

PENINGKATAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA TIKUS HIPERGLIKEMI DENGAN ASUPAN TEMPE KORO BENGUK (*Mucuna pruriens* L.)

Increased Superoxide Dismutase Antioxidant Activity in Hyperglycemia Rat with Velvet Bean (*Mucuna pruriens* L.) Tempe Diet

Christiana Retnaningsih¹, Darmono², Budi Widianarko¹, Siti Fatimah Muis³

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Unika Soegijapranata, Jl. Pawiyatan Luhur IV/1, Bendan Dhuwur, Semarang 50234

²Bagian/SMF Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Jl. Dr. Sutomo No. 16-18 Semarang 50244

³Bagian/SMF Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Jl. Dr. Sutomo No. 16-18 Semarang 50244
E-mail: ch_retnaningsih@yahoo.com

ABSTRAK

Hiperglikemi menimbulkan stress oksidatif dan patogenesis komplikasi diabetes. Untuk menurunkan hiperglikemi perlu dipertimbangkan kombinasi antara pengobatan modern dengan terapi tradisional melalui pangan fungsional guna mengurangi kerusakan sel beta pankreas. Bahan pangan yang memiliki potensi fungsional tersebut adalah biji koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) yang difermentasi menjadi bentuk tempe. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh asupan tempe koro benguk terhadap kadar glukosa darah dan status antioksidan serum pada tikus hiperglikemi. Penelitian ini menggunakan 50 ekor tikus jantan jenis *Sprague Dawley* umur 2-3 bulan. Tikus dibagi ke dalam 5 kelompok dengan cara random alokasi. Kelompok 1 kontrol negatif (C-), kelompok 2 kontrol positif (C+), kelompok 3 adalah X₁TK10%, kelompok 4 adalah X₂TK10%, kelompok 5 adalah X₃TK10%. Tikus kelompok C+, X₁, X₂, X₃ diinduksi streptozotocin (STZ) dengan dosis 40 mg/kg BB secara intra peritoneal. Penelitian dilakukan selama 30 hari. Data dianalisis dengan *Paired T test*, *One way Anova* dan dilanjutkan dengan Uji Wilayah Ganda *Duncan*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa STZ meningkatkan kadar glukosa darah dan menurunkan aktivitas antioksidan SOD serum. Hasil analisis *in vivo* pada tikus menunjukkan bahwa asupan tempe koro benguk menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan aktivitas antioksidan SOD serum.

Kata kunci: Tempe koro benguk, antioksidan, hiperglikemi

ABSTRACT

Hyperglycemia is associated with oxidative stress and the pathogenesis of diabetic complications. To reduce the hyperglycemia, modern treatment combined with traditional therapies through functional foods need to be considered, particularly to repair the damaged pancreas beta cells. A foodstuff that has a functionality potential is velvet beans (*Mucuna pruriens* L.), especially when it is in the form of a fermented product, i.e. *tempe*. The aim of study was to prove the effect of velvet beans *tempe* intake on blood glucose levels and superoxide dismutase antioxidant status. This research used randomized controlled group pre test- post test design using 50 male Sprague Dawley (SD) rats aged 2-3 months. The rats were subdivided into 5 groups, 10 rats per group, by means of random allocation. Group 1 is negative control (C-), group 2 is positive control (C+), group 3 is X₁TK10%, group 4 is X₂TK20%, group 5 is X₃TK30%. The groups of C+, X₁, X₂, X₃ are induced by 40 mg/kg body weight streptozotocin dose by intra peritoneal injection. The research was conducted for 30 days. The data were analyzed with Paired T Test, One-way *Anova* and continued by the Duncan's Multiple Range Test. The results showed that streptozotocin injection increased the level of blood glucose and reduced the level of serum superoxide dismutase antioxidant activity. Bioassay experiment demonstrated that

velvet bean tempe diet reduced the level of blood glucose. On the other hand velvet bean tempe diet improved the level of superoxide dismutase antioxidant activity.

Keywords: Velvet bean tempe, antioxidant, hyperglycemia

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) adalah sindroma yang ditandai oleh glukosa darah yang tinggi (hiperglikemi) menahun karena gangguan produksi, sekresi insulin atau resistensi insulin. Jumlah penderita diabetes (seluruh dunia) makin meningkat, yang pada tahun 2006 diperkirakan ada 246 juta orang dan akan menjadi 380 juta orang pada tahun 2025 (Anonim, 2008). Diabetes mellitus ditandai dengan hiperglikemi merupakan penyakit kronis yang berkaitan dengan peningkatan *stres oksidatif* dan komplikasi vaskuler. Sumber stres oksidatif pada diabetes disebabkan perpindahan keseimbangan reaksi redoks karena perubahan metabolisme karbohidrat dan lipid yang akan meningkatkan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dari reaksi glikasi dan oksidasi lipid sehingga menurunkan sistem pertahanan antioksidan (Kaneto dkk., 1999; Percival, 1998).

Spesies oksigen reaktif (ROS) berperan terhadap patogenesis berbagai inflamasi dan disfungsi sel beta (β). Hiperglikemi menyebabkan peningkatan ROS dalam mitokondria yang berakibat kerusakan *deoxyribonucleat acid* (DNA). Menurunnya kadar enzim antioksidan sel menjadikan sel β rentan terhadap stres oksidatif. Pada pengidap diabetes yang glukosanya tidak terkontrol, terjadi peningkatan radikal bebas dan aktivitas enzim antioksidan yang rendah sehingga perlu asupan antioksidan untuk menetralkan radikal bebas tersebut (Kaneto dkk., 1999; Brownlee, 2003; Brownlee, 2005). Untuk itu perlu dicari bahan pangan yang dapat mengurangi kasus penyakit DM yang memiliki keamanan tinggi dan mempunyai aktivitas antioksidan, dan bersifat hipoglikemi.

Biji koro benguk mengandung senyawa fenolik. Berdasarkan hasil penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji koro benguk (*Mucuna pruriens*) mempunyai aktivitas antioksidan. Kandungan total fenolik dari ekstrak metanol biji kacang koro menggunakan uji Folin-Ciocalteu menunjukkan 33,04 mg/g. Ekstrak metanol biji koro benguk pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ mempunyai kemampuan memerangkap radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl* (DPPH) sebesar 90,16 % sedangkan *butylated hydroxytoluene* (BHT) sebesar 93,98 % dengan nilai *inhibitory concentration* (IC_{50}) ekstrak metanol biji kacang koro sebesar 38,5 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan BHT sebesar 15 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak biji koro benguk konsentrasi 10 – 320 $\mu\text{g/mL}$ memiliki kemampuan aktivitas penghambatan radikal anion

superoksida yang tinggi menyamai aktivitas antioksidan *quercetin*. Ekstrak koro benguk dengan konsentrasi 115 $\mu\text{g/mL}$ mempunyai aktivitas pemerangkapan radikal H_2O_2 sebesar 50 %; sedangkan pada konsentrasi 52,5 $\mu\text{g/mL}$ mempunyai aktivitas pemerangkapan radikal bebas nitrit oksida (NO) sebesar 50% (Rajeshwar dkk., 2005).

Pada penelitian ini biji koro benguk dibuat menjadi tempe, makanan yang sudah banyak dikonsumsi oleh masyarakat di Daerah Istimewa Yogyakarta, Kabupaten Wonogiri dan Kabupaten Sukoharjo. Tempe merupakan makanan tradisional yang dibuat melalui proses fermentasi menggunakan kapang terutama *Rhizopus oligosporus* (Kasmidjo, 1994). Produk tempe mempunyai keunggulan yakni kandungan senyawa flavonoid, teknologi pembuatannya sederhana, harganya murah, mempunyai cita rasa yang bisa diterima oleh konsumen dan mudah dimasak. Setelah mengalami proses fermentasi, tempe memiliki nilai kecernaan yang tinggi dan bentuk antioksidan bebas, karena antioksidan tersebut sudah terlepas dari senyawa gula melalui proses hidrolisa pada ikatan -O-glikosidik (Handajani, 2001).

Senyawa antioksidan dalam tempe koro benguk berupa flavonoid kelompok fenolik, bahan yang diduga mempunyai potensi memperbaiki kerusakan sel- β pankreas. Koro benguk (*M. pruriens* L.) mengandung antioksidan dan melimpah di Indonesia serta belum dimanfaatkan secara optimal. Penelitian ini bertujuan membuktikan tempe koro benguk menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan aktivitas antioksidan superoksida dismutase (SOD) serum pada tikus *Sprague Dawley* hiperglikemi karena induksi *streptozotocin*.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah tempe koro jenis koro benguk (*Mucuna pruriens* L), biji koro benguk diperoleh dari Baturetno Wonogiri. Bahan-bahan lain untuk pakan tikus mengacu *American Institute of Nutrition/AIN* 1993 (Reeves dkk., 1993) dan dibuat secara isokalori. Bahan kimia untuk analisis kadar glukosa serum digunakan glukosa kit (Glucocard test strip II, Arkray, Japan) dan untuk induksi diabetes digunakan Streptozotocin (Nacalai tesque Inc., Kyoto, Japan). Bahan kimia untuk analisis aktivitas enzim antioksidan superoksida dismutase (SOD) dari bioVision Research Products-USA.

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan jenis *Sprague Dawley* berumur 2 - 3 bulan dengan berat badan antara 200 - 300 g, diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengkajian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan antara lain peralatan untuk membuat tempe koro bengkuk, sentrifugasi kecil (Hettich EBA III), pH meter (HM-205), kandang tikus individual beserta perlengkapannya, syringe injeksi, *micro-hematocrite tube*, spektrofotometer (UV-120-01, Shimadzu), ELISA.

Jalannya Penelitian

Persiapan komponen penyusun pakan. Pembuatan tempe koro bengkuk, selanjutnya tempe koro bengkuk dipotong dengan ukuran 5 mm lalu dikeringkan dengan *freeze dryer* hingga kadar air 13 % db (*dry base*) lalu ditepungkan dan diayak (lolos 60 mesh), lalu dianalisis komposisi gizi dan aktivitas antioksidannya dengan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Porkony dkk., 2001).

Pembuatan pakan perlakuan meliputi: a) Pakan standar; b) Pakan dengan substitusi tempe koro bengkuk (TK) 10% dari total energi; c) Pakan dengan substitusi TK 20% dari total energi; d) Pakan dengan substitusi TK 30% dari total energi. Komposisi bahan pakan standar perlakuan dibuat secara isokalori dan mengacu pada American Institut of Nutrition /AIN 1993 (Reeves dkk., 1993), tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi pakan tikus dengan berbagai dosis tempe koro bengkuk yang dihitung secara isokalor

Komposisi pakan (g)	C+	X ₁ , TK10%	X ₂ , TK20%	X ₃ , TK30%
Pati jagung	620,7	620,7	522,01	423,32
Kasein	140	41,31	41,31	41,31
Tempe kacang koro bengkuk	-	98,69	197,38	296,07
Sukrosa	100	100	100	100
Minyak kedelai	40	40	40	40
Selulosa	50	50	50	50
Mineral mix	35	35	35	35
Vitamin mix	10	10	10	10
Kholin bitartrat	2,5	2,5	2,5	2,5
L-cystine	1,8	1,8	1,8	1,8

Sumber: Reeves dkk. (1993)

Tahapan penelitian dengan hewan percobaan. Tikus *Sprague Dawley* (tikus SD) sejumlah 50 ekor dengan berat badan (BB) 200 – 300 g dan umur 2-3 bulan diaklimatisasi untuk adaptasi. Tikus dipuasakan selama 10 jam, dengan tetap diberi minum *ad libitum*, selanjutnya diambil darahnya

melalui vena *orbitalis* untuk diperiksa kadar glukosa darah dan aktivitas antioksidan SOD. Tikus kontrol negatif / C-sebanyak 10 ekor dipisahkan dari total sampel (50 ekor) yang sebelumnya dipilih secara acak. Sebanyak 40 ekor tikus diinduksi streptozotocin secara intra peritoneal dengan dosis 40 mg/kg BB. Kelompok kontrol negatif mendapatkan injeksi intra peritoneal dengan aquabides pada konsentrasi yang sama. Setelah dua minggu (14 hari) tikus mendapat induksi STZ diperiksa kadar glukosa darahnya dan dipilih yang memenuhi kriteria inklusi yaitu kadar glukosa ≥ 200 mg/dl. Tikus dikelompokkan menjadi 4 kelompok secara acak (masing-masing 10 ekor) meliputi: 1 kontrol positif, dan 3 kelompok perlakuan tempe (tempe koro 10% total energi, 20% total energi, dan 30% total energi), dan dianalisis kadar glukosa darah dan aktivitas SOD (*pre test*). Tikus dipelihara selama 30 hari dan setelah itu diamati perubahan berat badan setiap minggu, kadar glukosa darah dan aktivitas SOD (*post test*).

Analisis kadar glukosa darah. Pemeriksaan kadar glukosa darah dilakukan melalui vena *orbitalis* tikus (Anonim 2007). Tetesan darah yang keluar pertama kali dibuang, tetesan darah berikutnya dihisap *Glucocard test strip II*, selanjutnya diperiksa dengan alat pemeriksaan glukosa darah *Super Glucocard II test meter* yang hasilnya dapat dibaca pada layar monitor.

Analisis aktivitas antioksidan Superoxide Dismutase (SOD). Prinsip penentuan aktivitas antioksidan SOD yaitu mengetahui kemampuan SOD mengkatalisis anion superoksida (O_2^*) ke dalam molekular peroksida hidrogen dan oksigen (Anonim 2009). Aktivitas SOD diukur berdasarkan laju autooksidasi keberadaan dan ketiadaan sampel mengekspresikan Mc Cord Fridovich “sitokrom c” unit. Kemudian dibaca dengan ELISA pada panjang gelombang 450 nm. Menghitung aktivitas SOD (% laju penghambatan) menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas SOD (\% laju penghambatan)} = \frac{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank2}})}{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}})} \times 100$$

Analisis Statistik

Data yang diperoleh diedit, ditabulasi dan dilakukan uji normalitas data untuk melihat sebaran distribusi data. Dalam penelitian ini data *pre test* dan *post test* pada variabel aktivitas SOD dianalisis menggunakan *dependent pair T test*. Untuk mengetahui delta *pre test* dan *post test* pada perlakuan dianalisis dengan *Anova satu arah* dan dilanjutkan dengan uji wilayah *Duncan*. Analisis data menggunakan perangkat

lunak SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) 13 for Windows (Weiss dan Hassett, 1982).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Kimia Tempe Koro Benguk

Dalam penelitian ini biji koro benguk dibuat tempe untuk meningkatkan nilai cerna dan juga menghilangkan senyawa antigizi seperti asam sianida (Handajani 2001). Hasil analisis komposisi kimia pada biji koro benguk, dan tempe koro benguk dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi kimia pada biji koro dan tempe koro benguk (*Mucuna pruriens* L) dalam 100 g bahan (db)

Komposisi kimia	Bahan/sampel	
	Biji koro (%)	Tempe koro (%)
Air	11,27	12,71
Abu	3,48	3,02
Serat	2,51	0,13
Protein	31,49	33,03
Lemak	6,45	2,40
Karbohidrat	44,80	48,54

Tempe koro benguk yang menjadi salah satu komponen pakan memiliki kandungan protein sedikit lebih tinggi dibanding biji karena aktivitas enzim protease dari kapang selama fermentasi (Astuti dkk., 2000). Tempe koro benguk dengan kandungan gizi yang baik dan seimbang dapat menjadi pilihan pangan terkait dengan pengembangan pangan lokal untuk mendampingi tempe kedelai (sebagian besar kedelai diperoleh dari impor).

Antioksidan Tempe Koro Benguk

Pengolahan dengan fermentasi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Hal itu akan meningkatkan nilai fungsional dari produk tersebut. Hasil analisis aktivitas antioksidan pada biji koro benguk adalah $87,23 \pm 0,68$ % dan tempe koro benguk adalah $95,59 \pm 0,82$ %.

Antioksidan dalam pengertian kimia adalah senyawa pemberi elektron (*electron donor*), dalam arti biologis antioksidan adalah semua senyawa yang dapat meredam radikal bebas dan *reactive oxygen species* (ROS) yang bersifat oksidan termasuk protein pengikat logam. Enzim-enzim yang dapat memusnahkan radikal bebas adalah superoksida dismutase (SOD), glutation peroksidase (GP_x), dan katalase. Antioksidan sering diistilahkan sebagai peredam dan pemerangkap (*scavenger*) radikal bebas yaitu molekul yang dapat bereaksi dengan radikal bebas dan berfungsi menetralkan radikal bebas (Percival, 1998).

Tempe mengandung antioksidan, senyawa yang mampu menangkalkan radikal bebas. Radikal bebas adalah atom atau

molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan dan bersifat dapat menarik elektron dari senyawa lain sehingga terbentuk radikal bebas yang baru. Radikal bebas yang sangat reaktif bersifat tidak stabil, sehingga berumur sangat pendek dan sulit dideteksi. Contoh senyawa reaktif misalnya gugus hidroksil (-OH), radikal peroksil (OOH), ion superoksida (O_2^-), Hidrogen peroksida (H_2O_2), dan lain-lain. Keberadaan radikal bebas dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya penyakit degeneratif, misalnya jantung, diabetes, aterosklerosis, kanker dan sebagainya. Bahkan radikal bebas ini dapat merusak selaput sel dan DNA (Percival, 1998; Agbafor dan Nwachukwu, 2011).

Senyawa aktif yang bersifat antioksidan yang ada di dalam tempe ini terdapat dalam bentuk isoflavan. Senyawa tersebut masuk dalam kelompok flavonoid, senyawa polifenolik yang umumnya terdapat di dalam buah-buahan, sayur-sayuran, dan biji-bijian (Shahidi, 1999; Bors dkk., 2001; Miller, 2002).

Pada proses fermentasi tempe, terjadi biotransformasi isoflavan glikosida menjadi isoflavan aglikon, yaitu senyawa antioksidan tersebut sudah terlepas dari senyawa gula melalui proses hidrolisa pada ikatan -o-glikosidik. Hal ini akan meningkatkan aktivitas antioksidan pada tempe (Purwoko, 2004; Handajani, 2001; Astuti dkk., 2000). Pada proses fermentasi tempe terbentuk antioksidan faktor II (6,7,4-trihidroksi isoflavan) yang mempunyai sifat antioksidan paling kuat dibandingkan dengan isoflavan dalam biji. Astuti dkk.(2000) juga mengungkapkan bahwa selama proses fermentasi tempe mulai jam ke 24 terjadi pembentukan SOD hingga jam ke 60 dan selanjutnya pembentukan SOD mengalami penurunan. Dengan demikian tempe koro memiliki potensi sebagai antioksidan yang tinggi.

Berat Badan Tikus

Berat badan (BB) tikus jantan varietas *Sprague Dawley* yang digunakan dalam penelitian ini antara 207,3 gram hingga 294,5 gram, berumur 2,5 bulan. Penimbangan berat badan tikus dilakukan setiap minggu, mulai dari masa adaptasi, setelah induksi STZ dan setelah mendapat perlakuan pakan selama 30 hari. Data berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 3, dan data perubahan (delta) BB tikus yang disajikan dalam delta 1 dan delta 2 dapat dilihat pada Tabel 4.

Delta 1 merupakan selisih berat badan tikus awal (normal,sebelum diinduksi STZ) dan setelah diinduksi STZ. Kelompok tikus yang diinduksi STZ (C^+ , X_1 , X_2 dan X_3) semua mengalami penurunan berat badan. Hal tersebut karena efek STZ yang merusak sel beta pankreas dan mengarah pada insulinitis, akan berpengaruh buruk pada mobilisasi zat gizi antara lain tidak mampu menghasilkan energi dari glukosa yang berasal dari makanan. Menurut Szkudelski (2001) bahwa

efek kuat dari STZ menyebabkan produksi ATP (adenosine triphosphat) mitokondria terbatas dan menimbulkan deplesi pada sel nukleotida.

Data delta 2 adalah selisih antara berat badan tikus setelah diinduksi STZ dan setelah mendapatkan perlakuan tempe koro bengkuk selama 30 hari. Berat badan pada kelompok tikus X_1 , X_2 dan X_3 mengalami peningkatan. Peningkatan BB tersebut mengindikasikan adanya perbaikan pada kesehatan tikus. Tempe koro bengkuk yang di dalamnya banyak terkandung antioksidan dapat menghambat kerusakan sel beta pankreas. Proses tersebut terjadi karena antioksidan flavonoid menstimulasi aktivitas enzim SOD, selanjutnya SOD di dalam tubuh akan memerangkap anion superoksida (O_2^*) sehingga tidak terbentuk hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil (OH^*) (Szaleczky dkk., 1999; Szkudelski, 2001). Kondisi sel beta yang baik akan meningkatkan produksi insulin yang dampaknya metabolisasi zat gizi akan membaik sehingga pada tikus perlakuan X_1 -TK10%, X_2 -TK-20% dan X_3 -TK30% meningkat berat badannya.

Tabel 3. Rerata berat badan tikus pada kondisi awal, sebelum perlakuan (*pre test*) dan setelah perlakuan (*post test*)

Kelompok tikus*	Kondisi awal (normal) (g)	Sebelum perlakuan (<i>pre test</i>) (g)	Sesudah perlakuan (<i>post test</i>) (g)
C-	219,7 ± 8,1	245,3 ± 13,7	289,1 ± 15,1
C+	216,1 ± 4,4	165,4 ± 44,2	157,6 ± 8,5
X_1	234,6 ± 9,9	169,3 ± 26,8	185,1 ± 30,3
X_2	251,0 ± 9,4	178,7 ± 27,3	194,3 ± 18,2
X_3	280,3 ± 10,5	198,5 ± 29,0	215,1 ± 18,3

Keterangan:

*Kelompok C- (kontrol negatif/normal); Kelompok C+ (Kontrol positif/induksi STZ dan pakan standar); Kelompok X_1 (induksi STZ dan TK 10%); Kelompok X_2 (induksi STZ dan tk 20%); Kelompok X_3 (induksi STZ dan pakan TK 30%)

Tabel 4. Rerata perubahan berat badan tikus (delta 1 dan delta 2)

Kelompok tikus*	Delta 1 (sebelum perlakuan) (g, %)	Delta 2 (sesudah perlakuan) (g, %)
C-	25,5 (11,6%)	43,8 (17,8%)
C+	-50,8 (-23,5%)	-7,7 (-4,6%)
X_1	-65,2 (-27,8%)	15,7 (9,3%)
X_2	-72,4 (-28,8%)	15,6 (8,0%)
X_3	-81,8 (-29,2%)	16,6 (8,4%)

Keterangan:

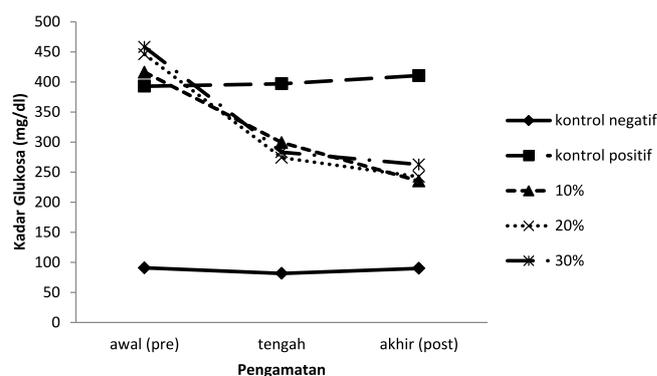
*Kelompok C- (kontrol negatif/normal); Kelompok C+ (Kontrol positif/induksi STZ dan pakan standar); Kelompok X_1 (induksi STZ dan TK 10%); Kelompok X_2 (induksi STZ dan tk 20%); Kelompok X_3 (induksi STZ dan pakan TK 30%)

Kadar Glukosa Darah Tikus

Kadar glukosa darah adalah salah satu parameter kondisi diabetes. Tikus yang mendapatkan induksi streptoz-

tocin (STZ) menunjukkan peningkatan kadar glukosa. Streptozotocin merupakan turunan nitrosourea diisolasi dari kapang *Streptomyces griseus*, secara selektif toksik terhadap sel beta pankreas tidak menyebabkan kerusakan pada sel endokrin lain maupun pada parenkim eksokrin (Szkudelski, 2001; Lenzen,2008).

Uji coba *in vitro*, menunjukkan bahwa induksi streptozotocin menyebabkan konsumsi O_2 meningkat dan menghasilkan radikal H_2O_2 (Szkudelski, 2001). Hal tersebut berlanjut pada kerusakan sel beta pankreas sehingga produksi dan aksi insulin menurun. Kondisi ini menimbulkan gangguan pada metabolisme karbohidrat, lemak dan protein dan bermanifestasi pada peningkatan kadar gula darah. Tempe koro bengkuk memiliki kandungan antioksidan yang dapat mengurangi kerusakan pada sel beta pada tikus hiperglikemi, hal itu terlihat pada kelompok X_1 , X_2 dan X_3 yang mengalami penurunan kadar glukosa pada akhir penelitian (Gambar 1).



Gambar 1. Kadar glukosa darah tikus (mg/dl) dari kondisi sebelum perlakuan hingga sesudah perlakuan

Menurut Matthew (2002) hiperglikemi adalah inisiator utama untuk berbagai komplikasi mikrovaskular pada penyakit diabetes seperti retinopati, neuropati dan nephropati. Kadar glukosa yang tinggi tersebut meningkatkan stress oksidatif melalui proses enzimatik maupun non enzimatik. Pada proses enzimatik terjadi perubahan fungsi protein misalnya NADPH oksidase sehingga mengganggu dan merusak fungsi sel serta menimbulkan *reactive oxygen intermediates* yang dapat mengoksidasi LDL (low density lipoprotein). Sedangkan proses non enzimatik akan mengubah ekspresi gen (*growth factor* dan *cytokine*) serta mengganggu pertahanan antioksidan (meningkatkan stres oksidatif) yang berujung pada kerusakan fungsi sel beta.

Perlakuan pakan dengan tempe koro bengkuk (X_1 -TK10%; X_2 -TK-20% dan X_3 -TK30%) menurunkan kadar glukosa masing-masing adalah 44,7% (dari $425,5 \pm 79,6$ menjadi $235,3 \pm 21,0$ mg/dl); 46,1% (dari $449,6 \pm 82,6$

menjadi $242,3 \pm 35,1$ mg/dl); dan 43,9%. (dari $469,0 \pm 63,1$ menjadi $262,7 \pm 20,1$ mg/dl).

Penurunan kadar glukosa darah tersebut dikarenakan kandungan senyawa antioksidan yang ada di dalam tempe koro bengkuk. Menurut Pinent dkk. (2008) dalam penelitian *in vitro* bahwa genistein yang terdapat pada isoflavon mampu meningkatkan sekresi insulin pada MIN6 (*mouse-derived*) line sel beta pankreas dari mencit yang dikulturkan hingga konsentrasi $100\mu\text{mol/L}$. Mineral yang ada dalam tempe koro bengkuk seperti Na, K, Ca, Zn, MG, Fe, P, Cu Mn dan Cr membantu mekanisme pelepasan insulin sehingga menurunkan kadar glukosa (Pinent dkk., 2008). Selain itu sifat hipoglikemi tersebut juga karena adanya senyawa D-chiro-inositol di dalam *Mucuna pruriens* L. (Donati dkk., 2005).

Antioksidan Superoksida Dismutase (SOD)

Spesies oksigen reaktif (ROS) yang ada di dalam sel tubuh terjadi karena jumlah radikal bebas jauh lebih banyak dibandingkan dengan antioksidan. Bentuk radikal yang termasuk dalam kelompok ROS ini seperti radikal hidroksil, anion superoksida, hidrogen peroksida, dan peroksida lipid. Senyawa radikal tersebut dapat bereaksi dengan membran lipid, asam nukleat, protein dan enzim yang berakibat pada kerusakan sel dan sering disebut sebagai stress oksidatif (Percival, 1998; Kaneto, 1999; Brownlee, 2003). Hiperglikemi banyak menghasilkan ROS dan kondisi ini akan menimbulkan disfungsi sel beta pankreas. Sebagaimana diungkapkan oleh

Poitot dan Robertson (2008) bahwa pada sel beta pankreas yang terganggu fungsinya akan mengalami penurunan kadar enzim-enzim antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx) dan catalase (CAT) sehingga rawan terhadap stres oksidatif.

Enzim SOD memiliki kemampuan mendegradasi anion superoksida radikal menjadi oksigen dan hidrogen peroksida. Kemudian perannya dilanjutkan oleh enzim GPx dan catalase hingga dihasilkan air dan oksigen. Superoksida dismutase termasuk enzim primer di dalam tubuh karena mampu melindungi sel-sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas (Poitout dan Robertson, 2008). Enzim SOD tersebut akan bekerja sempurna dengan adanya mineral-mineral seperti tembaga (Cu), seng (Zn) dan mangan (Mn) yang banyak terdapat pada kacang-kacangan dan olahannya. Pada Tabel 5 terlihat bahwa aktivitas enzim SOD pada tikus yang mendapat pakan tempe koro bengkuk meningkat nyata antara *pre test* dan *post test*

Pada kelompok tikus yang mendapatkan induksi STZ (*pre test*) secara umum menurun aktivitas antioksidan SOD nya. Hal tersebut karena STZ membuat produksi superoksida (oksigen radikal) dalam mitokondria meningkat, selanjutnya mengaktifasi protein kinase C (PKC) dan pembentukan *advanced glycosilated end- products* (AGEs) yang mana keduanya akan mengganggu fungsi sel beta (Poitout dan Robertson, 2008). Pakan tempe koro mengandung antioksidan flavonoid dengan aktivitas tinggi. Dengan adanya enzim-enzim di dalam usus dan juga mikroorganisme di dalam kolon, flavonoid tersebut dapat meningkatkan aktivitas antioksidan SOD pada tikus perlakuan X_1 , X_2 dan X_3 sehingga dapat mengurangi kerusakan sel beta (Pinent dkk., 2008). Astuti dkk. (2000) juga mengungkapkan bahwa proses fermentasi pada pembuatan tempe mulai dari jam ke 24 hingga 60 jam terbentuk SOD yang sebelumnya tidak terdapat dalam biji koro bengkuk. Menurut Srinivasan dan Ramarao (2007) STZ dapat memecah rangkaian DNA serta meningkatkan aktivitas dari poli-ADP-ribose sintase, yang dapat berdampak pada menurunnya kadar ATP di dalam sel beta sehingga sel beta menjadi mati. Akan tetapi bila sebelum diinduksi STZ tikus diberi perlakuan seperti antioksidan (SOD), alpha-phenyl-tert-butyl nitron (pemerangkap radikal bebas), inhibitor NAD dan poli ADP-ribosil sintase maka dapat mengurangi kerusakan sel beta. Data pre klinik menunjukkan bahwa tingkat aktivitas antioksidan serum pada ke tiga perlakuan tersebut meningkat nyata dibanding kontrol positif dan peningkatan terbesar pada perlakuan X_2 . Berkaitan dengan peningkatan aktivitas antioksidan serum pada perlakuan X_1 , X_2 dan X_3 sejalan dengan penurunan kadar glukosa darah, dan penurunan terbesar pada perlakuan X_2 dengan tingkat penurunan sebesar 46,1%. Mekanisme yang berkaitan dengan

Tabel 5. Rerata aktivitas antioksidan SOD serum tikus dan perubahannya antara sebelum dan sesudah perlakuan

Kelompok tikus	Rerata aktivitas antioksidan SOD (%)		
	Pre test ^{a)}	Post test ^{**)}	Delta
C-	$93,9 \pm 2,0$	$94,8 \pm 3,0$	$0,1 \pm 2,3^b$
C+	$89,3 \pm 5,5^a$	$82,3 \pm 2,7^b$	$-7,1 \pm 7,3^a$
X_1	$90,8 \pm 4,7^a$	$97,8 \pm 0,9^b$	$6,9 \pm 4,2^c$
X_2	$85,5 \pm 6,8^a$	$96,4 \pm 1,8^b$	$10,9 \pm 5,5^c$
X_3	$88,1 \pm 3,7^a$	$95,5 \pm 4,6^b$	$7,4 \pm 2,5^c$

Keterangan:

- a) *Pre test* adalah kondisi awal hiperglikemi setelah tikus mendapatkan induksi streptozotocin
- b) *Post test* adalah kondisi akhir penelitian setelah tikus mendapatkan pakan perlakuan selama 30 hari (dari kondisi awal hiperglikemi)
- *) Untuk masing-masing kelompok tikus (baris) *superscript* huruf kecil yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata antara sebelum (*pre test*) dan sesudah perlakuan (*post test*), berdasarkan uji *Paired T test* ($p < 0,05$)
- *) *Superscript* huruf besar pada kolom *post test* menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan berdasarkan Uji Wilayah Ganda *Duncan* ($p < 0,05$)
- c) Kelompok C- (kontrol negatif/normal); Kelompok C+ (Kontrol positif/ induksi STZ dan pakan standar); Kelompok X_1 (induksi STZ dan TK 10%); Kelompok X_2 (induksi STZ dan tk 20%); Kelompok X_3 (induksi STZ dan pakan TK 30%)

hal tersebut karena antioksidan dapat meningkatkan massa sel beta sehingga dapat menyimpan insulin lebih banyak untuk selanjutnya disekresikan yang berdampak pada penurunan kadar glukosa darah (Kaneto dkk., 1999).

KESIMPULAN

Tempe koro bengkuk memiliki kandungan gizi yang baik dan seimbang dengan kadar protein dan karbohidrat yang tinggi dan kadar lemak yang rendah. Aktivitas antioksidan pada tempe koro bengkuk lebih tinggi dibandingkan biji koro bengkuk. Pada tikus yang mendapat asupan tempe koro bengkuk (X₁-TK10%), (X₂-TK20%), (X₅-TK30%) mengalami penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan aktivitas antioksidan SOD serum secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol positif (C+).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas dana Hibah Doktor yang diberikan oleh Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi (DP2M Ditjen Dikti) Kementerian Pendidikan Nasional Tahun Anggaran 2011 melalui DIPA Undip Nomor: 0596/023-04-2-16/13/2011, sehingga penelitian dapat dilaksanakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agbafor, K.N. dan Nwachukwu N. (2011). Phytochemical Analysis and Antioxidant Property of Leaf Extracts of *Vitexdoniana* and *Mucuna pruriens*. *Biochemistry Research International*. Volume 2011, Article ID 459839, 4 pages doi:10.1155/2011/459839
- Anonim (2007). Glucocard test strip II. Arkray Factory, Inc. Japan.
- Anonim (2008). American Diabetes Association, Diabetes Care, Volume 31, Supplement 1.
- Anonim (2009). *BioVision, Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit (Catalog K335-100)*. Linda Vista Avenue, Montain View. CA 94043 USA.
- Astuti, M., Meliala, A., Dalais, F.S. dan Wahlqvist, M.L. (2000). Tempe, a nutritious and healthy food from Indonesia. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 9(4): 322-325.
- Bors, W.C., Michel, K. dan Stettmaier. (2001). *Flavonoids and Other Polyphenols*. Packer, L. Ed. Academic Press. San Diego.
- Brownlee, M. (2005). Banting lecture: the pathobiology of diabetic complications a unifying mechanism *Diabetes* 54: 1615-1625.
- Brownlee, M. (2003). A radical explanation for glucose-induced beta cell dysfunction. *The Journal of Clinical Investigations* 112: 1788-1790.
- Donati, D., lampariella, L.R., Pagani, R., Guerranti, R., Cinci, G. dan Marinello, E. (2005). Antidiabetic oligocyclitols in seeds of *Mucuna pruriens*. *Phytotherapy Research*. 19(12): 1057-1060.
- Handajani, S. (2001). Indogenous mucuna tempe as functional food. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 10(3): 222-225.
- Jha (1997). *Antioxidative Constituents of Tempe*. Tempe Foundation, Jakarta.
- Kaneto, H., Kajimoto, Y., Migawa, J., Matsuoka, T., Fujitani, Y., Umayahara, Y., Hanafusa, T., Matsuzawa, Y., Yamasaki, Y. dan Hori, M. (1999). Beneficial effects of antioxidants in diabetes: possible protection of pancreatic beta cells against glucose toxicity. *Diabetes* 48: 2398-2406.
- Kaneto, H., Katakami, N., Madsuhisa, M. dan Madsuoka, T. (2010). Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. Review Article. Hindawi Publishing Cororation Mediators of inflammation. Volume 2010, Article ID 453892, 11 pages doi:10.1155/2010/453892.
- Kasmidjo (1994.) *Tempe, Mikrobiologi dan Biokimia Pengolahan serta Pemanfaatannya*, hal 45-56. PAU Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51: 216-226.
- Miller, A.L. (2002). Antioxidant Flavonoid Structure Function and Clinical Usage. [http:// www.Thorne.Com/altmedrev/fulltext/flavonoids-1-2.html](http://www.Thorne.Com/altmedrev/fulltext/flavonoids-1-2.html). [18 Maret 2011].
- Percival, M. (1998). Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*: 1-4.
- Poitout, V. dan Robertson, R.P. (2008). Glucotoxicity: fuel excess and beta cell dysfunction. *Endocrine Reviews* 29(3): 351-366.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. dan Gordon, M. (2001). *Antioxidants in Food*. hal 71-84. CRC Press. Washington, DC.
- Purwoko, T. (2004). Kandungan Isoflavon Aglikon pada Tempe Hasil Fermentasi *Rhizopus* mikroskopus var.

- oligosporus: pengaruh perendaman. *Biosmart* **6**(2). Oktober 2004, Universitas Negeri Sebelas Maret, Surakarta.
- Rajeshwar, Y., Kumar, G.P.S., Gupta, M.U.K. dan Mazumber (2005). Studies on in vitro antioxidant activities of methanol extract of *Mucuna pruriens* (Fabaceae) Seeds. *European Bulletin of Drug Research* **13**(1): 31-39.
- Reeves, P.G., Nielsen, F.H. dan Fahey, G.C. (1993). AIN-93 purified diets for laboratory Rodents: final report of the American Institute of Nutrition. d. Hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *The Journal of Nutrition* **123**: 1939-1951.
- Shahidi, F. (1999). *Natural Antioxidants. Chemistry, Health Effect, and Applications*, hal 235-73. AOCS Press. Champaign, Illinois.
- Srinivasan, K. dan Ramarao, P. (2007). Animals models in type 2 diabetes research: an overview. *Indian Journal of Medical Research* **125**: 451-472.
- Szaleczky, E., Perchl, Y., Feher, J. dan Somogyi, A. (1999). Alterations in enzymatic antioxidant defence in diabetes mellitus-a rational approach. *Postgraduate Medical Journal* **75**: 13-17.
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research* **50**: 536-546.
- Weiss, N. dan Hassett, M. (1982). *Introductory Statistic*, hal. 406-31. Addison-Wesley Publishing Company.