

**PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP
CEDERA HATI TIKUS WISTAR JANTAN YANG
DIINDUKSI MANCOZEB**

Muhtar dan Dhian Irawati

Abstrak

Cedera hati (CH) adalah suatu kelainan hati yang ditandai peningkatan kadar serum *alanin aminotransferase* (ALT) dan *aspartate aminotransferase* (AST) dalam serum darah lebih dari normal, disertai adanya nekrosis. Penelitian terdahulu terbukti bahwa paparan mancozeb dapat menyebabkan CH. Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan cukup baik adalah kelor (*Moringa oleifera*=Mo). Tujuan penelitian ini untuk membuktikan bahwa pemberian tepung daun kelor dapat mencegah CH pada tikus wistar jantan yang diinduksi *mancozeb* melalui mekanisme pengikatan radikal bebas oleh kandungan antioksidan Mo. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan *Randomized Pretest-Posttest Paralel Control Group Design*, menggunakan tikus wistar sebanyak 24 ekor yang akan dibagi menjadi 4 kelompok. Masing-masing kelompok mendapat perlakuan yang berbeda-beda. Penelitian ini menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p = 0,0001$) rerata kadar ALT dan AST serum darah hewan coba pada kelompok kontrol yang diberi Mo dibandingkan dengan kelompok tanpa Mo. Terdapat perbedaan yang signifikan indeks nekrosis antara kelompok yang diberi Mo, dibandingkan dengan kelompok tanpa Mo ($p = 0,04$). Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian tepung daun kelor dapat mencegah CH pada tikus wistar yang diinduksi *mancozeb* melalui mekanisme pengikatan radikal bebas oleh kandungan antioksidan Mo.

Kata kunci : Cedera hati, tepung daun kelor, ALT, AST, *mancozeb*.

A. Pendahuluan

Cedera hati (CH) adalah suatu kelainan hati yang ditandai meningkatnya kadar serum *alanin aminotransferase* (ALT) dan *aspartate aminotransferase* (AST) dalam darah lebih dari normal disertai adanya nekrosis.¹ Etiologi CH sangat beragam diantaranya: infeksi virus atau bakteri, keracunan alkohol, trauma, obat-obatan atau bahan kimia tertentu misalnya pestisida.² Salah satu Golongan pestisida yang dapat menyebabkan CH adalah karbamat contohnya *mancozeb*=Mz.^{3,4} Penelitian terdahulu melaporkan bahwa Mz dapat meningkatkan kadar enzim ALT dan memicu stres oksidatif. Stres oksidatif ditandai dengan meningkatnya kadar malondialdehid (MDA) dan penurunan antioksidan endogen yaitu serum *superoksida dismutase* (SOD), *catalase* (CAT) dan *gluthation peroksidase* (GPx) secara signifikan.⁵

Para petani masih banyak menggunakan pestisida secara berlebihan, meskipun berdampak negatif bagi kesehatan. Prevalensi penyakit hati terus meningkat di Kabupaten Brebes, dari 90

pasien tahun 2011 menjadi 251 tahun 2013. Ada 96,3% pasien berasal dari daerah sentra pertanian bawang merah yang menggunakan Mz secara massif.⁴ Petani di Brebes memiliki kebiasaan unik yakni menyimpan bibit bawang merah di dalam dapur. Bibit bawang yang telah ditaburi Mz diletakkan di atas tungku untuk memasak makanan. Kebiasaan ini menyebabkan makanan yang diolah di dapur mudah tercemar Mz. Penelitian Bertini *et al* menunjukkan bahwa efek toksik Mz meningkat selama proses memasak atau pemanasan.⁶

Sistem fisiologis tubuh sudah mempunyai kemampuan mengurangi kerusakan sel-sel akibat stres oksidatif.⁷ Tubuh memerlukan mekanisme proteksi tambahan ketika dalam kondisi lemah atau paparan spesies oksigen reaktif (SOR) terlalu banyak. Proteksi tambahan dapat dilakukan dengan mengonsumsi antioksidan yang berasal dari bahan herbal.^{8,9} Herbal telah banyak dikembangkan menjadi suplemen di antaranya adalah *Moringa oleifera* (Mo) yang berasal dari Asia Selatan. Mo dipromosikan memiliki potensi obat dengan nilai yang tinggi.¹⁰ Tujuan penelitian ini untuk membuktikan bahwa pemberian tepung daun Mo dapat mencegah CH pada tikus Wistar yang diinduksi Mz.

B. Bahan dan Metode

Penelitian ini merupakan eksperimental murni dengan *Randomized Pretest-Posttest Parallel Control Group Design*. Penelitian telah dilaksanakan pada Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Unit IV UGM Yogyakarta, pada bulan September - Desember 2015. Tikus Wistar dengan BB 300 sampai 400 g berumur 12 sampai 16 minggu diadaptasi selama 1 minggu. Besar sampel sesuai dengan persyaratan dari WHO, tiap kelompok adalah 6 ekor tikus. Tikus sehat 24 ekor dibagi 4 kelompok secara acak; Kelompok I sebagai baseline diterminasi pada hari pertama. Kelompok II sebagai kontrol hanya diberi air + pellet *ad libitum* sampai hari ke 20. Kelompok III pada hari pertama sampai ke 10 hanya mendapat air+pellet *ad libitum*, pada hari ke 11 sampai ke 20, mendapat paparan Mz 313 mg/kg BB. Kelompok IV pada hari pertama sampai ke 10 diberi Mo 500 mg/kg BB dilanjutkan pemberian Mz 313 mg/kg BB sampai hari ke 20. Tepung daun Mo, dibeli dari industri Moringa Indonesia Blora. Mz dibeli dari Toko Pestisida di Brebes, dengan merk dagang Dithane M-45[®]. Tepung daun Mo dan Mz dilarutkan dalam aquades, diberikan pada hewan coba menggunakan sonde lambung.

Sampel dari Kelompok I, diterminasi di bawah anestesi eter pada awal penelitian, jaringan hatinya diambil dan diperiksa sebagai data baseline indek nekrosis. Semua sampel dari Kelompok II, III dan IV diaspirasi sampel darahnya untuk diukur kadar ALT dan AST. Semua sampel yang bertahan hidup sampai akhir penelitian, diaspirasi darahnya untuk diukur variabel seperti

disebutkan sebelumnya. Selanjutnya, semua sampel diterminasi untuk diambil dan diperiksa jaringan hatinya pada laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan UGM Yogyakarta. Indikator CH adalah indek nekrosis dan kadar ALT. Index nekrosis diperiksa dengan pemeriksaan histologi dengan metode pengecatan H&E. Kadar enzim ALT diukur dengan vitros 250.

Penelitian ini menggunakan *unpaired t test* untuk uji hipotesis, *paired t test* untuk analisis *pretest-posttest*, sedangkan untuk regresi linier uji multivariat menggunakan. Komite Etik Penelitian Kesehatan telah menyetujui penelitian ini dengan nomor; 458/EC/FK-RSDK/2015 FK-UNDIP RS. Dr. Kariadi Semarang, Indonesia.

C. Hasil dan Pembahasan

Semua tikus pada Kelompok II, III dan IV tetap hidup sampai akhir penelitian. Sumber invaliditas berupa *history, maturation, co-intervensi, survival, mortality* dan *contamination* pada penelitian ini telah dikendalikan. Hasil pemeriksaan mikroskopis jaringan hati tikus pada Kelompok I dan II tidak ada perubahan (normal). Sedangkan, jaringan hati pada Kelompok III dan IV mengalami CH karena terpapar Mz. Pada Kelompok II perubahan kadar ALT dan AST pada awal dan akhir penelitian tidak signifikan dan tidak berpengaruh pada sel hati. Hal ini dapat dikatakan bahwa komponen waktu (maturasi) tidak berperan dalam kerusakan hati. Oleh sebab itu, analisis berikutnya untuk menilai efektivitas Mo, yang dibandingkan hanya Kelompok III dan IV. Hasil pengukuran variabel tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil pengukuran variabel penelitian

Variabel dan Kelompok	Pretest	Posttest	<i>p</i> *	Delta (Δ)	<i>p</i> †
Kadar AST (U/L)					
Kelompok III	35,3 ± 7,9	138,2 ± 26,0	0,001	102,8 ± 5,8	0,0001
Kelompok IV	33,7 ± 3,4	50,1 ± 18,6	0,084	16,36 ± 18,6	-
Kadar ALT (U/L)					
Kelompok III	22,2 ± 6,8	89,6 ± 11,3	0,0001	67,4 ± 14,6	0,0001
Kelompok IV	22,3 ± 6,5	47,4 ± 7,6	0,003	25,1 ± 11,1	-
Indek Nekrosis					
Kelompok III	0	2,67 ± 1,5	0,007	2,67 ± 1,5	0,040
Kelompok IV	0	0,83 ± 1,2	0,141	0,83 ± 1,2	-

Hasil adalah rerata ± SD; * Hasil komparasi *pretest-posttest* dengan *paired t test*;

† Hasil komparasi delta dengan *Unpaired t test*.

Penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan indek nekrosis pada Kelompok IV lebih rendah bila dibandingkan dengan Kelompok III. Peningkatan kadar AST pada Kelompok IV,

lebih rendah bila dibandingkan dengan Kelompok III Peningkatan kadar ALT pada Kelompok IV, lebih rendah bila dibandingkan dengan Kelompok III.

Pemberian Mo menghambat peningkatan indeks nekrosis secara signifikan. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian terdahulu, bahwa aktivitas antioksidan Mo dapat menghambat perubahan histologi hati tikus yang diinduksi asetaminofen ataupun dengan CCl₄.^{17,18} Peristiwa ini terjadi karena aktivitas antioksidan Mo bersama dengan sistem antioksidan endogen berhasil meredam stres oksidatif.³ Radikal bebas yang diikat dan diredam oleh antioksidan Mo dapat mencegah kerusakan DNA dan protein, lebih lanjut dapat mencegah disfungsi mitokondria dan nekrosis sel hati.^{3,21}

Pemberian Mo menghambat peningkatan ALT secara signifikan. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian terdahulu, bahwa Mo dapat menghambat peningkatan kadar ALT pada tikus yang diinduksi Acetamenophen atau Diklofenak. Fenomena ini terjadi karena aktivitas antioksidan Mo bersama dengan antioksidan endogen yang berhasil meredam stres oksidatif. Oleh sebab itu, kerusakan membran sel dan disfungsi mitokondria pada sel hati dapat diminimalisasi. Penurunan kerusakan membran sel akan menurunkan pelepasan ALT ke dalam darah.^{18,24,25}

Mo dapat menurunkan tingkat CH melalui aktivitas antioksidannya bersama antioksidan endogen dengan cara meredam stres oksidatif.³ Kandungan Mo yang berupa senyawa fenolik dan vitamin berperan dalam mekanisme pertahanan hati secara langsung dengan cara mengikat atau menetralsir radikal bebas.^{19,20} Kandungan mineral Mo berperan secara tidak langsung dengan cara mengaktifkan antioksidan endogen.²¹ Antioksidan endogen berperan meredam radikal bebas dan mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru. SOD dapat mengkonversi anion superoksida menjadi H₂O₂ oleh di sitosol dan mitokondria. Hidrogen peroksida (H₂O₂) yang terbentuk direduksi menjadi air oleh CAT pada peroksisom, GPx pada sitosol dan mitokondria.^{15,21}

Aktivitas antioksidan Mo dan antioksidan endogen dapat mencegah stres oksidatif selanjutnya dapat mencegah disfungsi mitokondria dan menghambat nekrosis sel hati. Nekrosis yang terkendali dapat mencegah terjadinya CH.^{3,21}

D. Simpulan

Pemberian tepung daun Mo terbukti dapat mencegah CH pada tikus Wistar yang diinduksi Mz.

E. Daftar Pustaka

1. Bertini S, Carratore RD, Giorgi M, Bronzetti G, Croce CL. Genotoxic and mono-oxygenase system effects of the fungicide maneb. Springer-Verlag, Arch Toxicol. 2000; 74: 415-420.
2. El-bakry K, Toson E, Serag M, Aboser M. Hepatoprotective Effect Of Moringa Oleifera Leaves Extract Against Carbon Tetrachloride- Induced Liver Damage In Rats. 2016;5(5): 76-89.
3. Ezuruike UF, Prieto JM. The use of plants in the traditional management of diabetes in Nigeria: Pharmacological and toxicological considerations. Journal of Ethnopharmacology. 2014; 155(2): 857–924.
4. Fakurazi S, Sharifudin SA, Arulselvan P. Moringa oleifera hydroethanolic extracts effectively alleviate acetaminophen-induced hepatotoxicity in experimental rats through their antioxidant nature. Molecules, 2012; 17: 8334–8350.
5. Ferrer-Sueta G, Radi R. Chemical biology of peroxynitrite: kinetics, diffusion, and radicals. ACS Chemical Biology. 2009; 4:161–177.
6. Gu X, Manautou JE. Molecular mechanisms underlying chemical liver injury. Expert Rev Mol Med. 2013; 14(4): 1-25.
7. Hochstein C, Arnesen S, Goshorn J. Environmental health and toxicology resources of the United States National Library of Medicine. Medical Reference Services Quarterly. 2007; 26(3): 21–45.
8. Hossain MB, Brunton NP, Barry-Ryan C, Martin-Diana AB, Wilkinson M. Antioxidant activity of spices extracts and phenolics in comparison to synthetic antioxidants. Rasayan J Chem. 2008; Vol 1 (4):751–756.
9. Joza N, Susin SA, Daugas E, Stanford WL, Cho SK, Li CYJ. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. Nature. 2001; 410:549–554.
10. Karthivashan G, Tangestani FM, Arulselvan P, Abas F, Fakurazi S. Identification of bioactive candidate compounds responsible for oxidative challenge from hydroethanolic extract of Moringa oleifera leaves. Journal of Food Science, 2013; 78(9): 1368–1375.
11. Lindseth GN. Disorders of Liver, Gall Bladder and Pancreas. In: Sylvia AP, Lorraine MW, (Eds). Pathophysiology, clinical of disease process. 6th ed. Jakarta: EGC; 2006. p472-513.
12. Montesano MA, Wang R. Biomonitoring of Contemporary Pesticides: Ethylenethiourea in Occupational Settings. In; Stoytcheva M, (Ed). Pesticides in the Modern World - Effects of Pesticides Exposure. Croatia: Intech; 2011. P167-180.

13. Mukherjee S, Gollan JL. Assessment of Liver Function. In: Sherlock S, (Ed). Diseases of the Liver and Biliary System. 12th ed. Oxford: Blackwell Scientific; 2011. p20-34.
14. Nugraha AS, Hadi NS, Siwi SU. Efek Hepatoprotektif Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam) pada Hati Mencit Jantan Galur Swiss induksi dengan CCl₄. *Jurnal Natur Indonesia*. 2008; 1(1): 24-30.
15. Pessayre D, Mansouri A, Berson A, Fromenty B. Mitochondrial involvement in drug-induced liver injury. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2010; 196:311–365.
16. Sakr SA, Abel-Samie HA. Apoptosis Related Protein Bax In Liver of Metalaxyl Fungicide – Treated Mice: The Effect of Antox. *Ozean Journal of Applied Sciences*. 2008; 1(1): 17-27.
17. Sakr SA, Mahran HA, Abo-Elyazid SM. Effect of Ddb On Mancozeb Fungicide Induced Ultrastructural and Biochemical Changes In The Liver Of Albino Mice. *Proceedings of the 9th International Conference on Environmental Science and Technology*. 1-3 September 2005; B809:B816.
18. Sakr SA. Ameliorative effect of ginger (*Zingiber officinale*) on mancozeb fungicide induced liver injury in albino rats. *Australian Journal of Basic and Applied Science*. 200; 1(4): 650-656.
19. Samani MA, Farkhad NK, Azimi N, Fasihi A, Ahandani EA, Kopaei MR. Medicinal plants with hepatoprotective activity in Iranian folk medicine. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2015; 5(2): 146–157.
20. Sharifudin SA, Fakurazi S, Hidayat MT, Hairuszah I, Moklas MAM, Arulselvan P. Therapeutic potential of *Moringa oleifera* extracts against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Pharmaceutical Biology*. 2013; 51(3): 279-288.
21. Siwiendrayanti A, Suhartono, Nur EW. Hubungan Riwayat Paparan Pestisida Dengan Kejadian Gangguan Fungsi Hati (Studi pada Wanita Usia Subur di Kecamatan Kersana Kabupaten Brebes). *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*. 2012; 11(1): 9-14.
22. Sreelatha S, Patma PR. Antioksidan Activity and Total Phenolic Content of *Moringa oleifera* Leaves in Two Stages of Maturity. *Plant Foods Hum Nutr*. 2009; 64:303–311.
23. Sumarno, Theresia P, Wahyuningsih R. Peran Antioksidan Pada Ekstrak Tepung Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Terhadap Kadar MDA (Hepar) Pada Tikus ‘*Rattus Novergicus* Strain Wistar’ Yang Dipapari Asap Rokok Akut. *E Lebery Universitas Brawijaya Malang*. 2011. p1-11.

24. Taha NR, Rabah SO, Shaker SA, Mograby MM. Effect of Moringa oleifera Leaves on Diclofenac Sodium Induced Hepatic Injury in Albino Rats: Ultrastructural and Immunohistochemical Studies. *J Cytol Histol.* 2015; 6: 315.
25. Winarsi H. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan.* Kanisius. 2011. p26-273.