

## Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kelor terhadap Ketebalan Kornea Sentral Mencit yang Diinduksi Sinar Ultraviolet C

Nur Aina Rahmania<sup>1</sup>, Rani Himayani<sup>2</sup>, Rodiani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>2</sup>Bagian Ilmu Penyakit Mata, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>3</sup>Bagian Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

### Abstrak

Paparan radiasi ultraviolet-C pada mata dapat menimbulkan kerusakan kornea berupa penipisan ketebalan kornea. Daun kelor memiliki antioksidan yang dapat melindungi mata dari radiasi sinar ultraviolet. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kelor terhadap ketebalan kornea sentral mencit yang diinduksi sinar ultraviolet-C. Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit galur ddy dengan berat 30-35 gram yang dibagi kedalam lima kelompok. Kelompok kontrol negatif K(-) tanpa perlakuan, kontrol positif K(+) dipapari sinar ultraviolet-C selama 1 jam, perlakuan P1, P2, P3 diberi paparan sinar ultraviolet selama 1 jam dan ekstrak daun kelor dengan dosis berturut-turut 10,4mg, 20,8mg dan 41,6mg/20g berat badan mencit. Hasil rerata ketebalan lapisan kornea yaitu K(-): 110,35±21,71, K(+): 78,37±2,91, P1: 91,04±12,07, P2: 98,52±13,75 dan P3: 102,72±22,66. Analisis *Kruskal Wallis* mendapatkan hasil bermakna ( $p=0,009$ ). Dosis efektif ekstrak daun kelor dalam mempertahankan kornea mencit dari kerusakan akibat paparan sinar ultraviolet-C adalah 20,8mg/20g berat badan mencit.

**Kata kunci:** sinar ultraviolet-c, ekstrak daun kelor, ketebalan kornea.

## The Effect Of *Moringa Oleifera* Leaf Extract On Corneal Thickness In Mice Exposed By Ultraviolet-C Rays

### Abstract

Exposure of ultraviolet radiation in the eye can cause corneal damage like thinning of corneal thickness. *Moringa oleifera* leaf has antioxidants that can protect the eye from ultraviolet radiation. This study aim to determine the effect of *Moringa oleifera* leaf extract on corneal thickness in mice exposed by ultraviolet radiation. This study used 25 mice divided into 5 groups. K(-) group is without treatment, K(+) group is exposed by ultraviolet-C for 1 hour, P1, P2 and P3 groups are exposed by ultraviolet-C for 1 hour and *Moringa oleifera* leaf extract is given consecutively with dose 10,4mg, 20,8 mg, 41,6mg/20g of mice weight. The result of corneal thickness ( $\mu\text{m}$ ) are K(-): 110,35±21,71, K(+): 78,37±2,91, P1: 91,04±12,07, P2: 98,52±13,75 and P3: 102,72±22,66. The *Kruskal Wallis* analysis showed a significant result ( $p=0,009$ ). The effective dose of *Moringa oleifera* leaf extract in maintaining the cornea of mice from damage caused by ultraviolet-C rays is 20,8mg/g of mice weight.

**Keywords:** ultraviolet-C, *Moringa oleifera* leaf extract, corneal thickness

**Korespondensi:** Nur Aina Rahmania, Alamat Jl. Danau Towuti No 130 Kedaton Bandar Lampung, HP 087875388525, e-mail nurainarahmania@gmail.com

### Pendahuluan

Indonesia adalah negara yang dilalui oleh garis khatulistiwa, memiliki iklim tropis dengan kondisi udara dan tingkat kelembaban serta sinar matahari yang cukup terik. Dilihat dari kondisi alam tersebut Indonesia beresiko terpapar sinar ultraviolet (UV) yang cukup tinggi akibat memiliki musim panas yang cukup panjang.<sup>1</sup>

Sinar ultraviolet A atau UV-A ( $\lambda$  320-400 nm), sinar UV-B ( $\lambda$  280-320 nm) dan sinar UV-C ( $\lambda$  100-280 nm) adalah sinar matahari yang sampai di permukaan bumi dan mempunyai dampak. Diantara ketiganya, UV-C memiliki efek yang terbesar bagi kesehatan.<sup>2</sup>

Sumber radiasi ultraviolet (UVR) buatan seperti lampu UV-C yang biasa digunakan sebagai lampu germisidal untuk membunuh bakteri memiliki efek yang serius pada tubuh manusia terutama pada kulit dan mata seperti photokeratitis akut, degenerasi kornea kronis dan pembentukan katarak.<sup>3</sup>

Kornea dan lensa intraokular adalah jaringan yang sangat penting dalam penyerapan radiasi sinar UV. Radiasi sinar UV dengan panjang gelombang dibawah 300 nm (UV-B) dan (UV-C) paling banyak diserap oleh kornea, sedangkan lensa lebih menyerap UV-A yang memiliki panjang gelombang dibawah 370 nm.<sup>4</sup> Protein lensa dapat mengalami stres oksidatif kronik oleh paparan cahaya terutama

UV-B dan oksigen. Sebagai akibatnya protein lensa akan mengalami kerusakan, hal ini diperparah dengan pertambahan usia. Kekeruhan lensa terjadi karena protein yang rusak beragregasi dan berpresipitasi.<sup>5</sup>

Antioksidan di lensa adalah vitamin C, karena bersifat larut dalam air maka vitamin ini terdapat dalam kadar cukup tinggi di humor aquos. Beberapa penelitian menunjukkan vitamin C mampu beraksi langsung dengan superoksida, anion, hidrogen peroksida, hidrogen radikal dan radikal bebas lainnya. Di samping itu vitamin C dapat meningkatkan dan mempertahankan glutathione dan vitamin E dalam status tereduksi agar dapat bekerja melindungi lensa dari radikal bebas.<sup>5</sup>

Daun kelor telah dilaporkan menjadi sumber yang kaya  $\beta$ -karoten, protein, vitamin C, kalsium dan kalium, dan menjadi sumber makanan yang baik sebagai antioksidan alami, karena adanya berbagai jenis senyawa antioksidan seperti *asam askorbat*, *flavonoid*, *fenolat* dan *karotenoid*.<sup>6</sup>

World Health Organization (WHO), 2005 memperkirakan terdapat 45 juta penderita kebutaan bilateral di dunia dan sepertiganya terdapat di Asia Tenggara. Penyebab kebutaan utama di dunia adalah katarak (47,8%), glaukoma (12,3%), uveitis (10,2%), *age-related macular degeneration* (8,7%), kekeruhan kornea (5,1%), retinopati diabetik (4,8%), dan trakoma (3,6%) sehingga katarak menjadi penyebab kebutaan nomor satu di dunia.<sup>7</sup>

Data nasional mengenai besaran masalah gangguan indera penglihatan telah dikumpulkan melalui berbagai survei, salah satunya adalah *Rapid Assessment of Avoidable Blindness* (RAAB). berdasarkan survei didapatkan hasil sekitar 85% kebutaan terdapat pada usia 50 tahun dan lebih.<sup>8</sup>

Data gangguan penglihatan di Provinsi Lampung menunjukkan jumlah prevalensi *severe low vision* sebesar (1,7%), kebutaan (0,6%), katarak (1,29%). Angka tersebut menjadikan provinsi Lampung sebagai provinsi dengan prevalensi *severe low vision* tertinggi di Indonesia.<sup>9</sup>

Pada penelitian sebelumnya mengenai pengaruh intensitas waktu paparan sinar ultraviolet C terhadap ketebalan kornea mencit, menunjukkan adanya perbandingan lurus antara peningkatan paparan sinar UVC dengan kerusakan kornea. Sehingga dapat

disimpulkan bahwa paparan sinar UVC mempengaruhi ketebalan kornea mencit.<sup>10</sup> Oleh karena itu peneliti merasa perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun kelor terhadap gambaran histopatologi kornea mencit yang diinduksi sinar ultraviolet C.

## Metode

Penelitian ini dilaksanakan di *Pet House* Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Selama bulan November 2017 hingga Januari 2018.

Bahan utama yang digunakan adalah daun kelor. Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus* L.) usia 2-3 bulan dengan berat 30 gram - 35 gram yang didapat dari Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang kayu standar untuk mencit yang tutup logamnya telah diganti dengan bahan plastik untuk menghindari interferensi gelombang radiasi. Kandang berbentuk kotak persegi panjang berukuran 60 cm x 40 cm sebanyak 5 kandang. Lampu ultraviolet C 15 watt dan isolatornya, alat ukur intensitas sinar UV (luxmeter), spuit, jarum oral (sonde).

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan dengan pendekatan *Post Test Only Kontrol Group Design*. Menggunakan 25 ekor mencit jantan (*Mus musculus* L.) yang dipilih secara random dan dibagi menjadi 5 kelompok.

Proses pembuatan ekstrak dengan menggunakan bahan utama yaitu daun kelor tua segar sebanyak 1 kg ditimbang, dibersihkan, dicuci, dikeringkan kemudian dihaluskan dan diayak dengan mesh no. 20 sampai diperoleh serbuk kering. Sebanyak 4,54 kg serbuk simplisia dimaserasi dengan etanol 70% selama 2 minggu, kemudian disaring. Hasil proses tersebut berupa filtrat sebanyak 4L. Filtrat kemudian dievaporasi dan didapatkan konsentrat sebanyak 500ml. Konsentrat dimaserasi kembali dengan larutan etanol 70%, maserasi dilakukan sebanyak empat kali. Maserat kemudian diuapkan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* hingga

didapatkan lapisan air dan lapisan etil asetat sebanyak 2 liter. Lapisan etil asetat dievaporasi hingga didapatkan konsetrat.

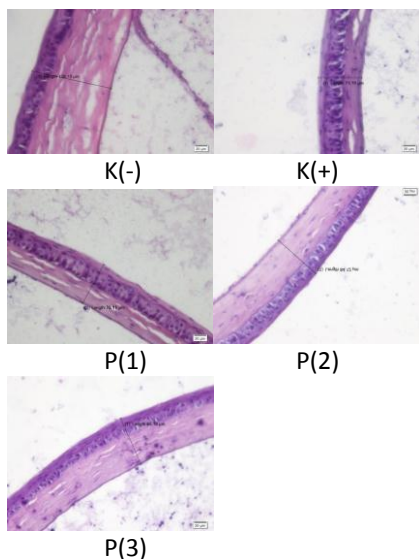
Selanjutnya ekstrak daun kelor diencerkan dengan menggunakan Na CMC, hal ini karena ekstrak daun kelor tidak dapat larut dalam air. Setelah diencerkan, ekstrak daun kelor diberikan kepada mencit dengan menggunakan sonde.

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok mencit yang tiap kelompoknya terdiri dari 5 mencit. Kelompok pertama dijadikan acuan normal karena tidak diberikan perlakuan apapun yang disebut kelompok kontrol negatif (K(-)). Kelompok kedua (K(+)) hanya diberikan paparan sinar Ultraviolet-C selama 1 jam. Kelompok ke-3, 4 dan 5 diberikan ekstrak daun kelor dengan dosis 10,4, 20,8 dan 41,6mg/20g berat badan mencit, kemudian diberi paparan sinar UV-C selama 1 jam. Perlakuan diberikan selama 14 hari.

Sebelum diberikan perlakuan, mencit diadaptasi selama 1 minggu. Setelah 14 hari, perlakuan dihentikan dan mencit di euthanasia untuk pengangkatan kornea, kemudian dilakukan pembuatan preparat histologi jaringan kornea untuk dilihat secara mikroskopik.

### Hasil

Dari hasil analisis mikroskopik didapatkan rerata persentase ketebalan lapisan kornea pada K(-) yaitu sebesar 110,15±21,49, K(+), sebesar 76,84±3,15, P1 sebesar 90,64±12,71, P2 sebesar 98,77±13,43 dan P3 sebesar 102,72±22,66.



**Gambar 1. Gambaran Histopatologi Kornea**

Berdasarkan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan *mean rank* K(-): 19,80, K(+): 3,80, P1: 11,60, P2: 15,20, P3: 14,60, dari hasil tersebut nilai *mean rank* tertinggi ada pada kelompok P2. Hal ini menunjukkan bahwa dosis efektif ekstrak daun kelor dalam mencegah kerusakan kornea akibat sinar UV-C adalah 20,8 mg/g berat badan mencit dan juga diperoleh nilai  $p=0,012$ . Oleh karena nilai  $p<0,05$  artinya paling tidak terdapat perbedaan ketebalan kornea yang bermakna antara dua kelompok. Hasil uji *Kruskal-Wallis* dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Uji Kruskal-Wallis**

Kelompok	Mean Ranks
K(-)	19.80
K(+)	3.80
P1	11.60
P2	15.20
P3	14.60

Dari analisis *Post-hoc*, didapatkan hasil yaitu K(-) dengan K(+), K(-) dengan P1, K(+) dengan P1, K(+) dengan P2, K(+) dengan P3 bermakna dan K(-) dengan P2, K(-) dengan P3, P1 dengan P2, P1 dengan P3, P2 dengan P3 tidak bermakna. Hasil analisis *Post-hoc* dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2. Analisis Post-hoc**

Kelompok	K(-)	K(+)	P1	P2	P3
K(-)	-	0,009	0,047	0,175	0,251
K(+)	-	-	0,075	0,009	0,009
P1	-	-	-	0,347	0,754
P2	-	-	-	-	0,917
P3	-	-	-	-	-

Selain menilai ketebalan kornea sentral penelitian ini juga mengukur ketebalan lapisan kornea yang mempengaruhi ketebalan kornea sentral. Dari hasil analisis mikroskopik didapatkan rerata persentase ketebalan lapisan epitel pada K(-) yaitu sebesar 31,56±1,58, K(+), sebesar 28,58±5,34, P1 sebesar 28,73±5,27, P2 sebesar 32,08±1,99 dan P3 sebesar 30,29±7,41. Dan untuk ketebalan stroma pada K(-) yaitu sebesar 74,32±18,47, K(+), sebesar 44,28±5,39, P1 sebesar 58,95±8,52, P2 sebesar 62,82±12,84 dan P3 sebesar 64,74±18,83. Data rerata persentase ketebalan lapisan epitel dan stroma dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3. Rerata Presentase Ketebalan Lapisan Epitel dan Stroma**

Ketebalan	Epitel	Stroma
K(-)	31,56	74,32
K(+)	28,58	44,28
P1	28,73	58,95
P2	32,08	62,82
P3	30,29	64,74

Hasil analisis uji ANOVA didapatkan nilai p untuk lapisan epitel sebesar 0,709 sehingga dapat diketahui bahwa lapisan epitel tidak terdapat perbedaan ketebalan, sedangkan untuk lapisan stroma diperoleh nilai  $p=0,038$  atau terdapat perbedaan ketebalan pada lapisan stroma.

### Pembahasan

Berdasarkan analisis post-hoc Mann Whitney pada kelompok K(-) (normal) dengan K(+) yang diberi paparan sinar UV-C memiliki perbedaan yang signifikan ( $p=0,009$ ). Kelompok K(+) memiliki rerata ketebalan kornea  $76,84 \pm 3,15 \mu\text{m}$  yang diperoleh dari pengamatan histopatologi. Hal ini membuktikan bahwa sinar UV-C dapat merusak kornea. Hasil pengamatan ini mendukung penelitian Rini (2014) yang menunjukkan bahwa sinar UV-C menyebabkan kerusakan kornea. paparan sinar UV-C pada mata akan diserap seluruhnya oleh kornea. Penyerapan ini menimbulkan reaksi fotokimiawi yang dapat mengubah DNA melalui oksidasi asam nukleat. Reaksi oksidasi juga dapat mengubah protein dan lipid yang mengakibatkan fungsi sel terganggu. perubahan DNA dan terganggunya fungsi sel mengakibatkan kerusakan jaringan.<sup>11</sup>

Pada kelompok P1 dosis 10,4mg/20g BB mencit tidak terdapat perbedaan ketebalan lapisan kornea jika dibandingkan dengan kelompok K(+) yang hanya diberikan paparan sinar lampu UV-C, tetapi ada perbedaan ketebalan lapisan kornea yang bermakna jika dibandingkan dengan kelompok K(-) yang tidak diberikan paparan sinar UV-C. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor dengan dosis 10,4mg/20gBB mencit (terendah) tidak mampu mempertahankan ketebalan kornea dari kerusakan akibat paparan sinar UV-C.

Pada P2 dosis 20,8mg/20g BB mencit terdapat perbedaan ketebalan lapisan kornea

yang bermakna jika dibandingkan dengan kelompok K(+) tetapi tidak ada perbedaan ketebalan lapisan kornea jika dibandingkan dengan kelompok K(-). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor dengan dosis 20,8mg/20grBB mencit mampu mempertahankan ketebalan kornea dari kerusakan akibat paparan sinar UV-C.

Pada P3 dosis 41,6 mg/20g BB mencit terdapat perbedaan ketebalan lapisan kornea yang bermakna jika dibandingkan dengan kelompok K(+) tetapi tidak ada perbedaan ketebalan lapisan kornea jika dibandingkan dengan kelompok K(-). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor dengan dosis 41,6 mg/20gBB mencit (terbesar) mampu mempertahankan ketebalan kornea dari kerusakan akibat paparan sinar UV-C.

Rerata ketebalan kornea antara kelompok P1 dengan P2, P1 dengan P3 dan P2 dengan P3 menunjukkan hasil yang tidak signifikan berturut-turut  $p=0,347$ ,  $p=0,754$  dan  $p=0,917$ . Hasil tersebut dapat disebabkan oleh variabel luar yang tidak bisa dikendalikan yaitu ketebalan kornea yang tidak diperiksa sebelum dilakukan penelitian, oleh sebab itu peneliti tidak mengetahui apakah sudah terdapat kelainan pada kornea mencit.

Cedera yang dimediasi oleh radikal bebas dapat menyebabkan apoptosis keratosit stroma. Kornea menyerap sebagian besar UVR yang masuk ke dalam mata dan menginduksi hyaluronan (HA) yang merupakan mekanisme pelindung untuk menangkap *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan oleh paparan UVR. Antioksidan atau perlindungan HA yang tidak cukup dapat menyebabkan peroksidasi lipid yang di mediasi oleh ROS dari kornea dengan memproduksi aldehid reaktif seperti malondialdehida yang dapat merusak epitel kornea, berkontribusi terhadap hilangnya keratosit dan degenerasi kolagen kornea.<sup>12</sup> Radiasi ultraviolet juga menginduksi hilangnya protein kornea yaitu ALDH (aldehid dehidrogenase) yang berperan melindungi kornea dengan menyerap UVR. Hilangnya protein tersebut menyebabkan deplesi stroma.<sup>13</sup>

Daun kelor segar memiliki kandungan vitamin C 62,66-143.587mg/100g untuk daun yang masih muda, 51,226-150,57mg/100g untuk daun yang sudah tua.<sup>14</sup> Asam askorbat dapat menyerap sinar UV, sehingga dapat

memberikan perlindungan struktur mata untuk melawan radiasi sinar UV yang bersifat merusak. Selain itu, asam askorbat merupakan antioksidan yang bertindak sebagai pendonor elektron kuat dengan reaktivitas yang tinggi untuk radikal bebas berspektrum luas termasuk anion superoksida, radikal hidrosil dan peroksil. Asam askorbat diketahui dapat mendorong penyembuhan kerusakan jaringan kornea dengan bertindak sebagai kofaktor pada sintesis kolagen di jaringan fibroblast kornea.<sup>15</sup>

### Simpulan

Dosis efektif ekstrak daun kelor dalam mempertahankan kornea mencit dari kerusakan akibat paparan sinar ultraviolet-c adalah 20,8mg/20g berat badan mencit.

### Daftar Pustaka

1. Melilia TF. Kampanye Pentingnya Menggunakan Sunblock Bagi Kesehatan Kulit Pria dan Wanita Usia 20-25 Tahun Studi Kasus Di Kota Bandung. Universitas Kristen Maranatha; 2016.
2. World Health Organization. Health Effect from Radiation UV [Internet]. 2009. Diakses tanggal 7 Maret 2014 Tersedia dari: <http://www.who.int/uv/health/en/>
3. Tan CH, Bor H. Ultraviolet damage to the cornea in the tropics. International review of ophthalmic optics. 2012.
4. Walsh K. UV radiation and the eye. Optician. 2009;237(6204):26–33.
5. Wahyudi D, Rinayati, Erawati A. Hubungan pekerjaan tempat tinggal dengan angka kejadian katarak. Pros SNST. 2013;4:1–4.
6. Krisnadi AD. *Moringa Oleifera*. Krisnadi AD, editor. Jawa Tengah: Kelorina.com; 2015. hlm 152.
7. Tangguh LJ. Angka kejadian katarak senil dan komplikasi kebutaan di rumah sakit immanuel bandung periode januari 2009 – desember 2011 (skripsi). Universitas Kristen Maranatha; 2012.
8. Kementerian Kesehatan RI. Situasi gangguan penglihatan dan kebutaan. Jakarta: pusat data dan informasi kementerian kesehatan RI; 2014. 2-12 p.
9. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Riset kesehatan dasar. Jakarta; 2013.
10. Rini AS. Pengaruh intensitas waktu paparan sinar ultraviolet c terhadap ketebalan kornea mencit. Lampung university; 2014.
11. L B, IB A. Depigmenting agent. In: cosmetic dermatology, principles and practice. 2nd ed. New York: Mc Graw Hill Medical; 2009. p. 279–91.
12. Newkirk KM, Chandler HL, Parent AE, Young DC, Colitz CMH, Wilkie DA, et al. Ultraviolet radiation-induced corneal degeneration in 129 mice. Toxicol Pathol. 2007;35:817–24.
13. Manzer R et al. Ultraviolet radiation decreases expression and induces aggregation of corneal ALDH3A1. Chem Biol Interact. 2003;45–53.
14. Ahmed KS, Jahan IA. Vitamin C ( L-ascorbic Acid ) content in different parts of Moringa oleifera grown in Bangladesh. Am Chem Sci. 2016;11(1):1–6.
15. Marchitti SA, Chen Y, Thompson DC, Vasiliou V. Ultraviolet radiation: cellular antioxidant response and the role of ocular aldehyde dehydrogenase enzymes. Eye Contact Lens [Internet]. 2011;37(4):206–13. Tersedia dari: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21670692> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PM3356694>