Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) Pada Aktivitas SOD dan MDA Mata Tikus (*Rattus Wistar*) yang Dipapar Radiasi Gamma

Rara Pramita[1)*], Chomsin S. Widodo[2)], Unggul P. Juswono[2)]

[1)] Program Studi Magister Ilmu Fisika, Jurusan Fisika, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya
[2)] Jurusan Fisika, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya

Diterima 18 Agustus 2014, direvisi 30 September 2014

ABSTRAK

Pengukuran aktivitas Superoksid dismutase (SOD) dan Malondhyaldehyde (MDA) dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) pada mata yang dipapar radiasi gamma 300 rad. 35 ekor tikus putih jantan (*Rattus wistar*) dipapar radiasi dengan dosis fraksinasi 300 rad selama 7 hari, diberi ekstrak rosella secara sonde 2 cc/hari/ekor selama 16 hari dengan 5 variasi dosis 62.5 mg/200 g BW, 125 mg/200 g BW, 250 mg/200 g BW, 400 mg/200 g BW, dan 550 mg/200 g BW. Pengukuran aktivitas SOD dan MDA menggunakan metode Thiobarbituric Acid (TBA). Ekstrak Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) dengan dosis 250 mg/200 g BW membantu meningkatkan aktivitas Superoksid dismutase (SOD), menurunkan Malondialdehyde (MDA) setelah dipapar radiasi 300rad.

Kata kunci : Radiasi Gamma, Ekstrak Rosella, SOD, MDA.

ABSTRACT

Measurement activity of superoxide dismutase (SOD) and Malondhyaldehyde (MDA) to analyze the effect of roselle calyx extract (Hibiscus sabdariffa L) after exposure 300 rad gamma radiation. 35 male white rats (Rattus Wistar) were exposed to fractination dose of 300 rad for 7 day, are given in the sonde 2cc/days roselle extract for 16 days with a dose variation 62.5 mg/200 g BW, 125 mg/200 g BW, 250 mg/200 g BW, 400 mg/200 g BW, and 550 mg/200 g BW. Measurement of the activity of SOD and MDA were done by thiobarbituric acid (TBA) methode. Extract Roselle (Hibiscus sabdariffa L) 250 mg/200 gr BW increase the activity of superoxide dismutase (SOD) and decrease Malondialdehyde (MDA) after being exposed to radiation of 300 rad.

Keywords : Gamma radiation, Roselle Extrac, SOD, MDA

PENDAHULUAN

Saat ini sejumlah bahan kimia antioksidan seperti L-karnitin, asetil-L-karnitin, lycopene, melatonin, resveratrol, asam α-lipoic, Ginkgo biloba, α-tokoferol, N-acetylcysteine, piruvat dan verapamil telah digunakan sebagai radical scavenger untuk membantu meningkatkan aktivitas antioksidan endogen [1].

Kocer pada tahun 2007 menggunakan L-Carnitine sebagai antioksidan untuk katarak mata yang diujikan pada tikus dengan terapi radiasi gamma pesawat Cobalt-60 selama 10 hari melalui pengukuran enzim antioksidan superoxide dismutase (SOD) dan glutathione peroxidase (GSH-Px) sebagai indikator stres oksidatif dan untuk peroksida lipid dilakukan pengujian MDA (Malondialdehid). L-Carnitine dapat melindungi kerusakan yang dihasilkan oleh radiasi gamma ditandai oleh meningkatnya aktivitas SOD dan menurunnya MDA [7].

Shirazi di tahun 2011 mengukur dan mengamati peran radioprotective melatonin pada lensa tikus terhadap stres oksidatif akibat

---
*Corresponding author:
E-mail: rarapramita@gmail.com

paparan radiasi gamma. Melatonin bekerja sebagai scavenger radikal bebas, merangsang enzim antioksidan untuk meningkatkan pertahanan antioksidan. Penggunaan melatonin dapat mencegah stres oksidatif pada mata yang terpapar radiasi ditandai dengan penurunan aktivitas GSH dan peningkatan MDA [8].

Pada paper ini digunakan metode In-Vitro dengan memanfaatkan Flavonoid yang terkandung dalam sayuran, buah-buahan, dan teh [2]. Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L)* mengandung flavonoid (anthocyanin, delphinidin, cyanidin), zat besi, beta karoten, vitamin C, tiamin, riboflavin dan niasin [4]. Infusa kelopak *Hibiscus sabdariffa L* berkhasiat sebagai antiinflamasi, antiseptik, antibakteri, anti kanker, anti tumor, anti leukemik, antidiabet, menurunkan tekanan darah, menurunkan kolesterol, asam urat, trigliserida dalam urine dan rosella dikenal sebagai anti oksidan yang sangat tinggi [9].

Pada paper ini akan membahas pengaruh Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L)* dalam meningkatkan antioksidan endogen (SOD) dan menurunkan peroksidasi lipid (MDA) pada mata tikus yang dipapar radiasi gamma 300 rad.

METODE PENELITIAN

Tikus *Ratttus norvegicus* strain wistar jantan 35 ekor dengan berat rata-rata 180-200 gram, diaklimasi selama 1 minggu. Iradiasi dengan dosis 300 rad kemudian diberi ekstrak dengan 5 variasi dosis yaitu 62.5 mg/200 g BW, 125 mg/200 g BW, 250 mg/200 g BW, 400 mg/200 g BW, dan 550 mg/200 g BW.

Ekstrak kelopak rosella dibuat menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan ethanol 70% untuk mengikat senyawa aktif yang ada di rosella. Ekstrak rosella dilarutkan dengan air, pemberian ekstrak pada hewan coba dilakukan dengan sonde 2 cc/hari/ekor selama 16 hari. [9]

Paparan radiasi gamma dengan sumber ^{60}Co; ^{90}Sr; ^{241}Am; ^{22}Na; ^{137}Cs. Bola mata tikus yang sudah diradiasi dan diberi ekstrak digerus kemudian pengukuran SOD dilakukan dengan metode dari Bannister. Sampel diambil 200 µL, dimasukkan dalam tabung, ditambahkan EDTA 100 mM 200 µL, NBT 25 U 100 µL, xanthine 25 U 100 µL, dan XO 1 U 100 µL. Campur hingga homogen. Inkubasi pada suhu 39°C selama 30 menit. Sentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Tambahkan aquabidest pada supernatan yang telah disaring hingga mencapai volume 3mL, kemudian dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm.

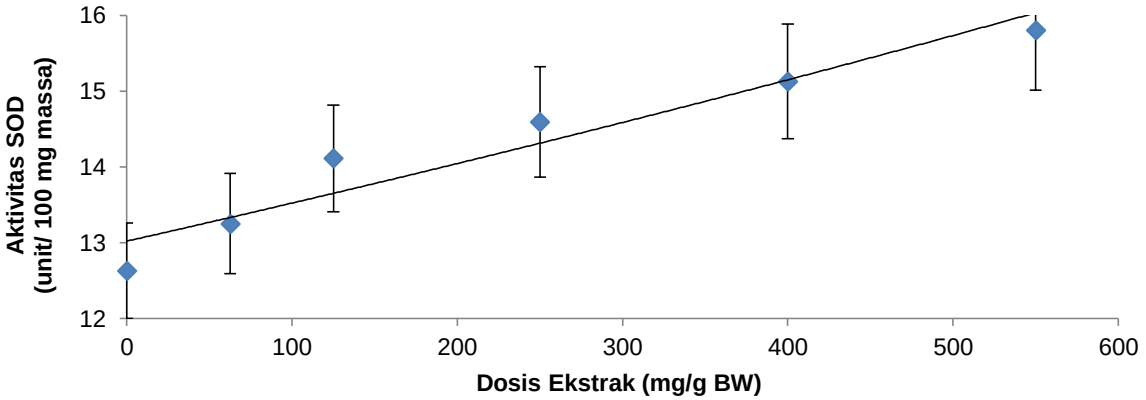
Pengukuran MDA dilakukan dengan metode Thiobarbituric Acid (TBA). Prinsip uji TBA oleh Flower, sampel berupa organ bola mata, ditimbang organ dengan neraca analitik 200mg, gerus dengan mortal hingga homogen, ditambahkan 1 mL buffer Tris KCl pH 7,6 ke dalam mortal, dimasukkan homogenat ke dalam tabung reaksi, ditambahkan TCA 10% sebanyak 2,5 mol atau sebanyak 1,25 cc ke dalam tabung, kemudian vortex hingga homogen, ditambahkan HCl 0.1 N sebanyak 250 µL kedalam tabung, ditambahkan asam Na-thiobarbiturat acid 10% sebanyak 100 µL, dipanaskan tabung di dalam water bath dengan suhu 105°C selama 25 menit, kemudian diangkat dan biarkan pada suhu kamar. Sentrifuse tabung dengan kecepatan 2000-3000 rpm selama 10 menit, baca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm [3].

HASIL DAN PEMBAHASAN

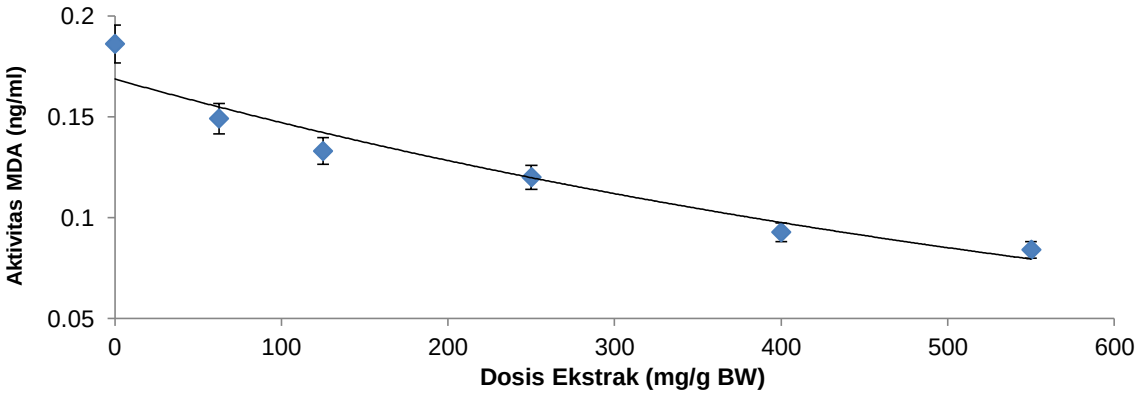
Pengukuran SOD dan MDA dilakukan untuk mengetahui stres oksidatif dan peroksidasi lipid yang dihasilkan oleh radiasi dengan dosis 300 rad serta perubahannya setelah pemberian ekstrak rosella, aktivitas SOD dan MDA dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Rosella memiliki pengaruh dalam meningkatkan aktivitas SOD sebagai antioksidan endogen untuk menangkal radikal bebas yang dihasilkan oleh radiasi gamma 300 rad. Pemberian rosella dengan dosis 62.5 mg/200 g BW setelah paparan radiasi gamma 300 rad tanpa ekstrak meningkat, kemudian peningkatan terjadi secara eksponensial pada dosis 125 mg/200 g BW, 250 mg/200 g BW dan 400 mg/200 g BW, dan untuk pemberian dosis 550 mg/200 g BW terjadi peningkatan SOD yang tinggi. MDA merupakan produk radikal bebas dari ikatan peroksidasi lipid dengan OH. MDA meningkat setelah paparan radiasi gamma dan menurun setelah pemberian ekstrak rosella. Selisih penurunan MDA saat radiasi

tanpa ekstrak dengan radiasi pemberian ekstrak dosis 62.5 mg/200 gBB tinggi. MDA menurun kembali saat pemberian rosella 125 mg/200 g BW, 250 mg/200 g BW, 400 mg/200 g BW dan 550 mg/200 g BW. Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) pada aktivitas SOD dan MDA mata tikus (*Rattus wistar*) yang dipapar radiasi gamma



Gambar 1. Grafik Aktivitas SOD pada iradiasi dosis 300 rad dengan pemberian 5 variasi dosis ektrak rosella (*Hibiscus sabdariffa L)*



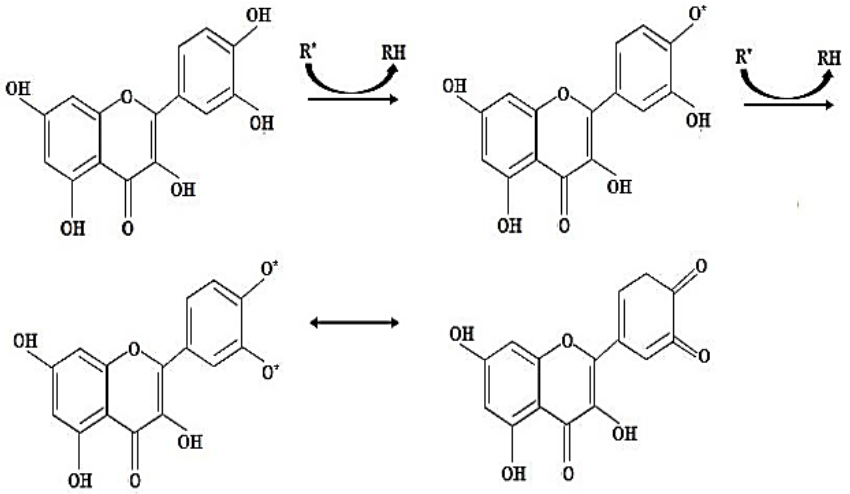
Gambar 2. Grafik Aktivitas MDA pada iradiasi dosis 300 rad dengan pemberian 5 variasi dosis ektrak rosella (*Hibiscus sabdariffa L).*

Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosella (Hibiscus sabdariffa L) pada aktivitas SOD dan MDA mata tikus (*Rattus wistar*) yang dipapar radiasi gamma. Paparan radiasi gamma menyebabkan produksi radikal bebas dengan pertahanan antioksidan tidak seimbang, menghasilkan stres oksidatif dan peroksidasi lipid. Radiasi dengan dosis minimal 10 mSv atau setara dengan 1 rad dan maksimal 100 Sv dapat mengganggu kemampuan sel untuk menjalani mitosis sehingga menghasilkan kerusakan kromosom. Paparan radiasi yang berlebih akan menyebabkan kematian sel kemudian akan menghasilkan patogenesis seperti cardiovascular, kanker dan penuaan [11].

Mata terdiri dari beberapa bagian yang memiliki sensitivitas yang berbeda dalam penyerapan energi radiasi. Kerusakan kornea dan lensa dipengaruhi oleh jumlah intesitas radiasi yang diserap. Penyerapan yang dilakukan oleh kornea, aqueous humor, lensa, dan vitreous body minimal 1% akan ditransmisikan ke retina sehingga retina lebih rentan mengalami kerusakan [5].

Kerusakan retina diawali pada fotoreseptor (sel batang dan kerucut) yang berfungsi untuk penglihatan pada siang dan malam hari, kemudian kerusakan pada epitel pigmen retina dan neuron yang berfungsi untuk absorbsi cahaya. Kerusakan epitel kornea akan mengganggu fungsi kornea dalam proses refraksi cahaya yang masuk ke mata, pemberian O_2 di anterior kornea avascular, menghilangkan partikel asing dari permukaan ocular melalui aliran air mata, dan menghambat fungsi kornea

yang bersifat sebagai antibakteri. Kerusakan pada Epitel juga bersinambung dengan konjungtiva, stoma dan endotel yang berperan pada transparansi kornea [8].



Gambar 3. Mekanisme kerja flavonoid [10]

SOD yang berfungsi menjadi antioksidan endogen menurun akibat radiasi, keadaan ini disebut sebagai stres oksidatif. Kemampuan SOD menurun untuk berikatan dengan radikal bebas, sehinnga agar tidak mengikat sel yang sehat SOD membutuhkan bantuan antioksidan eksogen. SOD terbagi menjadi beberapa bagian yaitu SOD yang berada dalam sitoplasma, mitokondria, dan SOD di bagian ekstraselular. SOD berfungsi untuk mengurangi stres oksidatif sehingga dapat mencegah kerusakan DNA, RNA, protein dan lipid [6]. Radiasi mengikat lemak tak jenuh pada membran sehingga mengubah sifat lipid yang larut dalam air menjadi tidak larut, sehingga degenarsi sel tidak terjadi. Indikasi oksidasi lipid ini ditandai oleh produksi MDA [11].

Rosella sebagai antioksidan eksogen dapat meningkatkan aktivitas SOD 80-95% dari keadaan radiasi 300 rad tanpa ekstrak dan menurunkan MDA 50-75% dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2. Superoksid dismutase (SOD) adalah antioksidan enzimatik yang berfungsi dalam superoksid ($O_2^{\bullet-}$) menjadi hydrogen peroksida (H_2O_2), dengan reaksi:

$$O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Selanjutnya katalase dan glutathione peroksidase mendegradasi H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 sebelum mengalami reaksi Fenton, sehingga dapat mencegah pembentukan radikal hidroksil ($OH^{\bullet}$) [3].

Senyawa flavonoid yang berada dalam rosella berfungsi menangkal radikal bebas melalui proses free radical scavenging dengan memberikan satu atom hydrogen dari gugusnya untuk bereaksi dengan radikal bebas. Dua hidroksil bertindak sebagai donor elektron yang merupakan target dari radikal bebas. Adanya OH untuk ikatan rangkap dapat meningkatkan flavonoid sebagai *radical scavenger*. Mekanisme *free radical scavenging* dan delokalisasi electron pada flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3

KESIMPULAN

Ekstrak kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) membantu meningkatan aktivitas Superoksid dismutase (SOD), menurunkan Malondhyaldehyde (MDA) mata yang dipapar radiasi gamma 300 rad pada dosis 250 mg/200 g BW.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Ferrida, SP., Ibu Husnul Khotimah, S.Si., M.Kes., dan Bapak Memet Laboratorium Farmakologi, Bapak Agus Laboratorium Fisika Lanjutan Fakultas MIPA Universitas Brawijaya atas bantuan dan kerjasamanya untuk penulis dalam pengambilan data sampai dengan selesai.

DAFTAR PUSTAKA

[1] Cimen Ozgen, S., D. Dokmeci, M. Akpolat, C. Hakan Karadag, O. Gunduz, H. Erbas, O. Benian, C. Uzal dan F. Nesrin Turan. (2012). The Protective Effect of Curcumin on Ionizing Radiation-induced Cataractogenesis in Rats. *Balkan Medical Journal*. 29(**4**): 358.

[2] Dragan, A., D. A. Dusanka, B. Drago dan T. Nenad. (2002). Structure Radical Scavenging Activity Relationship of Flavonoids. *Croatica Chemica Acta*. 76(**1**): 55-61.

[3] ElAttar, T. M. A. (1978). Prostaglandins: physiology, biochemistry, pharmacology and clinical applications. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 7(**5**): 253-282.

[4] Giusti, M. M. dan R. E. Wrolstad. (2001). *Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy* dalam *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc. pp.

[5] Jiangmei, W., S. Stefan dan P. V. Algvere. (2006). Photochemical Damage of the Retina. *Elsevier Survey of Ophthalmology*. 51(**5**).

[6] Joe, A. V. (2006). Oxidative stress in cataracts. *Pathophysiology*. **13**: 151-162.

[7] Kocer, I., S. Taysi, M. Ertekin, I. Karslioglu, A. Gepdiremen, O. Sezen dan K. Serifoglu. (2007). The effect of L-carnitine in the prevention of ionizing radiation-induced cataracts: a rat model. *Graefe's Archive of Clinical & Experimental Ophthalmology*. 245(**4**): 558.

[8] Shirazi, A., G. H. haddadi, F. Asadi-Amoli, S. Sakhaee, M. Ghazi-Khansari dan A. Avand. (2011). Radioprotective Effect of Melatonin in Reducing Oxidative Stress in Rat Lenses. *Cell Journal*. 13(**2**): 79-82.

[9] Suwandi, T. (2012). *Pengembangan potensi antibakteri kelopak bunga Hibiscus sabdariffa L (Rosela) terhadap Streptococcus sanguinis penginduksi gingivitis menuju obat herbal terstandar*. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia. Jakarta.

[10] Zulkarnain. (2012). Analisis Pengaruh Penyinaran Sinar Gamma terhadap Kadar Insulin Pankreas Sebelum dan Sesudah Permberian Ekstrak Buah Pare (M. charantia) Pada Mencit Yang Dibebani Glukosa. *Tesis.* Fisika FMIPA, Universitas Brawijaya. Malang.

[11] Zuzana, F., Z. Friedo, B. Ladislav dan R. Jaroslav. (2012). Indicators of oxidative stress after ionizing and/or non-ionizing radiation: Superoxide dismutase and malondialdehyde. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. **117**: 111-114.