

EFEK ANTIOKSIDAN TAURINE, LAMUN (*Enhalus acoroides L.*), DAN ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii L.*) TERHADAP STRES OKSIDATIF PADA BEBERAPA ORGAN HOMEOSTASIS MENCIT YANG DIINDUKSI GLIFOSAT

Yogi Kurnia¹⁾, Endang LinirinWidiastuti²⁾, Endang Nur Cahyani³⁾

¹Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung
Email : the_yogikurnia@yahoo.com

²Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung
Email : elwidi@yahoo.com

³Fakultas Matematikadan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung
Email :ending_nurcahyani@yahoo.com

ABSTRAK

Stres oksidatif merupakan kondisi terjadinya ketidak seimbangan antara antioksidan dengan oksidan di dalam tubuh yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada organ homeostasis. Salah satu senyawa yang menyebabkan stres oksidatif adalah glifosat, dengan cara memacu kerusakan oksidatif dan hematologikal ketika diberi paparan hingga sub akut. Kerusakan ini berkaitan dengan adanya peningkatan dari Reactive Oxygen Species (ROS). oleh karena itu perlu adanya sumber antioksidan alami untuk mencegah stres oksidatif yang relatif lebih aman dalam penggunaannya seperti Taurin, Lamun (*Enhalus acoroides*), dan alga merah (*Eucheuma cottonii*). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL) dengan 25 ekor mencit yang dibagi dalam 5 kelompok perlakuan yaitu: 1) Kontrol, 2) Glifosat (13,225 mg/kgBB), 3) Glifosat dan Taurine (15,6 g/kgBB) 4) Glifosat dan Lamun (8,7 mg/kgBB) 5) Glifosat dan Euchema (15,96 mg/kgBB) selama 14 hari. Parameter yang di ukur adalah kadar GSH, Data dianalisis dengan Anova pada taraf nyata 5% dengan hasil penelitian menunjukkan induksi Glifosat menurunkan kadar Glutathion dibandingkan dengan kontrol negatif dan induksi perlakuan lainnya yang diberi ekstrak taurine, lamun, dan alga merah pada organ hepar, ginjal, dan paru-paru. pemberian ekstrak dapat meningkatkan kadar Glutathion walau tidak signifikan. Simpulan, glifosat meyebabkan stres oksidatif pada organ hemeostasis, sedangkan taurine, lamun, dan alga merah mapu mencegah stres oksidatif yang terjadi.

Kata Kunci : Antioksidan, ROS, Stres Oksidatif, Taurine, Glisofat.

ABSTRAK

Oxidative stress is a condition where there is an imbalance between antioxidants and oxidants in the body which can cause oxidative damage in the homeos-tasis organs. One of the compounds that causes oxidative stress is glyphosate, by stimulating oxidative and hematologic damage when it is given exposure until the sub-acute. This damage is related to the increase of Reactive Oxygen Species (ROS). Therefore, it is necessary to have a natural source of antioxidants to prevent oxidative stress which is relatively safer in its use such as Taurine, Seagrass (*Enhalusacoroides*), and red algae (*Eucheumacottonii*). This study used a completely randomized design (CRD) with 25 mice divided into 5 treatment groups, namely: 1) Control, 2) glyphosate (13,225 mg / kgBB), 3) glyphosate and Taurine (15,6 g / kgBB) 4) Glycophate and Seagrass (8.7 mg / kgBB) 5) glyphosate and Euchema (15.96 mg / kgBB) for 14 days. Parameter measured were GSH levels, Data were analyzed with ANOVA at 5% significance level with the results showed glyphosate induction decreased Glutathione levels compared to negative controls and other treatment inductions that is given extracts of taurine, seagrass, and red algae in the liver, kidney, and lungs. the extract can increase Glutathion levels even though it is not significant. In conclusion, glycophate causes oxidative stress in the hemeostasis organ, while taurine, seagrass, and red algae prevent oxidative stress.

Keywords: Antioxidants, ROS, Oxidative Stress, Taurine, Glycophates.

PENDAHULUAN

Pola hidup kurang sehat manusia saat ini merupakan salah satu faktor terjadinya stres oksidatif yang umumnya memiliki implikasi pada berbagai macam penyakit degeneratif yang terkait dengan gaya hidup seperti hipertensi, aterosklerosis, diabetes, kanker dan penyakit kronis lainnya (Yoshikawa dan Naito, 2002). Stres oksidatif didefinisikan sebagai kondisi yang terjadi karena adanya ketidakseimbangan antara sistem pertahanan antioksidan dengan oksidan di dalam tubuh yang meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (Puspitasari dkk, 2016).

Stres Oksidatif sangat berkaitan erat dengan radikal bebas, Radikal bebas inilah yang dapat menjadi sumber penyakit degenerative yang dapat merusak jaringan karna sifatnya yang sangat tidak stabil dan reaktif, (Kang et al., 2010). Radikal bebas yang diproduksi atau terinduksi di dalam tubuh normalnya akan dinetralisir oleh antioksidan alami yang terbentuk di dalam tubuh dan bila kadar radikal bebas terlalu tinggi di bandingkan antioksidan maka akan menyebabkan stres oksidatif karena kemampuan antioksidan tidak cukup untuk menetralisir radikal bebas yang terbentuk (Harjanto et al, 2004). Stres oksidatif secara umum di sebabkan oleh beberapa kondisi, salah satunya yaitu meningkatnya produksi Reactive Oxygen Species karna berkurangnya kadar antioksidan.

Salah satu penyebab meningkatnya produksi ROS di dalam tubuh dapat terjadi akibat paparan pestisida atau herbisida secara berulang. Salah satu pestisida yang meningkatkan produksi ROS adalah Roundup. Roundup adalah herbisida yang menggunakan bahan aktif glifosat yang banyak digunakan di dunia. Glifosat (*N-phosphonomethyl-glycine*) Biasanya digunakan untuk mengontrol gulma dan rumput liar pada berbagai tanaman pertanian, seperti padi, jagung, dan kacang kedelai (Jasper et al, 2012). Paparan glifosat secara berulang dapat memacu kerusakan hematologikal dan perubahan pada organ ketika diberi paparan hingga sub akut. Kerusakan ini disebabkan karena terbentuknya Reactive Oxygen Species (ROS) di dalam tubuh (Jasper et al, 2012)

Sehingga harus adanya antioksidan alami yang relatif aman di konsumsi oleh tubuh sehingga dapat menekan produksi ROS yang berlebih. Mengingat potensi taurine, Lamun, dan alga merah yang sangat besar sebagai antioksidan, menarik untuk dikaji kemampuannya dalam mencegah stres oksidatif yang timbul akibat pemaparan Glifosat. Oleh karena itu penelitian ini mencoba untuk mengangkat masalah mengenai efek antioksidan taurine, Lamun, dan alga merah untuk mencegah stres oksidatif pada organ hati, ginjal dan paru yang ditimbulkan oleh Glifosat sebagai sumber stres oksidatif pada mencit.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan termasuk penelitian eksperimental. Pemilihan objek penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan terdiri dari 5 ulangan, antara lain :

- Kelompok 1 = kelompok yang tidak diberi perlakuan apapun, hanya diberi pakan standar hingga penelitian berakhir (kontrol Positif)
- Kelompok 2 = Mencit diberi pakan standar + Glisofat secara intraperitoneal dengan dosis 13,225 mg/kg BB untuk mengkondisikan mencit menderita Stres Oksidatif (kontrol Negatif)
- Kelompok 3 = Mencit diberi pakan standar + Glifosat + ekstrak Lamun 8,7 mg/kg bb
- Kelompok 4 = Mencit diberi pakan standar + Glifosat + ekstrak Alga merah 15,96 mg/kg bb
- Kelompok 5 = Mencit diberi pakan standar+ Glifosat+ taurine 15,6 g/kgBB

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2018 sampai dengan Oktober 2018. Tahap pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler FMIPA dan Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Lampung. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan di Laboratorium MIPA Terpadu Universitas Lampung.

Persiapan Hewan Uji

Mencit yang digunakan adalah mencit jantan dengan berat badan 30-40 gram. Mencit ini diaklimatisasikan dengan lingkungan percobaan selama 7 hari dan diberi pakan standar. Selama penelitian mencit diberi penerangan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Setiap hari berat badan mencit ditimbang dan diamati perilakunya. Mencit yang digunakan adalah mencit yang sehat dan selama aklimatisasi. Selanjutnya mencit dikelompokkan ke dalam 5 kelompok dan diberi perlakuan sesuai dengan rancangan percobaan. Pada penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit jantan (*Mus musculus*). Mencit diperoleh dari Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung.

Persiapan Bahan Uji

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Lamun dan Alga merah yang diperoleh dari Pantai Lampung. Sempel yang di dapat dipilah yang terbaik kemudian dibersihkan dengan menggunakan air yang mengalir. Selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 30-35°C. Setelah kering kemudian digiling sampai memperoleh serbuk kering. Sebanyak 250 gram serbuk yang di peroleh selanjutnya dimaserasi dengan menggunakan methanol sebanyak 2,5 liter selama 24 jam (perbandingan 1:10) hingga diperoleh maserat dari bahan uji. Filtrat dipekatkan memakai *Rotary Evaporator* suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Masukkan kedalam oven untuk mendapatkan ekstrak dalam bentuk pasta. Kemudian ekstrak dilarutkan dengan menggunakan CMC 1%.

Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan mencit percobaan

Mencit yang digunakan adalah mencit jantan dengan berat badan 30-40 gram yang telah di aklimatisasikan. Setiap hari berat badan mencit ditimbang dan diamati perilakunya. Selanjutnya mencit dikelompokkan ke dalam 5 kelompok dan diberi perlakuan sesuai dengan rancangan percobaan. Mencit yang termasuk kelompok kontrol (P1), diberi makanan pelet standar dan minuman *ad libitum*, tanpa pemberian glisodat dan perlakuan. kelompok Glifosat dengan dosis (13,225 mg/kgBB) dan di berikan setiap dua hari sekali (P2), kelompok Glifosat dan taurine dengan dosis (15,6 g/kgBB) yang di berikan per-oral setiap hari (P3) kelompok Glifosat dan lamun (8,7 mg/kgBB) yang di berikan per-oral setiap hari (P4), Kelompok Glifosat dan alga merah dengan dosis (15,96 mg/kgBB) yang di berikan per-oral setiap hari (P5). Percobaan dilaksanakan selama dua minggu. Selama perlakuan, makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum*. Setelah minggu pertama dan minggu terakhir, mencit di anastesi menggunakan kloroform. Mencit kemudian dibedah dan di ambil organ paru-paru, hati dan ginjalnya. Organ kemudian dimasukkan ke dalam wadah bersih dan disimpan pada suhu -20⁰C sebelum diperiksa kadar glutathione (GSH)

2. Pembuatan homogenat organ Hepar, Ginjal, dan Paru-paru

Organ ditimbang seberat 100 mg, kemudian ditempatkan di dalam *test tube* 1,5 ml. Ke dalam *test tube*, ditambahkan 0,5 ml PBS 0,1 M dengan pH 7,4. *Test tube* yang berisi jaringan organ, dipasang *micropestle*, kemudian di vorteks hingga homogen. Ke dalam *test tube*, kemudian ditambahkan kembali PBS 0,1 M dengan pH 7,4 sebanyak 0,5 ml, sehingga volume menjadi 1 ml. Homogenat kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk,

kemudian dipindahkan ke *test tube* lain dan disimpan pada suhu -20°C , sampai digunakan (Susantingsih, 2014).

3. Pemeriksaan kadar glutathione

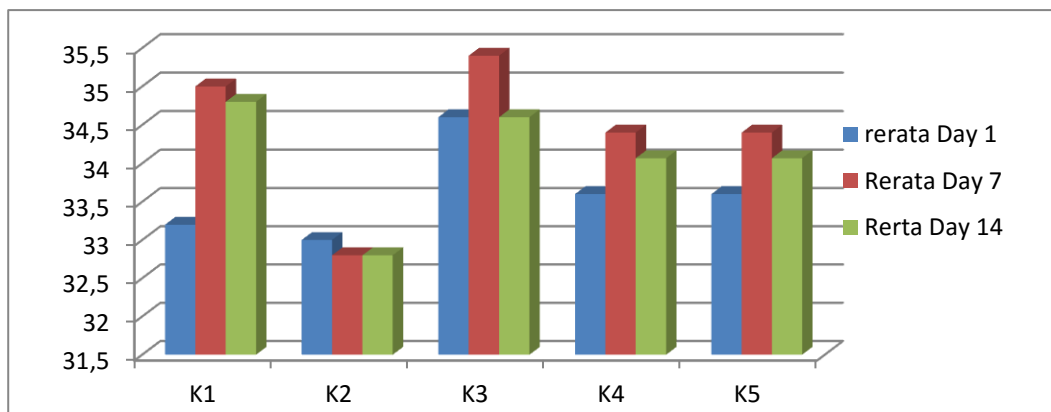
Kadar glutathion diperiksa menggunakan metode Ellman. Sebanyak $50\ \mu\text{l}$ sampel Hepar, ginjal, dan paru yang telah di homogenat, dicampur dengan $200\ \mu\text{l}$ TCA 5% dan $1,75\ \text{ml}$ PBS $0,1\ \text{ml}$ pH 7,0 kemudian divorteks hingga homogen. Larutan kemudian disentrifugasi ($3.500\ \text{rpm}$) selama 10 menit. Supernatan diambil sebanyak $800\ \mu\text{l}$ dan ditambahkan $25\ \mu\text{l}$ DNTB. Lalu inkubasi pada tempat yang gelap selama 1 jam, larutan dibaca absorbansi nya pada panjang gelombang $412\ \text{nm}$ (Susantingsih, 2014).

Analisis Data

Analisa data pada penelitian ini menggunakan stastitik analitik. Data berat badan, Berat Organ, dan kadar glutathion dengan uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Bila terdapat perbedaan pada taraf nyata 5%

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Karakteristik Sampel

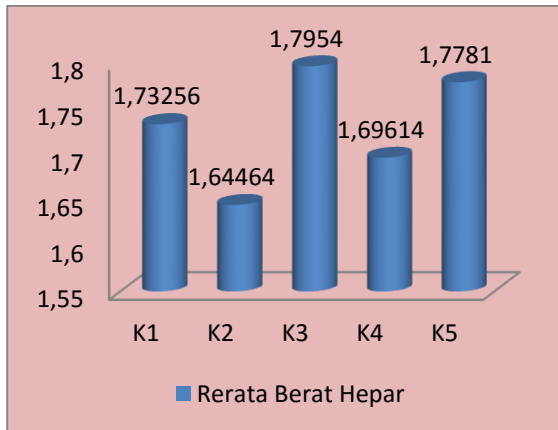


Gambar 1. Grafik rata-rata berat badan mencit

| Kelompok Perlakuan | Rerata berat badan mencit \pm SEM (g) Hari ke- | | |
|--------------------|--|-------------------|-------------------|
| | Hari Ke1 | Hari ke7 | Hari ke14 |
| K1 | 33.20 \pm 1.020 | 35.00 \pm 1.304 | 34.80 \pm 1.241 |
| K2 | 33.00 \pm 894 | 32.80 \pm 1.068 | 32.80 \pm 1.881 |
| K3 | 34.60 \pm 1.364 | 35.40 \pm .980 | 34.60 \pm 1.030 |
| K4 | 32.40 \pm .678 | 33.40 \pm .872 | 32.40 \pm 1.600 |
| K5 | 33.20 \pm 1.281 | 35.00 \pm .949 | 33.40 \pm 1.166 |

Tabel 1. Berat Badan Mencit

Pemberian induksi glifosat tanpa pemberian ekstrak menunjukkan pengaruh pada penurunan berat badan mencit (Gambar 1 dan tabel 1). Penurunan berat badan ini terjadi karena penurunan asupan makanan oleh mencit yang di induksi glifosat (Oliviera dkk, 2008), dan adanya indikator toksisitas. Pada perlakuan mencit yang tidak di beri induksi dengan mencit yang induksi lamun, alga merah, dan taurine menunjukkan adanya peningkatan berat badan pada hari ke 7 walau tidak signifikan ($P>0,005$), dan di ikuti oleh penurunan pada hari ke 14.



Gambar 2. Berat Hepar



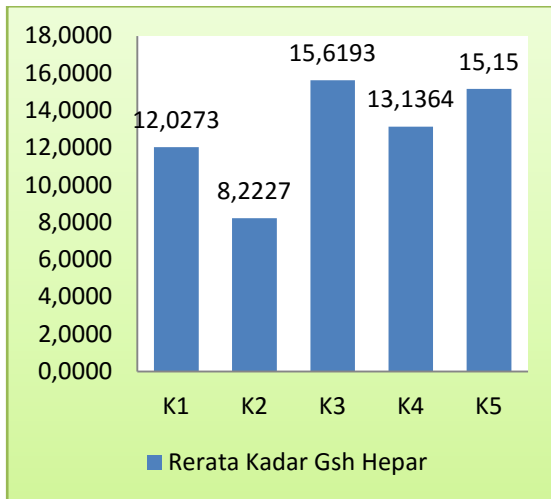
Gambar 3. Berat Ginjal



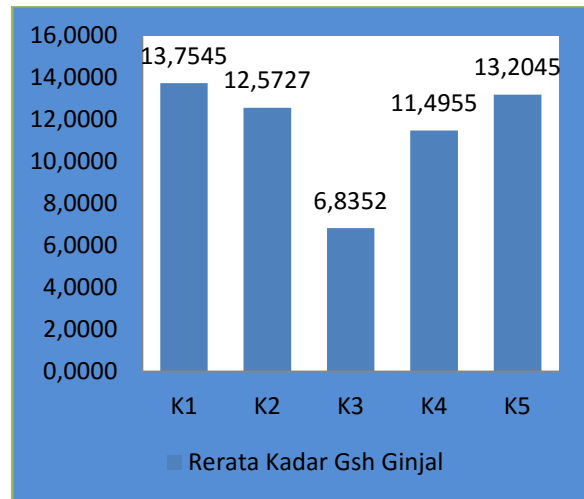
Gambar 4. Berat paru-paru

Pada analisis berat organ mencit memperlihatkan adanya peningkatan dan penurunan yang terjadi secara tidak beraturan, yang menunjukkan bahwa peningkatan ROS (untuk molekul yang sangat reaktif) dapat merusak dan mengubah fungsi banyak struktur sel seperti karbohidrat, asam nukleat, lipid, dan protein. Karnanya Stres oksidatif dapat memberikan banyak pengaruh terhadap beberapa kondisi di dalam organ dan menghasilkan modifikasi pada sel yang bersifat merugikan (Valko et al, 2006)

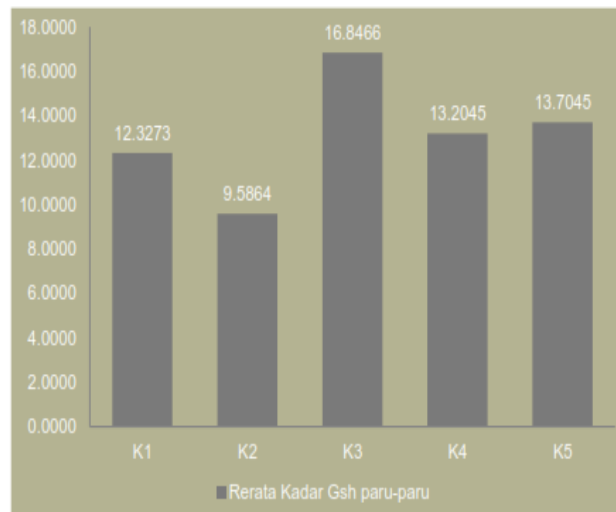
2. Kadar glutathione



Gambar 5. Kadar glutathione Hepar



Gambar 6. Kadar glutathione



Gambar 7. Kadar Glutathione Paru-paru

Rerata kadar glutathion hati tertinggi pada kelompok Lamun, sebesar 15,6193 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan rerata terendah pada kontrol positif sebesar 8,2227 $\mu\text{g/ml}$. Kadar glutathion ginjal, tertinggi pada kelompok normal dengan rerata 13,7545 $\mu\text{g/ml}$ dan hasil terendah pada Kelompok lamun dengan rerata 6,8352. Kadar glutathion paru-paru hasil tertinggi pada kelompok lamun dengan rerata 16,8466 $\mu\text{g/ml}$ dan hasil terendah pada kelompok yang diinduksi glifosfat dengan rerata 9,5864. Hasil uji *one way anova* pada ketiganya menunjukkan perbedaan rerata yang tidak signifikan ($p > 0,05$). Penurunan kadar glutathion di hati dan paru pada kelompok yang diinduksi glifosfat membuktikan bahwa glifosfat merupakan senyawa beracun yang menginduksi terbentuknya molekul *Reactive Oxygen Species* (ROS) ketika diberi paparan hingga sub akut, melalui serangkaian proses seluler yang dapat memacu kerusakan hematologikal dan perubahan (Jasper et al 2012), sehingga terjadi penurunan glutathion dalam tubuh.

Pemberian ekstrak lamun dan alga merah menunjukkan peningkatan kadar glutathion pada organ homeostasis, karena kandungan *senyawa* flavonoid dan fenoliknya yang bersifat antioksidan (Puspasari dkk., 2017). Senyawa taurin pun terbukti memiliki sifatnya antioksidan dalam kemampuan aktifasi hepatoprotektif (Abbasoglu et al., 2001), dalam mengurangi aktivitas peroksidasi lipid (Miyazaki dkk, 2004; Cetiner dkk., 2005), sehingga memiliki kemampuan untuk meningkatkan kadar glutathione dan aktivitas enzim antioksidan di dalam tubuh (Hagar, 2004).

Hasil penelitian ini menyatakan glifosat pada roundup dapat menyebabkan stres oksidatif karena peningkatan ROS, karena senyawa ini sebagai pengacau antioksidan alami yang terdapat di dalam tubuh. Dengan bukti respon penurunan kadar glutathione terendah yang di tunjukan pada hewan uji yang diinduksi oleh glifosat tanpa di beri tritmen lamun, alga merah, dan taurine.

Sesuai yang di nyatakan (Nahla, et al. 2009) bahwa paparan konsentrasi roundup dan glifosat dapat menyebabkan perubahan biokimia pada orga,. Serta meningkatnya hydrogen perox- ide generation yang menyebabkan penipisan Glutathione yang mengindikasi aktivasi pertahanan antioksidan.

KESIMPULAN

glifosat meyebabkan stres oksidatif pada organ homeostasis mencit, sehingga terjadinya menurunkan kadar glutathione pada organ hepar, ginjal, dan paru-paru, diikuti dengan penurunan berat badan mencit. sedangkan taurine, lamun, dan alga merah mapu menaikkan kadar glutathione dan aktivitas enzim antioksidan di dalam tubuh sehingga mencegah terjadinya stres oksidatif yang terjadi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kemenristek Dikti Program Tim Pascasarjana 2017/2018

DAFTAR PUSTAKA[Times New Roman 11 bold]

- Abbasoglu, D.S., Kanbagli, O., Balkan, J., Cevikbas, U., Aykac, T.G., Uysal, M. The protective effect of taurine against thioacetamide hepatotoxicity of rats. *Hum Exp Toxicol*, 20(1): 23-7 (2001).
- Hagar, H. H. 2004. The protective effect of taurine against cyclosporine A induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *Toxicology Letters*. 151:335-343
- Harjanto, 2004. Pemulihan stres oksidatif pada latihan olahraga. *Jurnal Kedokteran YARSI* 12 (3) : 81-87.
- Jasper, R., Locatelli, G.O., Pilati, C., Locatelli, C. (2012). Evaluation of biochemical, hematological and oxidative parameters in mice exposed to the herbicide glyphosate-roundup. *Interdiscip Toxicol*. 5(3): 133-140.
- Jaya et al. 2017. Taurine and Oyster Mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) Prevents Oxidative Damage in Liver of Mice Induced by Paraquat. *Biomedical & Pharmacology Journal*. Vol. 10(4), 1993-2000.

- Kang C *et al.* 2010. Brown alga *Ecklonia cava* attenuates type 1 diabetes by activating AMPK and Akt signalling pathways. *Food Chem Toxicol* 48: 509516.
- Puspita, E.V. 2014. Pengaruh taurine terhadap aktifitas enzim superoksida dismutase, malondialdehida dan histologi pada hati mencit (*Mus musculus*) jantan yang diinduksi herbisida glifosfat. (Tesis). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Miyazaki, T., Y. Matsuzaki, T. Ikegami, S. Miyakawa, M. Doy, B. Bouscarel. 2004. Optimal and effective oral dose of taurine to prolong exercise performance in rat. *Amino Acid*. 27:291-298.
- Nahla ,S. El-Shenawy. 2009. Oxidative stress responses of rats exposed to Roundup and its active ingredient glyphosate. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 28 :379–385
- Oliviera, R.J.D., J.A. Duarte, A.S. Navarro, F. Remiao, M.L. Bastos, F. Carvalho. 2008. Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features and treatment. *Clinical Reviews in Toxicology*. 38: 13-71.
- Susantiningsih, T. 2014. *Biokimia stress oksidatif dan prosedur laboratorium*. Aura Printing dan Publishing, Bandar Lampung.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006;160:1–40.
- Yoshikawa, T. and Naito, Y. 2002. What is oxidative stress? *JMAJ*. 45(7): 271-276.
- Zhang, Z., D. Liu, B. Yi, Z. Liao, L. Tang, D. Yin, M. He. 2014. Taurine supplementation reduces oxidative stress and protects the liver in an iron overload murine model. *Molecular Medicine Reports*. 10: 2255-2262.