

POTENSI SARI BIJI KEDELAI (*Glycine max*), RIMPANG JAHE (*Zingiber officinale*) DAN KOMBINASINYA TERHADAP KADAR MDA DAN SOD JANTUNG TIKUS MODEL DIABETES

Dita Merry Diah Vanony, Helmin Elyani, Yudi Purnomo

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

E mail : ditamerrydiahvanony@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Hyperglycemia in diabetes mellitus (DM) contributes to the complications of diabetic cardiomyopathy. Soybean seeds (*Glycine max*) and ginger rhizome (*Zingiber officinale*) are efficacious herbs as antidiabetic and their complications, but research on the combination of both is still rare. This study aims to prove the effect of soybean seeds, ginger rhizomes, and their combination on MDA and SOD cardiac levels in diabetic rat.

Methods: This study used Sprague dawley male rats aged 12 weeks, weight 180-200 grams divided into 2 control groups and 4 test groups (n = 5 animals). The experimental animals were induced with a high-fat-fructose (DTLF) and streptozotocin 25 mg / kgBB intraperitoneal (i.p) multiple dose diet. Subsequently given soybean seed extract 5 g / kg BB, ginger rhizome extract 500 mg / kg BB, combination of soybean-ginger (*delja*) 1 2500: 250 mg / kg BB and combination of *delja* 2 5000: 500 mg / kg BW given orally for 30 days. Cardiac malondialdehyde levels were measured using MDA rat kit and cardiac SOD levels were measured using SOD rat kit. Data analysis using One Way Anova followed by LSD or Tamhane test (p < 0.05).

Results: The administration of soybean seed extract, ginger rhizome, combination of *delja* 1 and 2 reduced cardiac MDA levels in a row around 80%, 15%, 30% and 55% compared to the control treatment group (p < 0.05). The cardiac SOD extracts of soybean extract, ginger rhizomes, and combination of *delja* 2 increased by approximately 30%, 55% and 2% respectively, while the combination of *delja* 1 actually reduced SOD by about 15% compared to the control treatment group (p < 0.05). While the effect of giving DTLF and STZ in the treatment control group increased cardiac MDA levels by about 5-fold and reduced cardiac SOD levels by approximately 20% compared to the normal control group (p < 0.05).

Conclusion: The administration of soybean seed extract, ginger rhizome and its combination reduced levels of cardiac MDA in DM rat. Meanwhile, the administration of soybean and ginger rhizome extract inhibited the decrease levels of cardiac SOD in DM rat.

Keywords: Soybean, ginger, combination, diabetes mellitus, cardiac MDA, cardiac SOD

PENDAHULUAN

Komplikasi kardiomiopati diabetik masih menjadi permasalahan kesehatan di dunia. Kardiomiopati diabetik merupakan komplikasi diabetes yang ditandai dengan adanya disfungsi miokard dan hipertensi pada jantung¹. Prevalensi timbulnya kardiomiopati pada pasien diabetes sebesar 12% dan mengalami peningkatan menjadi 22% pada usia diatas 64 tahun². Kardiomiopati diabetik merupakan komplikasi yang paling sering dijumpai pada pasien DM dan penyebab kematian utama dengan angka kematian sebesar 17,7 juta pada tahun 2015³.

Kondisi stress oksidatif berperan terhadap komplikasi kardiomiopati pada DM. Hiperqlikemi pada DM akan meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) melalui 4 jalur yaitu *Advanced Glycation End Products* (AGEs), *Protein Kinase C* (PKC), *Hexosamine pathway* dan *Polyol pathway*. Peningkatan radikal bebas memicu superoxide dismutase (SOD) untuk mengkatalisis radikal anion superoksida⁴. SOD merupakan antioksidan endogen lini pertama yang berperan sebagai *scaveger* radikal anion superoxide yang berasal dari oksidasi oksigen⁵. Namun, bila jumlah radikal bebas melebihi antioksidan dan terbentuk radikal

hidroksil akan memicu peroksidasi lemak dan menghasilkan produk malondialdehida (MDA)^{2,6}. Peningkatan kadar MDA menjadi salah satu indikator terjadinya kerusakan oksidatif pada jaringan dan organ. Ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh menimbulkan stress oksidatif⁵. Peningkatan kadar MDA dan penurunan SOD pada miokard berperan terhadap terjadinya kardiomiopati diabetik.

Biji kedelai (*Glycine max*) dan rimpang jahe (*Zingiber officinale*) merupakan herbal yang berkhasiat sebagai antidiabetes. Di negara Asia, biji kedelai dan rimpang jahe secara tradisional digunakan untuk bahan makanan, minuman, dan obat. Pada uji preklinik biji kedelai dapat menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan ekspresi protein transporter pada sel β pankreas yang dikendalikan oleh senyawa flavonoid seperti isoflavin, genistein, dadzein dan glycitein^{7,8}. Sedangkan sari rimpang jahe mampu meningkatkan sekresi insulin oleh senyawa gingerol, shogaol, paradol, fenol, dan zingeron⁹. Kombinasi herbal sering digunakan oleh Pengobat Tradisional (Batra) untuk pengobatan dengan tujuan meningkatkan efektifitas dan menurunkan efek samping yang ditimbulkan. Sebagian besar penelitian herbal dilakukan dalam bentuk

komposisi tunggal. Sedangkan, kombinasi sari biji kedelai dan rimpang jahe untuk mengendalikan diabetes dan komplikasinya belum pernah dilakukan.

Berdasarkan latar belakang tersebut perlu dilakukan penelitian tentang potensi sari biji kedelai, rimpang jahe, dan kombinasinya untuk menghambat kardiomiopati diabetik dengan mengamati kadar MDA dan SOD.

MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental secara *in vivo* dengan desain *control group post test only design*. Penelitian ini dikerjakan di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Penelitian ini telah disetujui oleh komisi etik Universitas Brawijaya Malang dengan sertifikat etik No.823-KEP-UB tahun 2017. Hewan coba yang digunakan pada penelitian adalah tikus *Sprague dawley* jantan dengan usia 12 minggu dan berat badan 180 – 200 gram yang ditempatkan pada kandang individual (*single cage*) dengan suhu $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ serta diberikan air minum dan pakan standart secukupnya. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok terdiri dari 2 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan.

Pembuatan Tikus Model DM

Setelah dilakukan adaptasi pada tikus selama 7 hari, kelompok kontrol perlakuan dan kelompok perlakuan diinduksi diet tinggi lemak fruktosa (DTLF) dengan komposisi susu pap 60%, lemak kambing 10%, lemak sapi 25%, kuning telur bebek 5% dalam pakan sebanyak 25 gram/ekor/hari¹⁰. Sedangkan fruktosa 20 % dicampur dalam air minum sebanyak 50 ml/ekor/hari¹¹. Setelah 9 minggu pemberian DTLF, tikus diinjeksi dengan Streptozotocin (STZ) dengan dosis 25 mg/kgBB *multiple dose* intraperitoneal (i.p)¹². Kadar gula darah puasa (KGDP) diukur setelah 1 minggu pasca injeksi dan dinyatakan DM apabila kadar KGDP $\geq 126\text{mg/dl}$ ¹³.

Pembuatan Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe Dan Kombinasinya

Penelitian ini menggunakan biji kedelai (*Glycine max*) varietas Argomulyo dengan surat keterangan determinasi nomer 074/241/102.102.7/2017, sedangkan serbuk jahe (*Zingiber officinale*) dari Balai Materia Medika, Batu, Jawa Timur dengan surat keterangan determinasi nomer 074/211/102.7/2017. Dosis sari biji kedelai yang diberikan untuk hewan coba adalah 5000 mg/kgBB¹⁴. Sari biji kedelai dibuat menggunakan metode maserasi digesti dengan cara mencampurkan 80 gram biji kedelai yang sudah bersih dengan 80 ml air kemudian blender selama 10 menit dan hasilnya diperas diatas penyaring. Selanjutnya ditambahkan air bersih hingga volumenya menjadi 100 ml dan dipanaskan pada suhu 50°C . Sedangkan dosis sari rimpang jahe yang diberikan adalah 500 mg/kg BB¹⁵. Sari jahe dibuat menggunakan metode infudasi dengan

cara memanaskan 15 ml air hingga suhu 90°C kemudian ditambahkan 1500 mg serbuk jahe dan dibiarkan selama 15 menit. Hasil dari sarisi dibiarkan hingga dingin kemudian di saring dan di buang ampasnya. Bentuk kombinasi dibuat dengan mencampurkan sari biji kedelai dan rimpang jahe dengan 2 kombinasi dosis yaitu delja 1 2500 : 250 mg/kg BB dan delja 2 5000 : 500 mg/kg BB kemudian dihangatkan pada suhu 50°C ^{14,15}.

Preparasi Sampel

Setelah hewan coba dikorbankan dengan cara dislokasi leher, tikus dibedah dan dilakukan pengambilan organ jantung. Kemudian jantung dibilas menggunakan larutan NaCl dan ditimbang sekitar 200 mg. Bahan kemudian dibilas dengan larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS), dihancurkan menggunakan mortar, dan ditambahkan larutan PBS dingin dengan perbandingan 1,8 ml:200 mg. Bahan yang telah larut dimasukkan dalam tabung reaksi dan disimpan pada suhu 4°C selama 30 menit, kemudian dicentrifuge dalam 5000 rpm selama 5 menit.

Pengukuran Kadar MDA Jantung

Pengukuran kadar MDA jantung menggunakan *MDA rat kit*. Larutan standard atau sampel diambil sebanyak 50 μL dan dimasukkan kedalam *well*. Kemudian ditambahkan 50 μL larutan *Biotinylated Detection Ab*, diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C , diaspirasi dan dibilas sebanyak 3 kali. Selanjutnya, ditambahkan 100 μL *HRP Conjugate*, diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C , diaspirasi dan dibilas sebanyak 5 kali. Kemudian ditambahkan 90 μL *Substrate Reagent*, diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C . Setelah itu ditambahkan 50 μL *Stop solution* kemudian dibaca dengan *microplate reader* pada $\lambda=450\text{ nm}$.

Pengukuran Kadar SOD Jantung

Pengukuran kadar SOD jantung menggunakan *SOD rat kit*. Larutan standard atau sampel diambil sebanyak 50 μL dan dimasukkan kedalam *well*. Kemudian ditambahkan 50 μL larutan *Biotinylated Detection Ab*, diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C , diaspirasi dan dibilas sebanyak 3 kali. Selanjutnya, ditambahkan 100 μL *HRP Conjugate*, diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C , diaspirasi dan dibilas sebanyak 5 kali. Kemudian ditambahkan 90 μL *Substrate Reagent*, diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C . Setelah itu ditambahkan 50 μL *Stop solution* kemudian dibaca dengan *microplate reader* pada $\lambda=450\text{ nm}$.

Analisa Statistik

Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Setelah data dinyatakan terdistribusi normal selanjutnya dapat dilakukan uji statistik dengan metode *one way ANOVA*. Kemudian dilakukan uji *Least Significance Different* (LSD) atau Tamhane untuk mengetahui perbandingan antar

perlakuan. Hasil dinyatakan bermakna bila nilai $p < 0,05$. statistik SPSS versi 22.
Analisa data dilakukan dengan memakai software

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik hewan coba yang digunakan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Sampel

n=5	K N	K P	K edelai 5000	Jahe 500	Delja I 2500:250	Delja II 5000:500
			m g/K B B	m g/kg B B	m g/kg B B	m g/kg B B
B B -awal (g)	285.4±18,6	246.5±26.5	217.2±19.9	224.3±19.0	254.6±20.7	233±19.3
B B pre-treat (g)	352.7±29.7	300.5±31.0	244.8±17.7	225±36.0	300.5±19.6	297.3±30.5
B B post treat (g)	336.6±29.7 ^a	335.3±38.7 ^a	253.2±33.1 ^b	282.5±45.3 ^c	312±24.5 ^d	317.5±31.8 ^d
A sup an Pakan (%)	74.7±8.0	68.3±13	89±8	87±11	72±27	78,5±27
K G D P awal (m g/dL)	92.6±5.9	83.0±0.8	85.0±8.5	80.5±5.1	87.75±	82.3±5.7
K G D P pre-treat (m g/dL)	105.4±7.5	201.3±35	182.6±43.1	168.5±35.8	205.8±56.5	163.5±11.5
K G D P post-treat (m g/dL)	105.4±7.5 ^a	139.0±14.9 ^b	109.0±13.2 ^c	132.3±17.9 ^b	129.5±9.4 ^b	124.0±12.5 ^d

Keterangan:

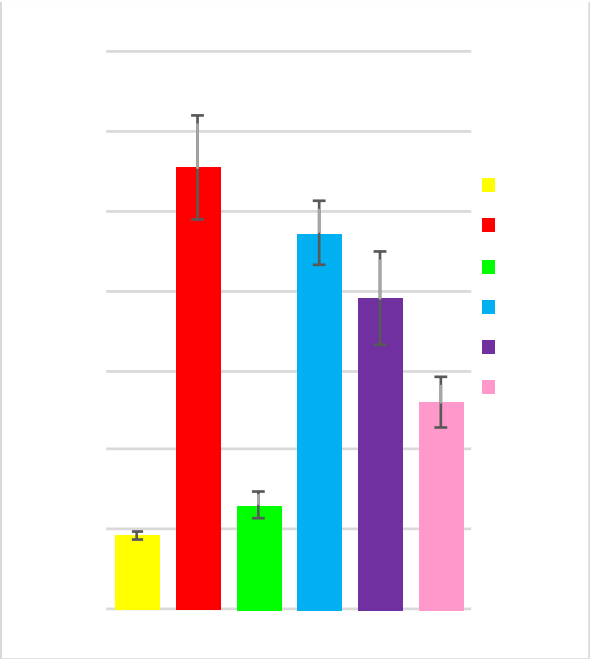
Data dalam mean ± SD , notasi berbeda menyatakan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, LSD).

Berdasarkan data tabel 1, terdapat penurunan berat badan pada kelompok kedelai, jahe, kombinasi delja 1 dan 2 dibandingkan kelompok kontrol perlakuan ($p < 0,05$). Sedangkan pada kelompok kontrol normal tidak terdapat perbedaan berat badan dibandingkan dengan kelompok kontrol perlakuan. A sup an pakan pada semua kelompok perlakuan cenderung mengalami peningkatan dibandingkan kelompok kontrol perlakuan. Tetapi pada kelompok kombinasi delja lebih rendah dibandingkan herbal tunggalnya. Kelompok kontrol

perlakuan (K P) mengalami penurunan asupan pakan dibandingkan kontrol normal (K N). Kadar gula darah puasa (K G D P) pada kelompok kedelai dan kombinasi delja 2 mengalami penurunan ($p < 0,05$), sedangkan kelompok jahe dan kombinasi delja 1 tidak berbeda dibandingkan kontrol perlakuan ($p > 0,05$). Sedangkan kadar gula darah puasa pada kelompok kontrol perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan kontrol normal ($p < 0,05$).

Kadar MDA Jantung Tikus Model DM yang Diberikan Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe dan Kombinasinya

Efek sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya terhadap kadar MDA jantung tikus model DM dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Histogram Kadar MDA Jantung Tikus Model DM yang Diberikan Perlakuan Berupa Sari G .M ax, Z .O ffinale dan Kombinasinya.

Keterangan:

Data dalam mean $\pm$ SD, KN (9.38 ± 0.4983), KP (55.37 ± 6.513), Delai 5g/kgBB (13.09 ± 1.687), Jahe 500mg/kgBB (47.18 ± 3.956), Delja 1 2,5 g/kgBB : 250 mg/kgBB (38.93 ± 5.865) dan Delja 2 5 g/kgBB : 500 mg/kgBB (25.93 ± 3.114), notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, Tamhane).

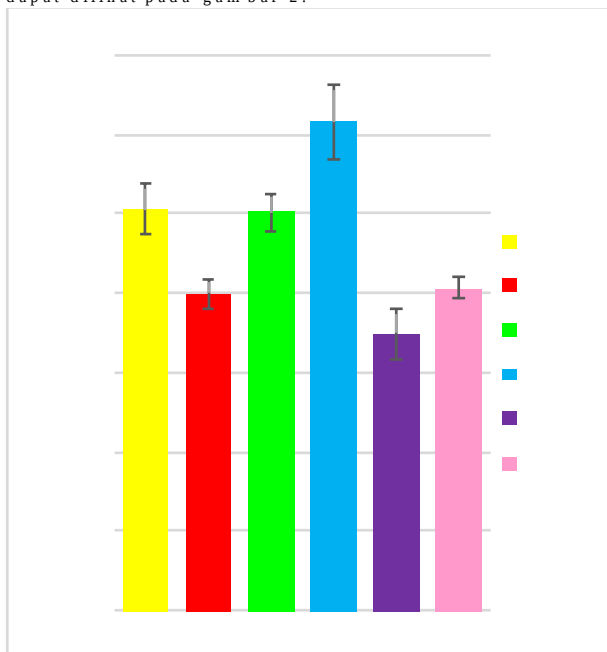
Pemberian sari biji kedelai dosis 5000 mg/kg BB, rimpang jahe dosis 500 mg/kg BB, kombinasi delja 1 dan kombinasi delja 2 menurunkan kadar MDA jantung tikus model DM berturut-turut sekitar 80%, 15%, 30% dan 55% dibandingkan kelompok kontrol perlakuan ($p < 0,05$). Pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya menurunkan kadar MDA jantung yang berbeda signifikan antar kelompok perlakuan dengan efek terkuat pada kelompok kedelai ($p < 0,05$) dan efek terendah pada kelompok jahe ($p < 0,05$). Pemberian sari biji kedelai menurunkan MDA jantung hingga tidak berbeda dibandingkan kelompok normal ($p > 0,05$). Pemberian kombinasi delja 2 lebih kuat menurunkan kadar MDA jantung dibandingkan kombinasi delja 1. Sementara induksi DM dengan DTLF dan STZ meningkatkan kadar MDA jantung secara signifikan sekitar 5 kali lipat dibandingkan kelompok kontrol normal ($p < 0,05$).

Data dalam mean $\pm$ SD, KN (0.1012 ± 0.0061), KP (0.0798 ± 0.0040), Delai 5g/kgBB (0.1005 ± 0.0047), Jahe 500 mg/kgBB (0.1234 ± 0.0094), Delja 1 2,5 g/kgBB : 250 mg/kgBB (0.0697 ± 0.0066) dan Delja 2 5 g/kgBB : 500 mg/kgBB (0.0814 ± 0.0026), notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, LSD).

Pemberian sari biji kedelai dosis 5000 mg/kg BB, rimpang jahe dosis 500 mg/kg BB secara signifikan meningkatkan kadar SOD jantung tikus model DM berturut-turut sekitar 30% dan 55% dibandingkan kelompok kontrol perlakuan ($p < 0,05$). Sedangkan kelompok kombinasi delja 1 justru menurunkan kadar SOD jantung sekitar 15% ($p < 0,05$), sementara kelompok kombinasi delja 2 tidak berbeda signifikan dibandingkan kelompok kontrol perlakuan ($p > 0,05$). Kelompok kedelai menghambat penurunan kadar SOD hingga tidak berbeda signifikan dibandingkan kelompok normal ($p > 0,05$). Pemberian sari rimpang jahe lebih kuat 20%-35% meningkatkan kadar SOD jantung dibandingkan kelompok kedelai dan kombinasinya ($p < 0,05$). Sementara induksi DM dengan pemberian DTLF dan STZ menurunkan kadar SOD jantung secara signifikan sekitar 20% dibandingkan kelompok kontrol normal ($p < 0,05$).

Kadar SOD Jantung Tikus Model DM yang Diberikan Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe Dan Kombinasinya

Efek sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya terhadap kadar SOD tikus model DM dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Histogram Kadar SOD Jantung Tikus Model DM yang Diberikan Perlakuan Berupa Sari G.M ax, Z.O fficinale dan Kombinasinya.

Keterangan:

PEMBAHASAN

Efek Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe dan Kombinasinya Terhadap Kadar MDA Jantung Tikus Model DM

Pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya menurunkan kadar MDA jantung tikus model DM. Efek tersebut berhubungan dengan kandungan zat aktif yang bekerja sebagai antioksidan, insulin sensitizer dan insulin secretagogues. Adapun mekanisme kerja dari herbal tersebut dijelaskan sebagai berikut.

Pemberian sari biji kedelai mampu menurunkan kadar MDA jantung tikus model DM lebih kuat dibandingkan sari rimpang jahe dan kombinasinya. Kondisi ini kemungkinan dikarenakan zat aktif yang terkandung dalam kedelai. Senyawa daidzein, genestein dan saponin berperan sebagai anti-hiperglikemia dengan cara menghambat proses lipogenesis sehingga resistensi insulin tidak terjadi^{7,16}. Sari biji kedelai juga dapat mencegah hiperglikemia dengan cara menghambat α -amilase yang dikendalikan senyawa asam fenolat¹⁷. Senyawa lesitin yang terkandung dalam kedelai juga mampu meregenerasi sel β pankreas yang rusak sehingga sekresi insulin dapat ditingkatkan. Peningkatan kadar insulin akan mencegah terjadinya hiperglikemia¹⁸. Penghambatan kondisi hiperglikemia mencegah pembentukan radikal bebas dan peroksidasi lemak membran sel sehingga kadar MDA jantung menurun.

Senyawa isoflavon seperti genistein dan daidzein yang terkandung dalam kedelai memiliki efek antioksidan dengan cara mendonorkan atom hidrogen kepada anion superoksida. Reaksi ini menghasilkan senyawa baru yang lebih stabil sehingga menghambat terjadinya peroksidasi lemak dan menurunkan kadar MDA jantung tikus model DM^{16,19}. Hal ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan Santoso *et al.*, 2018 (*Unpublished*) bahwa pemberian sari biji kedelai dosis 5000 mg/kgBB dapat menurunkan kadar MDA serum tikus model DM.

Sari rimpang jahe menurunkan kadar MDA jantung tikus model DM diduga karena senyawa gingerol dan shogaol. Keduanya merupakan senyawa fenolik yang berperan sebagai antioksidan dengan cara pengambilan anion superoksida sehingga pembentukan radikal hidroksil yang memicu peroksidasi lemak dapat dihambat. Penghambatan tersebut akan menurunkan pembentukan MDA^{20,21}. Selain itu, senyawa gingerol juga berperan mengurangi kerusakan oksidatif sel β pankreas sehingga mempertahankan sekresi insulin. Kondisi ini dapat menghambat pembentukan ROS dan mencegah pembentukan MDA jantung²². Senyawa gingerol dan shogaol pada sari rimpang jahe juga dapat menurunkan kadar gula darah dengan cara meningkatkan sekresi insulin sehingga produksi ROS dapat diturunkan. Hal ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan Handayani (2018) bahwa pemberian sari rimpang jahe dosis 500 mg/kgBB dapat menurunkan kadar gula darah puasa (KGDP) tikus model DM¹⁰. Kondisi ini mencegah terjadinya peroksidasi lemak dan menurunkan MDA jantung²⁰.

Kombinasi delja 2 menurunkan kadar MDA jantung lebih kuat dibandingkan pemberian kombinasi delja 1. Kemungkinan hal tersebut dikarenakan pemberian dosis kombinasi delja 2 lebih besar dibandingkan kombinasi delja 1. Pemberian dosis yang lebih tinggi dapat meningkatkan aktifitas biologisnya²³. Peningkatan ini terkait dengan pemberian dosis yang lebih tinggi sehingga efek yang ditimbulkan akan lebih kuat. Sedangkan penurunan aktivitas biologis dikarenakan adanya mekanisme desensitisasi. Desensitisasi adalah menurunnya respon reseptor terhadap suatu rangsangan yang terus berulang dan penggunaan dosis tinggi²⁴. Kombinasi delja 1 dan delja 2 dapat menurunkan MDA jantung. Efek tersebut dikendalikan oleh masing-masing zat aktif yang terkandung dalam herbal tersebut dengan mekanisme yang telah dijelaskan sebelumnya. Pemberian bentuk tunggal lebih kuat dalam meningkatkan kadar MDA jantung dibandingkan bentuk kombinasi. Kondisi ini diduga karena interaksi antar zat aktif herbal bersifat antagonistik yang menghasilkan efek saling melemahkan sehingga menurunkan aktivitas biologisnya.

Induksi STZ dan DTLF meningkatkan kadar MDA jantung tikus model DM. Fruktosa yang dimetabolisme di hepar meningkatkan sintesis trigliserida yang dikeluarkan dalam bentuk *very low density lipid* (VLDL) kemudian diubah menjadi *free fatty acid* (FFA)²⁵. Pemberian diet tinggi lemak meningkatkan

jumlah trigliserida dalam kilomikron yang diangkut ke dalam sirkulasi darah. Kilomikron yang ada di sirkulasi akan dihidrolisis oleh *lipoprotein lipase* (LPL) dan dipecah menjadi FFA dan monoasil gliserol²⁶. Peningkatan kadar FFA memicu peningkatan fosforilasi serin/treonin dan penurunan fosforilasi tirosin sehingga menimbulkan resistensi insulin dan kondisi hiperglikemia²⁷. Sedangkan, induksi STZ merusak sel β pankreas dengan mekanisme peningkatan oksigen reaktif. Penurunan jumlah sel β pankreas akan menurunkan sintesis insulin sehingga menimbulkan hiperglikemia. Hal ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan Purnomo (2018) bahwa induksi DTLF dan STZ 25 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar gula darah puasa (KGDP) tikus model DM²⁸. Kondisi hiperglikemia akibat resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin akan menginduksi pembentukan radikal bebas sehingga meningkatkan peroksidasi lemak membran sel dan produksi MDA^{2,5}.

MDA senyawa hasil reaksi peroksidasi lemak membran sel dari sejumlah besar PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acids*) dan dekomposisi asam arakhidonat melalui reaksi enzimatik dan non enzimatik. MDA terbentuk secara enzimatik melalui biosintesis thromboxane A₂ dan secara non enzimatik melalui proses peroksidasi lemak yang menghasilkan radikal peroksil. Peningkatan ROS akibat proses autoksidasi dan *respiratory burst* akan membentuk radikal peroksil. Radikal hidroksil yang bersenyawa dengan PUFA akan membentuk MDA²⁹. MDA merupakan bahan yang dibutuhkan oleh sel dalam melakukan apoptosis. Selain itu MDA juga berperan sebagai imunologi karena dapat melakukan kerusakan pada sel bakteri yang menyerang didalam tubuh, akan tetapi peningkatan MDA tanpa diimbangi antioksidan dapat menyebabkan kerusakan pada sel³⁰.

Efek Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe dan Kombinasinya Terhadap Kadar SOD Jantung Tikus Model DM

Sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya meningkatkan kadar SOD jantung tikus model DM. Efek tersebut kemungkinan dikendalikan kandungan zat aktif dalam herbal yang bekerja sebagai antioksidan. Adapun mekanisme kerja dari herbal tersebut dijelaskan sebagai berikut.

Sari biji kedelai menghambat penurunan kadar SOD jantung tikus model DM diduga karena zat aktif isoflavon yang bertindak sebagai *scavenger* radikal bebas^{31,32}. Senyawa isoflavon bekerja mendonorkan atom hidrogen kepada anion superoksida, reaksi ini menghasilkan senyawa baru yang lebih stabil. Penurunan radikal bebas akan mempertahankan penggunaan antioksidan endogen seperti SOD sehingga kadar SOD dapat dipertahankan³¹. Hal ini diperkuat oleh riset yang dilakukan peneliti bahwa pemberian sari biji kedelai dosis 5000 mg/kgBB dapat menurunkan kadar MDA jantung tikus model DM sehingga penggunaan SOD dapat dipertahankan.

Pemberian sari rimpang jahe mampu meningkatkan kadar SOD jantung lebih kuat

dibandingkan sari kedelai dan kombinasinya. Efek ini kemungkinan disebabkan zat aktif yang berpotensi sebagai antioksidan seperti gingerol dan shogaol. Senyawa fenolik seperti gingerol dan shogaol bekerja mengkatalisis anion superoksida dengan cara mendonorkan atom hidrogen sehingga terbentuk senyawa yang lebih stabil. Efek tersebut akan menurunkan penggunaan SOD untuk menetralkan radikal bebas sehingga jumlahnya dapat dipertahankan^{20,21}. Senyawa flavonoid dalam jahe berperan mengaktifkan faktor transkripsi yaitu *Nuclear factor erythroid-2 related factor-2* (Nrf-2) untuk meningkatkan ekspresi gen yang berperan dalam sintesis antioksidan seperti SOD, *glutathione* dan *catalase* melalui ikatan dengan *Antioxidant Response Element* (ARE) pada promotor gen³³.

Pemberian kombinasi delja 2 lebih kuat dibandingkan kombinasi delja 1 dalam menghambat penurunan kadar SOD jantung. Hal ini kemungkinan dikarenakan dosis yang diberikan pada delja 2 lebih besar dibandingkan delja 1 sehingga aktivitasnya dalam menghambat penurunan SOD lebih kuat. Pemberian kombinasi delja 1 justru menurunkan kadar SOD jantung. Hal ini diduga karena dosis dan lama pemberian yang kurang. Sementara itu, pemberian bentuk tunggal lebih kuat dalam menghambat penurunan kadar SOD jantung dibandingkan bentuk kombinasi. Efek tersebut kemungkinan dikarenakan adanya interaksi antar zat aktif dalam kedua herbal yang bersifat antagonistik. Interaksi tersebut menghasilkan efek yang saling melemahkan satu sama lain sehingga menurunkan aktivitas biologisnya.

Induksi hiperglikemia oleh STZ dan DTLF akan meningkatkan pembentukan radikal bebas seperti pada penjelasan sebelumnya. Peningkatan radikal bebas akan meningkatkan penggunaan antioksidan endogen seperti SOD untuk menetralkan ROS sehingga kadar SOD menurun. Peningkatan kadar glukosa darah pada kelompok kontrol perlakuan sejalan dengan penelitian Purnomo (2018) bahwa induksi DTLF dan STZ 25 mg/kgBB menimbulkan gangguan toleransi oral glukosa yang menjadi penyebab terjadinya stress oksidatif²⁸.

SOD adalah suatu antioksidan endogen lini pertama yang berperan mengkatalisis dismutase radikal anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Namun penggunaan antioksidan sintetik seperti BHA (butylated hidroxy aniline) dan BHT (butylated hidroxy toluen) yang berlebihan telah diketahui memiliki efek samping yang besar antara lain menyebabkan kerusakan hati³⁴. SOD termasuk golongan metalloenzim yang aktivitasnya tergantung adanya atom Mangan (Mn), Besi (Fe), Seng (Zn) dan Tembaga (Cu). Pembentukan SOD terjadi di sitosol dan matriks mitokondria. SOD memiliki 3 bentuk yaitu SOD 1 di sitoplasma, SOD 2 di mitokondria dan SOD 3 di ekstrasel. SOD bekerja dengan mengubah anion superoksida yang berasal dari proses autoksidasi dan *respiratory burst* menjadi hidrogen peroksida, hidrogen peroksida dapat berubah menjadi radikal hidroksil dengan bantuan Fe (reaksi fenton). Kadar SOD

mengalami penurunan akibat peningkatan jumlah anion superoksida yang harus dikatalisis dan kerusakan pada tempat produksi SOD akibat stress oksidatif^{35,36,37}. Pengendalian stress oksidatif diperankan oleh Nrf-2 yang merupakan regulator utama dari aktivasi transkripsi gen yang mengkode protein sitoprotektif. Berbagai bahan kimia, terapeutik, agen lingkungan dan bahan kimia endogen (NO, 4-HNE) dapat menginduksi gen ARE melalui Nrf2. Aktivasi gen ARE akan meningkatkan SOD, peroksidase dan glutathione peroksidase sehingga menginduksi katabolisme radikal superoksida dan peroksida³⁸.

KESIMPULAN

1. Pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya menurunkan kadar MDA jantung tikus model DM dengan efek paling kuat pada kelompok kedelai.
2. Pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasi delja 2 menghambat penurunan kadar SOD jantung tikus model DM dengan efek paling kuat pada kelompok jahe.
3. Pemberian sari biji kedelai lebih kuat menurunkan kadar MDA jantung dibandingkan bentuk kombinasinya, sedangkan pemberian sari rimpang jahe lebih kuat menghambat penurunan SOD jantung dibandingkan bentuk kombinasinya.

SARAN

1. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode in-silico untuk mengetahui mekanisme kerja zat aktif yang terkandung di dalam herbal tersebut sehingga memberikan efek terapi yang lebih baik.
2. Melakukan penelitian menggunakan variasi dosis dan variasi pelarut yang berbeda

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada IOM dan FK UNISMA yang telah mendanai penelitian ini, staf laboratorium, dan anggota kelompok penelitian yang telah membantu jalannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Acar E., Ural D., Bildirici U., Sahin T & Yilmaz I. Diabetic Cardiomyopathy. Turkey: Department of Cardiology, Faculty of Medicine, Kocaeli University; 11: 732-7. 2011.
2. Trachanas K, Sideris S, Aggeli C, Poulidakis E, Gatzoulis K, Dimitrios T, Ioannis K. Diabetic Cardiomyopathy: From Pathophysiology to Treatment. Hellenic J Cardiol; 55: 411-42. 2014.
3. WHO. Global Report On Diabetes. France: World Health Organization. 2016.
4. Sayuti, K. dan Rina Y. Antioksidan Alami dan Sintetik. Padang: Andalas University Press. 2015.

5. Kalaivanam KN, Dharmalingram M, Marcus SR. Lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus. *Int J Diab Dev Ctries* 26:30-2. 2006.
6. Kurkcu R., Cakmak A., Zeyrek D. & Faruk Y. Evaluation of Oxidative Status in Short-term Exercise of Adolescent Athletes. *Turkey. Biology of Sport*; 27:177-180. 2010.
7. Mustofa M S., Mukhtar D., Susmiarsih T. & Royhan A. Pengaruh Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Ekspresi Insulin Sel β Pankreas pada Tikus Diabetik. *Jakarta : Jurnal Kedokteran Yarsi*; 18(2): 094-103. 2010.
8. Anissa F., Viryawan C. & Santoso F. Hipoksia Berpeluang Mencegah Kerusakan Sel β Pankreas pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2: Tinjauan Biologi Molekular. *Jakarta.: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*; vol. 41 no. 3. 2014
9. Yanto AR., Mahmudati N. & Susetyorini RE. Seduhan Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe.) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Model Diabetes Melitus Tipe-2 (NIDDM) Sebagai Sumber Belajar Biologi. *Malang : Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*; 2(3) 258-264. 2016.
10. Handayani W, Lyrawati D, Andarini S, Rudjanto A. Pengaruh kombinasi susu kedelai dan jahe terhadap peningkatan sensitivitas insulin pada tikus model resistensi insulin (studi in silico dan in vivo). *Disertasi. Program Doktor Ilmu Kedokteran. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya*. 2018.
11. Wilson, R. and Islam, M. Fructose-fed streptozotocin-injected rat: an alternative model for type 2 diabetes. *Pharmacological Reports*, 64(1), pp.129-139. 2012.
12. Eleazu, C.O., Eleazu, K.C., Chukwuma, S. & Essien, U.N. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*. 2013.
13. Firdaus, Rimbawan, Marliyati SA, Roosita K. Model tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin sukrosa untuk pendekatan penelitian diabetes melitus gestasional. *M K M I*. 12(1):29-34. 2016.
14. Bolla, K. Soybean Consumption And Health Benefits. *International Journal Of Scientific & Technology Research*; Vol. 4. 2015.
15. Al-Amin, Z.M., Thomson, M., Al-Qattan, K.K., Peltonen-Shalaby, R., dan Ali, M. Anti-diabetic and hypolipidaemic properties of ginger (*Zingiber officinale*) in streptozotocin-induced diabetic rats, *Br. J.Nutr*, 96, 660–666. 2006.
16. Carruthers, R.I. & K. Hural. Fungi as naturally occurring entomophagogens, pp. 115-138. In R.R. Baker and P.E. Dunn (eds.). *New directions in biological control: Alternative for suppressing agricultural pests and diseases*. Alan R. Liss, Inc. 2000.
17. Tzi Bun. Soybean-Biochemistry, Chemistry, and Physiology. *Croatia: InTech*. 2002.
18. Unus, S. *Tanaman Berkhasiat Sebagai Obat*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti. 2002.
19. Nastriati F., Romdhoni M., Maulana A. Pengaruh Pemberian Suspensi Bubuk Kedelai Terhadap Jumlah Sel Beta Pankreas Tikus Putih Galur Wistar Jantan yang Diinduksi Streptozotocin. *Surabaya: Proceeding APKKM Ke-6 Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surabaya*. 2018.
20. Dugasani, S., Pichika, MR., Nadarajah, VD., Balijepali, MK., Tandra, S., Korlakunta, JN. Comparative antioxidant and anti-inflammatory effect of (6)-gingerol, (8)-gingerol, (10)-gingerol and (60)-shogaol. *Journal of ethnopharmacology*; 127(2):515-20. 2010.
21. Mahmudati, N. Peran Seduhan Jahe (*Zingiber officinale* roscoe) pada Signaling Insulin dalam Mempengaruhi Penurunan Kadar Glukosa Darah pada Tikus Model Diabetes Tipe 2. *Proposal Pendanaan. FKIP-UMM*. 2015.
22. Li S., Tao Y., Yang J., Terry D., Oberley and Larry. The Role of Cellular Glutathione Peroxide Redox Regulation in Suppression of Tumor Cell Growth by Manganese SOD. *Cancer Research* 60, 3927-3939. 2012.
23. Neal, M.J. *At a Glance Farmakologi Medis*. Jakarta: Penerbit Erlangga. 2007.
24. Heffner LJ. dan Schust DJ. *At a Glance: Sistem Reproduksi* Ed. 2. Jakarta: Erlangga Medical Series, hal. 13. 2005.
25. Ermawati, D., A.A. Aswin, D.W. Soeatmadji. Pengaruh Suplementasi Fruktosa Terhadap Profil Glukosa Darah Dan Profil Lipida Darah Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 (Single Case Multiple Treatment Experimental Study). *Malang: Jurnal Studi Gizi Kesehatan Fakultas Kedokteran Unibraw*. 2007.
26. Murray, RK. *Biokimia Harper*. Edisi 29. Jakarta: EGC. 2014.
27. Sulistyoningrum, E. Tinjauan Molekular Dan Aspek Klinis Resistensi Insulin. *Mandala of Health*, 4(2):131-8. 2010.
28. Purnomo, Y. Potensi Oral Glukosa Ekstrak Biji Kedelai, Rimpang Jahe dan Kombinasinya Pada Tikus Model Diabetes. *Jurnal Kesehatan Islam*. 2018.
29. Ayala A., Munoz M.F., Argelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism and signaling mechanism of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*; 31. 2014.
30. Quijano, PS., Notario, BR., Quijano, TJ., Ramirez, AL. Theoretical Study of The Malondialdehyde-Adduct Formed By Reaction With DNA-Bases. *Colombia: Vitae*, vol. 11, num. 1, pp. 5-12. 2004.
31. Astuti, S., Muchtadi, D., Astawan, M., Purwantara, B., Wresdiyati, T. Pengaruh Pemberian Tepung Kedelai Kaya Isoflavon Terhadap Kadar MDA, Aktivasi SOD Testis dan Profil Cu, Zn-SOD Tubuli Semiferi Testis Tikus Jantan. *J. Teknol. Dan Industri Pangan*, Vol. XX No. 2. 2009.

32. Alvarez, JG., Touchstone, JC., Blassco, L., Storey, BT. Spountaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa: SOD as major enzyme protectant against oxygen toxixity. *J. Androl.* 8:338-348. 1987.
33. Kim HJ., Vaziri ND. Contribution of impaired Nrf2-Keap1 pathway to oxidative stress and inflammation in chronic renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol*, 298: F662-F671. 2010.
34. Kikuzaki, H., Hisamoto, M. Antioxidants Properties of Ferulic Acid and Its Related Compound, *J. Agric.Food Chem*, pp. 50:2161- 2168. 2002.
35. Rahmawati G, Rachmawati FN, Winarsi H. Aktivitas Superoksida Dismutase Tikus Diabetes yang Diberi Sari Batang Kapulaga dan Glibenklamid. *Scripta Biol.* 2014;1(September):197–201.
36. Fukai T, Ushio-fukai M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. *Mary Ann Liebert, Inc.* 2011;15(6).
37. Rimbach G, Pascual-teresa S De, National S, Matsugo S, Minihane AM. Antioxidant and free radical scavenging activity of isoflavone metabolites Antioxidant and free radical scavenging activity of isoflavone metabolites. 2003;2017(October).
38. Ma Qiang. Role of Nrf2 in Oxidative Stress and Toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*; 53: 401–426. 2013.