

ABSTRAK

DAYA HAMBAT SENYAWA P-METOKSI SINAMAT ETIL ESTER KENCUR (*KAEMPFERIA GALANGA LINN*) TERHADAP KERUSAKAN SEL HEPAR SETELAH DIINDUKSI DENGAN CCL₄ DITINJAU DARI KADAR MDA (MALONDIALDEHID)

GUSTI REVILLA* R.Z. NIZAR **

*Labor Anatomi FKUA, **Labor Patologi Anatomi FKUA

Penelitian senyawa p-metoksi sinamat etil ester yang telah dilakukan adalah sebagai tabir surya atau melindungi kulit dari panas matahari. Panas matahari merupakan salah satu oksidan yang dapat mengaktifkan pembentukan radikal bebas oksigen (RBO). Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (endogen) dan dari luar tubuh (eksogen). Diantara radikal bebas dari luar tubuh yaitu zat kimia seperti karbon tetra klorida (CCl₄). Karbon tetra klorida sering digunakan sebagai model untuk melihat kerusakan sel hepar hewan percobaan karena hasil metabolisme dari CCl₄ ini akan menghasilkan suatu oksidan yaitu CCl₃[•]. Karena senyawa p-metoksi sinamat telah diketahui sebagai penghambat radikal bebas oksigen, untuk itu juga dilakukan penelitian daya hambat senyawa p-metoksi sinamat terhadap sel hepar tikus setelah diinduksi dengan CCl₄ ditinjau dari kadar MDA hepar.

Penelitian ini menggunakan 28 ekor tikus yang dibagi atas 4 kelompok, yaitu:

- Kelompok I, 4 ekor tikus sebagai kontrol negatif
- Kelompok II, 8 ekor tikus sebagai kontrol positif (+), diberi pelarut senyawa selama 8 hari dan hari ke 9 diberi CCl₄
- Kelompok III dan IV sebagai perlakuan, diberi senyawa p-metoksi sinamat dosis masing-masing 5 mg dan 10 mg/Kg BB selama 8 hari dan hari ke 9 diberi CCl₄. Pada hari ke 11 dan 13 tikus dari masing-masing kelompok dimatikan dan diambil heparnya untuk pembuatan homogenat hepar dan dilakukan pengukuran kadar MDA hepar dan dilakukan pengukuran kadar MDA hepar dengan metode Placer, dkk Cit Unibraw 1997.

Pada hari ke 2 kelompok yang mendapat perlakuan senyawa p-metoksi sinamat dosis 5 mg dan 10 mg/Kg BB nilai malondialdehid (MDA hepar tikus adalah 2,55 nmol/ml dan 4,28 nmol/ml. Sedangkan kelompok kontrol yang hanya diberi CCl₄ saja adalah 6,93 nmol/ml. Kadar MDA hepar secara statistik terlihat perbedaan yang bermakna antara yang diberi senyawa p-metoksi sinamat dengan yang diberi CCl₄ saja. Namun tingginya kadar MDA hepar tikus pada dosis 10 mg/Kg BB setelah diberi senyawa p-metoksi sinamat mungkin disebabkan karena sel hepar tikus mengalami

regenerasi yang cukup besar atau masih banyaknya rusak membran organela sel di intra sel yang akan menurunkan kadar enzim dihepar.

Pada hari ke 4 pengamatan, kelompok yang endapat perlakuan senyawa p-metoksi sinamat dosis 5 mg dan 10 mg/Kg BB nilai MDA hepar tikus adalah 2,47 nmol/ml dan 2,79 nmol/ml sedangkan kelompok yang diberi CCl₄ saja kadar MDAnyanya 5,24 nmol/ml.

Dari penelitian ini belum didapatkan dosis yang sinkron pemberian senyawa p-metoksi sinamat etil ester terhadap luas nekrosis hepar tikus dengan kadar malondialdehid (MDA) hepar. Untuk itu perlu penelitian lebih lanjut mencari dosis yang sinkron pemberian senyawa p-metoksi sinamat terhadap luas nekrosis dan kadar MDA hepar. Disamping itu juga dapat dilakukan penelitian penurunan kadar enzim seperti katalase dan SOD.

ABSTRACT

PROTECTION OF LIVER CELLS BY P-METHOXY CINNAMAT ETHYL ESTER OF KENCUR (*KAEMPFERIA GALANGA* LINN) AGAINST DAMAGE INDUCED BY CCL₄, ASSESSED FROM MDA (MALONDIALDEHID) CONCENTRATION

GUSTI REVILLA* R.Z NIZAR**

*Departemen of Anatomy, **Departement of Pathology Anatomy
Andalas University Faculty of Medicine

The study of p-methoxy Cinnamat ethyl ester compound has been carried out at skin protection from the sun shine or as sun screen. The sun shine could effect the oxidation that can activate formation of oxygen free radical. The free radical may be from intrinsic (endogen) or extrinsic (eksogen) of the body. The one of extrinsic the free radical as chemical substance, such as Carbon tetra khlorida (CCl₄). CCl₄ usually as a model to study damage of experiment liver cell animal because the result of CCl₄ metabolism will oxidize CCl₃^o. The p-methoxy cinnamat compound has been known as protector of oxygen free radical. Therefor the study was concerning to protect of p-metoxo cinnamat ethyl ester compound to rat liver. p-metoxo cinnamat ethyl ester compound to rat liver cell that has been induced by CCl₄ and observed from the degree of MDA content liver.

The animal experiment used 28 rats galur wistar which were devided into 4 groups.

- Group I, 4 rat as the negative control group, they will no treatment sacrificed on the first time
- Group II, 8 rat as the positive control (+), were treated with the solvent (0,9 % saline) compound for 8 days and in the 9th day is given CCl₄.
- Group III & IV as a treatment, with of p-methoxy cinnamat compound were dose 5 mg/Kg BB and 10 mg/Kg BB for 8 days and in the 9th days given by CCl₄.

At the 11th and 13th day each of rat were sacrificed and livers were taken for homogenat, and than malondialdedyd (MDA) content measure the method of MDA measure is the Placer method (Cit Unibraw method, 1997).

The second day treatment group of p-methoxy cinnamat ethyl ester compound 5 mg and 10 mg/Kg of body weight dose to show liver MDA rat content 2,55 nmol/ml (is given Ccl4 only) content 6,93 nmol/ml respectively. The different MDA liver content between treatment with p-methoxy cinnamat compound and is given CCl₄ only significantly decreased p=0,01. However MDA liver content increased was treated with p-methoxy cinnamat compound of 10 mg/Kg of weight body dose, possible was the liver

cell to experience regeneration increase, or more extent of damage to organula cell membrane liver cell, it is the content enzym liver decreased.

The fourth day treatment of p-methoxy cinnamat compound 5 mg and 10 mg/Kg of body weight dose respectively to show liver MDA rat content 2,47 nmol/ml and 2,79 nmol/ml, where as control group (is given CCl₄ only) liver MDA rat content 5,24 nmol/ml.

It was necessary a further investigation to study change of other antioxidant enzyme in the liver.

I. PENDAHULUAN

Senyawa p-metoksi sinamat etil ester adalah zat bioaktif dari kencur (*Kaempferia Galanga* Linn) dan merupakan salah satu turunan asam sinamat. Penelitian senyawa p-metoksi sinamat yang sudah dilakukan adalah sebagai tabir matahari atau sun protection factor (Jany, 1993). Panas matahari merupakan salah satu oksidan yang dapat mengaktifkan pembentukan radikal bebas oksigen (RBO). RBO ada yang berasal dari dalam tubuh (endogen) yang dihasilkan oleh fagosit (makrofag dan netrofil) dan dari luar tubuh (eksogen). Diantara radikal bebas eksogen adalah polutan dan zat kimia (alkohol dan CCl_4) (Tjokroprawiro, 1993).

Oksidan merupakan salah satu mekanisme pertahanan dalam tubuh terhadap mikro organisme, tetapi jika sumber oksidan berlebihan akan menyebabkan terjadi kerusakan pada lipid, ikatan sulfhidril pada protein, nukleotida DNA dan membran sel (Bast, dkk, 1991).

Reaksi oksidan terjadi pada lemak tak jenuh membran, akan membentuk radikal bebas organik. Radikal organik ini bereaksi dengan oksigen membentuk lipid peroksida, ini juga terjadi pada membran organel sel secara sehingga menyebabkan kerusakan sel secara menyeluruh (Cochrane, 1991). Gambaran kerusakan sel karena reaksi oksidan dapat dilihat akibat jelas sel hepar pada peristiwa keracunan CCl_4 . Tanda-tanda kerusakan hepar dapat terlihat dalam beberapa jam atau 2-3 hari pasca pemaparan. (Goodman, dkk, 1992).

Akibat kerusakan ini dapat dideteksi secara biokimiawi dan histologis. Secara biokimiawi terdapat peningkatan aktivitas transeminase enzim hepar lainnya dan lipid peroksida. Peningkatan lipid peroksida dapat dilihat dengan mengukur kadar malondialdehid (MDA) serta konyugasi diluens pada jaringan hepar atau serum (Shen, 1994). Sedangkan secara histologis akan nampak gambaran nekrosis sentrolobular infiltrasi lemak serta infiltrasi ringan sel PMN (Sherlock, 1989). Untuk menghadapi adanya oksidan didalam tubuh perlu adanya penangkal oksidan yaitu berupa sistem anti oksidan.

Antioksidan dibagi atas 2 bagian yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Diantara antioksidan eksogen yang sudah mempunyai pasent yaitu vitamin E, C, Beta karoten, folic

acid dan sekarang juga telah banyak dilakukan penelitian terhadap kandungan kimia tumbuh-tumbuhan. Flavonoid kencur juga telah dilakukan penelitian terhadap daya hambat kerusakan sel hepar setelah diinduksi dengan CCl_4 . Dari penelitian diketahui bahan flavonoid kencur dapat menghambat kerusakan sel hepar setelah diberi CCl_4 ditinjau secara histologis dan Biokimia (SGOT & SGPT) (Yanwirasti, dkk, 1996 ; Eti Yerizel, dkk, 1997). Sedangkan penelitian efek senyawa aktif p-metoksi Sinamat Etil Ester kencur terhadap daya hambat kerusakan sel hepar setelah diinduksi dengan CCl_4 ditinjau dari gambaran histologis dan biokimiawi belum diungkapkan. Untuk itu dilakukan penelitian daya hambat senyawa p-metoksi Sinamat Etil Ester kencur (*Kaempferia Galanga* Linn) terhadap kerusakan sel hepar setelah diinduksi dengan CCl_4 ditinjau dari kadar MDA (malondialdehid) hepar.

II. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian bersifat eksperimental dan sebagai obyek penelitian digunakan tikus sebanyak 28 ekor dan dibagi secara acak atas 4 kelompok.

- Kelompok I, 4 ekor tikus berlaku sebagai kontrol negatif
- Kelompok II, 8 ekor tikus sebagai kontrol positif (+) diberi senyawa pelarut selama 8 hari dan hari ke 9 diracuni dengan CCl_4 0,55 mg/Kg BB dosis tunggal.
- Kelompok III dan IV diberi senyawa p-metoksi dengan dosis 5 mg dan 10 mg/Kg BB selama 8 hari berturut-turut dan hari ke 9 diberi CCl_4 . Pada hari ke 11 dan 13 masing-masing kelompok tikus dimatikan untuk diambil heparnya dan dilakukan pembuatan homogenat untuk pengukuran kadar MDA hepar.

Homogenat hepar dilakukan penetapan kadar peroksida lipid menurut cara placer dkk 1966 Cit Unibraw (1997). Penetapan dari metode ini berdasarkan reaksi antara malondialdehid yang terbentuk pada proses peroksida lipid dengan asam thiobarbiturat (TBA) dan jika dipanaskan membentuk warna merah muda dan menyerap cahaya pada panjang gelombang 531 nm. Sebelum penetapan kadar peroksida lipid dilakukan pembuatan kurva kalibrasi dengan menggunakan tetra etoksi propan sebagai standar.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada hari ke 2 pengamatan didapatkan kadar MDA hepar tikus setelah diberi senyawa p-metoksi Sinamat menurun dibandingkan dengan yang diberi CCl_4 saja. Nilai rata-rata kadar MDA hepar tikus setelah diberi senyawa p-metoksi Sinamat pada dosis 5 mg/Kg BB adalah 2,55 nmol/ml, pada dosis 10 mg/Kg BB adalah 4,28 nmol/ml dan kelompok yang diberi CCl_4 saja adalah 6,93 nmol/ml (lihat tabel 3.1), sedangkan kadar rata-rata MDA hepar tikus antara kelompok yang diberi senyawa p-metoksi Sinamat dan diberi CCl_4 saja menunjukkan perbedaan yang bermakna pada $p=0,01$. Tetapi nilai MDA hepar pada tikus yang diberi senyawa p-metoksi Sinamat pada dosis 10 mg/Kg BB lebih tinggi dibandingkan dengan dengan 5 mg/Kg BB, hal ini mungkin disebabkan karena sel hepar pada kelompok ini sedang mengalami regenerasi atau masih ditemukan banyak sel hepar yang mengalami nekrosis (Perlemakan intra selular banyak ditemukan). Telah diketahui bahwa perlemakan intraselular dapat menyebabkan kematian sel dan umumnya sel yang berdekatan dengan sel yang mati juga ikut mengalami nekrosis. Keadaan ini masih perlu dilakukan suatu penelitian lanjutan tentang peningkatan kadar enzim seperti katalase dan SOD, akibat terjadi nekrosis sel hepar. Karena nekrosis sel juga akan menyebabkan penurunan pembentukan enzim di atas atau nekrosis sel khususnya pada membran sel akan menyebabkan penurunan kadar enzim (Robin, 1992)

Tabel 3.1. Nilai Kadar malondialdehid hepar tikus setelah diberi senyawa p-metoksi Sinamat Etil Ester yang sebelumnya diberi CCl_4 .

No	Hari ke	Kadar MDA hepar (nmol/ml)			
		Kelompok			
		K ⁻	K ⁺	P ₁	P ₂
1	2	1.39	7.19	2.64	4.05
2		1.77	7.01	2.57	4.59
3		2.07	6.69	2.49	4.26
4		1.98	6.84	2.49	4.21
	Rata-rata	1.80	6.93	2.55	4.28
1	4		5.45	2.52	3.03
2			5.31	2.38	2.56
3			5.18	2.60	2.45
4			5.01	2.37	3.12
	Rata-rata		5.24	2.47	2.79

Keterangan : K⁻ : Tidak diberi apa-apa

K⁺ : Diberi pelarut senyawa dan CCl₄

P₁ : Diberi senyawa p-metoksi sinamat etil ester dosis 5 mg/Kg BB

P₂ : Diberi senyawa p-metoksi sinamat etil ester dosis 10 mg/Kg BB

Pada hari ke 4 pengamatan kadar malondialdehid (MDA) hepar tikus terlihat nilai rata-rata MDA hepar baik dari kelompok kontrol maupun perlakuan ada penurunan (tabel 3.1). Tetapi perbedaan nilai MDA hepar antara yang diberi CCl₄ saja dan diberi senyawa p-metoksi Sinamat Etil Ester kencur secara statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna. Namun antara kedua dosis senyawa p-metoksi Sinamat Etil Ester secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini sesuai dengan sayatan histologis hepar tikus percobaan yang secara kuantitas menunjukkan menurunnya persentase luas nekrosis sel hepar. Juga secara kualitas terlihat bahwa nekrosis sel hepar berkurang cukup besar, terutama pada dosis 5 mg/Kg BB.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Pada hari ke 2 pengamatan setelah diberi senyawa p-metoksi sinamat dosis 5 mg dan 10 mg/Kg BB kadar MDA hepar tikus adalah 2,55 nmol/ml dan 4,28 nmol/ml, dari kelompok yang diberi CCl₄ saja 6,93 nmol/ml. Secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna kadar MDA hepar tikus antara kelompok yang diberi CCl₄ dan diberi senyawa p-metoksi sinamat etil ester.
2. Pada hari ke 4 pengamatan kadar MDA hepar tikus setelah diberi senyawa p-metoksi sinamat dosis 5 mg dan 10 mg/Kg BB menurun masing-masing 2,47 nmol/ml dan 2,79 nmol/ml, dan yang diberi CCl₄ saja 5,24 nmol/ml . Terdapat perbedaan yang bermakna kadar MDA hepar tikus antara yang diberi senyawa p-metoksi sinamat dengan diberi CCl₄ saja.
3. Tingginya kadar MDA hepar tikus setelah diberi senyawa p-metoksi sinamat etil ester dosis 10 mg/Kg BB mungkin disebabkan masih banyaknya kerusakan membran sel atau nekrosis sel. Kerusakan membran juga akan mempengaruhi pembentukan enzim anti oksidan. Untuk itu perlu penelitian lanjutan pengaruh senyawa p-metoksi sinamat terhadap penurunan kadar enzim katalase atau SOD.

4.2. Saran

Perlu penelitian lebih lanjut tentang pengaruh senyawa p-metoksi sinamat etil ester terhadap penurunan kadar enzim pada hepar tikus, seperti katalase dan SOD .

V. UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan telah terlaksananya penelitian ini mengucapkan terima kasih kepada :

1. Direktorat pembinaan penelitian dan pengabdian pada masyarakat, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi dan Kebudayaan yang telah membiayai untuk terlaksananya penelitian ini.
2. Staf dan karyawan labor Kimia Bahan Alam jurusan Farmasi FMIPA Unand yang telah membantu dalam pemisahan kedua senyawa kencur.
3. Staf dan karyawan labor Biokimia Fakultas Kedokteran yang telah memberikan fasilitas dan sarana penggunaan alat-alat selama kegiatan penelitian berjalan.
4. Kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu telah membantu untuk kelancaran penelitian ini dari awal sampai penulisan laporan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bast, A : Haehan GRMM, Doelman CJA. 1991. Oxidants and anti oxidants : State of the Art. *Am.J.Med.*1991 (Suppl.3C) : 3C - 2S
- Cochrane,C.G.1991. Cellular Injury by oxidants. *AM. J. Med.* 91 (Suppl. 3C) : 3C-23S
- Eti Yerizel, dkk. 1997. Efek Hepato protektor flavonoid terhadap kerusakan sel hepar tikus. Dibiayai dana SPP/DPP/1997.
- Goodman and Gilman. 1992. The pharmacological basis of therapeutics. vol 2. 8 th Edition. New York, Mac Graw Hill
- Jany, 1993. Uji Aktivitas tabir matahari senyawa p-metoksi sinamat etil ester runpang kencur. Skripsi. Fak. Farmasi Unair. Surabaya.
- Robin,S.L ; Kumar, V. 1989. Pathologic basic of the disease. 14 th edition. Philadelphia ; W.B. Saunders company
- Shen, H.M, dkk. 1994. Aflatoxin Blinduced lipid penoxidation in rat liver. *Toxicol Appl Pharmacol* 127 (1) ; 145-150
- Sherloch, S.1989. Diseases of the liver and biliary system 8 th edition oxford Blackweel. Scientific. Publ
- Tjokroprawiro,A. 1993. Radikal bebas, aspek klinik dan kemungkinan aplikasi terapi Simposium oksidan dan antioksidan. Surabaya.
- Yanwirasti ; G. Revilla and S. Agus. 1996. daya hambat flavonoid kencur (*Kaempferia galangan Linn*) terhadap kerusakan sel hepar akibat keracunan Karbon tetra khlorida. MKA. Vol. 19-20 September - Desember. Padang.