

## Pengaruh Pemberian Ekstrak Tomat terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) dan Glutathion Peroksidase (GPx) Plasma Darah Tikus Hiperkolesterolemik

Retno Sri Iswari, R Susanti

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Negeri Semarang, Jawa Tengah

Email : [iswari-retno@yahoo.com](mailto:iswari-retno@yahoo.com)

### Abstrak

Hiperkolesterolemi berpotensi menimbulkan terjadinya aterosklerosis. Aterosklerosis berkaitan erat dengan tingginya kadar LDL. LDL dalam jangka lama memicu terbentuknya radikal bebas. Hal tersebut dapat dihambat oleh Likopen tomat yang merupakan antioksidan eksogen. Pemberian ekstrak tomat diharapkan mampu memperbaiki profil lipid dan pencegahan oksidasi LDL. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tomat terhadap kadar MDA dan GPx pada tikus putih (*Rattus norvegicus* galur Sprague Dawly) hiperkolesterolemik sebagai parameter stres oksidatif. Rancangan penelitian menggunakan Post Test Randomized Control Group Design, pada tikus Sprague Dawly jantan berumur 12 minggu. Tikus dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu K1 (Kelompok kontrol), K2 (diberi ekstrak tomat 4 mg/ hari), K3 (diberi tomat 8 mg/ hari), dan K4 (diberi tomat 16 mg/ hari). Kadar MDA dan GPx menurun pada kelompok perlakuan dan berbeda signifikan baik dalam maupun antar kelompok perlakuan (Anova  $p = 0,00$  dan  $p = 0,00$ ). Disimpulkan bahwa pemberian ekstrak tomat menurunkan kadar malondialdehyde (MDA) dan glutathion peroksidase (GPx).

Kata kunci: ekstrak tomat, glutathion peroksidase, malondialdehyde, tikus putih hiperkolesterolemi

### Abstract

Hipercholesterolemia is able to trigger the formation of atherosclerosis. Atherosclerosis is closely related to high levels of low density lipoprotein (LDL). In the long term exposur, LDL is able to lead to the formation of free radicals and tissues damages. But, it can be inhibited by tomato lycopene which is one of the natural antioxidant exogenous. Tomato extract was expected to improve the lipid profile and prevent body from LDL oxidation. This study aimed to determine the effect of tomato extract on MDA and GPx in hypercholesterolemic white rats (*Rattus norvegicus* strain Sprague Dawly) as oxidative stress parameters. The study using Post Test Randomized Control Group Design. 12-week-old male Sprague Dawly rats were grouped into 4 groups: K1 (control group), K2 (given tomato extract 4 mg / day), K3 (tomato given 8 mg / day), and K4(tomato given 16 mg / day). The result shown that MDA and GPx decreased in the treatment group compared with K1 and vary significantly both within and between the treatment groups (ANOVA  $p = 0.00$  and  $p = 0.00$ ). It could be concluded that the tomato extract were able to reduce malondialdehyde (MDA) and glutathione peroxidase (GPx) levels

**Keywords:** glutathione peroxidase, hyper cholesterolemic white rats, malondialdehyde, tomato extract.

## PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan agent pertahanan tubuh yang dapat menghambat reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Secara alami antioksidan terdapat di dalam tubuh manusia baik secara endogen maupun eksogen. Antioksidan endogen yang terdapat dalam tubuh diantaranya adalah antioksidan enzimatik untuk pertahanan termasuk glutathion peroksidase,

superoxyde dismutase, dan catalase. Antioksidan eksogen yang bersifat non enzimatis yang masuk ke dalam tubuh diantaranya adalah vitamin C,  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E), glutation (GSH) dan karotenoid, khususnya likopen dan  $\beta$ -karoten (Valko *et al.* 2006 dan Debjit *et al.* 2012).

Tingginya radikal bebas dalam tubuh menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang dapat memicu tingginya low density lipoprotein (LDL) teroksidasi. Tingginya LDL teroksidasi bila dibiarkan dalam jangka panjang akan menyebabkan terjadinya aterosklerosis (Sy *et al.*, 2015). Glutathione peroxidase merupakan salah satu antioksidan endogen yang berperan dalam perlindungan terhadap peroksidasi lipid. Pada keadaan stres oksidatif aktivitas glutathione peroxidase akan meningkat (Stiphanuk, 2000), untuk mengurangi stres oksidatif diperlukan antioksidan eksogen. Salah satu bahan makanan yang mengandung antioksidan tinggi adalah tomat. Hasil penelitian Iswari dan Susanti (2015), menunjukkan tiap 1 gram ekstrak tomat yang dikukus mengandung 46,92  $\mu$ g likopen, 586,441  $\mu$ g  $\beta$ -karoten, 22,98mg/100g vitamin C dan 0,41 mg/100g  $\alpha$ -tokoferol.

Hiperkolesterolemia merupakan kondisi dimana kadar kolesterol dalam darah melebihi batas normal, ditandai dengan tingginya kadar kolesterol total. Tingginya kadar kolesterol secara langsung dapat merangsang penurunan fungsi endotel, sehingga memudahkan LDL masuk ke dalam endotel dan mengalami oksidasi yang akan memicu munculnya aterosklerosis atau plak.

Kadar kolesterol yang tinggi dalam darah menyebabkan fungsi endotel terganggu dengan terbentuknya radikal bebas hidroksil (.OH) dan permeabilitas membran endotel intima meningkat. Radikal hidroksil ini akan berikatan dengan asam lemak tidak jenuh banyak (polyunsaturated) menghasilkan radikal lipid yang terpusat pada karbon (L.). Radikal lipid ini selanjutnya berikatan dengan oksigen molekuler menghasilkan radikal peroksil lipid (LOO.). Bila radikal peroksil lipid tidak direduksi oleh antioksidan, maka terjadi peroksidasi lipid. Radikal peroksil lipid akan mengalami siklisasi menjadi MDA. MDA merupakan suatu radikal bebas produk akhir dari proses peroksidasi lipid pada lemak tidak jenuh, yang umumnya digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid untuk menilai stress oksidatif (Jovanovic *et al.*, 2012; Shifia *et al.*, 2013).

Aterosklerosis sering dikaitkan dengan penyakit jantung koroner (PJK), akibat proses aterosklerosis atau plak (Chew & Park, 2004). Penderita aterosklerosis dan penyakit jantung koroner menunjukkan dislipidemia atau tingginya kolesterol di dalam darah terutama kadar LDL (Sy *et al.*, 2015). Hal ini memicu produksi radikal bebas sebagai efek samping metabolisme lipid. Salah satu oksidan dalam tubuh adalah radikal bebas dari kelas reactive oxygen species (ROS), bersifat sangat tidak stabil dan mudah bereaksi dengan molekul lain.

Radikal bebas dalam tubuh tidak berbahaya jika berada di bawah batas normal, tetapi menimbulkan berbagai masalah jika melebihi (Kunwar dan Priyadarsini, 2011). Tubuh memiliki mekanisme khusus mengeliminasi keberadaan radikal bebas melalui antioksidan enzimatis, seperti glutathione peroxidase, superoxyde dismutase, dan catalase. Akan tetapi, peningkatan kadar ROS dan jenis radikal bebas lain secara signifikan berakibat pada penurunan aktivitas antioksidan dan kerusakan jaringan. Oleh sebab itu, meningkatkan asupan nutrisi yang mengandung antioksidan tinggi sangat dianjurkan (Paiva and Russel, 2013). Konsumsi tomat mampu meningkatkan perlindungan tubuh terhadap radikal bebas karena kandungan berbagai antioksidan alami dalam jumlah besar.

## METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Fisiologi Hewan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang dengan model *Posttest Only Randomized Controlled Group Design*. Sebanyak 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Sprague Dawley (SD), jenis kelamin jantan, umur 12 minggu dengan berat badan 180 – 200 gram diperoleh dari Laboratorium Biologi FMIPA UNNES. Sebelum pemberian perlakuan, tikus diadaptasi selama 10 hari dengan pemberian pakan pellet standard 594 (PT. Japfa Confeed Indonesia) yang

diberikan secukupnya (*ad libitum*). Untuk membuat tikus hiperkolesterolemia, dilakukan pemberian minyak babi sebanyak 2 ml/ ekor/ hari dan 2 mg/ ekor/ hari kolesterol dengan metode sonde lambung ditambah pakan standart selama 14 hari (Gani et al. 2013) hingga kadar kolesterol total tikus  $\geq 54$  mg/ dl (Smith & Mangkoewidjojo, 1988).

Sebanyak 24 ekor tikus putih strain Sprague Dawley (SD), secara acak dibagi menjadi 4 kelompok dan diberi perlakuan Adapun perlakuan tersebut berupa : tanpa pemberian ekstrak tomat atau 0 mg/ 200 ekor/ hari untuk K1 (Kontrol); pemberian ekstrak tomat masing – masing 4 mg/ 200 ekor/ hari untuk K2; 8 mg/ 200 ekor/ hari untuk K3 dan 16 mg/ ekor/ hari untuk K4.

#### **Ekstrak tomat dan pemberiannya pada tikus**

Ekstrak tomat yang diberikan adalah ekstrak dari tomat yang dikukus dengan mengandung antioksidan paling tinggi (Iswari dan Susanti, 2015). Sebanyak 20 kg tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill) diperoleh dari Bandungan market, Semarang, Centra Java, Indonesia dikukus untuk meningkatkan kandungan antioksidan. Hasil ekstrak tomat didapat dengan metode soxhletasi, disuspensi dengan air dan petroleum eter kemudian dilarutkan dengan olive oil. Ekstrak tomat diberikan secara oral, menggunakan sonde langsung pada lambung sesuai dosis.

#### **Pengambilan darah dan pembuatan serum**

Pada hari ke-15 (setelah 14 hari pemberian ekstrak tomat), semua tikus diambil darahnya melalui pleksus retroorbitalis (sudut mata) menggunakan mikrohematokrit. Darah yang keluar ditampung pada tube 1,5 ml yang telah diberi EDTA. Setelah diambil, sampel darah dibiarkan pada suhu kamar selama 30 menit. darah disentrifus, plasma akan terpisah dari gumpalan darah. Cairan plasma selanjutnya dipisahkan, dan dimasukkan dalam tube 1,5 ml yang lain. Plasma selanjutnya disimpan pada suhu  $-4^{\circ}\text{C}$  sampai dilakukan analisa kadar katalase, SOD dan glutation peroksidase serta total status antioksidan.

#### **Pengukuran aktivitas katalase, SOD dan glutation peroksidase**

Aktivitas katalase, SOD dan glutation peroksidase dianalisa secara colorimetric menggunakan spektrofotometer. Untuk enzim katalase menggunakan catalase colorimetric assay kit, enzim SOD menggunakan SOD activity assay kit , dan untuk enzim glutathion peroksidase menggunakan glutathion peroksidase activity colorimetric assay kit.

#### **Analisa Data**

Setiap data yang terkumpul (katalase, SOD dan Glutathion peroksidase serta total kapasitas antioksidan) dilakukan cleaning, coding dan tabulasi. Selanjutnya dientry ke dalam computer dan dilakukan analisis diskriptif data. Sebelum dilakukan analisis lebih lanjut, dilakukan uji normalitas dengan uji Kolmogorov- Smirnov (Campbell & Stanley, 1988). Uji hipotesis menggunakan One-way ANOVA, dilanjutkan dengan uji Least Significant Difference (LSD). Analisis statistik dibantu dengan Program SPSS for Windows versi 13. Nilai signifikansi dalam penelitian ini apabila variabel yang dianalisis memiliki  $P < 0,05$ .

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **Hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.**

Tabel 1. Rerata, simpangan baku (SB), Anova, hasil uji LSD dari kadar kolesterol total, MDA dan GPx.

Kelompok	Kolesterol total (mg/dl)	GPx (u/ml)	MDA (u/ml)
K <sub>1</sub> (n=6)	62.52 <sup>a</sup>	56.22 <sup>a</sup>	5.20 <sup>a</sup>
K <sub>2</sub> (n=6)	55.65 <sup>b</sup>	52.09 <sup>b</sup>	4.66 <sup>a</sup>
K <sub>3</sub> (n=6)	52.20 <sup>c</sup>	33.12 <sup>c</sup>	2.72 <sup>b</sup>
K <sub>4</sub> (n=6)	47.68 <sup>d</sup>	22.33 <sup>d</sup>	1.40 <sup>c</sup>

Pada akhir penelitian terjadi penurunan kolesterol total serum darah tikus putih Sprague Dawley secara signifikan (Tabel 1). Kadar kolesterol serum darah dipengaruhi oleh asupan pakan (kolesterol eksogen) dan biosintesis kolesterol dalam tubuh (kolesterol endogen). Asupan ekstrak tomat, khususnya likopen dapat menurunkan biosintesis kolesterol melalui penghambatan enzim HMG KoA reduktase, yang mengakibatkan HMG KoA reduktase tidak dapat mengkatalisis HMG KoA menjadi mevalonat.

Hasil penelitian juga menunjukkan terjadinya penurunan kadar MDA tikus putih Sprague Dawley yang signifikan (Tabel 1). Hiperkolesterolemi menyebabkan fungsi endotel terganggu dengan terbentuknya radikal bebas hidroksil (.OH) dan permeabilitas membran endotel intima meningkat. Radikal hidroksil akan berikatan dengan asam lemak polyunsaturated menghasilkan radikal lipid. Radikal lipid selanjutnya berikatan dengan oksigen molekuler menghasilkan radikal peroksil lipid. Bila radikal peroksi lipid tidak direduksi oleh antioksidan, maka terjadi peroksidasi lipid, yang akan mengalami siklisisasi menjadi MDA.

Pemberian ekstrak tomat kukus sebanyak 8mg dan 16mg menurunkan secara signifikan kadar MDA. Dalam penelitian ini likopen mereduksi radikal peroksi lipid yang mengoksidasi LDL sehingga terjadi penurunan radikal peroksi lipid, akibatnya LDL-kolesterol yang teroksidasi juga mengalami penurunan.

Penghambatan teroksidasinya LDL-kolesterol oleh radikal bebas dapat terjadi melalui: (1) penambahan ikatan rangkap terkonyugasi likopen membentuk radikal likopen-peroxyl; dan (2) mentransfer elektron ke radikal bebas dengan menyumbangkan anion (likopen<sup>+</sup>) atau kation (likopen<sup>-</sup>), sehingga terbentuk radikal bebas yang stabil (Krinsky & Johnson 2005)

Menurut Pascale *et al.* (2007) peran likopen dalam menurunkan LDL oks terjadi melalui penghambatan sintesis kolesterol. Untuk memenuhi kebutuhan kolesterol, hati meningkatkan pengaturan aktivitas reseptor LDL-kolesterol dengan meningkatnya aktivitas sterol regulatory element binding protein 2 (SREBP-2) yang merupakan aktivator transkripsi dan berperan penting dalam homeostasis kolesterol (Lagor & Milar 2010). Peningkatan pengambilan LDL menyebabkan penurunan LDL dalam peredaran darah. Di dalam hati LDL akan mengalami penguraian oleh lisosom dan kolesterol akan diubah menjadi garam empedu atau mengalami esterifikasi menjadi ester kolesterol.

Hasil penelitian menunjukkan terjadinya penurunan yang signifikan terhadap kadar GPx tikus putih Sprague Dawley (Tabel 1). Gluthathion peroksidase berfungsi mengkatalisis reduksi hidrogen peroksida dengan bantuan gluthathion (GSH) sebagai donor elektron, dan juga mengkatalisis reduksi peroksida lipid (LOOH) menjadi alkohol (LOH) dan dioksigen (O<sub>2</sub>) menggunakan GSH sebagai donor elektron. Dalam hal ini gugus sulfhidril dari GSH berfungsi sebagai donor elektron dan akan direduksi menjadi bentuk disulfida (GSSG), selanjutnya direduksi kembali oleh Gluthathion peroksidase menjadi bentuk sulfhidril.

Gluthathion peroksidase merupakan pertahanan utama dari kerusakan oksidatif apabila tidak ada antioksidan yang lain. Bila keadaan vitamin C, vitamin E, maupun  $\beta$ -karoten dalam tubuh rendah dibutuhkan banyak selenium (Se) sebagai bagian dari Gluthathion peroksidase untuk dapat menekan produksi radikal bebas. Untuk mengatasi kondisi tersebut, tubuh meningkatkan aktivitas GPx. Bila antioksidan lain cukup, maka kadar Gluthathion peroksidase akan menurun sebagai konsekuensi dari kadar antioksidan lain. Hasil penelitian ini menunjukkan kadar GPx menurun karena pengaruh dosis. Semakin besar dosis ekstrak tomat maka semakin tinggi penurunan kadar Gluthathion peroksidase.

Penurunan kadar Gluthathion peroksidase ini diakibatkan adanya kandungan likopen, vitamin C dan vitamin E dalam ekstrak tomat, sehingga kebutuhan Gluthathion peroksidase menjadi berkurang (Serafani *et al.*, 2005). Selain itu kemungkinan adanya mekanisme keseimbangan antioksidan, dimana tingginya kadar likopen dalam ekstrak tomat yang berlebih akan menjadi prooksidan. Untuk menetralkan prooksidan dibutuhkan Gluthathion peroksidase sehingga kadar Gluthathion peroksidase menurun (Herbert, 1996).

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih saya sampaikan kepada Pemerintah melalui Program Dirjen Penguatan Riset dan pengembangan, Kemenristek dikti dimana penulis berhasil mendapatkan penelitian Hibah bersaing.

## DAFTAR PUSTAKA

- Campbell, D.T & Stanley, J.C. 1988. *The Separate- Sample Pretest-Posttest Control Group Design*. In: Experimental and Quasi-Experimental Designs for Research. Chicago: Rand Mc Nally College Publishing Company.
- Chew, B.P. & Park, J.S. 2004. Carotenoid Action on Immune Response. *The American Society for Nutritional Sciences J. Nutr.* 134: 257S – 261S.
- Debjit, B., Sampath K.K.P., Shrahan P., Shweta S. 2012. Tomato-a Natural Medicine and its Health Benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 1 (1): 33-43.
- Gani, N., Lidya, I.M., Mariska, M.P. 2013. Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada pemberian Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L). *Jurnal MIPA Unsrat On Line.* 2: 44-49
- Harini, M. & Oki D.A..2009. Blood Cholesterol Level of Hypercholesterolemia Rat (*Rattus noevigicus*) after VCO Treatmen. *Journal of Bioscience.* 1(2): 53-58
- Herbert, V..1996. Prooxidant effects of antioxidant vitamin: Introduction. *J Nutr* 126(Suppl.4):1197s-2008S
- Iswari, R.S. & Yuniastuti A. 2006. Pengaruh Pemberian Jus Tomat terhadap kadar kolesterol Tikus Putih Hiperkolesterolemi. Unnes: LP2M.
- Iswari, R.S. & Susanti R. 2015. Studi Aktivitas Antioksidan Tomat dan Potensinya pada Tikus Hiperkolesterolemi. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education.* 8 (1): 129-134.
- Jovanovic, J.M., Nolic, R.S., Kocie, G.M., Krestic, N.S., Kresmanovic, M.M. 2012. Glutathione Protects Liver and Kidney Tissue from Cadmium and Lead-provoked Lipid Peroxidation. *J. Serb. Chem. Soc.* 78(2):197-207
- Krinsky, N.I. & Johnson E.J. 2005. Carotenoid Action and Their Relation to Health and Disease. *Mol Aspect Med.* 6: 459-516
- Pascale, D, Wheeler J, Botham K.M. & Bravo E.2007. Effect of Lycopene on the Induction of Foam Cell Formation by Modified LDL. *J Am Endocrinol Metabolism.* 293(6): 7-20
- Shifia, V., Aulanni'am, Mahdi, C., 2013. Studi Pemberian Ekstrak Rumpun Laut Coklat (*Sargassum prismaticum*) terhadap kadar Malondialdehid dan Gambaran Histologi Jaringan Ginjal pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes Melitus Tipe I, *Kimia Studentjournal.* 1: 119-125
- Smith, J.B & Mangkoewidjojo S. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Jakarta: Universitas Indonesia
- Stiphanuk, M.H. 2000. Biochemical and physiological aspects of human nutrition. New York: p.904-5.
- Sy, E., Husnil, K. & Ei, Y. 2015. Efek pemberian vitamin C terhadap aktifitas katalase hati tikus galur wistar yang terpapar ion Pb. *Jurnal Kesehatan Andalas* 4(1): 279-285
- Valco, M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M. & Telser J. 2006. Free radical and antioxidant in normal Physiological function and Human disease. Review. *Biocel* 1357-2725.doi:10.1016.biocel.2006.07.001.