

**Pemberian Ekstrak Metanolik
Scurulla atropurpurea (Bl) Dans Secara Subkronik Terhadap Protein
Total Dan Albumin Tikus Betina**

***Injection of Scurrula atropurpurea (Bl) Dans Metanolic Extract
in Sub-chronic to Total Protein and Albumin of Female Mice***

Fatimah H Abdul Sammad¹ *), Nour Athiroh AS², **), Hari Santoso³ ***)
Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Indonesia

ABSTRAK

Ekstrak tanaman benalu *Scurulla atropurpurea* Bl. Dans memiliki enam belas bahan bioaktif dan tumbuh pada pohon teh (*Thea sinensis* L). Protein Total dan Albumin digunakan untuk melihat reaksi biokimia yaitu perhatian kepada keamanan sediaan uji dan perlu dilakukan uji toksisitas subkronik. Penggunaan parameter biokimia klinis adalah indikator adanya kerusakan hepar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanolik *Scurrulla atropurpurea* (Bl) Dans terhadap kadar Protein Total dan albumin serum tikus betina selama 28 hari. Jenis penelitian ini adalah *True Experimental Design* dengan rancangan Acak Lengkap. EMSA dipaparkan pada tikus selama 28 hari (subkronis) dengan jumlah tikus sebanyak 20 ekor dan dibagi menjadi empat kelompok; satu kelompok sebagai kontrol dan tiga kelompok mempunyai dosis EMSA yang berbeda. Serum tikus diperiksa tingkat kadar Protein Total dan Albumin. Kelompok perlakuan langsung dibandingkan dengan kontrol kemudian analisis data menggunakan ANOVA pada SPSS 17. Analisis ANOVA pada perlakuan tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan kontrol, hal ini menunjukkan bahwa pada pemberian dosis 250 mg/kg berat badan (BB), 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kg BB tidak berpengaruh terhadap kadar Protein Total dan Albumin serum tikus.

Kata Kunci : Subkronik, Protein Total dan Albumin

ABSTRACT

Parasites species of Scurrula atropurpurea (Bl) Dans is plants parasitic on tea tree (Thea sinensis L). Extract of parasites species containing sixteen of bioactive substances. Attention preparation security test need to undergone a toxicity sub-chronic to see the biochemical reactions (protein total and albumin). Using clinical biochemistry parameter as an indicator of the damaged hepar. Research aim is to understand the provision influence of Scurrula atropurpurea (Bl) Dan metanolic extract toward levels of a total protein and albumin serum in female mice for 28 days. A method use true experiment with complete random design. EMSA were presented in mice for 28 days (sub-chronic). The number of mice is 20 and divided into 4 groups; one group as control and three groups have different doses of EMSA. Level of a protein total and albumin in serum of mice examined. The group directly compared to the control then done data analysis of ANOVA in SPSS 17. The analysis shows the treatment is not significant difference ($P>0.05$) with control. Provision of doses 250 mg/kg body weight (BW), 500 mg/kg BW and 1000 mg/kg BW are not influence toward levels of a total protein and albumin in serum of mice.

Keywords: sub-chronic, total proteins and albumin

^{*)} Fatimah H Abdul Sammad, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. Mt Haryono 193, Malang 65144, 082257728334 and e-mail: fatimahsammad@gmail.com

^{**) Dr. Nour Athiroh AS, S. Si., M.Kes. Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. Mt Haryono 193, Malang 65144, 081330017206 and e-mail : nur_athiroh_mlg@yahoo.co.id}

Diterima Tanggal 11 Agustus 2016 – Disetujui Tanggal 22 Agustus 2016

Pendahuluan

Benalu teh merupakan salah satu tanaman parasit yang biasa digunakan dalam ramuan-ramuan tradisional untuk mencegah dan mengobati berbagai penyakit. Sebagai tanaman parasit, benalu tidak banyak dimanfaatkan, hal ini berkaitan dengan sifat dari parasit benalu yang dapat merusak tanaman inang, sementara sebagai salah satu tanaman obat, benalu juga mempunyai peranan yang tidak kecil [1]. Ekstrak benalu teh spesies *Scurrula atropurpurea* (Bl) Dans mengandung 16 bahan bioaktif yang terdiri dari enam senyawa asam lemak, dua santin, dua glikosida avonol, satu glikosida monoterpen, satu glikosida lignan, dan empat flavon. Benalu teh yang berasal dari spesies *Scurrula atropurpurea* (Bl) Dans merupakan tanaman parasit pada pohon teh (*Thea sinensis* L) berpotensi sebagai sumber obat-obatan [2].

Menurut BPOM 2014 uji toksisitas dilakukan untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologi dan patologi pada manusia. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji toksisitas dari benalu teh (*Scurrula atropurpurea* Bl. Dans) secara invitro benalu teh dapat menurunkan kontraktilitas pembuluh darah arteri ekor tikus melalui peran endotel setelah pemberian ekstrak benalu teh [3,4] invivo, uji subkronis dan Uji toksisitas akut pada mencit untuk mengetahui dosis suatu obat yang menimbulkan kematian 50% dari hewan percobaan oleh [5]. Penggunaan parameter biokimia klinis sebagai indikator adanya kerusakan hepar, hepar merupakan organ yang salah satu fungsinya adalah memetabolisme protein [6].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl) Dans terhadap kadar Protein Total dan albumin serum tikus betina selama 28 hari.

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Pakan tikus, akuades untuk minum tikus, *S. atropurpurea* Bl. Dans yang telah diidentifikasi di Balai Materia Medica Batu, Malang, Jawa timur, metanol 90%, Formalin, anatesi eter, tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) berumur 6-8 minggu, dengan berat badan 200-300 gram.

Alat yang digunakan adalah Kandang tikus ukuran 40x30 cm, Penutup kandang dari anyaman kawat, Botol minuman tikus, Timbangan digital, Blender, Oven, Freezer, Botol, Gelas beaker, Gelas erlenmeyer, Corong Gunting, Pinset, Papan tempat pembedahan tikus, Jarum untuk fiksasi tikus, Mikrosentrifus, Tempat sampah, Handscoon.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian dengan menggunakan *True Experimental Design* dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). EMSA dipaparkan pada tikus selama 28 hari (subkronis). Hewan coba tikus digunakan berjumlah 20 ekor dan dibagi menjadi empat kelompok; satu kelompok sebagai control dan tiga kelompok perlakuan dengan dosis EMSA yang berbeda. Pemeriksaan berat badan dilakukan secara berkala dan pada akhir periode perlakuan, semua tikus yang mati selama percobaan dan yang masih hidup harus dikorbankan untuk dilakukan pemeriksaan kadar Protein Total dan Albuminnya. Kelompok perlakuan langsung dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Analisis data menggunakan uji ragam satu arah atau dikenal dengan nama *Analysis of Variance* (ANOVA). Analisis ini menggunakan aplikasi SPSS 17 dengan sistem operasi Windows. Hipotesis statistik terhadap rerata perlakuan akan bermakna bila tingkat kepercayaan atau $P < 0,05$ nilai F hitung (Fs).

Cara Kerja

Ekstraksi Maserasi

Scurrula atropurpurea yang telah diidentifikasi di Balai Materia Media Batu, Jawa timur. Daun *S. atropurpurea* dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40-60°C kemudian di blender hingga menjadi bubuk. 100 mg bubuk *S. atropurpurea* kemudian dimasukkan bersama metanol dalam erlenmeyer 1L. Dan dikocok selama 30-60 menit hingga homogen, dan didiamkan semalam hingga mengendap dan diambil supernatan dengan zat aktif yang sudah tercampur. Larutan EMSA kemudian dievaporasi dan siap diberi label hasil ekstrak dimasukkan dalam botol kaca dan disimpan dalam freezer setiap ± 100 gram benalu teh didapatkan hasil ± 20 gram ekstrak benalu teh dalam bentuk pasta [7,8]. EMSA selain kontrol, diberikan secara sonde selama 28 hari dengan dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB. Volume Sonde EMSA diberikan 1ml/100g BB setiap harinya, berat badan ditimbang dua kali satu minggu. Pada hari ke-29 tikus putih beina *R. norvegicus* dikorbankan dan diambil darahnya untuk diperiksa kadar Protein Total dan Albumin serum.

Protein Total

Sejumlah 20 μ L serum uji direaksikan dengan 1000 μ L pereaksi uji untuk pemeriksaan protein total dalam tabung reaksi 5mL, dihomogenkan dengan bantuan vortex. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada suhu 37°C selama 5 menit pada panjang gelombang 540 nm. Hal yang sama juga dilakukan terhadap blangko (pereaksi+aquades) dan standar (pereaksi+standar protein total). Kadar protein total dapat dihitung dengan membandingkan absorbansi sampel dengan absorbansi protein standar yang dikalikan dengan konsentrasi protein total standar [9].

Albumin

Sejumlah 10 μ L serum uji direaksikan dengan 1000 μ L pereaksi uji untuk pemeriksaan albumin dalam tabung reaksi 5mL, dihomogenkan dengan bantuan vortex. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada suhu 37°C selama 5 menit pada panjang gelombang 546 nm. Hal yang sama juga dilakukan terhadap blangko (pereaksi+aquades) dan standar (pereaksi + standar albumin). Kadar albumin dapat dihitung dengan membandingkan absorbansi sampel dengan absorbansi albumin standar yang dikalikan dengan konsentrasi albumin standar [9].

Ethical Clearance

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian FK UB (*Ethical Clearance*) nomor :369/EC/KEPK/06/2015.

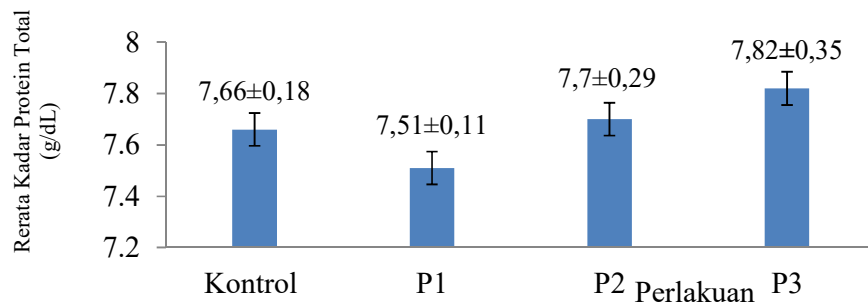
Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian

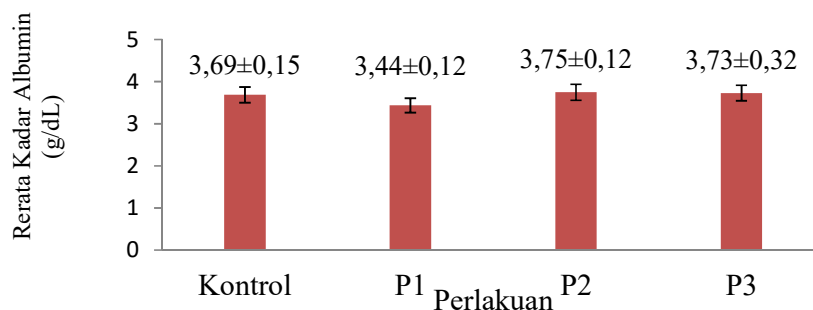
Pengujian Kadar Protein Total dan Albumin

Berdasarkan analisis ANOVA, EMSA yang diberikan selama 28 hari menunjukkan bahwa dari semua perlakuan 250 mg/KgBB, 5000 mg/KgBB, 1000 mg/KgBB tidak berbeda nyata dengan kontrol ($P \geq 0,05$) (Gambar 1).

Rerata kadar albumin antara kelompok perlakuan P1 (3,44), P2 (3,75), dan P3 (3,73) tidak signifikan ($p > 0,05$) jika dibandingkan dengan kontrol (3,69), maka pemberian EMSA selama 28 hari pada tikus betina dengan dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kg BB tidak berpengaruh terhadap kadar Albumin serum tikus betina *Rattus norvegicus* (Gambar 2).



Gambar 1. Histogram Uji ANOVA kadar Protein Total pada serum *Rattus norvegicus* setelah pemberian EMSA selama 28 hari



Gambar 2. Histogram Uji ANOVA kadar Albumin pada serum *Rattus norvegicus* setelah pemberian EMSA selama 28 hari.

Pembahasan

Kadar Protein Total dan Albumin dalam darah dapat digunakan untuk mengetahui adanya kerusakan hepar yaitu dengan mengukur jumlah poliribosom (Retikulum endoplasma) sintesa protein plasma. Pada pengukuran kadar protein total dan albumin serum tidak terpengaruh pada makanan, jenis kelamin ataupun umur. Kadar Protein Total serum normal pada tikus betina adalah 6-8 g/dL dan kadar Albumin serum normal pada tikus *Rattus norvegicus* yakni 3,8-5,0 g/dL. Protein Total dan Albumin disintesis pada poliribosom yang terikat membran, dengan demikian protein plasma melintasi jalur sekretorik utama dalam sel yaitu mulai dari membran endoplasma kasar kemudian ke membran endoplasma halus lalu memasuki aparatus golgi sampai akhirnya disimpan dan dibawa oleh vesikel sekretorik masuk ke plasma. Sebagian besar protein plasma disintesis sebagai preprotein dan pada mulanya mengandung peptida sinyal dengan ujung terminasi-amino [10].

Dari penelitian yang telah dilakukan pada kadar Protein Total terdapat pada Gambar 1. menunjukkan bahwa pada pemberian EMSA dengan dosis 1000 mg/kg BB tidak menyebabkan kerusakan pada uji biokimia klinis hepar tikus betina *Rattus norvegicus* selama 28 hari, hal ini dapat dilihat pada nilai rata-rata kadar Protein Total dari semua kelompok perlakuan masih dalam batas normal. Hal ini tidak berbeda jauh pada Gambar 2. nilai rata-rata kadar Albumin serum kelompok perlakuan P1 (3,44 g/dL), P2 (3,75 g/dL), dan P3 (3,73 g/dL) setelah pemberian EMSA selama 28 hari masih dalam batas normal.

Jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang tidak diberi EMSA dan kelompok perlakuan yang diberi EMSA tidak memiliki perbedaan yang signifikan sehingga dinyatakan tidak berbeda nyata maka EMSA dengan dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kg BB tidak toksik dan tidak berpengaruh terhadap kadar Protein Total dan Albumin. Pada kadar Protein Total dengan dosis 1000 mg/kg BB menghasilkan kadar Protein Total lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan dengan dosis 250 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB. Berdasarkan hasil tersebut sesuai dengan kurva dosis, dosis obat berbanding lurus dengan respon obat, sehingga semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin kuat efek terapi yang ditimbulkan, hal tersebut melalui efek antioksidan dari kandungan EMSA. Berdasarkan rata-rata kadar Albumin pada P2 dengan dosis 500 mg/kg BB mengalami peningkatan dibanding perlakuan P1 dosis 250 mg/kg BB dan P3 1000 mg/kg BB tetapi tidak memiliki perbedaan yang signifikan sehingga dinyatakan tidak berbeda nyata dan masih dalam batas normal kadar Albumin. Ini berarti pemberian EMSA pada *Rattus norvegicus* tidak berpengaruh pada kadar Protein Total dan Albumin. Dari penelitian sebelumnya [11] tikus yang telah dipapar dengan EMSA secara oral selama 28 hari tidak menunjukkan adanya abnormalitas pada pemeriksaan histopatologi dan tidak ada efek ($p>0,05$) yang ditimbulkan dibandingkan dengan tikus kontrol pada uji biokimia klinis (AST, ALT, Albumin, Globulin dan Protein Total).

Berdasarkan analisis fitokimia tanaman Benalu teh mempunyai kandungan seperti: *tannin*, *flavonoid*, kuersetin, glikosida, alkaloid, *saponin*, dan *inulin*. Kuersetin merupakan kandungan utama flavonoid dari ekstrak benalu teh. Kuersetin merupakan suatu aglikon yang apabila berikatan dengan glikonnya akan menjadi suatu glikosida. Flavonoid bekerja menstabilkan radikal bebas dengan cara menangkap radikal bebas, menghambat enzim hidrolisis dan oksidatif, dan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas, dan memperbaiki kerusakan membrane sel [12]. Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan dari ekstrak benalu teh, *Scurrula oortina* (korth) *dan* *ser* (Lorantaceae) membuktikan ekstrak yang menggunakan pelarut metanolik lebih efektif untuk menghasilkan senyawa flavonoid lebih banyak [13]. Selain itu *Scurrula atropurpurea* dapat meningkatkan oksida nitrat dan menurunkan Malondialdehyde pada tikus hipertensi [14]. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi agar mendapatkan zat bioaktif benalu teh (*Scurrulla atropurpurea* Bl. Dans) yaitu pelarut metanol. Seperti halnya pada penelitian Susanto membuktikan bahwa pelarut metanol lebih efektif untuk menghasilkan senyawa flavonoid lebih banyak dibanding dengan pelarut lainnya, seperti etanol dan asetat [13]. Selain itu, penelitian Stankovic membuktikan bahwa pelarut metanolik memiliki daya ekstraksi konsentrasi fenolik dan flavonoid serta aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan pelarut lainnya seperti air, *acetone*, *petroleum ether* dan *acethyl acetate* pada *Marrubium peregrinum* [15].

Kesimpulan

Berdasarkan analisis data menggunakan uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai rata-rata kadar Protein Total dan Albumin pada serum tikus betina yang telah diberi EMSA selama 28 hari pada kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan kontrol, hal ini menunjukkan bahwa pada pemberian dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kg BB tidak berpengaruh terhadap kadar Protein Total dan Albumin serum tikus.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan, sesuai dengan surat perjanjian pelaksanaan penugasan Hibah nomor: 018/SP2H/P/K7/KM/2015, tanggal 2 april 2015. Skim Strategis Nasional (Stranas)

a.n. Dr. Nour Athiroh Abdoes Sjakoer. S. Si., M.Kes. yang telah menugaskan penulis untuk melakukan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Pitojo, S. 1996. *Benalu hortikultura: Pengendalian dan Pemanfaatan*. Trubus Agriwidya. Ungaran.
- [2] Ohashi, K., H. Winarno dan M. Mukai. 2003. Indonesian medicinal plants XXV: cancer cell invasion inhibitory effects of chemical constituents in the parasitic plant *Scurrulla atropurpurea* (Loranthaceae). *Chem Pharm. Bull.* **51**:343-5.
- [3] Athiroh, N., M.A.Widodo dan E. Widjanto. 2000. Efek Scurulla oortiana (Benalu Teh) dan Macrosolen javanus (Benalu Jambu Mawar) terhadap Kontraktilitas Pembuluh Darah Arteri Ekor Tikus Terpisah dengan atau tanpa Endotel. Tesis. Universitas Brawijaya, Malang.
- [4] Athiroh, N. 2009. Kontraktilitas Pembuluh Darah Arteri Ekor Tikus Terpisah Dengan atau Tanpa Endotel Setelah Pemberian Esktrak Scurulla oortiana (Benalu Teh). *Jurnal Berkala Hayati Edisi Khusus* **3D**. 31-34.
- [5] Athiroh, N. 2016. *Uji toksisitas MDA pada mencit*. Inpress Universitas Brawijaya. Malang.
- [6] Stojevic, Z. Filipovic N. Bozic P, Tucek Z, Daud J. 2008. The metabolic profile of Simmental. *Service bulls. Vet Arhiv.* **78**:123-129.
- [7] Athiroh, N., N. Permatasari, D. Sargowo and M.A. Widodo. 2014a. Antioxidative and Blood Pressure-Lowering Effects from *Scurrula atropurpurea* on DOCA-salt Hypertensive Rats. *Biomarkers and Genomic Medicine.* **6(1)**: 32-36.
- [8] Athiroh, N., N. Permatasari, D. Sargowo and M.A. Widodo, 2014b. Effect of *Scurrula atropurpurea* on Nitric Oxide, Endothelial Damage, and Endothelial Progenitor Cells of DOCA-salt Hypertensive Rats. *Iran J Basic Med Sci.* **(17)**: 622-625.
- [9] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014
- [10] Murray K, Graner D, Mayes P, Rodwel V, 2003. *Biokimia*. Harper Edisi 25 Penelitian Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Ha 1734-748.
- [11] Athiroh, N and E. Sulistyowati. 2015 Evaluation Of Methanolic Extract Of *Scurrula Atropurpurea* (Bl.) Dans Sub-Chronic Exposure On Wistar Rat Liver. *American-Euroasian Network for Scientific Information Journal*: 245-250.
- [12] Athiroh, N and N. Permatasari. 2012. Mechanism of Tea Mistletoe Action on Blood Vessels *Medical Journal Brawijaya* **27(1)**: 1-4.
- [13] Susanto, AB. 2008. *Penelitian rumput laut di Indonesia dan potensi pemanfaatan klorofil*. Prosiding Seminar Nasional Pigmen: Sains dan Teknologi Pigmen Alami. Program Studi Magister Biologi UKSW. Salatiga. ISBN: 979-1098-16-4.
- [14] Athiroh N and E. Sulistyowati. 2013. *Scurrula atropurpurea* increases Nitric Oxide and decreases Malondialdehyde in hypertensive rats. *Kaohsiung Medical University.*, **32**: 44e50.
- [15] Stankovic, Milan S. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of marrubium peregrinum L. Extracts. *Kragujev J. Sci.* **33**:63-72.