

Efek Protektif Propolis Dalam Mencegah Stres Oksidatif Akibat Aktifitas Fisik Berat (*Swimming Stress*)

'Propolis' Protective Effect to Prevent Oxidative Stress Caused by Strenuous Physical Activity (Swimming Stress)

Hairrudin & Dina Helianti
Fakultas Kedokteran Universitas Jember

ABSTRACT

Strenuous physical activity may give not only a positive impact but also the negative one. One of the factors that produce negative impact is the increasing formation of oxidant that may cause tissues' damages. In this kind of circumstances, the oxidant could make damages to the various components in the body, it calls oxidative stress. The effect of the oxidant to the unsaturated fatty acid cause a chain reaction that will break the fatty acid to become different kinds of substances, such as malondialdehid (MDA). The MDA produced then released into the circulatory system, made the serum level of MDA increasing. The influence of propolis as antioxidant may be prevent this problem. This study is a laboratory experiment using posttest-only control group design. The samples of the experiment are 3-month male white rat with average weight between 180-220 grams. These samples are divided to three groups: (1) control group (2) exposure group that have to do strenuous activity (30 days swimming stress) and (3) exposure group that have to do strenuous activity (30 days swimming stress) and given propolis, each group consists of eight rats. The result of the study showed a higher average serum MDA level in exposure group (89.63 nmol/mL) than the control group (42.38 nmol/ml) significantly ($p = 0.000$). The influence of propolis could prevent oxidative stress which was indicated by lower average serum MDA level (32.35 nmol/ml) significantly ($p = 0.000$).

Keywords: Propolis, oxidative stress strenuous physical activity

PENDAHULUAN

Aktifitas fisik berat dilakukan dengan tujuan diantaranya untuk meningkatkan kesejahteraan, kesehatan, dan martabat hidup manusia. Contoh aktifitas fisik berat misalnya olahraga anaerobik seperti renang dan lari jarak pendek. Pada keadaan tertentu, aktifitas fisik berat dapat memberikan pengaruh negatif yaitu menghambat atau mengganggu proses fisiologis di dalam tubuh (Chevion *et al.* 2003). Salah satu faktor yang mengakibatkan dampak negatif adalah terjadinya peningkatan pembentukan oksidan. Oksidan mempunyai peran yang penting pada patogenesis dan perjalanan berbagai penyakit misalnya stroke dan jantung koroner (Ramzi *et al.* 2004).

Jumlah penderita stroke dan jantung koroner terus meningkat dari tahun ke tahun. Berdasarkan laporan dari WHO, pada tahun 2003 terdapat sekitar 16 juta orang yang meninggal karena penyakit tersebut. Menurut survei tahun 2004, stroke menjadi penyebab kematian nomor satu di rumah sakit pemerintah di Indonesia. Diperkirakan terdapat sekitar 500.000 penduduk yang terkena stroke. Jumlah

ini tentu akan semakin besar jika ditambah dengan penyakit jantung koroner, yang jumlahnya mencapai 0,3%. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada tahun 2007, stroke menjadi penyebab kematian tertinggi terutama di wilayah perkotaan (WHO 2006, YASI 2009).

Aktivitas fisik berat berperan terhadap terjadinya penyakit-penyakit tersebut melalui peningkatan oksidan endogen. Oksidan endogen sebagian besar justru berasal dari proses biologis alami yang melibatkan reactive oxygen species (ROS). ROS merupakan senyawa-senyawa reaktif yang berasal dari oksigen, senyawa yang diperlukan oleh semua organisme aerobik termasuk manusia (Suryohudoyo 2005). Jumlah ROS dapat meningkat pada kondisi stres fisik, yang dapat disebabkan oleh aktivitas fisik berat (Hairrudin 2005).

Peningkatan oksidan di dalam tubuh yang melebihi kemampuan tubuh untuk menetralsirkannya, dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Pada kondisi ini, oksidan dapat menyerang berbagai komponen tubuh dengan segala akibatnya. Sebagai contoh misalnya

serangan oksidan terhadap asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel. Serangan tersebut dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan peroksidasi lipid. Proses tersebut mengakibatkan terputusnya asam lemak menjadi berbagai senyawa yang toksik terhadap sel, seperti malondialdehid (MDA) dan 9-hidroksi nonenal. MDA yang dihasilkan kemudian dilepaskan ke darah, sehingga kadar MDA di darah (serum) dapat dijadikan sebagai petanda tidak langsung adanya peningkatan ROS (Harjanto 2004). Kenyataan ini menunjukkan bahwa aktifitas fisik berat dapat menimbulkan efek samping yang berbahaya bagi kesehatan, melalui peningkatan oksidan, jika sistem pertahanan antioksidan tubuh tidak mampu menetralsirnya, akan menimbulkan suatu keadaan yang disebut stres oksidatif. Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa aktifitas fisik berat berupa swimming stress dapat menyebabkan stres oksidatif (Hairrudin 2005). Stres oksidatif diyakini sebagai salah satu faktor yang penting pada timbulnya berbagai macam penyakit, pada kondisi seperti ini dibutuhkan tambahan antioksidan dari luar (Suryohudoyo 2005).

Salah satu bahan yang mempunyai kandungan antioksidan tinggi adalah propolis. Propolis terdiri dari beberapa senyawa alami kompleks, yang sebagian besar mempunyai potensi sebagai antioksidan kuat, antara lain: terpenoid, flavonoid, dan ester asam fenolat. Propolis juga diketahui mempunyai kandungan fenol yang tinggi. Fenol adalah suatu senyawa yang memiliki gugus hidroksil (OH-) yang mempunyai efek sebagai antioksidan karena mampu mengikat dan menetralsir radikal bebas. Fenol merupakan antioksidan yang lebih potensial dibanding vitamin C, E, dan beta-caroten (Halliwell & Gutteridge 1999). Kandungan antioksidan dari propolis diduga dapat mencegah terjadinya stres oksidatif, sehingga dapat digunakan untuk mencegah timbulnya beberapa penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan apakah propolis dapat mencegah stres oksidatif akibat aktivitas fisik berat.

METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan model rancangannya posttest-only control group design. Sampel penelitian menggunakan tikus putih jantan yang bermur 3 bulan dengan berat 200-250 gram.

Jumlah sampel 24 ekor, dibagi mejadi 3 kelompok, masing-masing berjumlah 8 ekor. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah stratified random sampling, dilakukan berdasarkan variasi berat badan tikus (Zainuddin 2000).

Pelaksanaan penelitian

Seluruh hewan coba yang berumur 1 bulan ditempatkan pada kandang dan dipelihara selama 2 bulan. Kemudian di kelompokkan secara acak pada kandang yang ada. Sebelum perlakuan, tikus ditimbang untuk menentukan beban yang diberikan. Sebanyak 24 ekor tikus dipilih secara acak dan dibagi menjadi 3 kelompok (masing-masing terdiri dari 8 ekor tikus), yaitu: (1) Kelompok K, sebagai kontrol; (2) kelompok P1 yang diberikan stresor dan (3) kelompok P2 yang diberikan stresor dan propolis. Bentuk perlakuan pada tikus putih dalam penelitian ini berupa stresor fisik dalam bentuk renang (swimming stress). Pemilihan tersebut didasarkan atas pertimbangan pemantauan intensitasnya lebih mudah, sederhana dan praktis (Harjanto 2004). Renang dilakukan setiap pagi dengan frekuensi satu kali sehari selama 30 hari, menggunakan beban dari logam seberat 6% berat badan, yang diikatkan pada ekor tikus. Lama berenang ditentukan berdasarkan kemampuan maksimal sampai tikus tidak mampu berenang atau hampir tenggelam. Pada kelompok P2 sebelum dilakukan perlakuan diberikan propolis 25 mg/ekor per sonde.

Setelah 30 hari, masing-masing sampel diambil darahnya intra cardial, melalui ventrikel kiri, kemudian dilakukan pengukuran kadar MDA serum. Kadar MDA serum ditentukan dengan metode Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) dari Flower yang dimodifikasi oleh Rukmini dengan satuan nmol/ml. Prinsip metode ini adalah mereaksikan MDA dengan TBA pada suasana asam (pH 2-3) dan temperatur 97-100°C. Reaksi ini menghasilkan senyawa yang berwarna pink. Perubahan warna yang terjadi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 531,6 nm (Rukmini *et al.* 2004). Data yang didapatkan selanjutnya akan diuji dengan uji ANOVA, dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari pengukuran kadar MDA serum yang dilakukan, didapatkan data seperti pada Tabel 1. Pada Tabel tersebut dapat dilihat bahwa rata-rata kadar MDA serum pada kelompok kontrol (K) = 42,38 nmol/ml, sedangkan pada kelompok yang diberi perlakuan (P1) = 89,63 nmol/l. Dari data tersebut dapat kita ketahui bahwa rata-rata kadar MDA serum kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa

swimming stress yang diberikan pada kelompok P1, menyebabkan stres oksidatif yang ditandai dengan peningkatan kadar MDA serum secara bermakna ($p=0,00$).

Fakta tersebut menunjukkan bahwa aktivitas fisik berat yang diberikan pada P1 menimbulkan kondisi stres oksidatif. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Chevion *et al.* (2003). Keadaan ini terjadi karena aktivitas fisik berat menyebabkan peningkatan metabolisme dan konsumsi oksigen yang dapat meningkatkan produksi ROS.

Peningkatan metabolisme dan konsumsi oksigen diperlukan untuk memenuhi kebutuhan energi yang meningkat selama aktivitas fisik berat. Sebagian dari oksigen yang dikonsumsi akan dirubah menjadi ROS, sehingga peningkatan konsumsi oksigen akan mengakibatkan produksi ROS meningkat (Harjanto 2004).

Kebutuhan energi yang meningkat tajam selama aktivitas fisik berat, memacu metabolisme penyediaan energi dalam tubuh. Salah satu alur metabolisme yang penting di sini adalah rantai respirasi. Rantai respirasi terjadi di dalam mitokondria dengan tujuan utama memproduksi energi. Produksi energi tersebut terjadi dengan cara memanfaatkan ekuivalen pereduksi NADH dan FADH₂ yang dihasilkan melalui glikolisis, oksidasi piruvat, oksidasi asam lemak dan siklus Krebs. Ekuivalen pereduksi tersebut dialirkan melalui seri katalisator dengan gugus terminalnya adalah enzim sitokrom oksidase. Pada gugus terminal inilah oksigen dibutuhkan untuk menangkap ekuivalen pereduksi yang dialirkan (oksigen mengalami reduksi). Reduksi tetravalen dari oksigen akan menghasilkan air. Pada kondisi normal, sekitar 3-5% reduksi tersebut mengalami kegagalan. Kegagalan reduksi tetravalen inilah yang menghasilkan ROS.

Makin banyak energi yang diproduksi melalui rantai respirasi, makin banyak pula ROS yang terbentuk (Halliwell & Gutteridge 1999, Murray *et al.* 2003).

Pada aktivitas fisik berat peningkatan oksigen yang terjadi sebenarnya belum mencukupi kebutuhan tubuh, sehingga terjadi hipoksemia. Pada kondisi hipoksemia santin dehidrogenase (XD) berubah menjadi santin oksidase (XO), perubahan ini memproduksi ROS, yaitu $\bullet O_2^-$. Sesaat setelah aktifitas fisik berat, konsumsi oksigen tetap tinggi, diantaranya digunakan untuk mengatasi hipoksemia. Suplai oksigen yang mencukupi tersebut memungkinkan XO yang terbentuk selama melakukan aktifitas fisik berat, mengkatalisis perubahan hipoksantin menjadi asam urat. Reaksi tersebut juga menghasilkan $\bullet O_2^-$ (Suryohudoyo 2005). Pada aktivitas fisik berat, sumber energi yang penting lainnya adalah glikolisis anaerobik, terutama saat terjadi hipoksemia. Glikolisis anaerobik menghasilkan asam laktat. Makin tinggi intensitas latihan makin tinggi pula asam laktat yang dihasilkan, sehingga menyebabkan akumulasi asam laktat. Asam laktat dapat menubah ROS menjadi lebih reaktif (Hairrudin 2005).

Makin tinggi produksi ROS, makin banyak pula yang gagal dinetralisir oleh sistem antioksidan dalam tubuh, bahkan ROS dapat menyerang sistem antioksidan enzimatik misalnya superoksida dismutase (SOD). Aktifitas fisik berat dapat menurunkan kadar SOD. ROS yang tidak dinetralisir akan bereaksi dengan komponen-komponen tubuh diantaranya PUFA, menyebabkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menghasilkan berbagai produk, diantaranya MDA, sehingga peningkatan produksi ROS pada aktivitas fisik berat, akan mengakibatkan produksi MDA juga meningkat.

Tabel 1. Kadar MDA serum (nmol/ml).

No	K	P1	P2
1	33	86	42
2	44	102	36
3	51	85	22
4	56	97	23
5	41	73	22
6	32	87	34
7	43	105	44
8	39	82	35
Rata-rata	42,38	89,63	32,25

MDA yang dihasilkan tersebut akan dilepaskan ke serum, akibatnya kadar MDA serum akan meningkat. Kondisi seperti ini disebut stres oksidatif. (Yunus 2001, Suryohudoyo 2005).

Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Harjanto (2003) yang menyatakan bahwa aktifitas fisik berupa latihan olahraga aerobik dapat menyebabkan stres oksidatif. Yunus (2001) mendapatkan bahwa latihan anaerobik berupa swimming stress menyebabkan stres oksidatif yang ditandai dengan peningkatan kadar MDA.

Stres oksidatif banyak terbukti mempunyai peran penting pada proses terbentuknya beberapa penyakit, seperti stroke dan jantung koroner. Mekanisme yang terjadi dapat melalui serangan oksidan terhadap low density lipoprotein (LDL) yang memicu timbulnya aterosklerosis.

Superoksida ($\bullet\text{O}_2^-$) yang terbentuk selama aktifitas fisik berat bersifat reaktif dan berbahaya bagi tubuh. Enzim SOD dapat menetralsirnya dengan cara merubah dua molekul $\bullet\text{O}_2^-$ menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan O_2 . Peningkatan $\bullet\text{O}_2^-$ yang terus berlangsung mengakibatkan hidrogen peroksida meningkat, kondisi ini mengakibatkan aktifitas SOD terganggu, bahkan kadarnya dapat menurun, sehingga menimbulkan ketidak seimbangan antara oksidan dan antioksidan endogen. Keseimbangan yang baru dapat terjadi jika tubuh mendapatkan tambahan antioksidan dari luar (Hairrudin 2005).

Pemberian propolis sebagai antioksidan eksogen sebelum aktifitas fisik berat pada P2, terbukti dapat mencegah terjadinya peningkatan ROS. Hal ini disebabkan karena ROS yang tidak dapat dinetralsir oleh antioksidan endogen, akan dinetralsir oleh berbagai antioksidan yang dikandung propolis. Flavonoid dan terfenoid pada propolis dapat memberikan elektron pada $\bullet\text{O}_2^-$ dan mengubahnya menjadi O_2 .

Pemberian propolis dapat mencegah terjadinya penumpukan $\bullet\text{O}_2^-$, sehingga aktifitas SOD dapat dipertahankan. Hasil akhirnya, keseimbangan antara oksidan dan antioksidan dapat terjaga, dengan kata lain stres oksidatif dapat dihindari. Dampak negatif ROS terhadap tubuh terjadi melalui reaksi rantai (chain reaction). Reaksi rantai tersebut dapat dihentikan oleh antioksidan pemutus rantai, seperti vitamin C dan vitamin E (Suryohudoyo 2005).

Propolis mengandung fenol yang mempunyai daya antioksidan lebih poten dari vitamin C dan vitamin E, sehingga dapat meredam rekasi rantai yang ditimbulkan ROS dengan baik, sebagai akibatnya produksi MDA terhambat. Hal ini dibuktikan dengan kadar MDA pada P2 yang lebih rendah dari P1.

Propolis mengandung beragam antioksidan kuat terutama terpenoid, flavonoid dan fenol. Antioksidan-antioksidan tersebut bekerjasama dalam mencegah stres oksidatif dan menetralsir dampak negatif radikal bebas, sehingga menimbulkan dampak protektif yang optimal. Beberapa antioksidan yang bekerjasama, membentuk suatu jaringan kerja (network) akan menghasilkan daya protektif yang kuat (Halliwell & Gutteridge 1999, Harjanto 2003). Penelitian ini memberikan fakta bahwa propolis mempunyai efek protektif yang baik dalam mencegah terjadinya stres oksidatif pada tikus yang diberi perlakuan aktifitas fisik berat secara bermakna ($p=0.00$).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, analisis statistik dan pembahasan dapat diambil kesimpulan yaitu propolis mempunyai efek protektif terhadap stres oksidatif akibat aktifitas fisik berat (swimming stress). Aktifitas fisik berat sering menjadi kegiatan rutin pada kelompok masyarakat tertentu, seperti buruh bangunan, petani, nelayan, pekerja kasar, atlet dan tentara. Mereka dapat mengalami stres oksidatif berulang dan terancam menderita berbagai macam penyakit yang diakibatkannya.

Propolis mempunyai efek protektif yang baik dalam mencegah stres oksidatif akibat aktifitas fisik berat. Propolis berpeluang untuk dijadikan bahan obat untuk mencegah terjadinya penyakit akibat aktifitas fisik berat, oleh karena itu diperlukan penelitian atau uji klinik lebih lanjut, misalnya penelitian yang menguji keamanan dan efek samping penggunaan propolis serta penelitian yang menggunakan sampel kelompok masyarakat yang tersebut di atas.

Ucapan terima kasih

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan dilakukan bersama penelitian sejenis yang mendapat bantuan dana dari DIPA 2008.

DAFTAR PUSTAKA

- Chevion S, Moran DS & Heled Y. 2003. Serum antioxidant stress and cell injury after severe physical exercise. *Proceedings of The United State of America*. 100 (9) : 5119-5123.
- Hairrudin. 2005. Pengaruh pemberian ekstrak jinten hitam dalam mencegah stres oksidatif akibat latihan olahraga anaerobik. *Jurnal Biomedis III* (1) : 1-11.
- Halliwell B & Gutteridge JMC. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. New York: Oxford University Press:291-296, 300-304, 625-638.
- Harjanto, 2003. *Petanda biologis dan faktor yang mempengaruhi derajat stres oksidatif pada latihan olahraga aerobik sesaat*. Disertasi. Surabaya. Program Pascasarjana. Universitas Airlangga.
- Harjanto, 2004. Pemulihan stres oksidatif pada latihan olahraga. *Jurnal Kedokteran YARSI* 12 (3) : 81-87.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA & Rodwell VW. 2003. *Biokimia Harper*. Ed 25. Jakarta. EGC: 178-205, 729-732.
- Ramzi S Cotran, Vinay Kumar & Tucker Collin. 2004. *Blood Vessels. In Pathologic Basis of Disease*. 6th ed. Philadelphia: WB. Saunders Company: 493-510.
- Rukmini MS, Benedicta D'Sauza & Vivian D'sauza. 2004. Superoxide dismutase and catalase activities and their correlation with malondialdehyde in schizophrenic patients. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 19(2):114-116.
- Suryohudoyo P. 2005. *Oxidant and anti oxidant defense in health and disease. Post graduate Program Airlangga University in Collaboration with Institute of Biochemistry*. Hombolt University Berlin Germany. Surabaya: 1-17.
- World Health Organization (WHO). 2006. *Cardiovaskular Diseases*. http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/ [12 April 2009].
- Yayasan Stroke Indonesia. 2009. *Gejala, Penyebab dan Akibat Stroke* [serial online]. <http://cegahstroke.blogspot.com/2009/03/gejala-penyebab-dan-akibat-stroke.html>. [17 April 2009].
- Yunus M. 2001. Pengaruh vitamin C terhadap fragilitas & MDA eritrosit akibat latihan anaerobik. Tesis. Surabaya : Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.
- Zainuddin A. 2000. *Metode Penelitian*. Program Pasca Sarjana Unair. Surabaya: 73-74.