

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) TERHADAP KADAR ENZIM LDH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI ASAP ROKOK

Mu'minnisa Bahrin, Sukamto S. Mamada, Subehan Lallo, Sumarheni

Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar

Kata Kunci :

Asap rokok, *Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe, Laktat Dehidrogenase (LDH)

ABSTRAK

Partikel-partikel asap rokok diketahui mengandung tingkat radikal bebas tinggi yang dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel organ-organ di dalam tubuh. Peningkatan enzim Laktat dehidrogenase (LDH) dapat digunakan sebagai biomarker pada saat terjadi kerusakan atau kematian sel tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek terapi dari ekstrak temu putih (ETP) terhadap kadar enzim LDH tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi asap rokok. Sebanyak 12 ekor tikus diinduksi asap rokok selama 30 menit dengan menggunakan 10 batang rokok perhari kemudian diberikan vitamin C dosis 100mg/ml sebagai kontrol positif, ETP dengan dosis 70mg/200gBB dan dosis 105mg/200gBB. Penginduksian dilakukan selama 30 hari kemudian dilakukan pengambilan sampel darah. Pengukuran kadar enzim LDH menggunakan reagen kit diagnostik pada instrument ABX Pentra 400. Uji Oneway ANOVA menunjukkan bahwa pemberian ETP secara peroral pada hewan coba tikus menunjukkan penurunan kadar LDH pada setiap dosis yang digunakan yaitu 70mg/200gBB dan 105mg/200gBB dengan perbedaan secara nyata dibandingkan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ETP dosis 70 mg/200gBB dan 105mg/200gBB memberikan efek terapi dengan menurunkan kadar enzim LDH pada tikus yang diinduksi asap rokok.

PENDAHULUAN

Laktat dehidrogenase (LDH) adalah enzim sitoplasmik yang terdapat pada hampir semua sistem organ utama tubuh. Aktivitas utama enzim ini adalah mengkatalisis konversi asam laktat menjadi asam piruvat dan sebaliknya, dalam proses metabolisme glukosa (1,2). Meskipun kurang spesifik, namun peningkatan enzim LDH dapat digunakan sebagai biomarker pada saat terjadi kerusakan atau kematian sel. Pelepasan enzim LDH ke pembuluh darah dapat ditemukan pada kondisi iskemia, kelebihan panas atau dingin, kelaparan, dehidrasi, cedera, paparan racun bakteri maupun setelah menelan obat-obatan tertentu, atau keracunan senyawa kimia (3,4,5).

Salah satu kebiasaan atau gaya hidup yang dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel dalam tubuh yaitu merokok. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) tahun 2013 menunjukkan bahwa prevalensi perokok di Indonesia meningkat menjadi 36,3% dan sekitar 75% masih merokok di dalam rumah bersama anggota keluarga yang lain. Oleh karena itu, terdapat lebih dari 97 juta orang Indonesia yang tidak merokok terkena paparan asap rokok dan dapat membunuh setidaknya 225.000 orang setiap tahunnya (6). Asap rokok dapat merusak hampir semua organ di dalam tubuh dan Sifat sitotoksitas dari asap rokok menyebabkan penyakit kronis yang mematikan. Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Rodgman dan Perfetti (2009) menyatakan bahwa terdapat lebih dari 5000 komponen kimia pada tembakau. 93 bahan kimia yang dalam rokok berbahaya bagi manusia (7,8). Hal ini dibuktikan dengan tes sitotoksitas in vitro seperti uji viabilitas sel serta uji kerusakan sel yang menunjukkan bahwa asap

rokok dan konstituennya menyebabkan efek toksik yang luas dalam kultur sel maupun jaringan. Partikel-partikel asap rokok mengandung tingkat radikal bebas yang tinggi atau potensi oksidatifnya sangat kuat yang menghasilkan kerusakan sel termasuk kerusakan integritas sel, stress oksidatif, peradangan maupun kerusakan DNA, RNA, lipid dan protein (9,10,11).

Antioksidan dapat memperbaiki sel-sel yang rusak dengan cara menetralkan radikal bebas penyebab penyakit kronis atau kanker. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Seifried HE et al (2007) antioksidan telah dianggap sebagai terapi yang menjanjikan untuk pencegahan dan penanganan kondisi stres oksidatif yang dipicu oleh peningkatan ROS. Salah satu tanaman yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan yaitu *Curcuma zedoaria* dari famili Zingiberaceae. *Curcuma zedoaria* atau temu putih telah digunakan secara tradisional sebagai antimikroba, antialergi, antiinflamasi, dan antinyeri (12). Beberapa studi menunjukkan bahwa senyawa golongan fenolik yang terdapat dalam *Curcuma zedoaria* yaitu kurkumin memiliki aktivitas antioksidan yang sangat baik (13,14,15). Penelitian yang dilakukan oleh Saetung et al (2004) menunjukkan bahwa IC50 ekstrak etanol temu putih yaitu 6,05 µg/ml dan 55,50 µg/ml masing-masing terhadap sel kanker paru dan sel normal yang berarti berpotensi tinggi melawan perkembangan sel kanker tetapi relatif aman pada sel normal. Penelitian ini juga telah menentukan bahwa nilai LD50 ekstrak temu putih sebesar 1000 mg/kgBB. Pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih pada dosis 500 mg/kgBB dan

Masuk 01-11-2019

Revisi 15-11-2019

Diterima 19-11-2019

Korespondensi

Sumarheni

sumarheni@unhas.ac.id

Copyright

© 2019 Majalah Farmasi Farmakologi Fakultas Farmasi · Makassar

Diterbitkan tanggal

19-11-2019

Dapat Diakses Daring

Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



dosis 750 mg/kgBB mampu menghambat proses karsinogenesis pada hewan coba mencit dengan persentase masing-masing 73,33% dan 77,78% (16). Dengan demikian pemberian ekstrak temu putih diperkirakan dapat mencegah dan mengatasi kerusakan atau kematian sel akibat paparan asap rokok yang diamati berdasarkan perubahan kadar enzim LDH darah.

METODE PENELITIAN

Preparasi Ekstrak Temu Putih (ETP)

Sampel rimpang temu putih diambil dari *Kabupaten Sidrap, Provinsi Sulawesi Selatan*, kemudian dideterminasi di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA Universitas Negeri Makassar.

Pembuatan simplisia rimpang temu putih yang akan digunakan dalam proses ekstraksi dilakukan dengan cara, rimpang disortasi basah lalu dicuci dengan air mengalir, diiris tipis dengan ketebalan 3-5 mm lalu ditimbang sebanyak 500 g-1000 g, selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan oven simplisia pada suhu 40^o-60^oC.

Simplisia rimpang temu putih selanjutnya digiling lalu diayak menggunakan ayakan nomor 18 hingga diperoleh serbuk kasar, dilanjutkan dengan proses ekstraksi, yaitu metode maserasi atau perendaman dengan pelarut etanol 70%, satu bagian serbuk simplisia (300 g) dalam 10 bagian pelarut. Sebelum dilakukan perendaman, simplisia dibasahi terlebih dahulu menggunakan pelarut etanol 70% hingga terbasahi sempurna kemudian ditambahkan sisa pelarut. Proses maserasi dilakukan selama 1 hari sambil sesekali diaduk. Maserat disaring dengan kain saring kemudian dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali dengan pelarut yang sama selama 2 hari. Ekstrak cair yang didapatkan kemudian ditampung, selanjutnya dilakukan proses pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan pengeringan dengan desikator sampai diperoleh ekstrak kental (17).

Pemberian Dosis Ekstrak Temu Putih (ETP)

Dosis ETP yang diberikan untuk mencit yaitu 500 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB (18). Dosis tersebut dikonversikan kedalam dosis untuk hewan coba tikus, sehingga didapatkan dosis 70 mg/200gBB tikus dan 105 mg/200gBB tikus. ETP diberikan dalam bentuk suspensi 7% dan 10,5% secara p.o.

Penggunaan Hewan Coba

Kelayakan etik penelitian penggunaan hewan coba ini mendapat persetujuan di Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dengan No. Surat 373/H4.8.4.5.31/PP36-KOMETIK/2018 (lampiran 4). Hewan coba yang akan digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 12 ekor dengan bobot badan berkisar 150-250 g ditempatkan di dalam kandang dengan asupan makanan dan air setiap harinya secara ad libitum. Sebelum dilakukan penelitian tikus diadaptasikan selama 7 hari.

Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol negatif dengan pemaparan asap rokok dan pemberian larutan koloidal NaCMC 1%. Kelompok 2 merupakan kelompok kontrol positif, yaitu pemberian pemaparan asap rokok dan pemberian vitamin C dan NaCMC 1%. Kelompok 3 merupakan kelompok pemberian pemaparan asap rokok dan ETP 70 mg/200gBB. Kelompok 4 merupakan kelompok pemberian pemaparan asap rokok dan ETP 105 mg/200gBB.

Pemberian NaCMC, ETP, dan vitamin C diberikan secara per oral. Perlakuan hewan coba dilakukan selama 30 hari.

Pemaparan Asap Rokok

Pemberian induksi asap rokok pada hewan coba dilakukan didalam *smoking chamber*, sesuai prosedur penelitian yang dilakukan Sugeng et al (2010), dengan modifikasi ukuran *smoking chamber* yaitu 50 x 60 x 40 cm (19). Rokok merek 'X' yang dipaparkan pada hewan coba merupakan rokok kretek tanpa filter dan mengandung 39 mg tar dan 2,5 mg nikotin. Tikus dipaparkan asap rokok setiap hari sebanyak 10 batang rokok selama kurang lebih 30 menit. Pemaparan asap rokok diberikan selama 30 hari berturut-turut.

Evaluasi Kadar Enzim LDH

Sebelum diberi perlakuan, pada hari ke-0 darah diambil terlebih dahulu melalui vena lateral pada ekor tikus untuk dijadikan sebagai kadar enzim LDH awal rikus. Selama perlakuan dilakukan, bobot badan tikus ditimbang secara berkala dan dilakukan pengecekan setiap hari. Setelah itu, darah kemudian diambil kembali melalui vena lateral pada ekor tikus untuk diukur kadar enzim LDH akhir tikus pada hari ke-30. Pengukuran kadar enzim LDH dilakukan dengan menggunakan reagen diagnostic dan instrument ABX pentra 400.

Analisis Statistik

Data yang telah diperoleh dianalisis menggunakan software SPSS 20 dengan metode *Kolmogorov-sminov* untuk melihat distribusi normal data. Data yang terdistribusi normal, dilanjutkan dengan metode analisis *one-way ANOVA* kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc* menggunakan uji signifikansi *LSD*. *P-value* <0,05 dinyatakan signifikan secara statistic.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Serbuk simplisia rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) sebanyak 300 gram diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Maserat yang diperoleh selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary vacuum evaporator dan disimpan di dalam desikator hingga diperoleh hasil seperti pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe)

Bobot Simplisia (gram)	300
Bobot Ekstrak (gram)	82,3825
Rendamen Ekstrak (%)	27,461
Organoleptis	Ekstrak kental, berwarna coklat kehitaman, dan berbau khas

Berdasarkan **Gambar 1**, dapat dilihat perubahan kadar LDH awal dan kadar LDH akhir. Kadar LDH awal menunjukkan kadar LDH hewan coba sebelum diberikan perlakuan dan kadar LDH akhir menunjukkan kadar LDH hewan coba setelah 30 hari diberi perlakuan. Hasil yang diperoleh menunjukkan terjadi peningkatan kadar enzim LDH sebelum perlakuan yang melebihi batas normal kadar enzim LDH dalam darah pada kelompok 2, kelompok 3 dan kelompok 4. Hal tersebut dapat dikarenakan hewan coba mengalami keadaan yang memungkinkan peningkatan kadar enzim LDH dalam darah seperti aktivitas fisik yang berlebihan, tekanan darah rendah, aliran darah berkurang akibat respon awal adaptasi hewan coba yang tidak baik (20). Faktor-faktor ini dapat mempengaruhi hasil tetapi tidak berarti bahwa tubuh hewan coba memiliki proses patologis. Sedangkan hasil setelah perlakuan menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar enzim LDH pada kelompok 2, kelompok 3 dan kelompok 4 serta terjadi peningkatan kadar enzim LDH pada kelompok 1 (kontrol negatif) tetapi masih dalam batas normal kadar enzim LDH dalam darah.

Secara statistik, pada uji 1-Sample *Kolmogorov-Sminov*, didapatkan bahwa data spesimen darah LDH sebelum dan setelah perlakuan, terdistribusi secara normal artinya data sebelum dan setelah perlakuan dapat digunakan untuk tahap analisis lanjutan yaitu *one-way ANOVA*. (lampiran VII). Hal

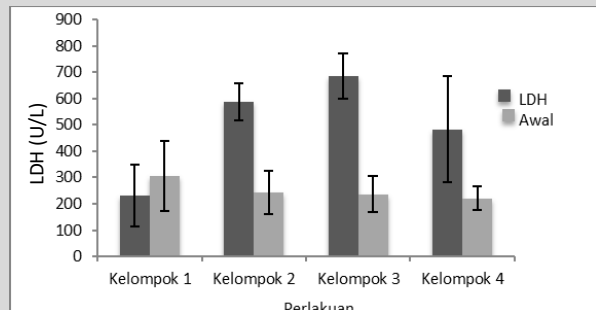
tersebut ditunjukkan dengan nilai 0,847 ($p > 0,05$). Selanjutnya pada uji *one-way ANOVA*, didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan secara nyata tiap masing-masing perlakuan, dengan nilai signifikansi 0,012 ($p < 0,05$).

Tabel 2. Hasil pengukuran kadar Enzim LDH sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rep	Kadar LDH (U/L)		Selisih
		Hari ke-0	Hari ke-30	
1 Kontrol negatif (asap rokok)	1	137	248	111
	2	363	209	-154
	3	196	458	262
	Rata-rata ± SD	232 ± 117.222	305 ± 133.9291	73 ± 210.5873^a
2 Kontrol positif (asap rokok + vitamin C)	1	630	255	-375
	2	504	154	-350
	3	627	320	-307
	Rata-rata ± SD	587 ± 71.89576	243 ± 83.64807	-344 ± 34.39477^b
3 Asap rokok + ekstrak dosis 70 mg / 200gBB	1	699	159	-540
	2	761	260	-501
	3	592	290	-302
	Rata-rata ± SD	684 ± 85.49269	236.3 ± 68.63187	-447.7 ± 127.6493^b
4 Asap rokok + ekstrak dosis 105 mg/200 gBB	1	714	272	-442
	2	391	191	-200
	3	343	197	-146
	Rata-rata ± SD	482.7 ± 201.773	220 ± 45.13314	-262.7 ± 157.6367^b

Pada uji lanjutan *LSD test*, diperoleh hasil bahwa kadar LDH hari ke-30 kelompok 1 (kontrol negatif) dengan kelompok 2 (kontrol positif), kelompok 3 (asap rokok+ekstrak 70mg/200gBB) dan kelompok 4 (asap rokok+ekstrak 105mg/200gBB) memiliki perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$). Hal ini menandakan bahwa terdapat perbedaan kadar enzim LDH secara nyata pada tikus yang diberi asap rokok+vitamin C, pada tikus yang diberi asap rokok+ekstrak temu putih dosis 70mg/200gBB dan dosis 105mg/200gBB dengan tikus yang hanya diberi asap rokok saja. Hal ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Anbarasi *et al* (2005) bahwa pemaparan asap rokok pada hewan coba tikus sebanyak 8-10 batang perhari dapat meningkatkan kadar enzim LDH dalam darah (12).

Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa Pemberian ekstrak temu putih dengan dosis 70mg/200gBB dan dosis 105mg/200gBB optimal dalam mengatasi kerusakan atau kematian sel akibat paparan asap rokok.



Gambar 1. Profil perubahan rata-rata±SD kadar enzim aktat dehidrogenase (LDH) pada hewan coba tikus sebelum dan setelah pemberian perlakuan. Keterangan: Kelompok 1: Kontrol negatif, Kelompok 2: Kontrol positif, Kelompok 3: Asap rokok + ekstrak dosis 70mg/200gBB, Kelompok 4: Asap rokok + ekstrak dosis 105 mg/200gBB

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Pemberian ekstrak temu putih dengan dosis 70 mg/200gBB dan 105 mg/200gBB optimal atau memberikan efek terapi dengan menurunkan kadar enzim LDH darah dengan mengatasi kerusakan atau kematian sel pada tikus yang diberi induksi asap rokok.

DAFTAR PUSTAKA

- Shamoon, R. P. 2010. Serum Lactic Dehydrogenase (LDH) Activity in Lymphomas : Prognostic Significance and Relationship to Presentation , Stage and Histologic Type, 14(1).
- Valvona, C. J. et al. 2015. The Regulation and Function of Lactate Dehydrogenase A: Therapeutic Potential in Brain Tumor. doi: 10.1111/bpa.12299.
- Gk, A. et al. 2017. Clinical & Medical Biochemistry : Open Access Effects of Lactate Dehydrogenase (LDH) in Preeclampsia. 3(1), pp. 1-6. doi: 10.4172/2471-2663.1000129.
- Lott JA, N. E. 1987. Lactate dehydrogenase. Clinical E. a case oriented approach
- Moss DW, H. A. 1986. Enzymes. Tietz Text. Philadelphia: Saunders Co.
- RISKESDAS, 2013. Riset kesehatan dasar. Jakarta: Balitbang Kemenkes Ri.
- Food, U. and Administration, D. 2012. Harmful and potentially harmful constituents in tobacco products and tobacco smoke. established list. Available at: <http://www.fda.gov/downloads/tobaccoProducts/Guidance/ComplianceRegulatoryInformation/UCM297981.pdf>.
- Rodgman, A. & Perfetti, T.A., 2009 The Chemical Components of Tobacco And Tobacco Smoke, United States of America: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Andreoli, C., D. Cigante, D. and Nunziata, A. 2003. 'A review of in vitro methods to assess the biological activity of tobacco smoke with the aim of reducing the toxicity of smoke. Toxicol In Vitro, 17(5-6), pp. 587-594.
- Richter, P. et al. 2010. Cytotoxicity of eight cigarette smoke condensates in three test systems, Comparisons between assays and condensates. Regul Toxicol Pharmacol, 58(3), pp. 428-436.
- Arja, C. et al. 2013. Oxidative stress and antioxidant enzyme activity in South Indian male smokers with chronic obstructive pulmonary disease, Respirology, 18(7), pp. 1069-1075.
- Anbarasi, K. et al. 2005. Lactate dehydrogenase isoenzyme patterns upon chronic exposure to cigarette smoke : Protective effect of bacoside A', 20, pp. 345-350. doi: 10.1016/j.etap.2005.03.006.
- Braga, M. E. M. et al. 2003. Comparison of yield, composition, and antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa L.*) extracts obtained using various techniques. Journal of agricultural and food chemistry, 51(September 2016), pp. 6604-6611. doi: 10.1021/jf0345550.

14. Sharm, O. P. 1976 Antioxidant activity of curcumin and related compounds, *Biochem Pharmacol*, 25, pp. 1811–1812.
15. Srimal, R. C., Dhawan, B. N. 1973. Pharmacology of diferuloylmethane (curcumin), a non-steroidal anti inflammatory agent, *J. Pharm Pharmacol*, 25, pp. 447–452.
16. Saetung, A., Itharat, A. and Dechsukum, C. 2004. Cytotoxic activity of Thai medicinal plants for cancer treatment, (November 2004).
17. Departemen Kesehatan RI, 2008. Farmakope Herbal Indonesia. Edisi I. Jakarta.
18. Murwanti R., Meiyanto E., & N. A. 2004. Efek Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) Terhadap Pertumbuhan Tumor Paru Fase Post Inisiasi Pada Mencit Betina Diinduksi Benzo(a)piren, 15(1), pp. 7–12.
19. Sugeng, S.U., Tiono, H. dan Anandaputri, V.N. Pengaruh Pasta Tomat (*Solanum lycopersicum*) terhadap Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus*) Galur DDY yang Terpajan Asap Rokok Berfilter. *JKM*. 2010;10(1):47-54.
20. Sacher, R. and Richard, 2004. Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Jakarta: EGC.

Sitasi artikel ini: Bahrn M, Mamada SM, Lallo S, Sumarheni. Pengaruh Pemberian Ekstrak Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) Terhadap Kadar Enzim LDH Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Asap Rokok. *MFF* 2019; 23(2):67-70