

Efektivitas Penurunan *Malondialdehyde* dengan Kombinasi Suplemen Antioksidan *Superoxide Dismutase* Melon dan Gliadin Akibat Paparan Rokok

Rivan Virlando Suryadinata,¹ Bambang Wirjatmadi,² Merryana Adriani²

¹Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran, Universitas Surabaya, Surabaya,

²Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga, Surabaya

Abstrak

Jumlah perokok di Indonesia makin meningkat setiap tahunnya hingga mencapai hampir 40% dari total penduduk. Terapi antioksidan dapat menurunkan radikal bebas akibat asap rokok yang dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel dalam tubuh. Antioksidan *superoxide dismutase* ekstrak melon dengan kombinasi gliadin berpotensi menurunkan radikal bebas dengan menurunkan *malondialdehyde* (MDA) dalam darah. Penelitian ini bertujuan mengetahui efektivitas suplemen *superoxide dismutase-gliadin* (SOD-*gliadin*) dalam menurunkan kadar MDA akibat paparan asap rokok terhadap tikus Wistar. Penelitian menggunakan metode ekperimental dengan *post-test control group design* di Laboratorium Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga. Pemberian suplemen SOD-*gliadin* dengan paparan asap rokok dua batang per hari dilakukan selama 28 hari (5 April 2016 sampai 12 Mei 2016) dengan menggunakan kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan tiga kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak melon yang berbeda. Selanjutnya, pengukuran kadar MDA dilakukan dengan mengambil serum darah pada semua kelompok. Hasil penelitian, suplemen SOD-*gliadin* berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA serum (ANOVA, $p=0,000$). Uji *least significant difference* (LSD) menunjukkan kelima kelompok memberikan hasil yang signifikan terhadap penurunan kadar MDA pada tikus Wistar yang terpapar asap rokok ($p<0,05$). Penurunan kadar MDA terendah terjadi pada dosis ketiga dibanding dengan dosis SOD-*gliadin* lainnya. Simpulan, pemberian suplemen SOD-*gliadin* dapat mengurangi radikal bebas akibat paparan asap rokok.

Kata kunci: Antioksidan, *malondialdehyde*, radikal bebas, rokok, *superoxide dismutase*

Effectiveness Decrease Combined with Supplements *Malondialdehyde* Antioxidant *Superoxide Dismutase* Gliadin Melon with Due to Exposure to Cigarette

Abstract

The number of smokers in Indonesia was increasing every year to reach nearly 40% of the total population. Antioxidants *superoxide dismutase* of melon extract able to reduce free radicals in the body. The decrease of free radicals in the body can be measured from *malondialdehyde* (MDA) levels in the blood. This research aims to determine the effectiveness of melon extract for lowering *malondialdehyde* level of cigarette smoke exposure on Wistar rats. Research using experimental methods with *posttest control group design* in Laboratory Medical Faculty, Airlangga University. Melon extract intake with exposure two cigarettes per day for 28 days (5 April 2016 until 12 May 2016) was done by using a negative control group, positive control group and 3 groups experiment with different doses of melon extract. The measurement of MDA level done by taking a blood serum in all groups after 28 days. The results showed SOD-*gliadin* effect of decreased levels of serum MDA (ANOVA, $p=0.000$). Least significant difference (LSD) test showed all groups significant results to decreased levels of MDA in Wistar rats were exposed to smoke ($p<0.05$). The third dose was decreased levels of MDA lowest compared to other doses of SOD-*gliadin*. The conclusion of the research, SOD-*gliadin* supplementation can reduce free radical role in the body as a result of exposure to cigarette smoke.

Key words: Antioxidants, cigarette, free radical, *malondialdehyde*, *superoxide dismutase*

Korespondensi: Rivan Virlando Suryadinata. Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran, Universitas Surabaya. Jln. Raya Kalirungcut, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia. *E-mail:* rivan.virlando.suryadinata@gmail.com

Pendahuluan

Rokok telah menjadi masalah kesehatan yang sangat serius terutama di negara berkembang termasuk Indonesia. Jumlah perokok setiap tahun di Indonesia meningkat secara signifikan. Menurut survei nasional, jumlah perokok di Indonesia pada tahun 2010 berkisar 34,7% dan pada tahun 2013 naik menjadi 36,3%.¹ *World Health Organization* (WHO) memperkirakan tahun 2025 jumlah perokok di Indonesia akan meningkat sekitar 45% dari total populasi.²

Peningkatan jumlah perokok di Indonesia tidak hanya memberikan dampak yang buruk bagi kesehatan, namun terhadap berbagai aspek ekonomi, sosial, dan juga politik. Kerugian biaya kesehatan yang dikeluarkan diakibatkan rokok mencapai enam kali lebih besar daripada cukai rokok yang didapat pemerintah. Penurunan daya kerja penduduk karena rokok mengakibatkan produktivitas kerja secara nasional menurun. Selain itu, peningkatan jumlah perokok aktif di Indonesia akan diimbangi dengan peningkatan jumlah perokok pasif sehingga Pemerintah RI membuat kebijakan yang mengatur kawasan bebas rokok untuk mengurangi dampak asap rokok.³

Rokok mengandung lebih dari 4.000 bahan kimia berbahaya dan apabila masuk ke dalam tubuh akan menjadi radikal bebas atau sering disebut dengan *reactive oxidative stress* (ROS). Salah satu jenis ROS yang utama dan paling reaktif adalah *superoxide* karena waktu paruhnya yang lama serta mempunyai kemampuan berikatan dengan berbagai sel sehingga dapat merangsang reaksi peroksidasi lipid yang mengakibatkan kerusakan dan juga kematian sel lebih banyak bila dibanding dengan radikal bebas lain.⁴ Radikal *superoxide* secara alami dapat dinetralisasi oleh antioksidan enzimatis *superoxide dismutase* yang dihasilkan oleh tubuh.⁵ Akan tetapi, pada perokok terjadi ketidakseimbangan radikal bebas yang masuk dengan antioksidan yang dihasilkan sehingga pemberian asupan antioksidan dari luar tubuh dibutuhkan.⁶

Salah satu antioksidan alami dapat diperoleh melalui ekstrak melon (*Cucumis melo*). Buah melon mengandung paling banyak antioksidan *superoxide dismutase* mencapai 100 U/mg.⁷ Akan tetapi, kandungan *superoxide dismutase* pada buah melon tersebut dipengaruhi oleh cara penanaman, pengolahan, dan juga konsumsinya sehingga pengolahan buah melon dalam bentuk suplemen menjadi pilihan utama agar kandungan

antioksidan lebih stabil.⁸ Salah satu cara agar produk suplemen yang mengandung *superoxide dismutase* ekstrak buah melon terlindung dari degradasi asam lambung dan membantu proses penyerapan pada usus besar (SOD-*gliadin*) maka diberi pelapis berupa gliadin gandum (*Triticum vulgare*). Pada berbagai macam penyakit seperti penyakit kardiovaskular, diabetes melitus, dan kanker pemberian suplemen antioksidan ini telah memberikan hasil yang memuaskan untuk mencegah kerusakan dan kematian sel.⁷

Penilaian efektivitas SOD-*gliadin* itu dalam menurunkan kadar radikal bebas dapat dilakukan dengan cara menentukan kadar *malondialdehyde* (MDA) di dalam darah. MDA bukanlah jenis *reactive oxidative species* (ROS), akan tetapi merupakan salah satu hasil dari peroksidasi lipid karena memiliki waktu paruh yang lebih lama dan bersifat lebih stabil dibanding dengan jenis radikal bebas lainnya sehingga memberikan hasil yang lebih akurat.^{9,10}

Penggunaan hewan coba tikus Wistar pada penelitian ini karena fisiologis yang hampir sama dengan manusia¹¹ sehingga diharapkan mampu untuk mengetahui seberapa besar peranan SOD-*gliadin* dalam menurunkan radikal bebas yang disebabkan oleh paparan asap rokok.¹²

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental dengan *post-test control group design* pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan percobaan dan telah diuji etik di Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga, Surabaya (Nomor Etik: 155-KEPK). Hewan coba berjumlah 25 ekor yang terbagi dalam 5 kelompok dengan pemberian paparan asap rokok dan suplemen SOD-*gliadin* untuk melihat perubahan kadar MDA. Dosis suplemen SOD-*gliadin* itu diperoleh berdasar atas perhitungan tabel konversi antarorganisme Laurence dan Bacharach sehingga didapatkan dosis perlakuan sebesar 2,25 IU, 4,5 IU, dan 9 IU.¹³

Sampel hewan coba tikus Wistar berumur 2–3 bulan dengan bobot 150–200 gram dan secara makroskopis tidak ditemukan kelainan. Sebelum dilaksanakan perlakuan, hewan coba dilakukan adaptasi terlebih dahulu selama 5 hari.

Penelitian ini dilakukan selama 28 hari (5 April 2016–12 Mei 2016) di Laboratorium Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga. Pada tiap-tiap kelompok diberikan perlakuan yang berbeda. Kelompok pertama merupakan kelompok kontrol

negatif tanpa intervensi. Kelompok yang kedua merupakan kelompok kontrol positif dengan intervensi paparan asap rokok. Kelompok ketiga, keempat, dan juga kelima merupakan kelompok perlakuan dengan intervensi paparan asap rokok 28 hari dan dosis ekstrak melon yang berbeda, yaitu 2,25 IU/hari, 4,5 IU/ hari, dan 9 IU/hari.

Pada hewan coba dilakukan eutanasia melalui inhalasi eter untuk memperoleh sampel darah dari jantung. Darah yang diperoleh dilakukan sentrifugal untuk memperoleh serum darah. Kadar MDA ditentukan dengan menggunakan ELISA dan dibanding dengan kadar MDA antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.¹⁴

Pengujian statistik dilakukan menggunakan analisis uji ANOVA dengan SPSS versi 20 untuk membandingkan nilai MDA antara kelompok kontrol, kelompok paparan rokok, dan kelompok ekstrak melon berdasar atas dosis 2,25 IU/hari, 4,5 IU/hari, dan 9 IU/hari.

Hasil

Hasil pengamatan penelitian dilakukan dengan membandingkan kadar MDA pada tiap-tiap hewan coba yang disajikan pada Tabel 1. Kadar MDA pada tikus kontrol negatif (I); tikus kontrol positif dengan paparan asap rokok (II); tikus perlakuan dengan paparan asap rokok dan dosis SOD-*gliadin* 2,25 IU, 4,5 IU, dan 9IU masing-masing (Tabel 1).

Berdasar atas Tabel 1 dapat diketahui pada kelompok kontrol positif terjadi peningkatan kadar MDA bila dibanding dengan kelompok kontrol negatif. Pada kelompok perlakuan itu dengan pemberian suplemen SOD-*gliadin* akan terjadi penurunan kadar MDA. Penurunan pada kelompok perlakuan dengan pemberian dosis

2,25 IU berada di bawah nilai dari kadar MDA kelompok kontrol yang negatif, sedangkan pada pemberian SOD-*gliadin* dosis 9 IU merupakan penurunan terendah kadar MDA.

Hasil analisis ANOVA terhadap MDA serum menunjukkan perbedaan kadar MDA serum pada berbagai kelompok ($p=0,000$), kemudian dianalisis dengan menggunakan *least significance different* (LSD) untuk melihat perbedaan kadar MDA serum antara kelima kelompok (Tabel 2).

Berdasar atas Tabel 2 terdapat perbedaan yang signifikan ($p<0,005$) kadar MDA serum antara kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan semua kelompok perlakuan sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian SOD-*gliadin* pada dosis 2,25 IU memberikan hasil yang signifikan.

Pembahasan

Paparan asap rokok secara langsung mampu meningkatkan radikal bebas di dalam tubuh. Secara fisiologis radikal bebas terbentuk dalam tubuh dari sisa-sisa metabolisme tubuh, namun dapat dinetralisasi oleh antioksidan alami tubuh. Akan tetapi, masuknya radikal bebas dari luar yang berlebih menyebabkan ketidakseimbangan radikal bebas dengan antioksidan alami tubuh sehingga terjadi stres oksidatif.¹⁵ Pada kelompok kontrol positif terlihat peningkatan kadar MDA signifikan dibanding dengan kelompok kontrol positif.

Salah satu dari antioksidan yang mampu menetralisasi radikal bebas adalah *superoxide dismutase*. Jenis antioksidan enzimatik tersebut secara alamiah dihasilkan dari dalam tubuh, namun karena kadar radikal bebas yang tinggi akibat paparan asap rokok maka dibutuhkan asupan antioksidan dari luar tubuh.⁷ Antikosidan

Tabel 1 Nilai Kadar *Malondialdehyde* Rata-rata Tiap Kelompok

| | Kelompok | Rata-rata±SD | p |
|-----|---|--------------|-------|
| I | Kelompok kontrol negatif tanpa intervensi dan paparan asap rokok. | 35,6279±1,43 | 0,005 |
| II | Kelompok kontrol positif (mendapat paparan asap rokok). | 40,7326±1,49 | |
| III | Kelompok perlakuan dengan paparan asap rokok dan intervensi dosis ekstrak melon 2,25 IU/hari. | 33,6395±0,85 | |
| IV | Kelompok perlakuan dengan paparan asap rokok dan intervensi dosis ekstrak melon 4,5 IU/ hari. | 31,5930±1,08 | |
| V | Kelompok perlakuan dengan paparan asap rokok dan intervensi dosis ekstrak melon 9 IU/hari. | 27,0581±0,60 | |

Tabel 2 Hasil Uji *Least Significant Difference* (LSD) pada Tiap Kelompok

| Kelompok | I | II | III | IV | V |
|----------|-------|-------|-------|-------|---|
| I | – | – | – | – | – |
| II | 0,000 | – | – | – | – |
| III | 0,012 | 0,000 | – | – | – |
| IV | 0,000 | 0,000 | 0,010 | – | – |
| V | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | – |

superoxide dismutase alami paling banyak terkandung pada buah melon sehingga suplemen ekstrak buah melon dengan gliadin mampu menurunkan kadar radikal bebas dalam tubuh.¹⁵

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dalam penurunan kadar MDA pada tiap-tiap kelompok perlakuan yang diberikan SOD-*gliadin* dibanding dengan kelompok kontrol negatif maupun positif. Pada kelompok kontrol positif kadar MDA mencapai $40,7326 \pm 1,49$, tetapi kadar MDA ini semakin menurun dengan terdapat peninggian dosis yang diberikan. Penurunan kadar MDA pada kelompok perlakuan dengan pemberian SOD-*gliadin* dosis 2,25 IU mencapai $33,6395 \pm 0,85$, pada kelompok perlakuan dengan pemberian SOD-*gliadin* dosis 4,5 IU mencapai $31,5930 \pm 1,08$, dan kelompok perlakuan dengan pemberian SOD-*gliadin* dosis 9 IU mencapai $27,0581 \pm 0,60$.

Simpulan

Suplemen antioksidan SOD-*gliadin* itu dapat menurunkan radikal bebas yang didapatkan dari paparan asap rokok.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada seluruh staf pengajar Magister Ilmu Kesehatan Masyarakat dari Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga, Surabaya yang sudah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk menuntut ilmu di Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga.

Daftar Pustaka

- Alexandru I. Experimental use of animal in research spa. *Balneo Res J*. 2011;2(1):65–9.
- Ayala A, Munoz MF, Arguelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and

signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:360438.

- Lubis EA, Saepudin, Soesilawati SA. Pengaruh maserat lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap kadar kolesterol darah mencit (*Mus musculus*) jantan hiperglikemia. *Formica Online*. 2014;1(1):16–22.
- Favier H, Osman M, Intes L, Montanari B. Positive effects of an oral supplementation by Glisodin, a gliadin-combined SOD-rich melon extract, in an animal model of dietary-induced oxidative stress. *Phytothérapie*. 2016;14(1):29–34.
- Gutowski M, Kowalczyk S. A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *Acta Biochim Pol*. 2013;60(1):1–16.
- Held P. An introduction to reactive oxygen species. Measurement of ROS in cells. *BioTek White Papers 2015* [diunduh 31 Maret 2016]. Tersedia dari: <http://www.biotek.com/resources/articles/reactive-oxygen-species.html>.
- Kahnamoei JR, Maleki F, Nasirzadeh MR. The effects of cigarette smoking on plasma mda and tac in university students. *Indian J Fund Appl Life Sci*. 2014;4(3):329–33.
- Kementreian Kesehatan Republik Indonesia. Pedoman pengembangan kawasan tanpa rokok. Jakarta: Kemenkes RI; 2011.
- Kementerian Kesehatan RI. Riset kesehatan dasar. Laporan hasil riset kesehatan dasar 2014. Jakarta: Kemenkes RI; 2014.
- Muniz P, Coma MJ, Teran J. Oxidative stress and vascular damage in hypoxia processes. Malondialdehyde (MDA) as biomarker for oxidative damage. *Electron J Biomed*. 2014;2(2):50–3.
- Nivedhini V, Chandran R, Parimelazhagan T. Chemical composition and antioxidant activity of *Cucumis dipsaceus* Ehrenb. *Ex*

- Spach fruit. *Int Food Res J.* 2014;21(4):1465–72.
12. Romao S. Therapeutic value of oral supplementation with melon superoxide dismutase and wheat gliadin combination. *Nutrition.* 2015;31(3):430–6.
 13. Shohag MH, Ullah MA, Azad MA, Islam MS, Qusar S, Shahid SF, dkk. Serum antioxidant vitamins and malondialdehyde levels in patients with obsessive-compulsive disorder. *German J Psychiatry.* 2012;15(1):10–4.
 14. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44–84.
 15. Vouldoukis I, Conti M, Krauss P, Kamate C, Blazquez S, Tefit M, dkk. Supplementation with gliadin-combined plant superoxide dismutase extract promotes antioxidant defences and protects against oxidative stress. *Phytother Res.* 2014;18(12):957–62.
 16. World Health Organization (WHO). Global report on trends in prevalence of tobacco smoking. Geneva: WHO Press; 2015.