

## PENGARUH PEMBERIAN MADU KELENGKENG TERHADAP AKTIVITAS ENZIM SUPEROXIDE DISMUTASE DAN KATALASE PADA TIKUS YANG DIINDUKSI Pb Asetat

Ari Yuniastuti<sup>1\*</sup>, Kamilatussainah<sup>1</sup>, Fitri Arum Sasi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang Gedung D6 Lt 1. Kampus Unnes Sekaran Jl. Raya Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229.

\*Email: Ari\_yuniastuti@yahoo.co.id

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim antioksidan superoksida dismutase (SOD) dan katalase dalam plasma tikus wistar yang diinduksi Pb asetat dan suplementasi madu kelengkeng. Penelitian eksperimental laboratorik, dengan rancangan *The Post Test-Only Group Design* dilakukan pada bulan Maret 2015 menggunakan hewan coba tikus putih wistar umur 2-3 bulan dengan berat badan 150-250. Sebanyak 20 ekor tikus diadaptasi dan diberi pakan standar selama 2 minggu. Selanjutnya dibagi secara acak menjadi 4 kelompok, yaitu : kelompok kontrol hanya diberi pakan standar, K(-): kelompok tikus yang diberi perlakuan Pb asetat 10 mg/kgBB, P1 : kelompok tikus yang disuplementasi madu kelengkeng 0,9 ml/200 grBB dan Pb asetat 10 mg/kgBB, P2: kelompok tikus yang disuplementasi madu kelengkeng 1,8 ml/200 grBB dan Pb asetat 10 mg/kgBB dilakukan selama 14 hari. Setelah akhir perlakuan tikus diambil darahnya melalui plexus retroorbitalis untuk diukur kadar SOD dan CAT. Hasil pemeriksaan dianalisis dengan uji *Chi Square* dengan batas signifikansi = 0,05. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tikus kelompok kontrol kadar SOD 141,50 µ/ml dan CAT 0,8 µ/ml; K(-) kadar SOD 77,71 µ/ml dan CAT 0,12 µ/ml; P1 kadar SOD 289,82 µ/ml dan CAT 1,21. Sedangkan pada tikus P2, kadar SOD 391,59 dan kadar CAT 3,62. Secara statistik terdapat perbedaan signifikan antar kelompok.

**Kata kunci:** antioksidan, katalase, madu kelengkeng, superoksid dismutase

## 1. PENDAHULUAN

Madu adalah cairan manis yang berasal dari nektar tumbuhan yang diproduksi oleh lebah madu. Madu memiliki kemampuan untuk mengeliminasi radikal bebas melalui reaksi reduksi dan konjugasi sehingga dapat digunakan sebagai protektor organ hepar akibat dari paparan radikal bebas (Masniari, 2013). Madu diketahui memiliki kandungan asam organik, mineral, vitamin, serta kaya akan zat-zat aktif yang berperan sebagai antioksidan yang dapat melindungi hepar dari kerusakan (Moruk, 2006; Erguder, 2008). Kerusakan hepar menyebabkan berkurangnya kadar dan aktivitas enzim-enzim antioksidan endogen dalam hepar dalam mendetoksifikasi radikal bebas.

Salah satu penyebab kerusakan hepar adalah adanya paparan senyawa kimia seperti Pb yang terjadi secara terus menerus. Pb dapat masuk dalam tubuh manusia dari berbagai sumber seperti hasil emisi bensin (petrol), daur ulang atau pembuangan baterai mobil, mainan, cat, pipa, tanah serta beberapa jenis kosmetik dan obat tradisional. Akumulasi Pb dalam tubuh manusia akan menimbulkan bahaya bagi kesehatan (Ardyanto 2005). Masuknya Pb kedalam tubuh akan mempengaruhi kesehatan dan fungsi kemampuan darah untuk membentuk hemoglobin, gangguan sistem syaraf, anemia, serta terjadinya kerusakan pada hepar dan ginjal (Ardiyanto 2005).

Adanya paparan Pb menyebabkan kerja organ hepar semakin berat untuk melaksanakan fungsi sebagai pendetoksifikasi senyawa kimia yang masuk dalam tubuh. Di dalam tubuh, senyawa Pb menyebabkan terjadinya peningkatan radikal bebas, seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS). Peningkatan radikal bebas yang melebihi normal, menyebabkan berkurangnya antioksidan yang berfungsi untuk menetralkan ROS, sehingga kadarenzim antioksidan *Superoxide dismutase* (SOD) dan *katalase* (CAT) dalam tubuh mengalami penurunan. Oleh karena itu, perlu suplementasi bahan alam yang mengandung antioksidan dan berpengaruh terhadap peningkatan antioksidan endogen SOD dan CAT, salah satunya adalah menggunakan madu kelengkeng.

Madu kelengkeng (*Nephellium longata*) telah banyak dikenal oleh masyarakat Indonesia, namun tingkat konsumsi madu kelengkeng oleh masyarakat masih rendah, karena masyarakat belum banyak yang mengetahui manfaat madu kelengkeng sebagai antioksidan. Zat gizi yang terkandung dalam madu kelengkeng adalah karbohidrat, protein, asam amino, vitamin dan mineral. Vitamin yang terkandung dalam madu adalah vitamin B1, B2, B3, B6, C, A, E, flavonoid,

sedangkan mineral yang terkandung didalamnya antara lain Na, Ca, K, Mg, Cl, Fe, Zn (Parwata *et al.* 2010; Asih, *et al.* 2012).

## 2. METODOLOGI

Metode Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Gizi, Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM pada bulan Maret 2015. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *Post Test Control Group Design*. Sampel dari penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar umur 2-3 bulandengan berat badan 150-250 gram yang berasal dari Laboratorium Gizi, Pusat Studi Pangan dan Gizi, UGM. Tikus dibagi dalam 3 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok K merupakan kelompok tikus normal, kelompok K(-) yaitu kelompok tikus yang diberi perlakuan Pb asetat 10 mg/kgBB, kelompok P1 yaitu kelompok tikus dengan perlakuan suplementasi madu kelengkeng sebanyak 0,9 ml/200 grBB dan Pb asetat 10 mg/kgBB, kelompok P2 yaitu kelompok tikus dengan perlakuan suplementasi madu kelengkeng 1,8 ml/200 grBB dan Pb asetat 10 mg/kgBB. Madu kelengkeng yang digunakan berasal dari produsen Madu Apriari, Batang, Jawa Tengah. Tikus diberi pakan standar menggunakan pakan standar dari PAR-G BR II. Pakan standar diberikan selama 2 minggu masa penelitian, diiringi dengan perlakuan suplementasi madu untuk kelompok perlakuan. Perlakuan penelitian dilakukan selama 14 hari dengan pemberian Pb asetat berselang satu jam setelah pemberian madu kelengkeng. Madu kelengkeng disuplementasi dengan dosis masing-masing untuk setiap kelompok perlakuan yaitu 0,9 ml/200 gramBB dan (b) 1,8 ml/200 gramBB. Pengukuran aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) total plasma menggunakan metode yang dilakukan oleh Wood *et al.* (2003) dan Winarsi *et al.* (2004). Aktivitas enzim katalase plasma diawali dengan pembuatan lisat: 200  $\mu$ L plasma ditambahkan 800  $\mu$ L larutan 0,5% triton X-100, kemudian dipersiapkan larutan standar untuk pengukuran sampel. Dibuat larutan induk dengan melarutkan 10  $\mu$ L katalase dalam 50 mL bufer fosfat. Larutan standar dibuat dengan melarutkan 0,5 mL larutan induk dalam 9,5 mL bufer fosfat (1/20) dan 0,5 mL larutan induk dalam 19,5 mL bufer fosfat (1/40). Sebanyak 10  $\mu$ L lisat dicampurkan dengan 12,5 mL bufer fosfat. Reaksi mulai terjadi setelah ditambahkan 1 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Seluruh larutan divorteks perlahan, lalu penurunan absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 240 nm, dengan selang waktu 15 detik, 30 detik, 45 detik, dan 60 detik. Nilai A<sub>240</sub> berkisar 0,02–0,10 (Winarsi *et al.*, 2006). Data kadar SOD dan CAT dianalisis dengan menggunakan uji *Chi-square*. Analisis menggunakan SPSS 13.00 for window (Dahlan, 2010).

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Hasil

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setiap kelompok memiliki perbedaan kadar SOD dan CAT. Berdasarkan uji normalitas diketahui bahwa data SOD dan CAT berdistribusi normal. Hasil uji *Chi Square* menunjukkan bahwa madu berpengaruh signifikan terhadap kadar SOD dan CAT taraf signifikansi sebesar 0,000 atau lebih kecil dari 0,05 ( $p < 0,05$ ) (Tabel 1).

Tabel 1. Rerata Kadar SOD plasma tikus Wistar yang disuplementasi madu kelengkeng dan diinduksi Pb

Kelompok	Perlakuan	Kadar SOD
K	Normal	141,50 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>
K(-)	Pb 10 mg/kgBB	77,71 $\pm$ 0,21 <sup>b</sup>
P1	Madu kelengkeng 0,9 ml/200 gramBB + Pb 10 mg/kgBB	289,82 $\pm$ 0,08 <sup>c</sup>
P2	Madu kelengkeng 1,8 ml/200grBB + Pb 10 mg/kgBB	391,59 $\pm$ 0,20 <sup>d</sup>

Keterangan : Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan kadar SOD plasma darah tikus pada kelompok perlakuan dengan taraf ketelitian  $p < 0,05$ .

Kadar SOD antar kelompok perlakuan berbeda signifikan. Perbedaan antara masing-masing kelompok tersebut mengartikan bahwa ada pengaruh pemberian madu kelengkeng terhadap kadar SOD. Pada kelompok P1 ( $289,82 \pm 0,08$ ) dan P2 ( $391,59 \pm 0,20$ ) terbukti bahwa Madu kelengkeng mampu meningkatkan kadar SOD secara signifikan. Pada kelompok P2 menunjukkan kadar SOD tertinggi jika dibandingkan dengan kelompok P1.

Tabel 2. Rerata Kadar CAT plasma tikus Wistar yang disuplementasi madu kelengkeng dan diinduksi Pb

Kelompok	Perlakuan	Kadar CAT ( $\pm$ SD)
K	Normal	$0,80 \pm 0,18^a$
K(-)	Pb 10 mg/kgBB	$0,12 \pm 0,04^b$
P1	Madu kelengkeng 0,9 ml/200 gramBB + Pb 10 mg/kgBB	$1,21 \pm 0,14^c$
P2	Madu kelengkeng 1,8 ml/200grBB + Pb 10 mg/kgBB	$3,62 \pm 0,22^d$

Keterangan : Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan kadar MDA plasma darah tikus pada kelompok perlakuan dengan taraf ketelitian ( $p < 0,05$ )

Hasil uji *Chi Square* menunjukkan kadar CAT pada kelompok K berbeda nyata dengan kelompok K(-) yaitu pada kelompok yang diinduksi Pb tanpa suplementasi madu. Kadar katalase secara signifikan lebih tinggi kelompok P2 ( $3,62 \pm 0,22$ ) dibandingkan dengan kelompok P1 ( $1,21 \pm 0,14$ ). Madu kelengkeng dengan dosis 1, 8 ml/200 gramBB berpengaruh terhadap kadar enzim CAT.

### 3.2 Pembahasan

#### 3.2.1 Pengaruh Pb terhadap enzim SOD dan Catalase

Timbal (Pb) merupakan logam berat yang digunakan sebagai campuran dalam bahan bakar dan anti knocking pada bensin serta pigmen dalam cat (Ali *et al.* 2010). Peningkatan penggunaan bahan bakar pada kendaraan bermotor serta mesin industri menyebabkan terjadinya peningkatan kadar Pb di udara. Pb adalah salah satu emisi hasil pembakaran petrol dan oktan yang bersifat toksik ketika masuk ke dalam tubuh. Eritrosit memiliki afinitas yang tinggi terhadap Pb, sehingga akan menyebabkan terganggunya membran sel dan hemolisis pada sel darah merah akibatnya terjadi ROS (Ali *et al.* 2010). Peningkatan ROS di dalam tubuh akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid dan terganggunya beberapa enzim antioksidan, salah satunya adalah SOD dan Katalase.

Pengaruh Pb terhadap enzim Cat terjadi secara tidak langsung. Enzim Cat berfungsi untuk mengkatalisis  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Pb diketahui dapat mengganggu sintesis heme, dimana heme adalah salah satu komponen dalam pembentukan enzim Cat. Terganggunya sintesis heme menyebabkan terjadinya penurunan kadar heme di dalam tubuh, akibatnya aktivitas antioksidan enzim Catalase menurun (Ercal *et al.* 2001). Penurunan kadar SOD dan Cat terjadi karena Pb menggantikan Zink pada enzim Catalase, Zink merupakan kofaktor terpenting agar enzim Catalase dapat berperan sebagai antioksidan. Sehingga ketika Zink tergantikan oleh Pb, maka enzim Cat tidak dapat berfungsi sebagai antioksidan (Flora 2012).

Berdasarkan hasil penelitian (Karpinska *et al.* 2001) diketahui bahwa terjadi penurunan kadar SOD dan Cat pada tikus yang diinduksi Pb. Pb menyebabkan penurunan kadar SOD di dalam tubuh, penurunan aktivitas SOD disebabkan karena Pb memiliki reaktifitas yang tinggi untuk berikatan dengan Cu dan Zink. Hasil penelitian Karpinska *et al.* 2001 menunjukkan bahwa terjadi penurunan konsentrasi Cu pada serum darah tikus yang diinduksi Pb. Cu merupakan salah satu komponen penting pada enzim SOD dan seruloplasmin yang berperan dalam mencegah terjadinya peroksidasi lipid. Berdasarkan hasil penelitian Haleagrahara (2011), diketahui bahwa terjadi penurunan kadar enzim SOD dan Catalase secara bermakna pada tikus yang diinduksi Pb dengan dosis 600 ppm. Penurunan tersebut disebabkan karena Pb akan mengganti ion bivalen  $Zn^{2+}$  dan  $Cu^{2+}$  pada enzim SOD, sehingga komponen dalam pembentukan enzim SOD berkurang sehingga terjadi penurunan kadar SOD.

### 3.2.2 Pengaruh madu kelengkeng terhadap kadar SOD dan Cat

Madu kelengkeng merupakan suplemen kesehatan yang berfungsi dalam menjaga stamina tubuh. Madu kelengkeng memiliki aktivitas antiradikal bebas lebih besar dibandingkan dengan madu randu (Parwata 2010). Madu mengandung senyawa flavonoid, beta karoten, vitamin A, B1, B2, B3, B5, B6, C, D, E, K, asam fenolik, asam urat serta mineral Fe, S, Mg, P, Cl yang mampu berperan sebagai antioksidan. Peningkatan kadar SOD dan Cat pada tikus perlakuan madu kelengkeng membuktikan bahwa madu kelengkeng mampu berperan dalam meningkatkan kadar antioksidan didalam tubuh, khususnya SOD dan catalase.

Suplementasi madu kelengkeng sebelum diinduksi Pb merupakan suatu tindakan preventif untuk menjaga kadar antioksidan tubuh, sehingga ketika diinduksi Pb, tubuh sudah memiliki pertahanan terhadap ROS akibat Pb. Peranan antioksidan yang terkandung dalam madu kelengkeng terjadi secara sinergis dan saling berkaitan. Mekanisme peningkatan SOD dan Cat terjadi secara tidak langsung. Kandungan antioksidan dalam madu kelengkeng berperan dalam meningkatkan antioksidan tubuh.

## 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah dijabarkan, simpulan dari penelitian ini adalah : Suplementasi madu kelengkeng berpengaruh terhadap kadar SOD dan CAT pada tikus putih yang diinduksi timbal (Pb). Kadar SOD dan CAT tertinggi terdapat pada kelompok P2 (perlakuan dengan dosis madu 1,8 ml/200 gramBB).

## DAFTAR PUSTAKA

- Ali, M.R. 2010. *Kemampuan Tanaman Mangrove Untuk Menyerap Logam Berat Merkuri (Hg) dan Timbal (Pb<sup>2+</sup>)*. Laporan Penelitian. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. Universitas Pembangunan Nasional Veteran. Jawa Timur
- Ardiyanto, D. 2005. Deteksi Pencemaran Timah Hitam (Pb) dalam Darah Masyarakat yang Terpajan Timbal (Plumbum). *Jurnal Kesehatan Lingkungan* 2 (1): 67-76.
- Asih, I.A., Ratnayani, R.K., Swardana, I.B. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid dari Madu Kelengkeng (*Nephellium longata* L). *Jurnal Kimia* 6 (1): 72-78.
- Karpinska-EK, Moniuszko-Jakuniuk. 2001. Lead and Zinc Influence on Antioxidant Enzyme Activity and Malondialdehyde Concentrations. *Polish Journal of Environmental Studies* 10 (3), 161-165.
- Dahlan, M.S. 2011. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan : Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat dilengkapi aplikasi dengan menggunakan SPSS*. Salemba Medika : Jakarta
- Haleagragara, N., chakravarthi, S., Kulur, A.B., Radhakrishnan, A. 2011. Effect of Chronic Lead Acetate Exposure On Bone Marrow Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activities in Rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 5 (7), 923:929.
- Ercal, N., Orhan, H.G., Burns, N.A. 2001. Toxic Metal and Oxidative Stress Part I: Mechanism Involved in Metal Induced Oxidative Damage. *Current Topics in Medical Chemistry* 1: 529-539
- Flora, G., Gupta, D., Tiwari, A. 2012. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Journal list Interdiscip Toxicol* 5 (2): 47-58.
- Masniari. 2013. Studi Histopatologi Hepar Tikus Putih yang Diinduksi Aspirin Pasca Pemberian Madu Per Oral. *Indonesia Medicus Veterinus* 2(5) : 488- 495.
- Moruk, A.K.O., Wigunaningsih, W., Salam, A., Uleander, B., Hernawardi. 2006. *Madu Obat dan Suplemen*. Bali: Pak Oles Centre.
- Parwata, O.A.K., Ratnayani, K.A.A., Listya, A. 2010. Aktivitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten Pada MAdu Randu (*Ceiba petandra*) dan Madu Kelengkeng (*Nephellium longata* L). *Jurnal Kimia* 4 (1): 54-62.
- Wood, L.G., Fitzgerald, D.A., Lee, A.K., Garg, M.L. 2003. Improved antioxidant and fatty acid status of patients with cystic fibrosis after antioxidant supplementation is linked to improved lung function. *Am J Clin Nutr* 77:150-9.
- Winarsi, H., Muchtadi, D., Zakaria, F.R., Purwantara, B. 2004. Respons hormonal –imunitas wanita premenopause yang diintervensi minuman fungsional berbasis susu skim yang disuplementasi isoflavon kedelai & Zn sulfat. *J Teknol Ind Pangan* 15:28-34.
- Winarsi, H., Hernayanti, Purwanto, A, Sukanto. 2006. Profil dan status antioksidan wanita penderita candidiasis di Purwokerto. *M Med Indones* 41:108-12