

EFEK EKSTRAK DAUN GAMBIR (*UncariaGambirRoxb*)
TERHADAP TINGKAT STRESS OKSIDATIF DAN EKSPRESI
Brain Derived Neurothropic Factor (BDNF)
PADA HIPOKAMPUS MENCIT BETINA
MODEL PENUAANYANG DIINDUKSI
D-GALAKTOSA

Julenda Irianti Sebayang,¹ Mutiara Indah Sari,²
Muhammad Ichwan³

MAGISTER PROGRAM BIOMEDIK, FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA
Jl. DOKTER MANSYUR NO. 5, PADANG BULAN, MEDAN
SUMATERA UTARA
e-mail : julendasby_kampus@yahoo.com

DOI : <https://doi.org/10.35451/jfm.v3i1.475>

Abstract

Prevalence of premature aging that causes in decreased memory throughout the world of individuals aged 60 years and over is estimated at 5-7%. According to WHO this is caused by progressive dysfunction and neuronal cell death and is related to free radical formation. This study was design to evaluate the effect of gambir leaf extract (*uncariaGambirRoxb*) on MDA and expression BDNF in the hippocampus of aging female mice that are induced in D-Galactose. In this study that method is used a post test only control group, the researcher design with 4 groups being treated (group1 : inject D-Galactose 150 mg/kgbb/ip and sondeaquabidest 0,1%, group 2 : sondecathechins 100 mg and inject D-Galactose 150mg/kgbb, group 3 ; sondecathechins 200 mg and inject D-Galactose 150 mg/kgbb, group 4 : sondecathechine 400 mg and inject D-Galactose150 mg/kgbb) with the inclusion criteria : all female mice (*MusMusculus L*) were 10-12 weeks old and had not been studied.

MDA is examined through blood serum with spektrofotometer.

Isolation RNA with Kit Tiangen Kat DP419 and BDNF expression from the hippocampus by RT PCR

Increased level of MDA showed increased stress oksidatif. In the mean weight gain at the beginning and end of the study, there were significant differences between the control group and the treatment group ($p=0,0111$). P value were not significant ($p=0,8948$) at Malondialdehyde (MDA) level for the control and treatment groups, and found p value is significant in Brain Derived Neurothropic Factor (BDNF) expression ($p=0,0490$).

The dose of 200 mg/kgbb is determine as the most effective dose of gambier beverage to improve the memory of female mice.

Keywords : Cathechins, Stress oksidatif, BDNF, D-Galactose

1. PENDAHULUAN

LATAR BELAKANG

Kemajuan dalam bidang pengobatan dan pelayanan Kesehatan berkontribusi untuk meningkatkan kualitas hidup pada populasi penduduk. Jumlah penduduk lanjut usia juga meningkat termasuk di Indonesia. Persentase penduduk lanjut usia di Indonesia (> 60 tahun) pada tahun 2018 adalah 9,27%. Jumlah ini diperkirakan 20% dari populasi penduduk pada tahun 2025 (Silvi Iyana M, et al. 2018). Meningkatnya jumlah lanjut usia menyebabkan timbulnya penyakit yang berkaitan dengan penuaan seperti masalah gangguan jantung dan gangguan kognitif (Leritz E. C, et al. 2011), Prevalensi penuaan dini yang mengakibatkan penurunan daya ingat di seluruh dunia terhadap individu yang berumur 60 tahun ke atas diperkirakan 5-7%. Menurut WHO hal ini disebabkan oleh disfungsi yang progresif dan kematian sel sel neuron dan berhubungan pembentukan radikal bebas (Alves J et al., 2013).

Menurut teori penuaan radikal bebas, akumulasi radikal bebas di dalam sel menyebabkan penuaan dan kerusakan sel (Hekimi S, et al, 2014). Flavonoid adalah bahan alami yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (N P, D DA, R C.S, 2016). Konsumsi makanan kaya flavonoid seperti herbal, buah-buahan, dan sayur-sayuran sangat disarankan untuk menghambat proses penuaan (Spencer JPE, 2016). Asupan makanan yang mengandung flavonoid berkorelasi dengan kinerja kognitif lanjut usia yang lebih baik (Kent K, et al. 2016). Bukan hanya sebagai antioksidan dan dalam menghambat radikal bebas tetapi juga mengganggu jalur sel

dan molekuler dalam perlindungan saraf.

Flavonoid

dapat meningkatkan plastisitas saraf dan proses lain dalam fungsi kognitif melalui modulasi ekspresi gen atau fosforilasi protein (Ayaz M, et al, 2019). Modulasi ini disebabkan oleh disfungsi progresif dan kematian sel saraf dan sel terkait yang berhubungan dengan pembentukan radikal bebas (Alves J, et al, 2013).

Penuaan fisiologis atau bahkan akibat stress oksidatif mengakibatkan gangguan respon seluler di hipokampus, yang ditandai dengan penurunan viabilitas, peningkatan mortalitas dan pemendekan aksos neuron (Rosenzweig ES, et al, 2003).

MDA sebagai penanda stress oksidatif merupakan senyawa aldehid dan produk akhir dari lipid peroksidasi dalam tubuh yang dihasilkan dari radikal bebas dan merupakan produk sampingan dari biosintesis prostaglandin dan produk akhir dari membran lipid oksidasi (Rahman T, et al, 2012). Sehingga MDA dapat digunakan sebagai indeks pengukuran aktivitas stress oksidatif (Ayala A, et al, 2014). Dalam proses penuaan, ekspresi BDNF berubah, sehingga terjadi penurunan regulasi BDNF, yang mengindikasikan penurunan tingkat ekspresi BDNF di otak dan darah. Rendahnya kadar BDNF dapat menyebabkan penurunan konduktivitas saraf (Lima Giacobbo B, et al, 2018).

Penelitian tentang penggunaan sumber antioksidan alami, dapat menghambat efek penuaan dan penyakit degeneratif (rahmawati N, et al, 2011). Salah satunya ekstrak daun gambir yang mengandung katekin sebagai komponen utama dan beberapa komponen lainnya (Farmasi J, 2006).

1. METODE

Penelitian ini menggunakan metode post test only control group.

Dibagi menjadi 4 kelompok (mencit betina : kelompok kontrol : injeksi D-Galaktosa 150 mg/kgbb/ip dan sonde aquabidest 0,1%, kelompok 1 (K1) : sonde katekin 100 mg dan injeksi D-Galaktosa 150 mg/kgbb, kelompok 2 (K2) sonde katekin 200 mg dan injeksi D-Galaktosa 150 mg/kgbb, kelompok 3 (K4) : sonde katekin 400 mg dan injeksi D-Galaktosa 150 mg/kgbb).

Sampel dalam penelitian ini menggunakan kriteria inklusi semua mencit betina (mus musculus L), usia 10-12 minggu dan belum pernah dipelajari.

Penelitian ini disetujui oleh Komite Etik MIPA Universitas Sumatera Utara.

- Pengukuran MDA
Pengukuran MDA diambil dari sampel darah mencit betina dengan menggunakan SPEKTOFOTOMETRI dan Malondialdehyde (MDA) Assay Kit (TBA method).
- Isolasi RNA
Menggunakan Kit Tiangen Cat DP419
- Pengukuran Ekspresi BDNF
Ekspresi BDNF pada hipokampus penuaan mencit betina diukur menggunakan RT PCR dengan Kit RT PCR one step (QIAGEN)
- Statistik Analisis
Mean, Standard Deviasi (SD), presentasi ditabulasikan. Ditabulasikan dengan parametrik test dan data di tes untuk normaliti dan homogen menggunakan ANOVA Test (p-value 0,05) sedangkan hipotesis menggunakan Post-Hoc Test untuk uji statistik 5% (

p-value = 0,05) jika p 0,05 berarti signifikan. Data tidak terdistribusi normal menggunakan test non parametrik multivariate tes Kruskall Walls.

2. HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik sampel

Penelitian ini menggunakan 24 mencit betina dengan umur 10-12 minggu, dan di bagi dalam 4 kelompok :

Control (C) : mencit betina di injeksi D-Galaktosa dengan dosis 150 mg/kgbb, sonde aquabidest 0,1%, makanan

Kelompok 1 (K1) :

Mencit betina diinjeksi D-Galaktosa dengan dosis 150 mg/kgbb, sonde ekstrak daun gambir 100 mg/kgbb, makanan

Kelompok 2 (K2) :

Mencit betina diinjeksi D-Galaktosa dengan dosis 150 mg/kgbb, sonde ekstrak daun gambir 200 mg/kgbb, makanan

Kelompok 3(K4) :

Mencit betina diinjeksi D- galaktosadengan dosis 150 mg/kgbb, sonde ekstrak daun gambir 400 mg/kgbb, makanan.

Pengukuran sampel menggunakan rumus Federer $(t-1) (n-1) > 15$

Uji Normalitas untuk BB mencit Betina (g)

| Awalpenelitian | Akhirpenelitian | Perbedaan penambahan bahan BB |
|----------------|-----------------|-------------------------------|
|----------------|-----------------|-------------------------------|

| | | |
|------------------|-------------------|------------|
| 1. Kontrol | | |
| C Nilai | 33(31-35) | 6 (5-7) |
| median | | |
| (min- max) | | |
| 27 (26-30) | | |
| Nilai Mean | | |
| (\pm SD) | 33,20 \pm 1,924 | 6 \pm 1 |
| 27,20 \pm 1,64 | | |
| nilaiP* | | |
| 0,0468 | | |
| 2. K100 | | |
| (K1) | >0,10 | >0,10 |
| Nilai | | |
| median | | |
| (min-max) | | |
| 27(25-28) | 28 (25-31) | 1 (0-3) |
| Nilai | | |
| Mean(\pm SD) | | |
| 26,20 \pm 1,30 | 27,60 \pm 2,302 | 1,40 \pm |
| nilai p* | | 1,14 |
| >0,10 | | |
| 3. K200 | | |
| (K2) | >0,10 | >0,10 |
| Nilai | | |
| median | | |
| (min-max) | | |
| 27(25-28) | 29(25-30) | 2(0-2) |
| Nilai mean | | |
| (\pm SD) | | |
| 26,60 \pm 1,51 | | |
| nilai p* | 28,00 \pm 2,345 | 1,40 \pm |
| >0,10 | | 0,89 |
| 4. K400 | | |
| (K4) | >0.10 | 0,046 |
| Nilai | | |
| median | | |
| (min-max) | | |
| 28(25-28) | 28(28-29) | 1(0-4) |
| Nilai mean | | |
| (\pm SD) | | |
| 26,60 \pm 1,14 | | |
| | 28,20 \pm 0,44 | 1,6 \pm |
| | | 1,51 |
| nilai p* | | |
| >0,10 | 0,0005 | >0,10 |

Uji normalitas menggunakan Kolmogorov-Smirnov untuk berat badan, dari semua kelompok sebelum diberikan perlakuan, ditemukan 1 kelompok terdistribusi tidak normal dengan p value= 0,0468. dan diakhir penelitian ditemukan data terdistribusi tidak normal pada kelompok K4 dengan p-value = 0,0005.

Perbedaan berat badan sebelum dan sesudah perlakuan, dengan data terdistribusi tidak normal pada kelompok K2 dengan p-value = 0,046. Pada penambahan berat badan menggunakan chart, dengan menggunakan non parametric multivariate Kruskal Walls diikuti dengan tes Dunn, ditemukan perbedaan berat badan yang signifikan dari kelompok kontrol (p<0,05) dibandingkan dengan kelompok yang diberikan perlakuan.

Penambahan berat badan mencit betina sesudah perlakuan

Tabel 1. Penambahan berat badan mencit betina sesudah perlakuan

| Kelompok | Penambahan BB rata rata | P* |
|------------|-------------------------|--------|
| Kontrol | 6 \pm 1 | |
| K 100 (K1) | 1,4 \pm 1,14 | 0,0111 |
| K 200 (K2) | 1,4 \pm 0,8944 | |
| K 400 (K4) | 1,6 \pm 1,517 | |

*Non-parametric Kruskal Wallis Test

Mean penambahan berat badan mencit betina dari awal penelitian sampai akhir penelitian, peningkatan penambahan berat badan pada kelompok kontrol lebih tinggi dari pada semua kelompok yang diberi perlakuan dengan pemberian sonde ekstrak daun gambir. Tampak perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok yang diberikan perlakuan (p = 0,0111).

Hasil peningkatan MDA setelah perlakuan

Tabel 2. Peningkatan MDA setelah perlakuan

| Kelompok | Kadar MDA (nmol/ml) | *P |
|------------|---------------------|--------|
| Kontrol | 13,68±5,581 | |
| K 100 (K1) | 15,45±8,082 | 0,8948 |
| K 200 (K2) | | |
| K 400 (K4) | 13,15±4,420 | |
| | 15,15±2,738 | |

*one way Anova

Hasil MDA dari semua perlakuan menggunakan Shapiro-Wilk normality test, ditemukan data terdistribusi normal. Dilanjutkan dengan multivariate analysis dari tes Anova untuk melihat perbedaan diantara kelompok.

Hasil CT dari mencit betina sesudah perlakuan

| Kelompok perlakuan | CT BDNF Mean±SD | *P |
|--------------------|-----------------|--------|
| Kontrol | 4,45±1,42 | |
| K 100 (K1) | 8,55±4,26 | 0,0490 |
| K 200 (K2) | 5,51±0,94 | |
| K 400 (K4) | 6,61±1,03 | |

Analisa ekspresi BDNF dari hasil CT untuk semua kelompok yang diberikan perlakuan, menggunakan Shapiro-Wilk normality tes. Hasil menunjukkan data terdistribusi normal. Untuk melihat perbedaan antara kelompok, menggunakan Anova multivariate test, ditemukan p value yang tidak signifikan ($p = 0,0490$)

Hasil dari ekspresi BDNF, menggunakan rumus Livak.

Ekspresi BDNF secara grafik, dengan dosis 200 mg/kgbb merupakan dosis ekstrak daun gambir yang paling efektif untuk meningkatkan daya ingat mencit.

3. KESIMPULAN

Ditemukan peningkatan penambahan berat badan mencit betina pada masing-masing kelompok perlakuan ke kelompok kontrol tetapi tidak signifikan. Hasil MDA menurun pada kelompok K2 dibanding kelompok kontrol tetapi tidak signifikan.

Peningkatan ekspresi BDNF pada kelompok K2 dibandingkan dengan kelompok lain dalam kontrol.

Pemberian ekstrak daun gambir dengan dosis 200mg/kgbb, merupakan dosis yang paling efektif untuk meningkatkan daya ingat mencit betina.

DAFTAR PUSTAKA

- Silviliyana M, Ika M, Rida A, Ramadani KD, Sulistiyowati R, Annisa L, et al. Statistik Penduduk Lanjut Usia 2018. Susilo D, Harahap IE, Sinang R, editors. Jakarta : Badan Pusat Statistik; 2018. 4-15p.
- Leritz E.C, R.E. G, I K, Rudolph J.L., Milberg W.P. Cardiovascular Disease Risk Faktor And Cognition in the elderly. 2011; 5(5): 407-12.
- Alves, J. et al (2013) 'World Journal of Clinical Cases' © 2013, 1(8), pp. 233-242. doi: 10.12998/wjcc.v1.i8.233.
- Hekimi S, Lapointe J, Wen Y. Taking a "good" look at free radicals in the aging process. 2014; 21(10): 569-76.
- N P., D DA, R C. S. Flavonoids : an overview. 2016;
- Spencer JPE. The impact of fruit flavonoids on memory and cognition The impact of fruit flavonoidson memory and cognition. 2016; (October 2010).
- Kent K, Roodenrys S, Charlton KE, Richards R, Morgan O, Gilbert H. Dietary Flavonoid Intake And Cognitive Performance In Older Adults With Alzheimer' S Type Dementia.

- Ayaz M, Sadiq A, Junaid M, Ullah F, Ovais M, Ullah I, et al. Flavonoids as Prospective Neuroprotectants and Their Therapeutic Propensity in Aging Associated Neurological Disorders. 2019;11(June).
- Alves J, Magalhães R, Machado Á, Gonçalves ÓF, Sampaio A, Petrosyan A, et al. World Journal of Clinical Cases © 2013. 2013;1(8):233-42.
- Rosenzweig ES, Barnes CA. Impact of aging on hippocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition. Vol. 69. 2003. 143-179 p.
- Rahman T, Hosen I, Islam MMT, Shekar HU. Oxidative stress and human health. 2012;2012(November):997-1019.
- Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid Peroxidation : Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. 2014; (November).
- Lima Giacobbo B, Doorduin J, Klein HC, Dierckx RAJO, Bromberg E, de Vries EFJ. Brain-Derived Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation. Mol Neurobiol. 2018;
- Rahmawati N, Bakhtiar A, Putra DP. Optimasi metoda isolasi katekin dari gambir untuk sediaan farmasi dan senyawa marker. 2011;16(2):171-80.
- Farmasi J, Matematika F, Ilmu D, Alam P, Udayana U, Unud-jimbaran JK. Pengaruh Dosis Minuman gambir Terhadap Peningkatan Daya Ingat Mencit Galur. 2006;