

Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale*) dalam Reduksi Kadar IL-6 dan Peningkatan Kadar SOD pada Mencit Fibrosis Hepar yang Diinduksi CCl₄

*The Effect of Cashew Leaves Extract (*Anacardium occidentale*) to IL-6 and SOD Levels in Mice with Liver Fibrosis induced by CCl₄*

Mariana Ruth Theresia Hutabarat^{1*}, Fithria Nisa Hanifah², Siti Hadijah³,
Djoko Winarso⁴, Sri Murwani⁵

¹Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang

²Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya

³Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya

⁴Departemen Peternakan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang

⁵Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang

*Email: marianaruth.hutabarat@gmail.com

Naskah diterima: 28 Agustus 2019, direvisi: 23 November 2019, disetujui: 30 Desember 2019

Abstract

Liver fibrosis is the excessive accumulation of extracellular matrix. The prevalence of liver fibrosis in small animal was reported by 10% of all systemic diseases occurred in the United States. One of the toxic materials that cause liver fibrosis is carbon tetrachloride (CCl₄). This study aims to determine the preventive effect of ethanol extract of leaves of cashew (*Anacardium occidentale*) against the production of Interleukin-6 (IL-6) and increase the levels of superoxide dismutase (SOD). Leaves cashew contain of flavonoids which have anti-inflammatory and antioxidant effects. This research is an experimental study, post-test control only design using a completely randomized design. Mice (*Mus musculus*) were divided into 5 groups, namely the negative control group, positive control group, preventive group dose of 500 mg/kg BW, 1000 mg/kg BW, and 1500 mg/kg BW. Interleukin-6 production is calculated using flowcytometry, while SOD was measured using spectrophotometer. Data were statistically analyzed within one way ANOVA ($\alpha=0.05$) with advanced test Post Hoc Tukey. Conclusions from this research that the preventive use of ethanol extract of leaves of cashew to prevent an increase of IL-6 production and increasing the levels of SOD in mice models of liver fibrosis. Production of IL-6 in group of 1500 mg/kg BW is 2.58%. SOD levels in group of 1500 mg/kg BW is 4.23%.

Key words: Carbon tetrachloride; cashew leaves; IL-6; liver fibrosis; SOD

Abstrak

Fibrosis hepar merupakan akumulasi berlebih pada matriks ekstraseluler di hepar. Prevalensi fibrosis hepar hewan kecil dilaporkan mencapai 10% dari keseluruhan penyakit sistemik hewan kecil di Amerika Serikat. Salah satu bahan toksik yang menimbulkan fibrosis hepar adalah karbon tetraklorid (CCl₄). Daun jambu mete mengandung bahan aktif flavonoid yang memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh preventif ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) terhadap produksi Interleukin-6 (IL-6) dan kadar *superoxide dismutase* (SOD) pada mencit yang diinduksi dengan CCl₄. Penelitian ini merupakan studi eksperimental, *post-test control only design* dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Hewan coba mencit (*Mus musculus*) dibagi dalam 5 kelompok perlakuan, yaitu

kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok preventif dengan dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB, dan 1500 mg/kg BB. Pemberian ekstrak etanol daun jambu mete dilakukan secara per oral dengan menggunakan sonde setiap hari mulai hari ke 8 sampai hari ke 21. Induksi CCl_4 dilakukan satu kali dalam sehari secara intraperitoneal (i.p) dengan dosis 2 ml/kg BB dengan volume pemberian 0,05 ml/ekor pada hari ke 22-34. Produksi sitokin IL-6 dihitung menggunakan metode *flowcytometry*, sedangkan kadar SOD diukur menggunakan spektrofotometri. Data hasil uji dianalisa secara statistik *one way ANOVA* ($\alpha=0,05$) dengan uji lanjutan *Post Hoc Tukey*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jambu mete dapat meningkatkan persentase produksi IL-6 pada dosis 500 mg/kg BB adalah 3,56%, dosis 1000 mg/kg BB adalah 2,69% dan pada dosis 1500 mg/kg BB adalah 2,58%. Pemberian ekstrak etanol daun jambu mete dengan dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB dan 1500 mg/kg BB menunjukkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas enzim SOD sebesar 3,59%, 4,19% dan 4,23%. Simpulan dari penelitian ini yaitu preventif menggunakan ekstrak etanol daun jambu mete mencegah peningkatan produksi IL-6 dan meningkatkan kadar SOD pada mencit model fibrosis hati. Persentase produksi IL-6 pada kelompok perlakuan dosis 1500 mg/kg BB sebesar 2,58%. Kadar SOD pada kelompok perlakuan dosis 1500 mg/kg BB sebesar 4,23%.

Kata kunci: karbon tetraklorid; daun jambu mete; fibrosis hati; IL-6; SOD

Pendahuluan

Hepar merupakan pusat dari metabolisme tubuh yang berperan dalam proses detoksifikasi, metabolisme senyawa endogen, serta sekresi empedu (Pearce, 2012). Fibrosis hepar terjadi sebagai akibat dari kerusakan hepar kronik yang ditandai dengan akumulasi *extracellular matrix* (ECM). Akumulasi ECM mendistorsi struktur hati dengan membentuk jaringan ikat yang menyebabkan disfungsi hepatoseluler dan meningkatkan tekanan *intrahepatic* sehingga menyebabkan hipertensi *portal hepatica* dan kelainan fungsi hepar (Lestari, 2008). Menurut Williams (2005), prevalensi dari penyakit hati pada hewan kecil termasuk fibrosis hati mencapai 10% dari keseluruhan kejadian penyakit sistemik pada hewan kecil di Amerika Serikat.

Fibrosis hepar yang disebabkan oleh penyakit hepar kronik, secara signifikan akan berdampak pada peningkatan radikal bebas. Hal ini ditandai dengan peningkatan kadar *reactive oxygen species* (ROS) dan produksi sel proinflamasi, salah satunya ialah Interleukin-6 (IL-6). Peningkatan ROS mengakibatkan peningkatan sintesis antioksidan endogen yakni *superoxide dismutase* (SOD) (Liedtke *et al.*, 2013).

Tanaman obat keluarga atau disebut dengan toga merupakan berbagai jenis tanaman yang memiliki nilai manfaat. Salah satu contoh tanaman

obat di Indonesia yang sudah lama digunakan adalah jambu mete (*Anacardium occidentale*). Daun jambu mete mengandung bahan aktif flavonoid yang diketahui memiliki efek anti-inflamasi dan antioksidan (Pawar *et al.*, 2000).

Pucuk mete diketahui memiliki kadar air sebesar 78.12%. Berdasarkan hasil analisis total flavonol (Hardianzah, 2009), diketahui bahwa kandungan flavonol pada pucuk mete memberikan hasil sebagai berikut, dari 100 g sampel segar mengandung 7.55 mg myricetin, 127.80 mg quercetin, dan 10.26 mg kaempferol dengan total 145.61 mg. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kandungan flavonol terbanyak pada daun jambu mete adalah jenis *quercetin*. Daun jambu mete memiliki total jumlah flavonoid yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan tanaman lain yakni daun kelor, pucuk mengkudu, bunga papaya, pakis, antanan beurit, daun labu siam, lembayung, mangkokan putih, takokak, kucai dan bunga turi.

Komponen flavonol dan flavones yang terdapat pada pucuk mete didominasi oleh *quercetin*. *Quercetin* mempunyai rumus kimia 3,3',4',5,7-*pentahydroxyflavone* dan dapat melebur pada suhu 316,5°C. *Quercetin* tidak larut dalam air dan eter, tetapi larut dalam alkohol dan aseton. *Quercetin* merupakan antioksidan yang paling kuat di antara senyawa polifenol. *Quercetin* berpotensi sebagai antivirus, antibakteri, anti kanker dan anti-inflamasi. *Quercetin* memperlihatkan kemampuan

dalam mencegah terjadinya peroksidase lemak (Hardianzah, 2009).

Ekstrak daun jambu mete mengandung zat aktif golongan flavonol dengan kandungan quercetin tertinggi dibanding flavonol lain. Flavonoid tersebut berpotensi sebagai antioksidan eksogen yang mendukung kerja dari antioksidan endogen. Pemberian ekstrak etanol daun jambu mete secara peroral akan berpengaruh pada peningkatan jumlah antioksidan dalam tubuh, sehingga radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh tidak dapat merusak sel radikal bebas akan bereaksi dengan antioksidan.

Pemberian ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) pada mencit sebelum induksi CCl_4 diharapkan mampu mencegah peningkatan produksi dari IL-6 serta kadar SOD. *Quercetin* yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jambu mete berperan dalam meredam efek radikal bebas yang berlebih dengan cara mendonasikan atom hidroksil. Reduksi radikal bebas maka akan menurunkan jumlah ROS sehingga kadar antioksidan endogen seperti SOD meningkat. Berkurangnya ROS berdampak pada penurunan peroksidase lipid sehingga kerusakan hati dapat dicegah, apabila tidak ada kerusakan hati maka reaksi inflamasi yang dimediasi oleh sitokin proinflamasi seperti IL-6 juga akan menurun.

Materi dan metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sonde, spuit 1 ml, *needle* 30 G, kandang hewan coba berupa bak plastik dengan tutup kandang dari kawat, seperangkat alat bedah berupa *scaple* dan *blade*, gunting, pinset, *glove*, masker, pot organ, klip plastik, *vacutainer*, tabung reaksi 15 ml, *ice box*, *ice pack* dan spektrofotometer Shimadzu *UV-visible spectrophotometer* UV-1601.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah hewan mencit (*Mus musculus*) jantan strain BALB/c umur delapan sampai sembilan minggu dengan berat badan antara 20–25 g, *Carbon tetrachlorida* (CCl_4), minyak jagung, daun jambu mete (*Anacardium occidentale*), etanol 70 %, alkohol 70%, akuades, CMC Na, paraffin, PBS, NaCl 0,9%.

Persiapan Hewan Coba

Mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Mus musculus* jantan strain BALB/c umur delapan sampai sembilan minggu dengan berat badan antara 20–25 g. Mencit diadaptasi untuk menyesuaikan kondisi laboratorium selama tujuh hari (Lamanepa, 2005). Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok dengan perulangan empat ekor pada setiap kelompok. Kelompok A adalah mencit tanpa perlakuan (kontrol negatif, sehat). Kelompok B adalah mencit yang diinduksi CCl_4 (kontrol positif, sakit). Kelompok C adalah mencit yang diinduksi CCl_4 dan ekstrak etanol daun jambu mete dengan dosis sebesar 500 mg/kg BB. Kelompok D adalah mencit yang diinduksi CCl_4 dan ekstrak etanol daun jambu mete dengan dosis sebesar 1000 mg/kg BB. Kelompok E adalah mencit yang diinduksi CCl_4 dan ekstrak etanol daun jambu mete dengan dosis sebesar 1500 mg/kg BB. Penggunaan hewan coba sudah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya No:513-KEP-UB.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jambu Mete

Prosedur pembuatan ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) menggunakan metode maserasi. Proses Ekstraksi menggunakan etanol 70%, hal tersebut dikarenakan zat aktif seperti flavonoid yang terkandung didalam daun jambu mete terlarut dalam etanol. Etanol dengan nama lain etil alkohol merupakan pelarut yang sering digunakan dalam ekstraksi daun tanaman. Sebagian besar senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid larut didalam pelarut etanol. Daun jambu mete ditimbang sebanyak 70 g dan ditambahkan etanol sampai 3 L. Kemudian dilakukan penyaringan bahan dan evaporasi (Thangavel *et al.*, 2011).

Induksi Terapi Ekstrak Etanol Daun Jambu Mete

Metode pemberian ekstrak etanol daun jambu mete dilakukan secara per oral dengan menggunakan sonde. Pemberian dilakukan setiap hari pada hari ke 8 sampai hari ke 21. Pemberian ekstrak etanol daun jambu mete dengan menggunakan 3 dosis yang sudah ditentukan, yaitu kelompok C menggunakan dosis 500 mg/kg BB, kelompok D menggunakan dosis 1000 mg/

kg BB, dan kelompok E menggunakan dosis 1500 mg/kg BB (Landim *et al.*, 2009).

Pembuatan Hewan Coba Model Fibrosis Hati

Metode pembuatan hewan model fibrosis hati menggunakan CCl_4 yang dilarutkan ke dalam minyak jagung, kemudian diinduksi CCl_4 secara intraperitoneal (i.p). Dosis yang digunakan adalah 2 ml/kg BB dengan volume pemberian adalah 0,05 ml per ekor untuk semua kelompok perlakuan kecuali kelompok kontrol positif (B). Mencit diinduksikan CCl_4 sebanyak satu kali sehari selama 12 hari sesuai dengan metode yang dilakukan Achmad, (2012), induksi CCl_4 dilakukan pada hari ke-22 sampai dengan hari ke-34.

Preparasi Sampel

Pengambilan organ limpa dan hepar pada hewan coba mencit (*Mus musculus*) dilakukan pada hari ke-29 setelah keseluruhan perlakuan selesai. Langkah awal dalam pengambilan sampel organ adalah dengan dislokasi hewan coba pada bagian leher kemudian dilakukan nekropsi. Tahap nekropsi dilakukan mulai bagian abdomen hingga ke thorax, mencit direbahkan pada papan pembedahan untuk diambil organ limpa dan hepar. Organ limpa mula-mula dibilas dengan NaCl-fisiologis 0,9% dingin kemudian sampel direndam dalam pot organ berisi *Phosphate Buffer Saline*. Organ hati mula-mula dibilas dengan NaCl-fisiologis 0,9% dingin kemudian hati ditempatkan pada pot organ.

Pengukuran Produksi IL-6 dengan Metode Flowcytometry

Sampel Organ limpa seberat 1 gram selanjutnya disentrifus dan ditambahkan PBS 1 mL, kemudian dihomogenkan dengan cara pipetting. 100 μl sampel yang telah homogen diambil dan ditambahkan 500 μl PBS. Tahap selanjutnya sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit dalam suhu 4°C. Hasil dari sentrifugasi diambil bagian pelet kemudian ditambahkan *antibodi cell surface molecule* yang digunakan untuk staining molekul permukaan sel (GR-1) sebanyak 50 μl . Sampel kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam suhu 4°C. Tahap selanjutnya penambahan 100 μl *cytofix cytoperm*, kemudian diinkubasi selama

20 menit dengan suhu 4°C 1 ml washperm ditambahkan dan disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit dalam suhu 4°C. Pelet hasil sentrifugasi ditambahkan IL-6 sebanyak 50 μl , kemudian ditambahkan 300 μl PBS, lalu dimasukkan ke dalam kuvet *flowcytometry* untuk dilakukan pengukuran IL 6 menggunakan metode flowcytometri sesuai metode yang digunakan Rantam, (2003).

Pengukuran Kadar SOD Menggunakan Spektrofotometer

Analisis enzim SOD dilakukan menggunakan spektrofotometer *Shimadzu UV-visible spectrophotometer* UV-1601. Organ hepar digerus kemudian dilarutkan dalam cairan NaCl fisiologis untuk analisis aktivitas enzim SOD. Prinsip dari spektrofotometer *UV-visible* adalah penyerapan cahaya oleh molekul-molekul. Nilai absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum (580 nm) (Pradana dkk., 2014).

Analisa Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan analisa kuantitatif statistik *One Way ANOVA* terhadap jumlah dari sel granulosit yang memproduksi IL-6 dan total jumlah enzim SOD pada sampel. Data dianalisis secara kuantitatif dengan analisis statistika *one way ANOVA* menggunakan aplikasi *SPSS for Windows 16* dan dilanjutkan dengan uji Tukey dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) (Kusriningrum, 2012).

Hasil dan pembahasan

Kadar Interleukin 6 (IL-6)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) yang dilakukan sebelum pemaparan CCl_4 pada mencit (*Mus musculus*) memiliki efek preventif sebagai antiinflamasi. Hasil analisis *flowcytometry* menggunakan organ limpa menunjukkan produksi IL-6 meningkat pada kelompok kontrol

Jumlah sel granulosit pada kelompok kontrol positif adalah 3,2%, sedangkan jumlah sel granulosit pada kelompok kontrol negatif adalah

2,51%. Persentase jumlah sel granulosit menurun seiring dengan peningkatan dosis ekstrak etanol daun jambu mete seperti terlampir pada Tabel 1. Persentase produksi IL-6 pada dosis 500 mg/kg BB adalah 3,56%, dosis 1000 mg/kg BB adalah 2,69% dan pada dosis 1500 mg/kg BB adalah 2,58%.

Tabel 1. Presentase produksi Interleukin 6 (IL – 6) pada mencit kelompok kontrol dan perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rata-rata persentase IL-6
Kontrol negatif	2,5100 ± 0,08286 ^a
Kontrol positif	3,2000 ± 0,05715 ^b
Dosis 500 mg/kg BB	3,5650 ± 0,09327 ^c
Dosis 1000 mg/kg BB	2,6900 ± 0,14071 ^a
Dosis 1500 mg/kg BB	2,5875 ± 0,42554 ^a

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Menurut Tabel 1 terdapat perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$) produksi IL-6 pada kelompok kontrol positif lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Pada Tabel 1 dapat dilihat adanya peningkatan kadar IL-6 pada kontrol positif dibandingkan dengan kontrol negatif. Peningkatan respon inflamasi berdampak pada produksi IL-6 secara berlebih. Peningkatan kadar IL-6 berkorelasi dengan aktivasi *Acute Phase Protein* (APP) dan akumulasi ECM pada jaringan hati (Abbas et al., 2007).

Interleukin 6 adalah sitokin proinflamasi yang memediasi terjadinya peradangan. Sitokin IL-6 disintesis oleh sel granulosit, sel *mononuclear*, sel endotel vaskuler, fibroblas, serta beberapa sitokin lain seperti TNF- α dan IL-1. Ketika produksi IL-6 meningkat, maka hal ini akan berdampak pada sintesis APP dan aktivasi faktor pertumbuhan fibroblas. Salah satu APP yang berperan adalah *alpha-1-acid glycoprotein*. Infeksi pada hepar yang bersifat kronis akan menimbulkan produksi IL-6 secara terus menerus sehingga produksi APP meningkat. Peran *alpha-1-acid glycoprotein* ialah meningkatkan interaksi kolagen dan juga faktor pertumbuhan fibroblas. Fibrosis hati disebabkan oleh peningkatan produksi kolagen, yang dimediasi oleh *alpha-1-acid glycoprotein* dan sitokin IL-6 (Sander et al., 2010).

Perbedaan kadar produksi sitokin tersebut diperkuat dengan pendapat oleh Elenkov dan Chrousos (2002) yang menyatakan bahwa sitokin

merupakan sinyal penting yang dihasilkan oleh sel-sel tubuh untuk mengaktifkan kerja sel lain, sehingga jenis dari sitokin yang disekresikan oleh sel akan memberikan efek pada sel targetnya. Sitokin tersebut dapat beraksi secara *autocrine* sehingga mempengaruhi lingkungan pada sel yang melepaskannya, atau secara *paracrine* yang berpengaruh terhadap sel lain di sekitarnya. Beberapa sitokin juga dapat beraksi secara *endocrine* yang berpengaruh terhadap lingkungan sel di sekitarnya meskipun kemampuannya tergantung saat memasuki sirkulasi maupun waktu paruhnya (*half-life*). Sel granulosit memiliki kemampuan mensekresikan beberapa sitokin sebagai respons terhadap zat toksik antara lain interleukin 1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin 12 (IL-12), *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) dan kemokin IL-8 (Handajani dkk., 2015).

Ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) dapat terbukti sebagai preventif fibrosis karena mampu menghambat produksi IL-6 yang ditandai dengan adanya jumlah produksi IL-6 yang lebih rendah dan berbeda signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok kontrol positif (diinduksi CCl₄). Hal ini sesuai dengan pendapat Ardianzah (2009) bahwa ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) memiliki kandungan zat aktif berupa flavonoid yang berperan sebagai antiinflamasi.

Flavonoid berperan sebagai antiinflamasi terhadap kondisi sel hepatosit yang mengalami stres oksidatif. Flavonoid bekerja dengan cara menghambat akumulasi leukosit di situs inflamasi, mengurangi aktivasi komplemen sehingga menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan secara langsung terjadi penurunan respon inflamasi tubuh. Fungsi flavonoid sebagai antiinflamasi bekerja dengan cara menghambat pelepasan mediator inflamasi (Abdelmoaty et al., 2010).

Jumlah IL-6 pada kelompok perlakuan 3 (Dosis 1500 mg/kg BB) lebih rendah apabila dibandingkan kelompok kontrol positif. Jumlah produksi IL-6 yang rendah terjadi pada kelompok preventif dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB dan 1500 mg/kg BB yang memberikan efek antiinflamasi secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok kontrol positif. Kelompok P3 yang diberi ekstrak etanol daun jambu mete

dengan dosis 1500 mg/kg BB menunjukkan bahwa dosis yang dipakai adalah dosis paling baik ditandai dengan jumlah produksi IL-6 yang rendah. Hasil deteksi jumlah sel yang memproduksi IL-6 pada kelompok P3 menunjukkan hasil yang paling baik ditandai dengan jumlah IL-6 yang rendah dan mendekati kontrol negatif.

Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) yang dilakukan sebelum pemaparan CCl_4 pada mencit (*Mus musculus*) memiliki efek preventif sebagai antioksidan. Hasil analisis menggunakan spektrofotometer menunjukkan kadar SOD pada kelompok kontrol positif (sakit) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (sehat). Pada kontrol positif kadar SOD mencapai 3,38%, sedangkan kadar SOD pada kelompok kontrol negatif 4,855%. Persentase jumlah sel granulosit meningkat seiring dengan peningkatan dosis ekstrak etanol daun jambu mete seperti terlampir pada tabel 2 di bawah ini

Tabel 2. Hasil pengukuran Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada mencit kelompok control dan kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Persentase SOD
Kontrol negatif	4,8550 ± 0,07188 ^d
Kontrol positif	3,3800 ± 0,03162 ^a
Dosis 500 mg/kg BB	3,5900 ± 0,07831 ^b
Dosis 1000 mg/kg BB	4,1950 ± 0,03109 ^c
Dosis 1500 mg/kg BB	4,2325 ± 0,04645 ^c

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan

Menurut Tabel 2 terdapat perbedaan kadar SOD secara signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Pemberian ekstrak etanol daun jambu mete dengan dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB dan 1500 mg/kg BB menunjukkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas enzim SOD sebesar 3,59%, 4,19% dan 4,23%. Peningkatan aktivitas SOD dikarenakan adanya antioksidan di dalam ekstrak etanol daun jambu mete. Hal ini sesuai dengan penelitian Thangavel, *et al.*, (2011), kandungan flavonoid pada daun jambu mete memiliki senyawa antioksidan seperti flavonoid yang diketahui dapat meningkatkan enzim antioksidan endogen seperti *Superoxide dismutase*

(SOD).

Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antioksidan bisa secara langsung maupun tidak langsung. Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung adalah menghambat proses oksidasi melalui penghambatan inisiasi dan propagasi reaksi oksidasi dari radikal bebas. Antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jambu mete yaitu flavonoid menyumbangkan atom hidrogen untuk menangkap radikal hidroksil (OH^\cdot) agar tidak menjadi reaktif sehingga mencegah terbentuknya radikal bebas. Flavonoid bekerja melalui penangkapan dan menghilangkan O^\cdot pada peroksida nitrit (ONOO^\cdot) yang terbentuk dari nitrit oksida (NO) dengan superoksida (O_2^\cdot) yang bersifat radikal bebas (Moller *et al.*, 1996).

Kandungan antioksidan ekstrak etanol daun jambu mete menghambat proses inisiasi sehingga dapat mencegah pembentukan radikal lipid yang bersifat tidak stabil karena hilangnya satu atom hidrogen (H) dari molekul lipid akibat radikal hidroksil (OH^\cdot). Flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung yaitu dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme. Salah satu mekanisme peningkatan ekspresi gen antioksidan adalah melalui aktivasi *nuclear related factor 2* (Nrf2) sehingga terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen seperti gen *Superoxide dismutase* (SOD) (Sumardika dan Jawi, 2012).

Antioksidan SOD mengkatalis dismutasi anion O_2^\cdot yang merupakan oksigen reaktif menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2) di dalam mitokondria. Enzim SOD merupakan antioksidan endogen yang bersifat enzimatis namun terdapat antioksidan eksogen yang bersifat non enzimatis. Kerjasama antara antioksidan tersebut menyebabkan oksidan yang berada di dalam tubuh dapat dipertahankan konsentrasinya dalam tingkat yang dapat diterima sehingga tidak sampai menimbulkan reaksi inflamasi. Enzim SOD memiliki peran penting dalam pencegahan reaksi oksidatif pada penderita fibrosis hati karena dapat mencegah terbentuknya radikal bebas (Halliwell and Gutteridge, 2006).

Hasil penelitian pada kelompok perlakuan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) dosis 1500 mg/

kg BB dapat berperan sebagai antioksidan karena menimbulkan efek yang paling mendekati kontrol negatif. Menurut Valko *et al.*, (2007), flavonoid terdiri dari quercetin, kaempferol dan myricetin yang dapat meningkatkan aktivitas dan produksi SOD.

Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) dengan dosis 1500 mg/kg BB dapat digunakan sebagai preventif fibrosis hepar karena dapat menghambat produksi IL-6 dan meningkatkan kadar SOD pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi CCl_4

Daftar pustaka

- Abbas, A.K., Lichthman, A.H., Pillai, S. 2007. *Cellular And Molecular Immunology*. International Edition, 6th Edition. Saunders Elsevier, USA. 19-39, 262.
- Abdelmoaty, M.A., Ibrahim, M.A., Ahmed, N.S., Abdelaziz, M.A. 2010. Confirmatory Studies on the Antioxidant and Antidiabetic Effect of Quercetin in Rats. *Journal of Science*: 25(2):188- 192. DOI: 10.1007/s12291-010-0034-x.
- Achmad, A. 2012. Uji Bioaktivitas Losartan Terhadap Jaringan Fibrosis Hati Tikus yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl_4). Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan.
- Elenkov, I.J and G.P. 2002. Stress Hormones, Proinflammatory and Antiinflammatory Cytokine and Autoimmunity. *Annals of the New York Academy of Science*: 966:290-303.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 2006. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd Edition. London: Oxford University Press.
- Hardianzah, R. 2009. *Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Sayuran Indigenous Jawa Barat* [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor
- Lamanepa, M. E. L., 2005. *Perbandingan Profil Lipid dan Perkembangan Lesi Aterosklerosis pada Tikus Wistar yang Diberi Diet Perasan Pare dengan Diet Perasan Pare dan Statin*. Tesis. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Landim, F., Robert, K., Michael, W., and Edruard S.U. 2009. Evaluation of The Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of The Acetone Extract from *Anacardium occidentale* L. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*: 45(3) 438-441.
- Lestari D., 2008. *Efek Protektif dari Lecitin Terhadap Hepatotoksisitas Akibat Induksi Karbon Tertraklorida pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Tesis. GDLHUB.
- Liedtke, C., Leudde, T., Tacke, F., Streetz, K., Trebicka, J., and Tolba, R. 2013. Experimental Liver Fibrosis Research: Update on Animal Models, Legal Tissue and Translational Aspects: Fibrogenesis and Tissue Repair. *Biomed Central*, 6:19.
- Moller P., Wallin H., and Knudsen L. 1996. Oxidative stress asociated with exercise, pshychological stress and lifestyle factors. *Chem Biol Interact*: 120:17-36.
- Pawar, S.P., Metkar, S.D., and Sathwane, P.N. 2000. Anti-inflammatory and Analgesic Acitivity of *Anacardium Occidentale* Leaf Extract. *Ancient Science of Life*: 19(34): 169-173.
- Pearce, E. C. 2012. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Pradana, B.W., Murwani S., dan Winarso, D. 2014. *Efek Prevensi Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air (Marsilea crenata) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) pada Tikus Putih (Rattus novergicus)*. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Rantam, F. A. 2003. *Metode Immunologi*. Surabaya, Airlangga University Press. 3-5. 22-23, 30-31.
- Sander, L.E., Sackett, S.D., Dierssen, U., Beraza, N., Linke, R.P., Muller, M., Blander, M., Tacke, F., and Trautwein C. 2010. *Hepatic Acute-phase Proteins Control Innate Immune Responses During Infection by*

- Promoting Myeloid-derived Suppressor Cell Function.* //jem.rupress.org, [January 24, 2016].
- Sumardika, I.W. dan Jawi, I.M. 2012. Ekstrak Air Daun Ubi Jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol. *Medicina*: 43 : 67-71.
- Thangavel, K., Kalaichelva, P., and Arul, D. 2011. Antioxidant and Antimicrobial Activity Using Different Extracts Of *Anacardium Occidentale*. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*: 17(2) Issue-3:436-443.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Review: Free Radicals And Antioxidants In Normal Physiological Functions And Human Disease. *Inter J Biochem Cell Biol.* 39:44-84.
- Williams, D.A., Center S., Nicola, D., and Poteet, B. 2005. *Roundtable Discussion: Diagnosing Liver Disease.* IDEXX Laboratories