

PROSIDING

**Seminar Nasional
& Pameran Produk Pangan 2015**

**INOVASI TEKNOLOGI UNTUK
MEMPERKUAT PERAN INDUSTRI
MENUJU AKSELERASI
PEMENUHAN PANGAN NASIONAL**



**Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)
Semarang 2015**



Unika
SOEGIJAPRANATA
Talenta pro patria et humanitate



**PROSIDING
SEMINAR NASIONAL PATPI 2015**

**INOVASI TEKNOLOGI
UNTUK MEMPERKUAT PERAN INDUSTRI
MENUJU AKSELERASI PEMENUHAN
PANGAN NASIONAL**

Semarang, 20 - 21 Oktober 2015

T4 - MG

PENGEMBANGAN BAHAN DAN PRODUK PANGAN

KODE	JUDUL/PENULIS	Halaman
T4-MG 10	Aktivitas Antioksidan <i>In Vivo</i> Ekstrak <i>Defatted Rice Bran</i> Pada Tikus Yang Diinduksi Streptozotocin <i>Sri Hartati</i>	493
T4-MG 13	Deteksi Kandungan Asam Lemak dan Residu Logam Berat pada Susu Sapi <i>Bambang Kuntoro</i>	503
T4-MG 14	Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Duwet (<i>Syzygium cumini</i> Linn.) Varietas "Genthong" Pada Peroksidasi Lipid Secara <i>In Vitro</i> <i>Jarod Rohadi</i>	514
T4-MG 15	Perubahan Kimiawi Kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea</i> L.) Pada Berbagai Kemasan Selama Penyimpanan <i>Ir. Choirul Anam, MP, MT</i>	527
T4-MG 17	Pengaruh Rasio Pati/ Tepung Jagung dan Temperatur Ekstrusi Terhadap Kristalinitas dan Kekerasan Beras Analog <i>Faleh Setia Budi, ST</i>	539
T4-MG 20	Stabilitas Pewarna Alami Serbuk Bit Merah dalam Adonan Tepung Mocaf selama Pengukusan <i>Dr. V. Kristina Ananingsih</i>	552
T4-MG 23	Pengembangan Metode Analisa Pemanis secara Simultan dalam Minuman Ringan dan Klaim Food Authentica <i>Wiwi Hartuti S. Farm, Apt</i>	568
T4-MG 24	Pengaruh Penambahan Ekstrak Herbal Terhadap Sifat Fisikokimia Beras Parboiled Terfortifikasi Kromium <i>Dr. Wisnu Adi Yulianto</i>	584
T4-MG 25	Sifat Kimiawi dan Mikrobiologi Rusip selama Fermentasi dengan Konsentrasi Garam yang Berbeda <i>Dyah Koesmawardani, M</i>	593
T4-MG 27	Kajian Sifat Fisik Tepung Sorgum Putih (<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench) Kultivar Lokal Bandung dengan Variasi Lama Penyosohan <i>Endah Wulandari, M.Si</i>	605
T4-MG 29	Penurunan Kandungan Timbal (Pb) pada Kupang Merah (<i>Musculitas senhausia</i>) dengan Perebusan Asam <i>Dr. Nur Hidayat</i>	615
T4-MG 30	Kualitas Gula Semut yang Dibuat dari Bahan Baku Cairan Gula Aren Cetak (<i>Arenga Innata</i>) dengan Variasi onsentrasi Cairan dan Suhu Pemasakan <i>Ir. Suroso, SU</i>	626
T4-MG 32	Produksi Dan Evaluasi Fisikokimiasensori Fruit Leather Apel Manalagi dengan Variasi Xanthan Gum <i>Ir. Nur Her Riyadi, M.S</i>	637
T4-MG 33	Penentuan Umur Simpan Biskuit Kenari dengan Metode Akselerasi Pendekatan Kadar Air Kritis <i>Dr. Erna Rusliana M. Sale</i>	655

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *IN VIVO* EKSTRAK DEFATTED RICE BRAN PADA TIKUS YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN

(*In Vivo* Antioxidant Activity of Defatted Rice Bran Extract in Streptozotocin-Induced Rats)

Sri Hartati ^{a)}, Y. Marsono^{b)}, Suparmo^{b)} dan Umar Santoso^{b)}

^{a)}Prodi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Veteran Bangun Nusantara Sukoharjo, Jl. Letjend S. Humardani No. 1 Sukoharjo 57521, Telp. +62-0271-593156 Indonesia

^{b)}Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Jl. Flora, Bulaksumur, Yogyakarta 55281 Indonesia

^{a)}Email : tatik_univet@yahoo.com

ABSTRACT

Various studies have shown that there are a close relationship between the antioxidants with emphasis of oxidative stress that occurs due to the influence of hyperglycemia in patients with diabetes mellitus. Antioxidants group mainly of phenolic acids, cinnamic acid derivatives are found in the bran and defatted rice bran (DRB) is known to counteract free radicals. The purpose of this study was to determine the *in vivo* of antioxidant activity from the DRB extract and DRB in the induced-streptozotocin (STZ) diabetic rats. A total of 30 Wistar rats were divided into 5 groups included : group of control rats / normal receive standard feed (K); group of diabetic rats who received standard feed and force feeding water drinking (ZK); group of diabetic rats receiving modified DRB feed and force feeding water drinking (ZDRB); group of diabetic rats receiving modified DRB feed and ferulic acid solution force feeding drinking (ZDRB+AF); and group of diabetic rats receiving modified DRB feed and force feeding DRB extract drinking (ZDRB+Ekstrak). Dietary interventions carried out for 28 days. Blood plasma was tested at the beginning of treatment (mg-0) and the end of the treatment (mg-4) include MDA (malondialdehyde) and FICA (Ferrous Ion Chelating Activity). Results showed that the decline was significantly ($P < 0.05$) in the treatment of MDA ZDRB + AF, ZDRB DRB + Extract, and ZDRB respectively by 18.90%, 13.28% and 10.58%. While the increase only occurred in the group FICA were ZDRB + extract (10.61%) and ZDRB + AF (4.91%). DRB and DRB extract has potential as an antioxidant and antidiabetic.

Keywords: defatted rice bran, extract DRB, antioxidant, antidiabetic, streptozotocin

ABSTRAK

Berbagai penelitian membuktikan bahwa terdapat hubungan yang erat antara antioksidan dengan penekanan stres oksidatif yang terjadi akibat pengaruh hiperglikemi pada penderita penyakit diabetes mellitus. Antioksidan golongan asam-asam fenolat utamanya turunan asam sinamat banyak ditemukan dalam bekatul dan defatted rice bran (DRB) diketahui mampu menangkal radikal bebas. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui secara *in vivo* aktivitas antioksidan ekstrak DRB dan DRB pada tikus diabetik yang diinduksi Streptozotocin (STZ). Sebanyak 30 ekor tikus Wistar dikelompokkan menjadi 5 kelompok meliputi K (kelompok tikus kontrol/normal yang menerima pakan Standar); ZK (kelompok tikus diabetes yang menerima pakan standar dan minum force feeding air); ZDRB (kelompok tikus diabetes yang menerima pakan modifikasi DRB dan minum force feeding air); ZDRB + AF (kelompok tikus diabetes yang menerima pakan modifikasi DRB dan larutan asam ferulat) serta ZDRB + Ekstrak (kelompok tikus diabetes yang menerima pakan modif DRB dan ekstrak DRB). Intervensi diet dilakukan selama 28 hari. Plasma darah diuji pada awal perlakuan (mg-0) dan akhir perlakuan (mg-4) meliputi kadar MDA (Malondialdehid) dan FICA (Ferrous Ion Chelating Activity). Hasil Penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan secara signifikan ($P < 0,05$) kadar MDA pada perlakuan ZDRB + AF, ZDRB DRB + Ekstrak, dan ZDRB masing-masing sebesar 18,90%, 13,28% dan 10,58%. Sementara peningkatan FICA hanya terjadi pada kelompok ZDRB+ekstrak (10,61%) dan ZDRB+AF (4,91%). DRB dan ekstrak DRB mempunyai potensi sebagai antioksidan dan antidiabetes.

Kata kunci : ekstrak, defatted rice bran, antioksidan, diabetes, streptozotocin

PENDAHULUAN

Berbagai laporan penelitian membuktikan bahwa terdapat hubungan yang erat antara antioksidan dengan penekanan stres oksidatif yang terjadi akibat pengaruh hiperglikemi pada penderita penyakit diabetes mellitus. Stres oksidatif terlibat dalam patogenesis diabetes dan komplikasinya (Rahimi *et al.*, 2005). Berbagai upaya dilakukan untuk mengatasi penyakit diabetes mellitus diantaranya ialah dengan menekan stres oksidatif yang timbul. Salah satu cara dalam menekan stres oksidatif adalah dengan penggunaan antioksidan dikarenakan antioksidan mampu mereduksi stress oksidatif dan menurunkan dampak komplikasi diabetik (Kaneto *et al.*, 1999; Montenen *et al.*, 2004; Rahimi *et al.*, 2005).

Tanaman diketahui mengandung berbagai substansi fitokimia yang berperan sebagai antioksidan diantaranya asam-asam fenolat terutama turunan asam-asam sinamat misalnya asam ferulat (Hanhineva *et al.*, 2010). Antioksidan tersebut terutama bertindak sebagai terminator-terminator radikal bebas. Antioksidan golongan asam-asam fenolat utamanya turunan asam sinamat banyak ditemukan dalam bekatul.

Bekatul (*rice bran*) diketahui memiliki kandungan komponen bioaktif atau senyawa fitokimia yang tinggi antara lain tokoferol, tokotrienol, oryzanol (Chen dan Bergman, 2005; Damayanthi *et al.*, 2003), antioksidan fenolik (Chanphrom 2007; Sompong *et al.*, 2011), asam pangamat (Kahlon, *et al.*, Sayre, 1994;), asam-asam fenolat /phenolic acid (Laokuldilok *et al.*, 2011; Devi & Arumughan, 2007a, 2007b). Untuk dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan bekatul memiliki kendala, antara lain mudah mengalami kerusakan (tengik). Kerusakan bekatul disebabkan karena secara alami bekatul memiliki enzim lipase dan lipoksigenase. Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengatasi permasalahan pemanfaatan bekatul. Salah satu yang memungkinkan untuk diterapkan adalah memisahkan minyak yang berada di dalamnya dengan bekatul. Minyak yang telah diekstrak akan menghasilkan produk minyak bekatul (*rice bran oil*), sedang bekatul yang telah diambil minyaknya disebut *defatted rice bran* (DRB).

Penelitian yang menyangkut minyak bekatul telah banyak dipublikasikan, sedang yang berhubungan dengan potensi DRB informasinya masih terbatas. DRB selain kaya akan serat juga kaya akan komponen bioaktif asam-asam fenolat yang didominasi asam ferulat yang merupakan salah satu anggota kelompok asam fenolat (Loukuldilok *et al.*, 2011, Jung *et al.*, 2007). Kelompok asam-asam fenolat tersebut dapat diperoleh dengan cara mengekstrak DRB. Belum diketahui apakah ekstrak DRB yang diduga mengandung banyak asam ferulat memiliki aktivitas antioksidan terutama dalam pengujian secara *in vivo* pada *tikus diabetik yang diinduksi Streptozotocin (STZ)*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak DRB yang diuji secara *in vivo* pada *tikus diabetik yang diinduksi Streptozotocin (STZ)*.

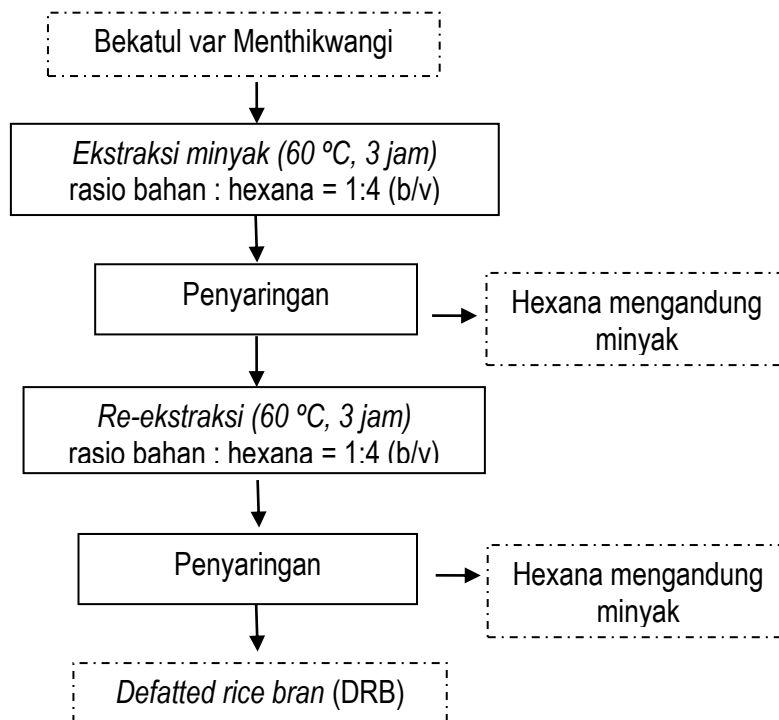
BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bekatul yang diproses dari gabah varietas Menthikwangi yang diperoleh dari Balai Benih Tanaman Pangan Jawa Tengah Kebun Benih Padi Tegalgondo Jl. Solo-Yogya Sragen Gatak Sukoharjo. Bahan kimia yang digunakan meliputi hexana, NaOH, HCl, Etil asetat diperoleh dari laboratorium Kimia dan Biokimia Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian UGM Yogyakarta. Bahan pakan standard hewan coba diperoleh dari laboratorium Pangan dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian UGM Yogyakarta. Bahan kimia untuk uji MDA dan FICA diperoleh dari laboratorium Pusat Antar Universitas (PAU) UGM Yogyakarta.

Preparasi *defatted rice bran* (DRB)

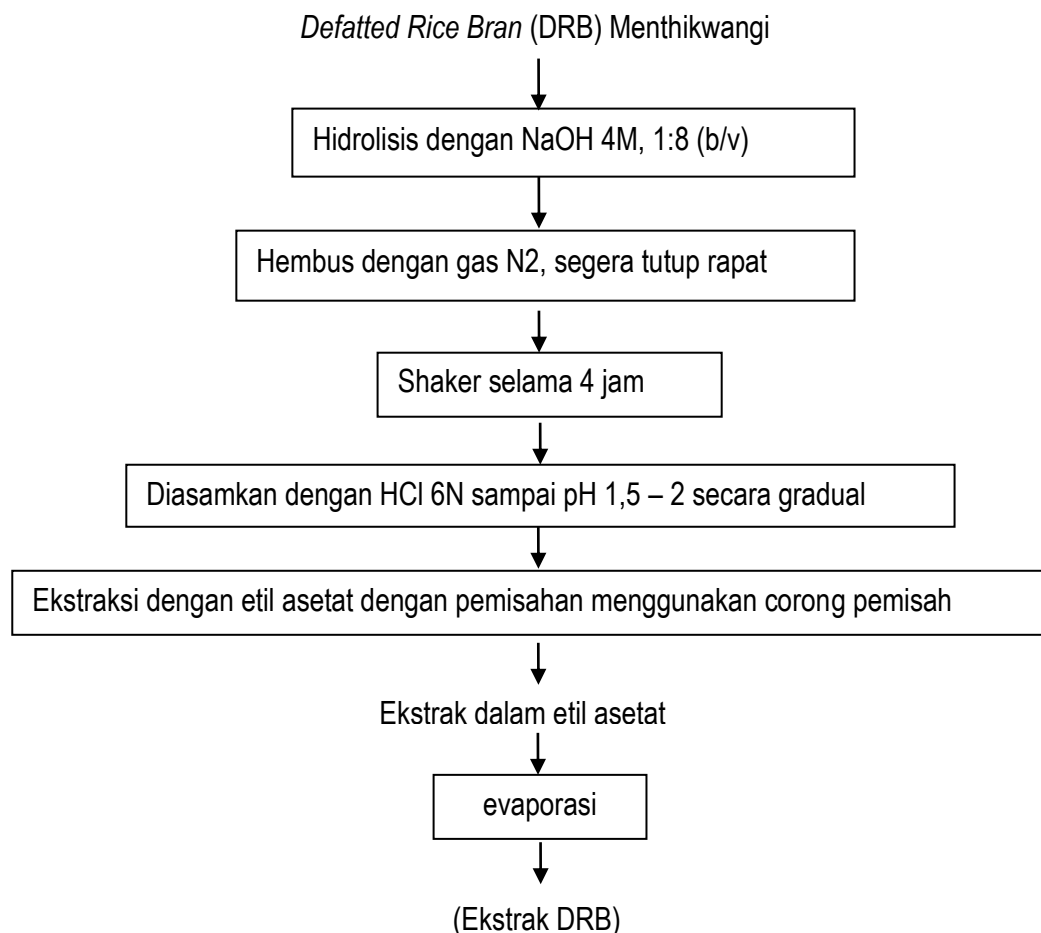
Bekatul sisa hasil penggilingan beras dihilangkan lemaknya mengikuti cara seperti tergambar pada Gambar 1. Pelarut yang digunakan adalah hexana dengan kadar lemak DRB akhir kurang dari 5%.



Gambar 1. Preparasi *Defatted rice bran* (DRB) dari bekatul var Menthikwangi

Preparasi ekstrak

Ekstrak DRB dipersiapkan mengikuti cara yang dilakukan Qiu *et al*, (2010). Sejumlah 30 g *defatted rice bran* (DRB) dihidrolisis dengan NaOH 4 M sebanyak 240 ml dalam botol sampel kemudian dihembus dengan gas N₂ segera tutup rapat dan dishaker selama 4 jam. Larutan DRB dalam NaOH selanjutnya diasamkan secara gradual sehingga pH 1,5-2 dengan HCl 6 N. Setelah pH larutan tercapai, ditambahkan etil asetat sebanyak 150 ml goyang pelan-pelan dalam corong pemisah. Lapisan etil asetat diambil ditempatkan pada wadah yang bersih. Ulangi penambahan etil asetat. Lapisan diambil lagi disatukan dengan lapisan sebelumnya. Cairan etil asetat dievaporasi dengan rotary evaporator (IKA WERKE RV06ML) pada suhu 35°C dan dilanjutkan dengan dihembus N₂ sehingga diperoleh ekstrak. Gambaran preparasi ekstrak DRB tampak seperti pada Diagram Alir Gambar 2.



Gambar 2. Preparasi ekstrak *Defatted Rice Bran* (DRB)

Persiapan Pakan

Sebelum pakan disiapkan DRB dianalisa proksimat untuk mengetahui komposisi kimianya sehingga dapat digunakan untuk pedoman menetapkan komposisi pakan. Pakan terdiri dari dua macam yaitu pakan standar dan pakan perlakuan yang dibuat dengan modifikasi DRB. Pakan perlakuan diformulasikan untuk mencapai isokalori dan isoserat. Komposisi pakan dibuat mengikuti AIN (*American Institute of Nutrition*) (Reeves *et al.*, 1993) sebagaimana tampak pada Tabel 1.

Perhitungan dosis ekstrak dan asam ferulat (AF)

Dari data analisis kandungan AF dalam ekstrak DRB yang diuji menggunakan HPLC diperoleh informasi bahwa kadar asam ferulat dalam ekstrak rata-rata 4,91% atau 4,91 mg per 100 mg ekstrak. Hasil penelitian yang dilakukan Jung *et al.*, (2007) menyatakan bahwa pemberian ekstrak DRB sebesar 0,2 g/kg BB secara signifikan menurunkan level glukosa darah. Oleh karena itu dosis pemberian ekstrak DRB yang diintervensikan pada tikus percobaan adalah 0,04 g ekstrak DRB per 200 g berat badan tikus (0,2 g x 1000 g BB dibagi 200 g BB).

Sekali pemberian intervensi ekstrak melalui force feeding sebanyak 1 ml/200 g BB tikus maka berat ekstrak DRB yang diberikan adalah (BB tikus x 0,2 g) dibagi 1000 dan volume pemberian secara *force feeding* adalah BB tikus dikali 1 ml dibagi 200.

Sementara untuk pemberian dosis AF (murni) didasarkan pada ekivalensi kadar AF per satuan berat ekstrak DRB yang diintervensikan pada tikus percobaan. Perhitungan pemberian AF dilakukan sebagai berikut, dalam 100 g ekstrak mengandung 4,91 g AF, maka dalam 0,04 g ekstrak DRB mengandung AF sebesar $(0,04 \times 4,91)/100 = 0,001964$ g atau 1,964 mg. Dosis yang diberikan adalah 1,964 mg/200 g BB tikus. Sekali pemberian intervensi suspensi AF per 200 g BB tikus adalah 1 ml sehingga perhitungan volume sekali pemberian larutan AF secara *force feeding* adalah BB tikus dikali 1 ml dibagi 200.

Tabel 1. Komposisi pakan hewan coba

Komposisi	Pakan Standar	Pakan DRB
DRB	0	145,18 ¹⁾
Pati/tepung jagung	620,692	574,24 ²⁾
Kasein	140	118,31 ³⁾
L-sistin	1,8	1,8
Sukrosa	100	100
Minyak kedelai	40	35,18 ⁴⁾
Serat (agar murni)	50	0
Campuran mineral	35	22,82 ⁴⁾
Campuran Vitamin	10	10
Kholin bitartrat	2,5	2,5
Tert-butylhidroquinon	0	0
Total (g)	999.992	1001.1
Kalori (kalori)	2.484	2.484

¹⁾ kebutuhan serat akan dipenuhi dari DRB. Dalam 1 g DRB memp kadar 0,3444 g serat, maka utk kebutuhan 50 g serat per 1 kg pakan memerlukan DRB $(50 \times 1) / 0,3444 = 145,18$ g

²⁾ dalam 145,18 g DRB telah mengandung pati sebanyak $(145,18 \times 32,21) / 100 = 46,76$. Pdhal kebutuhan pati per 1 kg pakan adlh 621 g, maka masih kurang $621 - 46,76 = 574,24$ g maizena

³⁾ dalam 145,18 DRB telah mengandung protein $(145,18 \times 12,17) / 100 = 18,44$ g. Kebutuhan prot utk 1 kg pakan adlh 140 g. Kadar prot kasein adlh 85% atau $(85/100) \times 140 = 119$ g. Maka masih kurang prot $119 - 18,44 = 100,56$ g. Kekurangan diambilkan dari kasein = $(100/85) \times 100,56 = 118,31$ g

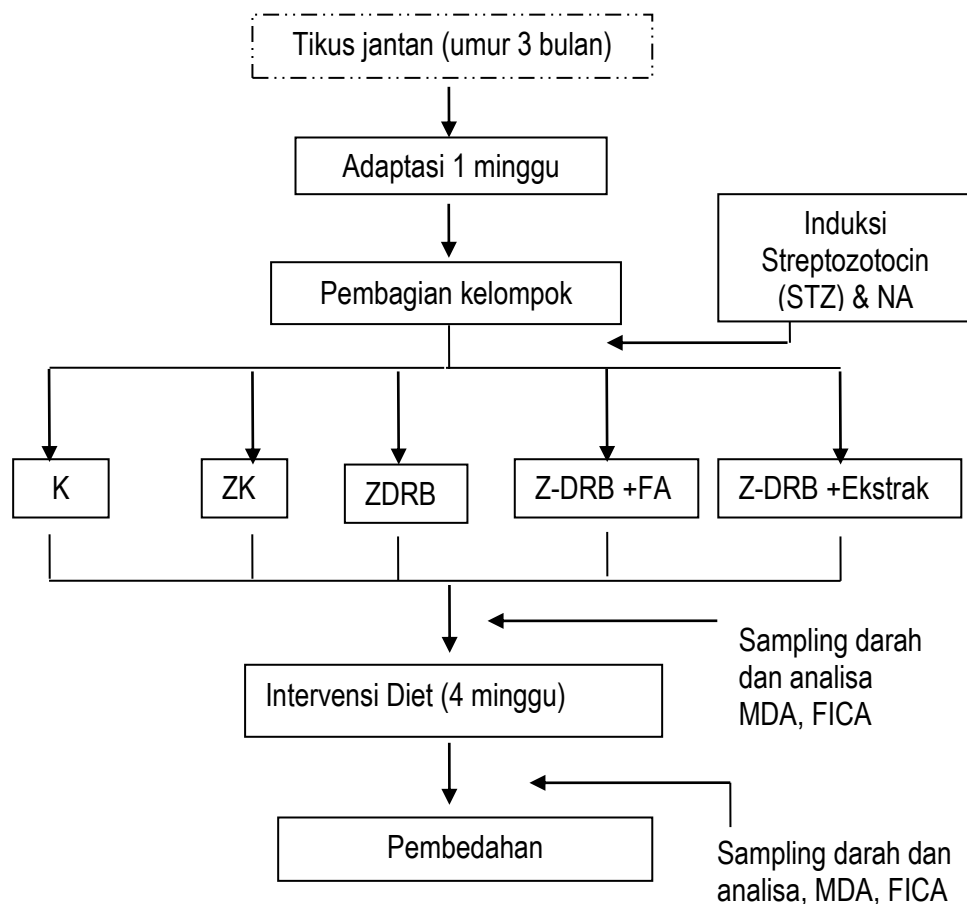
⁴⁾ prinsip perhitungan sama dengan no.1 & 2

Prosedur perlakuan terhadap hewan coba.

Sejumlah 30 ekor tikus jantan usia 2-3 bulan, dengan berat antara 180-200 g setelah mengalami masa adaptasi dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok masing-masing kelompok terdiri 6 ekor yang dikandangkan secara individual. Diagram alir penelitian sebagaimana tampak pada Gambar 3. Satu kelompok tikus (1 x 6 ekor) sebagai kontrol positif (K) dan sebanyak 24 ekor (4 kelompok x 6 tikus) mengalami induksi diabetes. Keempat kelompok tikus yang mengalami induksi diabetes adalah ZK (kelompok tikus diabetes yang menerima pakan standar dan minum *force feeding* air), ZDRB (kelompok tikus diabetes yang menerima pakan modif DRB dan minum *force feeding* air), ZDRB-AF (kelompok tikus diabetes yang menerima pakan modifikasi DRB dan larutan AF) dan ZDRB-Ekstrak (kelompok tikus diabetes yang menerima pakan modifikasi DRB dan ekstrak DRB (0,2 g/kg bb)).

Setelah 5 hari pasca induksi, tikus diambil darahnya untuk mengetahui keberhasilan induksi. Kadar glukosa darah yang mencapai ≥ 200 mg/dl dinyatakan tikus telah mengalami diabetes. Intervensi diet dilakukan setelah tahapan ini.

Induksi diabetes dilakukan mengadopsi Szkudelski (2012). dengan dosis nicotinamida (NA) 230 mg/kg berat badan tikus dan streptozotocin (STZ) 65 mg STZ /kg berat badan dan diinjeksikan secara intraperitoneal (ip). Streptozotocin diberikan dalam 100 mmol/L buffer sitrat ph 4,5 sedang nicotinamide dilarutkan dalam larutan garam NaCl (0.9%) 15 menit sebelum STZ diinjeksikan. Sebelum injeksi tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam.



Gambar 3. Diagram Alir Penelitian dengan Hewan Coba

Keterangan :

- K : kelompok tikus kontrol (tidak diabetes) yang menerima pakan Standar
- ZK : kelompok tikus diabetes yang menerima pakan standar dan minum *force feeding* air (suspensi)
- ZDRB : kelompok tikus diabetes yang menerima pakan modif DRB dan minum *force feeding* air (suspensi)
- ZDRB +FA : kelompok tikus diabetes yang menerima pakan modif DRB dan larutan FA
- Z-DRB + Ekstrak : kelompok tikus diabetes yang menerima pakan modif DRB dan ekstrak DRB (0,2 g/kg bb)

Analisa darah

Konsentrasi TBARS untuk analisis MDA ditentukan dengan metode spektrofotometri (Wuryastuti *et al.*, 1996). *Analisa Ferrous ion chelating ability* (FICA) mengadopsi metode yang dilakukan Wang *et al.*, (2009) dan hasil analisa dinyatakan dalam rumus sebagai berikut :

$$\text{Ferrous ion chelating ability (\%)} = \frac{[A_0 - (A_1 - A_2)]}{A_0} \times 100$$

A₀ = absorbansi kontrol (aquabides)

A₁ = absorbansi sampel (plasma) atau standard

A₂ = absorbansi blanko (tanpa ferrozine)

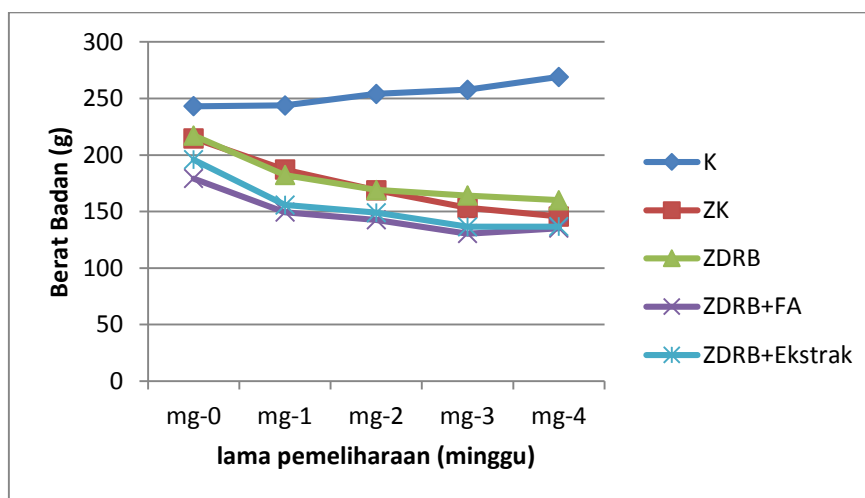
Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan bantuan software SPSS 11,0. Analisis varian satu jalur (*One Way Anova*) digunakan untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan. Bila ada perbedaan signifikan, maka dilanjutkan dengan uji Duncan. Untuk mengetahui perbedaan sebelum dan sesudah perlakuan dilakukan uji t-test.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berat badan tikus

Berat badan tikus ditimbang setiap minggu selama masa pemeliharaan dengan diawali pada mg-0 saat tikus selesai masa adaptasi sebagaimana tampak pada Gambar 4. Berat badan tikus awal percobaan berkisar antara 179.2 – 243.9 ± 21.6 g. Intervensi diet dilakukan selama 4 minggu diamati berat badannya tiap minggu sekali. Gambaran perubahan berat badan tikus selama pemeliharaan tampak pada Gambar 4.



Gambar 4. Perkembangan berat badan hewan coba

Gambar 4 menunjukkan bahwa selain kelompok tikus K (kontrol positif), empat kelompok tikus yang lain setelah mengalami induksi Na-STZ selama 1 minggu (mg-1) berat badan mengalami perubahan penurunan signifikan ($P < 0,05$) sesuai kelompok perlakuan. Hal ini dikarenakan keempat kelompok tikus selain K (ZK, ZDRB, ZDRB+FA serta ZDRB+Ekstrak) semua mengalami induksi Na-STZ sehingga mengalami diabetes. Penurunan berat badan ini sesuai dengan penelitian Erwin *et al*, (2012) yang menyatakan bahwa mencit kelompok II (DM) yang diberi streptozotisin dengan dosis 40 mg/kg bb dalam 50 mM natrium sitrat buffer pH 4,5 secara intra peritoneum selama 5 hari berturut-turut terlihat secara fisik bulu berwarna kusam, kusut, dan kurang aktif bergerak. Pada kelompok ini terjadi penurunan berat badan rata-rata 9,70 g setelah 28 hari. Sementara kelompok tikus normal setelah 28 hari rata-rata berat badan meningkat sebanyak 6,40 g.

Meskipun berat badan tikus yang mengalami DM terjadi penurunan, namun pada kelompok tikus DM yang diberi perlakuan intervensi diet DRB dan asam ferulat (ZDRB+FA) serta kelompok tikus yang diintervensi diet DRB dan ekstrak DRB (ZDRB+Ekstrak) mengalami sedikit peningkatan berat badan pada minggu ketiga. Peningkatan berat badan ini diduga terjadi karena terjadi perbaikan metabolisme pada tikus yang mengalami DM. Itagaki *et al.*, (2009) menyimpulkan dalam penelitiannya bahwa asam ferulat menunjukkan pengaruh terapis secara luas yang dihubungkan dengan potensinya dalam kapasitas antioksidan. Aktivitas *chain-breaking* mungkin memainkan peran dalam kontribusi pengaruh protektif asam ferulat dalam kerusakan oksidatif (*oxidative injury*) pada manusia dan studi-studi *in vivo*.

Kadar Malondialdehyde (MDA)

Malondialdehid (MDA) adalah salah satu senyawa yang dihasilkan oleh pemecahan lipid peroksida atau suatu produk akhir peroksidasi lemak. Berbagai laporan penelitian melaporkan tentang Malondialdehid yang digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lemak serta dapat menggambarkan derajat stres oksidatif (Adji, 2008; Dalle-Donne *et al*, 2006;). Keberadaan senyawa ini dapat menggambarkan aktivitas radikal bebas di dalam sel sehingga dijadikan sebagai salah satu petunjuk terjadinya stres oksidatif akibat radikal bebas (Asni *et al*, 2009; Rahardjani, 2010).

Pengujian kadar MDA darah tikus dalam penelitian ini ditujukan untuk mengetahui status antioksidan darah sebagai hasil oksidasi lipid. Kadar MDA tikus yang diuji dengan berbagai perlakuan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar MDA pada kelompok tikus diabetik yang diberi perlakuan pakan DRB selama 4 minggu, baik pakan DRB (ZDRB), pakan DRB dan asam ferulat (ZDRB+FA) maupun pakan DRB + ekstrak DRB. Besar penurunan berturut-turut adalah $-10.8 \pm 5.72 \%$, $-18.90 \pm 5.32 \%$ dan $-13.28 \pm 6.72\%$. Penurunan tersebut secara statistik tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

Sementara kadar MDA kelompok tikus kontrol (K) yaitu kelompok tikus normal (tidak diabetes) yang menerima pakan standard mengalami sedikit peningkatan kadar MDA setelah 4 minggu namun tidak ada perbedaan nyata dengan kadar MDA awal (minggu ke-0). Kadar MDA tikus diabetik yang menerima pakan standard terjadi peningkatan signifikan sebesar $5.89 \pm 2.99\%$ selama pemeliharaan 4 minggu. Kondisi ini sesuai dengan penelitian Adji (2008) yang meneliti konsentrasi MDA pada tikus yang diinjeksi STZ dan menyatakan bahwa terdapat perbedaan signifikan konsentrasi rata-rata MDA pada kelompok tikus kontrol (tidak diinjeksi STZ) (3.34 ± 1.9 nmol/ml) dengan kelompok tikus yang diinjeksi STZ (9.23 ± 0.95 nmol/ml) setelah 3 hari.

Tabel 2. Kadar MDA (nmol/ml) sebelum dan sesudah perlakuan pada hewancoba

Perlakuan	Kadar MDA (nmol/ml)		
	mg-0	mg-4	%Penurunan
K	2.542 ± 0.25^a	2.552 ± 0.27^a	0.36 ± 2.01
ZK	9.956 ± 0.22^a	10.538 ± 0.21^b	5.89 ± 2.99
ZDRB	9.745 ± 0.72^a	8.693 ± 0.63^b	-10.8 ± 5.72^A
ZDRB+FA	10.258 ± 0.65^a	8.286 ± 0.16^b	-18.90 ± 5.32^A
ZDRB+EKS	9.736 ± 0.86^a	8.386 ± 0.16^b	-13.28 ± 6.72^A

Angka yang diikuti superscript huruf kecil yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata,

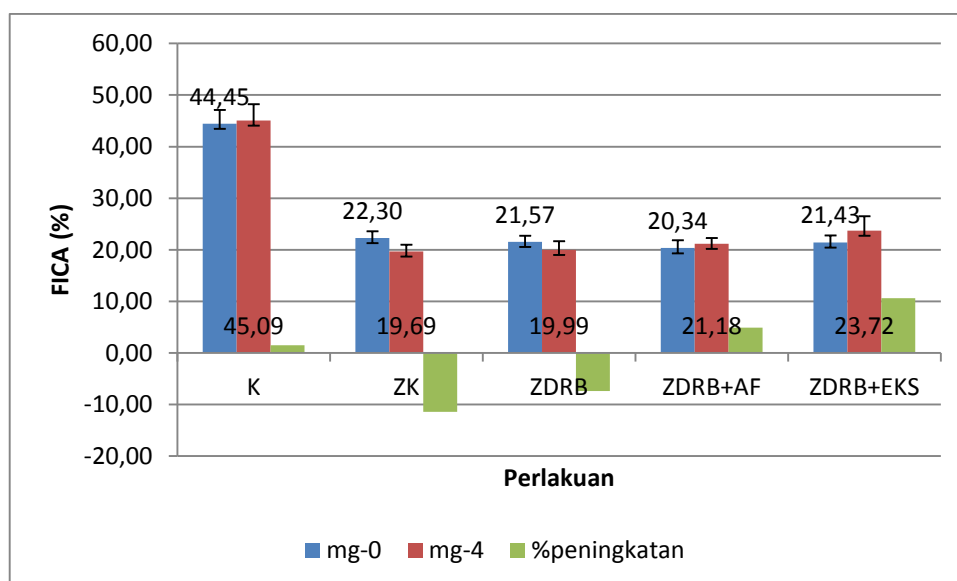
Angka yang diikuti superscript huruf kapital yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata

Beberapa peneliti menyatakan bahwa terjadi peningkatan kadar MDA pada kelompok tikus DM dibanding kelompok tikus non DM. Pada penderita DM terjadi kerusakan sel-sel beta pankreas dan rusaknya sel beta pankreas mengakibatkan terjadinya hiperglikemia yang mengakibatkan peningkatan produksi radikal bebas melalui tiga mekanisme, yaitu peningkatan aktivitas jalur poliol, glukautooksidasi, dan glikasi protein. (Bartosikova et al, 2003; Syafril S, 2000). Peningkatan produksi radikal bebas yang menyerang membran sel akan menghasilkan MDA (*Malondialdehid*) dalam jumlah yang banyak.

Kaneto *et al*, (1999) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa antioksidan sangat berpotensi untuk *treatment* diabetes terutama berimplikasi pada stress oksidatif dalam disfungsi sel-sel β pada diabetes. Kaneto *et al* (1999) lebih lanjut menyatakan bahwa analisis histology pada pankreas tikus menunjukkan bahwa masa sel-sel β secara signifikan lebih besar pada tikus diabetes yang diperlakukan dengan antioksidan daripada tikus yang tidak diperlakukan. Pemberian antioksidan dan komponen senyawa polifenol menunjukkan dapat menangkap radikal bebas, mengurangi stres oksidatif, serta menurunkan ekspresi *Tumour necrosis Factor- α* (TNF- α) (Tiwari & Rao, 2002). Asam ferulat menunjukkan pengaruh terapis secara luas yang dihubungkan dengan potensinya dalam kapasitas antioksidan. Aktivitas chain-breaking mungkin memainkan peran dalam kontribusi pengaruh protektif asam ferulat dalam kerusakan oksidatif (*oxidative injury*) pada manusia dan studi-studi *in vivo*. (Itagaki *et al.*, 2009). Dengan demikian kadar MDA pada kelompok tikus yang diberi perlakuan dengan asam ferulat (termasuk ekstrak DRB yang diduga mengandung asam ferulat) mampu menekan terbentuknya MDA.

Pengujian Kapasitas Antioksidan Plasma dengan *Ferrous Ion Chelating Activity* (FICA)

Pengujian kapasitas antioksidan menggunakan *Ferrous Ion Chelating Activity* (FICA) dilakukan mengadopsi metode Wang *et al*, (2009). Pada prinsipnya adalah reaksi penghambatan terbentuknya senyawa kompleks ferrozine-Fe²⁺ yang berwarna merah. Ferrozine dapat membentuk kompleks dengan Fe²⁺ dan kompleks ini dapat dikuantifikasikan. Namun, dengan adanya chelating agen, pembentukan kompleks tersebut akan terganggu sehingga intensitas warna merah dari kompleks tersebut menjadi menurun.



Gambar 5. Pengujian kapasitas antioksidan plasma dengan *Ferrous Ion Chelating Activity* (FICA)

Hasil pengujian kapasitas antioksidan plasma dengan *Ferrous Ion Chelating Activity* (FICA) dalam penelitian ini tersaji pada Gambar 5. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa plasma dari kelompok tikus DM yang diberi perlakuan pakan DRB dan asam ferulat (ZDRB+AF) serta plasma yang berasal dari kelompok tikus yang diberi pakan DRB dan ekstrak DRB (ZDRB + Ekstrak) mempunyai peningkatan kapasitas antioksidan FICA yang jauh lebih tinggi dibanding plasma yang berasal dari kelompok tikus yang lain, masing-masing sebesar 4,91% dan 10,61%. Bahkan pada kelompok tikus DM yang menerima pakan standard (ZK) mengalami penurunan kemampuan FICA yang paling rendah. Keadaan ini terjadi dimungkinkan karena ekstrak DRB yang telah diintervensikan pada tikus DM mengandung komponen-komponen antioksidan yang mampu bertahan sehingga beredar pada plasma tikus dengan demikian mempunyai kemampuan dalam FICA.

DRB selain kaya akan serat juga kaya akan komponen bioaktif asam-asam fenolat yang didominasi asam ferulat yang merupakan salah satu anggota kelompok asam fenolat (Loukuldilocht *et al*, 2011, Jung *et al*, 2007). Kemungkinan beberapa asam fenolat dan komponen fenolik lain yang berada dalam ekstrak mempunyai kemampuan dalam FICA. Ibrahimzadeh *et al*, (2008) menyatakan bahwa ion ferro merupakan prooksidan yang aktif dengan mengkatalisis dekomposisi hidroperoksida menjadi radikal bebas. Rendahnya kemampuan plasma untuk mengikat ion besi, menyebabkan keberadaan ion Fe²⁺ akan semakin banyak di dalam darah yang tidak hanya menyebabkan propagasi, namun lebih dari itu akan mengakibatkan reaksi amplifikasi pembentukan radikal hidroksil dari hidrogen peroksida (Leeuwenburgh and Heinecke, 2001).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan secara signifikan ($P < 0,05$) kadar MDA pada perlakuan ZDRB +AF, ZDRB DRB + Ekstrak, dan ZDRB masing-masing sebesar 18,90%, 13,28% dan 10,58%. Sementara peningkatan FICA hanya terjadi pada kelompok ZDRB+ekstrak (10,61%) dan ZDRB+AF (4,91%). DRB dan ekstrak DRB mempunyai potensi sebagai antioksidan dan antidiabetes.

PUSTAKA

- Adji D, 2008. Hubungan Konsentrasi Malondialdehid, Glukosa dan Total Kolesterol pada Tikus putih yang Diinjeksi dengan Streptozotisin. *J. Saint Vet* Vol 26 (2) : 73-77
- Chotimarkorn, C., Benjakul, S., and Silalai, N. (2008). Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailand. *Food Chem.*, 111, 636–641.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, and Aldo Milzani A. 2006. Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease. *Clinical Chemistry* 52 (4) : 601–623. DOI: 10.1373/clinchem.2005.061408
- Devi, R.R. and C. Arumughan. 2007a. Phytochemical characterization of defatted rice bran and optimization of a process for their extraction and enrichment. *Bioresource Technol.* 98: 3037–3043.
- Devi, R.R. and C. Arumughan. 2007b. Antiradical efficacy of phytochemical extracts from defatted rice bran. *Food Chem. Toxicol.* 45:2014–2021.

- Ebrahimzadeh M A, Fereshteh Pourmorad F, and Ahmad Reza Bekhradnia A.R, 2008. Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (18) : 3188-3192.
- Erwin, Etriwati, dan Rusli. 2012. Mencit (*Mus Musculus*) Galur *Balb-C* Yang Diinduksikan Streptozotocin Berulang Sebagai Hewan Model Diabetes Melitus. *Jurnal Kedokteran Hewan* 6 (1) : 47-50
- Hanhineva K., Törrönen R., Bondia-Pons I., Pekkinen J., Kolehmainen M., Mykkänen H., and Kaisa Poutanen K. (2010). Impact of Dietary Polyphenols on Carbohydrate Metabolism. *Int. J. Mol. Sci.*, 11: 1365-1402; doi:10.3390/ijms11041365
- Hisalkar P.J., AB Patne, AC Karnik, MM Fawaade, SS Mumbare, 2012. Ferric Reducing Ability of Plasma with Lipid Peroxidation in type 2 diabetes. *IJPBS* 2 (2) : 53-56.
- Itagaki S, u Kurokawa T, Nakata C, Saito Y, Oikawa S, Kobayashi M, Hirano T, Iseki K. 2009. In vitro and in vivo antioxidant properties of ferulic acid: A comparative study with other natural oxidation inhibitors. *Food Chemistry* 114 : 466–471
- Jung ,E. H., Sung Ran Kim, In Kyeong Hwang, And Tae Youl Ha, (2007) **Hypoglycemic Effects of a Phenolic Acid Fraction of Rice Bran and Ferulic Acid in C57BL/KsJ-db/db Mice.** *J. Agric. Food Chem.* 55: 9800–9804.
- Kaneto H, Kajimoto Y, Miyagawa J, Matsuoka T, Fujitani Y, Umayahara Y, Hanafusa T, Matsuzawa Y, Yamasaki Y, and Masatsugu Hori M.1999. Beneficial Effects of Antioxidants in Diabetes Possible Protection of Pancreatic β -Cells Against Glucose Toxicity. *DIABETES*, VOL. 48 : 2398-2406
- Laokuldilok, Thunnop, Charles F. Shoemaker, Sakda Jongkaewwattana, And Vanna Tulyathan., (2011). Antioxidants and Antioxidant Activity of Several Pigmented Rice Brans *J. Agric. Food Chem.* 59:193–199
- Leeuwenburgh dan Heinecke,2001.Oxidative Stress and Antioxidants in Exercise. *Current Medicinal Chemistry* (80) : 829-838.
- Montonen J, Knekt P, Arvinen R.J, Reunanen A. 2004. Dietary Antioxidant Intake and Risk of Type 2 Diabetes *Diabetes Care* 27 (2) :
- Qiu,Yang, Liu,Qin, Beta,Trust. (2010). Antioxidant Properties of Commercial Wild Rice and Analysis of Soluble and Insoluble Phenolic Acids. *Food Chemistry* 121 : 140-147.
- Rahimi R., Nikfar S., Larijani B., Abdollahi M., 2005. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 59 : (365–373
- Reeves, P.G., Neilson, F.H., and Fahey, G.C., 1993. AIN 93 Purified Diets for Laboratory Rodents : Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of The AIN-76 A Rodent Diet. *J. Nutr* 123 : 1939–1951.
- Sompong,R, Siebenhandl-Ehn,S, G.Linsberger-Martin, E. Berghofer, (2011). Physicochemical and Antioxidative properties of Red and Black Rice Varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *Food Chemistry* 124: 132–140
- Szkudelski, T., 2001, The Mechanism Of Alloxan And Streptozotocin Action In β Cells Of The Rat Pancreas, *Physiology Research*, 50: 536-54.
- Wang, T., Jónsdóttir, R., & Ólafsdóttir, G. (2009). Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic Seaweeds. *Food Chemistry*, 116 (1): 240-248.
- Wilson, G.L., Patton, N.J., McCord, J.M., Mullins, D.W., Mossman, B.T., 1984, Mechanisms of streptozotocin- and alloxan-induced damage in rat β cells, *Diabetologia.*, 27(6):587 -591.