

# Ekstrak Etanolik Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) Menurunkan Ekspresi Reseptor ACE2 (Pintu Masuk SARS-CoV-2) Duodenum Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan Model Sindrom Metabolik Terinduksi

Nabila Haningtyas<sup>1</sup>, Dyah Ratna Budiani<sup>2</sup>, Jarot Subandono<sup>3</sup>

1. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret
2. Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret
3. Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Korespondensi : nblahn@gmail.com

## ABSTRAK

**Pendahuluan:** Tanda-tanda umum sindrom metabolik (SM) mampu mempengaruhi integritas epitel duodenum, inflamasi duodenum, mikrobiota usus, dan aktivasi sistem RAS. Daun kelor memiliki berbagai manfaat dalam mengatasi faktor risiko dari sindrom metabolik. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak etanolik daun kelor terhadap tingkat ekspresi reseptor ACE2 pada tikus Wistar model sindrom metabolik. Peningkatan ekspresi ACE2 akan meningkatkan juga risiko terinfeksi SARS-CoV-2. Ekspresi ACE2 yang meningkat akan memicu lebih banyak jalan masuk bagi SARS-CoV-2 dan memungkinkan pelepasan sitokin berlebihan.

**Metode:** Penelitian bersifat eksperimental laboratorik dengan *post-test only control group design* dan menggunakan teknik *purposive sampling*. Sampel penelitian adalah 30 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu KI sebagai kelompok kontrol; KII sebagai kelompok dengan pemberian pakan tinggi lemak dan induksi *streptozotocin-nicotinamide*; KIII, KIV, dan KV sebagai kelompok dengan pemberian pakan tinggi lemak dan induksi *streptozotocin-nicotinamide* serta ekstrak etanolik daun kelor selama 28 hari pada dosis 150 mg/KgBB, 250 mg/KgBB, dan 350 mg/KgBB. Tingkat ekspresi ACE2 dihitung menggunakan rumus IDS kemudian dianalisis dengan uji *independent t-test*, uji *One-Way ANOVA* yang dilanjutkan uji *post-hoc* Tukey HSD, dan uji regresi linier sederhana.

**Hasil:** Skor ekspresi ACE2 tertinggi ditemukan pada kelompok KII (279.04) dan nilai terendah pada kelompok KV (218.16). Uji statistik menunjukkan perbedaan ekspresi ACE2 duodenum yang signifikan ( $p < 0.05$ ) pada kelompok KI dan KII terhadap KIV dan KV; KII terhadap KIV; KIV terhadap KI, KII, dan KIII; dan KV terhadap KI dan KII. Selain kelompok yang telah disebutkan, didapatkan hasil perbedaan ekspresi ACE2 duodenum tidak signifikan ( $p > 0.05$ ).

**Kesimpulan:** Ekstrak etanolik daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) dengan dosis 250 mg/KgBB dan 350 mg/KgBB mampu menurunkan tingkat ekspresi ACE2 jaringan duodenum tikus Wistar sindrom metabolik secara signifikan.

**Kata Kunci:** Sindrom Metabolik; Duodenum; ACE2; *Moringa oleifera*; Ekstrak Daun Kelor

## ABSTRACT

**Introduction:** Common signs of metabolic syndrome (MetS) are affecting duodenal epithelial integrity duodenal inflammation, gut microbiota, and activation of RAS system. Moringa leaves have various benefits for improving metabolic syndrome risk factors. This study aimed to determine the effect of ethanolic extract of moringa leaf on expression of ACE2 duodenum tissue in Wistar rats with metabolic syndrome. Increased expression of ACE2 will increase the risk of SARS-CoV-2 infection. Increased ACE2 expression will provide more entry points for SARS-CoV-2 and causing excessive released of cytokines.

**Methods:** This study was a laboratory experimental with *post-test only control group design* and used *purposive sampling technique*. The subjects were 30 rats divided into 5 groups, specifically KI as control

group; KII as group with high-fat diet and streptozotocin-nicotinamide induced; KII, KIV, and KV as group with high-fat diet and streptozotocin-nicotinamide induced and given *Moringa leaves extract* for 28 days at doses of 150 mg/KgBW, 250 mg/KgBW, 350 mg/KgBW. ACE2 expression level calculated using IDS formula then analyzed with independent *t*-test, One-Way ANOVA test followed by post-hoc Tukey HSD test, and simple linear regression test

**Results:** Highest ACE2 expression score was found in KII group (279.04) and lowest score was found in KV group (218.16). Statistic showed significant difference in duodenal ACE2 expression ( $p < 0.05$ ) in KI and KII to KIV and KV; KII to KIV; KIV to KI, KII, and KIII; and KV to KI and KII. Other than groups mentioned above, the difference in duodenal ACE2 expression were not significant ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** Ethanolic extract of *Moringa leaves* at doses of 250 mg/KgBB and 350 mg/KgBB was able to significantly reduce the level of duodenal ACE2 expression of Wistar rats with MetS.

**Keywords:** *Metabolic Syndrome; Duodenum; ACE2; Moringa oleifera; Moringa Leaves Extract*

---

## PENDAHULUAN

Gaya hidup sedentari dan perubahan pola makan yang berawal dari kaya akan serat berubah menjadi tinggi protein, lemak, dan karbohidrat serta asupan energi berlebihan semakin marak ditemukan di tengah pesatnya globalisasi. Hal ini menyebabkan efek samping yang tidak baik bagi tubuh, seperti peningkatan risiko obesitas, diabetes mellitus tipe 2, dan penyakit kardiovaskular yang merupakan dampak dari hubungan antara faktor fisiologis, biokimia, klinis, dan metabolik disebut sebagai sindrom metabolik (Haris & Tambunan, 2016; Suhaema & Masthalina, 2015). Sindrom metabolik (SM) merupakan kumpulan penemuan fisik maupun laboratorik yang abnormal karena keterkaitan antara faktor biokimia, klinis, fisiologis, dan metabolik, meliputi obesitas sentral, hipertensi, dislipidemia, intoleransi glukosa, keadaan rentan terhadap inflamasi dan rentan terhadap terjadinya trombus (Rochlani et al., 2017). Untuk prevalensi sindrom metabolik di Indonesia sebesar 13,13% menurut data dari Himpunan Studi Obesitas Indonesia atau HISOBI (Rini, 2015). Prevalensi sindrom metabolik bervariasi, tergantung jenis kelamin, usia, ras, dan kriteria SM (Emanuela et al., 2012; Rochlani et al., 2017).

SM menyebabkan terjadinya *leaky epithelium* yaitu kondisi dimana terjadi kerusakan dari mukosa epitel duodenum sehingga endotoksin bakteri mikrobiota duodenum masuk ke dalam sirkulasi. Hal ini akan menimbulkan endotoksemia yang berujung pada inflamasi sistemik dan munculnya tanda-tanda sindrom metabolik (Fändriks, 2017). SM juga menyebabkan disbiosis mikrobiota usus sehingga produksi dari *short-chain fatty acid* (SCFA) terganggu dan berujung pada munculnya tanda-tanda umum sindrom metabolik (van Baar et al., 2018). Tanda umum sindrom metabolik menyebabkan peningkatan Ang II dan memperburuk kondisi sindrom metabolik. Ang II diseimbangkan oleh aksi dari ACE2, yang memiliki sifat berlawanan dari Ang II (Ames et al., 2019; Cole-Jeffrey et al., 2015; Ikawaty, 2020). Oleh karena itu, terjadi peningkatan ACE2 sebagai kompensasi peningkatan Ang II. ACE2 membantu peningkatan produksi insulin, berperan dalam mengatasi kebocoran epitel usus, dan memperbaiki integritas mikrobiota (Gheblawi et al., 2020; Obukhov et al., 2020).

Namun, penelitian lain mengungkapkan bahwa adanya penurunan ekspresi ACE2 pada kondisi inflamasi, yang merupakan salah satu patogenesis dari sindrom metabolik karena peningkatan TNF- $\alpha$  dan peningkatan kadar ADAM-17, enzim pemecah TNF- $\alpha$  agar bisa aktif. ADAM-17 akan meluruhkan ektodomain dari ACE2 sehingga ACE2 akan mengalami penurunan ekspresi pada membran (Gheblawi et al., 2020). Enzim ACE2 berperan sebagai reseptor esensial dari SARS-CoV-1 dan SARS-CoV-2 (Samavati & Uhal, 2020). Duodenum menjadi salah satu organ dengan ekspresi ACE2 tinggi sehingga gejala gastrointestinal tidak asing ditemui pada kasus COVID-19. COVID-19

dapat menyebabkan gejala gastrointestinal seperti diare, muntah dan/atau mual, anoreksia atau penurunan nafsu makan, dan nyeri perut (Zhang et al., 2020).

Peningkatan ekspresi ACE2 akan meningkatkan juga risiko terinfeksi SARS-CoV-2. Tubuh dalam kondisi normal banyak mengekspresikan ACE2, salah satunya pada duodenum (Hikmet et al., 2020). Sehingga, risiko terinfeksi SARS-CoV-2 saat tubuh dalam kondisi sehat cukup tinggi. Sebuah penelitian menyatakan bahwa individu dengan berat badan berlebih, obesitas, dan diabetes melitus tipe 2 yang termasuk kedalam tanda-tanda umum sindrom metabolik mengalami peningkatan ekspresi ACE2 (Emilsson et al., 2020). Selain itu, peningkatan ACE2 juga terjadi pada kondisi disbiosis usus sebagai upaya perbaikan kebocoran saluran cerna dan mempertahankan integritas mikrobiota (Obukhov et al., 2020). Ekspresi ACE2 yang meningkat akan memicu lebih banyak jalan masuk bagi SARS-CoV-2 dan memungkinkan pelepasan sitokin berlebih. Semakin tinggi ekspresi ACE2, semakin meningkatkan kemungkinan distribusi dari SARS-Cov-2 pada tubuh dan menyebabkan kondisi COVID-19 yang parah (Yanai, 2020).

Kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) merupakan tanaman dengan berbagai kandungan yang bermanfaat bagi tubuh. Seluruh bagian tanaman kelor mulai dari akar sampai daun sangat bermanfaat bagi tubuh karena mengandung flavonoid, saponin, terpenoid, tanin, dan asam askorbat. Ekstrak etanolik daun kelor terbukti mampu memperbaiki kondisi hiperglikemi, hipertensi, dan dislipidemia sebagai faktor risiko sindrom metabolik (Mbikay, 2012). Namun, efek ekstrak etanolik daun kelor pada usus dalam kondisi sindrom metabolik belum banyak diteliti.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak etanolik daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) terhadap ekspresi reseptor ACE2 duodenum tikus wistar (*Rattus norvegicus*) menggunakan pewarnaan imunohistokimia (IHC) spesifik untuk ACE2.

## METODE

Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental laboratorik dengan *post test only control group design*. Populasi penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar berjumlah 30 ekor umur 2-3 bulan dengan berat badan 150 – 200 gram. Populasi penelitian tidak diikutsertakan dalam penelitian bila memiliki tanda-tanda tikus yang tidak sehat seperti piloereksi, rambut tampak kusam, tampak pucat, lebih agresif, berat badan menurun drastis, dan lain-lain (Hubrecht & Kirkwood, 2010). Teknik sampling pada penelitian menggunakan *purposive sampling*. Tikus putih Wistar jantan akan melalui proses adaptasi terhadap kondisi Laboratorium Pangan dan Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta sebelum memulai penelitian.

Tikus Wistar jantan dikelompokkan menjadi 5 kelompok melalui proses randomisasi. Kelompok dibentuk berdasarkan perlakuan yang dilakukan pada kelompok, yaitu kelompok kontrol (KI), kelompok induksi sindrom metabolik (KII), kelompok tikus sindrom metabolik dengan pemberian ekstrak daun kelor dosis 150 mg/kgBB (KIII), kelompok tikus sindrom metabolik dengan pemberian ekstrak daun kelor dosis 250 mg/kgBB (KIV), dan kelompok tikus sindrom metabolik dengan pemberian ekstrak daun kelor dosis 350 mg/kgBB (KV). Penelitian dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.

Ekstrak daun kelor dibuat melalui proses maserasi simplisia. Daun kelo dicuci hingga bersih kemudian dikeringkan. Daun kelor kering dibuat menjadi serbuk sampai memperoleh simplisia halus. Simplisia dimaserasi dalam etanol 70%. Hasil rendaman kemudian disaring sehingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat diuapkan sehingga terbentuk ekstrak kental. Kemudian, ekstrak kental dibuat suspensi dengan pelarut CMC-Na 0,5%. Pengukuran parameter sindrom metabolik dilakukan 4 kali, yaitu pada hari ke-0 perlakuan (setelah 7 hari aklimatisasi dan sebelum diberikan pakan tinggi lemak

dan fruktosa), hari ke-25 sebelum dilakukan induksi STZ-NA, hari ke-28 setelah diet tinggi lemak dan induksi STZ-NA, dan hari ke-57 (satu hari setelah hari terakhir pemberian ekstrak etanolik daun kelor).

Ekspresi reseptor ACE2 diamati menggunakan preparat histopatologi jaringan duodenum yang diwarnai dengan pengecatan imunohistokimia (IHC) *Rabbit Anti-Rat ACE2 Monoclonal Antibody*. Pengamatan dilakukan pada 9 lapang pandang untuk tiap tikusnya. Ekspresi ACE2 ditunjukkan dengan warna coklat dan dinilai dengan menghitung epitel duodenum yang mengekspresikan ACE2 pada sembilan lapang pandang dari jaringan duodenum menggunakan *Image Raster* perbesaran 400x. Penilaian tingkat ekspresi ACE2 jaringan duodenum dilakukan dengan metode semi kuantitatif dengan *Intensity Distribution Score (IDS)*.

Analisis dilakukan menggunakan *Statistical Product and Service Solution (SPSS) 23.00 for Windows*. Data pencapaian sindrom metabolik disajikan sebagai rerata  $\pm$  standard deviasi dan persentase peningkatan. Menilai normalitas distribusi data menggunakan Uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50. Jika hasil uji *Shapiro-Wilk* data terdistribusi normal, dilanjutkan uji parametrik *one-way ANOVA* dan analisis *post hoc* menggunakan HSD (*Honest Significant Difference*) test. Selain itu, uji regresi linier dilakukan untuk menilai korelasi dari dosis ekstrak etanolik daun kelor dengan ekspresi ACE2. Penelitian ini telah lulus kelayakan etik dari komisi etik penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi Nomor : 10/I/HREC/2021 dan Nomor : 713/VI/HREC/2021

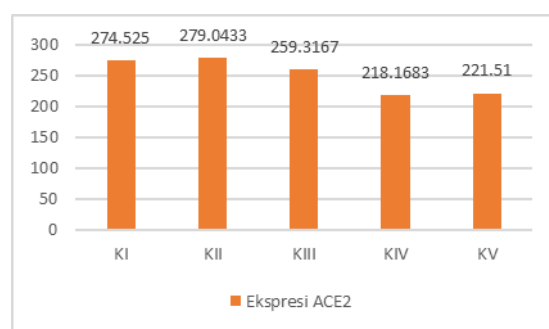
## HASIL

### Pencapaian Kondisi Sindrom Metabolik

Data primer parameter klinis menunjukkan adanya peningkatan berat badan  $> 8\%$ , kadar trigliserida  $>150$  mg/dL, kadar gula darah puasa dan gula darah sewaktu  $>250$  mg/dL, kadar HDL  $<35$  mg/dL, dan kadar LDL  $> 70$  mg/dL.

### Ekspresi ACE2 Jaringan Duodenum

Hasil rerata ekspresi ACE2 tertera pada Gambar 1. Rerata skor IDS ekspresi reseptor ACE2 pada jaringan duodenum. Gambar 1 menunjukkan rerata skor IDS ekspresi ACE2 duodenum tertinggi terdapat pada KII (279.0433) dan terendah terdapat pada KIV (218.1683).



Gambar 1. Rerata Skor IDS Tingkat Ekspresi ACE2 Duodenum Tikus

Uji normalitas kadar ekspresi ACE2 pada setiap kelompok tikus menunjukkan hasil  $p > 0.05$  sehingga disimpulkan bahwa data kelima kelompok tikus memiliki persebaran normal. Kemudian, dilanjutkan uji *One-Way ANOVA*. Uji *One-Way ANOVA* menunjukkan nilai  $p = 0.00$  ( $p < 0.05$ ) sehingga menandakan adanya perbedaan ekspresi ACE2 yang signifikan pada tiap kelompok tikus. Hasil uji Tukey HSD ekspresi ACE2 jaringan dudodenum tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Tukey HSD

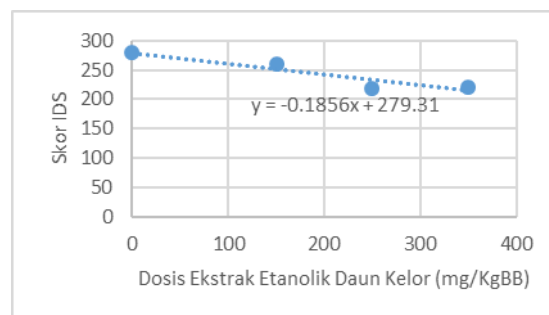
Kelompok	Terhadap Kelompok	Beda Rerata	Sig.
KI	KII	-4.51833	.997 (Tidak Bermakna)
	KIII	15.20833	.784 (Tidak Bermakna)
	KIV	56.35667	.002 (Bermakna)
	KV	53.01500	.004
KII	KIII	19.72667	.585 (Tidak Bermakna)
	KIV	60.87500	.001 (Bermakna)
	KV	57.53333	.002 (Bermakna)
KIII	KIV	41.14833	.036 (Bermakna)
	KV	37.80667	.062 (Tidak Bermakna)
KIV	KV	-3.34167	.999 (Tidak Bermakna)

### Pengaruh Dosis Ekstrak Etanolik Daun Kelor dengan Ekspresi ACE2

Pengaruh dosis ekstrak etanolik daun kelor dengan ekspresi ACE2 jaringan duodenum diuji menggunakan uji regresi linier. Hasil uji regresi linier dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Regresi Linier

Fungsi Grafik Linear	Sig.	R	R square
$y = 279.315 - 0.186x$	0.000	0.702	0.492



Gambar 2. Hasil Uji Regresi Linier

Nilai *R square* atau koefisien determinasi (KD) menunjukkan angka 0.492 yang menandakan bahwa pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat sebesar 49.2%. Nilai signifikansi menunjukkan angka 0.000 (kurang dari 0.05) dimana hal ini menandakan bahwa dosis ekstrak

etanolik daun kelor memiliki pengaruh signifikan terhadap tingkat ekspresi ACE2 jaringan duodenum tikus. Persamaan linier didapatkan dari uji regresi linier. Persamaan  $y = 279.315 - 0.186x$  ( $y = a + bx$ ) dimana nilai a (konstanta) menunjukkan bahwa tingkat ekspresi ACE2 duodenum tikus sebesar 279.315 ketika dosis ekstrak etanolik daun kelor tidak diberikan atau 0. Sedangkan, nilai b (koefisien regresi) dinyatakan -0.186 yang berarti dosis ekstrak etanolik daun kelor berpengaruh negatif terhadap tingkat ekspresi ACE2 dimana tingkat ekspresi ACE2 duodenum tikus dapat turun sebesar 0.186 tiap peningkatan 1 mg/KgBB dosis ekstrak etanolik daun kelor.

## PEMBAHASAN

### Pencapaian Kondisi Sindrom Metabolik

Hasil penelitian pada kelompok KII, KIII, KIV, dan KV sudah memenuhi 3 dari 5 kriteria menurut NCEP ATP III yaitu  $GDP \geq 110$  mg/dL,  $HDL < 40$  mg/dL, dan trigliserida  $\geq 150$  mg/dL (Rini, 2015; Rochlani et al., 2017; Suman et al., 2016). Sedangkan untuk kriteria Suman *et al.*, (2016), kelompok induksi memenuhi kriteria yaitu trigliserida melebihi normal, kadar glukosa darah (GDP dan GDS) melebihi batas normal, peningkatan berat badan lebih dari 8% dari berat badan awal, dan  $HDL < 35$  mg/dL. KI atau kelompok kontrol negatif memiliki kadar trigliserida, kadar glukosa darah, kadar HDL, dan berat badan normal. Dapat disimpulkan bahwa kelompok induksi (KII, KIII, KIV, dan KV) telah mencapai kondisi sindrom metabolik menurut kriteria NCEP ATP III maupun kriteria Suman *et al.*, (2016).

### Uji Beda antara Kelompok Kontrol Negatif (KI) dan Kelompok Kontrol Positif (KII)

Uji Tukey HSD yang dilakukan antara KI dan KII menunjukkan nilai  $p = 0.997$  ( $p > 0.05$ ) dimana hasil ini menandakan perbedaan rerata skor IDS ekspresi ACE2 jaringan duodenum tidak bermakna. Hasil ini sesuai dengan hasil uji *unpaired t-test* yang sudah dipaparkan sebelumnya dimana perbedaan rerata skor IDS ekspresi ACE2 jaringan duodenum antara KI dan KII juga menunjukkan hasil tidak bermakna. Namun, rerata skor IDS ekspresi ACE2 KII lebih tinggi dibandingkan KI. Terjadinya peningkatan ekspresi ACE2 disebabkan karena pemberian diet tinggi lemak dan induksi *streptozotocin-nicotinamide* yang menyebabkan kondisi sindrom metabolik terinduksi pada kelompok II.

Meningkatnya konsumsi diet tinggi lemak dan kalori juga kurangnya aktivitas fisik dapat menyebabkan terjadinya obesitas (Rini, 2015). Dalam kondisi obesitas, terjadi hipertrofi dan hiperplasia jaringan adiposa sehingga kebutuhan suplai darah untuk jaringan adiposa semakin meningkat dan berujung pada hipoksia dengan adanya infiltrasi makrofag. Hal ini menimbulkan pelepasan dari adipositokin dan asam lemak bebas atau *free fatty acids*. *Free fatty acids* (FFA) menyebabkan ambilan glukosa pada otot berkurang dan peningkatan glukoneogenesis serta lipogenesis. Kemudian, hal ini berujung pada keadaan hiperinsulinemia dan hiperglikemia. Hiperinsulinemia, hiperglikemia, resistensi insulin, dan obesitas juga mampu meningkatkan produksi angiotensin II dan peningkatan ini dapat menstimulasi sistem RAS. Fenomena-fenomena tersebut akan menimbulkan kondisi sindrom metabolik (Rochlani et al., 2017).

Diet tinggi lemak, gula, dan energi mampu menyebabkan disbiosis mikrobiota usus dimana mikrobiota berpengaruh dalam regulasi resistensi insulin, perlindungan sel usus, dan aktivitas proinflamasi juga kebocoran epitel duodenum sehingga menyebabkan endotoksemia dan inflamasi sistemik (De Filippis et al., 2020; Fändriks, 2017) Tanda-tanda umum sindrom metabolik tersebut dapat meningkatkan ekspresi Ang II. Untuk memperbaiki kondisi sindrom metabolik yang memburuk, ACE2 mengalami peningkatan ekspresi dan mengubah Ang II menjadi Ang 1-7 yang memiliki sifat berlawanan dari Ang II (Emilsson et al., 2020). Ekspresi mRNA dan protein ACE2

pada usus halus ditemukan memiliki tingkat ekspresi lebih tinggi dibandingkan dengan tingkat ekspresi di ginjal, testis, esofagus, pankreas, kandung kemih, dan organ lainnya (Hikmet et al., 2020).

### **Uji Beda antara KII dengan KIII, KIV, dan KV**

Berdasarkan data tersebut, pemberian ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 250 mg/KgBB dan 350 mg/KgBB lebih efektif dalam mengurangi tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan duodenum tikus dibandingkan dengan pemberian ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 150 mg/KgBB. Flavonoid yang terkandung dalam daun kelor mampu mengurangi pelepasan sitokin proinflamasi yang mampu mengaktifasi RAS, menghambat lipolisis dan menghambat ROS. Selain itu, flavonoid dapat memperbaiki disbiosis usus sehingga ekspresi dari ACE2 dapat berkurang (Ballard & Maróstica, 2018).

Tanin mampu memperbaiki kondisi hiperglikemia dan hipoksia adiposit sehingga mencegah terjadinya resistensi insulin, pelepasan sitokin proinflamasi, dan peningkatan *free fatty acid* yang mampu mengaktifasi sistem RAS dan menyebabkan peningkatan ROS (Sieniawska, 2015). Saponin dapat menghambat lipase pankreas sehingga mengurangi inflamasi yang terjadi dan ekspresi dari ACE2 (Marrelli et al., 2016). Seperti tanin, saponin dan terpenoid dapat menghambat aktivasi dari sistem RAS dengan mengurangi lipogenesis dan glukoneogenesis (Amiraragab et al., 2017; Cox-Georgian et al., 2019). Terpenoid juga mampu mengurangi inflamasi. Asam askorbat dapat menghambat peroksidase lemak sehingga tidak memperparah inflamasi yang telah terjadi (Vergara-Jimenez et al., 2017). Ekstrak etanolik daun kelor dapat memperbaiki obesitas, dislipidemia, hiperleptinemia, hipoadeponektinemia, dan memperbaiki resistensi insulin (Metwally et al., 2017).

### **Uji Beda antara Kelompok KII terhadap Kelompok KIV dan KV serta antara Kelompok KIV dan KV**

Hasil uji Tukey HSD menunjukkan bahwa variasi dosis ekstrak etanolik daun kelor sebesar 150 mg/KgBB terhadap dosis 250 mg/KgBB menghasilkan perbedaan skor IDS ekspresi ACE2 yang signifikan. Namun, variasi ekstrak etanolik daun kelor sebesar 150 mg/KgBB terhadap dosis 350 mg/KgBB tidak menghasilkan perbedaan rerata skor IDS ekspresi ACE2 yang signifikan. Variasi dosis ekstrak etanolik daun kelor 250 mg/KgBB terhadap dosis 350 mg/KgBB juga tidak menghasilkan perbedaan rerata skor IDS ekspresi ACE2 yang signifikan. Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa dosis ekstrak etanolik daun kelor sebesar 150 mg/KgBB belum mampu menurunkan rerata skor IDS secara signifikan. Sedangkan dosis 250 mg/KgBB dan 350 mg/KgBB memiliki kemampuan serupa dalam menurunkan rerata skor IDS ACE2.

### **Uji Beda antara Kelompok KI dengan KIII, KIV, dan KV**

Berdasarkan hasil penelitian di atas, pemberian ekstrak etanolik daun kelor dosis 150 mg/KgBB sudah mampu mengurangi skor IDS ekspresi ACE2 hingga relatif sama dengan kelompok tikus dengan kondisi normal. Sedangkan, pemberian ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 250 mg/KgBB dan 350 mg/KgBB mampu menurunkan rerata skor IDS ekspresi ACE2 hingga dibawah rerata skor IDS kelompok tikus normal.

### **Pengaruh Peningkatan Dosis Ekstrak Etanolik Daun Kelor Terhadap Rerata Skor IDS Ekspresi ACE2**

*Angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2), sebuah glikoprotein integral memberan tipe 1, dikenal sebagai reseptor dari SARS-CoV-2. ACE2 akan berinteraksi dengan *protein spike* milik SARS-CoV-2 dan menyebabkan terjadinya perubahan konformasi dari membran sel inang sehingga memudahkan SARS-CoV-2 masuk ke dalam sel inang (Koentjoro et al., 2020). Peningkatan ekspresi ACE2 akan meningkatkan juga risiko terinfeksi SARS-CoV-2. Tubuh dalam kondisi normal banyak

mengekspresikan ACE2, salah satunya pada duodenum (Hikmet et al., 2020). Sehingga, risiko terinfeksi SARS-CoV-2 saat tubuh dalam kondisi sehat cukup tinggi. Tanda-tanda umum sindrom metabolik juga menyebabkan peningkatan ekspresi ACE2. Peningkatan ACE2 utamanya terjadi sebagai kompensasi terhadap aktivasi berlebih sistem RAS dan peningkatan produksi Ang II oleh kondisi sindrom metabolik (Emilsson et al., 2020). Selain itu, peningkatan ACE2 juga terjadi pada kondisi disbiosis usus sebagai upaya perbaikan kebocoran saluran cerna dan mempertahankan integritas mikrobiota (Obukhov et al., 2020).

Hilangnya fungsi ACE2 karena infeksi SARS-CoV-2 menyebabkan disbiosis mikrobiota usus dan peningkatan suseptibilitas terhadap inflamasi karena terganggunya pembentukan *small intestinal antimicrobial peptides* (AMPs), molekul yang berperan dalam pertahanan terhadap mikroba dan virus (Viana et al., 2020). Infeksi SARS-CoV-2 akan memperburuk kebocoran epitel usus, disbiosis usus, dan endotoksemia yang disebabkan kondisi sindrom metabolik. Jadi, kondisi sindrom metabolik semakin memburuk dengan adanya infeksi SARS-CoV-2 dan menyebabkan manifestasi klinis yang lebih buruk.

Penurunan ekspresi PTPRQ menyebabkan peningkatan *food intake* dan resistensi leptin. *Early growth response 2* (EGR2) berperan dalam regulasi dari diferensiasi sel lemak seperti IL-6. Gen PTPRQ dan EGR2, yang berperan dalam lipogenesis, mengalami *downregulation* ketika terjadi infeksi SARS-CoV-2. Terjadi juga peningkatan regulasi dari SOC3 (*supressors of cytokine signaling-3*) sebagai respon terhadap infeksi SARS-CoV-2 dimana pada sindrom metabolik juga terjadi peningkatan SOC3 yang menghambat transduksi dari leptin dan sitokin lainnya sehingga terjadi resistensi leptin. *Sterol-response element binding protein* (SREBP) adalah sebuah faktor transkripsi yang diasosiasikan dengan lipogenesis, adipogenesis, dan homeostasis kolesterol sehingga tidak terjadi lipotoksitas. Ekspresi SREBP berkurang pada individu obesitas, dimana hal ini menyebabkan peningkatan regulasi ekspresi ACE2 (Al Heialy et al., 2020).

Menurut Hamza et al., setelah dilakukan *molecular docking* didapatkan bahwa flavonoid, hidrosikloroquinon, dan antraquinon efektif dalam menghambat virus SARS-CoV-2 karena memiliki interaksi yang kuat dengan peptida SARS-CoV-2 dan mampu membantu sistem imun tumbuh melawan COVID-19. Penelitian lain menyatakan bahwa beberapa komponen memiliki afinitas ikatan dengan *main protease* (M<sup>pro</sup>) SARS-CoV-2 lebih besar dibandingkan dengan obat antivirus sudah disetujui FDA. Hal ini menandakan bahwa komponen pada tanaman kelor memiliki kemampuan menghambat virus SARS-CoV-2 lebih baik dibandingkan obat antivirus yang telah disetujui FDA (Nair & Joseph, 2020). Apiin, epicatechin, dan hesperetin terbukti mampu mengikat sisi aktif dari ACE2 sehingga dapat berperan sebagai inhibitor kompetitif dari ACE2. Berikatannya apiin, epicatechin, dan hesperetin diharapkan dapat menurunkan interaksi SARS-CoV-2 karena hilangnya fungsi enzimatis dari ACE2 (Koentjoro et al., 2020).

Pembahasan berisi diskusi yang menghubungkan dan membandingkan hasil penelitian dengan teori yang diuji dan hasil-hasil penelitian sebelumnya. Pembahasan dapat diakhiri dengan menyebutkan keterbatasan penelitian dan saran untuk penelitian lebih lanjut.

## KESIMPULAN

Peningkatan ekspresi ACE2 jaringan duodenum tikus Wistar ditemukan pada kelompok tikus putih dengan induksi sindrom metabolik dibandingkan dengan kelompok tikus putih tanpa induksi walaupun peningkatan tidak signifikan. Pemberian ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 150 mg/KgBB, 250 mg/KgBB, dan 350 mg/KgBB dapat mempengaruhi ekspresi ACE2 karena dapat menekan ekspresi ACE2 jaringan duodenum tikus putih Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) sindrom metabolik terinduksi.



## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada pihak-pihak yang benar-benar terlibat dalam penelitian. Riza Noviarta Pesik, dr., M.Kes yang telah memberikan kritik dan saran dalam penulisan laporan penelitian, serta kepada seluruh Staf Bagian Skripsi FK UNS, staf Bagian Akademik Program Studi Kedokteran FK UNS, staf Bagian Lab Patologi Anatomi yang telah membantu dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al Heialy, S., Hachim, M. Y., Senok, A., Gaudet, M., Abou Tayoun, A., Hamoudi, R., Alsheikh-Ali, A., & Hamid, Q. (2020). Regulation of Angiotensin- Converting Enzyme 2 in Obesity: Implications for COVID-19. *Frontiers in Physiology, 11*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.555039>
- Ames, M. K., Atkins, C. E., & Pitt, B. (2019). The renin-angiotensin-aldosterone system and its suppression. *Journal of Veterinary Internal Medicine, 33*(2), 363–382. <https://doi.org/10.1111/jvim.15454>
- Amiraragab, B., Hussein, S. A., Alm-Eldeen, A.-E., Hafez, A., & Mohamed, T. (2017). Diabetes Management Saponins and their potential role in diabetes mellitus. *Diabetes Manag, 7*(1), 148–158. <http://www.openaccessjournals.com/articles/saponins-and-their-potential-role-in-diabetes-mellitus.pdf>
- Ballard, C. R., & Maróstica, M. R. (2018). Health Benefits of Flavonoids. In *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00010-4>
- Cole-Jeffrey, C. T., Liu, M., Katovich, M. J., Raizada, M. K., & Shenoy, V. (2015). ACE2 and Microbiota: Emerging Targets for Cardiopulmonary Disease Therapy. *Journal of Cardiovascular Pharmacology, 66*(6), 540–550. <https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000307>
- Cox-Georgian, D., Ramadoss, N., Dona, C., & Basu, C. (2019). Therapeutic and medicinal uses of terpenes. *Medicinal Plants: From Farm to Pharmacy, 333–359*. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-31269-5\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-030-31269-5_15)
- De Filippis, A., Ullah, H., Baldi, A., Dacrema, M., Esposito, C., Garzarella, E. U., Santarcangelo, C., Tantipongpiradet, A., & Daglia, M. (2020). Gastrointestinal disorders and metabolic syndrome: Dysbiosis as a key link and common bioactive dietary components useful for their treatment. *International Journal of Molecular Sciences, 21*(14), 1–26. <https://doi.org/10.3390/ijms21144929>
- Emanuela, F., Grazia, M., Marco, D. R., Maria Paola, L., Giorgio, F., & Marco, B. (2012). Inflammation as a link between obesity and metabolic syndrome. *Journal of Nutrition and Metabolism, 2012*. <https://doi.org/10.1155/2012/476380>
- Emilsson, V., Gudmundsson, E. f., Aspelund, T., Jonsson, B. G., Gudjonsson, A., Launer, L. J., Lamb, J. R., Gudmundsdottir, V., Jennings, L. L., & Gudnason, V. (2020). ACE2 Levels are Altered in Comorbidities Linked to Severe Outcome in COVID-19. *MedRxiv, 1–14*. <https://doi.org/10.1101/2020.06.04.20122044>
- Fändriks, L. (2017). Roles of the gut in the metabolic syndrome: an overview. *Journal of Internal Medicine, 281*(4), 319–336. <https://doi.org/10.1111/joim.12584>
- Gheblawi, M., Wang, K., Viveiros, A., Nguyen, Q., Zhong, J. C., Turner, A. J., Raizada, M. K., Grant, M. B., & Oudit, G. Y. (2020). Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the

- Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. *Circulation Research*, 1456–1474. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.317015>
- Haris, S., & Tambunan, T. (2016). Hipertensi pada Sindrom Metabolik. *Sari Pediatri*, 11(4), 257. <https://doi.org/10.14238/sp11.4.2009.257-63>
- Hikmet, F., Méar, L., Edvinsson, Å., Micke, P., Uhlén, M., & Lindskog, C. (2020). The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Molecular Systems Biology*, 16(7), 1–16. <https://doi.org/10.15252/msb.20209610>
- Hubrecht, R., & Kirkwood, J. (2010). *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals* (8th ed.). University Federation of Animal Welfare.
- Ikawaty, R. (2020). Dinamika Interaksi Reseptor ACE2 dan SARS-CoV-2 Terhadap Manifestasi Klinis COVID-19. *KELUWIH: Jurnal Kesehatan Dan Kedokteran*, 1(2), 70–76. <https://doi.org/10.24123/kesdok.v1i2.2869>
- Koentjoro, M. P., Donastin, A., & Prasetyo, E. N. (2020). Potensi Senyawa Bioaktif Tanaman Kelor Penghambat Interaksi Angiotensin-Converting Enzyme 2 Pada Sindroma Sars-Cov-2. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 7(2), 259–270. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v7i2.4156>
- Marrelli, M., Conforti, F., Araniti, F., & Statti, G. A. (2016). Effects of saponins on lipid metabolism: A review of potential health benefits in the treatment of obesity. *Molecules*, 21(10). <https://doi.org/10.3390/molecules21101404>
- Mbikay, M. (2012). Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: A review. *Frontiers in Pharmacology*, 3 MAR(March), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2012.00024>
- Metwally, F. M., Rashad, H. M., Ahmed, H. H., Mahmoud, A. A., Abdol Raouf, E. R., & Abdalla, A. M. (2017). Molecular mechanisms of the anti-obesity potential effect of *Moringa oleifera* in the experimental model. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(3), 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.12.007>
- Nair, A., & Joseph, J. T. (2020). Computational screening of phytochemicals from *Moringa oleifera* leaf as potential inhibitors of SARS-CoV-2 Mpro. *Research Square*, 1–14.
- Obukhov, A. G., Stevens, B. R., Prasad, R., Calzi, S. L., Boulton, M. E., Raizada, M. K., Oudit, G. Y., & Grant, M. B. (2020). Sars-cov-2 infections and ace2: Clinical outcomes linked with increased morbidity and mortality in individuals with diabetes. *Diabetes*, 69(9), 1875–1886. <https://doi.org/10.2337/dbi20-0019>
- Rini, S. (2015). Sindrom Metabolik. *Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*, 4(4), 88–93.
- Rochlani, Y., Pothineni, N. V., Kovelamudi, S., & Mehta, J. L. (2017). Metabolic syndrome: Pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease*, 11(8), 215–225. <https://doi.org/10.1177/1753944717711379>

- Samavati, L., & Uhal, B. D. (2020). ACE2, Much More Than Just a Receptor for SARS-COV-2. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(June), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00317>
- Sieniawska, E. (2015). Activities of tannins-From in Vitro studies to clinical trials. *Natural Product Communications*, 10(11), 1877–1884. <https://doi.org/10.1177/1934578x1501001118>
- Suhaema, & Masthalina, H. (2015). Pola Konsumsi Dengan Terjadinya Sindrom Metabolik di Indonesia. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, 9(4), 340–347.
- Suman, R. K., Ray Mohanty, I., Borde, M. K., Maheshwari, U., & Deshmukh, Y. A. (2016). Development of an Experimental Model of Diabetes Co-Existing with Metabolic Syndrome in Rats. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9463476>
- van Baar, A. C. G., Nieuwdorp, M., Holleman, F., Soeters, M. R., Groen, A. K., & Bergman, J. J. G. H. M. (2018). The Duodenum harbors a Broad Untapped Therapeutic Potential. *Gastroenterology*, 154(4), 773–777. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.02.010>
- Vergara-Jimenez, M., Almatrafi, M. M., & Fernandez, M. L. (2017). Bioactive components in *Moringa oleifera* leaves protect against chronic disease. *Antioxidants*, 6(4), 1–13. <https://doi.org/10.3390/antiox6040091>
- Viana, S. D., Nunes, S., & Reis, F. (2020). ACE2 imbalance as a key player for the poor outcomes in COVID-19 patients with age-related comorbidities – Role of gut microbiota dysbiosis. *Ageing Research Reviews*, 62(June 2021). <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101123>
- Yanai, H. (2020). *Metabolic Syndrome and COVID-19*. 11(6), 360–365.
- Zhang, H., Li, H. B., Lyu, J. R., Lei, X. M., Li, W., Wu, G., Lyu, J., & Dai, Z. M. (2020). Specific ACE2 expression in small intestinal enterocytes may cause gastrointestinal symptoms and injury after 2019-nCoV infection. *International Journal of Infectious Diseases*, 96, 19–24. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.027>