

PENGARUH MINUMAN PROBIOTIK SIRSAK GUNUNG (*Annona montana macf.*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) DAN SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD)

THE EFFECT of PROBIOTIC DRINKS MADE FROM MOUNT SOURSOUP FRUIT (*Annona Montana Macf.*) TOWARD THE LEVEL of MDA and SOD.

Diah Eka Wahyu Wulan Suci
Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

ABSTRAK

Sirsak Gunung (*Annona montana macf.*) merupakan tanaman tropis yang digunakan sebagai antioksidan mengandung senyawa terpenoid. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mengurangi radikal bebas dalam tubuh. Buah sirsak gunung yang dirubah dalam bentuk minuman probiotik agar memiliki fungsi lebih karena mengandung bakteri *Lactobaccillus casei* yang bermanfaat bagi tubuh yakni dapat mempermudah penguraian protein, lemak, mempermudah penyerapan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh minuman probiotik buah Sirsak Gunung terhadap kadar MDA dan SOD. Kadar MDA sebagai parameter stres oksidatif dan SOD merupakan antioksidan Alami yang dihasilkan tubuh. Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan yang terbagi dalam 3 kelompok, kontrol positif, kontrol negatif yang diinduksi minyak jelantah 2,5ml/200g BB, kelompok perlakuan diinduksi minyak jelantah 2,5ml/200g BB pada pagi hari dan 1,4ml/200g BB pada siang hari. Analisis kadar MDA dan SOD dilakukan pada organ hepar menggunakan spektrofotometri dan diketahui data Kadar MDA, SOD dianalisis menggunakan uji t-test. Kesimpulan hasil analisis minuman probiotik buah sirsak gunung memiliki pengaruh terhadap kadar MDA dan kadar SOD.

Kata Kunci : minuman probiotik, sirsak gunung (*Annona montana macf.*), minyak goreng, kadar MDA (Malondialdehid) dan kadar superoksid dismutase (SOD)

ABSTRACT

Mount soursop (Annona montana macf.) is tropical plant which is used as antioxidant and contained terpenoid. Antioxidant is chemical compound which can reduce radical inside the body. Mount soursop fruit can be made into probiotic drinks in order to maximize the function because it contains Lactobaccillus casei. This Lactobaccillus casei is beneficial for our body to decomposition of protein, fat, and absorb antioxidant easily. This research is aimed at knowing the effects of probiotic drinks made from mount soursop fruit toward MDA and SOD. The level of MDA is functioned as oxidative stress and SOD is natural antioxidant which can be produced inside the body. This research is implemented in white mice galur wistar (Rattus norvegicus). These white mice group into three groups which are positive control, negative control which is induced with waste cooking oil 2,5ml/200g BB, and treatment group is induced with waste cooking oil 2,5ml/200g BB in the morning and 1,4ml/200g BB in the afternoon. The analysis of MDA and SOD is done in the hepar organ using spectrophotometer and ascertaining the data of MDA; SOD is analyzed using t test. The conclusion of this research probiotic drinks made from mount soursop fruit has an effect toward the level of MDA and SOD.

Key Words : probiotic drinks, mount soursop fruit (*Annona montana macf.*), cooking oil, level of MDA (Malondialdehid) and SOD (Superoxide dismutase.)

PENDAHULUAN

Dewasa ini banyak timbul berbagai macam penyakit degeneratif yang akhirnya mendorong manusia untuk mencari dan menemukan solusinya. Akumulasi produk oksidasi dapat menurunkan kadar antioksidan alami tubuh yang akan memicu munculnya penyakit degeneratif. Pada dasarnya suatu penyakit muncul diawali dengan kerusakan sel yang disebabkan oleh paparan oksidasi yang tinggi (stres oksidatif).

Stres oksidatif dapat terjadi karena adanya ketidak seimbangan antara pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dengan keberadaan antioksidan, kadar radikal bebas yang lebih tinggi dibandingkan dengan antioksidan. Penyebab terjadinya stres oksidatif salah satunya adalah asupan minyak jelantah yang digunakan berulang kali. Pemanasan berulang-ulang akan menyebabkan terjadinya destruksi minyak berupa degradasi, oksidasi dan dehidrasi minyak goreng, sehingga proses ini dapat meningkatkan kadar peroksida dan pembentukan radikal bebas yang bersifat toksik yang membahayakan

tubuh (Mulyati dan Meilina, 2007 dalam Suwandi, 2012).

Pada penelitian Maulana (2011), induksi minyak jelantah secara *in vivo* pada tikus wistar dengan bilangan peroksida 118 mek/kg ternyata menimbulkan stres oksidatif, peningkatan radikal bebas menstimulasi proses peroksidasi lipid dan mengakibatkan stres oksidatif yang dapat ditentukan dengan mengukur salah satu parameter yaitu Malondialdehid (MDA). Akibat meningkatnya MDA maka terjadi penurunan kadar Superoksida dismutase (SOD) dalam tubuh.

Salah satu cara yang digunakan untuk melindungi hepar dari stres oksidatif dibutuhkan antioksidan. Dengan demikian diperlukan pemberian pangan fungsional yang memiliki fungsi fisiologis dan tidak membahayakan tubuh seperti probiotik. Bakteri probiotik dapat membantu penyerapan vitamin dan antioksidan, serta dapat menghilangkan komponen beracun pada makanan, dan mampu merombak protein dan lemak. Minuman probiotik yang digunakan mengandung golongan bakteri asam laktat yakni

Lactobacillus casei merupakan golongan mikroba hidup dalam saluran cerna yang dapat memperbaiki kondisi saluran pencernaan sehingga dapat meningkatkan kesehatan. Golongan bakteri *Lactobacillus* merupakan bakteri homofermentatif yang dapat tumbuh dibawah suhu optimal.

Bahan dasar yang digunakan yakni sirsak gunung yang memiliki antioksidan alami. Antioksidan alami dapat berasal dari bahan pangan salah satunya adalah buah sirsak gunung (*Annona montana* macf.) yang diduga mengandung senyawa antioksidan yakni betakarotoin dan vitamin c yang ditunjukkan dengan adanya warna kuning pada buah dan rasa masam, serta telah dipercaya bahwa keluarga *annona* memiliki fungsi sebagai antioksidan, dibuat dalam bentuk probiotik agar lebih bermanfaat dalam saluran pencernaan serta dapat melindungi organ hepar yang mengalami stress oksidatif.

Selama ini belum ada penelitian yang membuktikan bahwa buah sirsak gunung (*Annona montana* macf.) mengandung senyawa antioksidan yang dapat

mencegah terjadinya stress oksidatif yang dapat dilihat dari kadar malondialdehid (MDA) dan kadar Superoksida Dismutase(SOD).

METODE PENELITIAN

Penelitian pengaruh pemberian minuman probiotik sirsak gunung (*Annona montana* macf.) terhadap kadar Malondialdehid (MDA) dan Superoksida Dismutase termasuk jenis penelitian eksperimental.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik, bola hisap, kertas saring, erlenmeyer, beakerglass, pipet ukur, buret, corong, gelas ukur, batang pengaduk, labuh ukur, pipet tetes, gelas arloji, statif dan klem, oven, lampu spirtus, kaki tiga, bunsen, buret, aluminium foil, sonde lambung, sarungtangan, vortex, pipet volum, pH meter, *sentrifuge*, spektrofotometri UV- Visibel, blue tip.

Bahan yang digunakan adalah minyak goreng, kloroform(CH_3Cl), asam asetat glacial (CH_3COOH), KI, natrium karbonat (Na_2CO_3), amilum, natrium tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), aquades

(H₂O), asam klorida(HCL), I₂, KIO₃, amylum, tikus putih (*Rattus Norvegicus*), Hepar, EDTA, NBT, Xantine, buffer Tris KCL, TCA, *NA-thiobarbiturate acid*.

Tahap Penelitian

Pada tahap awal dilakukan pembuatan Sari Buah sirsak gunung *Annona montana Macf.* dengan cara menimbang 1kg buah segar yang kemudian di juicer ditambahkan air sebanyak 1 L. Dipisahkan antara sari dan biji, selanjutnya difermentasi sari buah di pasteurisasi dengan suhu 72⁰C selama 15 menit kemudian ditambahkan strain bakteri *Lactobacillus casei* dengan perbandingan 1: 90, 500 mL sari buah sirsak ditambah 90 ml strain bakteri *Lactobacillus casei*, diinkubasi pada suhu 37⁰C dalam inkubator selama 24 jam.

Pengujian dilakukan dengan menggunakan hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan yang disonde dengan dosis yang ditentukan, minyak jelantah yang digunakan didapat dari pedagang kaki lima yang menjual gorengan di daerah Tasikmadu Kota Malang dengan kadar peroksida yang

telah diuji sebesar 119,980 mek/kg. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 2,5 ml/200gramBB tikus peroral sekali pemberian selama 14 hari (Zaki 2015). Sedangkan perhitungan dosis pada minuman probiotik yang telah di konversi 1,17 ml/200gramBB tikus putih setiap sekali pemberian.

Pembagian Kelompoksampel dibagi menjadi 3 kelompok setiap kelompok terdiri dari 6 ekor hewan uji. Pembagian Kelompok Kontrol Negatif (normal), Kelompok Kontrol Positif tikus yang disonde minyak jelantah selama 2 minggu pada pagi dan siang hari dengan dosis 2,5ml/200gramBB tanpa diberi minuman probiotik, Kelompok Perlakuan tikus yang disonde minyak jelantah pada pagi hari selama 2 minggu dengan dosis 2,5ml/200gramBB dan diberiminuman probiotik dengan dosis 1,17 ml/200gramBB pada siang hari.

Analisis Kadar MDA

Analisis peroksidasi lipid dilakukan dengan uji TBA (*Thiobarbituric acid*). Prinsip uji TBA (*Thiobarbituric acid*) dari Flower et al.(1973) adalah MDA bereaksi dengan TBA(*Thiobarbituric*

acid) pada kondisi asam (pH 2-3) dan suhu 97-100°C, membentuk kromofor merah muda dengan absorbansi maksimal pada 532 nm. Sebanyak 200mg organ (hepar) digerus dengan mortar hingga homogen, ditambahkan 1ml Buffer Tris KCL pH 7,6 ke dalam mortal. Homogenate dibagi dalam dua tabung reaksi masing- masing 0,5 ml (tabung 1:tes, tabung 2: kontrol), ditambahkan 100 µL(0,1ml) TCA 100% (untuk presipitasi), vortex hingga homogen, ditambahkan 250 µL (0,25 mL) HCL 0,1 N, vortex hingga homogen, ke dalam tabung 1(tes), tambahkan 100 µL Na-Thiobarbituric acid 100 % vortex, panaskan kedua tabung dalam waterbath dengan suhu 105°C selama 25 menit, kemudian angkat dan biarkan dingin dalam suhu ruang, disentrifugasi kedua tabung dengan kecepatan 2000-3000 rpm selama 10 menit. Ambil supernatant dengan pipet, saring dengan kertas saring yang telah diletakkan pada *blue tip* yang telah dipotong ujungnya, pisahkan tes dan kontrol, tambahkan aquabidest pada supernatant yang telah disaring hingga volume 3ml,

baca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532nm.

Analisis Kadar SOD

Prosedur pengukuran SOD dapat dilakukan dengan metode dari Bannister dan Calabrese (1987). Serum sampel diambil 200 µL, dimasukkan dalam tabung, pada serum diambil EDTA 100mM 200 µL, NBT U 100 µL(untuk tabung tes tanpa NBT), xanthine 25 U 100 µL. Campurkan hingga homogen, Inkubasi pada suhu 39°C selama 30 menit, Sentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Saring jika terdapat koloid, Tambahkan aquabidest pada supernatant yang telah disaring hingga volume 3 mL, baca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580

Data yang diperoleh diolah menggunakan analisis statistik uji t (t-test) menggunakan program SPSS 15 *for windows*.

Hasil Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai dari bulan desember 2016 pada saat penyusunan hingga 30 mei 2017. Hasil fermentasi pada perbandingan 1: 90 dilakukan pengujian secara organoleptis didapatkan hasil

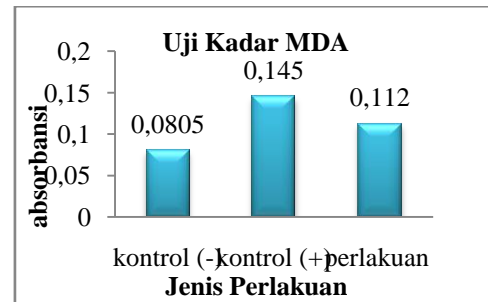
fermentasi dengan fisik cair yang sesuai dengan *Standar Nasional Indonesia*. aroma khas sirsak, warna kuning pucat, rasa manis.

Pada hasil uji analisis total Bakteri Asam Laktat pada fermentasi minuman probiotik sari buah sirsak kuning (*Annona montana* macf.) didapatkan hasil 10^7 CFU/mL – 10^9 CFU/mL hal ini sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh *Standar Nasional Indonesia (SNI)* dengan jumlah BAL dalam minuman fermentasi $\geq 10^7$ CFU/mL.

Hasil uji skirining fitokimia dan uji Antioksidan menggunakan metode DPPH pada ekstrak buah sirsak gunung menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder terpenoid dan pada uji aktivitas antioksidan diperoleh nilai rata-rata IC_{50} yaitu sebesar 61,93 termasuk dalam golongan antioksidan kuat ($IC_{50} = 50-100$).

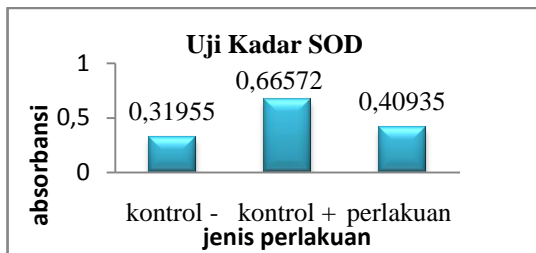
Hasil pengujian kadar MDA rata-rata pada setiap kelompok kelompok kontrol negatif sebesar 0.0805, kelompok kontrol positif 0.145, kelompok perlakuan 0.112 dapat dilihat pada grafik 1 yang menunjukkan bahwa terjadi penurunan antara kelompok kontrol

negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan serta dapat menunjukkan bahwa minuman probiotik sirsak gunung (*Annona montana* macf.) dapat menurunkan kadar Stres Oksidatif dalam tubuh.



Grafik 1 Grafik Rerata Kadar MDA organ Hepar Berdasarkan jenis perlakuan.

Hasil pengujian kadar SOD rata-rata pada setiap kelompok kontrol negatif sebesar 0.31955, kelompok kontrol positif 0.665725, kelompok perlakuan 0.40935 dapat dilihat pada grafik 2 yang menunjukkan bahwa terjadi penurunan antara kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan serta dapat menunjukkan bahwa minuman probiotik sirsak gunung (*Annona montana* macf.) dapat menurunkan kadar Stres Oksidatif dalam tubuh karena mengandung antioksidan sebagai penangkal radikal bebas.



Grafik 2 Grafik Rerata Kadar SOD organ Hepar Berdasarkan jenis perlakuan.

PEMBAHASAN

Penelitian yang termasuk jenis penelitian eksperimental ini dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian minuman probiotik sirsak gunung (*Annona montana* macf.) terhadap kadar MDA dan SOD. Buah sirsak gunung merupakan buah yang mengandung antioksidan karena positif mengandung senyawa metabolit sekunder terpenoid. Pada uji terpenoid terjadi perubahan warna merah akibat terjadinya oksidasi pada golongan senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Pada pengujian antioksidan dengan menggunakan metode DPPH buah sirsak gunung didapatkan nilai rata-rata IC_{50} sebesar 61,93 merupakan aktivitas antioksidan kuat ($IC_{50} = 50-100$), sehingga buah sirsak gunung dapat menangkal radikal bebas. Namun jika dibandingkan dengan vitamin C

yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 4,15 ppm yang tergolong sebagai antioksidan sangat kuat maka vitamin c lebih kuat dalam melawan radikal bebas.

Malondialdehid (MDA) dapat menggambarkan aktivitas radikal bebas di dalam sel sehingga dijadikan sebagai salah satu petunjuk terjadinya stres oksidatif. Paparan minyak jelantah dapat memicu terjadinya stress oksidatif, dapat meningkatkan proses peroksidasi lipid ditandai dengan peningkatan kadar MDA, kedua hal tersebut dapat dilihat dan dibandingkan dari kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif diketahui nilai $F= 3.776$ $P=0.1$ ($P>0.05$) yang berarti tidak ada beda yang nyata antara kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif. Pemberian minuman probiotik dapat menurunkan kadar MDA hepar pada tikus yang diberikan minuman probiotik buah sirsak gunung (*Annona montana* macf.) selama 2 minggu (14 hari) terlihat pada kelompok perlakuan. Hal ini dapat diindikasikan bahwa minuman probiotik dengan dosis 0.14ml/g BB dapat menurunkan kadar MDA

karena pada minuman probiotik buah sirsak gunung mengandung antioksidan, hal tersebut dapat dilihat dari nilai IC_{50} . Rata-rata yang diperoleh pada penelitian aktivitas antioksidan sebesar 61,93 tergolong dalam antioksidan kuat (IC_{50} 50-100). (Blois, 2005).

Minuman probiotik buah sirsak gunung (*Annona montana* macf.) dapat menurunkan kadar MDA pada tikus yang mengalami stress oksidatif hal ini serupa dengan penelitian Susanti dan Aryatini 2012 yang menyatakan bahwa pemberian kefir yang mengandung *Lactobacillus* mampu menurunkan kadar MDA pada organ hepar mencit putih. Kefir yang kaya antioksidan (vitamin C, E dan karoten) berperan sebagai donor elektron dalam menghentikan sifat reaktif dari radikal bebas. Secara tidak langsung, vitamin C dan E tersebut menginduksi enzim-enzim tertentu yang dapat meningkatkan kadar antioksidan endogen seperti glutathion peroksidase (GSH.Px), superdiokside dismutase (SOD) dan katalase yang dapat menetralkan senyawa radikal bebas dan melarutkannya sehingga dapat

dikeluarkan melalui system ekskresi tubuh. Sedangkan mekanisme kerja penurunan kadar MDA pada hepar yakni kandungan antioksidan berperan dalam melawan radikal bebas, sehingga dapat memperkecil terjadinya toksisitas pada hepar.

Selain itu kadar MDA dapat dipengaruhi oleh BAL berupa komponen antioksidan yang terintegrasi di dalam sistem pertahanan antioksidan manusia diperoleh dari bahan pangan dan atau disediakan oleh mikrobiota yang hidup di saluran pencernaan. Lebih jauh lagi, telah diketahui bahwa terdapat hubungan yang sangat kuat antara sistem pertahanan antioksidan terintegrasi dengan mikrobiota saluran pencernaan pada tubuh manusia.

Superoksida dismutase merupakan enzim yang memegang peranan penting sebagai antioksidan endogen. Berdasarkan mekanisme enzim SOD digolongkan sebagai antioksidan primer yang berperan mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil yaitu radikal O^{2-} menjadi H_2O_2 . Kerusakan

oksidatif ditandai dengan adanya peningkatan MDA yang diikuti dengan penurunan aktivitas SOD (Zanuri *et al.*, 2012). Namun pada penelitian ini tikus yang diinduksi dengan minyak jelantah dengan dosis 2,5ml/200g BB pada pagi dan siang hari dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang disonde minyak jelantah pada pagi hari dengan dosis 2,5ml/200gBB dan 1,4ml/200gBB minuman probiotik pada siang hari menunjukkan perbedaan. Dapat dilihat pada grafik menunjukkan rata-rata kadar SOD kelompok kontrol negatif sebesar 0.665725 sedangkan pada kelompok perlakuan sebesar 0.40935. pada uji SOD kadar kelompok kontrol negatif kelompok kontrol positif dan perlakuan sangatlah berbeda. Kelompok kontrol positif merupakan kelompok kontrol yang terpapar minyak goreng jelantah dan kelompok yang mengalami stress oksidatif dalam hal ini dibandingkan dengan kelompok perlakuan, sedangkan menurut teori kadar SOD pada grafik menunjukkan peningkatan sehingga dapat dinyatakan bahwa minuman probiotik memiliki efek sebagai antioksidan yang dapat menurunkan

kadar stress oksidatif. Namun pada grafik menunjukkan penurunan sehingga dapat dinyatakan minuman probiotik memiliki pengaruh terhadap kadar stress oksidatif dikarenakan memberikan pengaruh pula pada kadar MDA. Hasil penelitian Moussa (2008) yang menyebutkan terdapat korelasi positif antara aktivitas SOD dan kadar MDA, hal ini juga sejalan dengan hasil penelitian Dominguez (1998) yang melaporkan adanya peningkatan enzim antioksidan seperti SOD seiring adanya peningkatan produksi ROS. Seperti yang diketahui, radikal bebas diproduksi secara terus-menerus didalam tubuh sebagai hasil sampingan dari proses metabolisme sel normal, namun beberapa kondisi diketahui dapat mengganggu keseimbangan antara produksi radikal bebas dan mekanisme pertahanan sel (Moussa, 2008).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Minuman probiotik yang berbahan dasar sirsak gunung (*Annona montana macf.*) dapat menurunkan radikal bebas

dalam tubuh dengan menurunnya kadar Malondialdehid (MDA) pada kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol perlakuan. Serta dapat menurunkan kadar Superoksida Dismutase (SOD) pada kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol perlakuan sehingga dapat disimpulkan bahwa minuman probiotik dapat menurunkan kadar MDA dan kadar SOD.

DAFTAR PUSTAKA

Blois MS. 2005. *Antioxidant determination by the use of stable free radical*. Nature 181:1191-1200

Dominguez, C., E.Ruiz, M.Gussinye, A. Carrascosa. 1998. *Oxidative stress at onset and in early stages of type 1 diabetes in children and adolescent*. Diabetes Care. 21: 1736-42.

Susanti, E., Aryantini M.D. 2012. *Efek Kefir Terhadap Gambaran MDA Hepar Mencit Putih (Mus Musculus) Jantan Galur BALB C Dengan Paparan Formalin*

Maulana, Hafiz I. 2011. *Efek Antioksidan Effervescent Rosella Ungu (Hibiscus sabdariffa L.) terhadap Kondisi Stres Oksidatif pada Tikus Wista (Rattus norvegicus)*. Skripsi. FTP-ITP UB. Malang.

Mulyati, S., Meilina, H. 2007. *Pemurnian Minyak Jelantah dengan Menggunakan Sari Mengkudu*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Rasa terima kasih dipersembahkan kepada UPT Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah membantu pengujian MDA dan SOD serta UPT Laboratorium Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang yang telah memberikan kemudahan dalam peminjaman alat.

Moussa, S.A. 2008. *Oxidative Stress In Diabetes Mellitus*. Romanian J. Biophys.

Suwandi, T. (2012). *Pemberian Ekstrak Kelopak Bunga Rosela Menurunkan Malondialdehid Pada Tikus yang diberi Minyak Jelantah*

Zanuri, Masagus., Septelia Inawati Wanandi. 2012. *Aktivitas Spesifik MnSOD dan Katalase pada Hati Tikus yang Dinduksi Hipoksia Sistemik: Hubungannya dengan Kerusakan Oksidatif*. Media Litbang Kesehatan 22 (2): 87-92.

Zaki, I., Johan, A., Suci W. 2015. *Pengaruh Pemberian Jus Mangga Terhadap Profil Lipid dan MDA pada Tikus Yang Diberi Minyak Jelantah*