
PUNICA GRANATUM MENAIKKAN KADAR GLUTATHION PEROXYDASE PADA KULTUR HUVECs YANG DIPAPAR PLASMA PRE EKLAMPSI

Oleh

Januarsih¹, Fitria Jannatul Laili², Megawati³

^{1,2,3}Jurusan Kebidanan Poltekkes Kemenkes Banjarmasin

Email: ¹januarsih.januarsih@gmail.com

Article History:

Received: 21-09-2024

Revised: 05-10-2024

Accepted: 23-10-2024

Keywords:

Preeclampsia, Punica
Granatum, Gpx

Abstract: Preeclampsia and Eclampsia rank as the number one cause of maternal death in Indonesia. Preeclampsia is a syndrome associated with symptoms of vasospasm, increased peripheral vascular resistance and decreased organ perfusion. One of the current etiological theories of preeclampsia is that there is an imbalance between the production of free radicals and the antioxidant defense system that causes oxidative stress, characterized by a decrease in antioxidant activity accompanied by an increase in lipid peroxide levels (oxidants / free radicals). Oxidative stress can be controlled by administering anti-oxidants which are divided into enzymatic and non-enzymatic antioxidants. Enzymatic antioxidants consist of Superoxide Dismutase (SOD), Glutathione peroxidase (GPx) and Catalase (Cat). Red pomegranate (*Punica granatum*) contains phytochemicals and is rich in compounds that function as antioxidants, namely polyphenols, tannins and anthocyanins. The purpose of this study was to determine the effect of red pomegranate (*Punica granatum*) extract on GPx levels in HUVECs cultures exposed to preeclamptic plasma. The research design was a complete randomized experimental design with 5 treatment groups. Red pomegranate extract is able to increase GPx levels because red pomegranate is rich in antioxidants. Red pomegranate (about 50% of the total weight of pomegranate) consists of 80% juice and 20% seeds. The juice itself contains 85% water, 10% sugar and 1.5% pectin, ascorbic acid and flavonoid polyphenols.

PENDAHULUAN

Angka kejadian preeklampsia diperkirakan sekitar antara 5 - 10% dari seluruh kehamilan di dunia. Preeklampsia menyebabkan sekitar 50.000 sampai dengan 76.000 kematian pada ibu hamil pada setiap tahunnya. Preeklampsia juga menyumbang sekitar 16% dari seluruh kematian ibu di negara maju. Di Indonesia sendiri, Preeklampsia menyebabkan kematian ibu nomor satu (33%) disusul dengan perdarahan yang sebelumnya di nomor satu. Preeklampsia merupakan sindroma yang berkaitan dengan adanya gejala vasospasme, peningkatan terhadap resistensi pembuluh darah perifer dan juga penurunan perfusi organ. Sindroma ini terjadi selama kehamilan, dan gejala klinisnya timbul pada kehamilan setelah 20 minggu (Kemenkes RI, 2020).

Etiologi terjadinya preeklampsia sampai sekarang masih merupakan "disease of theory". Salah satu teori etiologi preeklampsia yang dianut saat ini mengatakan adanya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan yang menyebabkan timbulnya stres oksidatif. Seorang perempuan, jika sedang hamil dalam kondisi normalpun akan terdapat peningkatan produksi radikal bebas dalam tubuhnya, dibanding pada saat dia sedang tidak hamil. Keadaan tersebut akan lebih parah lagi jika perempuan tersebut sedang hamil dengan Preeklampsia, produksi radikal bebas dalam tubuhnya akan lebih banyak lagi. Pada penderita preeklampsia, terjadi suatu keadaan yang dikenal dengan "stres oksidatif". (Gupta et al, 2018).

Stres oksidatif ditandai dengan adanya penurunan aktivitas antioksidan disertai dengan adanya peningkatan kadar oksidan / radikal bebas. Oksidan / radikal bebas yang sangat toksis ini akan beredar di seluruh tubuh dalam aliran darah, yang selanjutnya akan mengakibatkan kerusakan membran sel endotel. Keadaan ini tentu saja menimbulkan terganggunya fungsi endotel bahkan rusaknya seluruh struktur sel endotel yang disebut sebagai disfungsi endotel (endothelial dysfunction) sehingga memunculkan gejala – gejala klinik. Keadaan tersebut bisa dikendalikan dengan anti oksidan (Raijmakers et al, 2018).

Kondisi Preeklampsia pada seorang ibu hamil harus segera ditangani. Jika tidak, kondisi Preeklampsia akan berlanjut menjadi Eklampsia, Solusio plasenta. Kerusakan organ, seperti edema paru, gagal ginjal, dan gagal hati. Semuanya itu akan berdampak langsung pada kesejahteraan janin, yaitu janin kekurangan nutrisi karena tidak memadainya aliran darah rahim ke plasenta. Hal ini berakhir pada keterlambatan pertumbuhan bayi dalam kandungan, kelahiran prematur, hingga bayi lahir mati. (Kemenkes RI, 2020).

Antioksidan itu sendiri, ada yang memang sudah terdapat di dalam tubuh (endogen) dan ada yang diperoleh dari luar tubuh (eksogen). Secara umum, antioksidan dibedakan menjadi 2 kelompok yaitu : antioksidan enzimatis / antioksidan primer / antioksidan pencegah dan antioksidan non enzimatis terdiri dari superoksida dismutase (SOD), Glutathione peroxydase (GPx) dan Catalase (CAT) (de Nigris et al., 2016).

Studi epidemiologi menunjukkan bahwa konsumsi buah dan sayur yang tinggi kandungan berhubungan dengan penurunan penyakit cardiovascular dan cerebrovascular serta kanker. Diantara jenis buah-buahan, delima merah adalah buah yang kaya akan antosianin dan beberapa senyawa phenolic, serta menunjukkan aktivitas antioksidan. Buah delima merah (sekitar 50% dari total berat delima) terdiri dari 80% jus dan 20% biji. Pada jusnya itu sendiri terdapat 85% air, 10% gula dan 1,5% pectin, asam askorbat serta polifenol flavonoid. Pada isi polifenol larut 0,2 – 1% terdapat kandungan dari antosianin, katekin, tanin ellagic, gallic dan asam ellagic. Pada penelitian selanjutnya, bahwa di dalam buah delima merah terdapat kandungan antosianin sebanyak 16,5 – 26,9 per 100 gram jusnya (Astuti, 2018).

METODE PENELITIAN

Rancangan / Desain Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah true experimental (eksperimental sesungguhnya) dengan pendekatan post test only control group design. Dalam penelitian ini perlakuan atau intervensi peneliti yaitu HUVECs yang dipapar plasma penderita preeklampsia dilanjutkan dengan pemberian ekstrak buah delima merah berbagai

dosis terhadap kultur tersebut.

Fenomena yang terjadi akibat adanya perlakuan atau intervensi dari peneliti hanya diamati setelah perlakuan atau intervensi tersebut diberikan dalam penelitian ini adalah kadar GPx pada kultur HUVECs. Rancangan percobaan berupa rancangan acak lengkap dengan 5 kelompok, yaitu 2 kelompok sebagai kontrol, Kelompok Kontrol Negatif (K-) dan Kelompok Kontrol Positif (K+) serta 3 Kelompok Perlakuan (P1, P2, P3).

Kelompok Kontrol Negatif (K-) adalah kultur HUVECs dipapar plasma kehamilan normal 2%. Kelompok Kontrol Positif (K+) yaitu kultur HUVECs dipapar plasma preeklamsi 2%. Kelompok Perlakuan 1 (P1) adalah kultur HUVECs dipapar plasma preeklamsi 2% dan ekstrak buah delima merah dengan dosis 14 ppm. Kelompok Perlakuan 2 (P2) yaitu kultur HUVECs dipapar plasma preeklamsi 2% dan ekstrak buah delima merah dengan dosis 28 ppm. Kelompok Perlakuan 3 (P3) ialah kultur HUVECs dipapar plasma preeklamsi 2% dan ekstrak buah delima merah dengan dosis 56 ppm.

Pengembangan Instrumen dan Teknik Pengumpulan Data

Sampel pada penelitian ini adalah sel endotel yang berasal dari umbilikus bayi baru lahir melalui persalinan SC yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Setelah persalinan, umbilikus dipotong 10 cm, kemudian dimasukkan kedalam cord solution dan disimpan kedalam refrigerator. Langkah terakhir, ambil sel endotel melalui vena umbilikal dengan metode standar dan diteruskan dengan dikultur.

Teknik Analisis Data

Dalam penelitian ini teknik analisis data dilakukan dengan 3 tahapan penghitungan. Adapun 3 tahapan berturut – turut yaitu : (1) uji asumsi normalitas dengan menggunakan uji Shapiro – Wilk dan homogenitas ragam dengan menggunakan uji Levene sebagai prasyarat pengujian statistika parametrik, (2) uji Anova One Way (Uji F), dan (3) uji korelasi Pearson. Semua penghitungan dilakukan dengan bantuan piranti lunak

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah kultur HUVECs sudah berumur 4 hari dan sel endotel sudah dinyatakan telah confluent antara 80 – 90%, serta sel endotelnya telah diidentifikasi dengan memakai biomarker CD 146, kultur HUVECs dibagi menjadi 5 kelompok, yang terdiri dari HUVECs terbagi menjadi 5 kelompok yaitu :

1. Kelompok I : Kontrol negatif (K-) HUVECs + plasma kehamilan normal 2%.
2. Kelompok II : Kontrol positif (K+) HUVECs + plasma preeklamsi 2%
3. Kelompok III : Perlakuan 1 (P1) HUVECs + plasma preeklamsi 2% + ekstrak buah delima merah 14 ppm
4. Kelompok IV : Perlakuan 2 (P2) HUVECs + plasma preeklamsi 2% + ekstrak buah delima merah 28 ppm
5. Kelompok V : Perlakuan 3 (P3) HUVECs + plasma preeklamsi 2% + ekstrak buah delima merah 56 ppm

Peningkatan kadar GPX secara signifikan ditunjukkan oleh pemberian ekstrak buah delima merah pada konsentrasi 56 ppm. Hal ini ditunjukkan dari nilai rata-rata $\pm$ sd kelompok pemberian ekstrak buah delima merah pada konsentrasi 56 ppm memuat huruf yang berbeda dengan kelompok kontrol positif. Bahkan, jika dibandingkan dengan kontrol negatif, pemberian ekstrak buah delima merah konsentrasi 56 ppm memuat huruf yang berbeda dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini mengindikasikan bahwa

pemberian ekstrak buah delima merah konsentrasi 56 ppm mampu meningkatkan kadar GPX hingga lebih tinggi daripada kelompok kultur HUVECs kondisi normal, sedangkan pemberian ekstrak buah delima merah pada dengan konsentrasi 14 ppm dan 28 ppm, belum mampu meningkatkan kadar GPX secara signifikan. Hal ini ditunjukkan dari nilai rata-rata $\pm$ sd kedua kelompok tersebut memuat huruf yang sama dengan kelompok kontrol positif.

Tabel 1. Perbandingan *Multitple Comparison* GPX dengan LSD 5%

BEDA	RATA-RATA	PERBAND INGAN	P-VALUE
K-	K+	6.701	0.000
	14 ppm	7.140	0.000
	28 ppm	5.299	0.000
	56 ppm	-11.449	0.000
K+	14 ppm	0.439	0.651
	28 ppm	-1.402	0.158
	56 ppm	-18.150	0.000
14 ppm	28 ppm	-1.841	0.069
	56 ppm	-18.589	0.000
28 ppm	56 ppm	-16.748	0.000

Berdasarkan tabel di atas, perbandingan kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif dan semua kelompok perlakuan, ditunjukkan bahwa p-value pada kelompok K+ kurang dari 0,05 ($p < 0.05$). Hal ini mengandung pengertian terdapat perbedaan signifikan rata-rata GPX antara kelompok kontrol negatif dengan K+.

Pada kolom beda rata-rata ditunjukkan nilai yang positif mengandung pengertian bahwa rata-rata kadar GPX kelompok K+ lebih rendah daripada kelompok K-. Demikian juga pada perbandingan antara kelompok K- dengan kelompok perlakuan, didapatkan p-value kurang dari 0.05 ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan rata-rata GPX antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Pada kolom beda rata-rata ditunjukkan nilai yang positif pada semua kelompok perlakuan yang mengandung pengertian bahwa rata-rata kadar GPX kelompok perlakuan lebih rendah daripada kelompok K-.

Pada perbandingan K+ dengan kelompok perlakuan, pada kelompok perlakuan 14 ppm dan 28 ppm didapatkan p-value lebih dari 0,05. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi

14 ppm dan 28 ppm belum mampu meningkatkan kadar GPX secara signifikan, sedangkan pada kelompok perlakuan 56 ppm didapatkan p-value kurang dari

0,05. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi 56 ppm mampu meningkatkan kadar GPX secara signifikan.

Pada perbandingan semua level kelompok perlakuan, perbandingan antara konsentrasi 14 ppm dengan 28 ppm didapatkan p-value lebih dari 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah delima merah konsentrasi 14 ppm dan 28 ppm memberikan pengaruh yang sama terhadap kadar GPX.

PEMBAHASAN

Antioksidan merupakan suatu zat atau senyawa yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi, melindungi sistem biologis, melawan efek potensial dari proses atau reaksi yang menyebabkan oksidasi berlebihan. Tubuh memiliki sistem pertahanan radikal bebas berupa antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Sistem antioksidan enzimatik disusun oleh superoksida dismutase, katalase dan peroksidase yang tergabung dalam mekanisme pertahanan terhadap ROS (El Bahr., 2023). Selain itu, Emami et al menambahkan (2017) beberapa senyawa fenolik (katekin, flavon, flavonol dan isoflavon), tanin (asam elagat, asam galat, proantosianin), fenil isopropanoid (asam kafein, asam kumarin dan asam ferulat), lignan, catechol dan banyak lainnya merupakan antioksidan.

Penelitian di atas sejalan dengan teori yang disampaikan oleh El Bahr., (2023) bahwa radikal bebas yang meningkat di dalam sel, maka organisme tersebut akan membela dirinya sendiri terhadap stres oksidatif, dengan cara meningkatkan juga kadar SOD sebagai mekanisme perlindungan untuk menghadapi adanya peningkatan peroksidasi lipid dalam sel.

Selain itu, pemberian ekstrak buah delima merah dapat meningkatkan kadar SOD sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa pada keadaan patologik diantaranya akibat terbentuknya radikal bebas dalam jumlah berlebihan, enzim – enzim yang berfungsi sebagai antioksidan endogen dapat menurun kadarnya. Oleh karena itu, jika terjadi peningkatan radikal bebas dalam tubuh, diperlukan antioksidan eksogen untuk mengeliminir dan menetralkan efek radikal bebas (Astuti et al., 2018).

Ekstrak buah delima merah mampu meningkatkan kadar GPx dikarenakan pada buah delima merah kaya akan antioksidan. Buah delima merah (sekitar 50% dari total berat delima) terdiri dari 80% jus dan 20% biji. Pada jusnya itu sendiri terdapat 85% air, 10% gula dan 1,5% pectin, asam askorbat serta polifenol flavonoid. (de Nigris et al., 2016).

Fawole et al., (2021) menyampaikan, kandungan antosianin di dalam buah delima merah mencapai 16,5 – 26,9 per 100 gram jusnya. Antosianinlah yang bertanggungjawab atas pewarnaan pada buah delima merah.

Warna diberikan oleh antosianin berdasarkan susunan ikatan rangkap terkonjugasinya yang panjang, sehingga mampu menyerap cahaya pada rentang cahaya tampak. Sistem ikatan rangkap terkonjugasi ini juga yang mampu menjadikan antosianin sebagai antioksidan dengan mekanisme penangkapan radikal. Radikal bebas adalah atom atau senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Senyawa paling berbahaya dalam radikal bebas adalah hidroksil (OH) sebab memiliki reaktivitas paling tinggi. Molekul tersebut sangat reaktif dalam mencari pasangan elektronnya. Jika sudah terbentuk dalam tubuh, maka akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru yang akhirnya membentuk suatu radikal bebas dalam jumlah yang banyak (Harborne, 2015).

KESIMPULAN

Ekstrak buah delima merah (*Punica granatum*) terbukti dapat meningkatkan kadar GPx dan menurunkan kadar MDA pada kultur HUVECs yang dipapar plasma preeklamsi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Astuti, S., Muchtadi, D., Astawan, M., Purwantara, B., Wresdiyati, T., 2018. Pengaruh pemberian tepung kedelai kaya isoflavon terhadap kadar malondialdehyde, aktivitas superoksida dismutase testis dan profil Cu, ZnSOD tubuli seminiferi testis tikus jantan, J. Teknol dan Industri Pangan, 20 (2).
- [2] de Nigris F., Botti C., Williams-Ignarro S., Sica V., Ignarro L. J., Napoli C., 2006, Pomegranate juice reduces oxidized low-density lipoprotein downregulation of endothelial nitric oxide synthase in human coronary endothelial cells, Nitric Oxide 15, 259-263.
- [3] Dirjen Bina Kesga Kemenkes RI, 2020, Webinar Update Pelayanan Penenganan Preeklamsi
- [4] El-Bahr S.M., 2013, Biochemistry of free radicals and oxidative stress, Science International 1 (5); 111 – 117.
- [5] Emami, S. A., Asili J., Mohaghegli Z., Hassanzadeh M. K., 2017, Antioxidant Activity of Leaves and Fruits of Iranian Conifers. eCAM, Advance Acces Publication, 3: 313 – 319.
- [6] Fawole, O. A., Opara, U. L., Theron, K. L., 2021, 2011. Chemical and phytochemical
- [7] properties and antioxidant activities of three pomegranate cultivars grown in south Africa, Food Bioprocess Tech, 85 : 202-206.
- [8] Harborne. 2015. Encyclopedia of Food and Color Additives. CRC Press, Inc. New York, 317-323.