

**KADAR MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
ORGAN HATI PADA HEWAN MODEL TIKUS (*Rattus norvegicus*)
HIPERKOLESTEROLEMIA SETELAH TERAPI EKSTRAK
AIR BENALU MANGGA (*Dendrophthoe pentandra L. Miq*)**

**Malondialdehida (MDA) levels and Hepar Histopathology On Rat (*Rattus norvegicus*)
Hypercholesterolemia After Therapy Water Extract of Mango's Mistletoe
(*Dendrophthoe pentandra L. Miq*)**

Debin Yuniar Wulandari, Masdiana C. Padaga, Herawati

Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Program Kedokteran Hewan, UniversitasBrawijaya

debinyuniar@yahoo.co.id

ABSTRAK

Hiperkolesterolemia merupakan peningkatan kadar kolesterol dalam tubuh. Kadar kolesterol yang tinggi digunakan sebagai indikator terhadap akumulasi radikal bebas berlebih dalam tubuh. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai alternatif antioksidan adalah benalu mangga. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh terapi ekstrak air benalu mangga terhadap kadar malondialdehid (MDA) dan gambaran histopatologi hati tikus hiperkolesterolemia. Penelitian menggunakan 20 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar yang dibagi dalam 4 kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok hiperkolesterolemia, kelompok terapi dosis 400 mg/Kg BB dan kelompok terapi dosis 800 mg/Kg BB. Pembuatan hiperkolesterolemia dengan cara induksi diet hiperkolesterol selama 14 hari. Terapi ekstrak air benalu mangga dilakukan selama 14 hari dengan dosis 400mg/kg BB dan 800mg/kg BB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi ekstrak air benalu mangga dapat menurunkan kadar MDA secara signifikan yaitu dari $0,6778 \pm 0,04011$ pada kondisi hiperkolesterolemia menjadi $0,3306 \pm 0,02033$ pada terapi dosis 400 mg/kg BB dan $0,2666 \pm 0,03383$ pada terapi dosis 800 mg/kg BB. Gambaran histopatologi hati menunjukkan adanya penurunan degenerasi lemak pada sel hati tikus yang mendapat terapi. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terapi ekstrak air benalu mangga dapat menurunkan kadar MDA dan memperbaiki kerusakan hati tikus hiperkolesterolemia. Ekstrak air benalu mangga dengan dosis 800mg/kgBB lebih efektif menurunkan kadar MDA pada tikus hiperkolesterolemia.

Kata Kunci: Hiperkolesterolemia, benalu mangga, MDA, histopatologi hati.

ABSTRACT

Hypercholesterolemia is increasing of cholesterol levels in the body. High cholesterol levels were used as an indicator of the high level accumulation of free radicals in the body. One of the natural materials that can be used as an alternative antioxidant is a Mango's Mistletoe. The purpose of this research was to study the effect of therapy water extract of mangos's mistletoe on malondialdehyde (MDA) levels and hepar histopathology on hypercholesterolemia rat. This study used 20 male rats (*Rattus norvegicus*) strain Wistar which divided into four groups, the control group, hypercholesterolemia group, group that received therapy dose 400 mg/kg BW and group that received therapy dose 800 mg/kg BW. Animal model hypercholesterolemias were induced by diet high in cholesterol for 14 days. The therapy with water extract of mangos's mistletoe was given for 14 days at dose 400 mg/ kg BW and 800 mg/kg BW. The result showed that the water extract mangos's mistletoe significantly lower MDA levels in hypercholesterolemia rat, from $0,6778 \pm$

0,04011 to 0,3306 ± 0,02033 at therapeutic dose of 400 mg / kg BW and 0.2666 ± 0.03383 at therapeutic dose of 800 mg / kg BW. The histopathological of hepar showed a decrease lipid degeneration in hepar cell in therapy rats. It can be conclude that the water extract of mangos's mistletoe could reduce MDA level and repairing hepar damage on hypercholesterolemia rats. The water extract of mangos's mistletoe with dose 800 mg/kg BW are more effective in lowering MDA level on hypercholesterolemia rat.

Keywords: Hypercholesterolemia, mangos's mistletoe, MDA, hepar histopathology.

PENDAHULUAN

Hiperkolesterolemia adalah keadaan dimana kadar kolesterol melebihi normal (Murray *et al.*, 2003). Kondisi hiperkolesterolemia sering terjadi pada hewan kesayangan. Data yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan oleh Panagiotis (2010), terdapat 32,8 % dari 192 ekor anjing mengalami hiperkolesterolemia karena pemberian pakan dengan kadar kolesterol yang tinggi.

Hiperkolesterolemia mengindikasikan adanya akumulasi radikal bebas dalam tubuh. Peningkatan radikal bebas menstimulasi proses peroksidasi lipid dan mengakibatkan stres oksidatif yang dapat ditentukan dengan mengukur salah satu parameter yaitu malondialdehida (MDA) (Valko *et al.*, 2006). Peningkatan radikal bebas juga menurunkan aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) yang menyebabkan terjadinya akumulasi trigliserida (TG) dalam sel hati dan terjadi degenerasi lemak sel hati (Goldberg, 2001).

Pengobatan hiperkolesterolemia dengan obat sintetis kimia dalam jangka panjang menimbulkan nyeri sendi dan kerusakan hati, untuk itu digunakan alternatif pengobatan melalui pemberian terapi herbal (Becker *et al.*, 2008). Terapi herbal yang digunakan dapat berasal dari bahan alami yang mengandung senyawa bioaktif, salah satunya adalah benalu mangga. Kandungan ekstrak air benalu mangga adalah flavonoid, tanin, saponin dan kuersetin (Khakim, 2000). Artanti *et al.* (2003) dan Widowati *et al.* (2011) melaporkan bahwa ekstrak air benalu mangga mempunyai aktivitas sebagai

antioksidan. Ikawati *et al.* (2008) menjelaskan bahwa peran proteksi antioksidan ekstrak benalu yaitu melalui penghambatan peroksidasi lipid.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra L. Miq*) terhadap kadar malondialdehida (MDA) dan gambaran histopatologi hati tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia.

MATERI DAN METODE

Peralatan yang digunakan yaitu: kandang tikus, spuit, alat sonde, seperangkat alat bedah, *beaker glass*, termometer, waterbath, timbangan, sentrifuge, mortar, vortex, *micropipette*, spektrofotometer (*Shimadzu UV-visible*) dan mikroskop (Olympus BX51).

Bahan yang digunakan adalah benalu mangga, asam Kholat (Sigma M5M5306), minyak babi, telur puyuh rebus, Na-Thio 1 %, stok kit MDA, HCl, NaCl-fis 0,9 %, TCA, PBS-azida, PFA, xilol, parafin, pewarna histologi hematoksilin-eosin, aquades, dan alkohol.

Hewan coba yang digunakan adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar dengan berat badan 130-180 gram yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM Yogyakarta. Penggunaan hewan coba telah mendapatkan persetujuan laik etik oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya. Tikus dibagi menjadi empat yaitu kelompok normal (A), kelompok hiperkolesterolemia (B), terapi dosis 400 mg/kg BB (C), dan terapi dosis 800 mg/kg BB (D).

Pembuatan Tikus Hiperkolesterolemia

Diet hiperkolesterol disiapkan sesuai dengan metoda Gani (2013). Tikus kelompok B, C dan D diberikan diet hiperkolesterol secara oral. Diet hiperkolesterolemia dibuat dari minyak babi sebanyak 2 gram, asam kolat 0,02 gram, dan kuning telur puyuh rebus 1 gram. Bahan-bahan tersebut ditambah *aquades* hingga 2 ml, diberikan dengan metode sonde lambung dan ditambah pakan standar selama 14 hari.

Pembuatan Ekstrak Air Benalu Mangga

Pembuatan ekstrak air benalu mangga dilakukan sesuai dengan metoda Khakim (2000). Ekstraksi simplisia benalu mangga dilakukan dengan menggunakan pelarut air dengan metode infusa. Langkah pembuatan ekstrak yaitu simplisia benalu mangga ditimbang dengan cara disesuaikan dengan berat badan kelompok tikus perlakuan, kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* yang berisi 50 mL *akuades*. Kemudian dipanaskan pada waterbath (70°C) hingga volume tinggal 10 mL. Volume pemberian terapi diberikan per oral sebanyak 2 mL per tikus selama 14 hari.

Pengambilan Organ Hati

Tikus didislokasi pada bagian leher dan dilakukan pembedahan. Organ hati diambil dan dicuci dengan NaCl-fisiologis 0,9%, bagian lobus kiri dimasukkan dalam larutan PBS-azida untuk pengukuran kadar MDA dan lobus kanan ke dalam PFA untuk pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan HE.

Pengukuran kadar malondialdehid

- Pengukuran kurva standar MDA

Pengukuran kurva standar MDA dilakukan sesuai dengan metoda yang digunakan Aulanni'am *et al.*, (2012). Larutan stok kit MDA konsentrasi 0, 1, 2,

3, 4, 5, 6, 7 dan 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diambil 100 μL , dimasukan dalam ependorf yang berbeda, ditambahkan aquades 550 μL , 100 μL TCA 10%, 250 μL HCl 1 N, 100 μL Na-Thio 1 % dan dihomogenkan. Setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil, dipanaskan dalam waterbath suhu 100°C selama 30 menit, dibiarkan dalam suhu ruangan, diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ maks (532 nm). Hasil absorbansi kemudian dibuat kurva standar MDA dan dihasilkan persamaan linear.

- Pengukuran kadar MDA hati dengan uji TBA

Pengukuran kadar MDA dilakukan sesuai dengan metoda yang digunakan Aulanni'am *et al.*, (2012). Organ hati dengan berat 1 gram dimasukkan ke dalam mortar dingin dan digerus hingga halus. Kemudian 500 μl NaCl 0,9% ditambahkan dan dilakukan homogenasi. Homogenat diambil dan dipindahkan ke tabung ependorf. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 20 menit dan diambil supernatannya. Supernatan sebanyak 100 μL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 550 μl , 100 μL TCA, 100 μL HCL 1 N, 100 μL Na-Thio 1 % dan dihomogenkan kembali. Setelah itu disentrifugasi 500 rpm selama 10 menit, dipanaskan dalam *water bath* 100°C selama 30 menit. Sampel kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum (λ maks = 532 nm).

Pewarnaan Hemaktosilin-Eosin

Jaringan hepar tikus dibuat preparat dengan metoda pewarnaan Hemaktosilin-Eosin (HE). Perubahan yang diamati adalah degenerasi lemak sel hati di sekitar vena sentralis dan sinusoid.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan acak lengkap (RAL) dimana tikus dibagi menjadi empat perlakuan dengan lima kali ulangan. Analisis kadar MDA menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Tukey ($p<0,05$) menggunakan SPSS 16.0 For Windows, analisis gambaran histopatologi dilakukan secara deskriptif

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra L.Miq*) terhadap kadar MDA organ hati pada tikus hiperkolesterolemia dengan analisis statistika menggunakan uji ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Tukey terhadap rata-rata kadar MDA organ hati disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai kadar MDA organ hati

Perlakuan	Rata-rata kadar MDA (\pm SD)
Tikus normal (A)	$0,2202 \pm 0,03731^a$
Tikus hiperkolesterolemia (B)	$0,6778 \pm 0,04011^c$
Tikus terapi dosis 400 mg/kg BB (C)	$0,3306 \pm 0,02033^b$
Tikus terapi dosis 800 mg/kg BB (D)	$0,2666 \pm 0,03383^a$

Keterangan : - Perbedaan notasi a, b dan c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) antara kelompok perlakuan.

Nilai rata-rata kadar MDA pada kelompok normal (A) adalah $0,2202 \pm 0,03731$. Nilai tersebut menunjukkan standar nilai rata-rata kadar MDA pada tikus dalam keadaan normal. Nilai rata-rata kadar MDA kelompok hiperkolesterolemia (B) menunjukkan nilai paling tinggi yaitu $0,6778 \pm 0,04011$. Setelah diterapi dengan ekstrak air benalu mangga selama 14 hari, terjadi penurunan rata-rata kadar MDA pada kelompok C ($0,3306 \pm 0,02033$) dan kelompok D ($0,2666 \pm 0,03383$). Hasil tersebut menunjukkan perbedaan nyata ($p<0,05$) pada masing-masing perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian pakan hiperkolesterol mampu meningkatkan radikal bebas yang ditunjukan dengan peningkatan kadar MDA. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Fki *et al.* (2005), yang mengatakan bahwa pada kelompok tikus yang diberi pakan diet kaya kolesterol terjadi peningkatan jumlah MDA hati dibanding kelompok normal. Gomes (2005) menyatakan bahwa penumpukan kolesterol dapat meningkatkan radikal

bebas dalam tubuh dan meningkatkan proses oksidasi asam lipid tak jenuh rantai panjang (*Polyunsaturated Fatty Acid* atau PUFA) sehingga terbentuk MDA.

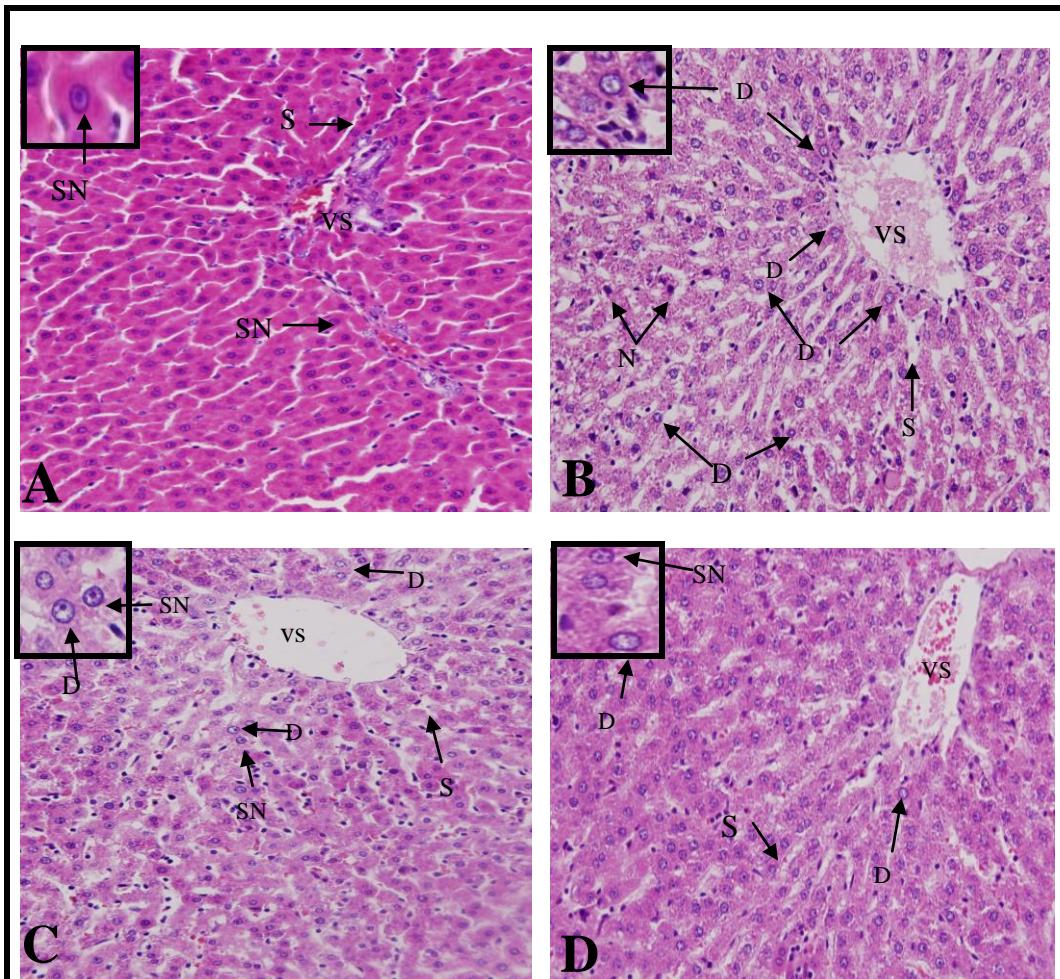
Terapi ekstrak air benalu mangga pada kelompok C dan D menunjukkan penurunan nilai rata-rata kadar MDA, karena adanya antioksidan dalam ekstrak air benalu mangga yang menghambat proses peroksidasi lipid. Proses penghambatan peroksidasi lipid oleh ekstrak air benalu mangga dengan cara menangkap radikal bebas dan mendonorkan atom hidrogen sehingga terbentuk senyawa yang lebih stabil dan menghentikan reaksi berantai peroksidasi lipid. Hasil penelitian ini sesuai dengan Avci *et al.* (2006) yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak air benalu dapat menurunkan rata-rata kadar MDA melalui penghambatan peroksidasi lipid.

Efek ekstrak air benalu mangga juga mampu menurunkan kadar kolesterol melalui mekanisme penurunan penyerapan lemak makanan dalam usus. Menurut Kunto (2006), senyawa tanin

yang terdapat dalam ekstrak air benalu mangga dapat menghambat absorpsi kolesterol dalam permukaan usus halus dengan cara bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus. Hal ini akan mengurangi kerja sel hati dalam mengeluarkan kelebihan kolesterol. Kelompok D merupakan kelompok dengan dosis terapi yang efektif menurunkan kadar MDA. Perbedaan nilai kadar MDA kelompok C dengan kelompok D dikarenakan adanya perbedaan dosis terapi.

Hasil penelitian tentang pengaruh pemberian terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra L. Miq*) terhadap gambaran histopatologi hati menggunakan pewarnaan Hemaktosilin-Eosin (HE) disajikan pada Gambar 1.

Gambaran histopatologi pada kelompok A menunjukkan gambaran histologi organ hati normal (Gambar 1.A). Gambar tersebut terlihat sinusoid memancar secara sentrifugal dari vena



Gambar 1. Gambaran histopatologi Organ Hati tikus (HE, 400x),

- A. Tikus normal, sel normal dan sinusoid memancar secara sentrifugal dari vena sentralis
- B. Tikus Hipertolesterolemia, adanya degenerasi lemak dan nekrosis
- C. Tikus terapi dosis 400 mg/kg BB, adanya degenerasi lemak
- D. Tikus terapi dosis 800 mg/kg BB, degenerasi lemak berkurang mendekati normal.

D: Degenerasi lemak; **S:** Sinusoid; **SN :** Sel Normal; **N:** Nekrosis; **VS :** Vena Sentralis. Insert menunjukkan gambaran sel hepatosit yang diperbesar.

sentralis dan tidak tampak adanya degenerasi lemak pada sel hati.

Pada kelompok hiperkolesterolemia (Gambar 1.B) terdapat degenerasi lemak pada hampir seluruh bagian terutama pada bagian dekat vena sentralis, adanya sel yang nekrosis dan sinusoid terlihat tidak beraturan. Inti sel hati terlihat berada di tepi karena terdesak oleh adanya lemak yang memenuhi bagian sitoplasma sel hati. Penelitian Oktaviana (2005), menjelaskan bahwa adanya degenerasi lemak sel hati menyebabkan terjadinya perubahan susunan sel sehingga sel tidak mampu kembali kekeadaan semula menyebabkan sinusoid tampak melebar.

Degenerasi lemak terjadi karena terdapat penurunan aktifitas enzim LPL dalam menghidrolisa VLDL yang mengakibatkan butiran TG terakumulasi di dalam sel hati. Porth and Matfin (2008) mengatakan bahwa terbentuknya radikal bebas menyebabkan sel tidak mampu mengeluarkan TG sehingga terjadi degenerasi lemak. Peningkatan kadar radikal bebas lebih jauh akan menyebabkan terjadinya nekrosis.

Pada kelompok C (Gambar 1.C) dan kelompok D (Gambar 1.D) terlihat adanya perbaikan gambaran histopatologi organ hati. Gambar 1.C tampak bahwa terjadi pengurangan degenerasi lemak dan sinusoid mulai memancar secara sentrifugal dari vena sentralis kembali meskipun masih nampak lebar. Gambar 1.D menunjukkan gambaran histopatologi hati semakin mendekati gambaran hati normal meski masih nampak adanya sedikit degenerasi lemak pada sel hati.

Perbaikan gambaran histopatologi organ hati terjadi karena adanya kerja antioksidan dan antihiperkolesterolemia. dari ekstrak air benalu mangga. Kerja antioksidan dapat menghambat peroksidasi lipid dengan menangkap radikal bebas sehingga tidak menimbulkan radikal bebas berlebih. Ekstrak air benalu mangga juga dapat meningkatkan pembuangan kolesterol

bersama dengan feses sehingga tidak terjadi penumpukan kolesterol di hati (Lamanepa, 2005). Berdasarkan data rata-rata kadar MDA dan gambaran histopatologi organ hati yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin tinggi rata-rata kadar MDA, semakin tinggi tingkat keparahan degenerasi lemak sel hati pada gambaran histopatologi organ hati.

KESIMPULAN

Terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra L. Miq*) dapat menurunkan kadar MDA organ hati dan memperbaiki gambaran histopatologi organ hati tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Molekuler FMIPA Universitas Brawijaya serta staf laboratorium yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aulanni'am, Roosdiana, Ana and N. L. Rahmah. 2012. *The Potency of Sargassum duplicatum Bory Extract on Inflammatory Bowel Disease Therapy in Rattus norvegicus*. Journal of Life Sciences 6: 144-154.
- Artanti,N., T. Firmansyah and A. Darmawan. 2012. *Bioactivities Evaluation of Indonesian Mistletoes (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq.) Leaves Extracts*. J. App. Pharmaceutical Science 2 (01); 2012: 24-27.
- Avci, G., E. Kupelib, A. Eryavuzc, E. Yesiladad and I. Kucukkurt. 2006. *Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in Turkish folk medicine*. J. Ethnopharmacol. 107: 418–423.

- Becker, D.J., R.Y. Gordon, P.B. Morris, J. Yorko, Y.J. Gordon, M. Li and N. Iqbal. 2008 .*Simvastatin vs therapeutic lifestyle changes and supplements: randomized primary prevention trial.* Mayo Clin Proc (7):758-64.
- Fki, I., M. Bouaziz, Z. Sahnoun and S. Sayadi. 2005. *Hypocholesterolemic effects of phenolic-rich extracts of Chemlali olive cultivar in rats fed a cholesterol-rich diet.* Bioorganic & Medic Chem 13: 5362–5370.
- Gani, N, I.M. Lidya dan M.P. Mariska. 2013. *Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah(Abelmoschus manihot L.).* Jurnal MIPA UNSRAT Online 2 (1) 44-49.
- Goldberg, I.J. and M. Merkel. 2001. *Lipoprotein Lipase, physiology, biochemistry and molecular biology.* Front Biosci 6:D388.
- Gomes, G. N., F.T. Barbosa, R.F. Radaeli, M.F. Cavanal, M. M. Aires dan G. Zaladek. 2005, *Effect of D- α-tocopherol on tubular nephron acidification by rats with induced diabetes mellitus.* Brazilian Journal of Medical and Biological Research 38 :1043-1051.
- Ikawati, M., A.E. Wibowo, N.S. Octa dan R. Adelina. 2008. *Pemanfaatan Benalu sebagai Agen Antikanker.* Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P. A. Mayes and V.W. Rodwell. 2003. *Harper's Illustrated Biochemistry Twenty-Sixth Edition.* New York: McGraw-Hill.
- Panagiotis, G. X and M. S. Jörg. 2010. *Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs.* The Veterinary Journal 183:12–21.
- Valko, M. 2006. *Free Radical, Metal And Antioxidant In Oxidative Stress Induced Cancer.* J.Chem-BioI, Rusia, 160: 1-40.
- Khakim, Abdul. 2000. *Ketoksikan akut ekstrak air daun benalu (Dendrophthoe pentandra (L.)Miq. dan Dendrophthoe falcata (L.f). Ertingsh) pada mencit jantan dan uji kandungan kimia [skripsi].* Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Kunto, A. 2006. *Herbal-herbal penurun kolesterol.* <http://www.litbang.depkes.go.id>
- Lamanepa. M.E.L., 2005. *Perbandingan Profil Lipid dan Perkembangan Lesi Aterosklerosis pada Tikus Wistar yang Diberi Diet Perasan Pare Dengan Diet Perasan Pare dan Statin.* Magister Ilmu Biomedik. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro, Semarang.
- Oktavianti, R. 2005. *Struktur Hepar Mencit (Mus musculus L.) setelah Pemberian Aspartam Secara Oral.* Enviro: 5: 30-31.
- Porth, C and G. Matfin. 2008. *Pathophysiology: Concepts of Altered Health States.* Lippincott Williams & Wilkins 8th edition.
- Widowati, W., T. Mozef, C. Risdian, H. Ratnawati, S.Tjahjani and F.Sandra. 2011. *The Comparison of Antioxidative and Proliferation Inhibitor Properties of Piper betle L., Catharanthus roseus [L] G.Don, Dendrophthoe petandra L., Curcuma mangga Val. Extracts on T47D Cancer Cell Line.* Int. J. Biochem and Bioinformatics 1(2):022-028.