Daftar Pustaka

1. Grosvenor M, Smolin L. Nutrition: from science to life. Philadelphia: Harcourt Collage Publisher; 2002.
2. Riset Kesehatan Dasar 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI; 2013.
3. Syaputro RA. Survey tentang kadar malondialdehid (MDA) darah sebagai indikator terjadinya stres oksidatif; 2008.
4. Zakaria FR. Peran zat gizi dalam sistem kekebalan tubuh. Bul Tek dan Ind Pangan. 1996;7:75-81.
5. Aronow WS, Fleg JL. Cardiovascular disease in the elderly. Edisi ke-3. New York: Marcel Dekker Inc; 2001.
6. Sumner MD, Elliott-Eller M, Weidner G, Daubenmier JJ, Chew MH, Marlin R, et al. Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease. Am J Cardiol. 2005;96:810-14.
7. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. The New England J of Med. 2005;352:1685-95.
8. Louba, Nun B. What are the medical properties of pomegranate? J of Chinese Clinical med. 2007; 2:9
9. Dae HK, Young SS, Kyo CM. Tissue levels of malondialdehyde after passive smoke exposure of rats for a 24-week period. NicotineTob Res 6, 2004;6:1039-42.
10. Kharb S, Ghaulaut VS. Plasma lipoperoxides: a preliminary reference range. Indian J Med Sci. 2003; 57:105-7.
11. Zhang J, Jiang S, Watson RR. Antioxidant supplementation prevents oxidation and inflammatory responses induced by sidestream cigarette smoke in old mice. Environ Health Persp. 2001;101:1007-9.
12. Aster, Jon C. Buku Ajar Patologi Robbins (terjemahan). Edisi ke-7. Jakarta: EGC; 2007.