

**PENINGKATAN AKTIVITAS SOD DAN PENURUNAN KADAR MDA DARI EKSTRAK ETANOL DAUN LOBAK (*Raphanus sativus* L) PADA MENCIT**

**THE EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF RADISH (*Raphanus sativus* L.) IN INCREASING SOD ANTIOXIDANT ACTIVITY AND DECREASING MDA LEVELS IN MICE**

**Sondang Khairani\*, Ni Made Dwi Sandhiutami, Ika Permata Sari**

Farmakologi, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta Selatan

**Submitted:** 30 November 2022    **Reviewed:** 13 Desember 2022    **Accepted:** 15 Februari 2023

**ABSTRACT**

Flavonoids present in radish leaves (*Raphanus sativus* L.) have antioxidant activities. This study aimed to examine the antioxidant effect of 70% ethanol extract radish leaves based on the parameters of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) activity. Research using mice was divided into 6 groups: normal control (I), negative control (II), positive control group (III) (vitamin C 2.6 mg/20 gBW), and 3 groups (IV, V, VI) with 70% ethanol extract of radish leaf (5,6;11.2;22.4 mg/20 gBW). The measurement of MDA levels was carried out by the Wills method and the measurement of SOD activity was carried by the Adrenochrome Assay method and analysis using the ANOVA test. The results of the measurement of MDA levels in the normal group, negative control group, positive control group, dose group 5.6 mg/20 gBW; 11.2 mg/20 gBW; 22.4 mg/20 gBW respectively are 2.1617 nmol/mL; 5.3075 nmol/mL; 2.3331 nmol/mL; 4.5583 nmol/mL; 3.5957 nmol/mL; 2.6702 nmol/mL while the results of the measurement of the liver SOD activity of mice is 124.2383 U/mL; 65.64 U/mL; 176.7583 U/mL; 106.045 U/mL; 134.34 U/mL; 153.53 U/mL. This study found a significant difference in increasing SOD activity and decreasing MDA levels between groups III and IV, V, and VI ( $p < 0.05$ ), which has the same antioxidant capacity as vitamin C.

**Keywords:** antioxidant, radish leaf (*Raphanus sativus* L.), MDA, SOD, oxidative stress

**ABSTRAK**

Daun lobak (*Raphanus sativus* L.) mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek antioksidan ekstrak etanol 70% daun lobak (*Raphanus sativus* L.) berdasarkan parameter kadar malondialdehid (MDA) dan aktivitas superoksida dismutase (SOD). Penelitian menggunakan mencit dibagi menjadi 6 kelompok yaitu: kelompok kontrol normal (I), kelompok kontrol negatif (II), kelompok kontrol positif (III) (vitamin C 2,6 mg/20 gBB), dan 3 kelompok (IV,V,VI) dosis ekstrak etanol 70% daun lobak (*Raphanus sativus* L.) (5,6; 11,2; 22,4 mg/20 gBB). Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan metode Wills dan pengukuran aktivitas SOD dilakukan dengan metode Adrenochrome Assay dan Analisa menggunakan uji ANOVA. Hasil pengukuran kadar MDA pada kelompok normal, kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok dosis 5,6 mg/20 gBB; 11,2 mg/20 gBB; 22,4 mg/20 gBB secara berturut-turut adalah 2,1617 nmol/mL; 5,3075 nmol/mL; 2,3331 nmol/mL; 4,5583 nmol/mL; 3,5957 nmol/mL; 2,6702 nmol/mL sedangkan untuk hasil pengukuran aktivitas SOD hati mencit adalah 124,2383 U/mL; 65,64 U/mL; 176,7583 U/mL; 106,045 U/mL; 134,34 U/mL; 153,53 U/mL. Kesimpulan penelitian ini adalah terdapat perbedaan bermakna antara kelompok III dengan kelompok IV,V,VI dalam peningkatan aktivitas SOD dan penurunan kadar MDA ( $p < 0,05$ ) yaitu memiliki potensi antioksidan yang sama seperti vitamin C.

**Kata Kunci:** antioksidan, daun lobak (*Raphanus sativus* L.), MDA, SOD, stress oksidatif

Alamat korespondensi :

[sondang.khairani@univpancasila.ac.id](mailto:sondang.khairani@univpancasila.ac.id)

## PENDAHULUAN

Dewasa ini banyak sekali penyebab menurunnya kualitas kesehatan pada manusia. Salah satu faktor yang menyebabkan menurunnya kualitas kesehatan pada manusia yaitu radikal bebas. Radikal bebas merupakan suatu molekul yang relatif tidak stabil karena kekurangan elektron dan akan mengoksidasi sel lain di dalam tubuh. Proses oksidasi ini dapat menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif adalah keadaan dimana terjadinya jumlah radikal bebas yang ada di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk dapat menetralkannya (Lanny, 2012). Jumlah radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh dapat menimbulkan berbagai macam penyakit. Penyakit yang disebabkan oleh stres oksidatif adalah *aging*, kanker, serangan jantung dan *stroke* (Yulianti, 2017). Sinar UV, polusi dan makanan yang memiliki kadar lemak dan kolesterol yang tinggi serta aktivitas yang berlebih merupakan pemicu terbentuknya senyawa radikal bebas menjadi meningkat (Lanny, 2012).

Meningkatnya jumlah radikal bebas di dalam tubuh dapat terjadi pada pemberian aktivitas fisik yang berlebih. Pemberian aktivitas fisik berlebih seperti perenangan dapat meningkatkan jumlah radikal bebas pada mencit. Pada mencit perenangan merupakan suatu perlakuan stres oksidatif karena mencit bukan hewan air, sehingga mencit mengkonsumsi jumlah oksigen lebih banyak. Peningkatan konsumsi oksigen pada mencit dapat menimbulkan terbentuknya senyawa radikal bebas yang berakibat terjadinya stres oksidatif (Mariyati, 2014). Selain perenangan pemberian paparan stres oksidatif berupa heat stress dan paparan asap rokok (Tarigan et al., 2017). Dampak buruk dari terjadinya stres oksidatif di dalam tubuh adalah dapat menyebabkan terjadinya serangan oksidan terhadap asam lemak tidak jenuh sehingga menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan peroksida lipid (Lu et al., 2010). Produk hasil dari peroksida lipid di dalam tubuh dalam bentuk bebas disebut malondialdehid (MDA) (Kurnia et al., 2011). Selama 65 menit pada perlakuan mencit diberikan aktivitas berenang menyebabkan peningkatan jumlah konsumsi oksigen sehingga kadar MDA plasma mengalami peningkatan dibandingkan dengan mencit dalam keadaan tanpa perlakuan (Sandhiutami et al., 2017). Sebab itu, pendekatan yang paling umum digunakan untuk mengukur produk akhir yang menyertai peroksida lipid adalah pengukuran malondialdehid (MDA).

Kondisi normal tubuh memiliki antioksidan endogen berupa enzim superoksida dismutase (SOD), katalase (Cat), dan glutathion peroksidase (GPx). Namun, jika jumlah radikal

bebas yang masuk kedalam tubuh berlebih seperti aktivitas fisik yang berat maka perlu bantuan antioksidan eksogen yang berfungsi untuk menetralkan radikal bebas yang masuk kedalam tubuh. Aktivitas fisik yang berat dapat meningkatkan senyawa oksigen reaktif (ROS) karena tubuh mengalami peningkatan metabolisme di berbagai organ (Yunarsa & Adiatmika, 2018). Enzim SOD merupakan pertahanan pertama terhadap aktivasi senyawa oksigen reaktif (ROS). Salah satu usaha untuk menurunkan kadar radikal bebas di dalam tubuh adalah menggunakan bahan alam yang berkhasiat sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang berperan dalam memberikan perlindungan tubuh untuk melawan radikal bebas yang bersifat negatif yang diperoleh dari aktivitas fisik yang berat (Sandhiutami et al., 2012).

Antioksidan berguna untuk mencegah terjadinya penyakit degeneratif dan telah diteliti berguna untuk menurunkan kadar radikal bebas di dalam tubuh adalah senyawa flavonoid. Flavonoid adalah sekelompok substansi alami yang memiliki struktur fenolik yang dapat ditemukan pada buah-buahan, sayuran, biji-bijian, akar, batang dan bunga serta memiliki beberapa fungsi sebagai antioksidan, menurunkan tekanan darah dan menurunkan kadar glukosa darah (Silalahi et al., 2022).

Secara umum, tanaman lobak (*Raphanus sativus* L.) lebih banyak digunakan adalah umbinya, karena didalam umbi lobak mengandung senyawa raphanin yang mempunyai efek sebagai antibakteri dan antioksidan (Rakhmawati et al., 2009). Daun lobak biasanya dibuang atau digunakan sebagai pakan ternak. Berdasarkan literatur daun lobak memiliki kandungan flavonoid sebagai antioksidan (Kim et al., 2019). Jumlah total flavonoid dalam daun lobak (*Raphanus sativus* L.) yang sudah dikeringkan sebesar 1,04273% (Goyeneche et al., 2015).

Pelarut yang digunakan adalah etanol karena merupakan pelarut universal yang dapat menarik senyawa-senyawa non polar contohnya flavonoid dan raphanin, kemudian penggunaan pelarut etanol 70% pada proses ekstraksi dari tanaman bertujuan untuk menarik semua komponen kimia yang ada didalam daun lobak (Sandhiutami et al., 2017). Berdasarkan hal tersebut pada penelitian ini ingin dilihat efek antioksidan ekstrak etanol 70% daun lobak (*Raphanus sativus* L.) pada mencit dengan penginduksi stres oksidan yaitu aktivitas berenang. Parameter yang digunakan pada pengujian ini adalah kadar malondialdehid (MDA) dan aktivitas superoksida dismutase (SOD).

## METODE PENELITIAN

### Alat

Pada penelitian ini akan digunakan beberapa alat yaitu kandang mencit dengan tempat makanan dan minuman, timbangan mencit (ohaus®), timbangan analitik (fujitsu®), alat suntik (onemed®), sonde oral (gavage®), tabung *Eppendorf* (onecare®), gelas ukur (pyrex®), mikropipet (watson®), pipa kapiler, alat-alat bedah (onemed®), tabung reaksi (pyrex®), alat sentrifugasi (thermolyne®), spektrofotometer UV-VIS \*shimudzu uv-1800®), lemari pendingin (sharp®).

### Bahan

#### 1. Bahan Uji

a. Daun lobak (*Raphanus sativus* L.) diperoleh dari Balai Penelitian Obat Aromatik (BALITRO) dan dideterminasi di Departemen Biologi Matematika Universitas Indonesia.

b. Vitamin C

#### 2. Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan galur DDDY dengan umur 2-3 bulan dan berat badan 20-35 g sebanyak 36 ekor. Mencit ini diperoleh dari Institut Pertanian Bogor (IPB). Hewan coba dibagi dalam 6 kelompok, dimana pengelompokan hewan uji dilakukan secara acak dengan jumlah minimal masing-masing kelompok mengikuti rumus Federer 1977 (Hanafiah, 1995). Jumlah minimal mencit yang digunakan tiap kelompok adalah 4 ekor.

#### 3. Pereaksi

Etanol 70%, Aquadest, 1,1,3,3-Tetraetoksipapan (MDA Standar). Untuk mengukur MDA: EDTA 10%, Asam Trikloroasetat (TCA) 20%, Asam Tiobarbiturat (TBA) 0,67%. Untuk mengukur SOD: larutan dapar fosfat pH 7, larutan dapar natrium karbonat pH 0,2, larutan epinefrin 0,01 M.

### Metode

#### 1. Pengumpulan dan determinasi tanaman asal

Daun lobak (*Raphanus sativus* L.) diperoleh dari Balai Penelitian Obat Aromatik (BALITRO) dan dideterminasi di Departemen Biologi Matematika Universitas Indonesia.

#### 2. Pembuatan ekstrak

Pembuatan ekstrak etanol 70% daun lobak dilakukan di Balai Penelitian Obat Aromatik (BALITRO) dengan menggunakan metode maserasi kinetik sehingga didapatkan ekstrak kental.

#### 3. Pemeliharaan dan persiapan hewan coba

Hewan coba mencit diadaptasi dalam lingkungan laboratorium selama 1 minggu dengan diberi makan pelet standar dan minum, untuk membiasakan mencit hidup pada lingkungan yang baru.

#### 4. Pembuatan larutan dapar

a. Larutan Dapar Fosfat pH 7

a) Serbuk kalium fosfat sebanyak 6,2 g dilarutkan ke dalam aquades ad 100 mL

b) Serbuk natrium hidroksida (NaOH) sebanyak 8 g dilarutkan dalam aquades ad 100 mL

c) Disiapkan pH meter, kemudian larutan kalium fosfat ditambahkan larutan natrium hidroksida sedikit demi sedikit sampai mencapai pH 7.

b. Larutan Dapar Karbonat pH 10,2

Serbuk Natrium Karbonat disiapkan kemudian dilarutkan dengan sedikit demi sedikit dengan mengukur pH sampai 10,2 dengan menggunakan pH meter.

#### 5. Pelaksanaan percobaan

Kelompok I : kelompok normal yang diberi aquades.

Kelompok II : kontrol negatif yang diberi aquadest dan aktivitas berenang selama 65 menit pada hari ke-7.

Kelompok III : kontrol positif yang diberi vitamin C secara oral dengan dosis 2,6 mg/20 gBB selama 7 hari dan aktivitas berenang selama 65 menit pada hari ke 7.

Kelompok IV : diberi ekstrak etanol 70% daun lobak dosis 5,6 mg/20 gBB secara oral selama 7 hari dan aktivitas berenang selama 65 menit pada hari ke 7.

Kelompok V : diberi ekstrak etanol 70% daun lobak dosis 11,2 mg/20 gBB secara oral selama 7 hari dan aktivitas berenang selama 65 menit pada hari ke 7.

Kelompok VI : diberi ekstrak etanol 70% daun lobak dosis 22,4 mg/20 gBB secara oral selama 7 hari dan aktivitas berenang selama 65 menit pada hari ke 7.

#### 6. Pengambilan Sampel

a. Pengambilan darah mencit

Pengambilan darah dilakukan pada saat setelah perlakuan aktivitas berenang. Darah diambil sebanyak minimal 500  $\mu$ L dari *sinus orbitalis* dan ditempatkan dalam tabung *ependorf* yang telah diberi antikoagulan EDTA 10%, darah yang diperoleh disentrifus dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit.

b. Pemisahan plasma dan sel darah merah

mencit

Lapisan atas (plasma) yang berwarna bening kekuningan diambil untuk pengukuran kadar MDA.

c. Pembuatan kurva baku MDA

Kurva baku MDA untuk menghitung kadar MDA menggunakan tujuh konsentrasi yaitu 0; 0,0005; 0,0010; 0,0020; 0,0040; 0,0080; 1,6 nmol/mL. Larutan standar dengan berbagai konsentrasi dibuat dari larutan stok TEP yang dilarutkan dengan aquades. Setiap larutan ditambahkan 1,0 mL TCA 20% dan 2 mL TBA 0,67%. Larutan dihomogenkan dan dipanaskan di atas tangas air selama 10 menit, kemudian didinginkan. Setelah dingin larutan disentrifus pada 3000 rpm selama 10 menit, kemudian diambil filtratnya. Filtrat yang berwarna merah muda diukur serapan dengan spektrofotometer UV- VIS pada panjang gelombang 532 nm. Digunakan larutan TEP sebagai blanko. Dibuat kurva kalibrasi dengan persamaan kurva baku.

$$y = a + bx \dots\dots\dots(1)$$

d. Pengukuran kadar MDA

a) Prinsip Pengukuran Kadar MDA Malondialdehid merupakan hasil produksi dari proses peroksidasi lipid dari membran sel oleh senyawa oksigen reaktif yang mengakibatkan terputusnya rantai asam lemak dengan menghasilkan malondialdehid dan kerusakan membran sel. Prinsip pengukuran MDA dengan pereaksi TBA, didasarkan pada reaksi antara satu molekul MDA dengan dua molekul TBA pada kondisi asam. Hasilnya adalah senyawa kompleks MDA-TBA yang berwarna merah muda dan dapat diukur pada panjang gelombang 532 nm. Jumlah MDA yang terdeteksi menggambarkan banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi.

b) Metode Pengukuran Kadar MDA

Kadar MDA plasma diukur menurut metode Wills. Sebanyak 200 µL plasma ditambahkan 1,0 mL TCA 20% dan 2 mL TBA 0,67%. Larutan dihomogenkan dan dipanaskan di atas tangas air selama 10 menit, kemudian didinginkan. Setelah dingin larutan disentrifus pada 3000 rpm selama 10 menit, kemudian diambil filtratnya. Filtrat yang berwarna merah muda diukur serapan dengan spektrofotometer UV- VIS pada panjang gelombang 532 nm (Wahdaningsih & Untari, 2016).

e. Pengukuran kadar SOD

a) Prinsip Pengukuran Kadar SOD

Prinsip superoksida dismutase (SOD) adalah mempercepat penghilangan radikal superoksida toksik (O<sub>2</sub><sup>\*</sup>), diproduksi selama proses energi oksidatif menjadi hidrogen peroksida dan oksigen molekuler.

b) Metode Pengukuran Kadar SOD

Kadar SOD diperiksa dari jaringan hati. Mencit dibedah dan diambil hatinya. Hati mencit dihancurkan dengan menggunakan mortar, kemudian diekstraksi dengan dapar fosfat pH 7 dengan perbandingan 1 g : 10 mL di dalam penangas es (dalam keadaan dingin). Hasil ekstraksi dalam keadaan dingin disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Diambil filtrat sebanyak 100 µL ke dalam tabung reaksi lain, ditambahkan 2800 µL dapar natrium karbonat pH 10,2 dan 100 µL larutan epinefrin 0,01 M ke dalam tabung reaksi. Dengan cara yang sama dilakukan juga untuk aquades (blanko). Kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur serapan setelah menit ke 1,2,3 dan 4 pada panjang gelombang 480 nm. Dengan cara yang sama dilakukan juga untuk blanko dengan pembacaan serapan setelah menit ke-1, 2, 3, dan 4 (Lü et al., 2010).

Aktivitas SOD diukur dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas SOD (unit/ml)} = \frac{\% \text{ hambatan}}{50\%} \times 1 \text{ unit}/10\mu\text{L} \times 100\% \dots\dots (2)$$

Dimana,

$$\text{Persentase hambatan} = \frac{A - B}{A} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan:

- A = rata-rata selisih absorban/menit tanpa sampel (Blanko)
- B = rata-rata selisih absorban/menit sampel
- 50% = unit aktivitas SOD didefinisikan sebagai jumlah SOD diperlukan untuk menyebabkan inhibisi 50% dari oksidasi epinefrin (SOD<sub>50</sub>)

f. Analisis Statistik

Data yang diperoleh dari masing-masing kelompok perlakuan diolah dengan analisis statistik menggunakan SPSS (*Statistical Package for the Social Science*). Data diuji normalitas dan homogenitasnya dengan uji Kolmogov-smirnov) dan uji Levene. Jika data terdistribusi normal dan homogen, dilakukan uji statistik analisis varian (ANOVA) satu arah. Apabila hasil menunjukkan perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk melihat adanya perbedaan pada tiap kelompok. Jika data tidak terdistribusi normal dan homogen, dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Determinasi Tanaman dan Skrining Fitokimia

Hasil determinasi tanaman yang dilakukan di Universitas Indonesia Depok nomor 681/UN2.F3.11/PDP.02.00/2020 menunjukkan bahwa bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun lobak (*Raphanus sativus L.*) dari famili Brassicaceae. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 70% daun lobak yang dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor Jawa Barat menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun lobak positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid dan glikosida. Flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan dapat mencegah radikal bebas yang menunjang aktivitas SOD dalam tubuh sebagai upaya menurunkan nilai MDA yang efektif untuk beberapa penyakit degeneratif (Yuliani & Dienina, 2015).

### Pengujian Efek Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Lobak Terhadap Kadar MDA

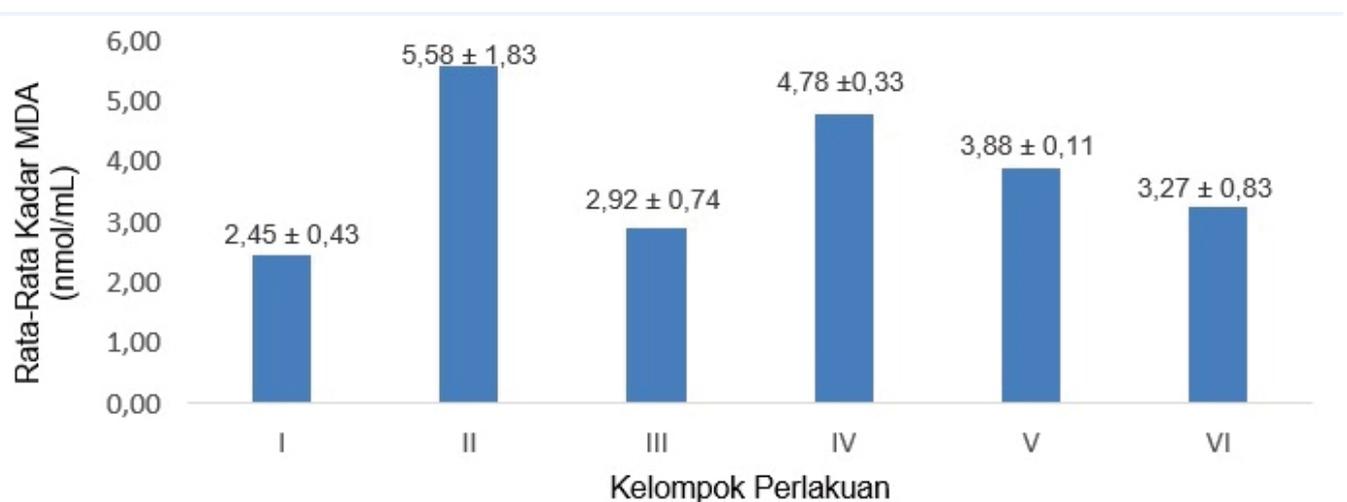
Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan kaji etik di Universitas Indonesia dengan nomor: K E T - 552/UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2021. Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa mencit putih jantan DDY dengan berat badan sekitar 20-30 gram berumur 2-3 bulan. Perlakuan awal dengan melakukan aklimatisasi selama 7 hari dengan pemberian pakan berupa pelet standar dan minum berupa aquades. Selama aklimatisasi hewan coba juga menggunakan kandang yang sama. Hal tersebut juga merupakan salah satu cara untuk meminimalkan variasi biologis saat pengujian. Tujuan dari aklimatisasi pada hewan coba adalah untuk mengamati kelayakan mencit yang akan digunakan selama penelitian serta untuk menghilangkan stress akibat lingkungan

baru. Pengukuran kadar MDA pada masing masing kelompok hewan percobaan dapat dilihat pada Gambar 1.

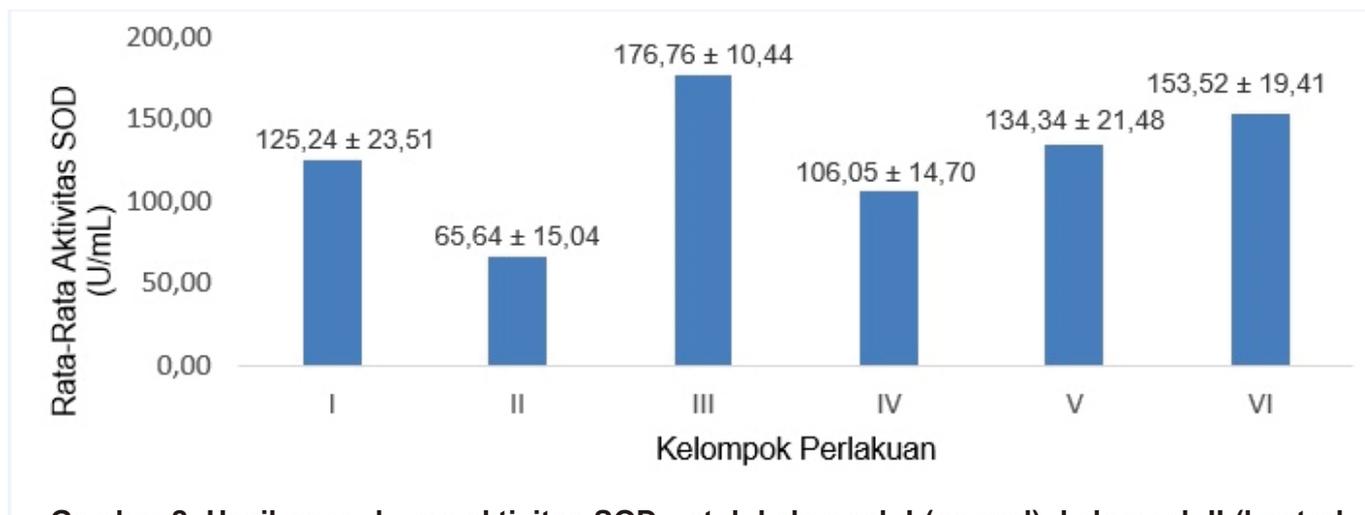
Jika dilihat dari Gambar 1 hasil pengukuran kadar MDA pada kelompok kontrol negatif menunjukkan adanya peningkatan rata-rata kadar MDA. Hal ini disebabkan terjadinya peningkatan aktivitas fisik pada mencit saat diberi perlakuan berupa aktivitas berenang selama 65 menit. Aktivitas fisik yang berat menyebabkan peningkatan kebutuhan oksigen dalam tubuh mencit dan menghasilkan senyawa radikal bebas yang berakibat terjadinya stres oksidatif. Adanya stres oksidatif ini memicu peningkatan proses peroksidasi lipid. Produk hasil peroksidasi lipid dalam tubuh terdapat dalam bentuk bebas atau kompleks dengan jaringan dalam tubuh yang disebut dengan malondialdehid (MDA) (Kurnia et al., 2011).

Aktivitas fisik berat dapat meningkatkan konsumsi oksigen berlebih melalui rantai respirasi yang akibatnya meningkatkan jumlah radikal superoksida yang terbentuk sehingga terjadi peningkatan produksi radikal bebas di dalam tubuh yang memicu stress oksidatif (Sandhiutami et al., 2012). Stres oksidatif adalah kondisi dimana radikal bebas yang diproduksi pada Latihan fisik melebihi kapasitas pertahanan antioksidan (Lanny, 2012).

Hasil pengukuran kadar MDA kelompok kontrol positif menunjukkan hasil penurunan kadar yang rendah dibandingkan kelompok lain. Hal ini menunjukkan bahwa proses peroksidasi lipid dapat dilakukan pencegahan dengan pemberian vitamin C. Vitamin C merupakan antioksidan eksogen (dari luar tubuh) yang dikenal sebagai antioksidan yang baik untuk tubuh. Vitamin C memiliki aktivitas yang tinggi dan terbukti menurunkan kadar MDA dan Meningkatkan SOD. Hal tersebut menandakan bahwa proses



Gambar 1. Hasil pengukuran kadar MDA untuk kelompok I (normal), kelompok II (kontrol negatif), kelompok III (kontrol positif), kelompok IV (dosis 5,6 mg/20 gBB), kelompok V (dosis 11,2 mg/20 gBB), dan kelompok VI (dosis 22,4 mg/20 gBB)



**Gambar 2.** Hasil pengukuran aktivitas SOD untuk kelompok I (normal), kelompok II (kontrol negatif), kelompok III (kontrol positif), kelompok IV (dosis 5,6 mg/20 gBB), kelompok V (dosis 11,2 mg/20 gBB), dan kelompok VI (dosis 22,4 mg/20 gBB)

peroksidasi lipid dapat dicegah dengan pemberian vitamin C. Vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan eksogen dapat mencegah terjadinya peroksida lipid. Hal ini didukung oleh penelitian jika vitamin C efektif mencegah terjadinya peroksida lipid yang disebabkan oleh ROS (Wibawa et al., 2020). Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang bertindak sebagai antioksidan yang dapat mengatasi serta mencegah terjadinya peroksidasi lipid yang disebabkan oleh radikal bebas (Dewi et al., 2018). Dalam beberapa penelitian yang dilakukan telah dibuktikan bahwa pemberian aktivitas fisik berat berupa aktivitas berenang terhadap hewan percobaan dapat meningkatkan produksi radikal bebas yang ditandai dengan meningkatnya kadar MDA (Oktaviani, 2013).

**Pengujian Efek Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Lobak Terhadap Aktivitas SOD**

Parameter lain yang diambil untuk menguji efek antioksidan secara in vivo adalah dengan mengukur aktivitas SOD. SOD adalah salah satu antioksidan enzimatis yang mempunyai fungsi katalitik dalam menetralkan radikal bebas menjadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan O<sub>3</sub> (Wahyuni,

2015). SOD terdapat pada sitoplasma dan mitokondria. Untuk menganalisisnya, enzim ini harus dilepaskan dari sel atau organelnya. Aktivitas suatu enzim ditentukan dengan mengukur jumlah produk yang terbentuk persatuan waktu. Pengukuran dilakukan setiap menit untuk melihat banyaknya enzim yang menghambat xanthine oxidase. Pengukuran tersebut berdasarkan reaksi produk dengan senyawa yang menghasilkan warna (Sandhiutami et al., 2017).

Pada penelitian ini pengukuran aktivitas SOD dilakukan dengan menggunakan sampel organ hati mencit. Pengukuran aktivitas SOD dilakukan dengan metode *adrenochrome assay*. Organ hati diekstraksi menggunakan larutan dapar fosfat di dalam penangas es (dalam keadaan dingin). Hal ini dilakukan karena SOD merupakan suatu enzim yang harus dijaga suhunya agar tidak terjadi kerusakan. Kemudian hasil ekstraksi diambil filtrat sebanyak 100 µL dan ditambahkan natrium karbonat dan larutan epinefrin 0,01 M. Epinefrin dalam suasana basa dapat membentuk *adrenochrome* yang berwarna. Aktivitas SOD diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang

**Tabel 1.** Hasil Uji Statistik rata-rata aktivitas SOD (nmol/mL) antar kelompok

Kelompok	Rata-rata	I	II	III	IV	V	VI
I	125,23						
II	65,64	*					
III	176,75	*	*				
IV	106,04		*	*			
V	134,34		*	*	*		
VI	153,53		*	*	*	*	

gelombang 480 nm.

Hasil pengukuran aktivitas SOD masing-masing kelompok pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2. Aktivitas SOD pada kelompok kontrol negatif paling rendah dibandingkan dengan yang lain. Hal ini dapat terjadi karena mencit pada kelompok kontrol negatif tidak diberikan senyawa antioksidan eksogen berupa Vitamin C maupun ekstrak etanol 70% daun lobak. Perlakuan berupa aktivitas berenang atau latihan fisik pada mencit kelompok kontrol negatif memicu terbentuknya radikal bebas. Radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh mencit pada kelompok kontrol negatif dapat dinetralkan oleh enzim SOD alami dari tubuhnya. Oleh karena itu aktivitas SOD alaminya (antioksidan endogen) mengalami penurunan (Sandhiutami et al., 2017).

Hasil pengukuran aktivitas SOD pada kelompok kontrol positif menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas SOD paling tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan semua kelompok uji yang diberikan ekstrak etanol 70% daun lobak. Hasil uji statistik dengan Uji BNT menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok lainnya (Tabel 1). Hal tersebut disebabkan adanya pemberian antioksidan eksogen yaitu vitamin C. Vitamin C merupakan antioksidan sekunder yang bekerja dengan cara mendonorkan elektron ke radikal bebas. Akibat penambahan antioksidan eksogen ini menyebabkan antioksidan endogen tidak terlalu banyak terpakai.

Vitamin C mampu meningkatkan aktivitas SOD kepada hewan coba yang mengalami stres oksidatif (Tarigan et al., 2018). Oleh karena itu, terlihat bahwa aktivitas SOD pada kelompok ini tinggi (Sandhiutami et al., 2017). Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyimpulkan bahwa flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan eksogen sehingga tubuh mampu mempertahankan aktivitas SOD (Fukai & Ushio-Fukai, 2011).

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol 70% daun lobak (*Raphanus sativus L.*) dengan kelompok IV (dosis 5,6 mg/20 gBB), V (dosis 11,2 mg/20 gBB), dan VI (dosis 22,4 mg/20 gBB) dapat menurunkan kadar Malondialdehid (MDA) yang memiliki potensi efek yang sama seperti vitamin C. Kelompok VI (dosis 22,4 mg/20 gBB) memiliki aktivitas SOD yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok IV dan V.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dewi, S. R., Ulya, N., & Bambang D Argo. (2018). Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Rona Teknik Pertanian*, 11(1), 1-11.
- Fukai, T., & Ushio-Fukai, M. (2011). Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(6). <https://doi.org/10.1089/ars.2011.3999>
- Goyeneche, R., Roura, S., Ponce, A., Vega-Gálvez, A., Quispe-Fuentes, I., Uribe, E., & Di Scala, K. (2015). Chemical characterization and antioxidant capacity of red radish (*Raphanus sativus L.*) leaves and roots. *Journal of Functional Foods*, 16, 256-264. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2015.04.049>
- Hanafiah, K. A. 1995. Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi. Raja Grafindo Persada. Jakarta Utara.
- Kim, J. K., Baskar, T. B., & Park, S. U. (2016). Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activities of two *Raphanus sativus L.* cultivars (cherry belle and valentine). *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 13(1), 31-36. <https://doi.org/10.13005/bbra/1999>
- Kurnia, H., Permatasari, N., & Subandi. (2011). Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam terhadap MDA dan Sel Spermatogonium Tikus yang Dipapar Asap Rokok Kretek Subakut. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 26(3), 161-165. <https://doi.org/10.21776/UB.JKB.2011.026.03.6>
- Lanny, L. 2012. The Healing Power of Antioxidant. PT Gramedia. Jakarta.
- Lü, J. M., Lin, P. H., Yao, Q., & Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4), 840-860. <https://doi.org/10.1111/J.1582-4934.2009.00897.X>
- Mariyati, L. 2014. Efek Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica (L.) Less*) terhadap Kadar Malondialdehid dan Aktivitas Superoksida Dismutase pada Mencit dengan Metode Perenangan. *Skripsi*. Universitas Pancasila.
- Oktaviani, T. (2013). Uji aktivitas Antioksidan Rebusan Daun Sambang Getih (*Hemigraphis bicolor Boerl.*) dan Sambang Solok (*Aerva sanguinolenta (L.) Blume*) Secara In Vitro. Pancasila.
- Rakhmawati, R., Anggarwulan, E., & Estu Retnaningtyas. (2009). View of Potency of Lobak Leaves (*Raphanus sativus L. var. hortensis Back*) as Anticancer and Antimicrobial Candidates. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 10(3).
- Sandhiutami, N. M. D., Desmiyati, Y., & Afizza

- Anbar. (2017). Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Kadar Malondialdehid pada Mencit Stress Oksidatif dengan Perenangan. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(1), 2623.
- Sandhiutami, N. M. D., Ngatidjan, & Kristin, E. (2012). Penetapan Kadar Tokoferol Minyak Buah Merah (*Pandanus Conoideus* Lam.) Secara In Vitro Dan In Vivo Pada Tikus Yang Diberi Beban Aktivitas Fisik Maksimal. *Litbang Kemkes*, 5.
- Silalahi, K. P., Swasti, Y. R., & Pranata, F. S. (2022). Aktivitas Antioksidan dari Produk Samping Olahan Jeruk. *Amerta Nutrition*, 6(1), 100. <https://doi.org/10.20473/amnt.v6i1.2022.100-111>
- Tarigan, T., Batubara, L., & Ngestiningsih, D. (2018). Uji Efektivitas Vitamin C Dalam Meningkatkan Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Plasma Tikus Spargue Dawley yang Terpapar Heat Stress. *Diponegoro Medical Journal (Jurnal Kedokteran Diponegoro)*, 7(2), 1334-1343. <https://doi.org/10.14710/DMJ.V7I2.21281>
- Wahdaningsih, S., & Untari, E. K. (2016). Pengaruh Pemberian Fraksi Metanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Kadar Malondialdehid Pada Tikus (*Rattus novergicus*) Wistar Yang Mengalami Stres Oksidatif. *Research Article Nomor*, 3(1), 45-55. <http://jps.ppjpu.unlam.ac.id/>
- Wahyuni, S. 2015. *Superoksida Dismutase (SOD) Sebagai Prekursor Antioksidan Endogen Pada Stress Oksidatif*. Udayana Univeristy Press. Denpasar. Halm 78.
- Wibawa, J. C., Wati, L. H., & Arifin, M. Z. (2020). Mekanisme Vitamin C Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Aktivitas Fisik. *JOSSAE (Journal of Sport Science and Education)*, 5(1), 57-63. <https://doi.org/10.26740/JOSSAE.V5N1.P57-63>
- Yuliani, N. N., & Dienina, D. P. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) Dengan Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Info Kesehatan*, 14(2).
- Yulianti, E. R. (2017). *Pengantar radikal bebas dan antioksidan* / Euis Reni Yuslianti. Deepublish.
- Yunarsa, I. P. P. A., & Adiatmika, I. P. G. (2018). Kadar antioksidan superoksida dismutase (SOD) hati tikus pada aktivitas fisik berat. *E-Jurnal Medika Udayana*, 7(4), 143-147.