

# Perbaikan Stres Oksidatif Ekstrak Etanol dan Fraksi Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) pada Tikus yang Diinduksi Streptozotosin-Nikotinamid

Wahyu Nuraini Hasmar<sup>1\*</sup>, Rina Herowati<sup>1</sup>, Gunawan Pamudji<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitas Setia Budi Surakarta, Jl. Letjen Sutoyo, Mojosongo, Jawa Tengah

\*E-mail korespondensi: wahyunurainihasmar@gmail.com

## ABSTRAK

Peningkatan stres oksidatif pada kondisi diabetes melitus (DM) dapat menyebabkan penurunan aktivitas pertahanan antioksidan dalam tubuh sehingga tubuh tidak mampu melawan radikal bebas dan memicu terjadinya kerusakan sel. Salah satu sumber antioksidan alami yaitu bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antihiperlikemik dan peningkatan aktivitas enzim antioksidan SOD, GPx, serta penurunan kadar MDA. Penelitian ini menggunakan rancangan *post test only group design*. Tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dikondisikan DM tipe 2 dengan induksi streptozotosin 60 mg/kg BB dan nikotinamid 150 mg/kg BB. Pengujian dilakukan berdasarkan aktivitas enzim antioksidan SOD, GPx, MDA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi-fraksi bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) mempunyai aktivitas sebagai antihiperlikemik. Fraksi n-heksan bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dosis 50 mg/kg BB mempunyai aktivitas yang paling baik sebagai antihiperlikemik, meningkatkan aktivitas enzim SOD, GPx dan menurunkan kadar MDA.

**Kata kunci** : antihiperlikemik, bunga cengkeh, stress oksidatif

## *Repairing of Oxidative Stress with Ethanol Extract and Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Fractions in Streptozotocin-Nicotinamide Induced Rats*

### ABSTRACT

The increasing of oxidative stress on Diabetes Mellitus (DM) condition can lead to declining of the antioxidant defence activities in the body. Furthermore, the body does not enable to resist free radicals and occurring of the cellular damage directly. One of the resources of antioxidant naturally is clove (*Syzygium aromaticum* L.). The research was worked out revealing the antihyperglycemic activities and increasing of SOD and GPx, and downward of MDA level. The research using a post-test only group design. The white male rats (*Rattus norvegicus*, also called the common or Norway Rat) which one it was made up as DM Type 2 by using the induction of Streptozotocin 60 mg/kg BW and Nicotinamide 150 mg/kg BW. The examination was conducted on the activities of SOD antioxidant enzyme, GPx, MDA. The outcomes of this research presented which the ethanol extract and fractions of clove (*Syzygium aromaticum* L.) had antihyperglycemic activity. The n-hexane fractions of clove (*Syzygium aromaticum* L.) at the dose of 50 mg/kg BW had the best activity as antihyperglycemic, increase the SOD activity and GPx enzyme and decreasing of MDA level.

**Keywords**: antihyperglycemic, clove, oxidative stress

## PENDAHULUAN

Peningkatan produksi radikal bebas oksigen terjadi selama Diabetes Melitus (DM) melalui autooksidasi glukosa dan glikasi protein. Degradasi oksidatif dari radikal-radikal ini berperan dalam pembentukan produk peroksidasi lipid. Peningkatan kadar radikal oksigen reaktif ini disebabkan ketidaksempurnaan sistem pertahanan antioksidan atau ketidakmampuan kapasitas perbaikan kerusakan oksidatif. Pada pasien DM, hiperglikemia menginduksi

terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif ini memicu terjadinya berbagai kerusakan sel (Robertson, 2004).

Stres oksidatif meliputi *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang dapat merusak seluler makromolekular, memicu modifikasi DNA dan protein dan peroksidasi lemak. Mekanisme yang terlibat dalam peningkatan stres oksidatif pada DM tidak hanya meliputi peningkatan oksidatif perusakan produk dari protein, lipid dan DNA, tetapi juga mengubah isi jaringan dan kerja dari sistem pertahanan antioksidan yang berkaitan terhadap patogenesis komplikasi vaskular, baik mikrovaskular maupun makrovaskular (Pan *et al.*, 2010).

Stres oksidatif tersebut dapat dicegah dengan penggunaan antioksidan. Salah satu tanaman yang memiliki senyawa antioksidan adalah cengkeh. Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) merupakan salah satu tanaman yang berasal dari Indonesia. Bunga cengkeh memiliki khasiat dan kegunaan yang beraneka ragam. Rempah-rempah seperti cengkeh telah banyak digunakan sejak lama sebagai pengawet makanan, dan utamanya sebagai tumbuhan obat karena aktivitas antioksidan dan antimikrobanya. Beberapa penelitian telah melaporkan adanya sifat antibakteri, antijamur, antivirus, dan sifat anti kanker dari cengkeh. Cengkeh bahkan memiliki sifat antioksidan dan antimikroba yang lebih kuat dibandingkan rempah-rempah yang lain seperti *mint* dan kayu manis (Francisco et al., 2014).

Selain memiliki aktivitas senyawa antioksidan yang tinggi, cengkeh juga memiliki aktivitas antihiperlipidemia. Sekitar 72-90% minyak esensial yang diekstraksi dari cengkeh adalah eugenol. Minyak esensial lain yang ditemukan dari cengkeh adalah *eugenol acetil*, *Beta-caryophyllene* dan *vanillin*, *crateric acid*, tanin, *asam gallotanin*, metil salisilat, flavanoid eugenin, kaempferol, rhamnetin, dan eugenitin, triterpenoid seperti asam oleanat (Bwomik et al., 2012). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antihiperlipidemia dan kemampuan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi (n-heksan, etil asetat dan air) bunga cengkeh dalam meningkatkan aktivitas enzim antioksidan SOD, GPx, dan menurunkan kadar MDA.

## METODOLOGI PENELITIAN

**Bahan.** Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga cengkeh yang segar diperoleh dari perkebunan cengkeh di Kecamatan Baula, Kabupaten Kolaka, Desa Ulu Baula, Sulawesi Tenggara, dan dimaserasi menggunakan etanol 96%. Bahan induksi diabetes menggunakan streptozotosin (Herbsens), nikotinamid (*Beta-nicotinamide Mononucleotide*), larutan CMC 1 %, glibenklamid sebagai kontrol positif, preaksi uji aktivitas enzim SOD, GPx dan MDA,

*Glucose Oxidase Phenol Aminoanti-pyrine*, buffer fosfat 50 nM (pH 7,4) yang mengandung inhibitor protease, 0,2 mM PMSF, 1 mM EDTA bufer natrium karbonat 50 mM yang mengandung 0,1 mM EDTA (pH 10), 0,06 ml xantin 10 mM, 0,03 ml *bovine serum albumin* (BSA) 0,5%, 0,03 ml NET 2,5 mM, xantin oksidase (0,04 unit), 200 µl glutation tereduksi (GSH), 10 mM, 200 µl enzim glutation reduktase (2,4 unit), 200 µl NADPH 1,5 mM, *trichloro acetic acid* (TCA), 0,38% *thio barbituric acid* (TBA) dan 0,5% *butylated hydroxytoluene* (BHT). Hewan uji tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) diperoleh dari PAU Universitas Gadjah Mada sebanyak 35 ekor yang berumur 6-8 minggu dengan bobot badan berkisar antara 200-250 g.

**Penentuan Dosis Pembeding.** Dosis glibenklamid dihitung dari dosis lazim yang dikonversikan ke dalam tikus. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus untuk berat badan 200 g adalah 0,018. Dosis terapi glibenklamid untuk manusia yaitu 5 mg/kg BB, sehingga dikonversi ke berat badan tikus 200 g adalah  $5 \times 0,018 = 0,00045$  g (0,45 mg/Kg BB).

**Pengujian Efek Antihiperlipidemia.** Pengujian efek antihiperlipidemia meliputi, kelompok hewan uji tikus dibagi atas 3 kelompok kontrol (normal, positif dan negatif), 1 kelompok sediaan ekstrak etanol dan 3 kelompok sediaan fraksi (etil asetat, n-heksan dan air) masing-masing perlakuan terdiri dari 5 ekor tikus. Tikus diaklimasi selama 1 minggu, kemudian tidak diberi makan, namun tetap diberi minum selama 16-18 jam sebelum perlakuan. Berat badan ditimbang dan diukur kadar glukosa darah puasa pada hari ke-1 sebagai kadar glukosa darah awal ( $T_0$ ) dengan menggunakan reagen *Glucose Oxidase Phenol Aminoantipyrine*. Streptozotosin diinjeksikan sekali secara I.P sebanyak 60 mg/kg BB, namun 15 menit sebelumnya terlebih dahulu diinjeksikan nikotinamid 150 mg/kg BB secara intraperitoneal pada hari ke-1. Setelah lima hari (hari ke-5), kadar glukosa darah dan berat badan tikus kembali diukur ( $T_1$ ). Perlakuan yang diberikan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengelompokan hewan percobaan

Kelompok	Jumlah tikus (ekor)	Perlakuan
I (Kontrol normal)	5	Larutan suspensi Na-CMC 1% (P.O)
II (Kontrol positif)	5	Tikus diinduksi STZ 60 mg/kg BB-NA 1500 mg/kg BB (I.P), diberi Glibenklamid 0,45 mg/kg BB tikus (P.O)
III (Kontrol negatif)	5	Tikus diinduksi STZ 60 mg/kg BB-NA 150 mg/kg BB (I.P), diberi Na-CMC 1% (P.O)
IV (Sediaan Uji I)	5	Tikus diinduksi STZ 60 mg/kg BB-NA 150 mg/kg BB (I.P), diberi ekstrak etanol bunga cengkeh 200 mg/kg BB (P.O)
V (Sediaan Uji II)	5	Tikus diinduksi STZ 60 mg/kg BB-NA 150 mg/kg BB (I.P), diberi fraksi etil asetat bunga cengkeh 100 mg/kg BB (P.O)
VI (Sediaan Uji III)	5	Tikus diinduksi STZ 60 mg/kg BB-NA 150 mg/kg BB (I.P), diberi fraksi n-heksan bunga cengkeh 50 mg/kg BB (P.O)
VII (Sediaan Uji IV)	5	Tikus diinduksi STZ 60 mg/kg BB-NA 150 mg/kg BB (I.P), diberi fraksi air bunga cengkeh 50 mg/kg BB (P.O)

Tikus yang mempunyai kadar glukosa darah  $\geq 126$  mg/dL yang digunakan dalam penelitian. Selanjutnya

pada kelompok I sampai VII, tikus diberikan perlakuan berupa glibenklamid, Na-CMC dan sediaan kombinasi

ekstrak etanol dan fraksi-fraksi bunga cengkeh selama 34 hari dengan durasi pemberian sekali sehari. Selanjutnya pengukuran kadar glukosa darah diukur pada hari ke-13 (T<sub>2</sub>), hari ke-20 (T<sub>3</sub>), hari ke-27 (T<sub>4</sub>) dan hari ke-34 (T<sub>5</sub>) setelah induksi STZ-NA. Setiap kali melakukan pengambilan darah, tikus terlebih dahulu dipuasakan selama 8 jam.

**Analisis Kadar Glukosa Darah Tikus.** Pengambilan darah dilakukan melalui vena retroorbital dengan pipet hematokrit. Pengukuran kadar glukosa darah dengan GOD-PAP menggunakan metode enzimatik yang umumnya menggunakan kerja enzim *glucose oxydase* atau heksokinase yang bereaksi dengan glukosa, tetapi tidak pada gula lain seperti fruktosa, galaktosa dan pada bahan pereduksi.

Prinsip kerjanya adalah glukosa dioksidasi oleh enzim glukooksidase (GOD) menghasilkan asam glukonat dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Selanjutnya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> direaksikan dengan 4-aminoantipirin dan fenol dengan bantuan enzim peroksida menghasilkan *chinonimine* yang berwarna kemerahan dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, reaksi ini dikatalisis oleh enzim peroksidase (POD). *Chinonimine* yang terbentuk ekuivalen dengan glukosa sehingga warna yang terukur pada produk *chinonimine* akan sebanding dengan kadar glukosa. Cara pengambilan darah melalui sinus orbita mata. Glukosa darah puasa yang diambil lewat mata dimasukkan ke dalam wadah lalu disentrifuge dengan kecepatan 4.000 rpm selama 15 menit, terbentuk dua lapisan serum dan sel darah merah. Lapisan serum dipipet 10 µl, dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan reagen Kit sebanyak 1.000 µl, dikocok lalu diinkubasi selama 20 menit kemudian warna yang terbentuk dibaca dengan kolorimeter pada panjang gelombang 500 nm.

**Preparasi Jaringan dan Supernatan.** Hari ke-28 setelah pengukuran kadar glukosa darah, hati tikus diambil, dibersihkan, dikeringkan, dan diproses untuk uji biokimia. Sampel dihomogenkan dalam buffer fosfat 50 nM (pH 7,4) yang mengandung inhibitor protease, 0,2 mM PMSF dan 1 mM EDTA, pada suhu 4°C selama 30 detik (2-15 detik) dengan 15 detik interval pendinginan). Homogenat disaring dan filtrat disentrifuge pada 1088 gram (pada r<sub>max</sub> 108 mm) selama 5 menit dalam kondisi dingin. Supernatan yang dihasilkan digunakan untuk pengukuran aktivitas enzim antioksidan meliputi SOD, GPx, MDA.

**Pengujian Aktivitas SOD, GPx dan Penurunan Kadar MDA.** Metode pengukuran aktivitas SOD, GPx digunakan untuk mengukur kapasitas menangkap radikal bebas.

**Pengukuran aktivitas SOD.** Aktivitas SOD dalam jaringan hati diukur dengan metode (Sun *et al.*, 1989) yang dimodifikasi. Sebanyak 0,06 ml supernatan hati direaksikan dengan campuran yang terdiri dari 2,70 ml bufer natrium karbonat 50 mM yang mengandung 0,1 mM EDTA (pH 10), 0,06 ml xantin 10 mM, 0,03 ml *bovine serum albumin* (BSA) 0,5%, dan 0,03 ml NET 2,5 mM.

Selanjutnya dilakukan penambahan xantin oksidase (0,04 unit). Absorbansi yang dihasilkan setelah 30 menit diukur pada panjang gelombang 560 nm menggunakan spektrofotometri. Sebagai kontrol digunakan larutan yang dipakai dalam preparasi sampel hati yaitu *phosphatebuffer saline* (PBS) yang mengandung 11,5 g/L KCl. Aktitivitas SOD (%) dihitung dengan menggunakan persamaan berikut :  $(1-(A/B)) \times 100\%$  dimana :

A = absorbansi larutan sampel dan B absorbansi larutan kontrol.

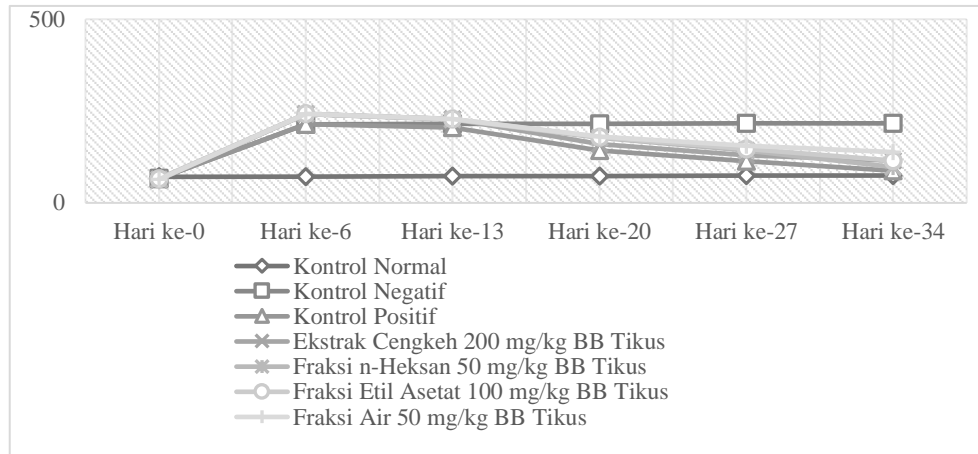
**Pengujian aktivitas GPx.** Pengukuran aktivitas GPx dilakukan menggunakan metode (Lawrence, 1976) yang dimodifikasi. Sebanyak 200 µl supernatan jernih hati ditambahkan 200 µl buffer fosfat 0,1 M pH 7,0 yang mengandung 0,1 mM EDTA, 200 µl glutation tereduksi (GSH), 10 mM dan 200 µl enzim glutation reduktase (2,4 unit). Kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C, ditambahkan 200 µl NADPH 1,5 mM dan diinkubasi lagi selama tiga menit pada suhu yang sama, dan dilanjutkan dengan penambahan 200 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1,5 mM. Absorbansi diukur diantara waktu satu sampai dua menit dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm.

**Pengukuran kadar MDA.** Kadar MDA dianalisis berdasarkan (Prangdimurti *et al.*, 2009). Sebanyak ± 1,25 g hati segar dicacah dalam kondisi dingin dalam 2,5 mL larutan PBS yang mengandung 11,5 g/L KCl. Homogenat disentrifugasi pada 4.000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 0,5 mL sampel atau standar ditambah dengan 2 mL campuran HCl 0,25 N dingin yang mengandung 15% *trichloro acetic acid* (TCA), 0,38% *thio barbituric acid* (TBA) dan 0,5% *butylated hydroxytoluene* (BHT). Campuran larutan ini dipanaskan 80°C selama 1 jam. Setelah dingin, campuran larutan dan standar disentrifugasi 3.500 rpm selama 10 menit. Absorbansi supernatan diukur pada λ 532 nm. Sebagai larutan standar digunakan 1,1,3,3-tetraetoksipropana (TEP).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Perhitungan Rata-rata Kadar Glukosa Darah Tikus

Pengukuran kadar glukosa ini digunakan sebagai pembandingan untuk melihat keberhasilan proses induksi streptozotosin pada hewan uji. Setelah itu, dilanjutkan dengan induksi STZ-NA secara intraperitoneal pada semua kelompok kecuali kelompok normal. Induksi NA diberikan 15 menit sebelum induksi STZ. Pemberian NA bertujuan untuk melindungi sel β dan menurunkan aksi toksik dari STZ, sehingga sel β pankreas tikus tidak mengalami kerusakan yang parah akibat pemberian STZ. STZ dapat merusak oksidasi glukosa, menurunkan sintesis dan sekresi insulin, serta mengganggu aktivitas transport glukosa dan glucokinase pada sel β, dilihat pada gambar 1 yang merupakan grafik pengukuran kadar glukosa darah lengkap.



**Gambar 1.** Pengaruh pemberian ekstrak etanol bunga cengkeh dan fraksi - fraksi ekstrak bunga cengkeh terhadap kadar glukosa darah tikus yang diinduksi STZ selama 28 hari

Berdasarkan grafik kadar glukosa darah, kelompok normal pada hari ke-0 hingga hari ke-34 tidak terjadi perubahan kadar glukosa darah. Dalam hal ini kadar glukosa darah tetap konstan dengan kisaran 70-130 mg/dL. Kelompok normal hanya diberikan larutan Na-CMC 1%. Berbeda dengan kontrol negatif pada hari ke-0 hingga hari ke-6 terjadi peningkatan kadar glukosa darah setelah pemberian STZ-NA dengan kisaran kadar glukosa darah 214-250 mg/dL. Hari ke-6 hingga hari ke-34 kadar glukosa darah tikus kelompok kontrol negatif tidak mengalami perubahan. Hal ini menunjukkan bahwa STZ-NA mampu meningkatkan kadar glukosa darah pada tikus secara konstan.

Pada kelompok fraksi n-heksan bunga cengkeh 50 mg/kg BB tikus, ekstrak cengkeh 200 mg/kg BB tikus, fraksi etil asetat 100 mg/kg BB tikus, dan fraksi air 50 mg/kg BB tikus memiliki efektivitas menurunkan kadar glukosa darah. Hasil uji statistik *one way anova* menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak

cengkeh bunga cengkeh 100 mg/kg BB tikus, fraksi etil asetat bunga cengkeh 100 mg/kg BB tikus dan fraksi air bunga cengkeh 50 mg/kg BB tikus yang memiliki peningkatan yang signifikan. Akan tetapi fraksi n-heksan bunga cengkeh 50 mg/kg BB tikus memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini memperlihatkan bahwa aktivitas fraksi n-heksan bunga cengkeh 50 mg/kg BB tikus mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan baik walaupun belum sebanding dengan kelompok kontrol positif.

Fraksi n-heksan bunga cengkeh 50 mg/kg BB tikus memiliki aktivitas yang paling baik dibandingkan dengan ekstrak cengkeh 200 mg/kg BB tikus, fraksi etil asetat 100 mg/kg BB tikus, dan fraksi air 50 mg/kg BB tikus. Hal ini ditunjukkan pada penelitian Hadi (2012), bahwa kemampuan dari pelarut n-heksan bersifat selektif dalam melarutkan zat, utamanya pada tanaman yang mengandung minyak menguap yang lebih besar, seperti cengkeh.

**Tabel 2.** Hasil rata-rata Kadar Glukosa Darah

Kelompok	Kadar glukosa (mg/dl)± SD						% Penurunan
	Hari ke-0 (T0)	Hari ke-6 (T1)	Hari ke-13 (T2)	Hari ke-20 (T3)	Hari ke-27 (T4)	Hari ke-34 (T5)	
Kontrol normal	70,91±3,93	71,53±3,48	72,37±3,43 <sup>a</sup>	73,15±3,33 <sup>a</sup>	73,76±2,85 <sup>a</sup>	74,44±2,58 <sup>a</sup>	-4,07
Kontrol negatif	66,45±2,68	214,23±5,64	214,89±5,56 <sup>c</sup>	215,67±4,91 <sup>e</sup>	216,10±4,91 <sup>g</sup>	216,53±4,71 <sup>f</sup>	-1,07
Kontrol positif	65,54±5,25	214,31±4,12	204,50±3,69 <sup>b</sup>	143,15±2,49 <sup>b</sup>	112,98±1,98 <sup>b</sup>	87,34±1,77 <sup>b</sup>	59,24
Ekstrak etanol	62,72±1,93	241,59±5,84	228,09±5,94 <sup>d</sup>	159,84±5,30 <sup>c</sup>	129,71±4,52 <sup>c</sup>	115,56±2,12 <sup>d</sup>	52,17
Fraksi n-heksan	64,38±1,61	242,26±2,91	227,39±4,27 <sup>d</sup>	177,11±3,25 <sup>d</sup>	142,29±2,05 <sup>d</sup>	97,93 ± 2,47 <sup>c</sup>	59,57
Fraksi etil asetat	65,96±2,68	242,51±5,24	228,64±3,91 <sup>d</sup>	178,31±3,98 <sup>d</sup>	147,27±2,16 <sup>e</sup>	115,71±3,15 <sup>d</sup>	52,28
Fraksi air	63,77±2,83	242,26±3,65	228,09±5,94 <sup>d</sup>	180,96±3,06 <sup>d</sup>	155,76±1,64 <sup>f</sup>	137,93±1,85 <sup>e</sup>	43,06

\*Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada satu kolom yang sama menunjukkan hasil uji yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).

Ditinjau dari hasil persentase penurunan kadar glukosa darah dari seluruh perlakuan memberikan aktivitas antihiperqlikemik, berdasarkan data yang diperoleh semua kelompok terapi dapat menurunkan kadar glukosa darah yaitu pada kontrol positif (glibenklamid dosis 0,45 mg/kg BB), kemudian diikuti fraksi n-heksan bunga cengkeh 50 mg/kg BB tikus, fraksi etil asetat bunga cengkeh 100 mg/kg BB tikus, ekstrak etanol bunga cengkeh 200 mg/kg BB tikus dan fraksi air

bunga cengkeh 50 mg/kg BB tikus. Hal ini membuktikan semua kelompok terapi mampu memberikan aktivitas dalam menekan peningkatan kadar glukosa darah pada hewan uji yang diinduksi streptozotosin-nikotinamid dibandingkan kelompok yang hanya diterapi Na-CMC (kontrol negatif).

Dalam penelitian ini diperoleh hasil penurunan kadar glukosa darah akibat terapi ekstrak etanol bunga cengkeh diduga melalui dua mekanisme utama, yaitu

secara intra pankreatik dan ekstra pankreatik. Penurunan kadar glukosa darah yang diperoleh tidak hanya terkait dengan adanya efek dari senyawa flavonoid dalam ekstrak dan fraksi-fraksi, namun senyawa-senyawa lain juga diduga berperan dalam memberikan aktivitas antidiabetes (Palaniswamy *et al.*, 2003).

## Hasil Pengukuran Aktivitas Enzim SOD, GPx, dan MDA

Kemampuan ekstrak etanol bunga cengkeh dan fraksi-fraksi bunga cengkeh dalam meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dapat dievaluasi dengan mengukur peningkatan kadar enzim SOD dan GPx serta penurunan kadar MDA pada homogenat hati tikus yang telah diberi perlakuan selama 28 hari. Hasil pengukuran kadar SOD, GPx, dan MDA dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil rata-rata aktivitas SOD, GPx dan MDA

Kelompok	Hasil rata-rata aktivitas SOD, GPx dan MDA $\pm$ SD			
	N	SOD (%)	GPx (U/mg)	MDA (nmol/g)
Kontrol Normal	5	85,71 $\pm$ 3,99 <sup>e</sup>	71,00 $\pm$ 1,22 <sup>e</sup>	1,31 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>
Kontrol Negatif	5	20,39 $\pm$ 3,70 <sup>a</sup>	17,75 $\pm$ 1,22 <sup>a</sup>	9,10 $\pm$ 0,60 <sup>d</sup>
Kontrol Positif	5	75,00 $\pm$ 2,82 <sup>d</sup>	68,84 $\pm$ 2,00 <sup>e</sup>	1,47 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>
Ekstrak Cengkeh 200 mg/kg BB Tikus	5	52,28 $\pm$ 3,37 <sup>c</sup>	64,82 $\pm$ 2,44 <sup>c</sup>	2,91 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>
Fraksi n-Heksan 50 mg/kg BB Tikus	5	70,18 $\pm$ 5,55 <sup>d</sup>	70,53 $\pm$ 1,60 <sup>e</sup>	1,35 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>
Fraksi Etil Asetat 100 mg/kg BB Tikus	5	50,18 $\pm$ 4,74 <sup>c</sup>	66,68 $\pm$ 1,86 <sup>d</sup>	2,90 $\pm$ 0,23 <sup>b</sup>
Fraksi Air 50 mg/kg BB Tikus	5	36,14 $\pm$ 3,64 <sup>b</sup>	39,20 $\pm$ 2,46 <sup>b</sup>	5,01 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>

\*Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada satu kolom yang sama menunjukkan hasil uji yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).

Nilai SOD, GPx yang tinggi dan nilai MDA yang rendah menunjukkan bahwa tikus berada dalam kondisi yang normal. Dari tabel di atas terlihat bahwa kelompok kontrol normal adalah tikus yang sehat. Nilai SOD (%) menyatakan jumlah anion superoksida yang berhasil dihambat atau diuraikan, nilai GPx (U/mg) menyatakan jumlah enzim yang dibutuhkan untuk mengkatalisis oksidasi dari 1 nmol NADPH per menit dalam satu mg protein dan nilai MDA (nmol/g) menyatakan indeks pengukuran tidak langsung aktivitas radikal bebas dalam tubuh atau sebagai penanda kerusakan oksidatif (Kamlasi, 2015). Pada penelitian ini digunakan streptozotisin sebagai agen radikal bebas yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada pankreas tikus melalui mekanisme aksi senyawa-senyawa yang lebih dari satu macam.

Keadaan hiperglikemik akan menyebabkan terjadinya pembentukan radikal bebas yang lebih tinggi. Pada kelompok kontrol negatif terjadi penurunan kadar SOD, GPx, dan peningkatan kadar MDA. Tingginya kadar MDA pada status enzim antioksidan yang rendah, sehingga tidak dapat mencegah reaktivitas senyawa radikal bebas. Reaktivitas tersebut ditandai dengan terjadinya reaksi peroksidasi lipid dengan terbentuk lebih banyak malondialdehida (MDA) (Suarsana *et al.*, 2011).

Hasil pengukuran rata-rata kadar SOD dan GPx pada kelompok kontrol positif, kontrol normal, ekstrak etanol dan fraksi-fraksi bunga cengkeh mengalami peningkatan dibandingkan dengan rata-rata kadar kelompok kontrol negatif. Peningkatan kadar SOD dan GPx sebagai enzim antioksidan alami ini juga diperkuat dengan penurunan kadar MDA masing-masing kelompok terapi. Peningkatan kadar SOD, GPx dan penurunan kadar MDA membuktikan bahwa bunga cengkeh bertindak sebagai antioksidan, walaupun aktivitasnya belum mendekati nilai normal pada kelompok kontrol normal.

Peningkatan enzim antioksidan dapat mempengaruhi penurunan kadar glukosa darah, melalui regenerasi sel beta pankreas.

## KESIMPULAN

Bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mempunyai aktivitas menurunkan kadar glukosa darah, dengan aktivitas anti-hiperglikemik yang paling baik yaitu fraksi n-heksan bunga cengkeh dosis 50 mg/kg BB pada tikus yang diinduksi STZ-Na dengan penurunan kadar glukosa darah 59,57%. Ekstrak etanol dan fraksi-fraksi bunga cengkeh mampu meningkatkan aktivitas enzim antioksidan SOD, GPx dan menurunkan kadar MDA.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bhowmik, D., Kumar, S., Yadaf, A., Srivastava, S., Paswan, S., & Sankar, A. (2012). Recent trends in Indian traditional herbs *Syzygium aromaticum* and its health benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(1), 13-22.
- Francisco, D., Cortés-Rojas, Souza, C.R.F., Oliveira, W.F. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(2), 90-96.
- Hadi, S. (2012). Pengambilan minyak atsiri bunga cengkeh (*Clove Oil*) menggunakan pelarut n-heksan dan benzena. *Jurnal bahan alam terbarukan*, 1(2), 26-29.
- Kamlasi, J.E.Y. (2015). *Uji aktivitas antihyperglikemik, penghambatan stres oksidatif dan proteksi pankreas ekstrak etanol biji jinten hitam (Nigella*

- sativa* L.) pada tikus yang diinduksi aloksan. Tesis. Fakultas Farmasi. Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Lawrence, B. (1976). Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun*, 71(4), 952-958.
- Pan, H-Z., Zhang, L., Guo, M.Y., Sui, H., Li, H., Wu, W.H., Qu, N.Q., Liang, M.H., & Chang, D. (2010). The oxidative stress status in diabetes mellitus and diabetic nephropathy. *Harbin.*, 1016(47), 71-76.
- Palaniswamy, U.R., Caporuscio, C., & Stuart, J.D. (2003). A chemical analysis of antioxidant vitamins in fresh curry leaf (*Murraya koenigii*) by reversed phase HPLC with UV detection. *Acta Horti*, 620, 475-478.
- Prangdimurti, E., Muchtadi, D., Astawan, M., & Zakaria, F.R. 2005. Aktivitas antioksidan ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia* N.E. Brown). *Jurnal teknol dan Industri Pangan*, 17(2), 79-86.
- Robertson, R.P. (2004). Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet Beta cells in diabetes. *The Journal Of Biological Chemistry*, 279(41), 42351-42354.
- Suarsana, N., Priosoeryanto, B.P., Bintang, M., & Wresdiyati, T. (2011). Profil glukosa darah dan ultrastruktur sel Beta pankreas tikus yang diinduksi senyawa aloksan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 15(2), 118-123.
- Sun, L., Peterson T.E., McCormick, M.L., Oberley, L.W., & Osborne, J.W. (1989). Improved superoxide dismutase assay for clinical use. *Clin Chem.*, 35, 1265-1266.