

Pengaruh Ekstrak Bayam Merah (*Amaranthus tricolor L.*) terhadap Kadar Malondialdehida Serum Tikus Wistar Jantan Model Fraktur

The Effect of Red Spinach Extract (Amaranthus tricolor L.) on Serum Malondialdehyde of Male Rattus Novergicus Fracture Model

Aries Prasetyo¹, Ahmad Baihaqi², Laksmi Indreswari³

¹Laboratorium Fisiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

²Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

³Laboratorium Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Alamat email korespondensi aprasetyo08@gmail.com

ABSTRAK

Fraktur tulang merupakan cedera muskuloskeletal dengan angka kejadian yang cukup tinggi. Proses penyembuhan fraktur dapat terhambat oleh stres oksidatif, yang terjadi akibat *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang melebihi kapasitas antioksidan dalam tubuh yang menetralsirkannya. Antioksidan yang dimiliki bayam merah berpotensi menekan tingkat stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol bayam merah terhadap tingkat stres oksidatif yang diukur melalui kadar malondialdehida (MDA) selama proses penyembuhan fraktur pada tikus wistar jantan. Sampel berjumlah 30 ekor tikus wistar jantan dibagi dalam lima kelompok; kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan tiga kelompok perlakuan ekstrak etanol bayam merah dengan dosis 35,4 mg/150gBB, 70,8 mg/150gBB, dan 141,6 mg/150gBB diinduksi fraktur, dibidai, lalu diberi perlakuan selama satu minggu. Hasil Uji *One Way Anova* menunjukkan signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) di mana terdapat perbedaan bermakna kadar MDA serum antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Hasil uji LSD antara kelompok P1 dengan kelompok P3 menunjukkan hasil berbeda signifikan dimana penurunan kadar MDA serum sejalan dengan peningkatan dosis ekstrak etanol bayam merah. Kesimpulannya adalah ekstrak etanol bayam merah memiliki dampak yang positif selama proses penyembuhan fraktur dengan menekan stres oksidatif.

Kata kunci : Ekstrak etanol bayam merah, proses penyembuhan fraktur, MDA, ROS

ABSTRACT

Fracture is a musculoskeletal injury with a high incidence rate. The healing process of fracture is disturbed by the oxidative stress, because of imbalance quantity of Reactive Oxygen Species (ROS) and antioxidant capacity in the body that neutralizes it. Antioxidants in red spinach have the potential to suppress the level of oxidative stress. The study aimed to determinate the effect of red spinach ethanolic extract on decreasing oxidative stress by measuring malondialdehyde (MDA) concentration in fracture healing process. The study used thirty rats and divided into five groups; negative control group, positive control group, and three treatment groups of red spinach ethanolic extract in a dose of 35,4 mg/150gBB, 70,8 mg/150gBB, and 141,6 mg/150gBB manually fractured on right femur under anaesthesia and immobilized by leucodur plaster. Each group was treated orally respectively one week. The result of One Way Anova showed a significance of 0,000 ($p < 0,05$) in which there was a significant difference in serum MDA levels between the treatment groups and the control groups. The result of LSD test between P1 group and P3 group showed significantly different in which decreased serum MDA levels were consistent with increasing doses of red spinach ethanolic extract. The study concluded that red spinach ethanolic extract had a positive effect on suppression of oxidative stress in fracture healing process.

Keywords: Red spinach ethanolic extract, fracture healing process, MDA, ROS

Pendahuluan

Fraktur tulang merupakan cedera muskuloskeletal dengan angka kejadian cukup tinggi. Penyebab tersering dari fraktur tulang adalah kecelakaan lalu lintas dan perubahan densitas mineral tulang (DMT). Mekanisme penyembuhan fraktur terdiri dari lima tahap, yaitu fase hematoma, proliferasi, pembentukan kalus, konsolidasi, dan remodeling. Namun tahapan tersebut dapat terhambat oleh adanya stres oksidatif. Kapasitas antioksidan dalam tubuh yang lebih rendah dalam mengatasi ROS mampu memicu stres oksidatif. Kerusakan akibat ROS terjadi akibat peroksidasi lipid. Tingkat peroksidasi lipid diketahui dengan mengukur produk yang paling banyak dihasilkan, yaitu *malondialdehyde* (MDA). Oleh karena itu, perubahan kadar MDA menunjukkan adanya perubahan aktivitas ROS.

Stres oksidatif dapat ditekan oleh suplai antioksidan dari luar tubuh. Bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) berpotensi menjadi sumber terapi antioksidan pada fraktur tulang dengan tingginya kadar antioksidan yang dimilikinya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol bayam merah terhadap tingkat stres oksidatif yang diukur melalui kadar malondialdehid (MDA) serum selama proses penyembuhan fraktur pada tikus wistar jantan.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan *post test only control group design*. Penentuan sampel penelitian menggunakan metode *Simple Random Sampling* dengan jumlah 30 ekor tikus *Rattus norvegicus* galur wistar jantan dengan berat 150-200 gram dan umur 2-3 bulan. Sampel dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing terdiri dari 6 ekor; kelompok kontrol negatif (K(-)), kelompok kontrol positif (K(+)), dan tiga kelompok perlakuan ekstrak bayam merah P1 dosis 35,4 mg/150gBB, P2 70,8 mg/150gBB, dan P3 141,6 mg/150gBB. Kelompok kontrol negatif diberi *tween 80* 1%. Kelompok kontrol positif diberi vitamin C 2 mg.

Proses pematahan didahului dengan anestesi kombinasi ketamin dan xylazine. Seluruh sampel dipatahkan tulang femurnya dengan cara induksi manual dan dibidai dengan gips leukodur. Pengecekan apakah telah terjadi fraktur dengan cara *look, feel, and move* serta adanya *false movement*

dan juga krepitasi. Seluruh sampel diberi perlakuan sesuai kelompok masing-masing dengan cara penyondean selama satu minggu. Selanjutnya dilakukan terminasi untuk pengambilan serum dari darah intrakardial yang digunakan untuk pemeriksaan kadar MDA.

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene's test*. Apabila data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji komparatif *One-way Anova* dan dilanjutkan dengan *post hoc test* LSD. Apabila data yang diperoleh tidak terdistribusi normal dan homogeny, dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*.

Hasil Penelitian

Rata-rata MDA serum semua kelompok dapat dilihat pada tabel 1. Hasil rata-rata dan standar deviasi MDA masing-masing kelompok didapatkan untuk kelompok K(-) sebesar 5.96 ± 0.170383 , kelompok K(+) sebesar 3.65 ± 0.351134 , kelompok P1 sebesar 4.34 ± 0.189821 , kelompok P2 sebesar 4.06 ± 0.280107 , kelompok P3 sebesar 3.73 ± 0.114752 . Kelompok K(-) dengan pemberian *tween 80* 1% memiliki rata-rata kadar MDA serum tertinggi, yaitu 5,96 nmol/ml. Sedangkan kelompok K(+) dengan pemberian vitamin C 2 mg memiliki rata-rata kadar MDA serum terendah, yaitu 3,65 nmol/ml.

Tabel 1. Hasil rata-rata kadar MDA

No.	Perlakuan	Rata-rata ± Standar Deviasi
1.	Kontrol Negatif	5.96 ± 0.170383
2.	Kontrol Positif	3.65 ± 0.351134
3.	Kelompok P1	4.34 ± 0.189821
4.	Kelompok P2	4.06 ± 0.280107
5.	Kelompok P3	3.73 ± 0.114752

Hasil rata-rata kadar MDA serum dianalisis persebaran data dengan menggunakan uji *Saphiro-Wilk* dan homogenitasnya menggunakan uji *Levene's test*. Hasil kedua analisis tersebut menunjukkan $p > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan memiliki varian yang sama. Hasil rata-rata kadar MDA serum kemudian dianalisis menggunakan *One Way Anova* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar kelompok.

Hasil uji *One Way Anova* didapatkan nilai signifikansi sebesar $p = 0,000$ ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa terdapat minimal dua kelompok yang memiliki rata-rata kadar MDA serum yang berbeda signifikan. Uji lanjutan *Post Hoc* LSD digunakan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

Pembahasan

Hasil Uji *One Way ANOVA* kadar MDA serum menunjukkan signifikansi $0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan secara bermakna kadar MDA serum antara kelompok kontrol negatif dan positif dengan kelompok perlakuan.

Pada kelompok kontrol negatif jumlah radikal bebas meningkat melebihi jumlah antioksidan endogen sehingga terjadi stres oksidatif yang dapat memicu peroksidasi lipid, terbukti dengan tingginya hasil kadar MDA serum. Disisi lain, pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun bayam merah efek radikal bebas dapat ditekan dengan adanya asupan antioksidan yang terdapat dalam ekstrak etanol daun bayam merah sehingga bisa menurunkan kadar MDA yang tinggi pada kelompok kontrol negatif.

Berdasarkan uji analisis LSD antara kelompok K(-) dengan K(+) didapatkan hasil yang signifikan, yang berarti terdapat perbedaan secara bermakna kadar MDA serum antara K(-) dengan K(+). Perbedaan yang bermakna ini dikarenakan antioksidan pada vitamin C yang diberikan pada kelompok kontrol positif cukup untuk menghambat radikal bebas pada fraktur tulang (Kristoyadi, 2013).

Uji analisis LSD antara K(-) dengan P1 didapatkan hasil yang signifikan berarti terdapat perbedaan secara bermakna kadar MDA serum, hal ini disebabkan suplai antioksidan yang tinggi dalam ekstrak bayam merah bisa menurunkan kadar MDA serum yang tinggi pada kelompok K(-).

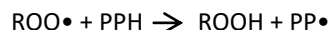
Uji analisis LSD antara P1 dengan P2 didapatkan hasil tidak berbeda signifikan, berarti kemampuan dosis ekstrak bayam merah kelompok P2 hampir sama dengan kemampuan dosis ekstrak bayam merah kelompok P1 dalam menurunkan kadar MDA serum. Berbeda halnya dengan dosis ekstrak bayam merah kelompok P3, uji analisis LSD antara P1 dengan P3 menunjukkan hasil berbeda signifikan yang berarti kelompok P3 sudah bisa menurunkan kadar MDA serum secara signifikan. Hal ini juga menunjukkan

bahwa penurunan kadar MDA serum sejalan dengan peningkatan dosis ekstrak bayam merah.

Uji analisis LSD antara K(+) dengan P3 didapatkan hasil tidak berbeda signifikan, hal ini disebabkan rata-rata kadar MDA serum kelompok P3 hampir mendekati kelompok (+). Jadi, dosis ekstrak bayam merah pada kelompok P3 sudah hampir menyamai kemampuan vitamin C kelompok K(+) dalam menekan stres oksidatif serta menurunkan kadar MDA serum yang tinggi pada fraktur tulang.

Adanya penurunan kadar MDA serum pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol daun bayam merah dibanding dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan adanya suplai antioksidan dari ekstrak bayam merah yang mampu menekan stres oksidatif yang terjadi pada proses fraktur. Stres oksidatif yang ditandai dengan peningkatan radikal bebas menjadi masalah pada kasus fraktur tulang karena menghambat proses penyembuhan tulang dan menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan sel yang terjadi diakibatkan oleh proses peroksidasi lipid yang terjadi.

Flavonoid yang terkandung dalam bayam merah berperan dalam mencegah terjadinya proses peroksidasi lipid tersebut. Flavonoid bertindak sebagai *scavenger* radikal peroksil ($ROO\cdot$) yang akan diregenerasi menjadi $ROOH$ yang bersifat lebih stabil.



Flavonoid akan mendonorkan ion hidrogen pada radikal bebas untuk membentuk senyawa yang lebih stabil sedangkan, radikal fenoksil yang terbentuk ($PP\cdot$) menjadi kurang reaktif (Astuti, 2008).

Radikal fenoksil ($PP\cdot$) juga berperan dalam proses terminasi dari peroksidasi lipid. Radikal fenoksil akan berinteraksi dengan senyawa radikal bebas lainnya.



Flavonoid sebagai antioksidan tidak hanya berperan sebagai *radical scavenger*, namun juga berperan sebagai *chelating ion* logam sehingga kerusakan sel akibat radikal hidroksil yang dihasilkan dari reaksi hidroperoksida (H_2O_2) dengan ion logam dapat diredam. Logam transisi seperti Fe dan Cu memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga sangat reaktif dalam mengkatalisis reaksi redoks tubuh.

Flavonoid juga mampu menghambat kerja enzim CYP dalam menghasilkan radikal bebas (Kumar dan Pandey, 2013).

Selain itu, Katekin (salah satu jenis flavonoid dalam bayam merah) memiliki sifat *radical scavenger* yang sangat kuat karena cincin B flavonoid mempunyai gugus katekol dengan radikal *ortho semiquinon* yang stabil untuk mengikat radikal bebas (Kumar dan Pandey, 2013). Katekin juga berperan dalam menstabilkan molekul kolagen sebagai penyusun kartilago pada proses osteogenesis *endochondral* dengan meningkatkan resistensinya terhadap kolagenase (Choi, 2003). Kartilago ini akan mengalami kalsifikasi dan resorpsi menjadi kalus yang akhirnya berubah menjadi lamellar (Mountziaris, 2008).

Vitamin C sebagai *radical scavenger* mampu menyumbangkan dua elektronnya sehingga terbentuk radikal askorbil yang akan teroksidasi dan menghasilkan asam dehidroaskorbat (McDowell *et al.*, 2007). Vitamin C dan flavonoid dapat meningkatkan kadar antioksidan endogen seperti katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD), dan glutation (GSH) (Katose *et al.*, 2015). Beta karoten dan klorofil berperan sebagai pemberi pigmen yang kaya akan antioksidan sebagai *radical scavenger*. Beta karoten termasuk dalam vitamin antioksidan yang larut dalam lemak sehingga mampu melindungi membran sel (Mueller dan Boehm, 2011). Klorofil sebagai antioksidan sama halnya dengan flavonoid, tidak hanya berperan sebagai *radical scavenger*, namun juga berperan sebagai *chelating ion* logam (Hsu *et al.*, 2013).

Jenis flavonoid lain yang terdapat pada daun bayam *Amaranthus tricolor L.* adalah kuersetin dan rutin (Noori *et al.*, 2015). Kuersetin khususnya dikenal sebagai *chelating ion* Fe dengan menstabilkan Fe agar tidak berikatan dengan H₂O₂ membentuk OH⁻ yang termasuk dalam radikal bebas yang sangat reaktif.

Kadar kandungan antioksidan flavonoid yang ada dalam bayam merah jauh lebih besar daripada antioksidan yang lainnya. Flavonoid dapat mengoptimalkan proses penyembuhan tulang dengan mengatasi stres oksidatif pada fraktur tulang. Stres oksidatif yang ditandai dengan peningkatan jumlah radikal bebas dapat berasal dari aktivitas fragmen tulang yang bereaksi dengan kolagen dan oksigen, serta aktivitas osteoklas dalam penyembuhan fraktur (Sheweita dan Khosshal, 2007).

Dengan demikian, pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun bayam merah yang berfungsi sebagai antioksidan eksogen dapat mengatasi stres oksidatif dan mengoptimalkan proses penyembuhan tulang. Hal ini dibuktikan dengan hasil pemberian ekstrak bayam merah dapat menurunkan kadar MDA serum tikus wistar model fraktur.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak bayam merah berpengaruh bermakna terhadap penurunan kadar MDA serum tikus wistar jantan model fraktur. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak etanol bayam merah dengan rentang dosis yang lebih luas.

Daftar Pustaka

- Al-Dosari, M., 2010. The Effectiveness of Ethanolic Extract of *Amaranthus tricolor L.* : a Natural Hepatoprotective Agent. *American Journal of Chinese Medicine*. 38(6): 1051-1064.
- Cadenas, E. dan L. Packer. 2002. *Handbook of antioxidant*. 2nd Ed. St Louis, Missouri: Mosby-Year Book Inc.
- Corbett, S.A. 1999. Nitric Oxide in Fracture Repair Differential Localisation, Expression And Activity Of Nitric Oxide Synthases. *The Journal Of Bone And Joint Surgery*. 81 (3): 531-537.
- Ghasemzadeh, A., M. Azarifar, O. Soroodi, dan H. Z. E. Jaafar. 2012. Flavonoid Compounds and Their Antioxidant Activity in Extract of Some Tropical Plants. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6(13): 2639-2643.
- Gokturk, Turgut, Baycu, Gunai, Saber, Gulbas. 1995. Oxygen-free Radicals Impair Fracture Healing in Rats. *Acta Orthop Scand*. 66(5): 473-475.
- Hsu, C. Y., P. Y. Chao, S. P. Hu, dan C. M. Yang. 2013. The Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Chlorophylls and Pheophytins. *Food and Nutrition Sciences*. 4:5.
- Katose D. M., S. S. Katyare, M. V. Hedge, dan H. Bae. 2015. Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. *International Journal of Biological Sciences*. 11(8): 982-991.

- Kumar, S., dan A. K. Pandey. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoid: an Overview. *Hindawi*. 1-16.
- Mahartha, R.A., Maliawan, S., dan Kawiyana, K.S. 2013. Manajemen Fraktur pada Trauma Muskuloskeletal. Bali: Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.
- McDowell, L. R., N. Wilkinson, R. Madison, dan T. Felix. 2007. Vitamins and Minerals Functioning as Antioxidants with Supplementation Considerations. *Florida Ruminant Nutrition Symposium*. 3-5.
- Mueller, L. dan V. Boehm. 2011. Antioxidant Activity of β -carotene Compounds in Different *in vitro* assays. *Molecules*. 16: 1055-1069.
- Noori, M., M. Talebi, dan Z. Nasiri. 2015. Seven *Amaranthus L. (Amaranthaceae)* Taxa Flavonoid Compounds from Tehran Province, Iran. *International Journal of Modern Botany*. 5(1): 9-17.
- Notoatmodjo. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta
- Novelandi, R. 2010. Karakteristik Penderita Fraktur Rawat Inap di Rumah Sakit Umum Daerah dr. Pringadi Medan Tahun 2009. *Skripsi*. Medan: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara.
- Nugraheni, Ellisma Swandini. 2011. *Extracts Giving of Purple Eggplant (Solanum melongena L.) orally Can Lower Blood Serum Levels of Malondialdehyde of White Rat (Rattus Novergicus) Wistar Diabetes Mellitus Induced by Aloxan*. Final Assignment. Malang: Brawijaya University.
- Nurmasari, P.D. 2013. *Peranan Ekstrak Bangle (zingiber cassumunar roxb.) terhadap Produksi Nitric Oxide dan Malondialdehyde pada Mencit yang dinfeksi Plasmodium berghei*. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Rajalakshmi, K., T. Haribabu, dan P. Sudha. 2011. Toxicokinetic Studies of Antioxidant of *Amaranthus tricolor* and Marigold (*Calendula officinalis L.*) Plants Exposed to Heavy Metal Lead. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Science*. 1(2): 105-109.
- Sheweita, SA & K.I. Khoshal. 2007. Calcium Metabolism and Oxidative Stress in Bone Fractures: Role of Antioxidants. Scaffold Mesenchymal Cell (Regenerative of Massive Bone Defect with Bovine Hidroxyapatite as Scaffold of Mesenchymal Stem Cells). *JBP*; 13 (3): 519-525.
- Solomon, L., D. Warwick, dan S. Wayagam. 2010. *Apley's System of Orthopaedics and Fractures, Ninth Edition*. United Kingdom: University of Bristol.
- Suhardjono, D. 1994. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.