

EFEK BUBUK TEMPE INSTAN TERHADAP KADAR MALONALDEHID (MDA) SERUM TIKUS HIPERGLIKEMIK

The Effect of Instant Tempe Powder on Malondialdehyde (MDA) in Serum of Hyperglycemic Rats

Susi Desminarti¹, Rimbawan², Faisal Anwar², dan Adi Winarto³

¹Teknologi Pangan Politeknik Universitas Andalas, Padang

²Departemen Gizi Masyarakat Fakultas Ekologi Manusia Institut Pertanian Bogor, Bogor

³Departemen Anatomi Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor
E-mail: isusdesminarti@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh bubuk tempe instan terhadap kadar malonaldehid (MDA) pada serum tikus hiperglikemik. Sebanyak 25 tikus jantan *Sprague Dawley* umur dua bulan digunakan dalam penelitian ini. Tikus dibagi atas lima kelompok perlakuan yaitu A (normal + diet standar), B (hiperglikemik + diet standar), C (hiperglikemik + 20% bubuk tempe segar), D (hiperglikemik + 20% bubuk tempe instan), dan E (hiperglikemik + 35% bubuk tempe instan). Tikus dikondisikan menjadi hiperglikemik dengan induksi *streptozotocin* dosis tunggal 45 mg/kg bb intraperitoneum. Diet tempe diberikan selama 8 minggu. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa rata-rata kadar MDA kelompok A; B; C; D; dan E masing-masing adalah 2,16; 3,67; 3,13; 3,08; dan 2,98. Substitusi 35% bubuk tempe instan pada diet standar dapat menurunkan kadar MDA serum tikus hiperglikemik yang paling tinggi.

Kata kunci: bubuk tempe instan, kadar gula darah, MDA, tikus model hiperglikemik

ABSTRACT

This study aim to evaluate the effect of instant tempe powder to reduce malonaldehyde (MDA) in serum of hyperglycemic rats. A total of twenty five male Sprague Dawley rats with the age of two months old were used in this study. The rats were divided into 5 groups that were A (normal+standard feed); B (hyperglycemic + standard feed); C (hyperglycemic + 20% fresh tempe powder added feed); D (hyperglycemic + 20% instant tempe powder added feed, and the E group (hyperglycemic + 35% instant tempe powder). The hyperglycemic condition was achieved by inducing an intraperitoneal sample dose of 45 mg/kg BW streptozotocin. The evaluated parameter within 8 week period of study was MDA serum. The result showed that the substitution of instant powder tempe at 35% to regular feed indicate a highest potential as a MDA serum level reducer to hyperglycemic rats model. Instant tempe powder seems to be a beneficial functional food to control MDA of hyperglycemic case.

Key words: instant tempe powder, MDA, hyperglycemic rats model

PENDAHULUAN

Hiperglikemik merupakan salah satu penanda terjadinya kelainan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein. Hiperglikemia mengakibatkan peningkatan radikal bebas di dalam sel dan pada jumlah yang berlebihan dapat bersifat toksik yang mendorong terjadinya stres oksidatif (Chaiyasut *et al.*, 2011).

Salah satu jenis radikal bebas yang sangat reaktif adalah radikal hidroksil. Radikal hidroksil sangat toksik karena kemampuannya untuk berdifusi ke dalam membran sel yang selanjutnya bereaksi dengan membran lipid menghasilkan malonaldehid (MDA) (Robertson *et al.*, 2003). Selain itu, MDA dapat bereaksi dengan DNA membentuk *MDA-DNA adduct* sehingga sel rusak (Luczaj dan Skrydlewska, 2003).

Secara rinci Zakaria (1996) menyatakan bahwa MDA telah digunakan secara luas sebagai indikator keberadaan radikal bebas dan terjadinya kerusakan oksidatif. Malonaldehid merupakan salah satu produk akhir dari peroksidasi lipid yang terbentuk setelah senyawa radikal menyerang membran lipid yang mengandung asam lemak tak jenuh ganda (PUFA).

Kerusakan oksidatif atau kerusakan akibat adanya radikal bebas dapat dicegah atau dihindari oleh senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan berpotensi untuk

menanggulangi proses oksidasi sehingga dapat digunakan untuk mengurangi dampak negatif adanya radikal bebas. Isoflavon merupakan antioksidan yang banyak terkandung dalam kedelai dan produk olahannya seperti tempe yang mengandung isoflavon dalam jumlah tinggi (Wang dan Murphy, 1994). Selain berperan sebagai antioksidan, isoflavon (*genistein*, *daidzein*, dan *glisitein*) juga bermanfaat sebagai antiobesitas, antidiabetes, menurunkan gejala menopause, mencegah penyakit kardiovaskular, osteoporosis, kanker payudara serta kanker prostat (Setchell dan Cassidy, 1999).

Pengolahan tempe menjadi bubuk tempe instan bersifat inovatif mempunyai prospek yang menjanjikan karena dalam penyajian lebih praktis, mudah dikonsumsi, tahan lebih lama dan tersedia setiap saat, serta diharapkan dapat meningkatkan konsumsi tempe yang sampai saat ini masih rendah. Menurut Badan Ketahanan Pangan Departemen Pertanian RI (2010), konsumsi tempe sebanyak 20,60 g/kapita/hari pada tahun 2005 dan menurun menjadi 9,66 g/kapita/hari pada tahun 2009. Belum ada data tentang potensi bubuk tempe instan sebagai penangkal senyawa radikal bebas yang terbentuk pada kondisi hiperglikemik. Penelitian ini bertujuan menguji potensi bubuk tempe instan sebagai pengatur kadar malonaldehid pada serum tikus hiperglikemik.

MATERI DAN METODE

Pembuatan Bubuk Tempe Instan

Penelitian ini menggunakan bahan berupa bubuk tempe instan dan segar yang disiapkan secara khusus. Pembuatan bubuk tempe instan diawali dengan penyiapan dan pencucian kedelai, kemudian dilakukan proses fermentasi dengan penambahan bakteri baik dan ragi tempe. Tempe yang diperoleh dikukus, digiling, dan digelatinisasi sesuai petunjuk Kusumah (2008) yang telah dimodifikasi. Selanjutnya dibekukan dalam bentuk lembaran. Pengeringan tempe beku yang berbentuk lembaran dilakukan dalam drum pengering. Sebagai pembanding, bubuk tempe segar disiapkan sama dengan cara yang sama seperti pada pembuatan bubuk tempe instan, namun tanpa proses gelatinisasi.

Pengujian Potensi Bubuk Tempe Instan

Sebanyak 25 ekor tikus jantan *Sprague Dawley* umur 2 bulan dengan berat badan antara 150–200 g diberi makan diet standar dan minum *ad libitum* selama 10 hari. Selanjutnya tikus dibagi ke dalam lima kelompok perlakuan yaitu: 1) A= normal + diet standar, 2) B= hiperglikemik + diet standar, 3) C= hiperglikemik + 20% bubuk tempe segar, 4) D= hiperglikemik + 20% bubuk tempe instan, dan 5) E= hiperglikemik + 35% bubuk tempe instan.

Tikus kelompok B, C, D, dan E diinduksi dengan *streptozotocin* (STZ, Sigma Chemical Co), dosis tunggal 45 mg/kg bb intraperitoneal. Tikus kelompok A diberi buffer sitrat dengan volume yang sama. Konfirmasi hiperglikemia dilakukan pada hari ke-3 pasca induksi STZ. Induksi berhasil bila kadar gula darah >250 mg/dl. Kadar gula darah ditentukan dengan menggunakan *Blood glucose Test Meter Gluco DrTM* model AGM-2100 (Allmedicus Co. Ltd., Korea). Diet tempe pada kelompok perlakuan diberikan selama dua bulan. Pada akhir penelitian, dilakukan pembiusan (anestesi) dengan menggunakan ketamin (15-20 mg/kg intraperitoneal) untuk pengambilan sampel darah. Selanjutnya serum dipisahkan untuk analisis kadar MDA.

Kadar MDA dianalisis menurut Konukoglu *et al.* (1999). Kadar MDA dihitung sebagai reaksi kuantitatif *thiobarbituric acid* (TBA) menggunakan spektrofotometer. Sebanyak 0,5 ml serum ditambahkan 0,5 ml *trichloroacetic acid* (TCA) 30% (Merck), dan disentrifus pada 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang diperoleh dikumpulkan. Selanjutnya 0,5 ml supernatan ditambahkan 0,5 ml TBA 10% (Merck), direbus pada penangas air suhu 100° C selama 30 menit, dan selanjutnya direndam di dalam air es selama 10 menit. Absorbansi MDA dibaca pada λ 532 nm. Prosedur yang sama juga dilakukan untuk blanko. Konsentrasi MDA dinyatakan dalam $\mu\text{l/l}$ (ppm). Sebagai larutan standar digunakan 1,1,3,3-tetraetoksi propana (TEP). Larutan standar MDA dibuat dengan mengencerkan larutan TEP, hingga diperoleh konsentrasi standar sebesar 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8 ppm. Kurva standar dibuat dengan cara memplotkan

nilai absorbansi (sumbu Y) dengan konsentrasi standar (sumbu X).

Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA), dan uji beda Duncan pada taraf nyata 5% (Steel dan Torie, 1993) dan diolah menggunakan SPSS versi 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bubuk tempe instan yang digunakan pada penelitian ini mengandung kadar isoflavon *genistein* sebanyak 5,41 mg/100 g bb, isoflavon *daidzein* 37,82 mg/100 g bb, sedangkan bubuk tempe segar mengandung kadar isoflavon *genistein* sebanyak 2,49 mg/100 g bb, isoflavon *daidzein* 33,24 mg/100 g bb.

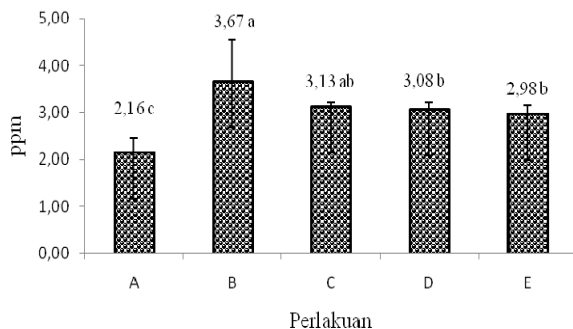
Kadar Malonaldehid Serum

Analisis kadar radikal bebas dalam penelitian ini dilakukan dengan mengukur kadar MDA serum. Hasil pengukuran rata-rata kadar MDA serum disajikan pada Gambar 1. Pada Gambar 1 menunjukkan bahwa rata-rata kadar MDA kelompok pemberian tempe C, D, dan E lebih rendah dibandingkan dengan MDA kelompok B (hiperglikemik + diet standar), namun belum menyamai kadar MDA kelompok A (normal + diet standar). Berdasarkan hasil uji Anova dan dilanjutkan dengan uji komparasi berganda dengan metoda DNMRT (*Duncan's New Multiple Range Test*), kadar MDA kelompok D dan E berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan kelompok B, namun kadar MDA kelompok C masih tidak berbeda ($P > 0,05$) dengan kelompok B.

Kadar gula darah yang tinggi akan menyebabkan meningkatnya kadar radikal bebas dalam tubuh. Peningkatan radikal bebas ini dapat melalui mekanisme pengaktifan jalur poliol (*poliol pathway*), autooksidasi glukosa dan glikasi protein (Endrinaldi *et al.*, 2007). Selanjutnya beberapa studi penelitian hiperglikemik secara klinis dan eksperimental menunjukkan adanya peningkatan kadar peroksidasi lipid (Venkateswaren dan Pari, 2002; Latha dan Pari, 2003). Peningkatan radikal bebas (*radical oxygen scavenger*= ROS) pada hiperglikemik disebabkan oleh peningkatan kadar gula darah yang berakibat terjadinya reaksi autooksidasi radikal bebas (Ivorra *et al.*, 1989).

Pemberian bubuk tempe segar dan instan dapat menurunkan rata-rata kadar MDA serum bila dibandingkan dengan kelompok hiperglikemik (kelompok B) yaitu sebanyak 14,49% (kelompok C); 15,49% (kelompok D), dan 18,75% (kelompok E). Pemberian bubuk tempe instan sebanyak 35% (kelompok V), menghasilkan kadar MDA terendah. Hal ini diduga pemberian bubuk tempe yang lebih banyak akan meningkatkan kadar isoflavon yang dikonsumsi. Pada studi ini dipahami bahwa isoflavon dapat berfungsi sebagai antioksidan yang diharapkan mampu mengurangi atau menghilangkan radikal bebas yang meningkat pada kondisi hiperglikemik. Dalam tempe

terdapat zat antioksidan isoflavon yang mencegah terjadinya peroksidasi lipid (Sumi dan Yatagi, 2006). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Astuti (1996) pada tikus normal, diet tempe menghasilkan MDA yang paling rendah dibandingkan tikus yang diberi pakan kasein.



Gambar 1. Rata-rata kadar MDA serum (huruf yang berbeda pada grafik adalah berbeda nyata ($p < 0,05$). A = normal + diet standar, B = hiperglikemik + diet standar, C = hiperglikemik + 20% bubuk tempe segar, D = hiperglikemik + 20% bubuk tempe instan, dan E = hiperglikemik + 35% bubuk tempe instan).

Isoflavon dapat menurunkan pembentukan senyawa radikal dan ROS melalui 1) dekomposisi hidrogen peroksida, 2) menginaktivkan (*quenching*) singlet oxygen yang aktif, dan 3) menangkap serta menginaktivkan senyawa radikal sebelum mencapai sel target (Frank *et al.*, 2000). Mekanisme yang ketiga sangat mungkin terjadi akan kemampuan isoflavon menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal (Heijnen *et al.*, 2002).

Kemungkinan mekanisme lain adalah pemberian tempe diduga berkaitan dengan aktivitas enzim *superoksida dismutase* (SOD) sebagaimana dinyatakan oleh Astuti (1996). Peningkatan aktivitas SOD mempercepat dismutasi radikal superoksida menjadi H_2O_2 dan selanjutnya dihilangkan melalui aktivitas katalase hepatic (Lee, 2006).

Pendekatan lain menurut Borrás *et al.* (2007), penurunan MDA diduga diakibatkan adanya peningkatan ekspresi mRNA MnSOD oleh isoflavon genistein melalui peningkatan regulasi ekspresi gen antioksidan dengan melibatkan reseptor estrogen yaitu *extracellular-signal regulated kinase* (ERK1/2), dan *nuclear factor κ B* (NF κ B). Genistein berikatan dengan reseptor estrogen mengakibatkan terjadinya fosforilasi secara cepat pada ERK1/2 dan I κ B mengakibatkan translokasi subunit P50 dari NF κ B menuju inti dan mengakibatkan transaktivasi ekspresi MnSOD pada MCF-7.

KESIMPULAN

Bubuk tempe instan dapat menurunkan pembentukan senyawa MDA tikus model hiperglikemik. Pemberian bubuk instan sebanyak 35% memberikan pengaruh yang paling kuat yaitu menurunkan kadar MDA serum

sebanyak 18,75%. Potensi bubuk tempe instan dalam menurunkan kadar MDA serum sama dengan bubuk tempe segar.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, A. 1996. Tempe dan antioksidan: Prospek pencegahan penyakit degeneratif. Dalam **Bunga Rampai Tempe Indonesia**. Yayasan Tempe Indonesia, Jakarta.
- Badan Ketahanan Pangan. 2010. **Konsumsi Pangan Indonesia Berdasarkan Asal Bahan Pangan dalam Direktori Pengembangan Konsumsi Pangan**. Badan Ketahanan Pangan Departemen Petanian RI, Jakarta.
- Borrás, C., J. Gambini, C. Gómez-Cabrera, J. Sastre, F.V. Pallardó, G.E. Mann, and J. Viña. 2006. Genistein, a soy isoflavone, up-regulates expression of antioxidant genes: involvement of estrogen receptors, ERK1/2, and NF κ B. **The FASEB Journal** 20:2136-2138.
- Chaiyasut, C., W. Kusirisin, N. Lailerd, P. Lerttrakarnnon, M. Suttajit, and S. Srichairatanakool. 2011. Effects of phenolic compounds of fermented Thai indigenous plants on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3057567/>
- Endrinaldi, E. Yelizel, dan G. Revilla. 2007. Pengaruh pemberian vitamin C dan E terhadap kadar MDA dan kolesterol darah kelinci diabetes melitus (DM) akibat induksi aloksan. **Majalah Kedokteran Andalas** 31(2):51-57.
- Frank, K., E. Donald, and G. James. 2000. Research trends in healthful foods. **J. Food Technology** 54(10):45-52.
- Heijnen, C.G.M., G.R.M.M. Haenen, R.M. Oostveen, E.M. Stalpers, and A. Bast. 2002. Protection of flavonoid against lipid peroxidation: the structure activity relationship revisited. **Free Radic. Res.** 36:575-581.
- Ivorra, M.D., M. Paya, and A. Villar. 1989. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. **Journal of Ethnopharmacology** 27:243-275.
- Konukoglu, D., T. Akcay, Y. Dincer, and Hateni. 1999. The susceptibility of red blood cells to autooxidation in type 2 diabetic patients with angiopathy. **Metabolism** 48:1481-1484.
- Kusumah, D. 2008. Potensi Pemanfaatan Tempe Kedelai dalam Pembuatan Bubur Instan untuk Diabetes dengan Komplikasi Gangren. **Skripsi**. Program Studi Gizi Masyarakat dan Sumberdaya Keluarga Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Latha, M. and L. Pari. 2003. Preventive effects of *Cassia auriculata* L. flowers on brain lipid peroxidation in rats treated with streptozotocin. **Molecular and Cellular Biochemistry** 243:23-28.
- Lee Jeong-Sook. 2006. Effects of soy protein and genistein on blood glucose, antioxidant enzyme activities, and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. **Life Sciences** 79:1578-1584.
- Luczaj, W., and E. Skrzydlewska. 2003. DNA damage caused by lipid peroxidation products. **Cell Mol. Biol. Lett.** 8:391-413.
- Robertson, R.P., J. Harmon, P.O. Trans, Y. Tanaka, and H. Takahashi. 2003. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radical gone bad, and the glutathione connection. **Diabetes** 52:581-587.
- Setchell, K.D.R. and A. Cassidy. 1999. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. **J. Nutr.** 129:758S-767S.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torie. 1993. **Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik**. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Sumi, H.C. and C. Yatagai. 2006. Fermented soybean components and disease prevention. <http://www.crcnetbase.com/doi/pdf/10.1201/9781420026566.ch15>
- Venkateswaren, S. and L. Pari. 2002. Antioxidant effect of *Phaseolus vulgaris* in streptozotocin-induced diabetic rats. **APJCN** 11:206-209.
- Wang, H.J. and P.A. Murphy. 1994. Isoflavon content in commercial soybean foods. **J. Agric. Food Chem.** 42:1666-1673.
- Zakaria, F.R. 1996. Senyawa radikal dalam dan oleh bahan pangan. **Prosiding Seminar Senyawa Radikal Bebas dan Sistem Pangan: Reaksi Biomolekuler, Dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan**. Kerjasama PAU IPB dengan Kedutaan Besar Perancis. Jakarta: 11-17.