

EFEK EKSTRAKAIR DAUN SIRSAK (*Annona muricata*L.) TERHADAP KADAR *Superoxide Dismutase* (SOD) DAN *Malondialdehida* (MDA) JARINGAN GINJAL KANAN TIKUS WISTARYANG DIINDUKSIDIET TINGGI LEMAK DAN TINGGI FRUKTOSA.

Shafira Thrisnadia*, Dini Sri Damayanti**, Silvy Amalia Falyani**

*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

**Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan:Diet Tinggi Lemak Tinggi Fruktosa (DTLF) dapat mengakibatkan dislipidemia. Komplikasi dari dislipidemia dapat menyebabkan kerusakan dari jaringan ginjal akibat dari stress oksidatif.Ekstrak air daun sirsak (*Annona muricata*L.) mempunyai potensi sebagai antioksidan.Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak air daun sirsak terhadap kadar SOD dan MDA jaringan ginjal kanan pada tikus wistar jantan yang diinduksi DTLF.

Metode: Desain penelitian *post test group control only*. Penelitian menggunakan 25 ekor tikus wistar jantan usia 8-10 minggu dengan berat awal 175-200 gram. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol negatif (diet normal+aquadess), kontrol positif(DTLF+aquadess), perlakuan 1(DTLF+100mg/kgBB), perlakuan 2 (DTLF+200mg/kgBB), perlakuan 3 (DTLF+400mg/kgBB)dengan masing masing kelompok terdiri 5 ekor tikus.Perlakuan dilakukan selama 10 minggu.Pada akhir penelitian, analisis SOD dan MDA jaringan ginjal kanan dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm dan 532 nm.Analisa data menggunakan *one way ANOVA* dan *LSD* dengan tingkat signifikansi $P < 0,05$.

Hasil: DTLF dapat menurunkan SOD $\pm 60\%$ dan meningkatkan MDA $\pm 70\%$. Pemberian ekstrak air daun sirsak dosis 100mg/kgBB, 200mg/kgBB, dan 400mg/kgBB dapat mempertahankan penurunan secara signifikan ($p=0,000$) kadar SOD jaringan ginjal kanan $\pm 40\%$, 40% , dan 60% dibandingkan kontrol positif dan mampu menurunkan secara signifikan ($p=0,001$) kadar MDA jaringan ginjal kanan $\pm 40\%$, 40% , dan 50% dibandingkan kontrol positif.

Kesimpulan: Ekstrak air daun sirsak dapat meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA pada jaringan ginjal kanan pada DTLF.

Kata kunci:Dislipidemia, SOD, MDA, jaringan ginjal, ekstrak air *Annona muricata* L.

THE EFFECTS OF SOURSOP (*Annona muricata* L.) LEAVES WATER EXTRACT ON *Superoxide dismutase* (SOD) LEVELS and *Malondialdehida* (MDA) LEVELS OF MALE WISTAR RAT INDUCED by HIGH FAT AND HIGH FRUCTOSE DIET

ABSTRACT

Introduction:A high-fat fructose diet (HFFD) will induce dyslipidemia. Complications from dyslipidemia can cause damage from kidney tissue due to oxidative stress. Soursop leaf water extract (*Annona muricata*L.) has potential as an antioxidant. The purpose of this study was to determine the effects of *Annona muricata* L. water extract on levels of SOD and MDA in the right kidney tissue in male wistar rats induced by HFFD.

Method:Design of study was *post test group control only*. The study used 25 male wistar rats aged 8-10 weeks with an initial weight of 175-200 grams. Rats were divided into 5 groups: negative control (normal + aquades diet), positive control (HFFD + aquades diet), treatment 1 (HFFD + 100mg / kgB.W), treatment 2 (HFFD+ 200mg / kgB.W), treatment 3 (HFFD + 400mg / kgB.W) with each group consisting of 5 rats. The treatment was carried out for 10 weeks. At the end of the study an analysis of SOD and MDA of right kidney tissue was carried out using spectrophotometer with wavelength of 580 nm and 532 nm..Data analysis using *one way ANOVA* and *LSD* with a significance level of $P < 0.05$.

Results:HFFD can reduce SOD $\pm 60\%$ and increase MDA $\pm 70\%$.The soursop leaf water extract dose of 100mg/kgB.W, 200mg/kgB.W, and 400mg/kgB.W can significantly maintain decreased ($p=0,000$) the level of right kidney tissue SOD $\pm 40\%$, 40% , and 60% compared to positive controls and can significantly reduce ($p=0,001$) MDA levels of right kidney tissue $\pm 40\%$, 40% and 50% compared to positive controls.

Conclusion:Soursop leaf water extract can increase SOD levels and reduce MDA levels in right kidney tissue on the HFFD.

Keywords:dyslipidemia, SOD, MDA, kidney tissue, *Annona muricata* L. leaves water extract.

*Correspondence:

Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Address : Jl. MT Haryono 193, Malang City, East Java, Indonesian, 65145

e-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Dislipidemia merupakan salah satu kelainan dari metabolisme lipid, dimana terjadi peningkatan kadar kolesterol total, kadar *Low-Density Lipoprotein* (LDL), kadar Trigliserida (TG) serta penurunan kadar *High-Density Lipoprotein* (HDL)¹. Hal ini dapat menjadi salah satu faktor resiko penyakit jantung koroner, diabetes melitus, dan aterosklerosis. Maka dari itu, dislipidemia dapat menjadi penyebab morbiditas dan kontributor mortalitas di negara berkembang². Berdasarkan data Riskesdas bidang biomedis tahun 2013, peningkatan kadar kolesterol total sebesar 35,9%. Kadar HDL dibawah normal sebanyak 22,9%. Sedangkan kadar LDL lebih dari normal sebanyak lebih dari 15,9%. Kadar Trigliserida (TG) dengan kategori sangat tinggi sebanyak 11,9%. Penentuan kadar kolesterol total, HDL, TG dan LDL berdasarkan pada NCEP-ATP III³.

Dislipidemia yang ditandai dengan peningkatan beberapa profil lipid dapat menyebabkan peningkatan dari *Reactive Oxygen Species* (ROS). Hal ini mengakibatkan keseimbangan reaksi reduksi oksidasi terganggu sehingga terjadi stress oksidatif. *Malondialdehid* (MDA) merupakan produk akhir peroksidasi lipid akibat adanya reaksi radikal bebas yang dapat dijadikan sebagai indikator utama adanya stress oksidatif⁴.

Terapi farmakologi pada penderita dislipidemia dapat berupa statin, *bile acid sequestrant*, asam nikotinat, dan fibrat. Namun penggunaan obat tersebut memiliki efek samping seperti miopati, peningkatan enzim hati, gangguan pencernaan, konstipasi, penurunan absorpsi obat lain, *flushing*, hiperglikemia, *hiperuricemia*, gangguan pencernaan, hepatotoksik, *dispepsia*, batu empedu dan miopati¹. Penggunaan tanaman herbal sebagai *adjuvant* di masyarakat Indonesia sudah tidak asing lagi. Hal ini dikarenakan harganya yang terjangkau dan mempunyai efek samping yang minimal⁵.

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu tanaman yang sering digunakan untuk obat herbal. Menurut Adeyami *et al.*, (2009) daun sirsak memiliki efek anti hiperlipidemia⁶. Pada penelitian yang dilakukan Moghadamtousi *et al.* (2015), ekstrak daun sirsak memiliki efek sebagai anti-inflamasi⁷. Hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Yuniarti, (2016) bahwa pemberian ekstrak air daun sirsak pada hewan coba tikus model obesitas mampu menurunkan berat badan, dan kadar kolesterol dibandingkan kontrol normal⁸. Penelitian yang dilakukan mengacu pada penelitian Yuniarti (2016), dengan modifikasi pada pemberian komposisi diet⁸. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti tertarik untuk mengetahui efek ekstrak air daun sirsak terhadap kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) dan *Malondialdehid* (MDA) jaringan ginjal kanan pada

tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan model dislipidemia.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratorium dengan desain *post test group only* secara *in vivo*. Tikus wistar jantan akan diinduksi diet tinggi lemak tinggi fruktosa dan diberi ekstrak air daun sirsak selama 10 minggu. Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi, *Animal house*, dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Biokimia Universitas Islam Malang.

Penelitian sudah melalui tahap uji kelayakan di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan sudah laik etik yang disetujui oleh komisi etik Universitas Brawijaya Malang dengan keterangan kelaikan etik No. 202/EC/KEPK-S1/08/2018.

Hewan Coba

Pada penelitian ini menggunakan hewan coba tikus Wistar jantan dengan usia 8-10 minggu, berat badan awal sekitar 150 - 200 g, berjumlah 25 ekor yang akan diaklimatisasi di Laboratorium Parasitologi dan *animal house* selama 2 minggu.

Pada hari ke 15 dilakukan randomisasi. Masing-masing tikus akan ditempatkan pada 1 kandang yang berbeda, kemudian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu KN (Diet normal + air), KP (DTLF + air), KP1 (DTLF+ EADS), KP2 (DTLF+ EADS). Perlakuan dilakukan selama 10 minggu.

Pada tikus yang diberi pakan kontrol negatif/normal, pada masing masing tikus diberikan pakan dengan komposisi 22,5 gr pars, 10 gr tepung, dan 10 ml air. Kemudian dibentuk bulatan dengan berat 42,5 gr^{9,10}. Sedangkan pada induksi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa diberikan dengan komposisi 20 gr PARS, 10 gr tepung terigu, 0,8 gr kolesterol, 0,08 gram kolat, 100 ml air^{9,10}, 1 cc minyak babi dan 4 gr fruktosa¹¹ yang kemudian dicampurkan semua bahan diet, lalu dibentuk bulatan dengan berat masing masing 45 g.

Pembuatan Ekstrak Air Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Daun sirsak yang telah disunting dengan kriteria tidak rusak dan masih mengkilap, kemudian dicuci dan dikeringkan tanpa melalui sinar matahari langsung. Daun yang kering dengan kadar air 10% digiling dan dijadikan serbuk. Serbuk daun sirsak kemudian dilakukan proses infusa, selama 15 menit dimasukkan kedalam panci yang dipanaskan pada suhu 90°C. Serbuk daun sirsak kering dicampur dengan air, dengan perbandingan serbuk daun sirsak : air adalah 1 : 10. Larutan infusa kemudian didinginkan dan disaring dengan kertas whattman no 1¹². Filtrat lalu divakum pada suhu

40°C hingga volume mencapai 1/3 bagian¹³. Kemudian, dilakukan *freeze drying* supaya kandungan air menjadi hilang dan untuk membentuk ekstrak dalam bentuk serbuk kering^{14,15}. Pembagian ekstrak dilakukan dengan 3 dosis, yaitu pada KP1 sebesar 100 mg/kgBB, KP2 sebesar 200 mg/kgBB, dan KP3 sebesar 400 mg/kgBB. Pemberian ekstrak dilakukan selama 70 hari bersamaan dengan induksi diet tinggi lemak tinggi fruktosa.

Pengambilan Sampel Ginjal

Tikus wistar jantan yang merupakan hewan coba diberi anastesi kemudian dibedah pada bagian abdomen. Setelah itu, dilakukan pengambilan organ ginjal dan dibersihkan dengan PBS. Kemudian dimasukkan kedalam klip besar yang telah diberi marker dan dilakukan analisa SOD dan MDA jaringan ginjal kanan di lab farmakologi FK UB.

Pengukuran Sampel SOD Jaringan Ginjal Kanan

Pengukuran SOD dilakukan berdasarkan metode Bannister dan Calabrese (1987), dimana akan terjadi reaksi antara *xanthine oxidase* (XO) dengan substratnya yang akan membentuk superoksida. Pengukuran SOD dilakukan secara tidak langsung dengan Nitro Biru Tetrazolium (NBT). Sampel diambil sebanyak 200 mg dan digerus sampai homogen, kemudian dimasukkan dalam tabung dan ditambahkan Asam Etilen Diamin Tetra Asetat (EDTA) 100 mM 200 uL, NBT 25 U 100 uL, *xanthine* 25 U 100 uL, dan XO 1 U 100 uL. Setelah tercampur sampai homogen, dilakukan inkubasi selama 30 menit dengan suhu 30°C, lalu sentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm, ambil supernatan dan tambahkan aquabidest sampai volume 3 ml, lalu baca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm¹⁶.

Pengukuran Sampel MDA Jaringan Ginjal Kanan

Organ ditimbang dengan neraca statistik sebanyak 200 mg kemudian digerus sampai homogen. Setelah organ yang digerus homogen, dibagi menjadi 2 tabung, yakni tabung pertama sebagai tes dan tabung kedua sebagai kontrol. Tambahkan buffer tris KCl sebanyak 0,5 ml pada masing-masing tabung. Pada kedua tabung ditambahkan 100 uL TCA 100% dan 250 uL HCl 0,1 N. Kemudian pada tabung tes ditambahkan 100 uL Na-thiobarbituric acid 10%.

Setelah itu, kedua tabung dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 105°C selama 25 menit, lalu diamkan dalam suhu ruang. Setelah kedua tabung dingin, sentrifugasi kedua tabung selama 10 menit dengan kecepatan 2000-3000 rpm. Apabila sentrifugasi telah selesai, ambil supernatan dan tambahkan aquabidest hingga volume 3 ml, lalu baca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm dan kondisi asam dengan absorbansi maksimal 532 nm¹⁶.

Teknik Analisa Data

Setelah diperoleh data SOD dan MDA, maka dilakukan tabulasi data dan uji normalitas serta uji homogenitas. Lalu dilakukan uji *one way ANOVA* dengan nilai signifikansi $p < 0,005$ kemudian dilanjutkan dengan melakukan uji *LSD* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Pembahasan dan penarikan kesimpulan dilakukan berdasarkan hasil dan analisa data yang diperoleh.

HASIL PENELITIAN

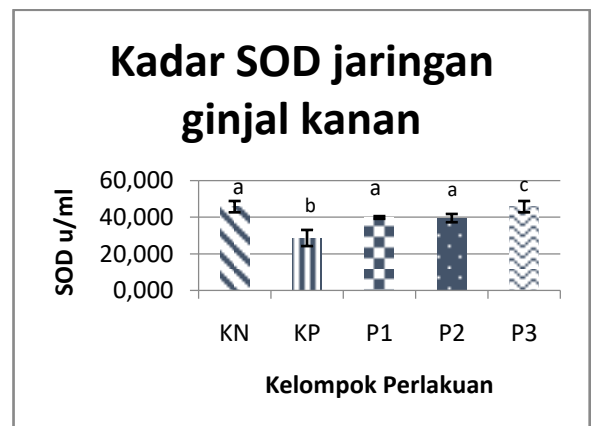
Karakteristik Sampel

Karakteristik sampel pada kelompok kontrol (KN dan KP) dan kelompok perlakuan (KP1, KP2, KP3) pada Tabel 1.

DTLF dapat menurunkan rerata asupan pakan sebesar 1,10 g dan meningkatkan rerata BB (Δ BB) sebesar 41 g pada KP apabila dibandingkan dengan KN. EADS dapat menurunkan rerata asupan pakan dan peningkatan rerata BB (Δ BB) pada KP1, KP2, KP3 apabila dibandingkan dengan KP.

Hasil Evaluasi Kadar SOD Jaringan Ginjal Kanan

Rerata kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) jaringan ginjal kanan pada kelompok kontrol (KN dan KP) dan kelompok perlakuan (KP1, KP2, KP3) pada Gambar 1



Gambar 1. Rerata Kadar SOD Jaringan Ginjal Kanan.

Gambar diatas menunjukkan data dalam rata-rata $\pm$ Standar Deviasi kadar SOD jaringan ginjal kanan dalam satuan unit/mL. Data diuji menggunakan One Way ANOVA. a; $P < 0.05$ dengan KP, KP3; b; $P < 0.05$ dengan KN, KP1, KP2, KP3; c; $P < 0.05$ dengan KP, KP1, KP2, KP3.

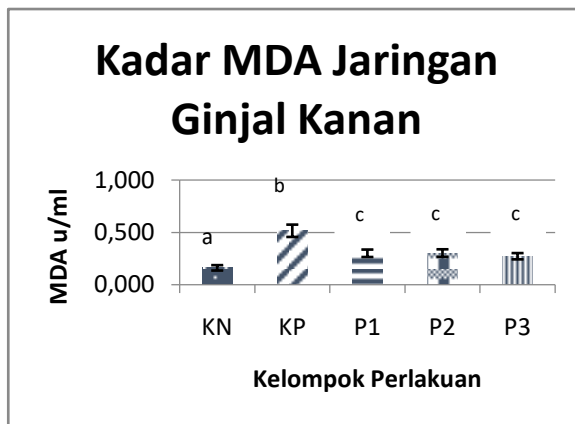
DTLF dapat menurunkan SOD secara signifikan ($p = 0,000$) pada KP sebesar $\pm 60\%$ terhadap KN. KN terdapat perbedaan signifikan ($p = 0,019$) terhadap KP3. EADS dapat menghambat penurunan SOD secara signifikan ($p = 0,000$) pada KP1 ($\pm 40\%$), KP2 ($\pm 40\%$), dan KP3 ($\pm 60\%$). Pada EADS yang diberikan KP3 didapatkan perbedaan signifikan terhadap KP1 ($p = 0,007$), dan didapatkan perbedaan signifikan terhadap KP2 ($p = 0,003$).

Komponen	KN	KP	KP1	KP2	KP3
Jumlah tikus	5 ekor	5 ekor	5 ekor	5 ekor	5 ekor
Jenis kelamin	Jantan	jantan	jantan	jantan	jantan
Lama adaptasi	70 hari	70 hari	70 hari	70 hari	70 hari
Diet	normal	TLTF	TLTF	TLTF	TLTF
Dosis EADS	-	-	100 mg/kgBB	200 mg/kgBB	400 mg/kgBB
Rerata asupan pakan	25,63 g	24,53 g	26,71 g	26,51 g	26,44 g
BB awal*	186,6 g	211 g	192 g	217,4 g	191,2 g
BB akhir*	264,4 g	329,8 g	327,4 g	382,2 g	363,2 g
Rerata BB (Δ BB)	77,8 g	118,8 g	135,4 g	164,8 g	172 g

Tabel 1. Karakteristik sampel. Tabel diatas menunjukkan data dalam rata-rata pada KN, KP, KP1, KP2, dan KP3. Dengan keterangan: *: data diperoleh dari Damayanti (2019, Unpublish)¹⁷

Hasil Evaluasi Kadar MDA Jaringan Ginjal Kanan.

Rerata kadarMDA ginjal kanan pada kelompok kontrol (KN dan KP) dan kelompok perlakuan (KP1, KP2, dan KP3) ditunjukkan pada Gambar 2



Gambar 2. Rerata Kadar MDA Jaringan Ginjal Kanan.

Gambar diatas menunjukkan data dalam rata-rata $\pm$ Standar Deviasikadar SODjaringan ginjal kanan dalam satuan unit/mL. Data diuji menggunakan One Way ANOVA. a; $P < 0.05$ dengan KP, KP1, KP2, KP3, b; $P < 0.05$ dengan KN, KP1, KP2, KP3, c; $P < 0.05$ dengan KN, KP.

DTLTF dapat meningkatkanMDA secara signifikan ($p=0,009$) pada KP sebesar $\pm 70\%$ terhadap KN. KN terdapat perbedaan signifikan ($p=0,009$) terhadap KP1, KP2, dan KP3. EADS dapat menurunkanMDA secara signifikan ($p=0,009$) pada KP1 ($\pm 40\%$), KP2 ($\pm 40\%$), dan KP3 ($\pm 50\%$). Tidak didapatkan perbedaan signifikan ($p=0,754$) pada KP1 dibandingkan KP2, dan tidak didapatkan perbedaan signifikan ($p=0,209$) pada KP3 dibandingkan dengan KP1 dan KP2.

Hasil Evaluasi Hubungan Kadar SOD dan MDA Jaringan Ginjal Kanan.

Hasil korelasi *pearson* yang dilakukan pada rerata kadar SOD dan MDA jaringan ginjal kanan dapat ditunjukkan pada Tabel 2.

Korelasi*	-0,743
Sig**	0,000
N	25

Tabel 2. Hasil Korelasi Pearson. Tabel diatas menunjukkan data hubungan antara kadar SOD dan MDA

jaringan ginjal kanan. *: menunjukkan nilai P dan jenis hubungan, **: menunjukkan perbedaan signifikan.

Terdapat perbedaan signifikan ($p=0,014$) dan hubungan negatif kuat ($p=-0,743$) antara kadar SOD dan kadar MDA jaringan ginjal kanan. Maka didapatkan bahwa semakin tinggi kadar SOD maka kadar MDA akan semakin rendah.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Pada penelitian ini menggunakan hewan coba tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan dengan kisaran berat badan awal 175-200 gram, yang didapatkan secara biakan lokal dari *animal house*, Laboratorium Patotologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pemilihan tikus Wistar jantan pada penelitian ini disebabkan dapat diperoleh dan dipelihara dengan mudah. Selain itu, juga mudah beradaptasi terhadap lingkungan, serta mempunyai banyak persamaan dengan manusia, baik fisiologi ataupun struktur anatomi. Pemilihan kelamin jantan pada tikus Wistar dikarenakan untuk menghindari terjadinya pengaruh hormon estrogen yang dapat mempengaruhi jalur metabolisme lipid^{9,18}.

Tikus Wistar jantan pada penelitian ini berusia sekitar 8-10 minggu untuk mencegah usia tikus terlalu tua dan menghindari terjadinya kematian pada tikus dalam proses penelitian. Berdasarkan penelitian dari Sangupta *et.al*, (2013) menyatakan bahwa tikus usia 8-10 minggu setara dengan manusia dengan usia sekitar 18 tahun¹⁹. Pada masing masing hewan coba dipelihara dengan sebuah kandang yang berbeda untuk mengevaluasi asupan makanan setiap hari pada masing masing tikus serta mencegah stress dan penularan penyakit pada hewan coba²⁰.

Penelitian ini dilakukan selama 70 hari (10 minggu) untuk membuat efek kronis. Total hewan coba yang dipakai pada penelitian adalah 30 tikus wistar jantan yang dibagi dalam 5 kelompok yang masing masing kelompok berdasarkan rumus Federer terdiri atas minimal 5 tikus, tetapi pada penelitian ini ditambahkan 1 tikus untuk cadangan pada penelitian apabila ada tikus yang masuk kriteria eksklusi.

Diet yang digunakan pada penelitian dibagi menjadi 2 yaitu diet normal dan diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa. Pemberian asam kolat selama

8 minggu mempunyai efek meningkatkan kadar LDL dan menurunkan HDL. Sedangkan pemberian kolesterol akan meningkatkan kadar kolesterol didalam darah^{9,21}. Fruktosa diberikan sebanyak 10% dari total pakan yaitu sebesar 4 gr karena pada manusia, *intake* fruktosa yang tinggi yaitu apabila lebih dari 10% dari total kalori yang dibutuhkan¹⁰.

Rerata berat badan awal tikus pada KN, KP, KP1, KP2 dan KP3 tidak didapatkan perbedaan yang signifikan. Hasil serupa terjadi pada rerata peningkatan berat badan (Δ BB) yang dilakukan pengukuran berat badan tikus setiap minggu. Hal tersebut dikarenakan terdapat penekanan pusat lapar pada KP dan terdapat sekresi leptin yang dipicu ekstrak air daun sirsak dapat menyebabkan penurunan nafsu makan¹⁷.

Pengukuran asupan makan pada KP1, KP2, KP3 terhadap KP didapatkan perbedaan signifikan ($p < 0.05$). KP didapatkan mengalami penurunan jika dibandingkan dengan KP1, KP2, dan KP3. Hal ini terjadi karena pemberian diet tinggi lemak akan menyebabkan peningkatan sekresi kolesistokinin dan GLP-1 yang dapat menyebabkan penekanan pusat lapar. Sehingga didapatkan tikus yang diinduksi diet TLTF pada kelompok positif (KP) terjadi penurunan asupan makan¹⁷.

Efek Pemberian Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa terhadap Kadar SOD Jaringan Ginjal Kanan

Pemberian DTLF kelompok KN dan KP didapatkan adanya perbedaan signifikan ($p = 0.000$) pada kadar SOD jaringan ginjal kanan. Perbedaan signifikan tersebut disebabkan karena perbedaan pemberian diet. Pada kelompok KN diberikan diet pakan normal, sedangkan pada kelompok KP diberikan diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa. Perbedaan signifikansi antara KP dan KN pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Jarukamjorn (2016) bahwa induksi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa dapat menyebabkan penurunan antioksidan²².

Diet tinggi lemak dapat menyebabkan dislipidemia karena terjadi perubahan konsentrasi lipid dan perubahan dari fraksi lipoprotein. Perubahan lipid akan menjadi salah satu faktor penyebab stress oksidatif sehingga terjadi peningkatan ROS yang mengakibatkan pertahanan antioksidan menjadi berkurang. Penelitian yang dilakukan Noeman *et.al.*, (2011) membuktikan bahwa terdapat peningkatan berat badan tikus yang diinduksi diet tinggi lemak dan terdapat peningkatan yang signifikan kadar serum trigliserida total, kolesterol total, kadar LDL, dan penurunan kadar HDL dibandingkan dengan kontrol²³.

Hasil yang sama dibuktikan dari hasil penelitian Maulana, (2019) yang membuktikan didapatkan perbedaan signifikan antara KP dan KN pada kadar LDL, dan kadar HDL. Dimana terjadi peningkatan kadar LDL dan terjadi penurunan kadar HDL. Hal ini terjadi akibat dari

induksi DTLF dapat menyebabkan perubahan profil lipid²⁴. Peningkatan kadar LDL pada tikus yang diinduksi dengan DTLF yaitu diakibatkan karena penambahan kolesterol, asam kolat dan minyak babi pada pakan²⁵.

Minyak babi memiliki kandungan kolesterol yang lebih tinggi dibandingkan dengan minyak hewani lainnya. Penurunan kolesterol HDL pada kelompok kontrol positif disebabkan karena adanya hiperkolesterolemia. Namun mekanisme hiperkolesterolemia dapat menyebabkan penurunan dari HDL masih belum diketahui dengan pasti. Selain itu, penambahan dari asam kolat dapat mengubah gambaran lipoprotein plasma²⁵.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Heriansyah, (2013) bahwa diet tinggi lemak dapat menyebabkan peningkatan LDL dan menyebabkan penurunan HDL pada kelompok kontrol positif pada minggu ke 8. Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Heriansyah, (2013) menyebutkan bahwa semakin lama pemberian diet tinggi lemak menyebabkan kadar kolesterol HDL semakin turun menjauhi normal²⁵.

Efek Pemberian Ekstrak Air Daun Sirsak terhadap Kadar SOD Jaringan Ginjal Kanan pada Tikus dengan DTLF

Terdapat perbedaan signifikan ($p = 0.000$) dan peningkatan rerata kadar SOD jaringan ginjal kanan pada kelompok KP1 (dosis 100 mg/kgBB), KP2 (dosis 200 mg/kgBB), dan KP3 (400 mg/kgBB) dibandingkan dengan KP. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air daun sirsak mempunyai efek sebagai antioksidan melalui menghambat penurunan SOD. Hal yang sama juga didapatkan pada penelitian Omoregie, (2016) bahwa pemberian ekstrak air daun sirsak dapat menghambat penurunan kadar SOD secara signifikan²⁶.

Sirsak memiliki beberapa metabolik sekunder yang muncul bergantung terhadap pelarut yang digunakan dan bagian yang digunakan seperti steroid, terpenoid, glikosida, alkaloid, flavonoid, komponen fenolik, dan saponin. Pada ekstrak air daun sirsak memiliki komponen glikosida, alkaloid, flavonoid, saponin, dan komponen fenolik²⁷. Hal ini dikarenakan ekstrak air menarik komponen senyawa fenol, alkaloid, dan terpenoid. Berdasarkan penelitian dari Baskar *et.al.*, (2007) mengkonfirmasi bahwa flavonoid dan tanin merupakan komponen fenolik yang berperan dalam menangkal radikal bebas²⁸. Komponen fenolik bertanggung jawab terhadap aktifitas antioksidan yang merupakan senyawa fitokimia utama dalam tanaman²⁹.

Pada penelitian yang dilakukan Sugito, (2012) menjelaskan bahwa flavonoid sebagai antioksidan dapat meningkatkan enzim SOD. Komponen fenolik akan menginduksi gen enzim antioksidan dan kemudian akan menginduksi *Antioxidant Receptor Element* (ARE). Gen enzim antioksidan

diduga dapat dipicu oleh komponen fenolik³⁰. Fenolik dapat berperan sebagai antioksidan dengan caramelalui mekanisme pereduksi, pengkkelat logam, peredam terbentunya oksigen singlet, dan berperan sebagai pendonor elektron³¹.

Efek Pemberian Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa terhadap Kadar MDA Jaringan Ginjal Kanan

Pemberian diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa menyebabkan peningkatan kadar MDA jaringan ginjal kanan apabila dibandingkan dengan KN. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Noeman *et.al.*, bahwa induksi diet tinggi lemak yang menyebabkan obesitas dapat terjadi aktivitas enzim antioksidan yang menurun dan terjadi peningkatan kadar *Malondialdehida* (MDA)²³. Stress oksidatif dapat terjadi akibat produksi ROS berlebih yang terjadi akibat beberapa faktor, seperti metabolisme oksigen, reperfusion oksigen saat hipoksia, oksidasi mioglobin dan hemoglobin³². Produksi ROS yang berlebihan akan memicu peroksidasi lipid yang dapat menyebabkan *ruptur cell membrane*³³.

Asam lemak bebas yang berlebih akan mengakibatkan oksidasi *Free Fatty Acid* (FFA) dan oksidasi asetil koenzim A pada siklus *tricarboxylic acid* (TCA) dan menghasilkan donor elektron *Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen* (NADH) dan *Flavin Adenin Dinukleotida Hidrogen* (FADH2) sehingga terbentuklah *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berlebih. Hal ini akan menyebabkan kerusakan sel yang dapat dilihat dari terbentuknya MDA sebagai marker kerusakan sel³⁴.

Efek Ekstrak Air Daun Sirsak terhadap Kadar MDA Jaringan Ginjal Kanan pada Tikus dengan DTLF

Rerata kadar MDA jaringan ginjal kanan pada KP1, KP2, dan KP3 mengalami penurunan dan terdapat perbedaan signifikan ($p=0,009$) dengan KP. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air daun sirsak pada dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB dapat menurunkan kadar MDA jaringan ginjal kanan.

MDA terbentuk saat tidak terjadi keseimbangan antara pro-oksidan (ROS) dengan antioksidan yang diakibatkan radikal hidroksil dan *peroksinitrit* yang berlebihan menyerang membran sel dan lipoprotein untuk membentuk peroksidasi lipid. Maka dari itu, dibutuhkan antioksidan yang bisa menetralkan ROS³⁵.

Pada ekstrak air daun sirsak, senyawa flavonoid memiliki efek sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksi fenolik yang mampu menangkap radikal bebas³⁶. Selain itu, flavonoid dapat menstabilkan ROS dengan bereaksi terhadap senyawa reaktif radikal sehingga dapat menghambat oksidasi LDL³⁷ serta mampu menangkap radikal bebas melalui sumbangan atom

hidrogen. Jumlah gugus fungsi pada flavonoid dapat mempengaruhi mekanisme antioksidan³⁸.

Efek Ekstrak Air Daun Sirsak terhadap Hubungan Kadar SOD dan MDA Jaringan Ginjal Kanan pada Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa

Pada hasil penelitian induksi DTLF pada tikus wistar jantan yang diberikan EADS, didapatkan perbedaan signifikan ($p=0,000$) dan hubungan negatif kuat ($p=-0,743$) kadar SOD dan MDA jaringan ginjal kanan pada uji korelasi Pearson. Penelitian yang dilakukan oleh Novita, (2018) juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kadar SOD dan kadar MDA serta terdapat hubungan yang berlawanan antara kadar SOD dan kadar MDA jaringan ginjal kanan³⁹.

Pada kelompok yang diinduksi DTLF, didapatkan peningkatan kadar MDA lebih tinggi secara signifikan dibanding kelompok tikus normal dikarenakan terdapat peningkatan ROS yang bereaksi dengan membran sel membentuk peroksidasi lipid⁴⁰. Peningkatan ROS dapat menyebabkan stress oksidatif sehingga dapat terjadi kerusakan dari DNA, protein, dan lemak sehingga dibutuhkan antioksidan untuk menetralkan adanya radikal bebas⁴¹. Selain itu, didapatkan penurunan kadar SOD dikarenakan terjadi aktivitas kompensasi SOD sebagai antioksidan untuk melindungi membran sel dari terjadinya oksidasi oleh radikal oksigen⁴². Sedangkan pada kelompok yang diberi EADS, terdapat penurunan MDA dan penghambatan penurunan SOD. Hal ini dikarenakan EADS memiliki flavonoid³⁶ dan komponen fenol yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan³¹.

KESIMPULAN

Pemberian Ekstrak Air Daun Sirsak pada tikus model dislipidemia dapat menghambat penurunan *Superoxide Dismutase* (SOD) dan dapat menurunkan kadar *Malondialdehida* (MDA) pada jaringan ginjal kanan. Penghambatan penurunan SOD dan penurunan kadar MDA tertinggi terdapat pada KP3 dengan dosis 400 mg/kgBB.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, guna pengembangan lebih lanjut peneliti menyarankan melakukan penelitian lanjutan untuk membuktikan apakah peningkatan kadar SOD disebabkan karena efek peningkatan sintesa SOD, dengan mengukur ekspresi mRNA SOD menggunakan PCR.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah memberikan dana penelitian, dan tim penelitian yang telah membantu pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsana, Putu Moda., Rosandi, Rulli., Manaf, Asman., *et.al.*,. Panduan Pengelolaan Dislipidemia di Indonesia – 2015. Pb. Perkeni. 2015. P.4.
- Gao *et.al.*, *Dyslipidemia in Rural Areas of North China: prevalence, characteristtic, and predictive value*. Lipids in Health and Disease. 2016.**15**(154)
- Tim Biomedis Riset Kesehatan Dasar, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Laporan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Bidang Biomedis. 2013. **20**:5.
- Nielsen, Flemming. *Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors*. Denmark: Clinical Chemistry. 1997. **43**(7):1209-1214.
- Murdopo. Obat Herbal Tradisional. Warta Ekspor. Ditjen PEN/MJL/005/9/2014. 2014.2.
- Adeyemi D., Adewole SO., Komolafe OA., Obuotor EM. Anti Hyperlipidemic Activities of *Annona muricata* (Linn). African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines 2009.**7**(1).
- Wahab, Siti Mariam Abdul., Haque, Md. Areeful, and Arshad, Laiba. *Exploring the Leaves of Annona muricata L. as a Source of Potential Anti-inflammatory and Anticancer*. Frontiers in Pharmacology. 2018.**9**(661):3
- Yuniarti, L. Potensi ekstrak air daun sirsak sebagai penurun kolesterol dan pengendali bobot badan. 2016; **4**(2); 82–87.
- Murwani, S., Alli, M., & Muliarta, K. Diet Aterogenik pada Tikus Putih (*Rattus novvergicus strain wistar*) sebagai Model Hewan Aterosklerosis, *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2006. **22**. 7.
- Lozano I, Van der Werf R, Bietiger W, Seyfritz E, Peronet C, et al. High-Fructose and High Fat Diet Induced Disorders in Rats: Impact on Diabetes Risk, Hepatic and Vascular Complications Nutrition & Metabolism. 2016.**13**.15
- Bantle JP. *Dietary Fructose And Metabolic Syndrome And Diabetes*. J Nutr. 2009.**139**.1263S-1268S.
- Félix-silva, J., Giordani, R. B., Silva-jr, A. A., Zucolotto, S. M., & Fernandes-pedrosa, M. D. F. A Review of Traditional Uses , Phytochemistry , Pharmacology , and Toxicology of This Medicinal Plant. *Hindawi Publishing Corporation*. 2014.1–32.
- Oyedejia O , Festus Osho Taiwob , Olukayode Solomon Ajayic , Femi Ayinded , Matthew Oziegbee , Charlotte Olusanu Oseghare. Biocidal and Phytochemical Analysis of Leaf Extracts of *Annona muricata* (Linn.) , *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*. 2015.**24**.76-87.
- Mulinacci, N., Ieri, F., Ignesti, G., Romani, A., Michelozzi, M., Creti, D., Calamai, L. The freezing process helps to preserve the quality of extra virgin olive oil over time : A case study up to 18 months. *Food Research International*. 2013. **30**, 8.
- Yi, Weiguang., Wetzstein, Hazel Y., Effects of Drying and Extraction Conditions On the Biochemical and Biological Activity of Selected Herbs. *HortScience: a publication of the American Society for Horticultural Science*. 2011. **46**.
- Permatasari, Nur., Nugrahenny, Dian, dan Ferrida. Analisis Radikal Bebas dan Antioksidan. Patologi Anatomi FKUB. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. 2012.
- Damayanti, Dini S. Efek Ekstrak Air Daun Sirsak (EADS) Terhadap Berat Badan , Kadar Leptin dan TNF alfa serum Tikus dengan Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktose (TLTF). Desertasi. Universitas Brawijaya. Malang. 2019. *Unpublished*.
- Tambunan, S., Enikarmila, A., Zulkifli, M., Ismawati. Histopatologi Aorta Torasika Tikus Putih (*Rattus novvergicus strain wistar*) Jantan Setelah Pemberian Diet Aterogenik Selama 12 Minggu. 2014.**2**.
- Sengupta, P. The Laboratory Rat : Relating Its Age With Human ' s. *International Journal of Preventive Medicine*. 2013.**4**. 624–630.
- Triliana, R., Pengaruh Terapi Suplementasi Sterol Tanaman (Fitosterol) pada Profil Lemak, Kadar Alipoprotein (Apo) B-48, dan Penghitungan Sel Busa Aorta Tikus Pasca Diet Aterogenik, Tesis. Magister Kesehatan Universitas Brawijaya. Malang. 2005.
- McNamara. Donald J. Dietary Cholesterol and Atherosclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2000. 310-320.
- Jarukamjorn, Kanokwan, Jearapong Nattharat, and Pimson Charinya, A High-Fat, High-Fructose Diet Induces Antioxidant Imbalance and Increases the Risk and Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice, *Scientifica*. 2016
- Noeman, Saad A., Hamooda, Hala E, and Baalash, Amal A. Biochemical Study of Oxidative Stress Markers in the Liver, Kidney and Heart of High Fat Diet Induced Obesity in Rats. *Diabetology & Metabolic Syndrome Journal*. 2011. **3**:17.
- Maulana, Adnanda. Efek Infusa Daun Sirsak terhadap Kadar LDL dan HDL Serum Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Malang. 2019. *Unpublished*.

25. Heriansyah, Teuku. Pengaruh Berbagai Durasi Pemberian Diet Tinggi Lemak Terhadap Profil Lipid Tikus Putih (*Rattus Novergicus* Strain Wistar) Jantan. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 2013. **13**(3):147
26. Omoregie, FO., Okolie, NP, and Abu, OD, Effects of Aqueous Extract of *Annona muricata* Leaves on Cyanide – induced Toxicity in New Zealand Rabbits. *Journal of Experimental Biology*. 2016. **16**(4):144
27. Saha, Rajsekhar. Pharmacognosy and pharmacology of *Annona squamosa*: A review. *International Journal Of Pharmacy & Life Sciences*. 2011. **2**(10): 1183-1189
28. Baskar R, Rajeswari V, Kumar TS. In vitro antioxidant studies in leaves of *Annona* species. *Indian J Exp Biol*. 2007. **45**:480–485
29. Javanmardi J, Stushnoff C, Locke E, Vivanco JM. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chem*. 2003.**83**:547–550
30. Sugito. Aktivitas Antioksidan Biologis Sorgum Dan Jewawut Serta Aplikasinya Pada Pencegahan Penyakit Degeneratif. *Jurnal Pembangunan Manusia*, 2012. **6**, 1.
31. Karadeniz, F., Burdurlu, H.S., Koca, N., Soyer, Y., *Antioxidant Activity of Selected Fruits and Vegetables Grown in Turkey*, *Turk. J. Agric For.*, 2005. **29**, 297-303
32. Finaud, J., Lac, G., dan Filaire, E. *Oxidative stress, relationship with exercise and training*. *Journal Sports Med*, 2006. **36**(4): 327-358
33. Szocs, K. *Endothelial dysfunction and reactive oxygen species production in ischemia/reperfusion and nitrate tolerance*. *Gen Physiol Biophys*. 2004. **23**: 265-295
34. Tangvarasittichai, Surapon. *Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus*. *World J Diabetes*. 2015. **6**(3): 456-480.
35. Pham-Huy LA, He H,& Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Inter- national Journal of Biomedical Science*, 2008. **4**(2),89—96
36. Kumaran, A., and R.J. Karunakaran. Activity-Guided Isolation and Dentification of Free Radical-Scavenging Components From an Aqueous Extract of *Coleus Aromaticus*. Department of Chemistry, Madras Christian College, Tambaram, Chennai, Tamil Nadu, India.2005.
37. Arifin, Bustanul, dan Ibrahim, Sanusi. *Structure, Bioactivity, and Antioxidant of Flavonoid*. *Jurnal Zarah*, 2018. **6**(1):21-29
38. Korkina, L.G., Afanas'ev. I.B., *Antioxidant and Chelating Properties of Flavonoids*. *Adv Pharmacol*. 1997. **38**. 15163
39. Novita, Widya. *Efek Ekstrak Infusa Daun Sirsak (*Annonamuricata* Linn) terhadap Kadar SOD (Superoxide Dismutase) dan MDA (Malondialdehyde) Gaster Tikus Wistar yang Diinduksi Indometasin*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Malang. 2018. *Unpublished*.
40. Singhal S, Agarwal DK, Srivastava U. Effect of immobilisation stress on lipid profile. *Indian J Physiol and Allied Sci*. 1997.**51**:138-143.
41. Moghadamtousi, S.Z., Rouhollahi, E., Hajrezaie, M., Karimian, H., Abdulla, M.A. and Kadir, H.A. *Annona muricata* leaves accelerate wound healing in rats via involvement of hsp70 and antioxidant defence. *Int J Surg*. 2015.**18**:110–117.
42. Enikarmila, A., Indriati, P., Ani, R.P., *Malondialdehyde, reduced glutathione, and catalase activity of rat kidney tissue in chronic hypoxia*. *Majalah kedokteran Indonesia*. 2009. **59**(12):596-600