

## STUDI AKTIVITAS HEPATOPROTEKTIF FRAKSI ETIL ASETAT KENIKIR (*Cosmos caudatus*) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI PARASETAMOL KAJIAN STRESS OSIDATIF (LIPID PEROSIDASE)

Agil Novianto<sup>1)</sup>, Hartono<sup>2)</sup>

<sup>1,2</sup>Akademi Farmasi Nasional Surakarta  
agi.el.novianto@gmail.com

### ABSTRAK

Hati memainkan peran penting dalam metabolisme dan ekskresi. Parasetamol dosis tinggi dapat membuat gagal hati akut (ALF) dan nekrosis di hepar dari penanda enzim serta meningkatkan parameter oksidatif stres untuk peroksidasi lipid. Tujuan penelitian untuk mengetahui efektivitas etyl asetat fraksi kenikir pada tikus yang diinduksi oleh parasetamol. Desain penelitian aktivitas hepatoprotektif menggunakan hewan uji yang terbagi enam kelompok. Kelompok I (normal) diberi asupan aquades, kelompok II (kontrol negatif) diberi CMC 1 %, kelompok III (kontrol positif) diberi kurkuminoid 100mg/kg BB dalam CMC 1 %, kelompok IV-VI (kelompok perlakuan) diberi fraksi etil asetat kenikir dengan dosis 281,25 mg/kg BB, 562,5 mg/kg BB, dan 1.125 mg/kg BB. Perlakuan sediaan uji selama 7 hari, pada hari ke-7, 30 menit setelah pemberian sampel uji dilanjutkan dengan induksi parasetamol dosis 2,5 g/kg BB secara peroral. Setelah 48 jam induksi, selanjutnya dilakukan pembedahan hewan uji untuk pengambilan sampel liver. Sampel jaringan liver digunakan untuk analisis parameter stres oksidatif yaitu lipid peroxidation (LPO). Fraksi etil asetat kenikir dosis 1125 mg/kg BB mampu menghambat terjadinya lipid peroksidasi secara signifikan yaitu memberikan efek optimal hepatoprotektif dan indikasi penurunan peroksidasi lipid ( $p < 0,05$ ). Mekanisme hepatoprotektor fraksi etil asetat kenikir didasarkan atas kemampuan sebagai antioksidan (*in vitro* dan *in vivo*) sehingga terjadinya kerusakan liver (nekrosis) dapat diminimalisir.

**Kata kunci:** etylacetate kenikir fraksi, hepatoprotektif, peroksidasi lipid, parasetamol

### ABSTRACT

The liver plays an important role in the metabolism and excretion. High doses of paracetamol could create acute liver failure (ALF) to show necrosis at high liverby of marker enzymes and increases oxidative stress parameters for example lipid peroxidation. The aim of research to determine the effectiveness etyl acetate fraction of marigolds in rats induced by paractamol. The study design hepatoprotective activity using test animals were divided into six groups. Group I (normal) fed a diet of distilled water, group II (negative control) were given CMC 1%, group III (positive control) were given kurkuminoid 100mg / kg in CMC 1%, group IV-VI (the treatment group) were given a fraction of ethyl acetate kenikir with a dose of 281.25 mg / kg, 562.5 mg / kg, and 1,125 mg / kg. Test preparation treatment for 7 days, on the 7th day, 30 minutes after administration of the test sample followed by induction of paracetamol dose of 2.5 g / kg is orally. After 48 hours of induction, then performed surgery for sampling test animal liver. Liver tissue samples used for the analysis of oxidative stress parameters, namely lipid peroxidation (LPO). Ethyl acetate fraction kenikir dose 1125 mg / kg is capable of preventing the occurrence of lipid peroxidation significantly optimal effect hepatoprotective indicated by a decrease lipid peroxidation ( $p$

<0.05). *Hepatoprotective mechanism kenikir ethyl acetate fraction is based on the ability of antioxidants (in vitro and in vivo) so that the occurrence of liver damage (necrosis) can be minimized.*

**Keywords:** *ethylacetate fractions of kenikir; hepatoprotective, lipid peroxidation, paracetamol*

## 1. PENDAHULUAN

Hati merupakan organ vital yang memiliki peran penting dalam proses detoksifikasi. Penggunaan obat dalam jangka panjang dapat memicu kerusakan hati (Singh, 2012). Hepatotoksin merupakan bahan kimia dengan efek toksik terhadap sel hati. Pada dosis yang berlebihan (dosis toksik) atau pemaparan dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan kerusakan hati akut, sub akut maupun kronis. Contoh senyawa hepatotoksin antara lain karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>), kloroform, etionin parasetamol, galaktosamin dan lipopolisakarida.

Parasetamol merupakan obat dengan efek analgetik dan antipiretik yang aman digunakan dalam pemakaian pada dosis di bawah 4,0 g/hari (Clark *et al.*, 2012). Penggunaan parasetamol dalam jumlah yang berlebih (15 gram/hari) mampu menyebabkan kerusakan pada hati (Gestanovia 2007; Clark *et al.*, 2012). Parasetamol mengalami proses metabolisme oleh enzim sitokrom P450 menjadi metabolit reaktif yang dikenal dengan *N-acetyl-p-benzoquinonemine* (NAPQI). NAPQI mampu berinteraksi secara kovalen dengan makromolekul hati pada bagian sistein dan mengakibatkan terjadinya oksidasi lipid dan menyebabkan kerusakan pada liver (Setty, 2007). Terjadinya kerusakan hati akibat pemberian parasetamol mampu memicu naiknya kadar serum *glutamate pyruvate transaminase* (SGPT), serum *glutamate oxaloacetat transaminase* (SGOT), serum *alkaline phosphatase* (ALP), bilirubin, total protein (Hinson *et al.*, 2010). Kerusakan hati akibat parasetamol ini juga ditandai dengan naiknya parameter stress oksidatif yang ditunjukkan dengan tingginya kadar lipid peroksidase (LPO) (Singh, 2011; Datta *et al.*, 2013).

Kenikir (*Cosmos caudatus* K.) telah lama digunakan dalam konsep pengobatan tradisional. Secara tradisional daun kenikir digunakan sebagai obat penambah nafsu makan, lemah lambung, penguat tulang, dan pengusir serangga.

Abas *et al.*, (2003) menyebutkan bahwa ekstrak metanolik daun kenikir mengandung flavonoid dan glikosida kuersetin. Ekstrak etanol kenikir dosis 2.250 mg/kgBB, memiliki efektivitas menurunkan kadar SGPT pada tikus yang diinduksi parasetamol (Setyawati, 2011).

Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid paling sedikit dua komponen. Uji aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal DPPH (2,2'-difenil-1-pikril-hidrazil) menunjukkan ekstrak etanol memiliki IC<sub>50</sub> 19,43±0,317 µg/mL (Nurhaeni, 2012) dan fraksi etil asetat memiliki IC<sub>50</sub> 14,229 µg/mL (Kurniasih, 2008).

Tujuan penelitian untuk mengetahui aktivitas hepatoprotektor dari fraksi etil asetat herba kenikir berdasarkan kajian stress oksidatif *lipid peroxidation* (LPO).

## 2. METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Daun kenikir, tablet parasetamol 500 mg (Kimia Farma), kurkuminoid, CMC Na (Brataco), aquadest, etanol 70 % hexane, ethyl acetat (Brataco). Hewan uji tikus jantan galur wistar berat 150-200g. S spuit oral (Terumo), setrifuge Sigma, water bath, *trichloroacetic acid* (TCA), TBA (*Thiobarbituric acid*), SDS, asam asetat, Tris HCl pH 7,4.

### Cara Kerja

- Preparasi sampel  
Daun kenikir dimaserasi etanol 70 % untuk mendapatkan ekstrak etanol. Ekstrak etanol selanjutnya difraksinasi bertingkat dengan hexane, etil asetat dan air untuk mendapatkan fraksi etil asetat kenikir.
- Uji kualitatif fraksi etil asetat kenikir  
Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan fase gerak campuran butanol, asam asetat dan air (ratio 4: 1: 5) dan fase diam lempeng silika gel GF<sub>254</sub>. Standar yang digunakan adalah quercetin. Deteksi

menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm.

c. Uji aktivitas hepatoprotektor

Uji hepatoprotektor dilakukan mengikuti rancangan Hurkadale *et al.*, 2012 dan Paramaguru *et al.*, 2011. Hewan uji dibagi enam kelompok. Kelompok I (normal) diberi asupan aquades, Kelompok II (kontrol negatif) diberi CMC 1 %, Kelompok III (kontrol positif) diberi kurkuminoid 100mg/kg BB dalam CMC 1 %, Kelompok IV-VI (kelompok perlakuan) diberi fraksi etil asetat kenikir dengan dosis 281,25 mg/kg BB, 562,5 mg/kg BB, dan 1.125 mg/kg BB. Perlakuan sediaan uji selama 7 hari, pada hari ke-7, 30 menit setelah pemberian sampel uji dilanjutkan dengan induksi parasetamol dosis 2,5 g/kg BB secara peroral (Hurkadale *et al.*, 2012; Paramaguru *et al.*, 2011). Setelah 48 jam induksi, selanjutnya hewan uji dikorbankan dan dilakukan pembedahan untuk mengambil liver. Sampel jaringan liver digunakan untuk analisis parameter stres oksidatif yaitu *lipid peroxidation* (LPO).

d. Analisa stress oksidatif *lipid peroxidation* (LPO)

Pengukuran kadar LPO mengikuti metode yang dikembangkan oleh Ohkawa *et al.*(1979). Organ liver selanjutnya dikeringkan dan ditimbang, sebesar 10 % dari jaringan ini selanjutnya dihomogenkan dan dilakukan preparasi dengan larutan 0,15 M Tris HCl (pH 7,4). Kadar lipid peroksidase dalam campuran ditentukan berdasarkan jumlah terbentuknya *malonilaldehyde* (MDA). Sejumlah 0,2 ml liver yang telah dihomogenkan ditambah dengan 0,2 ml Sodium dodecyl sulfate (SDS) 8,1 %, 1,5 ml asam asetat 20 %, dan 1,5 ml TBA 0,8 %. Campuran dibuat sejumlah 4 ml ditambah aquadest, dan dihangatkan pada suhu 95°C selama 60 menit. Setelah diinkubasi, dididamkan dalam suhu kamar. Dengan volume yang sama ditambahkan TCA 10 %. Selanjutnya disentrifugasi selama 10 menit pada 3000 rpm. Lapisan atas yang terbentuk diambil dan diukur nilai OD pada panjang gelombang 532 nm terhadap blanko yang ti-

dak diberikan sampel. Jumlah lipid peroksidase (LPO) dinyatakan dengan sejumlah mol *thiobarbituric acid reactive substance* (TBARS)/mg protein dengan menggunakan koefisien ekstingsi  $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Bose *et al.*, 2007).

#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

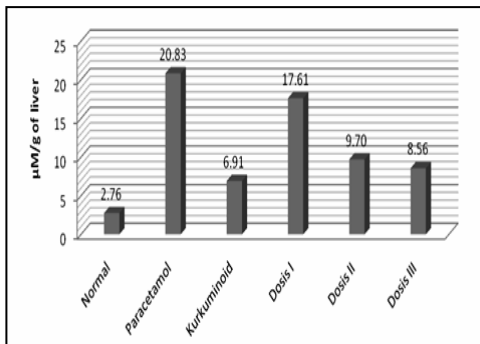
Analisis KLT dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa maupun *marker* (senyawa identitas) dari sampel yang digunakan. KLT untuk identifikasi flavonoid menggunakan fase diam selulosa yang memiliki sifat lebih baik untuk identifikasi metabolit flavonoid dibandingkan dengan jenis silika gel. Selain itu digunakan fase gerak kombinasi butanol asam asetat air (sistem BAW) dengan perbandingan 4 : 1 : 5 sebagai pembanding digunakan rutin dan quercetin dengan pemeriksaan pada UV 366 nm dan penampak bercak uap NH<sub>3</sub>. Hasil KLT terhadap sampel ekstrak maupun fraksi, diketahui keberadaan fraksi etil asetat memiliki *spot* yang memiliki nilai R<sub>f</sub> yang mirip dengan nilai quercetin dengan warna yang mirip ketika diidentifikasi dalam UV 366 nm dan uap NH<sub>3</sub>.

Analisa stress oksidatif dalam penelitian untuk mencari mekanisme hepatoprotektif dilihat dari kajian stress oksidatif dengan pengamatan terhadap parameter lipid peroksidase. Lipid peroksidase merupakan suatu proses terjadinya oksidasi lipid oleh radikal bebas yang menyebabkan terjadinya kerusakan membrane yang mengandung lipid. Terjadinya lipid peroksidasi memicu terjadinya *peroksil radical* yang diikuti dengan terbentuknya lipid peroksida. Lipid peroksida yang terbentuk dapat terfragmentasi menjadi *malondialdehyde* (MDA) dan *4-hydroxyalkena* (4-HDA). Terbentuknya *malondialdehyde* (MDA) merupakan indikator utama yang dapat digunakan untuk analisis terjadinya lipid peroksidasi. Hasil uji terhadap parameter stress oksidatif meliputi kadar lipid peroksida terukur berdasarkan terbentuknya malondialdehyde yang bereaksi dengan thiobarbituric acid sebagai bentuk *Thiobarbituric Acid Reactive Substance* (TBARS). Hasil analisa lipid peroksidasi sebagaimana tercantum dalam Tabel 1.

Tabel I. Kadar lipid peroksida

Kelompok	Dosis	liver (g)	Malondialdehid (MDA)
			µM/g of liver
Normal	-	5.25	2.76
Parasetamol	2,5 g/kg BB	5.96	20.83 <sup>a</sup>
Kurkuminoid	100 mg/kg BB	6.07	6.91 <sup>*</sup>
Dosis I	281,25 mg/kg BB,	5.85	17.61
Dosis II	562,5 mg/kg BB	5.20	9.70 <sup>*</sup>
Dosis III	1125 mg/kg BB	5.47	8.56 <sup>*</sup>

Keterangan: (a) berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok normal (p<0,05), (\*) berbeda signifikan dengan kelompok parasetamol (p<0,05)



Dari gambar 1 menunjukkan bahwa pemberian parasetamol 2,5 g/kg BB mampu menyebabkan kerusakan liver yang ditandai dengan naiknya kadar lipid peroksidase secara signifikan (p<0.05) dibandingkan kelompok tanpa induksi. Kurkuminoid sebagai kontrol positif dalam penelitian ini mampu mencegah kerusakan liver yang ditandai dengan kadar lipid peroksidase yang lebih rendah dibandingkan kontrol negative (p<0,05).

Pemberian fraksi etil asetat kenikir selama 7 hari mampu mencegah kerusakan liver akibat pemberian parasetamol. Hal ini ditandai dengan penurunan kadar lipid peroksidase dibandingkan dengan kelompok induksi. Fraksi etil asetat kenikir dengan dosis 1125 mg/kg BB memberikan aktivitas hepatoprotektif optimal yang ditunjukkan dengan kemampuannya dalam menghambat terjadinya lipid peroksidasi secara signifikan (p<0.05).

Kemampuan fraksi etil asetat sebagai hepatoprotektif melalui efek terhadap lipid peroksidase; didukung penelitian Novianto & Hartono (2013) bahwa fraksi etil asetat mampu menurunkan kadar SGPT dan SGOT pada tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik,

Aktivitas hepatoprotektor kenikir dipicu metabolit sekunder flavonoid. Hasil analisis

KLT menunjukkan senyawa yang terdapat dalam fraksi etil asetat kenikir adalah quercetin. Flavonoid berperan penting terhadap aktivitasnya sebagai hepatoprotektor. Quercetin memiliki efek hepatoprotektor pada hewan uji yang diinduksi hepatotoksin seperti parasetamol (Jashita *et al.*, 2011; Ali *et al.* 2013).

Hasil uji aktiviitas antioksidan fraksi etil asetat kenikir secara *in vitro* dengan menggunakan DPPH diperoleh IC<sub>50</sub> 14,229 ig/mL (Kurniasih, 2008). Dari hasil uji dengan parameter stress oksidatif dapat diketahui bahwa aktivitas hepatoprotektor fraksi etil asetat kenikir melalui mekanisme antioksidan. Hal ini didukung dengan beberapa penelitian lain yang mengkorelasikan efek hepatoprotektor dengan aktivitas antioksidan (Singh *et al.*, 2011; Tanwar, 2011; Sasidharan, 2010).

Antioksidan menjadi salah satu target mekanisme hepatoprotektif didasarkan pada penggunaan parasetamol dalam dosis berlebih memicu terbentuknya metabolit reaktif NAPQI. Tingginya NAPQI memicu terjadinya deplesi *gluthathione* (GSH) dan berdampak terhadap nekrosis liver yang memicu naiknya jumlah ROS (Hinson *et al.*, 2010). Keberadaan kenikir mencegah dampak buruk dari ROS terhadap proses oksidasi (lipid peroksidasi) serta meminimalisir terjadinya kerusakan liver (nekrosis).

## 5. KESIMPULAN

Fraksi etil asetat kenikir mampu memberikan efek hepatoprotektor pada tikus yang diinduksi parasetamol. Fraksi etil asetat kenikir dosis 1125 mg/kg BB mampu menghambat terjadinya lipid peroksidasi secara signifikan. Mekanisme hepatoprotektor fraksi etil asetat kenikir didasarkan atas kemampuan sebagai antioksidan (*in vitro* dan *in vivo*) yang mampu menghambat ROS sehingga terjadinya kerusakan liver (nekrosis) dapat diminimalisir

## 6. REFERENSI

- Abas, 2003, Antioxidative Radical Scavenging Properties of the Constituent Isolated from *Cosmos caudatus* K.), *Natural Product Science* 9 (4); 245-248.
- Ali, M., Qadir, M., Saleem, M., Janbaz, K.H., Gul, H., and Hussain, L., 2013, Hepatoprotective

- potential of *Convolvulus arvensis* against parasetamol-induced hepatotoxicity, *Bangladesh J Pharmacol*; 8: 300-304
- Bose, P., Gupta, M., Mazumder, U.K., Kumar, R.S., Sivakumar, T., and Kumar, R.Suresh. 2007, Hepatoprotective and Antioxidant Effect of *Eupatorium ayapana* against Carbon tetrachloride Induced Hepatotoxicity in Rats, *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 6:27-33.
- Clark, R., Fisher, J.E., Sketris, I.S., and Johnston, G.M. 2012, Population prevalence of high dose parasetamol in dispensed parasetamol/opioid prescription combinations: an observational study, *BMC Pharmacology and Toxicology*, 1:1-8.
- Datta, S., Dhar, S, Nayak, S.S., and Dinda, S. C.. 2013, Hepatoprotective activity of *Cyperus articulatus* Linn. against parasetamol induced hepatotoxicity in rats, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(1):314-319.
- Gestanovia, 2007, *Hepatotoksis Parasetamol*, Undip, Semarang.
- Hinson, J.A., Roberts, D.W., and James, L.P. 2010, Mechanisms of Acetaminophen-Induced Liver Necrosis, *Handb Exp Pharmacol*. 196: 369–405.
- Hurkadale, P.J., Shelar, P.A., Palled, S.G., Mandavkar, Y.D., and Khedkar, A.S. 2012, Hepatoprotective activity of *Amorphophallus paeoniifolius* tubers against parasetamol-induced liver damage in rats, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1:S238-S242
- Jashita, M., Chakraborty, M., and Kamath, J.V. 2013, Effect Of Quercetin On Hepatoprotective Activity Of Silymarin Against Thioacetamide Intoxicated Rats, *Int. Res. J. Pharm*, 4 (7).
- Kurniasih, 2008, Daya Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Herba Kenikir (*Cosmos caudatus* H. B. K.) dan Profil KLT, *Skripsi*, Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia
- Novianto & Hartono., 2013, Aktivitas Hepatoprotektor Fraksi Etil Asetat Kenikir Pada Tikus yang Diinduksi Parasetamol, *Penelitian Dosen Pemula*.
- Nurhaeni, F., 2012, Skrining Aktivitas dan Isolasi Senyawa Penangkap Radikal 2,2-Difenil-1-Pikril Hidrazil dari Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*, H.B.K), Tesis, Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Ohkawa, H., Onishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxidation in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Analyze Biochemia*. 95:351–358.
- Paramaguru, R., Singh, S.K., Rajasekar, N., and Raj, A.V. 2011, Hepatoprotective And Antioxidant Effects of *Amorphophallus campanulatus* Against Acetaminophen Induced Hepatotoxicity in Rats, *International Journal Pharmacy Science*, 3(2):202-205.
- Sabate, M., Ibanez, L., Perez, E., Vidal, X., Buti, M., and Xiol, X., et al. 2011, Parasetamol in therapeutic dosages and acute liver injury: causality assessment in a prospective case series, *BMC Gastroenterology*, 1:1-7.
- Sasidharan, S., Aravindran, S., Latha, L.Y., Vijenthil, R., Saravanan, D., 4 and Amutha, S. 2010, *In Vitro* Antioxidant Activity and Hepatoprotective Effects of *Lentimula edodes* against Parasetamol-Induced Hepatotoxicity, *Molecules*, 15:4478-4489.
- Setty, S. R., Quereshi, A.A., Swamy, A.H.M.V., Patil, T., Prakash, T., Prabhu, K., and Gouda, A.V.. 2007, Hepatoprotective activity of *Calotropis procera* flowers against parasetamol-induced hepatic injury in rats, *Fitoterapia*, 78:451–454.
- Singh, I., Vetrivelan, S., Shankar, J., Gayathiri, S., Hemah, C., Shereenjeet, G., and Yaashini, A. 2012, Hepatoprotective Activity of Aqueous Extract of *Curcuma longa* in Etanol Induced Hepatotoxicity in Albino Wistar Rats, *International Journal of Phytopharmacology*. 3(3):226-233.