

Efek Proteksi Ekstrak Etanol Buah Mengkudu Terhadap Disfungsi Sel Endotel Yang di Induksi Dengan NaCl Pada Mencit Putih Jantan

Suhatri^{1*}, Sri Oktavia², Erlita Nopiyanti²

¹Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang, Indonesia

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM), Padang, Indonesia

*E-mail: suhatri01@gmail.com

Abstrak

Lapisan endotelium terdiri dari satu lapisan sel endotel yang melapisi dinding vaskular yang menghadap ke lumen. Sel endotel menghasilkan mediator vasoaktif *Endothelium Derived Relaxing Factor* (EDRF) yaitu nitrogen monoksida (NO). Disfungsi sel endotel ditunjukkan dengan rendahnya kadar NO dan dapat menyebabkan hipertensi. Pada penelitian ini diteliti disfungsi sel endotel pada mencit putih jantan. Disfungsi sel endotel diinduksi dengan pemberian NaCl 2 %. Ekstrak buah mengkudu yang digunakan sudah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal. Ekstrak buah mengkudu diberikan dengan dosis 70 mg/ kg BB, 140 mg kg BB, dan 280 mg/kg BB secara oral selama 21 hari bersamaan dengan NaCl. Para meter yang diamati adalah kadar NO dalam serum. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah mengkudu terbukti dapat memproteksi disfungsi sel endotel diinduksi NaCl 2%, ditandai dengan meningkatkan kadar nitrogen monoksida mencit putih jantan dibandingkan kadar NO mencit kontrol positif berbeda nyata $p < 0,05$.

Kata kunci: ekstrak buah mengkudu; disfungsi sel endotel; NaCl; nitric oxyde

Abstract

The endothelial layer consists of one layer of endothelial cells that lines the vascular wall facing the lumen. Endothelial cells produce the vasoactive mediator *Endothelium Derived Relaxing Factor* (EDRF) mediator called nitrogen monoxide (NO). Endothelial cell dysfunction is indicated by low levels of NO and can cause hypertension. In this study we examined endothelial cell dysfunction in male white mice. Endothelial cell dysfunction was induced by giving 2% NaCl. Noni fruit extract used has met the requirements of Herbal Pharmacopoeia. Noni fruit extract was given at a dose of 70 mg / kg body weight, 140 mg kg body weight, and 280 mg / kg body weight orally for 21 days together with NaCl. Parameter observed are NO serum levels. The results showed that the administration of noni fruit ethanol extract proved to be able to protect endothelial cell dysfunction induced by NaCl 2%, marked by increasing levels of male white mice nitrogen monoxide compared to NO levels of positive control mice with significantly different $p < 0.05$.

Keywords: noni fruit extract, endothelial cell dysfunction, NaCl, nitric oxyde

PENDAHULUAN

Sel endotel mempunyai peran yang sangat penting untuk mengatur tonus pembuluh darah. Sel endotel mempunyai peran yang sangat penting untuk mengatur tonus pembuluh darah yaitu dengan melepaskan mediator *Endothelium Derived Relaxing Factor* (EDRF) yaitu nitrogen monoksida (NO) dan *Endothelium Derived Contracting Factor* (EDCF) yaitu enotelin. Penurunan atau peningkatan ketersediaan NO dapat mempengaruhi tekanan darah (tensi)

(Versari, *et al* 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Jawi dan Sutirta (2012) menunjukkan konsumsi garam tinggi dengan konsentrasi 2% selama 2 minggu dapat meningkatkan tekanan darah tikus. Penelitian lainnya oleh Saidu, *et al* (2012) menunjukkan pemberian NaCl 8 % selama 3 minggu dapat meningkatkan tekanan darah. Hal ini mengakibatkan terjadinya disfungsi endotel yang ditunjukkan dengan rendahnya kadar NO tikus dan menginisiasi terjadinya hipertensi esensial.

Dalam penelitian lain, diketahui bahwa konsumsi garam yang tinggi (20-23 g/hari) pada manusia dapat menurunkan kadar NO dalam darah (Fujiwara, *et al.*, 2000).

Patogenesis hipertensi melibatkan sistem renin-angiotensin dan sistem saraf simpatik. Sistem saraf simpatik merangsang pelepasan sitokin proinflamasi, sedangkan angiotensin II meningkatkan produksi hidrogen peroksida yang bersifat oksigen reaktif, yang berperan dalam proses peradangan. Sitokin proinflamasi mempengaruhi fungsi pembuluh darah dan faktor-faktor yang dihasilkan endotelium yang terlibat dalam pengaturan tekanan darah. Sitokin ini meningkatkan pembentukan endotelin oleh sel endotel, mengganggu mRNA dari enzim endotel nitrat oksida sintase (eNOS) yang dihasilkan sel endotel. Berkurangnya eNOS tersebut menyebabkan penurunan nitrogen monoksida (NO) dan terjadilah disfungsi sel endotel (Granger, 2006).

Wigati, *et al* (2016) telah melaporkan hasil penelitiannya bahwa ekstrak etanol buah dan daun mengkudu dapat menurunkan tekanan darah dan

memperbaiki gambaran histopatologi ginjal tikus hipertensi diinduksi dengan deksametason. Penelitian Rumiyati, *et al* (2016) juga telah melaporkan hasil penelitian kombinasi ekstrak buah mengkudu herba seledri dan daun kumis kucing berefek antihipertensi dan pada tikus hipertensi. Dari semua hasil penelitian ini diduga karena ekstrak etanol buah mengkudu mengandung skopoletin yang mempunyai aktivitas antioksidan (Anwar & Triyasmono, 2016; Sari, 2015).

Penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol buah mengkudu terhadap kadar NO belum pernah dilakukan, sedangkan buah mengkudu banyak mengandung antioksidan khususnya scopeletin yang baik untuk menangkal radikal bebas (Sugeng, 2005) dan mencegah hipertensi. Hal inilah yang mendasari peneliti untuk melakukan pengujian pengaruh pemberian ekstrak etanol buah mengkudu terhadap kadar NO pada mencit putih jantan yang di induksi natrium klorida. Kadar NO diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer *BIO-RAD*[®].

METODE

Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan yang berumur 2 - 3 bulan dengan berat badan 20 – 30 gram sebanyak 25 ekor.

Prosedur Penelitian

a. Pembuatan Ekstrak Buah Mengkudu

Ekstrak dibuat dari serbuk kering simplisia buah mengkudu dengan cara maserasi pelarut etanol 95 %. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

b. Karakterisasi Ekstrak Buah Mengkudu

Karakterisasi Ekstrak Buah Mengkudu meliputi Identitas, pemeriksaan organoleptis, penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam.

Perlakuan Pada Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan dengan umur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 g sebanyak 25 ekor. Hewan diberikan ekstrak buah mengkudu dosis 70 mg/ kg BB, 140 mg kg BB, dan 280mg/kg BB selama 21 hari. Sebelum diberi ekstrak etanol buah mengkudu mencit diberi larutan NaCl 2 %. Setelah perlakuan selama 21 hari, hewan percobaan dikorbkan dan diambil darahnya untuk mendapatkan serumnya. Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar nitrogen monoksida (NO) dalam serum.

Pengukuran Konsentrasi Nitrogen Monoksida (NO)

Pemeriksaan kadar NO serum dilakukan dengan metode ELISA dan menggunakan *Nitric Oxide Colorimetric AssayKit* (BioVision[®]) dan alat

spektrofotometer mikroplat produksi Bio-Rad (Ghasemi, *et al*, 2007).

Analisa Data

Data yang didapat dari kadar nitrogen monoksida (NO) akan dianalisis

secara statistik ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan, kebermaknaan akan diambil pada tingkat kepercayaan 95% menggunakan program SPSS 21 (Jones, 2010).

HASIL DAN DISKUSI

Ekstrak etanol buah mengkudu (*M. citrifolia*.) yang diperoleh dari 400 g sampel kering adalah 50,12 g dengan rendemen 12,53 % seperti pada tabel 1. Hasil yang didapat telah memenuhi persyaratan rendemen pada Farmakope Herbal Indonesia (2008) tidak lebih dari 10,9 %. Setelah didapatkan ekstrak kental, selanjutnya dievaluasi menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2008).

Hasil karakterisasi organoleptis ekstrak etanol buah mengkudu adalah warna coklat tua, rasa getir, bau khas, bentuk ekstrak kental. seperti terlihat pada tabel 2. Penentuan organoleptis ini termasuk salah satu parameter spesifik yang ditentukan dengan panca indera dan bertujuan pengenalan awal secara sederhana dan subjektif. Hasil skrining fitokimia ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L) positif mengandung alkaloid, diterpens dan fenol dapat dilihat pada tabel 3.

Hasil karakterisasi ekstrak etanol buah mengkudu (*M citrifolia*.) diperoleh kadar air ekstrak etanol buah mengkudu adalah 8,01 %. Hasil yang didapat ini telah memenuhi persyaratan kadar pada Farmakope Herbal Indonesia (2008) yaitu tidak lebih dari 10 %. Kadar abu totalnya adalah 0,33 %. Hasil yang didapat telah memenuhi persyaratan kadar pada Farmakope Herbal Indonesia (2008) tidak lebih dari 0,8 %. Kadar abu yang tidak larut dalam asam adalah 0,04 %. Hasil yang didapat telah memenuhi persyaratan kadar pada Farmakope Herbal Indonesia (2008) tidak lebih dari 0,1 %, seperti terlihat pada tabel 4 .

Pola kromatogram sampel ekstrak etanol buah mengkudu (*M citrifolia*.) didapatkan nilai $R_f = 0,57$ mendekati nilai R_f pada noda ekstrak etanol buah mengkudu (*M citrifolia*. L) yang terdapat pada Farmakope herbal Indonesia $R_f = 0,50$ (Departemen Kesehatan Indonesia, 2008).

Tabel 1 . Hasil penentuan rendemen ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia*. L)

Sampel kering	Ekstrak yang diperoleh	Rendemen %
400 g	50,1215 g	12,53 %

Tabel 2. Hasil Karakterisasi organoleptis ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia*. L)

No	Pemeriksaan	Pengamatan
1.	Warna	Coklat tua
2.	Rasa	Getir
3.	Bau	Khas
4.	Bentuk	Ekstrak kental

Tabel 3. Hasil skrining fitokimia ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*L.)

No	Kandungan Kimia	Pereaksi	Hasil pengamatan	Hasil
1	Alkaloid	-Mayer -Dragendorff -Hager -Wagner	Endapan kuning	+
2	Flavonoid	-Larutan timbal asetat -NaOH	Tidak bereaksi	-
3	Karbohidrat	-Molisch -Fehling	-Cincin ungu -Endapan merah	+ +
4	Saponin	-Air	Tidak bereaksi	-
5	Diterpens	-Tembaga asetat	-Warna hijau	+
6	Fenol	Larutan besi klorida	Hitam kebiruan	+
7	Titerpenoid Fitosterol	-Kloroform + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ -Kloroform + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄	-Kuning keemasan -Cincin kecoklatan	- +

Keterangan :

(+) = Memberikan hasil reaksi (-) = Tidak memberikan reaksi

Tabel 4. Hasil Karakterisasi ekstrak etanol buah mengkudu (*M citrifolia*. L)

Karakterisasi ekstrak etanol buah mengkudu (<i>M citrifolia</i>.)	(%)
Kadar senyawa larut etanol rata-rata	22,21
kadar air	8,01
Kadar abu	0,333
Kadar abu tidak larut asam	0,04

Tabel 5 memperlihatkan hasil penelitian penentuan kadar NO, terlihat perbedaan kadar NO kelompok hewan kontrol negatif dan kelompok hewan kontrol positif, kadar NO kelompok kontrol positif hanya diberi larutan NaCl 2 % adalah 1,32 µmol/µl lebih rendah dari kontrol negatif (hewan normal) yaitu 4,56 µmol/µL dan berbeda nyata (p<0,05). Pada hewan kontrol positif ini terjadinya disfungsi endotel karena asupan garam (NaCl) yang tinggi dapat menurunkan

produksi nitrogen monoksida oleh sel endotel. Hal ini terjadi akibat terganggunya sintesis nitrogen monoksida dari asam amino L-arginin dengan mengganggu aktivitas NO synthase pada endothelium pembuluh darah ginjal dan menginisiasi terjadinya hipertensi (Higashi, *et al.*, 1996). Hipertensi melibatkan sistem renin-angiotensin dan sistem saraf simpatik, dimana sistem renin-angiotensin. Angiotensin II meningkatkan produksi hidrogen

peroksida yang bersifat oksigen reaktif. menyebabkan penurunan nitrogen monoksida (NO) dan terjadilah disfungsi sel endotel (Granger, 2006).

Pemberian ekstrak etanol buah mengkudu bersamaan dengan NaCl 2 %, dosis 70 mg/kg BB kadar NO-nya adalah 5,56 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$, dosis 140 mg/kg BB adalah 5,47 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ dan dosis 280mg/kgBB adalah 4,68 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ kadar NO dari ketiga variasi dosis hampir sama dengan kadar NO kontrol negatif 4,56 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ dan tidak berbeda nyata dengan ($p>0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian ke tiga dosis ekstrak etanol buah mengkudu memberikan efek proteksi disfungsi endotel yang diinduksi dengan NaCl 2%.

Apabila keempat kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol positif 1,32 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ maka pemberian ekstrak etanol buah mengkudu (Dosis 70 mg/kg BB 5,56 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$; 140 mg/kg BB 5,47 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$; 280 mg/kgBB 4,68) kadar NO nya besar dari kontrol positif berbeda nyata ($p<0,05$). Hal ini disebabkan ekstrak buah mengkudu tersebut mengandung senyawa antioksidan (Wigati, 2016). Diduga antioksidan ini mencegah hidrogen peroksida yang bersifat oksigen reaktif menyerang enzim NO *synthase*. Dengan demikian sel endotel tidak mengalami disfungsi, dan kadar NO kembali meningkat dihasilkan oleh sel endotel.

Tabel 5. Data hasil pengukuran konsentrasi NO dalam serum darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia*L.)

Kelompok hewan	Kontrol negatif ($\mu\text{mol}/\mu\text{L}$)	Kontrol positif ($\mu\text{mol}/\mu\text{L}$)	Dosis I ($\mu\text{mol}/\mu\text{L}$)	Dosis II ($\mu\text{mol}/\mu\text{L}$)	Dosis III ($\mu\text{mol}/\mu\text{L}$)
1	5,176	1,678	5,873	6,691	4,721
2	4,319	1,209	4,064	4,922	4,547
3	4,185	1,089	6,771	4,801	4,774
Jumlah	13,68	3,976	16,708	16,414	14,042
Rata-rata \pm SD	4,56 \pm 0,53 ^b	1,32 \pm 0,31 ^a	5,56 \pm 1,37 ^b	5,47 \pm 1,05 ^b	4,68 \pm 0,11 ^b

Keterangan : a dan b subcribe yang berbeda < 0.05

Kontrolnegatif = makanan standar

Kontrol positif = Larutan NaCl 2 %

Dosis I = Ekstrak etanol buah mengkudu 70 mg/kgBB + NaCl 2 %

Dosis II = Ekstrak etanol buah mengkudu 140 mg/kgBB + NaCl 2 %

Dosis III = Ekstrak etanol buah mengkudu 280 mg/kgBB + NaCl 2 %

SD = Standar Deviasi

KESIMPULAN

1. Ekstrak buah mengkudu yang digunakan memenuhi persyaratan Farmakope Herbal.
2. Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian

ekstrak etanol buah mengkudu terbukti dapat memproteksi disfungsi sel endotel yang ditandai dengan meningkatkan kembali kadar nitrogen monoksida mencit putih jantan diberi NaCl.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, K., & Triyasmono, L. (2016). Kandungan total fenolik, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah mengkudu (*Morindacitrifolia* L.). *Jurnal Pharmascience*, 3,(2), 83-90.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia*. (Edisi 1). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fujiwara, N., Osanai, T., Kamada, T., Katoh, T., Takahashi, K., & Okumura, K. (2000). Study on the relationship between plasma nitrite and nitrate level and salt sensitivity in human hypertension modulation of nitric oxide synthesis by salt intake. *J. Circ.* 101,(8), 856-861.
- Ghasemi, A., Hedayati, M., & Biabani, H. (2007). Protein precipitation methods evaluated for determination of serum nitric oxide end product by the griess assay. *Journal Of Medical Sciences Research*, 15, 29-32.
- Granger, J. P. (2006). An emerging role for inflammatory cytokines in hypertension. *Am J. Physiol Heart Circ Physiol*, 290, 923-924.
- Jawi, I. M., & Sutirta, Y. W. P. (2012). Ekstrak air umbi ubi jalar ungu menurunkan tekanan darah mencit putih hipertensi yang diinduksi dengan NaCl. *J. Medicina*, 43,(2), 72-76.
- Jones, D. S. (2010). *Statistik farmasi*. Penerjemah: H. U. Ramadaniati & H. Rivai. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rumiatiy., Hakim, R. A., Winarti, D. A., Septia, N, D. (2016). Uji antihipertensi kombinasi ekstrak herba seledri, daun kumis kucing dan buah mengkudu pada tikus normal dan hipertensi. *Traditional Medicine Journal*, 21,(3), 149-156.
- Saidu, Y., Bilbis, L.S., Muhammad, S.A., & Nasir, M.K. (2012). Serum lipid profile and antioxidant status of salt-induced hypersensitive rats treated with antioxidants rich nutraceutical. *Cameroon. J. Exp. Biol*, 8,(1), 47-54.
- Sugeng Riyanto. (2005) Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Jurnal Agritech*, Vol 25, No 3, 131-136.
- Versari, D., Daghini, E., Virdis, A., Ghiadoni, L., Taddei, S. 2009. Endothelium-dependent contractions and endothelial dysfunction in human hypertension. *British Journal of Pharmacology*. 157: 527-536.
- Wigati, D., Anwar, K., Sudarsono., & Nugroho, E, A. (2016). Efek ekstrak etanolik daun dan buah mengkudu terhadap tekanan darah dan gambaran histopatologi ginjal tikus hipertensi terinduksi deksametason. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 22,(1), 108-113.