

Ekstrak Buah Anggur Menurunkan Kadar Aspartate Transaminase Darah Mencit dengan Aktivitas Fisik Berlebih

THE EXTRACT OF BLACK GRAPE FRUIT DECREASE BLOOD ASPARTATE TRANSAMINASE OF MICE AFTER EXCESSIVE PHYSICAL ACTIVITY (OVERTRAINING)

**Ferbian Milas Siswanto¹, I Wayan Suryawan¹,
Taufan Hendra Wirawan², Fatqur Rochman², Jahja Alex Pangkahila³**

¹*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan*

²*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Program Studi Pendidikan Dokter*

³*Program Magister Anti-Aging Medicine*

Universitas Udayana. Jl PB Sudirman Denpasar 80232 Bali

Abstrak

Buah anggur dikenal memiliki aktifitas antioksidan yang tinggi dan bermanfaat mencegah terjadinya stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan mengetahui peran antioksidan dalam buah anggur untuk mencegah terjadinya stres oksidatif yang diakibatkan aktivitas fisik berlebih dengan indikator kadar AST darah mencit. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni dengan rancangan *completely randomized* menggunakan *post-test only control group design* yang terdiri dari empat kelompok mencit yaitu kontrol, perlakuan satu dengan 1ml/hari ekstrak buah anggur, perlakuan dua dengan 0,5ml/hari ekstrak buah anggur dan perlakuan tiga dengan 0,25ml/hari ekstrak buah anggur. Pemberian ekstrak buah anggur dilakukan selama tujuh hari, kemudian diberi perlakuan overtraining berupa renang, pengambilan darah dan pengecekan kadar AST. Hasil penelitian menunjukkan kadar AST antar perlakuan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), dan dengan uji lanjutan *Least Significant Difference* (LSD) didapatkan hasil tidak terjadi penurunan AST secara bermakna pada perlakuan tiga (P3) jika dibandingkan dengan kontrol ($p > 0,05$). Sedangkan pada perlakuan satu (P1) dan perlakuan dua (P2) terjadi penurunan kadar AST secara bermakna ($p < 0,05$). Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah anggur menurunkan kadar AST darah mencit dengan aktivitas fisik berlebih dengan dosis optimal 0,5ml/hari.

Kata Kunci : Ekstrak buah anggur, mencit, AST, *overtraining*

Abstract

The grapes are known to have high antioxidant activity and beneficial to prevent the occurrence of oxidative stress. This study aims to determine the role of antioxidants in grapes to prevent oxidative stress caused by excessive physical activity with level of blood AST of mice as indicator. This study is purely experimental research with completely randomized design using the post-test only control group design consisting of four groups: control, first group are treated with the grapes fruit extract 1ml/day, second group are treated with 0.5 ml/day grape fruit extract and third group are treated with 0.25 ml/day grape fruit extract. Grape extract performed for seven days, then treated with a swimming as overtraining, blood sampling and checking the levels of AST. The results showed AST levels between group were not significantly different ($p > 0.05$), and the post hoc test of Least Significant Difference (LSD) showed no significant AST decrease in third group (P3) when compared with controls ($p > 0,05$). While on first group (P1) and second group (P2) the levels of AST were significantly decreased ($p < 0,05$). From these results it can be concluded that the grape extract lowers blood levels of AST mice with excessive physical activity with optimal doses of 0.5 ml/day.

Keywords : Black grape fruit extract, mice, AST, *overtraining*

PENDAHULUAN

Salah satu dari penyebab penuaan ialah gaya hidup yang tidak sehat dan salah satu dari gaya hidup yang tidak sehat adalah kurangnya atau kelebihan aktivitas fisik. Aktivitas fisik yang berat dapat meningkatkan konsumsi oksigen 100-200 kali lipat dibandingkan kondisi istirahat. Peningkatan penggunaan oksigen terutama oleh otot-otot yang berkontraksi, menyebabkan terjadinya peningkatan kebocoran elektron dari mitokondria yang akan menjadi ROS (*Reactive Oxygen Species*) (Clarkson dan Thomson, 2000). Umumnya 2-5% dari oksigen yang digunakan dalam proses metabolisme akan menjadi radikal bebas (ion superoksida). Sehingga peningkatan aktivitas fisik akan meningkatkan produksi radikal bebas.

Radikal bebas bersifat sangat reaktif sehingga dapat menyerang senyawa ataupun atom lain disekitarnya dan menimbulkan reaksi berantai. Bila pembentukan radikal bebas di dalam tubuh terjadi secara berlebihan akan terjadi kerusakan oksidatif yang berujung pada kerusakan berbagai makromolekul dalam sel yang berperan dalam patogenesis berbagai penyakit degeneratif (Winarsi, 2007). Reaksi peroksidasi lipid yang dipicu oleh radikal bebas merupakan penyebab utama kerusakan membran sel yang mengakibatkan munculnya berbagai kondisi patologis (Woolf *et al.*, 2005). Akibat akhir dari reaksi peroksidasi lipid tersebut yaitu terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain berbagai aldehida seperti malondialdehid MDA dan bermacam-macam hidrokarbon (Kelly *et al.*, 1998).

Pada latihan fisik berat berupa lari 80 km terjadi ketidakseimbangan antara *prooxidant* dan *oxidant* intraseluler yang dapat menimbulkan kerusakan sel hati sehingga terjadi peningkatan plasma *aspartat transaminase* (AST) empat kali lipat dan peningkatan kadar bilirubin yang merupakan tanda dari gangguan fungsi hati (Droge, 2002). Latihan yang dilakukan sesaat juga dapat meningkatkan AST/SGOT dan *alanin aminotransaminase* (ALT/SGPT) dalam darah (Koutedakis, 1993; Chevion, 2003). Latihan fisik berat akut meningkatkan kadar *malondialdehyde* (MDA) sangat bermakna pada hati, yang merupakan pertanda peningkatan *oxidative stres* akibat radikal bebas (Frick, 1999).

Antioksidan adalah senyawa yang diyakini dapat melindungi biomolekul terhadap stres oksidatif sehingga dapat menurunkan resiko penyakit hati, kardiovaskuler serta jenis kanker tertentu (Huang *et al.*, 2004).

Buah anggur merupakan salah satu sumber antioksidan dari tumbuh-tumbuhan dengan kandungan polifenol dan antosianin yang cukup tinggi. Antosianin merupakan antioksidan

yang memiliki potensi tinggi sebagai *scavenger* radikal bebas dan memiliki aktivitas protektif terhadap peroksidasi lipid (Cao *et al.*, 2001; Yanjun *et al.*, 2009).

Studi laboratorium pada mencit yang diinduksi hydrogen peroksida 3% menunjukkan bahwa ekstrak anggur dapat menurunkan kadar MDA pada eritrosit *Ghost Cell* dibandingkan dengan mencit yang diberi NaCl 0,9% dan H₂O₂ 3% (Wongsodipuro, 2010). Buah anggur merupakan sumber antioksidan karena mengandung polifenol kompleks dan flavonoid (Shi *et al.*, 2003).

Dari kandungan antioksidan yang tinggi dalam anggur dan untuk memperoleh jawaban dari permasalahan di atas, maka dilakukan penelitian tentang efek ekstrak buah anggur terhadap kadar AST darah mencit yang diinduksi latihan fisik berlebih.

METODE PENELITIAN

Rancangan yang dipilih pada penelitian ini adalah *completely randomized* menggunakan *post-test only control group design*. Sampel yang digunakan adalah mencit strain Balb-C, berjenis kelamin jantan, berat badan 22-25 gram dan berusia 3-4 bulan. Besar sampel yang dipergunakan dalam penelitian ini didasarkan pada rumus Pocock (2008) dan didapatkan jumlah sampel 4 ekor/perlakuan. Pada penelitian ini terdapat 4 kelompok perlakuan, yang terdiri dari kelompok Kontrol (P0), P1 ekstrak buah anggur dengan dosis 1ml/ekor/hari, P2 ekstrak buah anggur dengan dosis 0,5ml/ekor/hari, P3 ekstrak buah anggur dengan dosis 0,25ml/ekor/hari.

Setelah perlakuan selama 7 hari, seluruh kelompok direnangkan hingga hampir tenggelam (kurang lebih selama 45 menit). Mencit dikeringkan dengan handuk dan dijemur di bawah matahari kurang lebih selama 15 menit, dilanjutkan dengan pengambilan darah post-test untuk pemeriksaan kadar AST menggunakan AST activity assay KIT.

Variabel dalam penelitian ini meliputi : a) variabel bebas yaitu dosis ekstrak buah anggur dan aktivitas fisik maksimal. b) variabel tergantung yaitu kadar AST darah mencit. c) variabel kendali yaitu jenis mencit yang digunakan, umur mencit, berat badan mencit, jenis kelamin mencit, nutrisi, kondisi lingkungan (suhu, kelembaban, cahaya), kesehatan mencit

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif, uji homogenitas dengan uji *Lavene's test*, uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk*, uji *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)* bila sebaran data normal dan homogen, dan uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan *Wilcoxon* tidak berpasangan bila sebaran data tidak normal dan homogen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian berupa variabel kadar AST dalam serum darah mencit. Selanjutnya data hasil penelitian diolah dengan statistik deskriptif dan statistik inferensial non parametrik untuk menguji normalitas dan homogenitas data. Uji statistik tersebut dilakukan dengan program SPSS secara komputerisasi.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan AST darah mencit kelompok kontrol dan perlakuan

Ulangan	Kontrol	P1	P2	P3
1	260	257	200	194
2	368	144	232	143
3	251	232	195	227
4	248	128	104	238
Rata-rata	281.75	190.25	182.75	200.5

Pada tabel diatas terlihat rata-rata AST kelompok kontrol adalah 281,75; kelompok perlakuan satu (P1) sebesar 190,25; kelompok perlakuan dua (P2) sebesar 182,75; dan kelompok perlakuan tiga (P3) sebesar 200,5. Jelas terlihat penurunan kadar AST yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok yang diberi perlakuan ekstrak buah anggur. Dengan uji *One Way Anova* disimpulkan bahwa rerata kadar AST pada keempat kelompok setelah diberikan perlakuan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Dan setelah dilakukan uji lanjutan (post hoc) berupa uji *Least Significant Difference* (LSD) didapatkan hasil tidak ada perbedaan AST secara bermakna pada perlakuan tiga (P3) jika dibandingkan dengan kontrol ($p > 0,05$). Sedangkan pada perlakuan satu (P1) dan perlakuan dua (P2) terjadi penurunan kadar AST secara bermakna ($p < 0,05$).

Berolahraga meningkatkan konsumsi oksigen yang digunakan untuk menghasilkan energi. Peningkatan konsumsi ini dibarengi dengan peningkatan produksi sampingan metabolisme energi di dalam mitokondria yakni radikal bebas (Clarkson dan Thomson, 2000). Radikal bebas dapat menimbulkan reaksi berantai yang menimbulkan degenerasi dan nekrosis dari berbagai macam sel di dalam tubuh (Sutarina dan Edward, 2004), termasuk di dalamnya sel hati (Jawi *et al.*, 2006).

Pada tabel 1 terlihat bahwa terjadi penurunan kadar AST pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 yang diberikan ekstrak buah anggur bila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa kerusakan jaringan hati akibat stres oksidatif yang ditimbulkan oleh

aktifitas fisik berlebih dapat dikurangi dengan pemberian ekstrak buah anggur. Pemberian ekstrak buah anggur merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan kadar antioksidan dalam tubuh. Telah banyak diketahui bahwa kandungan polifenol pada buah anggur seperti antosianin, proanthocyanidin, flavonol, resveratrol, dan asam fenol (Shi *et al.*, 2003; Xia *et al.*, 2010), memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi (Jayaprakasha, 2001; Hogan *et al.*, 2010). Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian dengan pemberian ubi jalar ungu terhadap stres oksidatif pada mencit yang diberikan beban fisik berat ditemukan terjadi efek preventif terhadap stres oksidatif sehingga terjadi penurunan MDA setelah diberikan ubi jalar ungu (Jawi, 2008). Pemberian high-Genistin Isoflavine dan Gingseng terhadap tikus sebelum aktivitas fisik, juga dapat melindungi kerusakan jaringan akibat stres oksidatif (Chen, 2002; Voces, 2004).

Semua makanan yang dikonsumsi oleh manusia mengandung berbagai macam zat yang bermanfaat dan sangat diperlukan untuk tubuh. Namun ada beberapa zat yang dapat menimbulkan keadaan yang tidak diinginkan, seperti gejala sakit hingga kematian (Donatus, 2001), begitu pula halnya dengan ekstrak etanol buah anggur. Secara umum penggunaan bahan alam termasuk ekstrak sebagai obat relatif aman apabila digunakan secara tepat, namun beberapa ekstrak juga memiliki potensi toksik apabila digunakan (Celik, 2012). Terkait dengan hati sebagai organ yang paling penting dalam proses metabolisme (Guyton dan Hall, 2012), maka patofisiologi pada organ hati sangat erat kaitannya dengan asupan makanan atau minuman yang dikonsumsi.

Uji pendahuluan pada toksisitas akut ekstrak etanol buah anggur menggunakan hewan coba larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST), didapatkan nilai LC_{50} adalah 648,004 $\mu\text{g/ml}$ dengan toleransi hingga konsentrasi $< 1000 \mu\text{g/ml}$ (Mutia, 2010). Dari hasil penelitian ini diketahui besar potensi toksisitas akut ekstrak etanol buah anggur adalah *practically non toxic*. Dalam penelitian ini, peningkatan dosis menjadi 1ml/ekor ternyata meningkatkan kadar AST jika dibandingkan pemberian dosis yang lebih rendah yakni 0,5ml/ekor secara signifikan ($P < 0,05$). Ini mengindikasikan telah terjadi toksisitas pada jaringan hati dan merusak struktur sel hepatosit, sehingga enzim AST yang berada pada sitoplasma hepatosit dapat keluar memasuki aliran darah (Hozaimah, 2007). Hal ini sesuai dengan penelitian pemberian ekstrak biji dan kulit anggur pada tikus wistar dapat menginduksi terjadinya perubahan histopatologi hati walaupun tidak signifikan ($P > 0,05$) secara statistik (Wren *et al.*, 2002; Bentivegna dan Whitney, 2002)

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak buah anggur dosis 1ml/hari dan 0,25ml/hari telah memberikan efek menurunkan kadar AST setelah diinduksi latihan fisik berlebih. Pemberian ekstrak buah anggur dosis 0,5ml/hari menurunkan kadar AST secara bermakna. Peningkatan dosis ekstrak buah anggur tidak selalu meningkatkan efek menurunkan kadar AST. Dalam penelitian ini dosis optimum ekstrak buah anggur dalam menurunkan kadar AST adalah 0,5 ml/hari.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian dengan sampel yang lebih banyak dan diperlukan pula penelitian untuk menentukan dosis optimal untuk menurunkan kadar AST darah akibat *overtraining*. Selain itu perlu dilakukan penelitian mengenai toksisitas ekstrak etanol buah anggur pada organ hati.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Dirjen DIKTI yang telah memberikan dana dalam rangka pelaksanaan Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) periode pendanaan 2013 sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik. Terima kasih pula kepada Kepala Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana yang telah memberi ijin dan membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bentivegna, SS., and Whitney, KM. 2002. Subchronic 3-month oral toxicity study of grape seed and grape skin extracts. *Food Chem Toxicol.* 40 (12): 1731-43.
- Cao, G., Mumlitelli, HU., Moreno, CS., and Prior, RL. 2001. Anthocyanins are Absorbed in Glycated Forms in Elderly Women. *American Journal Of Clinical Nutrition.* 73 (5): 920-926.
- Celik, TA. 2012. Potential Genotoxic and Cytotoxic Effects of Plant Extracts. In: Bhattacharya, A., editor. *A Compendium of Essays on Alternative Therapy.* Croatia: InTech. P. 236.
- Chen, CY., Holtzman, GI., and Bakhit, RM. 2002. High-Genistin Isoflavone Supplementation Modulated Rrythrocyte Antioxidant Enzymes and Increased Running Endurance in Rats Undergoing one Session of Exhausting Exercise-a pilot study. *Pakistan journal of Nutrition* 1 (1): 1-7

- Chevion, S., Moran, DS., Heled, Y., Shani, Y., Regev, G., Abbou, B., Berenshtein, E., Stadtman, ER., and Epstein, Y. 2003. Plasma Antioxidant Status and Cell Injury After Severe Physical Exercise. *Proc.Nati.Acad.Sci.USA*, 100 (9): 5119-5123.
- Clarkson, PM., and Thomson, HS. 2000. Antioxidant: What role do they play in physical activity and health. *Am J Clin Nutr.* 729 (Suppl): 673-346.
- Donatus, AI. 2001. *Toksikologi Dasar*. Fakultas Biofarmasi - Universitas Gajahmada. Yogyakarta
- Droge, W. 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev* 82: 47-95.
- Frick, R. 1999. *Function of Glutamine*. Available at : <http://www.medfaq.com/glugong3.htm>. Accessed Sept 23, 2012.
- Guyton, AC., and Hall, JE. 2012. *Pocket Companion to Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. US : Saunders Elsevier.
- Hogan, S., Canning, C., Sun, S., Sun, X., and Zhou, K. 2010. Effects of Grape Pomace Antioxidant Extract on Oxidative Stress and Inflammation in Diet Induced Obese Mice. *J. Agric. Food Chem* 58 (21): 11250-56
- Hozaimah, S. 2007. *Kadar SGOT dan SGPT pada Tikus Putih (rattus novegicus) Akibat konsumsi Minyak Jelantah Bermerek dan tidak bermerek dari beberapa Kalori Penggorengan* (Skripsi). Malang : Universitas Muhammadiyah Malang.
- Huang, HY., Chang, CK., Tso, TK., Huang, JJ., Chang, WW., and Tsai, YC. 2004. Antioxidant Activities of Various Fruits and Vegetable Produce in Taiwan. *Int J Food Sci Nutr.* 55 (5): 423-9.
- Jawi, IM., Ngurah, IB., Sutirtayasa, IWP., dan Manuaba, IBR. 2006. Aktivitas Fisik Maksimal Akut dapat Meningkatkan Kadar SGOT SGPT dan menimbulkan degenerasi sel hati Mencit. *Jurnal Kedokteran Yarsi* 14 (3): 204-207.
- Jawi, IM., Suprpta, DN., dan Subawa, AAN. 2008. Ubi Jalar Ungu Menurunkan Kadar MDA dalam Darah dan Hati Mencit setelah Aktivitas fisik Maksimal. *Jurnal Veteriner* 9 (2): 65-71.
- Jayaprakasha, GK., Singh, RP., dan Sakariah, KK. 2001. Antioxidant activity of Grape Seed (*Vitis vinera*) Extracts on Peroxidation Models In Vitro. *Food chem* 73 (3): 285-290
- Kelly, SA., Havrilla, CM., Brady, TC., Abramo, KH., and Levin, ED. 1998. Oxidative Stress in Toxicology: Established Mammalian and Emerging Piscine Model System. *Environmental Health Perspective* 106 (7).
- Koutedakis, Y., Raafat, A., Sharp, NC., Rosmaris, MN., Beard, MJ., and Robbis SW. 1993. *Serum enzyme activities in individuals with different levels of physical fitness*. *J Sport Med Phys Fitness* 33 (3): 252-7.
- Mutia, D. 2010. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Anggur (Vitis vinera) terhadap larva Artemia salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. Skripsi : Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.

- Pocock, SJ. 1983. *Clinical Trial A Practical Approach*. England : John Wiley and Sons.
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, JE., and Kakuda, Y. 2003. Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. *J. Med. Food* 6: 291-299.
- Sutarina. N., dan Edward, T. 2004. *Pemberian Suplemen pada Olahraga*. Majalah GizMindo 3(9): 14-15
- Voces, J., Oliveira, ACC., Prieto, JG., Vila, L., Perez, AC., Duarte, IDG., and Alvarez, AI. Ginseng administration protects skeletal muscle from oxidative stress induced by acute exercise in rats. *Braz J Med Biol Res* 37 (12): 1863-1871
- Winarsi, H. 2007. Produk Oksidasi pada Senyawa Lipid. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius : 50-59.
- Wongsodipuro, A. 2010. *Pemberian Ekstrak Anggur (Vitis vinera) Menurunkan Kadar MDA pada Eritrosit Ghost Cell Tikus yang Diinduksi Hidrogen Peroksida 3%*. Tesis : Universitas Udayana.
- Woolf, N., Wotherspoon, A., and Young, M. 2005. *The Liver, Biliary System and Exocrine Pancreas*. Essentials of Pathology. Pennsylvania: Elsevier Saunders.
- Wren, AF., Cleary, M., Frantz, C., Melton, S., and Norris, L. 2002. 90-Day Oral Toxicity Study of a Grape Seed Extract (IH636) in Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (7): 2180-2192
- Xia, EQ., Deng, GF., Guo, YJ., and Li, HB. 2010. Biological Activities of Polyphenols from Grape. *Int J of Mol Sci* 11: 622-646
- YanJun, Z., Dana, K., Robert, D., Rypo, L., and David, W. International Multidimensional Authenticity Specification (IMAS) Algorithm for Detection of Commercial Pomegranate Juice Adulteration. *J. Agric Food Chem* 57 (6): 2550-2557.