

Jakarta, 6 September 2021

Nomor : 019-Perpus/217/FK-UNTAR/IX/2021
Lampiran : 1 hal.
Perihal : Tanda Terima Laporan Penelitian dr. Triyana Sari, M.Biomed.

Kepada Yth.,

Pt. DEKAN
Fakultas Kedokteran
UNTAR

TANDA TERIMA

Telah kami terima: 1 (satu) Karya Ilmiah / Penelitian


Judul: "GAMBARAN AKTIVITAS SPESIFIK ENZIM KATALASE PARU DAN DARAH TIKUS SPRAGUE DAWLEY YANG DIBERIKAN AIR REBUSAN JAMUR AURICULARIA POLYTRICHA DOSIS ENCIER DAN KENTAL KEMUDIAN DIINDUKSI HIPOKSIA"

Oleh: dr. Triyana Sari, M.Biomed.

Hormat Saya,
Ka. UPT Tk. II Perpustakaan FK UNTAR



Ambar Pratiwi S. Hum.
NIK: 20406001



VALIDASI
Jakarta, 6 September 2021
DR.dr. Noer Saclan Tadjudin, Sp.KJ
(PH. Dekan FK Universitas Tarumanagara)

Tembusan

1. Bagian Personalia
2. dr. Triyana Sari, M.Biomed.

LAPORAN PENELITIAN



Judul Penelitian:

**GAMBARAN AKTIVITAS SPESIFIK ENZIM KATALASE
PARU DAN DARAH TIKUS SPRAGUE DAWLEY YANG
DIBERIKAN AIR REBUSAN JAMUR AURICULARIA
POLYTRICHA DOSIS EN CER DAN KENTAL KEMUDIAN
DIINDUKSI HIPOKSIA**

Oleh:

dr. Triyana Sari, M.Biomed.

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA**

2021

GAMBARAN AKTIVITAS SPESIFIK ENZIM KATALASE PARU DAN DARAH TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIBERIKAN AIR REBUSAN JAMUR *AURICULARIA POLYTRICHA* DOSIS EN CER DAN KENTAL KEMUDIAN DIINDUKSI HIPOKSIA

Triyana Sari

Bagian Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara

ABSTRACT

The lungs are organs that have an important role in controlling oxygen levels in the body. When there is a disturbance in the function of the lungs, there will be a decrease in oxygen levels in the body which can lead to hypoxia. When there is hypoxia in a cell, there will be an increase in oxidative stress. The state of oxidative stress can be prevented by being given an antioxidant that comes from the body such as catalase or from outside the body. One of the antioxidants that comes from outside the body is Auricularia polytricha. This study was conducted to see the description of the administration of thick and dilute doses of Auricularia polytricha stew to the specific activity of the catalase enzyme in the lungs and blood of Sprague Dawley rats after systemic hypoxia was induced. A total of 28 Sprague Dawley rats were divided into 7 groups with 3 different treatments given Auricularia polytricha stew using the Mates method. The results showed a decrease in the specific activity of lung and blood catalase when compared to the control (ANOVA, $p < 0.05$). There was a positive correlation between the specific activity of lung and blood catalase in rats (Pearson, $p < 0.05$). Therefore, it can be concluded that the antioxidant activity of the fungus Auricularia polytricha can help endogenous antioxidant activity thereby inhibiting the occurrence of oxidative stress.

Keywords: Auricularia polytricha, Catalase, Hypoxia

ABSTRAK

Paru-paru merupakan organ yang memiliki peranan penting dalam mengendalikan kadar oksigen di dalam tubuh, Saat terjadi suatu gangguan pada fungsi dari paru-paru, akan terjadi penurunan kadar oksigen dalam tubuh yang dapat mengakibatkan terjadinya hipoksia. Ketika terjadi hipoksia pada suatu sel, maka akan terjadi peningkatan stres oksidatif. Keadaan stres oksidatif tersebut dapat dicegah dengan diberikan suatu antioksidan yang berasal dari tubuh seperti katalase maupun dari luar tubuh. Salah satu antioksidan yang berasal dari luar tubuh adalah jamur *Auricularia polytricha*. Penelitian ini dilakukan untuk melihat gambaran diberikannya air rebusan jamur *Auricularia polytricha* dosis kental dan encer terhadap aktivitas spesifik enzim katalase pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* setelah diinduksi hipoksia sistemik. Sebanyak 28 ekor tikus *Sprague Dawley* dibagi ke dalam 7 kelompok dengan 3 perlakuan yang berbeda dengan diberikan ekstrak dari rebusan jamur *Auricularia polytricha* dengan dilakukan uji metode Mates. Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan aktivitas spesifik katalase paru dan darah jika dibandingkan dengan kontrol (ANOVA, $p < 0,05$). Terdapat korelasi positif antara aktivitas spesifik katalase paru dan darah tikus (Pearson, $p < 0,05$). Maka dari itu dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan jamur *Auricularia polytricha* dapat membantu aktivitas antioksidan endogen sehingga menghambat terjadinya stres oksidatif.

Kata kunci : *Auricularia polytricha*, Katalase, Hipoksia

PENDAHULUAN

Oksigen yang merupakan senyawa yang memiliki peranan sangat penting bagi tubuh dalam memastikan terjadinya metabolisme di dalam tubuh.¹ Jika ada suatu sel yang tidak mendapatkan oksigen sesuai dengan kebutuhannya, maka akan terjadi suatu gangguan pada proses metabolisme yang dikenal sebagai hipoksia. Hipoksia dapat menyebabkan terjadinya kerusakan maupun kematian pada suatu sel. Saat terjadi kerusakan pada suatu sel, maka akan terjadi peningkatan dari kadar *reactive oxygen species* (ROS) di dalam tubuh.^{2,3} Terjadinya peningkatan ROS yang berlangsung terus menerus akan memicu stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan keadaan ketidakseimbangan antara oksidan maupun antioksidan. Keadaan ini sendiri dapat menyebabkan kerusakan, baik pada suatu sel, meningkat menjadi jaringan, hingga suatu organ.⁴ Organ yang paling cepat menunjukkan dampak dari gangguan oksigen adalah paru. Paru merupakan organ yang berperan penting dalam proses pengambilan dan pertukaran oksigen. Apabila paru mengalami suatu kerusakan, maka akan terjadi gangguan pertukaran oksigen dan karbondioksida antara lingkungan luar dan darah. Gangguan tersebut akan menyebabkan keadaan hipoksia semakin bertambah berat sehingga menyebabkan kerusakan pada organ paru itu sendiri.⁵

Upaya untuk mencegah terjadinya kerusakan tersebut, maka tubuh memerlukan antioksidan agar ROS yang berada di dalam tubuh tidak berikatan dengan berbagai molekul yang ada. Antioksidan memiliki peranan dalam menghambat dan mencegah terbentuknya radikal bebas akibat oksidasi. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat berasal dari endogen maupun eksogen.^{3,6} Antioksidan endogen merupakan antioksidan yang berasal dari dalam

tubuh, dengan salah satu contohnya adalah enzim katalase. Enzim katalase adalah suatu antioksidan yang berperan dalam mengkatalisis H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Selain dari antioksidan endogen, terdapat antioksidan eksogen yang salah satunya adalah jamur *Auricularia polytricha*.⁷ Berdasarkan penelitian yang dilakukan Packialakshmi dkk, jamur *Auricularia polytricha* dipercaya merupakan antioksidan alami sehingga dapat mengurangi kadar stres oksidatif.⁸ Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk melihat gambaran pengaruh dari pemberian air rebusan jamur *Auricularia polytricha* dosis kental dan encer dan diinduksi hipoksia, dengan melihat kadar aktivitas spesifik enzim katalase pada organ paru dan darah tikus *Sprague Dawley*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental dengan menggunakan 28 ekor tikus *Sprague Dawley* yang telah memenuhi kriteria inklusi. Tikus *Sprague Dawley* tersebut dibagi ke dalam 7 kelompok, yaitu P1 kelompok kontrol negatif, P2-P4 kelompok kontrol positif, P4-P5 kelompok hipoksia 1 hari dan P6-P7 kelompok hipoksia 3 hari. Hipoksia dilakukan dengan pemberian campuran gas oksigen 8% dan nitrogen 92%.

Jamur *Auricularia polytricha* ditimbang sebanyak 75 gram yang kemudian dicuci hingga bersih dan direndam dengan air hingga kenyal. Setiap jamur *Auricularia polytricha* tersebut ditiriskan dan dipotong kecil-kecil. Dipersiapkan *slow cooker* yang dengan dimasukkan air sebanyak 1,3 liter dan dipanaskan selama 2 menit. Kemudian jamur *Auricularia polytricha* dimasukkan dan dimasak selama 4 jam di dalam *slow cooker*. Sebanyak 500 mL air rebusan jamur dibagi ke dalam 2 kelompok, yaitu kelompok cairan kental dengan masing-masing 1 mL hasil rebusan jamur *Auricularia polytricha* dan kelompok cair dengan 0,6 mL hasil rebusan jamur *Auricularia polytricha* yang ditambahkan 0,4 mL air.

Jaringan paru dibuat menjadi homogenat dan darah dibuat menjadi lisat 50%. Ditentukan waktu dan pengenceran optimal pada masing-masing sampel yang berasal dari paru maupun darah. Pengukuran aktivitas spesifik enzim katalase dilakukan dengan metode Mates. Cairan blanko dibuat dari campuran 50 μL PBS 50 mM pH7 dengan 950 μL H_2O_2 , sedangkan larutan uji dibuat dari campuran sampel darah maupun organ paru tikus sebanyak 50 μL yang ditambahkan 950 μL H_2O_2 . Sampel tersebut diukur dengan spektrofotometer untuk memastikan panjang gelombang 210 nm dari tiap menit untuk memastikan

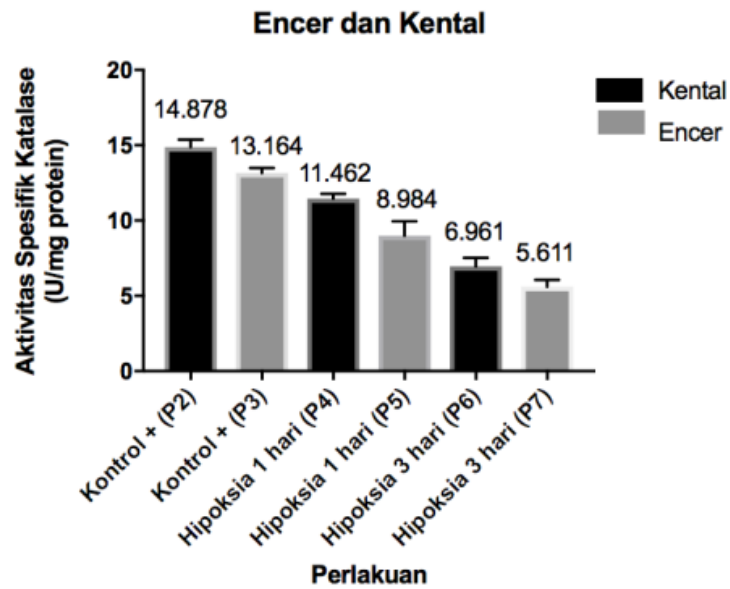
pembacaan absorbansinya. Setelah absorbansi kedua larutan didapatkan, maka dilakukan perhitungan untuk mengukur aktivitas katalase.

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini didapatkan bahwa terjadi penurunan pada aktivitas spesifik katalase organ paru pada kelompok kontrol positif dan hipoksia 1 hari, dan didapatkan kadar aktivitas yang lebih rendah pada kelompok hipoksia 3 hari, baik pada kelompok dosis kental maupun dosis encer. Hasil analisis satu arah ANOVA didapatkan adanya perbedaan aktivitas spesifik katalase organ paru yang signifikan pada semua kelompok ($p \text{ value} < 0,0001$). Analisis yang dilakukan dengan *Tukey's Multiple Comparison* diperoleh adanya peningkatan bermakna dari aktivitas spesifik katalase P1 jika dibandingkan dengan P2 ($p \text{ value} < 0,0001$). Berdasarkan perbandingan antara P2 dan P4, P2 dan P6, dan P4 dan P6, terjadi penurunan dari aktivitas enzim katalase yang bermakna ($p \text{ value} < 0,0001$). Berdasarkan analisis satu arah dengan ANOVA, diperoleh adanya perbedaan aktivitas spesifik enzim katalase antara kelompok negatif (P1) dengan kelompok yang diberikan air rebusan jamur dosis kental yang masing-masing diinduksi hipoksia selama 1 dan 3 hari ($p \text{ value} < 0,0001$). Hasil analisis menggunakan *Tukey's Multiple Comparison* diperoleh adanya aktivitas spesifik katalase yang meningkat secara signifikan antara kelompok P1 dengan kelompok P3 ($p \text{ value} < 0,0001$). Penurunan yang signifikan dari aktivitas spesifik katalase terjadi antara kelompok P3 dan P5, P3 dan P7, dan P5 dan P7 ($p \text{ value} < 0,0001$). (Gambar 1)

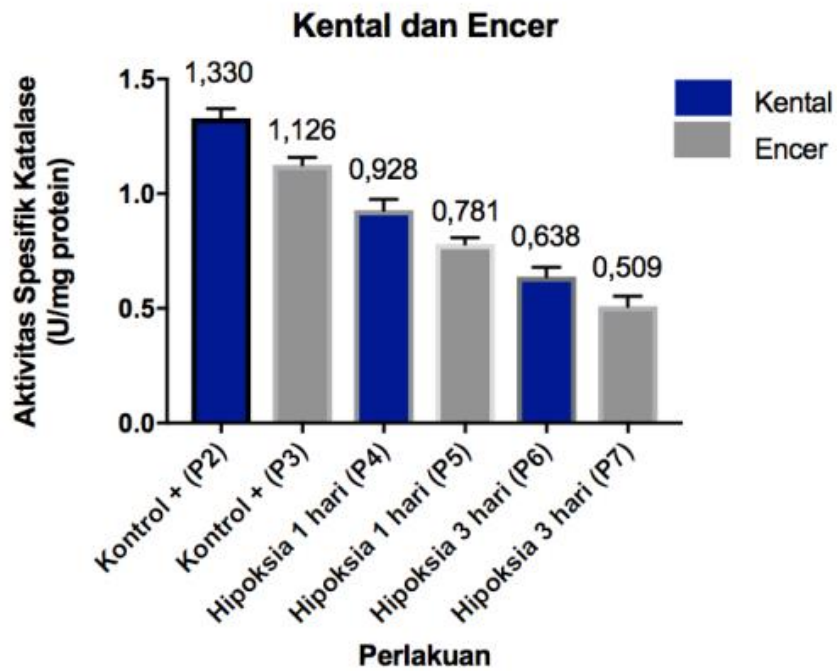
Pada aktivitas spesifik darah juga didapatkan adanya penurunan yang bermakna antara kelompok kontrol positif setelah diinduksi hipoksia selama 1 hari. Hasil tersebut semakin menurun pada kelompok yang diinduksi hipoksia selama 3 hari, baik pada kelompok dosis kental dan dosis encer. Hasil analisis satu arah menggunakan ANOVA didapatkan perbedaan yang bermakna antara

aktivitas spesifik katalase darah pada semua kelompok yang ada (p value $<0,0001$). Analisis dengan menggunakan *Tukey's Multiple Comparison* juga didapatkan peningkatan dari aktivitas spesifik katalase yang bermakna dari P1 dibandingkan P2 (p value $<0,0001$). Aktivitas spesifik katalase terjadi penurunan yang bermakna pada P2 dibandingkan P4, P2 dibandingkan P6, dan P4 dibandingkan P6 (p value $<0,0001$). Perbandingan antara kelompok dengan diberikan air rebusan jamur dosis kental dan dan diinduksi hipoksia baik selama 1 maupun 3 hari memiliki hasil yang signifikan dengan analisis ANOVA ($p < 0,0001$). Hasil analisis dengan *Tukey's Multiple Comparison* didapatkan adanya peningkatan aktivitas spesifik katalase yang signifikan antara kelompok P1 dan kelompok P3 (p value $< 0,0001$). Aktivitas spesifik katalase pada tiap kelompok yang dibandingkan, baik pada kelompok P3 dengan P5, P3 dengan P7, dan P5 dengan P7 menunjukkan adanya penurunan yang bermakna secara signifikan (p value $< 0,0001$). (Gambar 2)



Gambar Error! No text of specified style in document.1. Hasil Analisis

Aktivitas Spesifik Katalase Paru Tikus



Gambar 2. Hasil Analisis Aktivitas Spesifik Katalase Darah Tikus

DISKUSI

Aktivitas spesifik katalase pada paru dan darah terlihat setelah dilakukan induksi hipoksia sistemik selama 1 dan 3 hari. Terdapatnya hal tersebut dikarenakan hipoksia yang terjadi dapat menurunkan aktivitas spesifik dari enzim katalase. Hipoksia akan meningkatkan ROS sehingga memicu terjadinya stres oksidatif, yang salah satunya ditandai dengan meningkatnya jumlah oksidan.^{6,9} Hasil tersebut serupa dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Song, yang menyatakan bahwa hipoksia yang terjadi akan meningkatkan pembentukan ROS sebagai radikal bebas dan pada akhirnya ROS tersebut akan menyebabkan kerusakan, baik kerusakan sel, kerusakan mitokondria, inflamasi, hingga terjadi kematian sel.^{4,10} Berdasarkan penelitian Zainuri, didapatkan bahwa hipoksia yang terjadi dapat menurunkan aktivitas spesifik dari enzim katalase.¹¹ Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan yang menunjukkan adanya penurunan dari aktivitas enzim katalase baik pada darah maupun paru pada kelompok kontrol negatif.

Enzim katalase yang merupakan antioksidan endogen akan bertambah jumlahnya dan melakukan pengikatan dengan oksidan yang ada sehingga akan terjadi penurunan dari aktivitas spesifiknya.¹² Aktivitas dari enzim spesifik memperlihatkan adanya peningkatan apabila diberikan air rebusan dari jamur *Auricularia polytricha*. Hal tersebut terjadi dikarenakan antioksidan eksogen yang berasal dari jamur tersebut akan membantu meningkatkan antioksidan endogen dan bekerja sama secara sinergis antara satu sama lain.¹⁰ Sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan bahwa adanya peningkatan dari aktivitas

spesifik enzim katalase pada darah maupun paru pada kelompok yang diberikan air rebusan jamur *Auricularia polytricha*.⁷ Kadar aktivitas enzim katalase tertinggi tercatat pada kelompok yang diberikan air rebusan jamur *Auricularia polytricha* kental. Meningkatnya kadar antioksidan endogen ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Bouayed yang mengatakan bahwa antioksidan eksogen dapat berperan dalam peningkatan aktivitas spesifik endogen.¹² Berdasarkan penelitian Gonzalez-Flecha, peningkatan antioksidan endogen dapat melindungi mitokondria sel dari ROS sehingga tidak terjadi kerusakan sel dan kematian sel.¹³ Hal tersebut juga sejalan dengan hasil dari penelitian Murphy yang menyatakan bahwa antioksidan eksogen akan bekerja secara sinergis dengan antioksidan endogen.¹⁴

Pemberian kadar hasil rebusan jamur *Auricularia polytricha* berpengaruh terhadap aktivitas spesifik katalase. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan bahwa pada kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan air rebusan jamur merupakan kelompok dengan aktivitas spesifik enzim katalase yang terendah, yang kemudian mengalami peningkatan pada kelompok yang diberikan air rebusan encer. Maka dari itu, penelitian ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan Bouayed yang mengatakan bahwa antioksidan endogen akan berperan positif dalam meningkatkan antioksidan endogen.¹² Hal tersebut juga sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan Sun, yang telah menyatakan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan, maka akticitas antioksidannya akan semakin meningkat.¹⁵

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai aktivitas spesifik dari enzim katalase paru maupun darah tikus yang telah diinduksi hipoksia sistemik yang kemudian diberikan air rebusan jamur *Auricularia polytricha*, dapat disimpulkan bahwa aktivitas spesifik enzim katalase akan meningkat apabila diberikan air rebusan jamur *Auricularia polytricha*. Dosis pemberian air rebusan jamur *Auricularia polytricha* juga berpengaruh terhadap peningkatan aktivitas spesifik enzim katalase. Pemberian dengan dosis encer memiliki peningkatan yang tidak sebaik dengan pemberian dosis kental (*dose-dependent effect*).

DAFTAR PUSTAKA

1. Blokhina O, Fagerstedt K V. Oxidative metabolism, ROS and NO under oxygen deprivation. *Plant Physiol Biochem PPB* [Internet]. 2010 May;48(5):359–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20303775>
2. Coimbra-Costa D, Alva N, Duran M, Carbonell T, Rama R. Oxidative stress and apoptosis after acute respiratory hypoxia and reoxygenation in rat brain. *Redox Biol* [Internet]. 2017;12:216–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28259102>
3. Magalhães J, Ascensão A, Soares JMC, Neuparth MJ, Ferreira R, Oliveira J, et al. Acute and severe hypobaric hypoxia-induced muscle oxidative stress in mice: the role of glutathione against oxidative damage. *Eur J Appl Physiol* [Internet]. 2004 Mar;91(2–3):185–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14557885>
4. Gonchar O, Mankovska I. Moderate hypoxia/hyperoxia attenuates acute hypoxia-induced oxidative damage and improves antioxidant defense in lung mitochondria. *Acta Physiol Hung* [Internet]. 2012 Dec;99(4):436–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23238546>
5. Wang Y, Hai B, Ai L, Cao Y, Li R, Li H, et al. Tempol relieves lung injury in a rat model of chronic intermittent hypoxia via suppression of inflammation and oxidative stress. *Iran J Basic Med Sci* [Internet]. 2018 Dec;21(12):1238–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30627367>
6. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging* [Internet]. 2018;13:757–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29731617>
7. Teoh HL, Ahmad IS, Johari NMK, Aminudin N, Abdullah N. Antioxidant Properties and Yield of Wood Ear Mushroom, *Auricularia polytricha* (Agaricomycetes), Cultivated on Rubberwood Sawdust. *Int J Med Mushrooms* [Internet]. 2018;20(4):369–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29953397>
8. Balakrishnan P, Marimuthu, Charu A. Bioactive Constituents and Antioxidant Efficacy of *Auricularia Polytricha*. *Asian J Pharm Clin Res*. 2016;9(1):90–4.
9. Wigerup C, Pählman S, Bexell D. Therapeutic targeting of hypoxia and hypoxia-inducible factors in cancer. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2016;164:152–69. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27139518>

10. Song J, Yoon D, Christensen RD, Horvathova M, Thiagarajan P, Prchal JT. HIF-mediated increased ROS from reduced mitophagy and decreased catalase causes neocytolysis. *J Mol Med (Berl)* [Internet]. 2015 Aug;93(8):857–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26017143>
11. Zainuri M, SI W. Aktivitas Spesifik Manganese Superoxide Dismute (MsDOS) dan Katalase Pada Hati Tikus yang Dinduksi Hipoksia Sistemik Hubungannya Dengan Kerusakan Oksidatif. *Media Litbang Kesehatan*. 2012;22(2):87–32.
12. Bouayed J, Bohn T. Exogenous antioxidants--Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 3(4):228–37. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20972369>
13. González-Flecha B, Cutrin JC, Boveris A. Time course and mechanism of oxidative stress and tissue damage in rat liver subjected to in vivo ischemia-reperfusion. *J Clin Invest* [Internet]. 1993 Feb;91(2):456–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8432855>
14. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J* [Internet]. 2009 Jan 1;417(1):1–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19061483>
15. Sun Y-X, Liu J-C, Kennedy JF. Purification, composition analysis and antioxidant activity of different polysaccharide conjugates (APPs) from the fruiting bodies of *Auricularia polytricha*. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2010 Sep;82(2):299–304. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861710003371>