

ARTIKEL PENELITIAN

Katekin Daun Gambir (*Uncaria gambir roxb*) dapat Menurunkan Kadar MDA Serum Mencit Model Penuaan di Induksi oleh D-Galaktosa namun Meningkatkan Ekspresi Relatif SOD2 di Hipokampus

Evirosa Simanjuntak^{1*}, Zulham², Lita Feryawati³

^{1*} Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Universitas Sumatera Utara, Medan, Jl. Dr. Mansyur No 05, Padang Bulan, Medan, Indonesia

² Departemen Histologi, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia, Jl. Dr. Mansyur No 05, Padang Bulan, Medan, Indonesia

³ Departemen Anatomi, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia, Jl. Dr. Mansyur No 05, Padang Bulan, Medan, Indonesia

Email korespondensi : evirosadr@yahoo.com

Abstrak : Penuaan merupakan proses akumulasi radikal bebas hasil metabolisme normal yang mengakibatkan kerusakan sel. Pertambahan usia mutasi sel dan menimbulkan penyakit degeneratif. Malondialdehid (MDA) terbentuk sebagai hasil per-oksidasi lipid dan merupakan penanda radikal bebas di tubuh. Antioksidan mencegah penuaan dengan menghambat oksidasi molekul dan kerusakan membran sel. Superoksida dismutase (SOD) merupakan antioksidan penting terhadap stres oksidatif. SOD mengkatalisis pelepasan radikal bebas O₂⁻ menjadi O₂ dan H₂O₂. Tingkat SOD alami dalam tubuh menurun seiring bertambahnya usia. Katekin daun gambir bersifat antioksidan dan mungkin dapat melindungi membran sel dari radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh katekin daun gambir terhadap kadar MDA serum dan ekspresi SOD2 hipokampus mencit betina model penuaan diinduksi d-galaktosa. Jenis penelitian adalah eksperimental *in vivo* dengan desain *post-test only with control group*. Jumlah sampel penelitian ini adalah 18 ekor mencit betina, dibagi menjadi 4 kelompok yaitu P0, P1, P2, dan P3. Setiap kelompok diinjeksi 150 mg/kgBB d-galaktosa secara intra-peritoneal. hipokampus. Masing-masing kelompok P1, P2, dan P3 diberi katekin daun gambir secara oral dengan dosis 100, 200, dan 400 mg/kgBB. Kadar MDA serum menurun signifikan pada kelompok P2 (p=0,014) dan kelompok P3 (p=0,016). Katekin daun gambir dosis 100, 200 dan 400 mg/kgBB menurunkan ekspresi SOD2. Dapat disimpulkan bahwa pemberian katekin daun gambir menurunkan kadar MDA serum mencit model penuaan diinduksi oleh d-galaktosa dengan dosis optimal 200mg/kgBB namun tidak dapat menaikkan ekspresi relatif SOD2 di hipokampus.

Kata Kunci : Penuaan, hipokampus, malondialdehid, SOD2, katekin

PENDAHULUAN

Saat ini penduduk dunia yang termasuk lansia jumlahnya terus meningkat. Jumlah penduduk yang berusia 60 tahun ke atas diduga mengalami peningkatan dari 12% pada tahun 2015 menjadi 22% pada tahun 2050.¹

Peningkatan jumlah lansia dapat berdampak positif dan negatif. Berdampak positif, apabila penduduk usia lanjut berada dalam keadaan sehat, aktif, dan produktif, berdampak negatif jika lansia memiliki masalah kesehatan, penghasilan, disabilitas, dan tidak adanya dukungan sosial dan lingkungan.² Penuaan merupakan proses alamiah yang erat kaitannya dengan berbagai proses degeneratif,³ terutama pada sistem kardio-pulmonar, saraf, endokrin, imunitas dan motorik.⁴ Pada penuaan terjadi kerusakan protein jaringan, atrofi jaringan, berkurangnya cairan tubuh, dan metabolisme kalsium abnormal.⁴ Salah satu masalah proses degeneratif pada penuaan adalah penurunan fungsi kognitif. Gangguan kognitif ini berpengaruh pada daya ingat, emosi, perilaku dan aktivitas sehari-hari. Perubahan struktur otak, penurunan neurogenesis, stres oksidatif, disfungsi mitokondria, penurunan kadar neurotransmitter dan kelebihan produksi beta amiloid menjadi dasar penuaan otak dan gangguan neurologis terkait usia.⁵

Kerusakan membran sel dapat dicegah dengan pemberian antioksidan. Antioksidan berperan mencegah penuaan dengan cara menghambat oksidasi molekul.³ Oksidasi merupakan reaksi kimia yang memindahkan elektron dari satu substansi ke agen oksidan. Sebagai

pertahanan terhadap kerusakan oksidatif, sel dilengkapi dengan antioksidan yang bekerja melalui beragam mekanisme.³

Enzim *superoxide dismutase* (SOD) dapat bertindak sebagai antioksidan endogen pada penuaan yang diperantarai oleh ROS⁶ dengan cara mengatur kadar ROS.⁷ Enzim ini mengkatalisis anion superoksida (O_2^-) menjadi oksigen (O_2) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) dan menurunkan level O_2^- yang merusak sel pada konsentrasi berlebihan. Reaksi ini disertai dengan oksidasi-reduksi pada ion logam di situs aktif SOD.⁶ Penurunan aktivitas SOD seiring bertambahnya usia mengakibatkan seseorang menjadi lebih rentan terhadap penyakit terkait stres oksidatif.⁶

Jika terjadi peningkatan radikal bebas dalam tubuh, antioksidan eksogen (berasal dari bahan pangan yang dikonsumsi) dibutuhkan dalam jumlah yang lebih banyak untuk menghilangkan dan menetralkan efek radikal bebas.⁸ Terdapat beberapa jenis antioksidan yaitu vitamin, mikronutrien (zinc dan selenium), karotenoid dan flavonoid.³ Flavonoid merupakan senyawa fenol dan termasuk salah satu metabolit sekunder pada tumbuhan yang berfungsi sebagai antioksidan.⁹

Secara epidemiologi dan farmakologi, katekin mempunyai pengaruh antioksidan yang kuat (10).¹⁰ Katekin merupakan senyawa golongan tanin *oligomeric procyanidin*, berefek farmakologis mirip dengan flavonoid, dan berguna sebagai antioksidan.¹¹

Gambir adalah rempah yang biasa dikonsumsi bersamaan dengan daun sirih.

Daun tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb) mengandung senyawa polifenol yaitu.¹² Katekin memiliki khasiat antioksidan yang tinggi.¹³ Kandungan katekin gambir bervariasi dari 35%-51%.¹⁴ Peran ekstrak daun gambir dalam mempengaruhi ekspresi SOD2 pada hipokampus mencit proses penuaan yang diinduksi oleh D-galaktosa perlu untuk diteliti.

METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Sumatera Utara (FK USU) untuk pemeliharaan mencit model penuaan dan perlakuan terhadap hewan model. Penelitian dilanjutkan di laboratorium terpadu FK USU untuk pemeriksaan ekspresi SOD2 hipokampus. Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Mei 2019 dan dilaksanakan selama 6 minggu.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental *in vivo* dengan desain penelitian *post test -only control group*.¹⁴

Populasi penelitian adalah mencit betina yang berumur 10-12 minggu dan berat badan 20-35 g. Penetapan besar sampel menggunakan rumus Federer (1966), ditetapkan jumlah mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah 28 ekor mencit yang dibagi ke dalam 4 kelompok, yaitu:

P0 adalah kelompok kontrol;

P1 adalah kelompok mencit yang diberikan katekin 100 mg/kgBB;

P2 adalah kelompok mencit yang diberikan katekin 200 mg/kgBB;

P3 adalah kelompok mencit yang diberikan katekin 400 mg/kgBB.

Kriteria inklusi yang digunakan dalam penelitian ini adalah dalam keadaan tidak atau belum pernah hamil, berasal dari tempat pembiakan yang sama, dipelihara pada tempat dan waktu yang sama, belum pernah digunakan sebagai bahan penelitian. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah semua mencit betina yang tampak sakit selama proses pemeliharaan ditentukan dengan gerak terbatas, bulu terlihat kusam atau terdapat luka/bekas gigitan.

Kadar katekin diukur dengan menggunakan timbangan gelas ukur. =. Ekspresi SOD2 diperiksa dengan menggunakan metode Real Time PCR Ekspresi β aktin. Persetujuan etik untuk prosedur penelitian dan penanganan hewan model didapat dari Komite Etik Penelitian FMIPA USU Medan.

HASIL

Pengaruh Pemberian Katekin Daun gambir Terhadap Ekspresi Relatif SOD2 Hipokampus Mencit

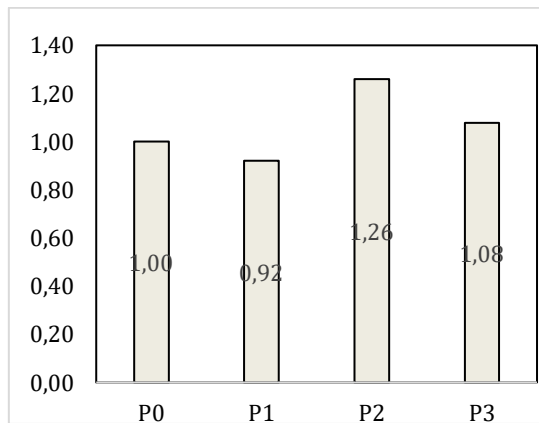
Tabel 1. Nilai rerata, standar deviasi serta perbedaan Δ Ct Sod2

Kelompok	$\bar{X} \pm SD$	
	Δ Ct SOD2	Nilai P
P0	6,81 \pm 0,94	0,517
P1	6,92 \pm 6,22	
P2	6,47 \pm 0,81	
P3	6,70 \pm 2,35	

*Signifikan dengan nilai $P < 0,05$

Data disajikan dalam *mean* + SD. Uji One Way Anova menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok sebagaimana nilai *P* yang dianggap bermakna adalah bila $P < 0,05$. P0 adalah kelompok kontrol; P1 adalah kelompok mencit yang diberikan

katekin 100 mg/kgBB; P2 adalah kelompok mencit yang diberikan katekin 200 mg/kgBB; P3 adalah kelompok mencit yang diberikan katekin 400 mg/kgBB.



Gambar 1. Ekspresi relatif SOD2 pada hipokampus mencit betina model penuaan.

Ekspresi relatif SOD2 pada kelompok P1 lebih rendah sedikit dibandingkan kelompok P0. Hasil ekspresi di P2 lebih tinggi dibandingkan kelompok P0 dan P1. Sedangkan hasil ekspresi P3 lebih rendah daripada P2 tetapi masih lebih tinggi dibandingkan kelompok P0. Hal ini secara tidak langsung menunjukkan bahwa pemberian katekin dosis 100 mg/kgbb, 200 mg/kgbb dan 400 mg/kgbb mampu meningkatkan ekspresi relatif SOD2.

DISKUSI

SOD2 terletak dalam matriks mitokondria untuk mengkatalisis pemutusan O_2^- menjadi H_2O dan O_2 . Selanjutnya H_2O_2 dimetabolisme dalam peroksisom oleh katalase (CAT) atau oleh glutation peroksidase (GPX), peroksiredoksin (PRDX) dan thioeredoksin (TXN), isoform dalam mitokondria dan sitosol. Kemudian O_2 dan H_2O_2 bereaksi

untuk membentuk oksidan lain seperti peroksinitrit ($ONOO^-$) atau radikal hidroksil (OH^-) (15,16). Teori radikal bebas pada mitokondria menunjukkan bahwa akumulasi stres oksidatif yang disebabkan oleh ROS merupakan faktor utama terjadinya penuaan.¹⁷

Katekin merupakan antioksidan yang berperan melalui mekanisme langsung dan tidak langsung. Mekanisme langsung yaitu dengan menangkap ROS dan ion logam (Fe). Mekanisme tidak langsung bekerja dengan menginduksi enzim antioksidan seperti Sod dan CAT, menghambat enzim prooksidan yaitu NADPH oksidase, lipoxygenase, santin oksidase, dan memproduksi enzim detoksifikasi dan enzim antioksidan.¹⁸ Katekin memiliki aktivitas antioksidan karena memiliki dua gugus fenol dan satu gugus dihidropin (cincin C).¹⁹ Dalam penelitian ini, pemberian katekin diharapkan dapat berperan sebagai antioksidan eksogen yang mengatasi peningkatan ROS akibat pemberian d-galaktosa.

Ekspresi relatif SOD2 pada kelompok P1, P2 dan P3 lebih rendah dibandingkan kelompok P0. Penurunan ekspresi gen SOD2 ini secara tidak langsung menunjukkan efek pemberian katekin kepada penurunan aktivitas antioksidan endogen.

Penurunan ekspresi SOD2 pada kelompok P1 menandakan bahwa efek katekin daun gambir pada dosis 100 mg/kgbb selama 6 minggu tidak efektif untuk meningkatkan ekspresi Sod2. Pada kelompok P2, dengan dosis katekin daun gambir 200 mg/kg BB juga menurun dibandingkan kelompok P0 dan P1. Pada

kelompok P3, dengan dosis katekin daun gambir 400 mg/kgbb selama 6 minggu ekspresi SOD2 justru semakin menurun drastis.

Hal ini menunjukkan bahwa pemberian katekin tidak memicu peningkatan ekspresi gen antioksidan endogen SOD2. Penurunan ekspresi SOD2 pada kelompok P3 berbanding dengan kelompok P2 juga sesuai dengan kadar MDA serum yang sedikit meningkat pada kelompok P3 berbanding dengan kelompok P2. Fenomena ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis katekin pada kelompok P3 tidak mampu menghambat stres oksidatif yang terjadi sehingga kadar MDA serum kelompok P3 lebih tinggi berbanding dengan kelompok P2.

Terjadinya aktivasi SOD bergantung kepada aktivasi sirtuin (Sirt).²⁰ Pada penelitian ini ekspresi SOD2 tidak mengalami peningkatan pada semua kelompok perlakuan. Salminen, Kaarniranta, dan Kauppinen menyatakan bahwa peningkatan ROS dapat menghambat Sirt. Dengan demikian, apabila Sirt 1 terhambat maka aktivasi SOD akan berkurang.²¹

Pada pemberian katekin melalui sonde menyebabkan katekin dimetabolisme menjadi konjugat glukuronida katekin dan 3'-O-metil katekin (3'OMC). Di dalam plasma vena mesenterika tidak dijumpai adanya katekin sehingga menunjukkan bahwa katekin oral telah dimetabolisme dan diserap dalam bentuk bukan katekin.²² Belum ada penelitian tentang keberadaan 3'OMC dalam parenkim otak sehingga diduga bahwa 3'OMC dan metabolit katekin lainnya tidak mampu menembus

sawar darah otak dan tidak mampu menginduksi peningkatan ekspresi SOD2 di hipokampus.²³

KESIMPULAN

Pemberian katekin daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb) 100 mg/kgbb, 200 mg/kgbb, dan 400 mg/kgbb selama 6 minggu menurunkan ekspresi SOD2 pada hipokampus mencit model penuaan diinduksi oleh d-galaktosa. Pemberian katekin daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb) 400 mg/kgbb selama 6 minggu menurunkan ekspresi SOD2 pada hipokampus mencit model penuaan diinduksi oleh d-galaktosa secara drastis. Semakin tinggi dosis katekin yang diberikan semakin menurunkan ekspresi relatif SOD2 pada hipokampus mencit betina model penuaan diinduksi oleh d-galaktosa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam jurnal ini, saya mengucapkan terima kasih kepada Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara dan kepada Pimpinan Fakultas Kedokteran Universitas Methodist Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Suwarni A, Murtutik L. Efektifitas Senam Rematik Terhadap Kemampuan Berjalan Dengan Nyeri Sendi Untuk Mencapai Hidup Yang Sehat Dan Sejahtera Pada Lanjut Usia. *J Ilmu Keperawatan*. 2017;10(1):1–12.
2. Pusat Data dan Informasi KKRI. Analisis Lansia di Indonesia. Kementrian Kesehatan RI. 2017.

3. Ardhie AM. Radikal Bebas dan Peran Antioksidan dalam Mencegah Penuaan. *Medicinus*. 2011;24(1):4–9.
4. Rahmawati. Perbedaan Kadar Seng (Zn) Rambut Berdasarkan Derajat Stunting pada Anak Usia 6 - 9 Tahun. *J Nutr Coll*. 2012;1(1):365–72.
5. Sadigh-Eteghad S, Majdi A, McCann SK, Mahmoudi J, Vafae MS, Macleod MR. D-galactose-induced brain ageing model: A systematic review and meta-analysis on cognitive outcomes and oxidative stress indices. *PLoS One*. 2017;12(8):1–13.
6. Younus H. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2018;12(3):88–93.
7. Landis GN, Tower J. Corrigendum to “Superoxide dismutase evolution and life span regulation.” *Mech Ageing Dev*. 2005;126(8):907–8.
8. Astuti. Isoflavon Kedelai dan Potensinya sebagai Penangkap Radikal Bebas. *J Teknol Ind dan Has Pertan*. 2012;13.
9. Zuraida Z, Sulistiyani S, Sajuthi D, Suparto IH. Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R.Br). *J Penelit Has Hutan*. 2017;35:211–9.
10. Roedig-Penman A, Gordon MH. Antioxidant Properties of Catechins and Green Tea Extracts in Model Food Emulsions. *J Agric Food Chem*. 1997;45:4267–70.
11. Kristina N. Keragaman morfologi dan kadar katekin tanaman gambir berdaun merah yang tersebar pada berbagai ketinggian tempat di Sumatera Barat. In 2016.
12. Aditya M, Ariyanti PR. Manfaat Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) sebagai Antioksidan. *Majority*. 2016;5(3):129–33.
13. Anjarsari IRD. Katekin teh Indonesia: prospek dan manfaatnya. *J Kultiv*. 2016 Aug;15(2):99–106.
14. Budiarto. *Biostatistika untuk kedokteran dan kesehatan masyarakat*. EGC; 2001.
15. Kim YS, Vallur PG, Phaëton R, Mythreye K, Hempel N. Insights into the dichotomous regulation of SOD2 in cancer. Vol. 6, *Antioxidants*. MDPI AG; 2017.
16. Krueger K, Shen J, Maier A, Tepel M, Scholze A. Lower Superoxide Dismutase 2 (SOD2) Protein Content in Mononuclear Cells Is Associated with Better Survival in Patients with Hemodialysis Therapy. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016.
17. Zhao C, Sakaguchi T, Fujita K, Ito H, Nishida N, Nagatomo A, et al. Pomegranate-Derived Polyphenols Reduce Reactive Oxygen Species Production via SIRT3-Mediated SOD2 Activation. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;
18. Bernatoniene J, Kopustinskiene DM. The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. *Molecules*. 2018;23(4):1–11.
19. Towaha J. Kandungan Senyawa Kimia pada Daun Teh. Vol. 19, *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri dan Pengembangan Tanaman Industri*. 2013. p. 12–6.

20. Singh CK, Chhabra G, Ndiaye MA, Garcia-peterson LM, Mack NJ, Ahmad N. The Role of Sirtuins in Antioxidant and Redox Signaling. *Therapeutic*. 2018;28(8):643–61.
21. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Crosstalk between Oxidative Stress and SIRT1: Impact on the Aging Process. 2013;3834–59.
22. Donovan JL, Crespy V, Manach C, Morand C, Besson C, Scalbert A, et al. Catechin Is Metabolized by Both the Small Intestine and Liver of Rats. *Am Soc Nutr Sci*. 2001;(January):1753–7.
23. Oservational study. *BMC pediatrics*. 2014;14(1):243.