

Asupan Glikosida Flavonoid Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) Terhadap Aktivitas Superoksida Dismutase Dan Kadar Malondialdehid Tikus Wistar Yang Diberi Aktivitas Fisik Maksimal

^{1*}Magda Jeane, ¹Ida Ayu Raka Astiti Asih, ¹Ni Wayan Bogoriani

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bali-Indonesia

*Email : magdajbera@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh asupan glikosida flavonoid terong belanda (*Solanum betaceum* Cav.) terhadap aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) darah tikus Wistar yang diberi aktivitas fisik maksimal. Sampel penelitian adalah 24 ekor tikus yang dibagi kedalam 4 kelompok perlakuan yaitu: kontrol negatif, kontrol positif, pemberian ekstrak etanol, dan pemberian fraksi n-butanol. Aktivitas SOD diukur menggunakan kit Biovision. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan memberikan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap aktivitas SOD. Pemberian glikosida flavonoid fraksi n-butanol meningkatkan aktivitas SOD tikus Wistar yang diberikan aktivitas fisik maksimal sebanyak 22,79% lebih tinggi dibandingkan pemberian asupan ekstrak etanol terong belanda.

Keyword : *Solanum betaceum* Cav., Superoksida Dismutase, Aktivitas fisik, stres oksidatif

ABSTRACT

*This study was conducted to determine the effect of flavonoid glycoside of Tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) on the activity of Wistar rat's blood Superoxide Dismutase (SOD) enzyme provided maximum physical activity. Twenty four rats divided into 4 groups; negative control, positive control, ethanol extract, and n-butanol fraction. Superoxide Dismutase Enzyme activity was measured using Biovision kit. Results showed that the treatments gave significant difference ($p < 0.05$) to SOD. Flavonoid glycoside from n-butanol fraction increased SOD activity of Wistar rat 22,79% higher than ethanol extract.*

Keyword : *Solanum betaceum* Cav., Superoxide Dismutase, Physical activity, oxidative stress

PENDAHULUAN

Perubahan pola hidup manusia yang mengarah pada hal-hal yang bersifat instan kini semakin dirasakan khususnya pada masyarakat modern. Salah satunya adalah perubahan pola makan seperti konsumsi makanan cepat saji yang menimbulkan berbagai penyakit degeneratif yang salah satu diantaranya disebabkan radikal bebas.

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang bersifat reaktif karena memiliki elektron tak berpasangan pada orbital terluarnya (Danasantoso, 2003). Radikal bebas dapat bersumber dari dalam tubuh (internal) dan luar tubuh (eksternal). Contoh radikal bebas eksternal yang bersumber dari lingkungan adalah rokok, radiasi, polutan lingkungan, ozon, obat-obatan dan pestisida sedangkan radikal bebas di dalam tubuh, dihasilkan dari

metabolisme aerobik, fagosit, peradangan, serta aktivitas fisik (Yoshikawa and Naito, 2002).

Radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh dapat menimbulkan stres oksidatif karena jumlah radikal bebas dalam tubuh melebihi antioksidan yang mengakibatkan kerusakan sel, jaringan, dan organ seperti hati, ginjal, jantung pada manusia maupun hewan (Kevin *et al.*, 2006).

Senyawa yang dapat menangkal radikal bebas yang ada di dalam tubuh adalah antioksidan. Tubuh mensintesis antioksidan alami berupa enzim superoksida dismutase, *copper zinc-superoxide dismutase* (Cu,Zn-SOD), *manganese-superoxide dismutase* (Mn-SOD), katalase dan *glutathion peroksidase* (GPx) (Valko *et al.*, 2007). Enzim Superoksida dismutase (SOD) berfungsi

sebagai katalis reaksi dismutase radikal superoksida ($O_2^{\cdot-}$) menjadi O_2 dan H_2O_2 yang lebih stabil.

Untuk mengatasi stress oksidatif dalam tubuh diperlukan antioksidan dari luar. Salah satu sumbernya adalah tanaman yang mengandung antioksidan. Tanaman terong belanda (*Solanum betaceum*, Cav.) memiliki potensi sebagai sumber antioksidan. Sinaga (2009), menyatakan dalam skrining fitokimia bahwa buah terong belanda mengandung flavonoid, terpenoid, steroid, saponin, alkaloid dan tanin. Senyawa flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan dalam bentuk glikosida atau flavonoid yang mengikat gula.

Glikosida flavonoid memiliki potensi sebagai penghambat radikal bebas baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung, gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik dapat mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas serta mengkhelat logam untuk menghambat proses peroksidasi lemak (Pietta, 2000). Secara tidak langsung, flavonoid dapat meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen (Sumardika dan Jawi, 2012).

Penelitian senyawa antioksidan sangat menarik untuk dikembangkan. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh asupan glikosida flavonoid terong belanda terhadap aktivitas superoksida dismutase darah tikus Wistar yang diberi aktivitas fisik maksimal.

METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar, pakan tikus standar, buah terong belanda, etanol 70%, butanol, obat bius ketamin, DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil), logam Magnesium, NaOH 10%, *Superoxide Dismutase Kit* (Biovision, K335-100), HCl pekat, dan akuades.

Peralatan

Alat yang digunakan adalah corong pisah, tabung darah, peralatan gelas, pipet mikro, *centrifuge*, pipet volume, *sput*, alat sonde, peralatan bedah, tabung reaksi, penguap vakum putar (*rotary vacuum evaporator*), timbangan, *waterbath*, *cuvet* dan spektrofotometer UV-Vis.

Cara Penelitian

Ekstraksi Glikosida Flavonoid dari Terong Belanda

Buah terong belanda yang digunakan dalam penelitian ini adalah yang sudah matang dan berwarna merah. Buah terong belanda diperoleh dari desa Kintamani Bangli. Sebanyak 5 kg buah terong belanda dicuci bersih dan dihaluskan dengan blender. Terong belanda dimaserasi dengan etanol 70% selama 3x24 jam. Filtrat dievaporasi sehingga didapat ekstrak kental etanol.

Ekstrak kental etanol lalu ditimbang sebanyak 20 gram kemudian diendapkan dalam dietil eter berlebih. Endapan glikosida flavonoid kemudian dimurnikan dengan penambahan karbon aktif untuk memperoleh ekstrak glikosida flavonoid.

Partisi Ekstrak Glikosida Flavonoid dari Terong Belanda

Ekstrak glikosida flavonoid dilarutkan dalam campuran etanol : air (7:3) kemudian dipartisi dengan pelarut n-heksan, kloroform, dan n-butanol. Fraksi hasil partisi dievaporasi sehingga didapatkan ekstrak pekat n-heksan, ekstrak pekat etil asetat, dan ekstrak pekat n-butanol.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Ekstrak etanol, ekstrak glikosida flavonoid dan glikosida flavonoid fraksi n-butanol diuji aktivitas antioksidannya secara *in vitro* dengan metode DPPH.

Hewan Percobaan dan Pengambilan Sampel

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus jantan galur Wistar dengan berat badan rata-rata ± 200 g. Tikus dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif (stres oksidatif), pemberian ekstrak etanol dan pemberian fraksi n-butanol. Setiap kelompoknya terdiri atas 6 ekor tikus.

Ekstrak etanol dan ekstrak n-butanol diujikan pada tikus menggunakan sonde sebanyak 50mg/KgBB (1 mL/hari). Perlakuan dilakukan selama 5 hari kemudian pada hari ke 6 darah tikus diambil untuk dianalisis aktivitas SOD dan kadar MDA.

Analisis Aktivitas SOD Darah Tikus

Penentuan aktivitas SOD darah tikus dengan metode kolorimetri menggunakan *Superoxide Dismutase Kit* (Biovision, K335-100). Metode ini digunakan untuk mengukur aktivitas penangkapan radikal anion superoksida oleh enzim SOD dalam darah. Darah tikus disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Lapisan plasma yang terbentuk dipindahkan ke dalam tabung baru dan disimpan pada suhu -80°C sampai siap untuk dianalisis.

Tabel 1. Jumlah Penambahan Larutan Sampel, Blanko 1, 2 dan 3.

	Sampel	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3
Sampel plasma darah ddH ₂ O	20 µl	-	20 µl	-
Larutan pereaksi WST	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
Larutan pereaksi enzim	20 µl	20 µl	-	-
Larutan pengencer buffer	-	-	20 µl	20 µl

Semua larutan pada Tabel 1 dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *microplate reader*.

Rumus penghitungan aktivitas SOD (%) :

$$\frac{(A_{\text{blanko 1}} - A_{\text{blanko 3}}) - (A_{\text{sampel}} - A_{\text{blanko 2}})}{(A_{\text{blanko 1}} - A_{\text{blanko 3}})} \times 100\%$$

Analisis Data

Analisis statistik menggunakan program SPSS 23.0. Homogenitas data diuji dengan *leven's test* dengan taraf signifikansi 5%. Normalitas data diuji dengan *shapiro Wilk* dengan taraf signifikansi 5%. Jika distribusi data normal dengan nilai $p > 0,05$ dan homogen dengan nilai $p > 0,05$, maka dilanjutkan dengan uji parametrik *one-way*

ANOVA. Uji komparasi lanjutan dengan *post hoc test*; dengan anggapan varians adalah homogen maka uji *post hoc* yang dipilih adalah LSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Partisi Glikosida Flavonoid

Ekstraksi 5 kg terong belanda dengan etanol 70% menghasilkan 1,2 kg ekstrak etanol. Ekstrak glikosida flavonoid yang diperoleh sebanyak 15,90 gram. Hasil partisi 20 gram ekstrak glikosida flavonoid menghasilkan 0,51 gram ekstrak pekat n-heksan, 0,42 gram ekstrak pekat kloroform dan 1,19 gram ekstrak pekat n-butanol.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol, ekstrak glikosida flavonoid dan ekstrak glikosida flavonoid fraksi n-butanol dengan metode DPPH menunjukkan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 201,66 ppm, 269,95 ppm dan 70,10 ppm.

Uji Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD)

SOD adalah enzim yang mengkatalisis reaksi dismutasi radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Aktivitas enzim SOD darah tikus dinyatakan dalam % inhibisi.

Analisis data aktivitas SOD secara statistik menunjukkan distribusi data normal dan homogen dengan nilai $p > 0,05$. Berdasarkan data tersebut maka dilanjutkan dengan uji *one-way* ANOVA. Uji *one-way* ANOVA menghasilkan nilai $p = 0,000$ yang artinya ada perbedaan rata-rata aktivitas enzim SOD yang bermakna antar kelompok.

Selanjutnya dilakukan uji lanjutan (*posthoc*) *Fisher's Least Significant Difference Test* (LSD) untuk menguji ada tidaknya perbedaan pada perlakuan secara berpasang-pasangan. Perbedaan yang bermakna ditunjukkan dengan notasi (*superscript*) yang berbeda. Semua pasang kelompok menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada taraf signifikansi 5% ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis Statistik Aktivitas SOD dengan LSD

Kelompok Perlakuan	n	Rerata aktivitas enzim SOD(%) ±SD
Kontrol negatif (Po)	6	78,72 ± 0,97 ^{b,c,d}
Kontrol positif (P1)	6	18,09 ± 1,34 ^{a,c,d}
Pemberian ekstrak etanol (P2)	6	53,58 ± 3,21 ^{a,b,d}
Pemberian fraksi n-butanol (P3)	6	58,01 ± 1,75 ^{a,b,c}

Keterangan : n = jumlah hewan uji, SD = Standar Deviasi

a= Terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif (Po) dengan nilai $p < 0,05$.

b= Terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol positif (P1) dengan nilai $p < 0,05$.

c= Terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok pemberian ekstrak etanol (P2) dengan nilai $p < 0,05$.

d= Terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok pemberian fraksi n-butanol (P3) dengan nilai $p < 0,05$.

Aktivitas SOD tertinggi ditunjukkan oleh negatif (Po) dengan nilai 78,72% dan yang terendah ditunjukkan oleh kontrol positif (P1) dengan nilai 18,09%. Data tersebut menunjukkan bahwa aktivitas fisik berlebih dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim SOD akibat kondisi stres oksidatif. Penggunaan oksigen meningkat sampai 10 kali lebih banyak ketika melakukan aktivitas fisik berat dibandingkan saat istirahat sehingga meningkatkan produksi ROS (Kumar dan Pandey, 2013).

Kelompok pemberian ekstrak etanol (P2) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol positif (P1). Pemberian ekstrak etanol mampu meningkatkan aktivitas enzim SOD pada kondisi stres oksidatif dengan persentase sebesar 197,06%. Kelompok pemberian fraksi n-butanol (P3) menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol positif (P1). Pemberian fraksi n-butanol (P3) mampu meningkatkan aktivitas enzim SOD pada

kondisi stres oksidatif dengan persentase sebesar 224,88%.

Glikosida flavonoid berperan dalam peningkatan aktivitas enzim SOD dengan mekanisme kerja secara langsung dan tidak langsung. Secara langsung, adanya gugus hidroksil memungkinkan flavonoid untuk menangkap radikal bebas dengan cara menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas serta mengkhelat logam yang berperan dalam pembentukan ROS. Secara tidak langsung, flavonoid mampu meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme seperti melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) sehingga terjadi peningkatan dalam sintesis enzim SOD (Sumardika dan Jawi, 2012).

Flavonoid juga mampu menghambat enzim yang berperan dalam pembentukan ROS seperti mikrosomal monooksidase glutathione S-transferase, mitokondria succinoksidase, NADH oksidase dan lain-lain (Kumar dan Pandey, 2013) sehingga jumlah ROS berkurang dan aktivitas enzim SOD meningkat.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian asupan glikosida flavonoid terong belanda (*Solanum betaceum* Cav.) dari fraksi n-butanol terong belanda mampu meningkatkan aktivitas SOD tikus Wistar yang diberikan aktivitas fisik maksimal sebesar 22,79% lebih tinggi dibandingkan pemberian asupan ekstrak etanol terong belanda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kepada ibu Dra. I.A.R.Astuti Asih, M.Si, ibu Dr. Dra. Ni Wayan Bogoriani, M.Si dan yang lainnya yang telah memberikan dukungan dan masukan dalam jalannya penelitian dan penulisan jurnal ini

REFERENSI

Chevion S, Moran D.S., Heled Y. (2003). Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. Proceedings of the National

- Academy of Sciences of the United States of America. 100(9):5119-5123
- Danusantoso. (2003). Peran Radikal Bebas Terhadap Beberapa Penyakit Paru. *Jurnal Kedokteran Trisakti* 22(1):31–6
- Jamil, D.O., Ersam , T.(2010). Pelacakan Aktivitas Antikanker terhadap Tiga Senyawa Santon Terpenilasi dari Spesies *Garcinia*, Prosiding Kimia FMIPA ITS
- Kevin,K., Zhang, H.J. (2006). An Integrated View of Oxidative Stress in Aging: Basic Mechanisms, Functional Effects, and Pathological Considerations 292: 18-36
- Kumar, S. and A. K. Pandey. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview, *The Scientific World Journal* 16
- Mudasir, A. Azis, A. Q. Punagi. (2011). Analisis Kadar MDA Plasma Penderita Polip Hidung Berdasarkan Dominasi Sel Inflamasi Pada Pemeriksaan Histopatologi. Bagian Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Kepala Leher Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar
- Pietta, P.G. (2006). Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 63: 1035-1042
- Sinaga, Sinaga, I.L.H. (2009). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Buah Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.). Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara. Medan
- Singh, R.P, Murthy,K.N.C., Jayaprakasha, G.K. (2002). Studies on The Antioxidant Activity of Pomegranate Peel and Seed Extracts Using in Vitro Models, *J.Agric. Food Chem* 50: 81-86
- Sumardika, I.W., dan Jawi, I.M. (2012). Ekstrak Air Daun Ubi Jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol, *Jurnal Ilmiah Kedokteran Medicina* 43(2) : 67-71
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur,M., Telser, J. (2007). Review: Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease, *International Journal Biochemistry Cell Biology*, 39:44-84
- Yoshikawa,T., Naito,Y. (2002). What is Oxidative Stress. *JMAJ* 45:271-276