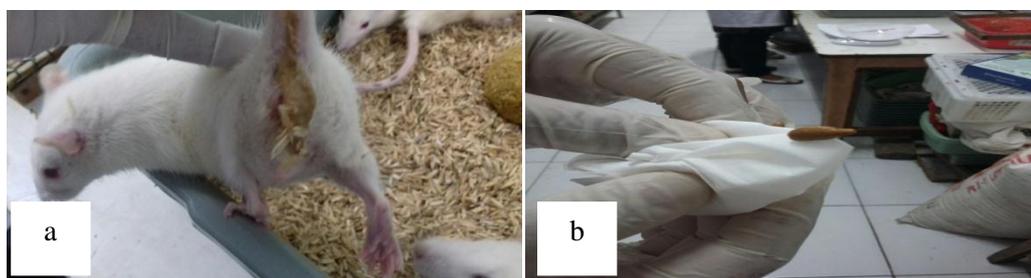


BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Gastroenteritis didefinisikan sebagai inflamasi dari membran mukosa saluran pencernaan yang ditandai dengan diare dan muntah. Salah satu penyebab dari penyakit ini adalah adanya infeksi bakteri seperti *E. coli*. Pada penelitian didapatkan bahwa tikus pada kelompok kontrol positif fesesnya menjadi lembek (**Gambar 5.1**). *E. coli* merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare. Perlekatan *E. coli* pada sel mukosa usus menyebabkan terjadinya perubahan struktur sel kemudian *E. coli* melakukan invasi menembus sel epitel usus (Astawan dkk., 2011). Diare terjadi karena *E. coli* melakukan invasi menembus sel mukosa pencernaan. Keadaan tersebut menimbulkan sekresi usus meningkat, tapi fungsi absorpsi usus berkurang (Khairil dkk., 2014).



Gambar 5.1 : (a). Feses lembek pada tikus kontrol positif saat induksi *E. coli* (b). Feses tikus kontrol negatif

Selain itu, tikus pada kelompok kontrol positif juga mengalami penurunan berat badan setelah diinduksi *E. coli*. Hal tersebut dapat dilihat dari hasil analisis secara statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* pada berat badan tikus pada hari ke-21. **Tabel 5.1.** Adapun data penurunan berat badan dapat dilihat pada **Lampiran 5.**

Tabel 5.1. Rata-rata Berat badan tikus Hari ke-14 dan Hari ke-21

| Perlakuan | Rata-rata berat badan (gram) ± SD (Hari Ke-14 setelah pemberian preventif herbal) | Rata-rata berat badan (gram) ± SD (Hari Ke- 21 setelah induksi <i>E. coli</i>) |
|--------------------------------------|--|---|
| Kontrol negatif (normal) | 172,00 ± 12,32 | 178,00 ± 11,19 ^c |
| Perlakuan 1 | 161,50 ± 9,46 | 145,00 ± 8,52 ^b |
| Perlakuan 2 | 158,00 ± 2,16 | 141,25 ± 3,86 ^b |
| Perlakuan 3 | 160,50 ± 7,93 | 137,50 ± 6,45 ^b |
| Kontrol positif (gastroenteritis) | 157,75 ± 8,18 | 104,50 ± 4,12 ^a |

Keterangan : notasi menunjukkan perlakuan mengalami perbedaan yang nyata.

Berdasarkan tabel rata-rata berat badan menunjukkan bahwa preventif daun dewandaru tidak berpengaruh terhadap peningkatan berat badan tikus. Sedangkan, induksi dari *E. coli* mempengaruhi berat badan tikus secara

signifikan. Namun pada P1, P2, dan P3 didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan preventif daun dewandaru dapat mencegah terjadinya peradangan pada mukosa usus. Sedangkan penurunan berat badan pada kelompok kontrol positif disebabkan oleh ketidakmampuan tikus dalam menyerap nutrisi yang masuk ke dalam tubuh. Ketidakmampuan ini karena peradangan akibat penempelan bakteri pada mukosa usus. Peradangan tersebut menyebabkan meningkatnya sekresi cairan dan elektrolit sehingga feses yang dikeluarkan encer (Try, 2011).

Peneguhan diagnosa bakteri *E. coli* dapat dilakukan dengan cara penanaman di media EMBA pada kelompok kontrol positif. Adapun sampel yang digunakan berasal dari swab lambung tikus kontrol positif. Hasil dari penanaman adalah dengan munculnya warna hijau metalik ada media EMBA yang membuktikan bahwa sampel mengandung *E. coli*. Kemudian dilakukan uji morfologi bakteri dengan pewarnaan gram. Hasil dari pewarnaan menunjukkan bakteri gram negatif, lebih jelas dapat dilihat pada **Lampiran 12** (Tarmudji, 2003).

5.2 Pengaruh Preventif Pemberian Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora L*) Terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Lambung Tikus Model Gastroenteritis yang Diinduksi *Escherichia coli*

Analisa kadar radikal bebas dalam penelitian ini dilakukan dengan mengukur kadar *malondialdehyde* (MDA) jaringan lambung. Pengukuran kadar MDA menggunakan metode *Thiobarbituric Acid* (TBA) yang diukur dengan

spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm. Hasil pengukuran kadar MDA lambung dianalisis secara statistik menggunakan uji *kruskal wallis* **Tabel 5.2.**

Tabel 5.2. Rata-rata Kadar MDA Lambung

| Perlakuan | Rata-rata kadar MDA (ng/mL) \pm SD | Kadar MDA (%) | |
|--------------------------------------|---|--|--|
| | | Peningkatan terhadap kontrol negatif | Penurunan terhadap kontrol positif |
| Kontrol negatif (normal) | 1134,63 \pm 42,20 | - | - |
| Perlakuan 1 | 1065,88 \pm 93,38 | - | 15,63 % |
| Perlakuan 2 | 1078,38 \pm 57,68 | - | 14,64 % |
| Perlakuan 3 | 1140,88 \pm 86,06 | - | 9,69 % |
| Kontrol positif (gastroenteritis) | 1263,38 \pm 128,96 | 11,34 % | - |

Keterangan : tidak terdapat notasi menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan.

Persentase peningkatan terhadap kontrol negatif. Persentase penurunan terhadap kontrol positif.

Berdasarkan kadar MDA yang didapatkan rata-rata pada kelompok kontrol positif sebesar 1263,38 \pm 128,96. Rata-rata kontrol negatif sebesar 1134,63 \pm 42,20. Serta rata-rata P1 sebesar 1065,88 \pm 93,38, P2 sebesar 1078,38 \pm 57,68, dan P3 sebesar 1140,88 \pm 86,06. Hasil uji menunjukkan tidak adanya perbedaan antar

perlakuan. Hal ini disebabkan tingginya kadar MDA pada semua perlakuan. Adapun faktor-faktor yang menyebabkan tingginya kadar MDA adalah adanya inflamasi, lamanya waktu pengerjaan (waktu paruh dari ROS), suhu lingkungan, dan paparan radiasi.

Menurut Gede (2012), radikal bebas memiliki waktu paruh yang sangat pendek sehingga sulit diukur dalam laboratorium. Kerusakan jaringan lipid akibat ROS dapat diperiksa menggunakan senyawa MDA. MDA merupakan senyawa hasil peroksidasi lipid yang terbentuk dari peroksidasi lipid pada membran sel yaitu reaksi radikal bebas (radikal hidroksi) dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai akan menghasilkan sejumlah radikal lipid dan senyawa yang sangat sitotoksik terhadap endotel. Radikal – radikal lipid tersebut akan bereaksi dengan logam-logam transisi bebas dalam darah seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} menghasilkan aldehyd dehidrogenase dan thiokinasi yang terjadi di hepar dalam waktu 2 jam pada tikus.

Kadar MDA telah digunakan secara luas sebagai indikator stres oksidatif pada lemak tak jenuh sekaligus merupakan indikator keberadaan radikal bebas. MDA adalah produk sekunder dari peroksidasi lipid membran sel dan produk oksidasi lipid yang akurat untuk menilai tingkat stres oksidatif suatu sel atau jaringan. Pada kondisi stres oksidatif terjadi peningkatan produksi ROS jika tanpa pertahanan dari antioksidan yang cukup. O_2^- akan berubah menjadi OH^- (radikal hidroksil) dan menuju ke membran sel untuk melakukan reaksi peroksidasi lipid dengan PUFA. Melalui mekanisme inisiasi dan propagasi akan terbentuk radikal

peroksil (ROO*) yang nantinya bereaksi dengan endoperoksida lipid dan menghasilkan MDA (Sasmita, 2015).

Berdasarkan kadar MDA pada masing-masing kelompok perlakuan dihasilkan presentase perbandingan antara kelompok tikus kontrol negatif, tikus yang dipreventif, dan tikus model gastroenteritis sehingga didapatkan hasil pada masing-masing kelompok tikus; kontrol positif; preventif dosis 300 mg/KgBB; 400 mg/KgBB, dan 500 mg/KgBB adalah 11,34%; 15,63%, 14,64%, dan 9,69%. Pada hasil rata-rata kadar MDA lambung kelompok tikus gastroenteritis ditunjukkan mengalami peningkatan jika dibandingkan tikus kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa *E. coli* dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang mengakibatkan gangguan pada organ lambung. Stres oksidatif memicu terjadinya peroksidasi lipid pada lambung yang dapat merusak organel sel dan fungsi membran sel dari lambung. Terjadinya peroksidasi lipid akan meningkatkan produksi MDA (Ray, 2001).

Pemberian ekstrak daun dewandaru yang mengandung flavonoid dan tanin digunakan sebagai antioksidan eksogen dan antibakteri. Flavonoid berperan sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbondioksida sehingga dapat menangkap radikal bebas dengan menyumbangkan satu atom hidrogen. Pada kondisi gastroenteritis induksi *E. coli* dapat mengaktifkan makrofag yang akan menyebabkan pelepasan sitokin inflamasi dan *Reactive Oxygen Species* (ROS), meningkatkan radikal bebas di dalam lambung mengakibatkan antioksidan endogen tidak dapat menyeimbangkan radikal bebas yang jumlahnya berlebih sehingga radikal bebas

tersebut dapat menyebabkan kerusakan jaringan maka diperlukan antioksidan eksogen yang berasal dari luar tubuh salah satunya kandungan flavonoid (Utami *et al.*, 2008).

Senyawa tanin sebagai antibakteri berhubungan dengan kemampuan dalam menginaktivasi adhesi sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel dan menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri karena merupakan senyawa fenol. Pada pengrusakan membran sel, ion H⁺ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karbosilat, dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel, akibatnya membran sel bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian (Kredy, 2010). Menurut Nurhalimah (2015), senyawa tanin juga bersifat sebagai senyawa astringent. Mekanisme tanin sebagai astringen adalah dengan menciutkan permukaan usus atau zat bersifat proteksi terhadap mukosa usus dan dapat menggumpalkan protein. Oleh karena itu senyawa tanin dapat membantu menghentikan diare.

Senyawa saponin dapat menginduksi produksi dari sitokin seperti interleukin dan interferon yang dapat memediasi efek immunostimulan. Saponin juga dapat meningkatkan respon imun melalui imunisasi oral dengan cara meningkatkan pengambilan antigen oleh usus dan sel mukosa. Saponin yang bersifat amfifilik yang berarti saponin dapat membentuk busa dan merusak

membran sel karena dapat membentuk ikatan dengan lipida dari membran sel (Oda *et al*, 2000)

5.2 Pengaruh Preventif Pemberian Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora L*) Terhadap Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Lambung Tikus Model Gastroenteritis yang Diinduksi *Escherichia coli*

Hasil pengukuran aktivitas SOD serum tikus putih (*Rattus norvegicus*) dianalisa menggunakan SPSS 22.0 berdasarkan uji statistik *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji BNJ pada tingkat signifikansi $p < 0,05$ didapatkan data seperti pada **Tabel 5.3** di bawah ini.

Tabel 5.3. Rata-rata Aktivitas SOD serum tikus putih (*Rattus norvegicus*)

| Perlakuan | Rata-rata aktivitas SOD (ng/mL) \pm SD | Aktivitas SOD (%) | |
|--------------------------------------|--|--------------------------------------|------------------------------------|
| | | Peningkatan terhadap kontrol positif | Penurunan terhadap kontrol negatif |
| Kontrol negatif (normal) | 7,19 \pm 0,62 ^b | - | - |
| Perlakuan 1 | 7,01 \pm 1,07 ^b | 35,32 % | - |
| Perlakuan 2 | 7,94 \pm 0,61 ^b | 53,28 % | - |
| Perlakuan 3 | 7,27 \pm 0,61 ^b | 40,34 % | - |
| Kontrol positif (gastroenteritis) | 5,18 \pm 0,48 ^a | - | 27,95 % |

Keterangan : notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p < 0,05$).

Persentase peningkatan terhadap kontrol positif. Persentase penurunan terhadap kontrol negatif.

Berdasarkan hasil uji aktivitas SOD di atas, menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif memiliki aktifitas SOD yang berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif (gastroenteritis). Hal ini ditunjukkan dari nilai aktivitas SOD yang memuat notasi yang berbeda nyata. Pada kontrol negatif SOD mampu menetralkan radikal bebas secara normal. Kadar aktivitas SOD pada kelompok kontrol negatif, yaitu $(7,19 \pm 0,62)$ yang digunakan untuk menentukan adanya kenaikan yang terjadi karena pengaruh perlakuan.

Enzim superoksida dismutase (SOD) merupakan salah satu enzim antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh dan bereaksi merubah radikal bebas superoksida (O_2^-) menjadi oksigen (O_2) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Superoksida dihasilkan oleh metabolisme oksidatif sel yang dapat juga disebut ROS. Jika tidak dirubah maka akan menyebabkan kerusakan sel. Aktivitas enzim SOD memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa oksigen reaktif yang dapat menyebabkan stres oksidatif. Adanya aktivitas SOD berdampak positif bagi sel karena stres oksidatif akibat radikal bebas dapat dihindarkan (Winarsi, 2007).

Pada kelompok kontrol positif (gastroenteritis) mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, yaitu sebesar 27,95 % setelah diinduksi dengan bakteri *E. coli*. Paparan *E. coli* patogen memicu terjadinya inflamasi karena *E. coli* memiliki kemampuan untuk menempel dan berkolonisasi

dipermukaan sel mukosa usus halus dan tahan terhadap pengaruh gerakan peristaltik usus. Selain itu *E. coli* juga mengeluarkan enterotoksin yang merupakan antigen ekstraseluler dan endotoksin berupa lipopolisakarida (LPS) yang dilepaskan saat bakteri mengalami lisis atau pecahnya sel. Endotoksin dari bakteri ini akan menyebabkan ketidakseimbangan ROS dan antioksidan dalam tubuh dan menyebabkan terjadinya kondisi stres oksidatif (Supar, 2001).

Menurut Hairuddin *et al* (2009), peningkatan radikal bebas di dalam tubuh terus menerus mengakibatkan menurunnya aktivitas SOD. Semakin tinggi radikal bebas yang dihasilkan maka semakin banyak pula yang gagal dinetralkan oleh antioksidan endogen seperti SOD, katalase, dan glutathione. Oleh karena itu, tubuh memerlukan antioksidan eksogen seperti flavonoid yang dapat membantu menangkal radikal bebas sehingga mencegah penurunan aktivitas SOD.

Berdasarkan aktivitas SOD pada masing-masing kelompok perlakuan dihasilkan persentase perbandingan antara kelompok tikus kontrol negatif, tikus yang dipreventif, dan tikus model gastroenteritis sehingga didapatkan hasil pada masing-masing kelompok tikus; kontrol positif; preventif dosis 300 mg/KgBB; 400 mg/KgBB, dan 500 mg/KgBB adalah 27,95%; 35,32%, 53,28%, dan 40,34%. Pada hasil rata-rata aktivitas SOD kelompok tikus gastroenteritis ditunjukkan mengalami penurunan jika dibandingkan tikus kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa *E. coli* dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang mengakibatkan gangguan keseimbangan ROS. Stres oksidatif menyebabkan penurunan dari aktivitas antioksidan endogen dalam hal ini adalah SOD (Radin, 2015).

Nilai rata-rata aktivitas SOD serum pada kelompok tikus gastroenteritis yang diinduksi *E. coli* adalah $5,18 \pm 0,48$ $\mu\text{g/mL}$ berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok tikus kontrol negatif yaitu $7,19 \pm 0,62$ $\mu\text{g/mL}$. Hal tersebut membuktikan bahwa induksi *E. coli* yang diberikan pada perlakuan tersebut mampu menurunkan aktivitas SOD pada kondisi gastroenteritis berdasarkan pemeriksaan aktivitas SOD serum. SOD termasuk ke dalam antioksidan enzimatis bersama dengan katalase dan glutathion peroksidase. Enzim-enzim antioksidan tersebut dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal dan merubahnya menjadi senyawa yang lebih stabil melalui ikatan radikal-antioksidan. Antioksidan enzimatis bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah senyawa radikal yang telah terbentuk menjadi senyawa yang kurang reaktif (Chevion *et al.*, 2003).

Hasil rata-rata aktivitas SOD serum pada kelompok preventif dosis 300 mg/KgBB, 400 mg/KgBB, dan 500 mg/KgBB berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif dan tidak berbeda nyata terhadap kontrol negatif. Hal tersebut membuktikan bahwa preventif ekstrak daun dewandaru dengan perlakuan dosis 300 mg/KgBB, 400 mg/KgBB, dan 500 mg/KgBB mampu untuk meningkatkan aktivitas SOD serum pada tikus model gastroenteritis. Hal ini dapat terjadi dikarenakan senyawa atau bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak daun dewandaru berperan sebagai antioksidan. Kandungan bahan aktif berupa flavonoid mampu meningkatkan aktivitas SOD serum karena flavonoid memiliki aktivitas antioksidan dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogen kepada radikal bebas.

Menurut Rahma (2012), mekanisme kerja flavonoid (FI-OH) sebagai antioksidan, yaitu dengan mentransfer atom hidrogen (H) dari gugus hidroksil (OH) kepada radikal bebas (R^*) sehingga flavonoid berubah menjadi fenoksis flavonoid (FIO \cdot). Hal ini dikarenakan radikal fenoksis flavonoid mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi maka dapat menyeimbangkan dengan cara delokalisasi elektron sehingga menjadi senyawa yang lebih stabil.

Hasil analisis data menunjukkan tidak ada perbedaan aktivitas SOD yang nyata antar ketiga kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini dapat disebabkan karena variasi biologis dari tikus jantan galur wistar yang berbeda pada setiap tikus yang dipakai dalam penelitian (Sasminto, 2013).