**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

# EKSPRESI GEN GPx-3 PADA ORGAN OTAK TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG TERPAPAR STRES OKSIDATIF GANDARIA (*Bouea macrophylla* Griffith)

**Dewi Syukrilla[1], Zahratul Idami[2], Nurlian Augustin Ningrum[3]*, & Kartika Manalu[4]**
[1,2,3,&4]Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara, Jalan Lapangan Golf Nomor 120, Deli Serdang, Sumatera Utara 20353, Indonesia
*Email: nurlian.augustinn@uinsu.ac.id*
*Submit: 21-06-2026; Accepted: 01-07-2026; Published: 27-10-2026*

**ABSTRAK:** Stres oksidatif merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan kerusakan sel saraf di otak melalui peningkatan produksi radikal bebas yang melebihi kapasitas sistem antioksidan. *Glutathione Peroxidase*-3 (GPx-3) merupakan salah satu enzim antioksidan endogen yang berperan dalam menjaga keseimbangan redoks dan melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis ekspresi gen GPx-3 pada organ otak tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang mengalami stres oksidatif akibat induksi karbon tetraklorida ($CCl_4$), serta mengevaluasi pengaruh pemberian ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith.) terhadap perubahan ekspresi gen tersebut. Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental dengan lima kelompok perlakuan, yaitu Kontrol Negatif (KN), Kontrol Positif (K+), serta kelompok pemberian ekstrak etanol buah gandaria dengan dosis 100 mg/kgBB (P1), 150 mg/kgBB (P2), dan 200 mg/kgBB (P3). Analisis ekspresi gen dilakukan menggunakan metode *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dengan GAPDH sebagai *housekeeping gene* untuk normalisasi data. Hasil analisis menunjukkan bahwa kelompok KN memiliki nilai *fold change* sebesar 1, sedangkan kelompok K+ menunjukkan peningkatan ekspresi GPx-3 dengan nilai *fold change* sebesar 1,7 setelah induksi $CCl_4$. Pemberian ekstrak etanol buah gandaria menghasilkan variasi ekspresi gen GPx-3 pada kelompok perlakuan, yaitu P1 sebesar 1,56 ± 0,69, P2 sebesar 2,05 ± 1,22, dan P3 sebesar 2,77 ± 1,17. Berdasarkan nilai *fold change*, dosis 100 mg/kgBB (P1) menunjukkan kecenderungan ekspresi GPx-3 yang paling mendekati kondisi normal dibandingkan kelompok perlakuan lainnya. Perubahan ekspresi GPx-3 tersebut menunjukkan adanya respons sistem pertahanan antioksidan terhadap kondisi stres oksidatif, sehingga ekstrak etanol buah gandaria berpotensi sebagai sumber antioksidan alami dalam mendukung perlindungan sel terhadap kerusakan oksidatif.

**Kata Kunci:** *Bouea macrophylla*, GPx-3, Karbon Tetraklorida ($CCl_4$), RT-PCR, Stres Oksidatif.

***ABSTRACT:*** *Oxidative stress is one of the factors that can cause neuronal damage in the brain through an excessive increase in free radical production that exceeds the capacity of the antioxidant defense system. Glutathione Peroxidase-3 (GPx-3) is an endogenous antioxidant enzyme that plays an important role in maintaining redox balance and protecting cells from oxidative damage. This study aimed to analyze the expression of the GPx-3 gene in the brain tissue of white rats (Rattus norvegicus) experiencing oxidative stress induced by carbon tetrachloride ($CCl_4$), as well as to evaluate the effect of ethanol extract of gandaria fruit (Bouea macrophylla Griffith.) on changes in GPx-3 gene expression. This experimental study used five treatment groups consisting of a negative control group (KN), a positive control group (K+), and three groups treated with different doses of gandaria fruit ethanol extract, namely 100 mg/kg body weight (P1), 150 mg/kg body weight (P2), and 200 mg/kg body weight (P3). Gene expression analysis was performed using Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), with GAPDH used as a housekeeping gene for data normalization. The results showed that the KN group had a fold change value of 1, while the K+ group exhibited an increased GPx-3 gene expression with a fold change value of 1.7 following $CCl_4$ induction. Administration of gandaria fruit ethanol extract resulted in variations in GPx-3 gene expression among the treatment groups, with fold change values of 1.56 ± 0.69 in P1, 2.05 ± 1.22 in P2, and 2.77 ± 1.17 in P3. Based on the fold change values, the 100 mg/kg body*

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

*weight dose (P1) showed a tendency to produce GPx-3 expression levels closest to the normal condition compared with other treatment groups. The alteration of GPx-3 expression indicates an adaptive response of the antioxidant defense system to oxidative stress conditions, suggesting that gandaria fruit ethanol extract has potential as a natural antioxidant source in supporting cellular protection against oxidative damage.*

***Keywords:*** *Bouea macrophylla, GPx-3, Carbon Tetrachloride ($CCl_4$), RT-PCR, Oxidative Stress.*

***How to Cite:*** Syukrilla, D., Idami, Z., Ningrum, N. A., & Manalu, K. (2026). Ekspresi Gen GPx-3 pada Organ Otak Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Terpapar Stres Oksidatif Gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith). *Biocaster : Jurnal Kajian Biologi, 6*(4), 2158-2174. https://doi.org/10.36312/biocaster.v6i4.1712

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi** *is Licensed Under a CC BY-SA Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.*

## PENDAHULUAN

Stres oksidatif merupakan suatu kondisi biologis yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara produksi spesies oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species*/ROS) dan kemampuan sistem pertahanan antioksidan endogen dalam menetralisir senyawa reaktif tersebut (Handayani & Sudesty, 2026; Sattari *et al.*, 2024). Dalam kondisi fisiologis, ROS seperti anion superoksida ($O_2^{\bullet -}$), hidrogen peroksida ($H_2O_2$), dan radikal hidroksil ($OH^{\bullet}$) berperan dalam berbagai proses seluler, termasuk regulasi proliferasi, diferensiasi, dan mekanisme pensinyalan sel. Namun, peningkatan produksi ROS secara berlebihan dapat menyebabkan gangguan homeostasis redoks dan memicu kerusakan oksidatif pada berbagai komponen seluler (Mohseni *et al.*, 2023; Shrivastav *et al.*, 2023). Akumulasi ROS yang tidak terkendali dapat menyebabkan oksidasi lipid membran, perubahan struktur protein, kerusakan DNA, gangguan fungsi mitokondria, serta aktivasi jalur inflamasi yang berkontribusi terhadap perkembangan berbagai penyakit degeneratif (Pratiwi *et al.*, 2016).

Sistem antioksidan tubuh memiliki peranan penting dalam mempertahankan keseimbangan redoks melalui mekanisme enzimatik maupun nonenzimatik. Komponen enzimatik seperti *Superoxide Dismutase* (SOD), *Katalase* (CAT), dan *Glutathione Peroxidase* (GPx) bekerja secara sinergis dalam menghambat akumulasi ROS dan mencegah terjadinya kerusakan seluler. Ketika produksi ROS meningkat akibat paparan faktor eksternal maupun gangguan metabolisme, kapasitas sistem antioksidan dapat mengalami penurunan, sehingga menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Oleh karena itu, perubahan aktivitas maupun ekspresi gen yang berkaitan dengan sistem antioksidan dapat menjadi indikator penting dalam memahami respons biologis suatu jaringan terhadap kondisi oksidatif.

Otak merupakan salah satu organ yang memiliki tingkat kerentanan tinggi terhadap stres oksidatif dibandingkan organ lainnya. Hal ini disebabkan oleh beberapa karakteristik fisiologis, yaitu kebutuhan oksigen yang tinggi untuk mempertahankan aktivitas metabolisme neuron, kandungan asam lemak tak jenuh ganda (*Polyunsaturated Fatty Acids*/PUFA) yang melimpah pada membran sel saraf, serta kapasitas regenerasi sel yang terbatas. Tingginya konsumsi oksigen

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

menyebabkan otak menghasilkan ROS dalam jumlah relatif besar sebagai produk samping metabolisme oksidatif. Apabila produksi ROS tersebut tidak dikendalikan oleh sistem antioksidan, maka dapat terjadi peroksidasi lipid pada membran neuron yang menyebabkan perubahan permeabilitas membran, gangguan komunikasi antar neuron, dan penurunan fungsi sel saraf.

Selain menyebabkan kerusakan struktural, stres oksidatif pada otak juga dapat memengaruhi berbagai jalur molekuler yang berhubungan dengan kelangsungan hidup neuron. Peningkatan ROS dapat mengaktivasi jalur inflamasi, meningkatkan produksi sitokin proinflamasi, mengganggu fungsi mitokondria, serta memicu apoptosis sel saraf. Kondisi tersebut berhubungan dengan berbagai gangguan neurologis seperti penyakit *Alzheimer*, *Parkinson*, *stroke*, dan gangguan kognitif lainnya. Oleh karena itu, pengendalian stres oksidatif melalui peningkatan kapasitas sistem antioksidan menjadi salah satu strategi penting dalam mempertahankan fungsi jaringan otak (Pratiwi *et al.*, 2016).

Salah satu enzim utama dalam sistem pertahanan antioksidan adalah *Glutathione Peroxidase* (GPx), yaitu kelompok enzim yang berperan dalam mengkatalisis reduksi hidrogen peroksida dan lipid hidroperoksida menjadi molekul yang lebih stabil menggunakan *Glutathione* (GSH) sebagai donor elektron. Mekanisme tersebut berperan penting dalam mencegah terjadinya kerusakan oksidatif akibat akumulasi peroksida. Di antara berbagai anggota keluarga GPx, *Glutathione Peroxidase-3* (GPx-3) merupakan isoform ekstraseluler yang memiliki fungsi penting dalam menjaga keseimbangan oksidatif pada jaringan. Ekspresi gen GPx-3 dapat menggambarkan kemampuan adaptasi sel terhadap perubahan lingkungan oksidatif, sehingga berpotensi digunakan sebagai biomarker molekuler untuk mengevaluasi respons sistem antioksidan terhadap paparan stres oksidatif (Pei *et al.*, 2023).

Karbon tetraklorida ($CCl_4$) merupakan salah satu senyawa kimia yang banyak digunakan dalam penelitian eksperimental sebagai induktor stres oksidatif, karena kemampuannya menghasilkan radikal bebas. Setelah mengalami metabolisme, $CCl_4$ akan menghasilkan radikal triklormetil ($CCl_3$•) melalui aktivitas enzim sitokrom P450. Radikal tersebut selanjutnya dapat bereaksi dengan oksigen membentuk radikal triklormetil peroksil ($CCl_3OO$•) yang bersifat sangat reaktif dan mampu menginisiasi proses peroksidasi lipid. Proses tersebut menyebabkan kerusakan membran sel, gangguan fungsi organel, serta peningkatan respons inflamasi. Kondisi ini dapat memicu stres oksidatif akibat ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan kapasitas antioksidan tubuh.

Meskipun $CCl_4$ secara klasik dikenal sebagai agen hepatotoksik, peningkatan stres oksidatif akibat induksi $CCl_4$ juga dapat memberikan dampak sistemik terhadap organ lain, termasuk otak. Radikal bebas dan mediator inflamasi yang terbentuk akibat paparan $CCl_4$ dapat memengaruhi keseimbangan redoks jaringan saraf melalui sirkulasi darah. Kondisi tersebut dapat menyebabkan peningkatan tekanan oksidatif pada neuron dan memengaruhi ekspresi berbagai gen yang berperan dalam mekanisme pertahanan antioksidan, termasuk GPx-3. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa paparan $CCl_4$ berhubungan dengan peningkatan stres oksidatif, gangguan fungsi sel, serta perubahan ekspresi gen yang berkaitan dengan sistem antioksidan (Johra *et al.*, 2023).

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

Penggunaan senyawa antioksidan alami menjadi salah satu pendekatan yang banyak dikembangkan untuk membantu mengurangi dampak stres oksidatif. Senyawa yang berasal dari tanaman memiliki potensi sebagai sumber antioksidan, karena mengandung berbagai metabolit sekunder yang mampu menangkap radikal bebas dan mengatur mekanisme pertahanan seluler. Salah satu tanaman yang memiliki potensi tersebut adalah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith.), tanaman tropis yang banyak ditemukan di wilayah Asia Tenggara dan diketahui memiliki kandungan bioaktif berupa flavonoid, senyawa fenolik, karotenoid, vitamin C, tanin, serta antosianin.

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa kandungan fitokimia dalam *Bouea macrophylla* memiliki aktivitas antioksidan yang berkaitan dengan kemampuan senyawa fenolik dan flavonoid dalam mendonorkan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga dapat menghambat reaksi oksidatif berantai. Penelitian Rudiana *et al.* (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji gandaria memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai $IC_{50}$ sebesar 4,73 µg/mL. Selain itu, Jayantie *et al.* (2022) melaporkan bahwa ekstrak etanol 70% buah gandaria mengandung senyawa fenolik, tanin, flavonoid, flavonol, vitamin C, dan antosianin yang berpotensi berperan sebagai penangkal radikal bebas.

Selain aktivitas antioksidan secara langsung, senyawa bioaktif dalam gandaria juga diduga mampu memengaruhi sistem pertahanan antioksidan endogen melalui regulasi jalur molekuler yang berhubungan dengan respons stres oksidatif. Flavonoid dan senyawa fenolik diketahui memiliki kemampuan untuk memodulasi mekanisme pertahanan sel dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan tertentu serta mempertahankan keseimbangan redoks. Berdasarkan mekanisme tersebut, keberadaan senyawa bioaktif gandaria diduga dapat mendukung peningkatan respons antioksidan seluler, termasuk regulasi ekspresi gen GPx-3, meskipun mekanisme tersebut masih perlu dikonfirmasi melalui penelitian berbasis molekuler.

Penelitian mengenai *Bouea macrophylla* sebelumnya sebagian besar masih berfokus pada karakterisasi kandungan fitokimia, aktivitas antioksidan secara *in vitro*, serta potensi biologis ekstraknya pada berbagai model penelitian. Namun, informasi mengenai pengaruh ekstrak etanol buah gandaria terhadap ekspresi gen antioksidan pada jaringan otak masih sangat terbatas. Sampai saat ini, belum terdapat penelitian yang secara spesifik mengevaluasi perubahan ekspresi gen GPx-3 pada jaringan otak tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan kondisi stres oksidatif akibat induksi $CCl_4$ setelah pemberian ekstrak etanol buah gandaria menggunakan metode RT-PCR.

Dengan demikian, penelitian ini memiliki unsur kebaruan (*novelty*) karena mengevaluasi respons molekuler sistem antioksidan melalui analisis ekspresi gen GPx-3 pada jaringan otak sebagai respons terhadap pemberian ekstrak etanol buah gandaria pada model hewan yang mengalami stres oksidatif. Pendekatan ini diharapkan dapat memberikan informasi baru mengenai hubungan antara kandungan bioaktif gandaria, mekanisme pertahanan antioksidan endogen, dan respons molekuler jaringan otak terhadap kondisi oksidatif.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis ekspresi gen GPx-3 pada organ otak tikus putih (*Rattus norvegicus*)

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

yang mengalami stres oksidatif akibat induksi karbon tetraklorida ($CCl_4$), serta mengevaluasi pengaruh pemberian ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith.) terhadap perubahan ekspresi gen GPx-3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan kajian mengenai potensi tanaman lokal sebagai sumber antioksidan alami serta menjadi dasar untuk penelitian lanjutan terkait mekanisme perlindungan sel terhadap stres oksidatif.

## METODE

### Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama lima bulan, yaitu mulai Maret hingga Agustus 2025. Seluruh tahapan penelitian yang meliputi pemeliharaan hewan uji, pemberian perlakuan, induksi stres oksidatif, pengambilan sampel jaringan otak, serta analisis ekspresi gen GPx-3 dilakukan di Laboratorium Terpadu, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara Medan. Tahap determinasi tanaman *Bouea macrophylla* Griffith dilakukan di Laboratorium Herbarium Medanense, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara untuk memastikan identitas tanaman yang digunakan. Selanjutnya, proses pembuatan ekstrak etanol buah gandaria dan uji skrining fitokimia dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan uji berupa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, yaitu Kontrol Negatif (KN), Kontrol Positif (K+), serta kelompok perlakuan ekstrak etanol buah gandaria dengan dosis 100 mg/kgBB (P1), 150 mg/kgBB (P2), dan 200 mg/kgBB (P3). Kelompok KN hanya diberikan pakan standar dan minum tanpa perlakuan, sedangkan kelompok K+ diberikan pakan standar serta induksi $CCl_4$ dengan dosis 1 mL/kgBB secara intraperitoneal (i.p.) setiap tiga hari selama 30 hari. Kelompok P1, P2, dan P3 diberikan perlakuan yang sama dengan kelompok K+ serta pemberian ekstrak etanol buah gandaria secara oral (*per oral*/p.o.) dengan dosis masing-masing 100, 150, dan 200 mg/kgBB selama 30 hari.

### Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Gandaria

Penelitian ini menggunakan buah gandaria (*Bouea macrophylla*) yang diperoleh dari daerah Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Untuk memastikan identitas tanaman, sampel kemudian diidentifikasi di Laboratorium Herbarium Medanense, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara. Sebanyak 5 kg buah gandaria dipilih sebagai sampel, kemudian dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Buah dipotong kecil dan dikeringkan dengan oven bersuhu 50°C selama 24 jam. Setelah kering, sampel digiling hingga menjadi serbuk halus, lalu diayak untuk memperoleh serbuk simplisia. Ekstraksi dilakukan melalui metode maserasi dengan mengacu pada Yeo *et al.* (2014), menggunakan pelarut etanol 70% dalam rasio 1:10 (1.000 g serbuk : 10 L etanol) selama 48 jam. Etanol dipilih karena memiliki kemampuan melarutkan senyawa bioaktif lebih baik dibandingkan air, mampu menembus dinding sel, serta

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

dapat melarutkan senyawa fenolik non-polar, sehingga menghasilkan ekstrak dengan kandungan fenol yang lebih tinggi. Filtrat hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring, dan larutan yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kasar.

**Persiapan dan Uji Hewan Coba**

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) strain Wistar berumur tiga bulan dengan berat badan 130–140 gram. Sebanyak 20 ekor tikus digunakan sesuai dengan rancangan penelitian yang terdiri atas lima kelompok perlakuan dengan empat kali pengulangan pada setiap kelompok. Hewan uji ditempatkan dalam kandang berukuran 40 cm × 60 cm dan diaklimatisasi selama tujuh hari sebelum perlakuan untuk mengurangi stres akibat perubahan lingkungan yang dapat memengaruhi kondisi fisiologis dan hasil penelitian.

Induksi stres oksidatif dilakukan menggunakan karbon tetraklorida ($CCl_4$) dengan dosis 1 mL/kgBB berdasarkan berat badan tikus. $CCl_4$ terlebih dahulu dilarutkan menggunakan minyak zaitun dengan perbandingan 1:3, kemudian diberikan secara intraperitoneal (i.p.) setiap tiga hari selama 30 hari pada kelompok Kontrol Positif (K+), P1, P2, dan P3. Perhitungan volume induksi $CCl_4$ disesuaikan dengan berat badan masing-masing hewan uji berdasarkan pedoman *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD *guideline*). Perhitungan volume $CCl_4$ yang diberikan pada masing-masing hewan uji dilakukan berdasarkan berat badan individu dengan rumus sebagai berikut:

$$\textbf{Volume } CC1_4 \textbf{ (mL)} = \frac{\textit{Berat badan tikus (g)}}{1000} \textbf{ x Dosis } CC1_4 \textbf{ (mL/kgBB)}$$

Sebagai contoh, pada tikus dengan berat badan 200 gram dan dosis induksi $CCl_4$ sebesar 1 mL/kgBB, maka volume $CCl_4$ yang diberikan adalah:

$$\textbf{Volume } CC1_4 = \frac{200}{1000} \textbf{ x } 1$$

$$\textbf{Volume } CC1_4 = 0{,}2 \textbf{ mL}$$

Volume $CCl_4$ yang telah dihitung kemudian diencerkan menggunakan minyak zaitun dengan perbandingan 1:3 sebelum diberikan secara intraperitoneal (i.p.) pada kelompok Kontrol Positif (K+), P1, P2, dan P3. Induksi dilakukan setiap tiga hari sekali selama 30 hari sesuai dengan pedoman *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD *guideline*). Pemberian ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith.) dilakukan secara oral (*per oral*/p.o.) dengan dosis berbeda sesuai kelompok perlakuan. Dosis ekstrak yang diberikan pada kelompok P1, P2, dan P3 masing-masing adalah 100, 150, dan 200 mg/kgBB selama 30 hari. Penentuan dosis ekstrak dilakukan berdasarkan berat badan hewan uji dengan mengacu pada pedoman konversi dosis hewan coba (OECD *guideline*).

Setelah seluruh perlakuan selesai, hewan uji dieutanasia menggunakan metode inhalasi eter sebagai anestesi. Tikus yang telah kehilangan kesadaran kemudian dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ otak. Jaringan otak dicuci menggunakan larutan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) untuk

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

menghilangkan sisa darah dan jaringan yang tidak diperlukan. Sampel otak selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung mikro berisi *RNA preservation solution* dan disimpan pada suhu -20°C hingga proses analisis ekspresi gen GPx-3 dilakukan (Munawaroh *et al.*, 2024; Rusli *et al.*, 2023).

**Analisis Ekspresi Gen GPx-3**

Ekstraksi RNA total dari jaringan otak tikus dilakukan menggunakan *Favorgen Total RNA Extraction Kit* sesuai dengan protokol produsen. Sebanyak maksimal 30 mg jaringan otak dihomogenisasi menggunakan FARB *Buffer* yang mengandung *β-mercaptoethanol*, kemudian dilakukan proses penyaringan dan sentrifugasi. Supernatan yang diperoleh ditambahkan etanol 70% bebas RNase, selanjutnya RNA dimurnikan menggunakan FARB *Mini Column* melalui tahapan pengikatan, pencucian menggunakan *Wash Buffer* 1 dan *Wash Buffer* 2, serta elusi menggunakan dd$H_2O$ bebas RNase. RNA hasil isolasi kemudian digunakan untuk analisis konsentrasi dan kemurnian menggunakan spektrofotometer UV *microdrop*. Sebanyak 1 µL RNA digunakan untuk pengukuran setelah dilakukan proses *blanking* menggunakan air bebas DNase/RNase. Kualitas RNA ditentukan berdasarkan rasio absorbansi A260/A280, dengan nilai 1,8–2,1 menunjukkan tingkat kemurnian RNA yang baik.

Sintesis cDNA dilakukan menggunakan *Reverse Transcriptase II Kit* (SMOBIO) sesuai dengan protokol yang tersedia. RNA total terlebih dahulu didenaturasi bersama primer, kemudian ditambahkan campuran reaksi yang terdiri atas *buffer* sintesis cDNA dan enzim *reverse transcriptase*. Proses sintesis cDNA dilakukan menggunakan *thermal cycler* melalui tahapan inkubasi sesuai prosedur kit hingga diperoleh cDNA yang siap digunakan untuk proses amplifikasi PCR. cDNA hasil sintesis disimpan pada suhu −20°C hingga digunakan untuk analisis selanjutnya.

Amplifikasi gen GPx-3 dilakukan menggunakan metode PCR konvensional dengan primer spesifik GPx-3, sedangkan GAPDH digunakan sebagai gen *housekeeping* untuk normalisasi ekspresi gen. Primer yang digunakan dalam penelitian ini adalah: 1) Primer GPx-3, yaitu *forward* (5'-CAGAACTCCTGGGC TCACCT-3') dan *Reverse* (5'-TCCATCTTGACGTTGAC-3'); dan 2) Primer GAPDH, yaitu *forward* (5'-GGATACTGAGAGCAAGAGAGA-3') dan *reverse*: 5'-TTATGGGGTCTGGGATGGAA-3').

Campuran reaksi PCR dibuat dengan volume akhir 50 µL yang terdiri atas cDNA *template* sebanyak 2–10 µL, *primer forward* dan *reverse* dengan konsentrasi 0,1–0,5 µM, dNTPs 0,2 mM, 10× *Taq buffer* sebanyak 5 µL, *Taq* DNA *polymerase* sebanyak 0,25 µL, serta air bebas nuklease hingga mencapai volume akhir. Amplifikasi dilakukan menggunakan *thermal cycler* dengan kondisi PCR yang terdiri atas denaturasi awal pada suhu 95°C selama 2 menit, dilanjutkan dengan 25–40 siklus yang meliputi tahap denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 50°C selama 30 detik, dan ekstensi pada suhu 72°C selama 30 detik/kb. Tahap ekstensi akhir dilakukan pada suhu 72°C selama 1 menit.

Produk hasil PCR selanjutnya dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarosa 1–2% dalam *buffer* TAE/TBE. Sampel PCR yang telah dicampurkan dengan *loading dye* dimasukkan ke dalam sumur gel bersama DNA *ladder*, kemudian dilakukan elektroforesis pada kondisi tegangan yang sesuai. Pita DNA

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

hasil amplifikasi divisualisasikan menggunakan UV transilluminator setelah pemberian pewarna DNA dan didokumentasikan untuk analisis lebih lanjut. Intensitas pita GPx-3 kemudian dibandingkan dengan pita GAPDH sebagai kontrol internal untuk memperoleh nilai ekspresi relatif gen dalam bentuk *fold change*. Ukuran produk amplifikasi (*amplicon size*) GPx-3 dan GAPDH ditentukan berdasarkan posisi pita terhadap DNA *ladder* yang digunakan.

**Analisis Data**

Data hasil amplifikasi gen GPx-3 dianalisis berdasarkan intensitas pita (*band*) DNA hasil elektroforesis gel agarosa. Ekspresi relatif gen GPx-3 ditentukan dengan menghitung rasio intensitas pita gen target terhadap intensitas pita gen *housekeeping* GAPDH sebagai kontrol internal. Analisis densitas pita dilakukan menggunakan perangkat lunak *ImageJ* untuk memperoleh nilai intensitas relatif (*relative band intensity*) yang selanjutnya digunakan dalam perhitungan ekspresi gen dalam bentuk *fold change*. Nilai ekspresi relatif gen GPx-3 kemudian dibandingkan antara kelompok Kontrol Negatif (KN), Kontrol Positif (K+), dan kelompok perlakuan ekstrak etanol buah gandaria (P1, P2, dan P3).

Analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Data terlebih dahulu diuji normalitas menggunakan uji *Shapiro–Wilk* dan homogenitas varians menggunakan uji *Levene*. Apabila data memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas, analisis dilanjutkan menggunakan uji *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui perbedaan ekspresi gen GPx-3 antar kelompok perlakuan. Uji lanjut (*post hoc*) *Tukey* dilakukan apabila terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok. Tingkat signifikansi statistik ditetapkan pada nilai $\alpha = 0{,}05$.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kemurnian RNA Organ Otak Tikus

Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian RNA total dari jaringan otak tikus menggunakan spektrofotometer UV *microdrop* disajikan pada Tabel 1. Parameter yang diamati meliputi nilai absorbansi A260, A280, konsentrasi RNA, rasio A260/A280, dan rasio A260/A230 sebagai indikator kualitas RNA sebelum dilakukan sintesis cDNA dan amplifikasi gen GPx-3.

**Tabel 1. Hasil Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian RNA Jaringan Otak Tikus.**

| Sampel | A260 | A280 | Konsentrasi RNA (µg/mL) | A260/A280 | A260/A230 |
|---|---|---|---|---|---|
| KN | 0,08610 | 0,04356 | 32,229 | 2,050 | 1,846 |
| K+ | 0,15260 | 0,07543 | 64,888 | 1,857 | 1,346 |
| P1 | 0,12327 | 0,06026 | 46,374 | 2,115 | 1,957 |
| P2 | 0,06180 | 0,03038 | 25,792 | 1,901 | 1,080 |
| P3 | 0,04053 | 0,02034 | 24,388 | 1,473 | 1,063 |

Berdasarkan hasil pengukuran, konsentrasi RNA tertinggi diperoleh pada kelompok Kontrol Positif (K+) yaitu sebesar 64,888 µg/mL, sedangkan konsentrasi terendah ditemukan pada kelompok P3 sebesar 24,388 µg/mL. Nilai rasio A260/A280 digunakan sebagai parameter utama dalam menentukan tingkat kemurnian RNA. RNA dengan rasio A260/A280 berkisar antara 1,8–2,1 umumnya menunjukkan kualitas RNA yang baik dan sesuai untuk digunakan dalam analisis

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

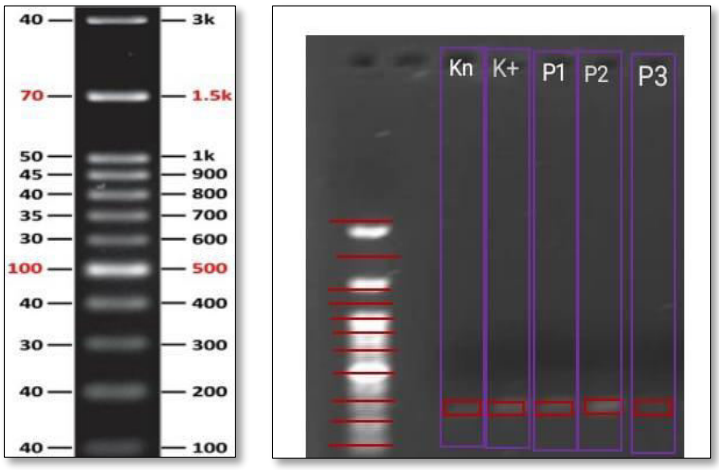
molekuler (Sari *et al.*, 2024). Perbedaan konsentrasi RNA antar kelompok dapat dipengaruhi oleh efektivitas proses ekstraksi serta kualitas sampel yang digunakan.

Sebagian besar sampel pada penelitian ini memiliki nilai rasio A260/A280 dalam rentang yang dapat diterima, yaitu kelompok KN (2,050), K+ (1,857), P1 (2,115), dan P2 (1,901). Hal tersebut menunjukkan bahwa RNA hasil isolasi memiliki tingkat kemurnian yang cukup baik untuk tahap sintesis cDNA. Namun, kelompok P3 menunjukkan nilai rasio A260/A280 sebesar 1,473 yang berada di bawah nilai optimal dan mengindikasikan kemungkinan adanya kontaminasi protein atau penurunan kualitas RNA selama proses isolasi.

Selain rasio A260/A280, nilai A260/A230 digunakan untuk mengevaluasi kemungkinan adanya kontaminasi senyawa organik seperti fenol, garam, atau *residu reagen* ekstraksi. Nilai A260/A230 pada penelitian ini berada pada rentang 1,063–1,957, dengan nilai tertinggi terdapat pada kelompok P1. Variasi nilai kemurnian RNA antar kelompok dapat dipengaruhi oleh proses ekstraksi, kondisi jaringan, serta efektivitas tahap pemurnian RNA. Nilai tersebut menunjukkan bahwa beberapa sampel masih berpotensi mengandung kontaminan yang dapat memengaruhi kualitas RNA untuk analisis lanjutan.

Kualitas RNA merupakan faktor penting dalam keberhasilan analisis ekspresi gen, karena RNA yang mengalami degradasi atau terkontaminasi dapat menghambat aktivitas enzim *reverse transcriptase* dan menyebabkan hasil amplifikasi PCR menjadi kurang optimal. Rendahnya konsentrasi RNA pada beberapa kelompok perlakuan dalam penelitian ini kemungkinan dipengaruhi oleh kondisi penyimpanan jaringan sebelum proses ekstraksi. Penyimpanan jaringan dalam waktu yang lama dapat menyebabkan penurunan stabilitas RNA akibat aktivitas enzim RNase yang menyebabkan degradasi molekul RNA (Kuang *et al.*, 2018). Meskipun terdapat variasi kualitas RNA antar kelompok, sebagian besar sampel masih memenuhi persyaratan untuk digunakan dalam sintesis cDNA dan analisis ekspresi gen GPx-3. Oleh karena itu, hasil amplifikasi PCR yang diperoleh selanjutnya dapat digunakan untuk mengevaluasi perubahan ekspresi gen akibat induksi $CCl_4$ dan pemberian ekstrak etanol buah gandaria.

**Intensitas Ekpresi Gen GPx-3**




**Gambar 2. Intensitas Pita GPx-3.**

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

**Keterangan kelompok perlakuan:**
KN: Kelompok kontrol tanpa pemberian perlakuan dan hanya diberikan pakan standar serta air minum;
K+: Kelompok yang diberikan induksi $CCl_4$ tanpa pemberian ekstrak buah gandaria;
P1: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol buah gandaria dengan dosis 100 mg/kgBB;
P2: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol buah gandaria dengan dosis 150 mg/kgBB; dan
P3: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol buah gandaria dengan dosis 200 mg/kgBB.

*Gen Glutathione Peroxidase 3* (GPx-3) merupakan salah satu enzim antioksidan penting yang berperan dalam menetralisir *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan cara mereduksi hidrogen peroksida ($H_2O_2$) maupun lipid peroksida menggunakan *glutation* (GSH) sebagai donor elektron. Secara molekuler, gen GPx-3 pada *Rattus norvegicus* memiliki panjang sekitar 6,5 *kilobase* (kb) pada genom, sedangkan transkrip mRNA-nya berukuran kurang lebih 1,3 kb. Dalam penelitian berbasis PCR, ukuran *amplicon* yang diamplifikasi dengan primer spesifik umumnya berada pada kisaran 100–200 *base pair* (bp) agar efisiensi amplifikasi optimal. Namun, pada penelitian ini diperoleh *amplicon* sekitar 400–600 bp yang masih dapat diamati sesuai dengan marker DNA yang ditampilkan pada gambar. Satuan bp (*base pair*) sendiri menunjukkan panjang DNA atau RNA berdasarkan jumlah pasangan basa nukleotida (A-T/G-C pada DNA atau A-U/G-C pada RNA). Satuan ini sangat penting, karena digunakan untuk menentukan ukuran gen, membandingkan hasil PCR dengan marker DNA, serta memastikan primer menarget fragmen yang benar pada gen GPx-3.

Pita DNA yang muncul pada gel elektroforesis menandakan keberhasilan amplifikasi cDNA GPx-3, dimana intensitas pita dapat diinterpretasikan sebagai gambaran relatif tingkat ekspresi gen. Dengan kata lain, semakin terang pita maka semakin tinggi ekspresi GPx-3, sedangkan pita yang redup menunjukkan penurunan ekspresi. Akan tetapi, peningkatan ekspresi gen tidak selalu berarti kondisi biologis lebih baik. Justru, ketika tubuh masih mengalami stres oksidatif yang berat, peningkatan ekspresi GPx-3 mencerminkan bahwa sel harus bekerja lebih keras dengan meningkatkan produksi enzim antioksidan untuk menetralisir toksin. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak gandaria belum cukup efektif menurunkan kadar radikal bebas, sehingga tubuh masih mengandalkan mekanisme kompensasi endogen.

Ekspresi GPx-3 yang meningkat biasanya mencerminkan adanya aktivasi mekanisme pertahanan tubuh terhadap stres oksidatif, yakni sel berusaha meningkatkan produksi enzim antioksidan untuk menetralkan radikal bebas. Namun, ekspresi yang terlalu tinggi juga bisa berarti adanya kondisi stres oksidatif berat yang memicu *upregulasi* kompensasi. Sebaliknya, bila ekspresi GPx-3 menurun, hal ini dapat mengindikasikan bahwa sistem pertahanan antioksidan sel tidak mampu menanggapi stres oksidatif secara adekuat, sehingga tubuh rentan terhadap kerusakan oksidatif lebih lanjut. Dengan dasar ini, pembahasan berikut menjelaskan secara rinci kondisi setiap perlakuan (KN, K+, P1, P2, P3) berdasarkan hasil intensitas pita.

Kelompok Kontrol Normal (KN) menunjukkan pita GPx-3 yang tampak samar namun stabil dan sesuai dengan ukuran *amplicon* yang diharapkan. Kondisi ini mengindikasikan bahwa pada keadaan fisiologis normal, otak tikus memiliki

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

ekspresi basal GPx-3 yang cukup untuk mempertahankan keseimbangan redoks dan melindungi sel saraf dari paparan spesies oksigen reaktif (ROS). Intensitas pita yang konsisten juga mencerminkan kualitas RNA yang baik dan tidak adanya stres oksidatif berlebih, sehingga kelompok KN digunakan sebagai acuan normalisasi untuk menentukan tingkat ekspresi fisiologis GPx-3.

Pada kelompok Kontrol Positif (K+) yang diinduksi $CCl_4$ tanpa perlakuan ekstrak gandaria, pita GPx-3 tampak lebih terang dibandingkan kelompok KN. Peningkatan intensitas pita tersebut menunjukkan adanya peningkatan ekspresi gen GPx-3 sebagai respons adaptif terhadap peningkatan stres oksidatif akibat paparan $CCl_4$. Induksi $CCl_4$ menghasilkan metabolit reaktif berupa radikal triklorometil ($CCl_3$•) dan radikal triklorometil peroksi ($CCl_3OO$•) yang dapat memicu pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS), sehingga mengaktifkan sistem pertahanan antioksidan endogen, termasuk peningkatan ekspresi enzim *Glutathione Peroxidase* (GPx) untuk mempertahankan keseimbangan redoks seluler. Hasil ini sejalan dengan penelitian Johra *et al.* (2023) yang melaporkan bahwa paparan $CCl_4$ dapat meningkatkan stres oksidatif dan memengaruhi regulasi gen yang berperan dalam mekanisme pertahanan antioksidan.

Pada kelompok perlakuan P1 (100 mg/kgBB), intensitas pita GPx-3 terlihat lebih rendah dibandingkan kelompok K+. Penurunan ekspresi tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah gandaria mampu mengurangi tekanan oksidatif akibat induksi $CCl_4$, sehingga aktivasi kompensasi ekspresi GPx-3 tidak diperlukan dalam tingkat yang tinggi. Efek tersebut diduga berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif dalam buah gandaria, seperti flavonoid, fenolik, dan vitamin C yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas serta meningkatkan kapasitas antioksidan endogen. Penelitian Jayantie *et al.* (2022) menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Bouea macrophylla* mengandung senyawa fenolik, flavonoid, flavonol, tanin, dan antosianin yang berpotensi memberikan aktivitas antioksidan melalui mekanisme penetralan ROS.

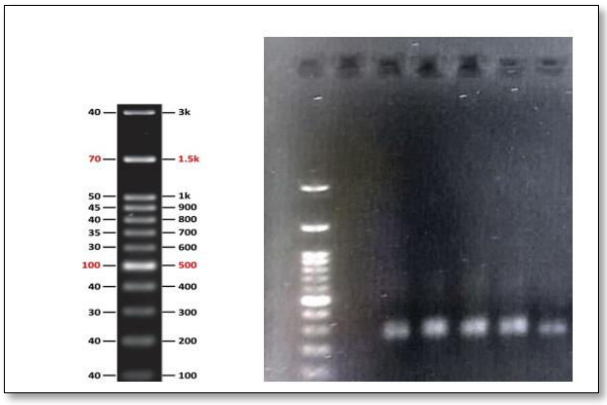
Sebaliknya, pada kelompok P2 (150 mg/kgBB), intensitas pita GPx-3 terlihat lebih tinggi dibandingkan P1 dan mendekati kelompok K+. Kondisi ini menunjukkan bahwa perlindungan antioksidan pada dosis tersebut belum optimal, sehingga sel masih mengalami tekanan oksidatif yang menyebabkan peningkatan ekspresi GPx-3 sebagai mekanisme kompensasi. Variasi respons berdasarkan dosis juga telah dilaporkan pada beberapa penelitian mengenai penggunaan bahan alam sebagai agen antioksidan, dimana peningkatan dosis tidak selalu menghasilkan efek protektif yang lebih besar. Hal ini dapat terjadi karena aktivitas biologis senyawa fitokimia dipengaruhi oleh konsentrasi, bioavailabilitas, serta interaksi antar komponen aktif dalam ekstrak.

Pada kelompok P3 (200 mg/kgBB), intensitas pita GPx-3 kembali menunjukkan penurunan dibandingkan kelompok P2. Penurunan ini dapat menunjukkan bahwa dosis tinggi ekstrak gandaria memberikan efek modulasi terhadap sistem antioksidan seluler. Namun, mekanisme tersebut perlu ditafsirkan secara hati-hati, karena penurunan ekspresi GPx-3 tidak selalu menunjukkan peningkatan perlindungan, tetapi dapat pula mencerminkan perubahan regulasi gen akibat kondisi biologis tertentu. Beberapa penelitian terkait penggunaan antioksidan alami menunjukkan bahwa senyawa bioaktif pada konsentrasi tinggi

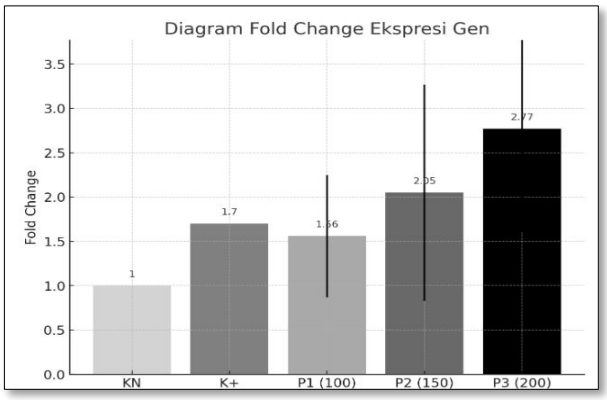
**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

dapat memiliki aktivitas prooksidan melalui peningkatan produksi ROS sekunder atau perubahan jalur regulasi antioksidan (Sies *et al.*, 2017). Oleh karena itu, diperlukan analisis lebih lanjut untuk menentukan hubungan antara dosis ekstrak, kadar ROS, aktivitas enzim GPx, dan ekspresi gen GPx-3. Berdasarkan hasil visualisasi pita PCR dan nilai *fold change*, kelompok P1 (100 mg/kgBB) menunjukkan pola ekspresi GPx-3 yang paling mendekati kelompok kontrol normal. Hasil ini menunjukkan bahwa dosis tersebut kemungkinan memberikan keseimbangan optimal antara aktivitas antioksidan ekstrak gandaria dan respons adaptif sistem pertahanan sel. Namun, karena analisis PCR konvensional hanya memberikan gambaran berdasarkan intensitas pita, diperlukan analisis densitometri menggunakan *ImageJ* serta analisis statistik untuk memastikan adanya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan.

**Densitas Pita Ekspresi Gen GPx-3 dan GAPDH**




**Gambar 3. Intensitas Pita GAPDH.**




**Gambar 4. Grafik Nilai Densitas GPx-3 dan GAPDH.**

Interpretasi ekspresi gen GPx-3 pada penelitian ini dilakukan berdasarkan hasil kuantifikasi densitas pita (*band intensity*) yang diperoleh dari hasil elektroforesis PCR. Analisis ekspresi gen tidak hanya didasarkan pada pengamatan visual terhadap ketebalan atau kecerahan pita DNA, tetapi menggunakan nilai densitas relatif yang diperoleh melalui analisis *net intensity* menggunakan perangkat lunak *ImageJ*. Data densitas pita GPx-3 kemudian dinormalisasi terhadap

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

densitas pita GAPDH sebagai gen *housekeeping* untuk menghasilkan nilai ekspresi relatif (*fold change*). Normalisasi menggunakan gen internal diperlukan untuk mengurangi variasi teknis yang dapat terjadi selama proses isolasi RNA, sintesis cDNA, maupun proses amplifikasi PCR. Dengan demikian, perubahan ekspresi GPx-3 yang diperoleh lebih menggambarkan respons biologis jaringan otak terhadap induksi $CCl_4$ dan pemberian ekstrak etanol buah gandaria, bukan disebabkan oleh variasi jumlah RNA awal atau efisiensi reaksi PCR (Zhang *et al.*, 2024).

Penggunaan GAPDH sebagai kontrol internal pada penelitian ini didasarkan pada perannya sebagai gen yang diekspresikan secara konstitutif dalam berbagai jaringan dan berfungsi dalam proses metabolisme glikolisis. Ekspresi GAPDH yang relatif stabil memungkinkan nilai intensitas GPx-3 dibandingkan secara lebih akurat antar kelompok perlakuan. Dalam penelitian ekspresi gen berbasis PCR, pemilihan gen referensi yang sesuai menjadi faktor penting, karena perubahan ekspresi gen *housekeeping* akibat perlakuan eksperimental dapat menyebabkan interpretasi hasil menjadi bias. Oleh karena itu, penggunaan GAPDH sebagai pembanding internal memberikan dasar yang lebih kuat dalam menentukan perubahan ekspresi GPx-3 pada jaringan otak tikus yang mengalami kondisi stres oksidatif.

Berdasarkan hasil analisis densitometri, kelompok Kontrol Normal (KN) memiliki nilai *fold change* sebesar 1 yang digunakan sebagai nilai dasar ekspresi GPx-3 fisiologis. Nilai tersebut menggambarkan kondisi basal ekspresi gen GPx-3 pada jaringan otak tikus tanpa adanya induksi toksikan maupun pemberian ekstrak. Pada kondisi normal, sistem antioksidan endogen mampu mempertahankan keseimbangan antara produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan mekanisme pertahanan seluler, sehingga ekspresi gen antioksidan seperti GPx-3 berada dalam tingkat yang stabil. Kondisi ini menjadi acuan dalam mengevaluasi perubahan ekspresi GPx-3 pada kelompok yang mengalami induksi $CCl_4$ maupun perlakuan ekstrak gandaria.

Kelompok Kontrol Positif (K+) yang mendapatkan induksi $CCl_4$ tanpa pemberian ekstrak menunjukkan peningkatan ekspresi GPx-3 dengan nilai *fold change* sebesar 1,7 dibandingkan kelompok KN. Peningkatan tersebut menunjukkan bahwa paparan $CCl_4$ mampu menyebabkan perubahan status redoks pada jaringan otak, sehingga memicu aktivasi sistem pertahanan antioksidan endogen. $CCl_4$ diketahui mengalami metabolisme menjadi radikal bebas triklormetil ($CCl_3$•) melalui aktivitas enzim sitokrom P450. Radikal tersebut selanjutnya dapat bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil ($CCl_3OO$•) yang menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid, kerusakan membran sel, dan gangguan homeostasis oksidatif. Kondisi peningkatan ROS tersebut menyebabkan sel melakukan respons adaptif dengan meningkatkan ekspresi berbagai gen antioksidan, termasuk GPx-3, sebagai mekanisme untuk mengurangi akumulasi peroksida dan mempertahankan fungsi neuron.

Peningkatan ekspresi GPx-3 pada kelompok K+ menunjukkan bahwa induksi $CCl_4$ berhasil menciptakan model stres oksidatif pada penelitian ini. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Johra *et al.* (2023) yang melaporkan bahwa paparan $CCl_4$ dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas dan menyebabkan gangguan keseimbangan oksidatif melalui peningkatan kerusakan seluler. Aktivasi

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

enzim antioksidan seperti GPx merupakan salah satu mekanisme kompensasi tubuh untuk menetralisir peningkatan hidrogen peroksida ($H_2O_2$) dan lipid hidroperoksida yang terbentuk selama kondisi stres oksidatif. Oleh karena itu, kelompok K+ berperan sebagai pembanding penting untuk menilai kemampuan ekstrak buah gandaria dalam memodulasi respons antioksidan akibat induksi $CCl_4$.

Pada kelompok perlakuan P1 dengan pemberian ekstrak etanol buah gandaria dosis 100 mg/kgBB, nilai *fold change* GPx-3 sebesar 1,56 ± 0,69 menunjukkan penurunan dibandingkan kelompok K+. Berdasarkan hasil densitometri yang telah dinormalisasi terhadap GAPDH, kelompok P1 memiliki pola ekspresi yang lebih mendekati kelompok KN dibandingkan kelompok perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak gandaria pada dosis tersebut mampu mengurangi tekanan oksidatif yang ditimbulkan oleh $CCl_4$, sehingga aktivasi kompensasi ekspresi GPx-3 tidak meningkat secara berlebihan. Dengan kata lain, penurunan ekspresi relatif GPx-3 pada kelompok P1 tidak menunjukkan penurunan kemampuan antioksidan, tetapi mencerminkan berkurangnya stimulus stres oksidatif yang memicu aktivasi gen tersebut.

Efek protektif ekstrak gandaria pada kelompok P1 diduga berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam buah *Bouea macrophylla*, terutama flavonoid, senyawa fenolik, tanin, antosianin, dan vitamin C. Senyawa flavonoid diketahui memiliki kemampuan sebagai donor elektron yang dapat menangkap radikal bebas secara langsung, sehingga mengurangi jumlah ROS yang beredar di dalam sel. Selain mekanisme penangkapan radikal bebas secara langsung, flavonoid juga berperan dalam regulasi jalur molekuler antioksidan melalui aktivasi faktor transkripsi *Nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2). Aktivasi Nrf2 menyebabkan translokasi faktor tersebut menuju nukleus dan berikatan dengan *Antioxidant Response Element* (ARE) pada daerah promoter berbagai gen antioksidan, termasuk gen yang mengkode enzim detoksifikasi dan perlindungan oksidatif seperti GPx.

Pada kelompok P2 dengan dosis ekstrak gandaria 150 mg/kgBB, nilai *fold change* GPx-3 meningkat menjadi 2,05 ± 1,22. Peningkatan ekspresi tersebut menunjukkan bahwa respons antioksidan pada dosis ini masih mengalami aktivasi yang lebih tinggi dibandingkan kelompok P1. Kondisi ini dapat menunjukkan bahwa tekanan oksidatif akibat $CCl_4$ masih berlangsung, sehingga sel mempertahankan respons kompensasi melalui peningkatan ekspresi GPx-3. Peningkatan dosis ekstrak tidak selalu menghasilkan peningkatan efek protektif secara linear, karena aktivitas senyawa bioaktif dipengaruhi oleh faktor seperti konsentrasi efektif, absorpsi, metabolisme, dan interaksi antar komponen fitokimia.

Pada kelompok P3 dengan dosis ekstrak gandaria 200 mg/kgBB, nilai *fold change* menunjukkan peningkatan paling tinggi yaitu sebesar 2,77 ± 1,17. Berdasarkan hasil tersebut, peningkatan dosis ekstrak tidak menyebabkan penurunan ekspresi GPx-3 seperti yang diamati pada P1, tetapi justru mempertahankan aktivasi gen antioksidan pada tingkat yang lebih tinggi. Hal ini kemungkinan menunjukkan bahwa pada dosis tinggi, jaringan masih mengalami stimulasi oksidatif atau membutuhkan mekanisme pertahanan tambahan untuk mempertahankan keseimbangan redoks. Peningkatan ekspresi GPx-3 pada P2 dan P3 perlu dipahami sebagai bentuk respons adaptif sel, bukan semata-mata

**Biocaster : Jurnal Kajian Biologi**
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
*Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2158-2174*
*Email: biocasterjournal@gmail.com*

menunjukkan efektivitas antioksidan yang lebih rendah. Dengan demikian, respons ekspresi GPx-3 dapat mencerminkan penyesuaian mekanisme pertahanan antioksidan terhadap perubahan dosis ekstrak gandaria.

Fenomena respons bergantung dosis pada penggunaan senyawa antioksidan alami telah banyak dilaporkan dalam penelitian sebelumnya. Senyawa bioaktif tanaman dapat memberikan efek protektif pada konsentrasi tertentu, tetapi peningkatan dosis tidak selalu meningkatkan aktivitas biologis, karena adanya batas optimal interaksi antara senyawa aktif dan sistem biologis. Jayantie *et al.* (2022) melaporkan bahwa ekstrak etanol *Bouea macrophylla* memiliki kandungan fenolik dan flavonoid yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Namun, respons biologis terhadap ekstrak tanaman dapat dipengaruhi oleh dosis, lama pemberian, serta kondisi fisiologis organisme uji.

Secara keseluruhan, berdasarkan hasil kuantifikasi densitas pita yang telah dinormalisasi terhadap GAPDH, kelompok P1 dengan dosis 100 mg/kgBB menunjukkan pola ekspresi GPx-3 yang paling mendekati kondisi normal. Hal tersebut menunjukkan bahwa dosis tersebut memberikan keseimbangan optimal antara aktivitas antioksidan ekstrak gandaria dan regulasi sistem pertahanan endogen. Namun, interpretasi ini masih perlu dikonfirmasi melalui analisis tambahan, seperti pengukuran kadar ROS, *Malondialdehid* (MDA), aktivitas enzim GPx, serta analisis statistik untuk menentukan apakah perbedaan antar kelompok memiliki signifikansi secara biologis maupun statistik.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, induksi karbon tetraklorida ($CCl_4$) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) menyebabkan perubahan ekspresi gen GPx-3 pada jaringan otak yang ditunjukkan melalui peningkatan nilai *fold change* dibandingkan kelompok kontrol normal. Peningkatan ekspresi GPx-3 pada kelompok kontrol positif menunjukkan adanya respons adaptif sistem antioksidan endogen terhadap kondisi stres oksidatif akibat paparan $CCl_4$. Pemberian ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griff.) memberikan pengaruh yang berbeda terhadap ekspresi gen GPx-3 berdasarkan variasi dosis perlakuan. Kelompok P1 dengan dosis 100 mg/kgBB menunjukkan nilai *fold change* sebesar 1,56 ± 0,69 yang memiliki kecenderungan paling mendekati kondisi kontrol normal dibandingkan kelompok P2 (2,05 ± 1,22) dan P3 (2,77 ± 1,17).

Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah gandaria berpotensi memengaruhi regulasi ekspresi gen GPx-3 dalam merespons stres oksidatif yang diinduksi $CCl_4$. Berdasarkan hasil analisis densitometri yang dinormalisasi terhadap GAPDH, dosis 100 mg/kgBB menunjukkan kecenderungan sebagai dosis yang memberikan respons paling optimal dalam mempertahankan ekspresi GPx-3 mendekati kondisi fisiologis. Namun, diperlukan analisis statistik dan pengujian *biomarker* oksidatif lainnya untuk memastikan efektivitas perlindungan ekstrak gandaria terhadap kerusakan oksidatif pada jaringan otak.

## SARAN

Penelitian selanjutnya disarankan untuk menambah variasi dosis dan jumlah sampel, serta menggunakan metode molekuler lain seperti *Western blot* atau *ELISA*

untuk mengukur tingkat protein GPx-3 secara langsung. Analisis terhadap senyawa bioaktif spesifik dalam ekstrak gandaria dan uji toksisitas jangka panjang juga perlu dilakukan guna memperkuat bukti efektivitas serta keamanan ekstrak gandaria sebagai kandidat antioksidan alami.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing atas bimbingan, arahan, dan motivasi yang diberikan selama proses penelitian. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada kedua orang tua, keluarga, sahabat, serta seluruh pihak yang telah memberikan doa, dukungan, dan bantuan, baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

## DAFTAR RUJUKAN

Handayani, S. O., & Sudesty, S. P. (2026). Strategi Antioksidan dalam Menekan Stress Oksidatif : Bukti Pre-Klinis dan Klinis. *Jurnal Kesehatan Tambusai, 7*(2), 5858–5867. https://doi.org/10.31004/jkt.v7i2.56709

Jayantie, D. D., Farida, Y., & Taurhesia, S. (2022). Aktivitas Antioksidan dan Inhibisi Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol Buah Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff.) secara *In Vitro*. *Pharmacoscript, 5*(1), 63–70. https://doi.org/10.36423/pharmacoscript.v5i1.856

Johra, F. T., Hossain, S., Jain, P., Bristy, A. T., Emran, T., Ahmed, R., & Reza, H. M. (2023). Amelioration of $CCl_4$-Induced Oxidative Stress and Hepatotoxicity by *Ganoderma lucidum* in Long Evans Rats. *Scientific Reports, 13*(1), 1-13. https://doi.org/10.1038/s41598-023-35228-y

Kuang, J., Yan, X., Genders, A. J., Granata, C., & Bishop, D. J. (2018). An Overview of Technical Considerations when Using Quantitative Real-Time PCR Analysis of Gene Expression in Human Exercise Research. *PLoS ONE, 13*(5), 1-27. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196438

Mohseni, G. K., Hosseini, S. A., Majdinasab, N., & Cheraghian, B. (2023). Effects of N-Acetylcysteine on Oxidative Stress Biomarkers, Depression, and Anxiety Symptoms in Patients with Multiple Sclerosis. *Neuropsychopharmacology Reports, 43*(3), 382–390. https://doi.org/10.1002/npr2.12360

Munawaroh, F., Hanif, A. A., Kemuning, A. R., Mutmainah, I., Rachmawati, Y., & Nurdin, N. M. (2024). Efek Asam Klorogenat pada Ekspresi mRNA IL-6 dan CD86 Lobus Frontal Tikus Model Diabetes Mellitus. *Plexus Medical Journal, 3*(4), 154–162. https://doi.org/10.20961/plexus.v3i4.1815

Pei, J., Pan, X., Wei, G., & Hua, Y. (2023). Research Progress of Glutathione Peroxidase Family (GPX) in Redox Regulation. *Frontiers in Pharmacology, 14*(1), 1-14. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1141414

Pratiwi, S., Durry, M. F., & Kairupan, C. (2016). Gambaran Histopatologik Hati Tikus Wistar yang Diberi Minuman Kopi Pascainduksi Karbon Tetraklorida ($CCl_4$). *Jurnal e-Biomedik, 4*(1), 1-6. https://doi.org/10.35790/ebm.4.1.2016.12206

Rudiana, T., Fitriyanti, F., & Adawiah, A. (2018). Aktivitas Antioksidan dari

Batang Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff.). *EduChemia : Jurnal Kimia dan Pendidikan, 3*(2), 195-205. https://doi.org/10.30870/educhemia.v3i2.3328

Rusli, R. N. M., Naomi, R., Yazid, M. D., Embong, H., Perumal, K., Othman, F., Jasni, A. S., Jumidil, S. H., Balan, S. S., Abidin, A. Z., Kadir, K. K. A., Bahari, H., & Zakaria, Z. A. (2023). Phytochemical Analysis and Toxicity Assessment of *Bouea macrophylla* Yoghurt. *Toxins, 15*(2), 1-18. https://doi.org/10.3390/toxins15020125

Sari, N., Kristanti, H., & Anggraeni, D. N. (2024). Tingkat Kemurnian Hasil Isolat DNA Mahasiswa STIKES Wira Husada Yogyakarta Berkaitan dengan Pola Makan. *Healthy Tadulako Journal (Jurnal Kesehatan Tadulako), 10*(4), 565–572. https://doi.org/10.22487/htj.v10i4.1313

Sattari, M., Amri, J., Shahaboddin, M. E., & Panahi, G. (2024). The Protective Effects of Fisetin in Metabolic Disorders: A Focus on Oxidative Stress. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders, 23*(2), 1753–1771. https://doi.org/10.1007/s40200-024-01502-7

Shrivastav, D., Dabla, P. K., Sharma, J., Viswas, A., & Mir, R. (2023). Insights on Antioxidant Therapeutic Strategies in Type 2 Diabetes Mellitus. *World Journal of Diabetes, 14*(6), 919–929. https://doi.org/10.4239/wjd.v14.i6.919

Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry, 86*(1), 715–748. https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037

Yeo, B. T., Krienen, F. M., Chee, M. W., & Buckner, R. L. (2014). Estimates of Segregation and Overlap of Functional Connectivity Networks in the Human Cerebral Cortex. *NeuroImage, 88*(1), 212–227. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.10.046

Zhang, N., Liao, H., Lin, Z., & Tang, Q. (2024). Insights into the Role of Glutathione Peroxidase 3 in Non-Neoplastic Diseases. *Biomolecules, 14*(6), 1-31. https://doi.org/10.3390/biom14060689