

Efikasi Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap Kadar Alkaline Phosphatase

*Efficacy Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) Leaf to Alkaline Phosphatase Level*

¹Salmah Orbayinah, ²Adhita Kartyanto

¹Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta,

²Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Abstract

*Role of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves as hepatoprotector and antioxidant was identified on CCl_4 – induced white rats.*

*Unrandomized control trial method was used in this study. Ten male Wistar white rats with 200 – 250 gr of body weight were divided into two groups. Group I as a control group was treated with standard food and 1 ml aquadest orally for 12 days. Group II as a treatment group was given standar food and daily single dose pretreatment of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves juice 289,8 mg/200 gr of body weight for 12 days. Carbon tetrachloride (1 ml/kg body weight, i.p.) injected into rats in the day 13th to induce liver cells damage. ALP test used ALP KIT reagent had been done twice, 1st day and 14th day.*

*The result shows mean of ALP level before and after treatment in control group were $95,94 \pm 1,52$ and $110,15 \pm 1,07$; in treatment group were $92,65 \pm 3,05$ and $92,91 \pm 0,68$. Paired T-test shown significant difference before and after treatment ($p < 0,05$). Independent T test shown a significant difference ALP increasing between two group, while ALP serum level in treatment group lower than control group. This study proved that Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leafs juice 289,8 ml / 200gr body weight each day could decrease hepatotoxicity effect of carbon tetrachloride by maintain normal level of ALP in white rats Wistar strain.*

*Keywords: antioxidant, alkaline phosphatase level, *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, carbon tetrachloride*

Abstrak

*Manfaat daun *Anredera cordifolia* (Ten.) Stenis sebagai hepatoprotektor dan antioksidan diteliti pada tikus putih induksi CCl_4 .*

*Unrandomized control trial digunakan pada penelitian ini. Sepuluh tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat badan 200-250 g dibagi menjadi dua kelompok. Kelompok kontrol diberi perlakuan dengan diberi pakan standar dan 1 ml aquadest setiap hari selama 12 hari. Kelompok perlakuan diberi pakan standar ditambah jus daun binahong dosis tunggal sebesar 329,21 mg diberikan lewat oral setiap hari selama 12 hari. Karbon tetraklorida (1 ml/kg berat badan, i.p.) disuntikkan ke tikus pada hari ke 13 untuk menginduksi kerusakan sel hepar. ALP test dilakukan dua kali, pada hari pertama dan hari ke-14.*

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar ALP serum pada kelompok kontrol sebelum dan sesudah perlakuan adalah $95,94 \pm 1,52$ IU/l dan $110,15 \pm 1,07$ IU/l; pada kelompok perlakuan adalah $92,65 \pm 3,05$ IU/l dan $92,91 \pm 0,68$ IU/l. *Paired T-test* menunjukkan perbedaan signifikan sebelum dan sesudah perlakuan ($p < 0,05$). *Independent T-test* menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) peningkatan ALP sebelum dan sesudah perlakuan pada kedua kelompok dimana kadar ALP pada kelompok perlakuan lebih rendah daripada kelompok kontrol. Disimpulkan bahwa pemberian jus daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) 329,21 mg setiap hari dapat meningkatkan efek hepatoprotektif dengan menjaga kadar normal ALP pada tikus putih galur *Wistar*

Kata kunci: *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, ALP

Pendahuluan

Hepar memiliki peranan penting dalam fungsi fisiologis tubuh. Metabolisme karbohidrat, protein, lipid, biotransformasi senyawa endogen maupun eksogen terjadi di hepar. Demikian pula proses detoksifikasi obat atau senyawa beracun lainnya dilakukan oleh hepar.¹

Adanya peningkatan enzim-enzim hepar seperti SGOT, SGPT, MDA, dan ALP merupakan indikator gangguan hepar. ALP (*alkaline phosphatase*) adalah enzim hidrolase yang bertanggung jawab untuk membuang kelompok fosfat dari berbagai jenis molekul seperti nukleotida, protein, dan alkaloid. ALP pada manusia terdapat di seluruh jaringan tubuh namun terkonsentrasi di hepar, kantung empedu, ginjal, tulang, dan plasenta². Peningkatan ALP secara bermakna dapat dilihat pada penyakit-penyakit seperti: kolestasis, kolesistitis, kolangitis, sirosis hepatis, hepatitis, perlemakan hepar, tumor hepar, dan intoksikasi obat³.

Penyakit akibat gangguan hepar dapat diobati tidak hanya dengan obat-obatan kimia namun dapat juga diobati dengan pengobatan herbal. Pengobatan herbal disebut juga *phytotherapy* atau terapi botani. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan bahwa empat milyar orang (80% dari populasi penduduk dunia) menggunakan pengobatan herbal⁴.

Bahan kimia yang terkandung di dalam tanamanlah yang memberikan khasiat pengobatan. Salah satunya adalah

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang dipercaya dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit, baik ringan maupun berat. Kandungan vitamin C dan flavonoid dalam daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) berfungsi sebagai antioksidan sehingga dapat digunakan untuk melawan radikal bebas⁵. Selain itu Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) juga memiliki khasiat anti inflamasi dan antiulkus⁶.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan manfaat daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sebagai agen hepatoprotektor dengan cara mencegah kenaikan kadar enzim *Alkaline Phosphatase* (ALP).

Bahan dan Cara

Subjek penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *wistar* diperoleh dari PAU Pasca Sarjana Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Teknik pengambilan sampel menggunakan *random sampling* dimana setiap tikus putih memiliki kesempatan yang sama untuk menjadi subjek penelitian, setelah subjek diambil, subjek diseleksi lagi berdasarkan kriteria yang ditetapkan. Subjek yang diteliti memiliki kriteria sebagai berikut usia sekitar 2 bulan, berat badan antara 200 – 250 gram, jenis kelamin laki-laki, sehat dilihat dari aktivitas gerakanya

Jumlah sampel dalam populasi adalah 10 ekor, dibagi menjadi 2 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor subjek. Perlakuan yang diberikan kepada subjek antara lain kelompok kontrol negatif hanya diberi air putih dan makanan biasa tanpa pemberian jus daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) selama 12 hari, kelompok sampel diberi jus daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) selama 12 hari

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan pendekatan *unrandomized control trial* yang dilakukan di PAU Pasca Sarjana Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

Metode yang digunakan adalah metode Tes Kinetik Kolorimetrik, metode standar yang dioptimalkan berdasarkan DGKC (*German Society of Clinical Chemistry*).

Bahan penelitian adalah reagen KIT DYASIS berupa R1: Diethanolamine pH 9,8 1,0 mol/l, Magnesium Klorida 0,5 mmol/l, R2: p-Nitrofenilfosfat 10mmol/l, Sampel darah, daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), karbon tetraklorida (CCl_4).

Alat penelitian adalah Blender, Sonde, Pipet, Sentrifuge, Micro hematocrite tube, Spektrofotometer, Seperangkat alat gelas, Incubator .

Cara kerja penelitian adalah sebagai berikut : 1) darah diambil sebanyak 1,5 ml kemudian disentrifuge sehingga serum dan sel darah terpisah, 2) serum dicampur dengan Reagen 1 sebanyak 1000 μ l dan diinkubasi selama kurang lebih satu menit, 3) hasil campuran Reagen 1 dengan serum dicampur dengan 250 μ l reagen 2, dan 4) hasilnya dibaca absorbansinya setelah 1 menit, kemudian dibaca lagi pada menit ke 2, 3, 4.

Jalannya penelitian adalah sebagai berikut : 1) Subjek penelitian diseleksi sesuai dengan kriteria. 2) Darah subjek diambil sebanyak 1,5 ml kemudian diperiksa kadar ALPnya dengan dibaca menggunakan tes kolorimetri untuk melihat kadar ALP normal pada hewan uji. 3) Subjek penelitian dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif dan kelompok

sampel. 4) Pada kelompok sampel diberi jus daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mulai dari hari ke-1 sampai hari ke-12, dan pada kelompok kontrol negatif diberi air putih. 5) Induksi karbon tetra klorida (CCl_4) pada semua subjek penelitian di hari ke-13 sebagai agen hepatotoksik. 6) Dua puluh empat jam setelah induksi, darah tiap subjek penelitian diambil dan dibandingkan untuk dilihat perubahan kadar ALPnya setelah induksi karbon tetraklorida (CCl_4) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Data hasil pengukuran kadar ALP dianalisis dengan uji *paired T test* dilanjutkan uji *independent T test* untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan kadar ALP antar kelompok sebelum dan sesudah pemberian daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis).

Hasil

Setelah subjek dipilih, berat badan awal dan kadar ALP masing masing subjek diukur. Pengukuran berat badan bertujuan untuk memenuhi kriteria inklusi dan untuk menghitung dosis jus Binahong (*anredera cordifolia*(Ten.)Steenis). Sedangkan pengukuran kadar ALP awal bertujuan untuk mengetahui standar normal ALP.

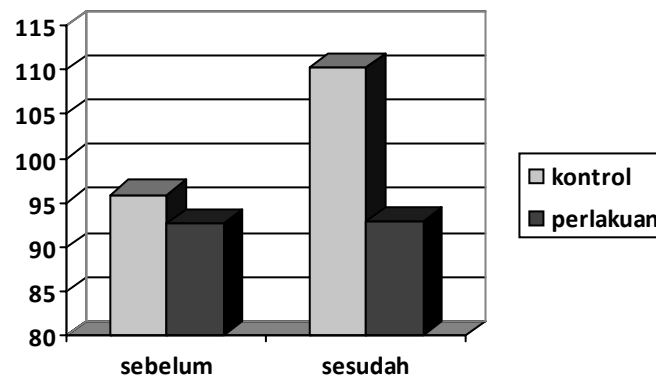
Dari pengukuran berat badan awal didapatkan rata-rata berat badan kelompok perlakuan adalah 227,2 gram maka dosis jus Binahong (*anredera cordifolia*(Ten.)Steenis) yang diberikan ke sampel adalah 329,21 mg/hari.

Setelah subjek diberi perlakuan selama 12 hari, pengukuran berat badan ke dua dilakukan untuk menentukan dosis induksi karbon tetraklorida (CCl_4). Dosis induksi CCl_4 yang dipakai adalah 1ml/kgBB

Dua puluh empat jam setelah induksi, dilakukan pengukuran kadar ALP. Kemudian hasil pengukuran yang telah didapatkan diuji dengan menggunakan uji statistik *paired – T test* untuk mengetahui kebermaknaan antar kelompok dan dilanjutkan dengan uji *independent – t test* untuk mengetahui kebermaknaan antar kelompok.

Tabel 1. Independent T-test Kadar ALP sebelum dan sesudah pada kelompok kontrol dan perlakuan

Variabel	kontrol	perlakuan	Uji statistik	P value
ALP sebelum	95,94±1,52	110,15±1,07	Independent T test	0,063
ALP sesudah	92,65±3,05	92,91±0,68	Independent T test	<0,001
ALP selisih	14,21±2,36	0,22±3,43	Independent T-test	<0,001



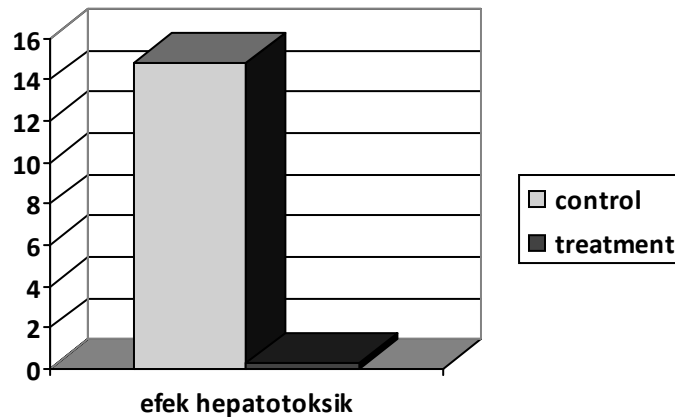
Gambar 1. Grafik perbandingan kadar ALP sebelum dan sesudah diberi perlakuan

Tabel 2. Paired T-test Kadar ALP pada kelompok kontrol dan perlakuan

Variabel	sebelum	Sesudah	Uji statistik	P value
Kontrol	95,94±1,52	110,15±1,07	Paired T test	<0,001
perlakuan	92,65±3,05	92,91±0,68	Paired T test	<0,001

Tabel 3. Independent T-test efek hepatotoksik pada kelompok kontrol dan perlakuan

Variabel	Kontrol (%)	Perlakuan (%)	Uji statistik	P value
Efek hepatotoksik	14,84±2,72	0,33±3,58	Independent T-test	<0,001



Gambar 2. Grafik perbandingan efek hepatotoksik

Untuk menganalisis kebermaknaan data kelompok sampel pada digunakan uji *paired-T test* dengan Interval kepercayaan 95% (IK 95%) diperoleh hasil $p=0,000$ ($p<0,05$) artinya terdapat perbedaan rerata ALP yang bermakna sebelum dan sesudah diberi perlakuan.

Dari data selisih pemeriksaan sebelum dan sesudah dianalisis menggunakan uji *independent T-test* untuk melihat kebermaknaan data antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, didapatkan varians data kedua kelompok sama, dan nilai $p<0,001$. Karena nilai $p<0,05$ maka diambil kesimpulan terdapat perbedaan peningkatan kadar ALP yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok sampel, dimana peningkatan kadar ALP kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol.

Diskusi

Pemberian dosis jus Binahong (*anredera cordifolia*(Ten.)Steenis) berdasarkan kandungan antioksidan dalam jus binahong yaitu asam askorbat. CCl_4 digunakan sebagai model eksperimental untuk merusak hepar. Mekanisme kerja CCl_4 sebagai agen penginduksi hepatotoksisitas diduga dengan bioaktivasi triklorometil radikal dan triklorometil peroksi

radikal. Telah diketahui bahwa CCl_4 diaktivasi oleh sistem sitokrom P_{450} . Metabolit awalnya adalah triklorometil radikal bebas ($CCl_3\cdot$) yang dipercaya dapat menginisiasi substansi biokimia yang dapat menyebabkan terjadinya nekrosis hepar. Triklorometil radikal dapat membentuk ikatan kovalen dengan protein dan lipid, berikatan dengan O_2 membentuk triklorometil peroksi radikal atau atom hidrogen abstrak untuk membentuk kloroform. Sebagai respon dari cedera hepatoseluler yang diinisiasi biotransformasi CCl_4 menjadi radikal reaktif, sel Kupffer di hepar yang sudah teraktivasi merespon dengan melepaskan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan agen bioaktif lainnya dalam jumlah besar.⁷

Mekanisme hepatoprotektif daun binahong diduga sebagai berikut : 1) Proses detoksifikasi yang terjadi di hati pada sitokrom P_{450} akan menghasilkan metabolit radikal triklorometil ($CCl_3\cdot$). Senyawa tersebut sangat reaktif dan akan menyebabkan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) yang merupakan bagian dari membran sel akan diserang oleh senyawa radikal tersebut sehingga akan menghasilkan serangkaian reaksi rantai. Reaksi rantai tersebut akan menghasilkan produk yang stabil yaitu malondialdehida (MDA) dan juga akan menyebabkan kerusakan membran sel. 2) Peroksidasi lipid tersebut dapat menyebabkan

kerusakan membran sehingga akan terjadi kebocoran membran. Kebocoran membran ini mengakibatkan enzim yang berada dalam sel akan keluar menuju peredaran darah.⁸ ALP banyak terdapat dalam sel hati. Kerusakan sel hati akan berakibat keluarnya ALP menuju peredaran darah.

Telah diketahui bahwa tiap 100 gram daun binahong mengandung 59 mg vitamin C⁵. Vitamin C merupakan antioksidan yang sangat poten meredam radikal bebas yang terbentuk sehingga mengurangi peroksidasi lipid dan kerusakan membran bilayer⁹. Vitamin C, atau sering disebut asam askorbat, adalah suatu vitamin yang larut air dan memiliki sifat antioksidan. Vitamin C dapat menetralkan radikal bebas dengan berubah menjadi radikal askorbat (^{1%}Asc⁻). Namun, radikal ini sangat stabil karena memiliki *resonance structure*. Pada induksi CCl₄, vitamin C bekerja pada tahap metabolisme oleh sitokrom P₄₅₀. CCl₄ dimetabolisme oleh sitokrom P₄₅₀ dan pada prosesnya kehilangan satu buah elektron sehingga terbentuk radikal triklorometil (CCl₃^{1%}) dan ion klorida (Cl⁻). Vitamin C akan mendonorkan satu buah elektron sehingga tidak akan terbentuk radikal triklorometil yang selanjutnya tidak akan terjadi reaksi rantai sehingga kerusakan jaringan dapat dihindari. . Vitamin C bersifat hidrofilik dan berfungsi baik dalam lingkungan air. Sebagai zat penyapu radikal bebas, vitamin C dapat langsung bereaksi dengan peroksidasi dan anion hidroksil serta berbagai hidroperoksida lipid.¹⁰

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), memiliki kandungan antioksidan golongan polifenol, salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid diketahui memiliki kemampuan mengubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai antiradikal bebas.¹¹ Flavonoid merupakan antioksidan yang bekerja dengan efektif karena kemampuannya dalam menetralkan radikal asam lemak dan radikal oksigen.¹² Mekanisme aksi antioksidan flavonoid adalah dengan menekan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) misalnya dengan inhibisi enzimatis, menetralkan ROS, dan memberikan proteksi terhadap system pertahanan antioksidan tubuh. ROS

adalah molekul yang sangat kecil dan sangat reaktif karena memiliki elektron tidak berpasangan. ROS dapat meningkat bila terjadi stres oksidatif.¹³ Flavonoid memenuhi sebagian besar kriteria yang dibutuhkan untuk beraksi sebagai antioksidan. Oleh karena itu, flavonoid memiliki pengaruh ganda yaitu menghambat enzim yang bertanggung jawab atas produksi anion superoksida dan menghambat enzim yang termasuk dalam generasi ROS seperti *cyclooxygenase*, *lypoxigenase*, *microsomal monooxygenase*, dll.¹⁴ Dengan demikian, tidak akan terbentuk metabolit reaktif yang dapat berikatan dengan makromolekul jaringan sehingga kerusakan jaringan dapat dihindari.

Kesimpulan

Penelitian ini membuktikan bahwa daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mempunyai efek hepatoprotektif. Pemberian jus daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sekali sehari selama 12 hari dengan dosis 329,21 mg/ekor/hari ditambah 1 ml air yang dibuat tiap hari terbukti dapat mengurangi efek hepatotoksik oleh CCl₄ dengan menjaga kadar normal *Alkaline Phosphatase*.

Daftar Pustaka

1. Wyngaarden, J.B (1982). *The Text Book of Medicine Vol 1*. Philadelphia: W. B. Saunders Co.
2. Sidhaye, Aniket R. (2005). *Alkaline Phosphatase*. Medline Plus. Diakses 16 April 2007, dari <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003470.htm>
3. Wikipedia, The Free Encyclopedia. (2007). *Alkaline Phosphatase*. Diakses 12 April 2007, dari http://en.wikipedia.org/wiki/Alkaline_phosphatase
4. ICBS, Inc. (2007). *Herbal Medicine*. Diakses 12 April 2007, dari http://www.holisticonline.com/Herbal-Med/hol_herb-intro.htm

5. Sato, T, M. Nagata, et al. (2002). *Evaluation of Antioxydant Activity of Indigenous Vegetables from South and South East Asia*. JIRCAS: Taiwan
 6. Flora of North America. (2004). *Anredera in Flora of North America*. Diakses 20 April 2007, dari http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=101968
 7. Tirkey, Naveen dan Sangeeta Pilkhwal, et al.(2005). *Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney*. BMC Pharmacology. Diakses dari <http://www.biomedcentral.com/1471-2210/5/2>
 8. Hidajati, Nove, Soetjipto, Anwar Ma'aruf. (2003). *Peranan Antioksidan Bawang Putih (Allium sativum) Sebagai Hepatoprotektor*. Jurnal Penelitian Medika Eksakta. Diakses dari [http://www.journal.unair.ac.id/login/jurnal/filer/J.%20Penelit.%20Med.%20Eksakta%204-1%20April%202003%20\[05\].pdf](http://www.journal.unair.ac.id/login/jurnal/filer/J.%20Penelit.%20Med.%20Eksakta%204-1%20April%202003%20[05].pdf)
 9. Frei, B . 1989. *Ascorbat is an outstanding antioxidant in human blood plasma* . Proc Natl Acad Sci USA, 1989;86 : 6377-81
 10. Marks, DB. (1996). *Biokimia Kedokteran Dasar, Sebuah Pendekatan Klinis* . EGC: Jakarta
 11. Hamid, Achmad Fuad. (2003). *Aktivitas Anti-Radikal Bebas DPPH Fraksi Metanol Fagraea auriculata dan Fagraea ceilanica*. Majalah Farmasi Airlangga. Diakses tanggal 15 November 2007, dari <http://www.journal.unair.ac.id/login/jurnal/filer/MFA-3-1-08.pdf>
 12. Lachman, J., D. Pronek, et al. (2003). *Total polyphenol and main flavonoid antioxidants in different onion (Allium cepa L.) varieties*. Youth and Sports of the Czech Republic. Diakses tanggal 16 November 2007, dari http://www.cazv.cz/2003/HS4_03/4-Lachman.pdf
 13. *Reactive Oxygen Species*. (2007). Wikipedia the Free Encyclopedia. Diakses tanggal 15 November 2007, dari http://en.wikipedia.org/wiki/Reactive_oxygen_species
 14. Chauhan, Gaurav. (2003). *Phenoxy Radical: Flavonoids*. University of Iowa. Diakses tanggal 16 November 2007, dari <http://www.healthcare.uiowa.edu/corefacilities/esr/education/2003/1/ChauhanG-paper-1.pdf>
-