

**MORINGA LEAF EXTRACT ON CHANGES IN CD36 MRNA GENE
EXPRESSION IN THE BRAIN OF RATS EXPOSED TO ETHYLENE
GLYCOL**

Gilang Wirayudha¹, Zahratul Idami²

Universitas Islam Negeri Sumatera Utara^{1,2}

gilang0704212092@uinsu.ac.id¹, zahratulidami@uinsu.ac.id²

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian *Moringa oleifera* terhadap ekspresi mRNA CD36 pada jaringan tikus yang dipapar etilen glikol. Metode yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan analisis ekspresi gen menggunakan teknik RT-PCR dan gen GAPDH sebagai kontrol internal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresi mRNA CD36 meningkat pada kelompok yang dipapar etilen glikol dibandingkan kelompok normal. Pada kelompok perlakuan, variasi dosis *Moringa oleifera* menunjukkan respons ekspresi yang berbeda, di mana dosis tertentu menurunkan ekspresi mendekati kondisi normal, sedangkan dosis tinggi meningkatkan kembali ekspresi gen tersebut. Ekspresi GAPDH relatif stabil pada seluruh kelompok sehingga layak digunakan sebagai gen referensi. Simpulan, pemberian *Moringa oleifera* memengaruhi ekspresi mRNA CD36 secara berbeda pada setiap dosis dan berpotensi menekan efek toksik etilen glikol pada dosis tertentu.

Kata Kunci: Daun Kelor, Etilen Glikol, Ekspresi mRNA CD36

ABSTRACT

This study aimed to analyze the effect of Moringa oleifera administration on CD36 mRNA expression in rat tissues exposed to ethylene glycol. The method used was an experimental design with gene expression analysis performed using RT-PCR and GAPDH as an internal control gene. The results showed that CD36 mRNA expression increased in the ethylene glycol-exposed group compared to the normal group. In the treatment groups, different doses of Moringa oleifera produced varied expression responses, where a certain dose reduced gene expression toward normal conditions, while a higher dose increased the expression again. The expression of GAPDH remained relatively stable across all groups, confirming its suitability as a reference gene. In conclusion, Moringa oleifera administration affects CD36 mRNA expression in a dose-dependent manner and has the potential to attenuate the toxic effects of ethylene glycol at specific doses.

Keywords: Ethylene Glycol, Moringa Leaf, CD36 mRNA Expression

PENDAHULUAN

Etilen glikol (EG) adalah senyawa organik yang termasuk dalam kelompok alkohol berviskositas tinggi. Senyawa ini memiliki rumus kimia $C_2H_6O_2$ dan banyak digunakan dalam industri sebagai komponen utama dalam cairan pendingin (antibeku) serta bahan baku pembuatan plastik dan pelarut industri lainnya (Widawati, 2015). Penggunaan etilen glikol sangat umum dalam sistem pendingin mobil dan mesin yang berfungsi untuk mencegah pembekuan pada suhu rendah. Paparan terhadap etilen glikol terjadi melalui berbagai cara, baik secara akut (langsung) maupun kronis, terutama di kalangan pekerja yang terpapar bahan kimia ini secara teratur (Yulianti, 2015).

Etilen glikol dikenal sebagai bahan kimia yang dapat menyebabkan berbagai efek toksik pada tubuh manusia, terutama pada sistem saraf pusat (SSP) dan otak. Dalam tubuh, etilen glikol diubah menjadi senyawa toksik lainnya seperti glikolaldehid dan asam glikolat yang berperan dalam menimbulkan kerusakan sel otak melalui proses oksidasi dan peradangan (Estiwidani & Ayuningtias, 2019). Selain itu, paparan etilen glikol dapat mengganggu keseimbangan metabolisme tubuh, menyebabkan gangguan fungsi ginjal, dan memperburuk kondisi kerusakan otak.

Otak merupakan organ vital yang mengatur fungsi motorik, kognisi, dan perilaku sehingga kesehatannya sangat penting bagi kesejahteraan individu. Kerusakan otak dapat memicu gangguan neurologis serius, seperti penurunan memori, perubahan perilaku, dan gangguan fungsi motorik. Salah satu penyebab kerusakan otak adalah paparan bahan kimia berbahaya, termasuk etilen glikol (EG) yang banyak digunakan dalam industri dan produk rumah tangga. Paparan EG diketahui dapat menimbulkan stres oksidatif, inflamasi, serta memengaruhi ekspresi gen penting seperti CD36 yang berperan dalam metabolisme lipid dan keseimbangan lemak di otak (Alqahtani & Albasher, 2020).

Ekspresi gen CD36 di otak berhubungan erat dengan regulasi metabolisme lipid dan respons peradangan. Pada kondisi normal, CD36 terlibat dalam pemrosesan asam lemak dan pengaturan kolesterol di otak. Namun, dalam kondisi stres oksidatif atau peradangan yang disebabkan oleh faktor eksternal, seperti paparan etilen glikol atau stres oksidatif, ekspresi gen CD36 dapat terpengaruh. Penelitian menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi CD36 dapat menyebabkan gangguan metabolisme lipid yang pada gilirannya dapat berkontribusi pada kerusakan neuron (Šerý et al., 2020). Selain itu, perubahan ekspresi CD36 juga dapat memengaruhi respons imun dan inflamasi di otak yang berkontribusi pada perkembangan penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer dan Parkinson (Li et al., 2022).

Ekspresi gen CD36, yang terlibat dalam metabolisme lipid dan regulasi kadar lemak dalam tubuh, dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti paparan toksik atau peradangan kronis. Dalam beberapa penelitian, pemberian ekstrak daun kelor pada tikus yang terpapar stres oksidatif atau peradangan

menunjukkan perubahan pada ekspresi gen CD36 di otak. Salah satu mekanisme yang terlibat adalah kemampuan ekstrak daun kelor untuk menurunkan tingkat inflamasi melalui penghambatan jalur NF- κ B, yang berperan dalam aktivasi gen-gen pro-inflamasi (Sarih, 2020). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor dapat berfungsi untuk memperbaiki kondisi metabolik otak yang terganggu akibat stres oksidatif dan peradangan, serta dapat memberikan efek neuroprotektif terhadap perubahan ekspresi gen yang terjadi pada otak (Wihastuti et al., 2016).

Moringa oleifera, yang dikenal dengan sebutan “pohon kelor” atau “pohon drumstick”, adalah tanaman yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis di seluruh dunia, termasuk Asia Selatan, Afrika, dan beberapa wilayah Amerika Selatan. Daun kelor dikenal luas karena kandungan nutrisinya yang sangat tinggi dan digunakan dalam berbagai pengobatan tradisional. Beberapa bagian dari tanaman ini, seperti daun, bunga, dan biji, telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional untuk berbagai penyakit, termasuk gangguan peradangan dan infeksi (Chhikara et al., 2020).

Daun kelor mengandung berbagai senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan, seperti flavonoid, polifenol, asam amino esensial, dan vitamin yang berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan neuroprotektif. Flavonoid seperti quercetin dan kaempferol memiliki kemampuan untuk menghambat enzim pro-inflamasi seperti siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase (LOX), yang berkontribusi pada pengurangan peradangan (Chiş et al., 2023). Selain itu, polifenol dalam daun kelor juga dapat mengurangi stres oksidatif, yang merupakan faktor utama dalam kerusakan sel, termasuk neuron di otak (Worku & Tolossa, 2024).

Beberapa penelitian telah mengkaji pengaruh paparan etilen glikol terhadap ekspresi gen di otak, khususnya gen yang terlibat dalam metabolisme lipid dan respons inflamasi. Penelitian yang dilakukan oleh Widyawati (2015) menunjukkan bahwa paparan etilen glikol dapat mengubah ekspresi gen-gen yang terlibat dalam pengaturan kolesterol dan lipid di otak. Perubahan ekspresi gen ini dapat memicu gangguan dalam metabolisme otak yang berpotensi menyebabkan penyakit neurodegeneratif. Gen CD36 mengkode protein yang berperan penting dalam metabolisme lipid, pengambilan asam lemak, serta pengaturan homeostasis energi dalam tubuh. CD36, yang dikenal sebagai reseptor skavenger kelas B, terlibat dalam pengikatan dan pengambilan berbagai molekul lemak, termasuk asam lemak dan lipoprotein. CD36 juga memiliki peran dalam proses-proses seperti angiogenesis, pengaturan inflamasi, dan fagositosis, yang penting untuk menjaga kesehatan otak dan tubuh secara keseluruhan (Li et al., 2022). Dalam konteks otak, CD36 berfungsi dalam pengaturan kolesterol dan asam lemak di dalam sel neuron, yang penting untuk menjaga struktur dan fungsi sel otak (Ioghen et al., 2020).

Meskipun berbagai penelitian telah mengkaji efek toksik etilen glikol terhadap jaringan otak serta potensi *Moringa oleifera* sebagai agen antioksidan dan antiinflamasi, kajian yang secara spesifik mengevaluasi pengaruh pemberian *Moringa oleifera* terhadap ekspresi mRNA CD36 pada jaringan otak tikus yang

dipapar etilen glikol masih terbatas. Selain itu, informasi mengenai respons ekspresi gen CD36 berdasarkan variasi dosis *Moringa oleifera* dalam kondisi paparan etilen glikol belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini memiliki kebaruan dalam mengkaji modulasi ekspresi mRNA CD36 sebagai indikator gangguan metabolisme lipid akibat etilen glikol serta potensi efek protektif *Moringa oleifera* berdasarkan perbedaan dosis perlakuan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi ekstrak daun kelor dalam mengurangi dampak kerusakan otak yang disebabkan oleh etilen glikol melalui perubahan ekspresi gen CD36. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemahaman lebih dalam mengenai mekanisme perlindungan otak yang dimediasi oleh ekstrak daun kelor, serta membuka jalan untuk terapi alternatif dalam mengatasi kerusakan otak akibat bahan kimia berbahaya.

METODE PENELITIAN

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan, yaitu bulan Mei–Juli 2025. Lokasi penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas Islam Negeri Sumatera Utara, Medan.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi box plastik polipropilen, tempat pakan, botol minum, sonde lambung, *syringe*, timbangan analitik, sarung tangan, kapas, alat bedah, homogenizer atau mortar, mikropipet berbagai ukuran (0,5–10 μ L, 10–100 μ L, 100–1000 μ L), *vortex mixer*, *cooler box* atau freezer, spektrofotometer, sentrifus, PCR machine, elektroforesis machine, dan *gel documentation*.

Bahan yang digunakan meliputi 5 tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, pakan standar, 1 kg simplisia daun kelor (*Moringa oleifera*), etilen glikol pro analisis (Merck), amonium klorida pro analisis (Merck), sekam alas kandang, aquadest, kit isolasi RNA (Favorgen), kit reverse transcriptase II (SMOBIO), TBE 10 \times (1st Base), DNA ladder 100 bp (Geneaid), gen *housekeeping* (GAPDH), primer forward dan reverse gen CD36 (5'-TGTTGCGGAAATACAAGCA-3' dan 3'-GGCAGCAAGAGAGATTGGTC-5'), phosphate-buffered saline (PBS), NaCl 0,9%, gel agarosa, loading dye RNA, dan kit PCR (PowerPol 2 \times PCR Mix with Loading Dye).

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan.

Kelompok KN diberi pakan standar dan minum *ad libitum*.

Kelompok K- mendapat etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 1% selama 3 hari, dilanjutkan etilen glikol 0,75% selama 27 hari.

Kelompok P1, P2, dan P3 mendapat perlakuan yang sama seperti K-, kemudian diberikan ekstrak daun kelor masing-masing dengan dosis 150, 300, dan 450 mg/kg BB sekali sehari selama 20 hari mulai hari ke-11.

Identifikasi Fitokimia Daun Kelor

Daun kelor (*Moringa oleifera*) dilakukan pengujian kualitas untuk senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid, dan fenolat.

Uji flavonoid dilakukan menggunakan beberapa pereaksi, yaitu pereaksi NaOH 10%, pereaksi Wilstater, dan pereaksi Smith Metacalve.

Uji alkaloid dilakukan menggunakan pereaksi Wagner dan Mayer.

Uji saponin dilakukan dengan menambahkan air panas dan dikocok. Reaksi positif ditandai dengan adanya busa yang bertahan dalam waktu lama (Dwika et al., 2016).

Pemeriksaan terpenoid menggunakan asam sulfat pekat (H_2SO_4) sebagai pereaksi. Sebanyak 1 mL ekstrak daun kelor ditambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat. Reaksi positif ditandai dengan adanya bercak berwarna merah muda kecokelatan (Ola, 2020).

Identifikasi fenolat dilakukan dengan menambahkan pereaksi $FeCl_3$ 1% ke dalam 1 mL ekstrak. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna kehitaman atau biru tua (Dwika et al., 2016).

Penyiapan Pengambilan Otak Tikus

Setelah periode perlakuan selesai selama 27 hari, tikus dieutanasia untuk dilakukan pengambilan organ otak menggunakan alat bedah steril. Otak dicuci dengan larutan PBS (*phosphate-buffered saline*) untuk menghilangkan darah dan debris. Sampel otak disimpan dalam tabung 1,5 mL berisi RNA preservation solution, kemudian disimpan pada suhu $-20^\circ C$.

Ekstraksi RNA dari Otak Tikus

Sampel jaringan ± 30 mg digiling dengan nitrogen cair hingga menjadi bubuk halus, kemudian ditambahkan FARB buffer dan β -mercaptoethanol, dihomogenkan, serta diinkubasi sekitar 5 menit.

Sampel disentrifugasi menggunakan kolom filter untuk memperoleh supernatan jernih, lalu dicampur dengan etanol 70% bebas RNase dan dimasukkan ke kolom RNA. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi, pencucian kolom dengan wash buffer (termasuk tahap DNase opsional), serta pengeringan kolom.

RNA kemudian dielusi menggunakan ddH₂O bebas RNase, disentrifugasi, dan disimpan pada suhu $-70^\circ C$ untuk analisis selanjutnya.

Sintesis cDNA

RNA dicampur dengan primer dan DEPC-treated H₂O, kemudian diinkubasi pada $70^\circ C$ selama 5 menit dan didinginkan. Buffer cDNA yang terdiri

dari RT buffer, H₂O, serta enzim RT/RI disiapkan terpisah, lalu digabungkan dengan campuran RNA.

Selanjutnya dilakukan inkubasi pada 25°C selama 10 menit dan 37–50°C selama ±50 menit untuk sintesis cDNA. Reaksi dihentikan pada 85°C selama 5 menit, kemudian cDNA disimpan pada suhu –20°C atau langsung digunakan untuk proses PCR.

Amplifikasi Gen mRNA CD36 dengan PCR

Primer spesifik gen CD36 dan GAPDH ditentukan berdasarkan penelitian sebelumnya. Campuran PCR yang terdiri dari cDNA, primer, dNTP, buffer, Taq polimerase, dan H₂O disiapkan hingga volume 50 µL, kemudian dilakukan proses PCR melalui tahap denaturasi, *annealing*, dan ekstensi sebanyak 25–40 siklus.

Hasil amplifikasi selanjutnya diverifikasi menggunakan elektroforesis gel agarosa 1–2% untuk melihat ukuran pita DNA gen target.

Elektroforesis Gel Agarosa

Buffer TAE/TBE 1× disiapkan dari stok 10×, lalu gel agarosa 1–2% dibuat, dipanaskan, ditambahkan EtBr atau SYBR Safe, dan dibiarkan memadat.

Sampel PCR atau RNA dicampur dengan loading dye, dimasukkan ke sumur gel bersama DNA ladder, kemudian elektroforesis dijalankan pada 80–100 V selama ±30–60 menit.

Pita DNA divisualisasi menggunakan UV transilluminator dan dianalisis menggunakan ImageJ.

HASIL PENELITIAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, data diperoleh dari analisis ekspresi mRNA CD36 pada jaringan otak tikus melalui metode *Reverse Transcription-PCR*. Parameter yang diamati meliputi kualitas dan kuantitas RNA total menggunakan spektrofotometer UV-Vis, visualisasi produk PCR melalui elektroforesis gel agarosa, serta perbandingan ekspresi gen target terhadap gen *housekeeping*. Analisis dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh paparan etilen glikol serta potensi efek protektif ekstrak daun kelor terhadap perubahan ekspresi gen yang berkaitan dengan stres oksidatif dan inflamasi jaringan otak.

Spektrofotometer RNA Otak Tikus

Pengukuran kualitas dan kuantitas RNA jaringan otak tikus dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 260 dan 280 nm untuk memastikan RNA memiliki konsentrasi dan kemurnian yang memadai sebelum analisis *Reverse Transcription-PCR*.

Hasil pengukuran menunjukkan konsentrasi RNA berkisar antara 46,735–122,130 µg/mL dengan rasio kemurnian A₂₆₀/A₂₈₀ antara 1,684–2,338. Nilai yang mendekati 1,8–2,0 menunjukkan RNA relatif murni, meskipun beberapa

sampel dengan nilai di bawah 1,8 mengindikasikan kemungkinan adanya kontaminasi protein atau sisa reagen isolasi (Sari et al., 2019).

Hasil perhitungan volume RNA otak tikus disajikan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Volume RNA Otak Tikus

No	Kelompok	Volume RNA
1	KN	6,3 μ l
2	K(-)	3,7 μ l
3	P1 150	3,4 - 4,8 μ l
4	P2 300	4,5 - 9 μ l
5	P3 450	4,3 - 7,3 μ l

Secara umum, kualitas RNA masih layak untuk sintesis cDNA karena rasio yang mendekati 1,8 masih dapat digunakan selama konsentrasi mencukupi dan normalisasi dilakukan dengan tepat (Wibowo et al., 2020). Penyesuaian volume RNA dilakukan berdasarkan konsentrasi terendah (46,735 μ g/mL), sehingga volume RNA pada sintesis cDNA berkisar antara 3,4–9 μ L. Normalisasi ini bertujuan untuk meminimalkan variasi teknis sehingga perbedaan ekspresi gen lebih mencerminkan pengaruh perlakuan dibandingkan faktor preparasi sampel.

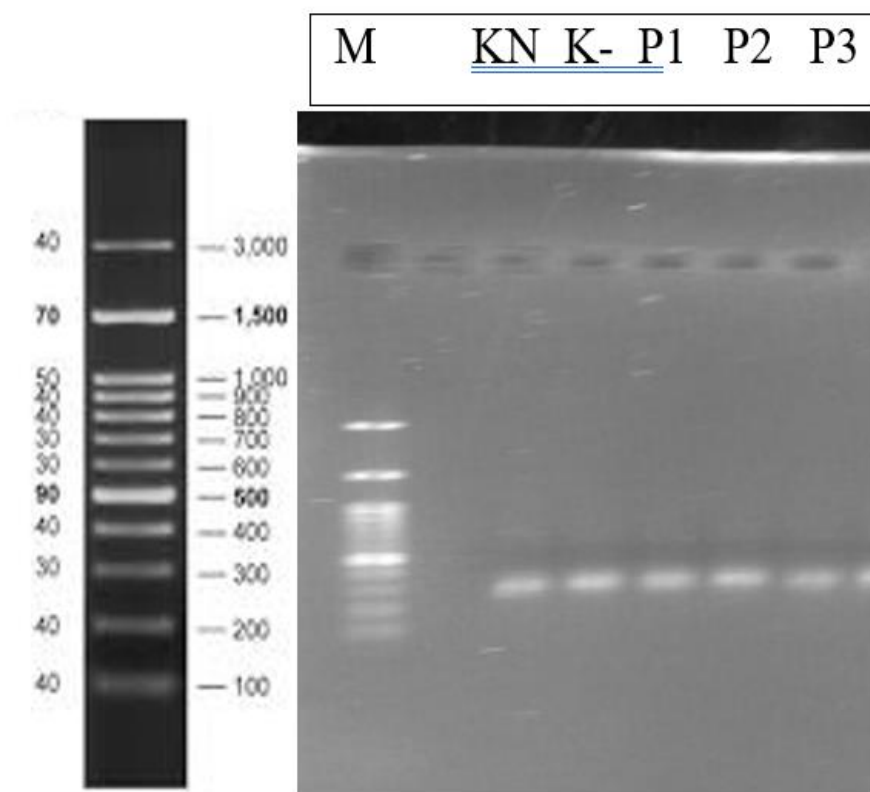
Dengan melakukan standarisasi input RNA, perbedaan ekspresi gen yang teramati pada penelitian ini diharapkan lebih mencerminkan pengaruh perlakuan, bukan akibat perbedaan teknis selama proses preparasi sampel. Perhitungan volume RNA yang digunakan pada masing-masing sampel disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1, volume RNA yang digunakan pada sintesis cDNA bervariasi antara 3,4–9,0 μ L akibat perbedaan konsentrasi RNA hasil isolasi jaringan otak tikus. Penyesuaian volume dilakukan untuk memastikan jumlah RNA total pada setiap reaksi tetap setara. Kelompok kontrol normal (KN) menggunakan 6,3 μ L RNA, sedangkan kontrol negatif (K-) menggunakan 3,7 μ L, yang menunjukkan bahwa konsentrasi RNA K- relatif lebih tinggi.

Pada kelompok perlakuan P1, volume RNA relatif homogen (3,4–4,8 μ L), sementara kelompok P2 menunjukkan variasi yang lebih besar dengan volume tertinggi 9,0 μ L yang mengindikasikan konsentrasi RNA terendah. Kelompok P3 memiliki rentang volume 4,3–7,3 μ L yang mencerminkan variasi respons biologis pada dosis tinggi.

Dengan demikian, variasi volume RNA sebesar 3,4–9,0 μ L pada penelitian ini tidak menunjukkan ketidakkonsistenan metode, melainkan mencerminkan penerapan normalisasi RNA yang tepat. Normalisasi ini menjadi dasar metodologis yang kuat untuk memastikan bahwa hasil analisis ekspresi gen pada tahap selanjutnya dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah.

Untuk memverifikasi keberhasilan proses amplifikasi serta konsistensi gen referensi, produk PCR gen *housekeeping* GAPDH dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarosa dan hasilnya disajikan pada Gambar 1.

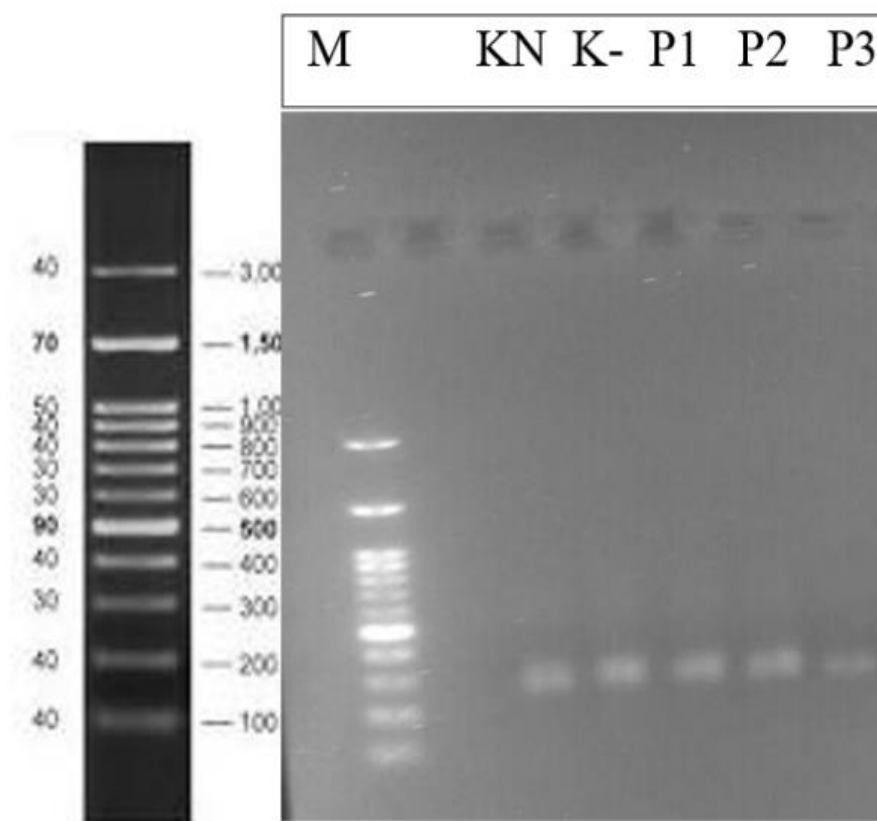


Gambar 1. Elektroforegram PCR Gen Housekeeping GAPDH Gel Divisualisasi.

Berdasarkan Gambar 1, hasil elektroforesis PCR gen *housekeeping* GAPDH menunjukkan pita DNA yang jelas pada seluruh kelompok perlakuan, yaitu kelompok tikus normal (KN), toksik (K-), serta kelompok perlakuan P1, P2, dan P3. Pita DNA terbentuk pada ukuran relatif sama, sekitar 200–300 bp, sesuai dengan ukuran ampikon GAPDH yang umum digunakan pada analisis RT-PCR. Hal ini menunjukkan bahwa proses amplifikasi PCR berlangsung dengan baik dan kualitas template RNA memadai (Zainuddin et al., 2010).

Intensitas pita GAPDH yang relatif seragam pada semua kelompok menunjukkan bahwa ekspresi gen ini stabil dan tidak dipengaruhi oleh perlakuan. Kondisi tersebut mendukung penggunaan GAPDH sebagai gen *housekeeping* untuk normalisasi ekspresi gen target, karena gen referensi yang ideal harus memiliki ekspresi yang konsisten pada berbagai kondisi eksperimental. Selain itu, tidak ditemukannya pita nonspesifik maupun *smearing* menunjukkan bahwa kualitas RNA, proses sintesis cDNA, dan amplifikasi PCR berada dalam kondisi optimal. Stabilitas ekspresi GAPDH ini mengindikasikan bahwa sampel layak digunakan untuk analisis ekspresi gen target selanjutnya (Jacob et al., 2013).

Visualisasi hasil amplifikasi gen target CD36 melalui elektroforesis gel agarosa disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Elektroforegram PCR Gen Target Gen CD36 Gel Divisualisasi.

Berdasarkan Gambar 2, hasil elektroforesis PCR gen CD36 menunjukkan pita DNA pada seluruh kelompok perlakuan dengan ukuran fragmen sekitar ± 200 bp, sesuai dengan ukuran amplicon CD36 yang dilaporkan pada penelitian sebelumnya (Zhang et al., 2018). Pada kelompok kontrol normal (KN), intensitas pita relatif rendah yang menunjukkan bahwa ekspresi CD36 berada pada tingkat basal dalam kondisi fisiologis normal (Silverstein & Febbraio, 2009). Sebaliknya, pada kelompok toksik (K-) terlihat peningkatan intensitas pita yang mengindikasikan bahwa paparan toksik dapat meningkatkan ekspresi CD36 dan berkaitan dengan stres oksidatif (Xiao et al., 2025).

Pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 terlihat kecenderungan penurunan intensitas pita CD36 dibandingkan kelompok toksik. Penurunan paling jelas terlihat pada P2 dan P3, dengan intensitas pita yang mendekati kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan berpotensi memberikan efek protektif terhadap kondisi toksik, kemungkinan melalui penekanan stres oksidatif dan jalur inflamasi yang melibatkan CD36 (Wang et al., 2009).

Untuk mengonversi pengamatan visual tersebut menjadi data yang lebih objektif dan terukur, dilakukan analisis densitometri menggunakan perangkat lunak ImageJ. Metode ini memungkinkan pengukuran intensitas cahaya setiap pita DNA dalam satuan piksel. Setelah dilakukan koreksi terhadap latar belakang, diperoleh nilai intensitas bersih (*net intensity*) gen target (CD36) yang kemudian

dinormalisasi dengan intensitas gen *housekeeping* (GAPDH) pada sampel yang sama. Hasil pengolahan data tersebut disajikan pada tabel berikut.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Volume RNA

Perlakuan	Dosis	Fold Change (Mean)	Fold Change (SD)
KN	-	1	N/A
K-	EG Saja	1.268	N/A
P1	150	1.434	0.395
P2	300	1.001	0.237
P3	450	1.726	0.477

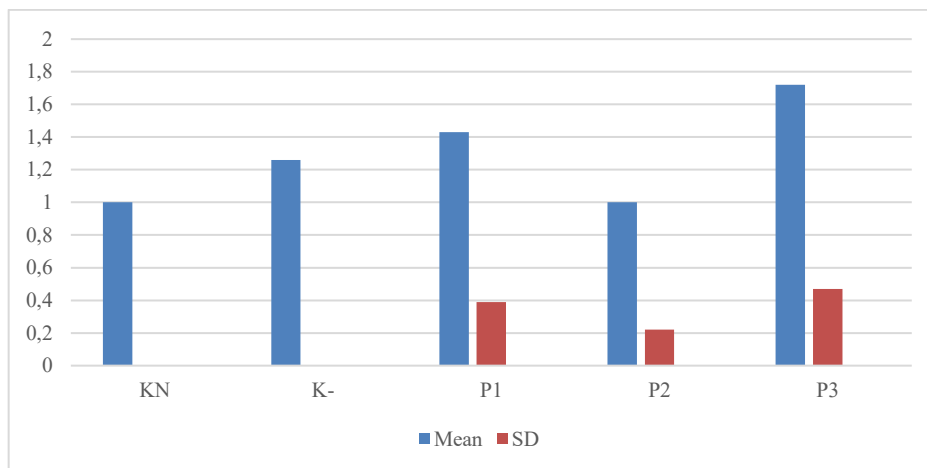
Berdasarkan Tabel 2, nilai *fold change* ekspresi gen menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok perlakuan. Kelompok kontrol normal (KN) memiliki nilai ekspresi relatif sebesar 1 sebagai kontrol acuan. Pada kelompok kontrol negatif (K-) yang diberi EG saja, terjadi peningkatan ekspresi gen menjadi 1,2679. Kelompok perlakuan P1 dengan dosis 150 menunjukkan peningkatan ekspresi menjadi $1,4336 \pm 0,3953$, sedangkan kelompok P2 dengan dosis 300 menunjukkan nilai ekspresi relatif yang mendekati kontrol normal, yaitu $1,0014 \pm 0,2266$. Sementara itu, kelompok P3 dengan dosis 450 menunjukkan ekspresi tertinggi, yaitu $1,7257 \pm 0,4767$. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian perlakuan dengan dosis berbeda dapat memengaruhi tingkat ekspresi gen pada setiap kelompok.

Peningkatan ekspresi gen pada kelompok kontrol negatif (K-) dibandingkan kontrol normal menunjukkan bahwa paparan etilen glikol (EG) dapat memicu respons stres oksidatif atau inflamasi pada sel. Hal ini sejalan dengan peran reseptor CD36 yang diketahui terlibat dalam proses inflamasi dan stres oksidatif melalui pengikatan lipid teroksidasi serta aktivasi jalur inflamasi seluler (Park, 2014).

Pemberian ekstrak daun kelor pada kelompok perlakuan menunjukkan respons yang bervariasi tergantung dosis. Pada dosis 300 (P2), ekspresi gen relatif mendekati kondisi normal, yang menunjukkan potensi efek protektif dari ekstrak daun kelor. Daun kelor diketahui kaya akan senyawa antioksidan seperti flavonoid, polifenol, dan vitamin C yang berperan dalam mengurangi stres oksidatif serta inflamasi pada tingkat seluler (Xu et al., 2019).

Namun, pada dosis yang lebih tinggi (P3), terjadi peningkatan ekspresi gen yang lebih besar. Hal ini dapat disebabkan oleh respons adaptif sel terhadap dosis tinggi atau efek stimulasi tertentu, karena aktivitas biologis senyawa herbal sering bersifat *dose-dependent*. Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak *Moringa oleifera* memiliki aktivitas biologis yang kuat dan dapat memengaruhi ekspresi gen terkait inflamasi serta stres oksidatif, tergantung pada konsentrasi yang digunakan (Ramamurthy et al., 2021).

Pengukuran ekspresi relatif mRNA CD36 terhadap gen *housekeeping* GAPDH pada masing-masing kelompok perlakuan disajikan dalam bentuk grafik pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Pengukuran Ekspresi Mrna CD36 dan Gen Housekeeping GAPDH pada Kelompok Perlakuan

Berdasarkan Gambar 3, hasil pengukuran ekspresi mRNA CD36 yang dinormalisasi terhadap gen *housekeeping* GAPDH menunjukkan bahwa pemberian perlakuan berpengaruh terhadap ekspresi gen relatif. Kelompok kontrol negatif (K-) mengalami peningkatan ekspresi dibandingkan kontrol normal, yang mengindikasikan adanya efek paparan etilen glikol.

Pemberian ekstrak daun kelor pada dosis 300 (P2) cenderung menormalkan ekspresi gen, mendekati kondisi kontrol normal, sedangkan dosis 150 (P1) dan 450 (P3) menunjukkan peningkatan ekspresi yang lebih tinggi. Dengan demikian, ekstrak daun kelor berpotensi memodulasi ekspresi gen, dengan dosis 300 menunjukkan efek paling mendekati kondisi normal.

PEMBAHASAN

Ekstrak daun kelor dapat memodulasi ekspresi gen yang berkaitan dengan stres oksidatif dan inflamasi, yang umumnya berhubungan dengan kandungan senyawa bioaktifnya, seperti flavonoid. Senyawa flavonoid dalam ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) berfungsi sebagai antioksidan yang menangkap radikal bebas (ROS). Penurunan ROS ini dapat menghambat aktivasi jalur pensinyalan sel yang biasanya meningkatkan ekspresi CD36 pada kondisi stres oksidatif.

Flavonoid dapat menekan aktivasi faktor transkripsi NF- κ B, yang berperan dalam respons inflamasi. Karena inflamasi kronis sering meningkatkan ekspresi CD36, penghambatan jalur ini membantu menurunkan ekspresi gen tersebut. CD36 berperan dalam transport asam lemak dan metabolisme lipid. Flavonoid membantu menstabilkan metabolisme lipid seluler sehingga ekspresi CD36 dapat kembali mendekati kondisi normal, terutama bila diberikan pada dosis optimal. Dosis flavonoid yang optimal dapat menormalkan ekspresi CD36 pada kondisi toksik, sedangkan dosis terlalu rendah kurang efektif dan dosis berlebih dapat memicu respons adaptif sel.

Peningkatan CD36 juga berkaitan dengan proses respons imun dan inflamasi karena protein ini berfungsi sebagai *pattern recognition receptor* yang mampu mengenali molekul kerusakan sel dan patogen. Aktivasi CD36 dapat mengintegrasikan sinyal metabolisme lipid dengan jalur inflamasi sehingga berperan dalam modulasi respons imun, diferensiasi sel imun, dan proses inflamasi kronis yang sering ditemukan pada berbagai kondisi penyakit (Wang et al., 2024).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa kualitas dan kuantitas RNA jaringan otak tikus masih layak digunakan untuk sintesis cDNA dan analisis ekspresi gen setelah dilakukan normalisasi volume RNA, dengan gen GAPDH menunjukkan ekspresi yang stabil sebagai gen referensi. Paparan etilen glikol meningkatkan ekspresi mRNA CD36, yang mengindikasikan adanya stres oksidatif dan inflamasi, sedangkan pemberian ekstrak daun kelor menunjukkan efek modulasi yang bersifat *dose-dependent*, dengan dosis 300 paling efektif menormalkan ekspresi gen mendekati kondisi normal. Dengan demikian, ekstrak daun kelor berpotensi membantu menekan stres oksidatif dan inflamasi pada otak tikus yang terpapar etilen glikol.

DAFTAR PUSTAKA

- Alqahtani, G., & Albasher, G. (2020). Ethylene glycol-induced toxicity and the potential neuroprotective role of *Moringa oleifera*. *Journal of Food Biochemistry*, 45(1), 1–11. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13579>
- Bamagous, G., Al Ghamdi, S., Ibrahim, I. A., Mahfoz, A., Afify, M., Alsugoor, M., Shammah, A., Arulselvan, P., & Rengarajan, T. (2018). Antidiabetic and antioxidant activity of ethyl acetate extract fraction of *Moringa oleifera* leaves in streptozotocin-induced diabetes rats via inhibition of inflammatory mediators. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8, 320–327. <https://doi.org/10.4103/2221-1691.235327>
- Chhikara, N., Kaur, A., Mann, S., Garg, M., Sofi, S., & Panghal, A. (2020). Bioactive compounds, associated health benefits and safety considerations of *Moringa oleifera* L.: An updated review. *Nutrition & Food Science*, 51(2), 255–277. <https://doi.org/10.1108/nfs-03-2020-0087>
- Chiş, A., Noubissi, P. A., Pop, O., Mureşan, C., Fokam Tagne, M. A., Kamgang, R., Fodor, A., Sitar-Tăut, A., Cozma, A., Orăşan, O., Hegheş, S., Vulturar, R., & Suharoschi, R. (2023). Bioactive compounds in *Moringa oleifera*: Mechanisms of action, focus on their anti-inflammatory properties. *Plants*, 13(1), 1–25. <https://doi.org/10.3390/plants13010020>
- Giuberti, G., Rocchetti, G., Montesano, D., & Lucini, L. (2021). The potential of *Moringa oleifera* in food formulation: A promising source of functional compounds with health-promoting properties. *Current Opinion in Food Science*, 42(2), 257–269. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.09.001>

- Hindawy, R. F., Manawy, S. M., Nafea, O. E., Abdelhameed, A. A., & Hendawi, F. F. (2024). *Moringa oleifera* leaves ethanolic extract counteracts cortical neurodegeneration induced by aluminum chloride in rats. *Toxicology Research*, 13(2). <https://doi.org/10.1093/toxres/tfae028>
- Mohamed, A. A., Metwally, M. M. M., Khalil, S., Salem, G. A., & Ali, H. (2019). *Moringa oleifera* extract attenuates the CoCl₂-induced hypoxia of rat's brain: Expression pattern of HIF-1 α , NF-kB, MAO and EPO. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 1688–1697. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.019>
- Pomierny, B., Krzyżanowska, W., Smaga, I., Pomierny-Chamióło, L., Stankowicz, P., & Budziszewska, B. (2014). Ethylene glycol ethers induce oxidative stress in the rat brain. *Neurotoxicity Research*, 26(4), 422–429. <https://doi.org/10.1007/s12640-014-9486-8>
- Ioghen, O., Chitoiu, L., Gherghiceanu, M., Ceafalan, L., & Hinescu, M. (2020). CD36 – A novel molecular target in the neurovascular unit. *The European Journal of Neuroscience*, 53(12), 2500–2510. <https://doi.org/10.1111/ejn.15147>
- Li, Y., Angin, Y., Hinescu, M., & Glatz, J. F. C. (2022). CD36 as a signaling receptor and fatty acid transporter that regulates immune cell metabolism and fate. *The Journal of Experimental Medicine*, 219(6), 1–15. <https://doi.org/10.1084/jem.20211314>
- Sarih, K. (2020). *Pengaruh pemberian daun kelor (Moringa oleifera) pada ibu hamil dan menyusui terhadap kualitas ASI dan perkembangan anak usia 18–24 bulan di Kabupaten* [Skripsi, Universitas Hasanuddin]. <https://unhas.ac.id>
- Šerý, O., Goswami, N., & Balcar, V. J. (2020). CD36 gene polymorphisms and Alzheimer's disease. In C. R. Martin & V. R. Preedy (Eds.), *Genetics, neurology, behavior, and diet in dementia* (pp. 51–63). Academic Press.
- Villegas-Vázquez, E. Y., Gómez-Cansino, R., Marcelino-Pérez, G., Jiménez-López, D., & Quintas-Granados, L. (2025). Unveiling the miracle tree: Therapeutic potential of *Moringa oleifera* in chronic disease management and beyond. *Biomedicines*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/biomedicines13030634>
- Wang, J., Cao, H., Yang, H., et al. (2024). The function of CD36 in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Frontiers in Immunology*, 15, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1413947>
- Widyawati, D. S. R. (2015). *Pemeriksaan kadar kreatinin darah pada petugas SPBU* [Skripsi]. STIKes Insan Cendekia Medika Jombang.
- Wihastuti, T. A., Andarini, S., & Heriansyah, T. (2016). *Patofisiologi dasar keperawatan penyakit jantung koroner: Inflamasi vaskular*. Malang: UB Press.
- Worku, B., & Tolossa, N. (2024). A review on the neuroprotective effect of

Moringa oleifera. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2024(1), 1–8. <https://doi.org/10.1155/2024/7694516>

Zhao, L., Varghese, Z., Moorhead, J., & Ruan, X. (2018). CD36 and lipid metabolism in the evolution of atherosclerosis. *British Medical Bulletin*, 126(1), 101–112. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldy006>