

Pengaruh Pemberian Ekstrak Tauge (*Vigna radiata (L)*) terhadap Terjadinya Stress Oksidatif Pemicu Aterosklerosis pada Tikus Wistar Jantan yang Diberi Stres Fisik

Effect of Mung Bean Sprout (*Vigna radiata (L)*) Extract on Physical Stress-Induced Atherosclerosis of Male Wistar Rat

Azham Purwandhono, Rena Normasari

Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Jl Kalimantan 37 Jember 68121, Indonesia, Tlp/Fax +62 331 337877

e-mail korespondensi: azham.p@gmail.com

Abstrak

Penyakit jantung koroner merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting. Diperkirakan angka kematian akibat jantung koroner sebesar 23,4 juta jiwa pada tahun 2030 (WHO, 2009). Aktivitas fisik berlebihan menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang mempengaruhi perkembangan aterosklerosis. Tauge (*Vigna radiata (L)*) memiliki kandungan Vitamin E (α Tokoferol), vitamin C, fenol, flavonoid, fitosterol dan beberapa mineral. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tauge (*Vigna radiata (L)*) terhadap ketebalan tunika intima-media aorta tikus wistar jantan yang diberi stress fisik. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan menggunakan dua puluh lima ekor tikus wistar jantan yang terbagi dalam lima kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif (stress fisik), kelompok perlakuan P1, P2, P3 (stress fisik + ekstrak tauge 50 mg/hari, 100 mg/hari, 200 mg/hari). Lama penelitian adalah 10 hari. Analisis statistik Anova satu arah didapatkan penurunan bermakna MDA serum pada pemberian ekstrak tauge berbagai dosis ($p < 0,05$). Penurunan terbesar ditemukan pada pemberian ekstrak tauge dosis besar, yaitu 100 mg/ 200 g BB tikus/hari.

Kata kunci : *Vigna radiata*, stress fisik, ketebalan tunika intima-media

Abstract

*Coronary heart disease is an important health problem. It is estimated that the death rate from coronary heart disease by 23,4 millions in 20130 (WHO, 2009). Excessive physical activity can cause oxidative stress which lead to atherosclerosis. Mung bean sprouts (*Vigna radiata (L)*) contain vitamin E, vitamin C, fenol, flavonoid, fitosterol, and other minerals. The aim of this study is to determine the effect of mung beans sprout extract on on the thicknes of the tunica intima-media on physical stress-induced atherosclerosis of male wistar rat. This research is true experimental study using 20 male wistar rat were divided into five groups: negative control, positive control and treatment groups P1, P2, P3 (physical stress + bean sprout extract 50 mg/day, 100 mg/day, 200 mg/day for 10 days). There is significant decrease of MDA serum level in the treatment groups.*

Keywords : *Vigna radiata*, physical stress, thicknes of tunica intima-media

Pendahuluan

Penyakit kardiovaskuler merupakan masalah kesehatan utama di negara maju ataupun negara berkembang. Pada tahun 2004 terdapat 7,2 juta kematian akibat penyakit jantung koroner di seluruh dunia. Diperkirakan angka ini akan terus meningkat menjadi 23,4 juta kematian atau meningkat 37 persen pada tahun 2030 (WHO, 2009).

Aterosklerosis merupakan proses yang mendasari terjadinya penyakit jantung koroner. Stres merupakan salah satu faktor risiko penyakit tersebut. Stres akibat ketidakmampuan mengatasi beban fisik ataupun psikologik banyak terjadi pada negara berkembang, termasuk Indonesia. Hal ini dikarenakan oleh beban ekonomi yang dipenuhi oleh tiap individu. Mereka dituntut untuk dapat memenuhi kebutuhan ekonomi keluarga yang mengakibatkan peningkatan beban aktivitas fisik, mental serta istirahat yang kurang. Aktivitas fisik berlebihan dapat menimbulkan stres oksidatif melalui peningkatan produksi ROS yang berasal dari metabolisme aerobik sel-sel otot selama aktivitas fisik tersebut (Peake *et al*, 2007).

Akibatnya terjadi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan tubuh. Radikal bebas yang terbentuk dapat menimbulkan cedera endotel. Adanya disfungsi endotel memicu terbentuknya sitokin proinflamasi dan faktor pertumbuhan sehingga terjadi proliferasi sel otot polos dan sintesis matriks ekstraseluler dan tampak adanya penebalan pada tunika intima-media pada dinding arteri (Constantinides, 1998). Ketebalan tunika intima-media merupakan parameter dari kondisi suatu pembuluh darah (Mumpuni *et al*, 2012).

Terdapat berbagai macam farmakoterapi dalam penatalaksanaan aterosklerosis dengan tujuan untuk menekan morbiditas dan mortalitas. Akan tetapi tetap terjadi kecenderungan peningkatan kasus dari tahun ke tahun. Hal inilah yang mendasari dilakukannya berbagai penelitian untuk mendapatkan alternatif farmakoterapi dalam menangani aterosklerosis.

Perkembangan terkini di bidang farmasi adalah penggunaan obat-obat herbal. Hal ini sejalan dengan keinginan masyarakat yang ingin menggunakan bahan-bahan dari alam. Kacang hijau merupakan hasil pertanian yang umum dijumpai di Indonesia. Tauge (*Vigna radiata* (L)) merupakan bentuk kecambah dari tanaman ini. Tauge memiliki kandungan antioksidan yang cukup tinggi diantaranya Vitamin E (α Tokoferol), vitamin C, fenol, flavonoid, fitosterol dan beberapa

mineral (selenium, mangan, tembaga, zinc dan besi) (Astawan, 2005). Antioksidan berperan melindungi tubuh terhadap radikal bebas dan inflamasi yang terjadi (Rohmatussolihat, 2009).

Adanya kandungan antioksidan pada tauge dapat digunakan sebagai alternatif tatalaksana terhadap penyakit kardiovaskular dalam hal ini aterosklerosis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tauge terhadap ketebalan tunika intima-media aorta abdominalis.

Subyek dan Metode

Subyek penelitian adalah tikus wistar jantan umur 2-3 bulan dengan berat 200 gram. Besar sampel adalah 25 ekor. Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan *Post Test Only Control Group Design*. Tikus yang memenuhi syarat dibagi dalam 5 kelompok. Kelima kelompok tersebut adalah kelompok diet normal/kontrol negatif (K-), kelompok stress fisik/kontrol positif (K+), kelompok stress fisik + ekstrak tauge 50 mg/kgBB/hari (P1), kelompok stress fisik + ekstrak tauge 100 mg/kgBB/hari (P2), kelompok stress fisik + ekstrak tauge 200 mg/kgBB/hari (P3). Lama penelitian adalah 10 hari. Variabel penelitian adalah ketebalan tunika intima-media aorta.

Aorta yang sudah diisolasi difiksasi dengan formalin 10% kemudian dibuat sediaan histologis dan diwarnai dengan *Hematoxyllin Eosin* (HE). Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Ketebalan tunika intima-media adalah ketebalan dinding arteri pada potongan melintang yang diukur mulai dari tunika intima hingga batas antara tunika media dan adventisia dengan menggunakan mikrometer yang telah dikalibrasi terlebih dahulu.

Analisis Data

Data yang didapat dimasukkan dalam tabel dan disajikan dalam bentuk grafik. Berdasarkan skala data, jumlah variabel, distribusi data, homogenitas variansi dan rancangan percobaan yang digunakan, maka data yang didapatkan selanjutnya dianalisis dengan uji *One Way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) kemudian bila didapatkan signifikansi dilanjutkan dengan uji beda. Analisis dilakukan dengan menggunakan program komputer.

Hasil

Setiap tikus pada seluruh kelompok dilakukan pemberian stres fisik berupa renang yang dipaksakan dengan pemberian beban timbale sebesar 6 % dari BB tikus selama 10 hari. Stres fisik dilakukan selama 30 menit. Pada kelompok perlakuan ditambahkan pemberian ekstrak tauge berbagai pada 1 jam sebelum pemberian stres fisik. Pada hari ke-11 dilakukan pengambilan darah sebanyak 3 ml melalui jantung. Kadar MDA serum dihitung dengan menggunakan MDA kit assay metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Pembacaan hasil menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm, hasil dinyatakan dalam nmol/ml

Tabel 1 Rata-rata Kadar Malondialdehid (MDA) Serum (nmol/ml)

Kelompok	Mean \pm SD
K-	55,09 \pm 9,49 ^{ac}
K+	69,71 \pm 16,38 ^a
P1	57,44 \pm 16,86 ^{ac}
P2	47,75 \pm 21,87 ^{bc}
P3	29,15 \pm 11,18 ^b

Ket: $p < 0,05$

Kadar malondialdehid (MDA) serum ditunjukkan pada tabel 4.1. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data pada kelima kelompok berdistribusi normal ($p > 0,05$). Sedangkan uji homogenitas Levene untuk mengevaluasi *variance* sampel didapatkan bahwa variansi data antar kelompok homogen.

Data kemudian diolah dengan menggunakan uji statistik ANOVA satu arah dan didapatkan hasil $p = 0,012$ ($p < 0,05$), sehingga hipotesis nol (H_0) ditolak. Terdapat perbedaan yang signifikan kadar MDA serum antar kelompok. Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda dilakukan uji LSD.

Hasil pengukuran ketebalan tunika intima-media aorta dengan menggunakan mikrometer dapat dilihat pada tabel 2.

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data pada kelima kelompok berdistribusi normal ($p > 0,05$). Sedangkan uji homogenitas Levene untuk mengevaluasi *variance* sampel didapatkan bahwa variansi data antar kelompok homogen.

Tabel 2 Rata-rata ketebalan tunika intima-media aorta (μm)

Kelompok	Mean \pm SD
K-	75,63 \pm 4,12
K+	81,13 \pm 12,56
P1	79,13 \pm 6,56
P2	75,88 \pm 11,83
P3	75,50 \pm 7,66

Data kemudian diolah dengan menggunakan uji statistik ANOVA satu arah dan didapatkan hasil $p = 0,814$ ($p > 0,05$), sehingga hipotesis nol (H_0) diterima. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan ketebalan tunika intima-media aorta antar kelompok.

Diskusi

Berenang merupakan salah satu aktivitas yang paling sering digunakan dalam penelitian laboratorium menggunakan hewan coba untuk mempelajari perubahan fisiologis dan kapasitas organisme dalam menghadapi stres (Greenen *et al.*, 1998; Tan *et al.*, 1992). Situasi stres menyebabkan perubahan fisiologis, neurokimia, perubahan imunologi dan perilaku pada organisme untuk mempertahankan keadaan homeostasis. Namun apabila paparan terhadap stressor tersebut melebihi kapasitas organisme tersebut maka dapat terjadi kondisi patologis (Nayanatara, 2005).

Pada aktivitas fisik berat terjadi peningkatan metabolisme dan konsumsi oksigen. Kebutuhan oksigen yang tinggi pada aktivitas fisik berat menyebabkan terjadinya hipoksemia pada tubuh dan terjadi pembentukan ROS ($\bullet\text{O}_2^-$) (Suryohudoyo, 2005). Semakin tinggi produksi ROS, semakin banyak pula yang gagal dinetralisir oleh sistem antioksidan dalam tubuh, akibatnya kadar MDA serum akan meningkat. Kondisi seperti ini disebut stres oksidatif (Suryohudoyo, 2005).

Pada penelitian ini didapatkan peningkatan kadar MDA serum pada kelompok yang mendapatkan stres fisik (*swimming stress*) yaitu sebesar 69,71 \pm 16,38 nmol/ml dibandingkan pada kelompok yang tidak mendapatkan perlakuan stres fisik, yaitu sebesar 55,09 \pm 9,49 nmol/ml. Hal ini menunjukkan bahwa *swimming stress* menyebabkan stres fisik yang ditandai dengan peningkatan kadar MDA serum.

Pemberian ekstrak taugé berbagai dosis menyebabkan penurunan kadar MDA serum. Pada dosis besar 100 mg/200 g BB tikus/hari menyebabkan penurunan kadar MDA terbesar, yaitu sebesar $29,15 \pm 11,18$ nmol/ml dibandingkan dengan pemberian dosis kecil 25 mg/200 g BB tikus/hari, yaitu sebesar $57,44 \pm 16,86$ nmol/ml

Taugé (*Vigna radiata* (L)) mengandung fitosterol dan komponennya (β -sitosterol, stigmasterol, dan campesterol) yang bersifat sebagai antioksidan. Adanya komponen tersebut berperan dalam melawan peroksidasi lipid (Yoshida dan Niki, 2003). Kandungan lain pada taugé yaitu vitamin E berfungsi dalam mengendalikan peroksidasi lemak melalui pelepasan ion hidrogen (radikal peroksil) menjadi radikal *tocopheroxyl*, serta menyekat aktivitas tambahan yang dilakukan oleh peroksida sehingga menghambat reaksi berantai (peroksidasi lipid) dan bersifat membatasi kerusakan (Haryatmi, 2004).

Vitamin E dapat mempertahankan integritas membran sel dengan menghambat aktivitas NO (*nitrit oxide*) endotel dan menghambat adhesi leukosit pada sel yang mengalami kerusakan. Inhibisi aktivitas NO juga diperankan vitamin C. Vitamin C dapat menangkal radikal hidroksil (OH) dan sebagai donor hidrogen untuk perubahan radikal *tocopheroxyl* menjadi α -tokoferol. Vitamin C juga merupakan penyetabil keberadaan vitamin E (Sukandar, 2006). Bentuk vitamin E yang paling aktif dan paling penting untuk aktivitas biologi tubuh adalah α -tokoferol (Sareharto, 2010). Fitosterol dan vitamin E memiliki kerja yang sama yaitu dengan memutus rantai peroksida lipid pada membran sel (Haryatmi, 2004). Hal ini menyebabkan ekstrak taugé dapat menurunkan kadar MDA serum dengan memutus rantai peroksidasi lipid.

Seperti yang disebutkan diatas bahwa pemberian stres fisik dapat menyebabkan terbentuknya ROS dan terjadi kerusakan jaringan yang ditandai dengan peningkatan kadar MDA. Tingginya kadar ROS dalam peredaran darah dapat menyebabkan terjadinya cedera endotel pembuluh darah yang merupakan lesi awal dalam proses perkembangan aterosklerosis (Raitakari *et al*, 1998; Sperelakis, 1998).

Pada aterosklerosis terjadi penebalan tunika intima-media yang memiliki asosiasi dengan peningkatan penyakit jantung koroner, infark miokardium, dan stroke (Mumpuni *et al*, 2012). Pembuluh darah besar seperti aorta merupakan lokasi yang sering terjadi penebalan tunika intima-media (Kumar *et al*, 2010). Aterosklerosis adalah proses yang kronik, terjadi perlahan-lahan,

memakan waktu sampai puluhan tahun (Kumar *et al*, 2010). Penelitian pada binatang coba menyebutkan dibutuhkan waktu 6 minggu untuk terjadinya penebalan tunika intima-media pada tikus yang mendapat diet hiperkolesterolemia (Mulyohadi *et al*, 2006). Berdasarkan penelusuran literatur masih belum diketahui. waktu yang dibutuhkan untuk terjadinya penebalan tunika intima-media pada binatang coba yang mendapat stres fisik (*swimming stress*). Data menunjukkan bahwa pada hari ke-7 perlakuan stres fisik terjadi kerusakan pada organ hepar, ginjal dan beberapa regio di otak (Nayanatara *et al*, 2005).

Pada penelitian ini meskipun terjadi peningkatan ketebalan tunika intima-media aorta pada kelompok yang mendapat stres fisik ($81,13 \pm 12,56$ μ m) dibandingkan kelompok yang tidak mendapat stres fisik ($75,63 \pm 4,12$ μ m) namun peningkatan tersebut tidak bermakna secara statistik. Begitu pula dengan pemberian ekstrak taugé pada kelompok perlakuan didapatkan penurunan ketebalan tunika intima-media berturut-turut sebesar $79,13 \pm 6,56$ μ m; $75,88 \pm 11,83$ μ m; $75,50 \pm 7,66$ μ m pada pemberian ekstrak taugé 25, 50 dan 100 mg/200 g BB tikus/hari tidak didapatkan perbedaan yang signifikan.

Perubahan morfologi jaringan seperti pada lapisan tunika intima-media aorta memerlukan waktu yang lebih lama dibandingkan perubahan biokimia/perubahan fungsional. Hal ini dibuktikan dari data penelitian ini dimana sudah terjadi perubahan pada kadar MDA namun perubahan morfologi melalui pengamatan mikroskopis masih belum tampak adanya perubahan. Oleh karena itu diperlukan pemeriksaan/metode khusus untuk mengetahui adanya perubahan morfologi tersebut misalnya dengan menggunakan pewarnaan imunohistokimia ataupun pemeriksaan menggunakan mikroskop elektron.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak taugé (*Vigna radiata* (L)) dapat menurunkan kadar MDA pada tikus yang mendapat stres fisik. Penurunan kadar MDA terbanyak didapatkan pada pemberian ekstrak taugé sebesar 100 mg/200 g BB tikus/hari. Sedangkan pemberian ekstrak taugé tidak dapat menghambat ketebalan tunika intima-media aorta.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan melalui program BOPTN/ Penelitian Dosen Pemula berdasarkan SPK no. 809/ UN25.3.1/ LT.6/ 2014.

Daftar Pustaka

- Astawan, M. 2005. *Kacang Hijau, Antioksidan yang Membantu Kesuburan Pria*. http://web.ipb.ac.id/~tpg/de/pubde_ntrtn/hlth_kacanghijau.php [10 Juli 2013]
- Constantinides P, 1994. *General Pathobiology*. USA : Appelton & Lange, pp. 59-105.
- Hariyatmi. 2004. Kemampuan Vitamin E sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas Pada Lanjut Usia. *MIPA*. Vol. 14 (1): 52-60.
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, 2010. *Robbins and Cotran: Pathologic Basis of Disease 8th edition*. Philadelphia: Saunders, pp. 496-506. Lilly LS, 2011. *Pathophysiology of Heart Disease Fifth Edition*. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer, pp 114, 119.
- Mulyohadi A, Murwani S, Ketut M. Diet aterogenik pada tikus putih (*Rattus novergicus* strain Wistar) sebagai model hewan aterosklerosis. Malang: Jurnal kedokteran Brawijaya 2006; vol. 22: 6-9.
- Mumpuni ASS, Lukito AA, Mayza A, 2012. Ringkasan Eksekutif Risiko Total Kardiovaskular pada Hipertensi. Jakarta: InaSH. Hal 13-14.
- Nayanatara, A. K., Nagaraja, H. S., dan Anupama, B. K. 2005. The Effect of Repeated Swimming Stress on Organ Weights and Lipid Peroxidation in Rats. *The Journal of Physiological Sciences: ISSN 0857 – 5754* Volume 18. Page 3 – 9
- Peake JM, Suzuki K, Coombes JS, 2007. The influence of antioxidant supplementation on markers of inflammation and the relationship to oxidative stress after exercise. *J Nutr Biochem*. Jun; 18(6):357-71.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan, Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *BioTrends*, Vol 4, No.1.
- Sareharto, T.P. 2010. *Kadar Vitamin E Rendah Sebagai Faktor Risiko Peningkatan Bilirubin Serum Pada Neonatus*. Semarang: Ilmu Kesehatan Anak Universitas Diponegoro.
- Sukandar, E. 2006. Stres Oksidatif sebagai Faktor Risiko Penyakit Kardiovaskular. *Farmacia*. Vol. 6:1
- Suryohudoyo, P. 2005. *Oxidant and Antioxidant Defense in Health and Disease. Post Graduate Program Airlangga University in Collaboration with Institute of Biochemistry*. Berlin: Hombolt University.
- World Health Organization, 2009. Cardiovascular Diseases. <http://who.int/medicacentre/factsheets/fs317/en/index.html>, [6 Maret 2013].
- Yoshida Y., dan Niki E., 2003, Antioxidant Effects of Phytosterol and Its Components. *J. Nutr. Sci. Vitaminol*. Vol. 49 : 277-80.