



Pengaruh Ekstrak Kayu Secang terhadap Kadar Superoxide Dismutase dan Malondialdehid Tikus yang Terpapar Gas Formaldehid

Effect of Sappan Wood Extract on Superoxide Dismutase and Malondialdehyde Levels in Rats Exposed to Formaldehyde Gas

Ulfa Nurullita^{1*}, Neni Susilaningsih², Ari Suwondo²

¹Mahasiswa Program Doktor Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Universitas Diponegoro, Indonesia

²Staf Pengajar Program Doktor Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Universitas Diponegoro, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: ulfa@unimus.ac.id

Article Info

Article History:

Received : 7 Juni 2023

Accepted : 20 Juni 2023

Abstrak

Latar Belakang: Formaldehid merupakan radikal bebas yang bila masuk pada makhluk hidup akan diikat oleh antioksidan. Paparan radikal yang melebihi kapasitas antioksidan akan mendorong terjadinya peroksidasi lipid yang berakhir dengan kerusakan sel, ini dapat diatasi dengan antioksidan eksogen, salah satunya dari kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.). Antioksidan alami lebih aman terhadap sel dibanding yang sintetik. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui efektifitas kayu secang dalam meningkatkan antioksidan endogen dan menekan peroksidasi lipid.

Metode: Penelitian *true experimental* secara *in vivo* ini dengan desain *Randomized Post Test Only Control Group*. Subyek penelitian adalah tikus *Sprague dawley* jantan, umur 2-3 bulan, berat 200-300 gram, sebanyak 20 ekor. Tikus dibagi menjadi empat kelompok, kelompok 1 sebagai kontrol tidak mendapat perlakuan apapun, kelompok 2 mendapat paparan formaldehid, kelompok 3 mendapat paparan formaldehid dan ekstrak kayu secang (EKS) secara bersamaan, dan kelompok 4 mendapat EKS 14 hari sebelum dipapari formaldehid, terus berlanjut selama paparan paparan formaldehid. Gas formaldehid diberikan secara inhalasi dari formaldehid cair 10%, 8 jam/hari selama 2 minggu. Ekstrak kayu secang 0,2 ml/kg berat badan/hari diberikan secara oral dengan variasi waktu. Variabel yang diukur adalah kadar antioksidan endogen (Superoxide dismutase/SOD) dengan metode Elisa dan tingkat peroksidasi lipid (kadar Malondialdehid/MDA) dengan metode TBARS. Data dianalisis dengan *one way anova* dan Kruskal wallis dengan kemaknaan 95%.

Hasil: Rata-rata kadar SOD terendah pada kelompok 2 (3,5 u/ml), rata-rata tertinggi pada kelompok 1 (9.5 u/ml), rata-rata kadar MDA terendah pada kelompok 1 (1,9 u/ml), tertinggi pada kelompok 2 (7,23 u/ml). Uji perbedaan kadar SOD dengan nilai $p=0,000$, perbedaan kadar MDA $p=0,023$, uji hubungan kadar SOD dan MDA $p=0,000$.

Kesimpulan: Pada tikus yang terpapar gas formaldehid, pemberian ekstrak kayu secang sebanyak 0,2 ml/ kg/berat badan/ hari mampu meningkatkan kadar SOD, namun belum mampu menekan kadar MDA, dan peningkatan SOD berhubungan dengan penurunan kadar MDA.

Kata Kunci:

Gas formaldehid, superoxide dismutase, malondialdehyd, ekstrak kayu secang

Abstract

Background: Formaldehyde is a free radical that when entered in living things will be bound by antioxidant. Exposure to radicals that exceed the capacity of antioxidants will encourage lipid peroxidation which ends in cell damage, this can be overcome with exogenous antioxidants, one of which is from sappan wood. A natural antioxidant is safer cells than synthetic anti-

Keywords:

Formaldehyde gas, superoxide dismutase, malondialdehyd, extract sappan wood

oxidants. The purpose of the study was to determine the effectiveness of secang wood in increasing endogenous antioxidants and suppressing lipid peroxidation.

Method: This true experimental in vivo study uses a Randomized Post Test Only Control Group design. The research subjects were male Sprague Dawley rats, aged 2-3 months, weighing 200-300 grams, totaling 20 rats. Rats were divided into four groups, group 1 as control did not receive any treatment, group 2 received formaldehyde exposure, group 3 received formaldehyde and sappan wood extract (SWE) simultaneously, and group 4 received SWE 14 days before being exposed to formaldehyde, continuing for exposure to formaldehyde. Formaldehyde gas was given by inhalation from 10% liquid formaldehyde, 8 hours/day for 2 weeks. Sappan wood extract 0.2 ml/kg body weight/day was given orally with various times. The variables measured were endogenous antioxidant levels (Superoxide dismutase/SOD) using the Elisa method and lipid peroxidation levels (Malondialdehyde/MDA levels) using the TBARS method. Data were analyzed with one way ANOVA and Kruskal Wallis with 95% significance.

Result: Average SOD were lowest in group 2 (3.5 u/ml), and highest in group 1 (9.5 u/ml), the lowest average MDA in group 1 (1.9 u/ml), highest in group 2 (7.23 u/ml). Test the difference in SOD levels with a value of $p = 0.000$, the difference in MDA levels $p=0.023$, the relationship test of SOD and MDA levels $p=0.000$.

Conclusion: In rats exposed to formaldehyde gas, administration of sappan wood extract as much as 0.2 ml/kg/body weight/day can increase SOD levels, but has not been able to reduce MDA levels, and SOD increases are associated with a decrease in MDA levels.

PENDAHULUAN

Salah satu bahan kimia yang banyak digunakan di industri saat ini adalah formaldehid, yang digunakan untuk bahan baku dan bahan pendamping berbagai produk dan bahan kimia lain seperti tekstil, kayu lapis, cat, insektisida, dan plastik.^{1,2} Luasnya penggunaan menyebabkan banyak orang terpapar formaldehid khususnya di lingkungan kerja dan terutama melalui penghirupan. Beberapa hasil pengukuran di lingkungan kerja, menunjukkan kadar formaldehid udara telah melampaui nilai ambang batas yang diperkenankan yaitu 0,3 mg/m³.³ Formaldehid merupakan sumber *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan radikal bebas eksogen yang tidak stabil dan sangat reaktif.^{4,5} Antioksidan bertugas mengikat elektron yang sangat reaktif tersebut. Salah satu antioksidan endogen yang berperan penting dalam pengikatan elektron reaktif tersebut adalah Superoxide dismutase (SOD).^{6,7} Paparan radikal bebas yang melebihi kapasitas antioksidan menimbulkan stress oksidatif, yang akan diikuti dengan reaksi

dengan berbagai makromolekul seperti protein, lipid, dan DNA, akibatnya terjadi kerusakan oksidatif dan peroksidasi lipid.⁵ Malondialdehyd (MDA) merupakan produk alami dari peroksidasi lipid.⁸ Peristiwa stress oksidatif yang berkepanjangan dapat memicu kerusakan sel yang lebih jauh, karena dapat menimbulkan kerusakan DNA. Kerusakan DNA ini memicu kesalahan genetik yang paling berat yaitu terjadinya karsinogenesis.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan tikus yang dipaparkan formaldehid secara inhalasi menunjukkan nilai MDA lebih tinggi dibanding kelompok kontrol, sedangkan nilai SOD lebih rendah dibanding kelompok kontrol. Ada hubungan dosis-respons antara konsentrasi formaldehid dan indeks peroksidasi lipid.⁹

Radikal bebas dan kerusakan oksidatif yang terus terjadi, tidak dapat diatasi sepenuhnya oleh antioksidan endogen, sehingga diperlukan antioksidan eksogen. Salah satu bahan antioksidan alam yang banyak ditemukan di Indonesia di antaranya adalah kayu secang (*Caesalpinia sappan L*).

Secara fitokimia kayu secang mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan terpenoid. Komponen aktif brazilein (C₆H₁₄O₅) termasuk dalam golongan flavonoid yang mempunyai kemampuan menghambat pembentukan radikal bebas hidroksil, anion superoksida, peroksil, alkoksil, singlet oksigen, hidrogen peroksida.¹⁰⁻¹²

Antioksidan kuat dari alam seperti kayu secang diharapkan dapat menggantikan antioksidan sintetik, karena memiliki tingkat keamanan terhadap sel yang lebih baik. Efek independen dari formaldehid dan radikal bebas pada sel telah diteliti, namun peran antioksidan eksogen yang berasal dari kayu secang dalam mengurangi dampak stress oksidatif akibat gas formaldehid yang terpapar melalui saluran pernafasan masih terbatas.

Penelitian ini menganalisis bagaimana peran antioksidan ekstrak etanol kayu secang terhadap kadar antioksidan endogen (SOD) dan kadar produk akhir peroksidasi lipid (MDA), pada hewan coba yang terpapar gas formaldehid melalui jalur pernafasan.

METODE

Penelitian ini adalah *true experimental* secara in vivo dengan menggunakan hewan coba yaitu tikus *Sprague dawley* jantan dengan umur 2-3 bulan, berat 200-300 gram, dan berjumlah 20 ekor di laboratorium hewan coba. Rancangan penelitian ini adalah *Randomized Post Test Only Control Group Design*.¹³

Ekstraksi Kulit Kayu Secang

175 gram simplisia kayu secang ditambahkan etanol 80% sampai terendam, kemudian diaduk selama 1 jam dan didiamkan 24 jam. Selanjutnya disaring dan dipisahkan ampas dan filtratnya. Pada ampas ditambahkan etanol 80% dan diaduk kembali 1 jam, dan didiamkan 24 jam (maserasi dilakukan 3 kali). Setelah filtrat keseluruhan terkumpul dari 3 ekstraksi, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan

suhu 60°C kemudian diuapkan di atas water-bath sampai didapatkan bobot konstan.¹⁴

Pemaparan Gas Formaldehid dan Pemberian Ekstrak Kayu Secang

Sebelum perlakuan, selama 7 hari tikus diadaptasi dengan dimasukkan kandang dan diberikan pakan standar sebanyak 10% berat badan hewan/ hari. Kandang percobaan tiap perlakuan terbuat dari kotak plastik 2 buah. Kotak pertama untuk tempat tinggal tikus, sedangkan kotak kedua berisi formaldehid cair 10% yang diletakkan pada gelas ukur terbuka agar menguap. Kedua kotak dihubungkan dengan pipa pralon, untuk menyalurkan uap formaldehid ke tikus percobaan.¹⁵

Setelah adaptasi 1 minggu, tikus kelompok 1 hanya diberikan pakan standar selama 14 hari¹⁶, kelompok 2 diberikan paparan formaldehid selama 10 hari, kelompok 3 diberikan paparan formaldehid 10 hari dan ekstrak kayu secang selama 14 hari, dan kelompok 4 diberikan ekstrak kayu secang 14 hari¹⁷, kemudian diberikan paparan formaldehid dan ekstrak kayu secang lagi selama 10 hari. Paparan gas formaldehid selama 8 jam/ hari¹⁸, ekstrak kayu secang diberikan sebanyak 0,2 ml/ kg berat badan/ hari. Adapun rincian perlakuan paparan lebih jelas ada pada Tabel 1.

Sesudah intervensi dilakukan anestesi dengan ketamine 0.2 mg/ kg berat badan dan xylazine 0,1 mg/ kg berat badan secara oral. Tikus dimatikan dengan dislokasi leher, kemudian dibedah dan diambil darah langsung pada jantung.

Serum darah selanjutnya dianalisis kadar SOD dengan metode Elisa¹⁹ dan kadar MDA dengan metode Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS).²⁰ Data dianalisis menggunakan uji *one way anova* dengan kemaknaan 95%. Ethical clearance didapatkan dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Tabel 1. Perlakuan Pada Tikus Percobaan

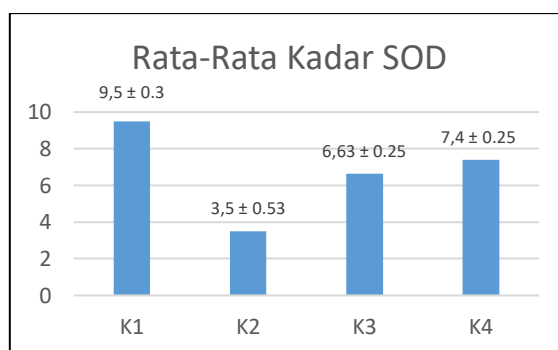
Kelompok 1 (K1)	Kelompok kontrol (pakan standar selama 14 hari)
Kelompok 2 (K2)	(FA 5 hari) + (tanpa FA 2 hari) + (FA 5 hari) + (tanpa FA 2 hari)
Kelompok 3 (K3)	(FA+EKS 5 hari) + (EKS 2 hari) + (FA+EKS 5 hari) + (EKS 2 hari)
Kelompok 4 (K4)	(EKS 14 hari) + (FA+EKS 5 hari) + (EKS 2 hari) + (FA+EKS 5 hari) + (EKS 2 hari)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

1. Kadar SOD

Kadar Serum SOD minimum 3.1 u/ml, maksimum 9,8 u/ ml, rata-rata $6,77 \pm 2,27$. Apabila dilihat sebaran perkelompok perlakuan dapat terlihat pada Gambar 1 berikut:



Gambar 1. Rata-Rata Kadar SOD pada Tikus Sprague dawley.

Kadar serum SOD tertinggi ditunjukkan pada kelompok K1, yaitu sebesar 9,5 u/ ml, sedangkan terendah adalah pada kelompok 2 dengan nilai rata-rata 3,5 u/ ml. Nilai SOD kelompok K1 hampir 3 kali lipat dibanding kelompok K2. Untuk kelompok 3 dan 4 nilai SOD hampir 2 kali lipat dibanding kelompok 2.

Data SOD berdistribusi normal dan homogen, sehingga memenuhi uji *oneway* anova, dengan nilai $p=0,000$ yang bermakna ada perbedaan signifikan kadar SOD pada semua kelompok. Uji lanjutan untuk melihat perbedaan antar pasangan perlakuan dilakukan dengan uji post hoc didapatkan hasil seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Post Hoc Kadar SOD Antar Pasangan Perlakuan

Pasangan	Nilai <i>p</i>	Makna
K1 – K2	0,000	Ada perbedaan yang signifikan
K1 – K3	0,000	Ada perbedaan yang signifikan

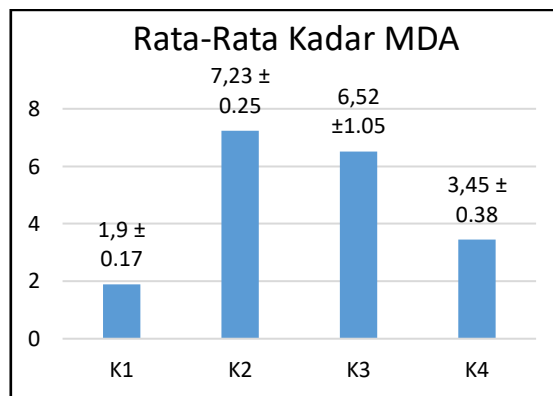
Tabel 2. Hasil Uji Post Hoc Kadar SOD Antar Pasangan Perlakuan

K1 – K4	0,001	Ada perbedaan yang signifikan
K2 – K3	0,000	Ada perbedaan yang signifikan
K2 – K4	0,000	Ada perbedaan yang signifikan
K3 – K4	0,143	Tidak ada perbedaan yang signifikan

Dari uji post hoc menunjukkan ada perbedaan kadar SOD yang signifikan antar pasangan perlakuan, kecuali untuk K3 (kelompok yang mendapat EKS selama paparan formaldehid) dengan K4 (kelompok yang diberikan EKS sebelum dan selama paparan formaldehid).

2. Kadar MDA

Rata-rata kadar MDA dari keempat kelompok ditampilkan pada Gambar 2 berikut:



Gambar 2. Rata-Rata Kadar MDA pada Tikus Sprague Dawley

Pada gambar 2 menunjukkan kadar MDA terendah pada K1 yaitu 1.9 u/ml kemudian diikuti K4 (3.45 u/ml), K3 (6.5 u/ml), dan tertinggi pada K2 (7.23 u/ml). Data berdistribusi normal namun tidak homogen sehingga dilakukan analisis dengan uji Kruskal Wallis dengan nilai p=

0.023 yang berarti ada perbedaan signifikan kadar MDA dari 4 kelompok.

Uji lanjutan untuk melihat perbedaan antar pasangan perlakuan dilakukan dengan uji Mann Whitney didapatkan hasil seperti pada Tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil Uji Mann Whitney Kadar MDA Antar Pasangan Perlakuan

Pasangan	Nilai p	Makna
K1 – K2	0.046	Ada perbedaan yang signifikan
K1 – K3	0.046	Ada perbedaan yang signifikan
K1 – K4	0.046	Ada perbedaan yang signifikan

Tabel 3. Hasil Uji *Mann Whitney* Kadar MDA Antar Pasangan Perlakuan

K2 – K3	0,513	Tidak ada perbedaan yang signifikan
K2 – K4	0,05	Tidak ada perbedaan yang signifikan
K3 – K4	0,05	Tidak ada perbedaan yang signifikan

Dari uji Mann Whitney menunjukkan tidak ada perbedaan kadar MDA yang signifikan antar pasangan perlakuan K2-K3, K2-K4, dan K3-K4.

3. Hubungan kadar SOD dan MDA

Uji Rank spearman untuk menganalisis hubungan kadar SOD dan MDA, menunjukkan nilai $p=0.000$, yang bermakna ada hubungan yang signifikan antara kadar SOD dan MDA pada tikus yang diberikan ekstrak kayu secang dan terpapar gas formaldehid.

Pembahasan

1. Efek ekstrak kayu secang terhadap kadar sod serum darah tikus yang terpapar gas formaldehyde

Superoksida Dismutase (SOD) adalah enzim antioksidan yang berfungsi sebagai pertahanan fisiologis melawan radikal dan spesies oksigen reaktif (ROS) akibat stres endogen dan eksogen.^{21,22} Pengukuran aktivitas enzim SOD dalam penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak kayu secang dalam mengais radikal superoksida dalam tubuh.

Dari hasil uji *one-way annova* menunjukkan ada perbedaan kadar SOD antar kelompok perlakuan. Kelompok yang diberikan ekstrak kayu secang sebelum terpapar gas formaldehid (kelompok 4) menunjukkan kadar SOD yang lebih baik dibanding kelompok 2 yang tidak diberikan ekstrak kayu secang, sedangkan kelompok 4 mempunyai kadar SOD 2 kali lebih tinggi dibanding kelompok 2. Demikian juga dibanding kelompok 3 yang diberikan ekstrak kayu secang bersamaan dengan paparan gas formaldehid, menunjukkan kelompok 3 mempunyai kadar SOD yang lebih rendah

0,8 nmol/ L dibanding kelompok 4, meskipun secara statistik tidak ada perbedaan signifikan.

Adanya perbedaan kadar SOD pada tiap perlakuan, menunjukkan pemberian ekstrak kayu secang dengan waktu yang berbeda berdampak pada perbedaan pembentukan SOD. Kadar SOD pada kelompok perlakuan (K2, K3, K4) yang lebih rendah dari kelompok kontrol (K1), menunjukkan peningkatan aktivitas SOD sebagai penanda tindakan perlindungan sel terhadap radikal superoksida yang dapat menyebabkan stres oksidatif akibat radikal bebas yang berasal dari gas formaldehid. Pada K1 tidak terjadi perlawanan paparan radikal bebas dari formaldehid, sehingga kadar SOD endogennya lebih tinggi.

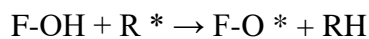
Pemberian ekstrak kayu secang mampu meningkatkan aktivitas enzim SOD pada tikus secara signifikan. Namun, pemberian ekstrak kayu secang 14 hari sebelum paparan gas formaldehid ternyata belum mampu memberikan pertahanan yang lebih baik dibanding pemberian ekstrak kayu secang yang bersamaan dengan pemaparan gas formaldehid. Diduga hal ini disebabkan dengan pemberian ekstrak kayu secang dosis 0,2 ml/ kg berat badan/ hari belum mampu meningkatkan kadar SOD endogen meskipun tidak sedang mengalami paparan bahan toksik. Peningkatan aktivitas SOD pada tikus *Sprague dawley* yang diberi ekstrak ethanol kayu secang dimungkinkan karena kandungan berbagai bahan di dalamnya seperti antioksidan (flavonoid dan polifenol), vitamin, dan mineral.^{10,23}

Kayu secang mengandung flavonoid dengan aktivitas tinggi. Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan ekstrak ethanol kayu secang mengandung flavonoid 7,765 ±0,660mg/ 100gram bahan. Dengan adanya enzim-enzim di dalam tubuh, flavonoid

tersebut dapat meningkatkan aktivitas antioksidan SOD. Flavonoid memiliki sifat antioksidan yang menurunkan aktivitas superoksida.²⁴ Glikosida flavonoid berperan dalam peningkatan aktivitas enzim SOD dengan mekanisme kerja secara langsung dan tidak langsung.

Secara langsung yaitu adanya gugus hidroksil memungkinkan flavonoid untuk menangkap radikal bebas dengan cara menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas serta mengkhelat logam yang berperan dalam pembentukan ROS. Secara tidak langsung, flavonoid mampu meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme seperti melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) sehingga terjadi peningkatan dalam sintesis enzim SOD.^{25,26}

Reaksi yang menunjukkan kemampuan flavonoid dalam menangkap radikal bebas yang disebabkan oleh gugus hidroksil adalah sebagai berikut:



Berdasarkan reaksi ini, radikal menjadi lebih stabil dalam bentuk RH.

Penelitian ini seiring dengan penelitian lain yang menunjukkan peningkatan aktivitas SOD pada tikus yang diinduksi formalin dan diberikan apigenin. Apigenin merupakan salah satu jenis komponen flavonoid yang banyak ditemukan pada seledri, sebagai antioksidan alamiah.²⁷

Flavonoid juga mampu menghambat enzim yang berperan dalam pembentukan ROS seperti *mikrosomal monoksidase glutathione S-transferase*, *mitokondria succinoksidase*, *NADH oksidase* dan lain-lain.²⁸ Dengan demikian jumlah ROS berkurang dan aktivitas enzim SOD meningkat.

Vitamin yang terkandung dalam kayu secang meliputi vitamin B1, B2, B3, dan C, di mana vitamin B3 dan C juga bersifat sebagai antioksidan, sehingga bekerja seperti flavonoid. Adapun mineral penting yang

terkandung dalam kayu secang ada-lah Cu, Mn, Zn yang juga berperan sebagai ko faktor enzim SOD, sehingga kemampuan kerja SOD meningkat.²⁹

2. Efek Ekstrak Kayu Secang Terhadap Kadar MDA Serum Darah Tikus Yang Terpapar Gas Formaldehide

Pengukuran kadar MDA dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak kayu secang dalam mencegah peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah mekanisme dari cedera sel yang digunakan sebagai indikator untuk stres oksidatif pada sel dan jaringan. Produk peroksidasi lipid berupa MDA, yang pembentukannya merefleksikan tingginya stres oksidatif dalam tubuh.³⁰ Lipid peroksid merupakan bentuk turunan dari asam lipid tak jenuh ganda (*polyunsaturated*), yang tidak stabil dan mudah terurai untuk membentuk serangkaian kompleks dari senyawa-senyawa yang meliputi senyawa karbonil reaktif, termasuk MDA.^{31,32}

Berdasarkan nilai MDA, kadar terendah pada K1, kemudian diikuti K4, K3, dan tertinggi pada K2. Formaldehid merupakan salah satu zat yang bersifat toksik dan tergolong ke dalam salah satu jenis radikal bebas. Formaldehid menyebabkan peroksidasi lipid dengan mengurangi aktivitas SOD dan glutathione peroksidase (GPx) sehingga konsentrasi MDA menjadi meningkat. Ada hubungan dosis-respons antara konsentrasi formaldehid dan indeks peroksidasi lipid.³³ Penelitian pada tikus yang diinduksi formaldehid terbukti meningkatkan kadar MDA.²⁷ Adanya perbedaan kadar MDA antar kelompok perlakuan menunjukkan pemberian ekstrak kayu secang dengan pola berbeda menghasilkan kadar MDA yang berbeda pula.

Ekstrak kayu secang memiliki senyawa flavonoid dan fenolik aktif, yaitu 4-O-metilsapanol, protosappanin A, protosappanin B, protosappanin E, brazilin, brazilin, caesalpinia, brazilide A, neosappanone, 7,3,4-trihidroksi-3-benzil-2H.^{10,23,34} Penekanan ka-

dar MDA pada penelitian ini diduga terutama disebabkan oleh senyawa brazilin yang termasuk dalam golongan flavonoid sebagai isoflavone. Brazilin berfungsi menangkap radikal hidroksil. Radikal hidroksil inilah yang memulai reaksi peroksidasi lipid.

Saat formaldehid sebagai radikal bebas terus memasuki sel, mendorong terjadinya peningkatan produksi ROS, mengakibatkan konsumsi dan penipisan senyawa pemulung endogen. Brazilin yang memiliki gugus hidroksil kemudian mendonorkan elektronnya pada radikal bebas termasuk radikal hidroksil. Tingginya reaktivitas gugus hidroksil dari brazilin membuat radikal menjadi tidak aktif. Flavonoid memiliki efek aditif pada senyawa pemulung endogen.³⁵

Penelitian lain yang menguji penghambatan radikal hidroksil secara *in vitro*, menunjukkan bahwa brazilin dapat menangkap radikal hidroksil dan mengubahnya menjadi produk yang stabil.³⁶

Dalam penelitian ini terbukti, ekstrak kayu secang mampu menekan peroksidasi lipid yang dibuktikan dengan kadar MDA lebih tinggi pada kelompok tanpa pemberian ekstrak kayu secang, meskipun secara statistik tidak berbeda signifikan. Hal ini dimungkinkan karena pembentukan MDA tidak hanya tergantung pada keberadaan antioksidan. Banyak faktor lain yang mendorong pembentukan MDA, diantaranya adalah kondisi lingkungan tempat perlakuan tikus yang dapat menyebabkan tekanan/stress pada tikus. Hal ini sejalan dengan penelitian lain yang menganalisis pengaruh pemberian fraksi metanol kulit buah naga merah terhadap kadar MDA tikus wistar, yang menyimpulkan penurunan MDA yang terjadi pada 3 jenis dosis tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal.³⁷

3. Hubungan kadar SOD dan kadar MDA serum darah tikus yang terpapar gas formaldehid

Secara alami tubuh telah memiliki antioksidan yang dapat menghambat

pembentukan radikal bebas. Akan tetapi, apabila paparan radikal bebas terlalu banyak, antioksidan alami tersebut tidak mampu untuk mengatasinya, sehingga SOD bisa menurun.³⁸

Paparan radikal bebas dari gas formaldehid akan mengaktifkan mekanisme antioksidan endogen seperti SOD. Peningkatan produksi radikal anion superoksida ($O_2^{\cdot -}$) dapat secara langsung meningkatkan produksi ROS yang lebih berbahaya seperti hydrogen peroksida dan radikal hidroksil. Radikal hidroksil akan menginisiasi proses peroksidasi lipid secara langsung pada struktur *Polyunsaturated fatty acid* (PUFA) yang terdapat pada dinding membran sel dan mitokondria.³⁹

Secara umum terdapat hubungan antara kadar SOD dan kadar MDA pada penelitian ini. Hal ini menunjukkan bahwa keberadaan SOD sebagai antioksidan endogen telah digunakan untuk melawan kerusakan oksidatif akibat paparan gas formaldehid sehingga jumlah MDA menurun. Antioksidan endogen yang menipis selanjutnya dibantu oleh antioksidan eksogen yang berasal dari ekstrak kayu secang, sehingga meningkat kadarnya. Adanya korelasi negatif antara kadar SOD dan kadar MDA, menunjukkan semakin tinggi kadar SOD maka kadar MDA mengalami penurunan. Pada penelitian ini kelompok kontrol negatif mempunyai kadar SOD terendah dan kadar MDA tertinggi dibanding kelompok yang lain, yang menunjukkan jelasnya hubungan negatif antara kadar SOD dan MDA.

Dalam sistem biologis, tubuh biasanya dapat memproduksi sendiri antioksidan yang berupa enzim seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase (antioksidan endogen). Saat terjadi stres oksidatif karena produksi ROS berlebih maka antioksidan endogen ini harus mendapat tambahan antioksidan dari luar tubuh (antioksidan eksogen).⁴⁰

Penelitian ini sejalan dengan penelitian pada tikus yang terpapar kebisingan⁴¹, penelitian pada tikus yang mengalami tukak lambung⁴², dan pasien penyakit jantung

coroner⁴³ yang membuktikan adanya perubahan penanda stress oksidatif yang terlihat dengan penurunan ekspresi SOD dan peningkatan ekspresi MDA.

Jumlah sampel yang kecil dalam penelitian ini merupakan salah satu keterbatasan yang dapat diperbaiki untuk penelitian selanjutnya. Berdasarkan penelitian ini, pemberian ekstrak kayu secang sebesar 0,2 ml/ kg berat badan hewan dapat meningkatkan kadar SOD secara signifikan, namun pencegahan kerusakan sel melalui pemberian sebelum paparan radikal bebas belum mampu meningkatkan kadar SOD yang lebih baik secara signifikan. Paparan formaldehid secara signifikan meningkatkan kadar MDA, namun pemberian ekstrak kayu secang sebesar 0,2 ml/ kg berat badan hewan baik sebelum maupun selama paparan belum mampu menekan pembentukan MDA secara signifikan.

Hasil penelitian ini menunjukkan paparan formaldehid dari lingkungan dapat menyebabkan peroksidasi lipid, dan pemberian antioksidan dari kayu secang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan endogen sehingga dapat membantu menekan peroksidasi lipid. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan perbaikan terkait kadar ekstrak yang dapat efektif menekan kerusakan akibat paparan radikal bebas.

KESIMPULAN

Gas formaldehid dapat memicu pembentukan MDA sebagai produk per-oksidasi lipid. Ekstrak kayu secang mampu meningkatkan kadar antioksidan endogen (SOD), namun pada dosis 0,2 ml/ kg berat badan/hari belum mampu menekan terjadinya peroksidasi lipid. Peningkatan SOD berhubungan dengan penurunan kadar MDA.

DAFTAR PUSTAKA

1. Herrero M, González N, Rovira J, Marquès M, Domingo JL, Nadal M. Early-life exposure to formaldehyde through clothing. *Toxics*. 2022;10(361):1–14.
2. National Toxicology Program. Final report on carcinogens background document for formaldehyde. U.S. Department of Health and Human Services. 2010.
3. Kementerian Tenaga Kerja dan Transmigrasi. Permenakertrans No. Per.13/MEN/ X 2011 Tentang nilai ambang batas faktor fisika dan faktor kimia di tempat kerja. Jakarta, Indonesia; 2011. p. 1–54.
4. Aprini UR, Novianry V, Zakiah M. Pengaruh pemberian astaxanthin terhadap kadar malondialdehid pada kerusakan jaringan testis tikus putih yang diinduksi formaldehid secara oral. *Cerebellum*. 2019;5(1):1234–47.
5. Arief H, Widodo MA. Peranan stres oksidatif pada proses penyembuhan luka. *J Ilm Kedokt Wijaya Kusuma*. 2018;5(2):22.
6. Squillacioti G, Bellisario V, Grosso A, Ghelli F, Piccioni P, Grignani E, et al. Formaldehyde, oxidative stress, and FeNO in traffic police officers working in two cities of northern Italy. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(5).
7. Limpens M. Kanker. *PodoPost*. 2018; 31(2):5.
8. Mulianto N. Malondialdehid sebagai penanda stres oksidatif pada berbagai penyakit kulit. *Cermin Dunia Kedokt*. 2020;47(1):39–44.
9. Attia D, Mansour N, Taha F, Seif El Dein A. Assessment of lipid peroxidation and p53 as a biomarker of carcinogenesis among workers exposed to formaldehyde in the cosmetic industry. *Toxicol Ind Health*. 2016;32(6): 1097–105.
10. Utari FD. Produksi antioksidan dari ekstrak kayu secang (*caesalpinia sappan* l.) menggunakan pengering berkelembaban rendah. *J Apl Teknol Pangan*. 2017;6(3):1–4.
11. Sarjono AK, Tukiran T. Review: Potensi ekstrak kayu secang (*caesalpinia sappan* l.) sebagai antidiabetes mellitus. *Unesa*

- J Chem.* 2021;10(3):307–17.
12. Handayani S, Susidarti RA, Jenie RI, Meiyanto E. Two active compounds from *Caesalpinia sappan* L. in combination with cisplatin synergistically induce apoptosis and cell cycle arrest on WiDr cells. *Adv Pharm Bull.* 2017; 7(3):375–80.
 13. Seltman HJ. Experimental design and analysis. Evaluation of Human Work. 2018. 1–407 p.
 14. Taufik AN. Perbandingan daya antioksidan ekstrak etanol kayu secang putih dan merah (*caesalpinia sappan* l.). *J Ilm Mhs Univ Surabaya.* 2016;5(1):1–16.
 15. Kusumawardani A, Sarwendah K, Rahmad L, Millah NU, Herliyani N, Sutrisno B, et al. Sitotoksik asap rokok pada kornea tikus putih wistar yang diberi ekstrak. *SAIN Vet.* 2013;31(1): 89–99.
 16. Kusumaningrum AG, Priadji B, Widodo MA. Efek ekstrak kacang tunggak (*vigna unguiculata*) terhadap kadar superoksida dismutase (sod) serum tikus galur wistar (*rattus norvegicus*) yang dipapar dengan asap mesin berbahan bakar bensin. *Maj Kesehatan FKUB.* 2017;4(1):1–8.
 17. Helmi HR, Madeleine G, Limanan D, Yulianti E, Ferdinal F. Uji fitokimia, kapasitas antioksidan dan pengaruh pemberian ekstrak daun berenuk (*crescentia cujete*) terhadap kadar mda otak dan darah tikus sprague-dawley yang diinduksi hipoksia normobarik sistemik kronis. *Muara Med Dan Psikol Klin.* 2021;1(1):47–54.
 18. Zhang Y, Liu X, McHale C, Li R, Zhang L, Wu Y, et al. Bone marrow injury induced via oxidative stress in mice by inhalation exposure to formaldehyde. *PLoS One.* 2013;8(9):1–10.
 19. Yanti Y, Ermawati E, Anas E. Perbedaan kadar superoksida dismutase pada remaja dengan dismenore primer dan tanpa dismenore primer. *J Kesehatan Andalas.* 2016;5(1):120–4.
 20. Mushab, Hairrudin, Abrori C. Peningkatan kadar malondialdehid (mda) serum setelah olahraga pagi dan malam hari pada orang tidak terlatih. *J Kesehatan Andalas.* 2020;9(2):211–7.
 21. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J Med.* 2018; 54(4):287–93.
 22. Dewanti Widyansih T, Alif Nugroho MF. The influence of roselle-based wedang uwuh (*hibiscus sabdariffa* L.) on SOD (superoxide dismutase) and MDA (malondialdehyde) of cigarette smoke-exposed rat. *Adv Food Sci Sustain Agric Agroindustrial Eng.* 2021;4(2): 138–43.
 23. Senthilkumar N, Murugesan S, Banu N, Supriya S, Rajeshkannan C. Biochemical Estimation and Antimicrobial Activities of the Extracts of *Caesalpinia Sappan* Linn. *Bangladesh J Sci Ind Res.* 2011;46(4):429–36.
 24. Varadharaj V, Janarthanan UDK, Krishnamurthy V. Protective role of ethanolic leaf extract of *Annona squamosa* (L.) on experimentally induced hepatocellular carcinoma. *Int J Chem-Tech Res.* 2015;8(1):282–92.
 25. Landis GN, Tower J. Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mech Ageing Dev.* 2005;126(3): 365–79.
 26. Sumardika IW, Jawi IM. Ekstrak air daun ubijalar ungu memperbaiki profil lipid dan meningkatkan kadar sod darah tikus yang diberi makanan tinggi kolesterol. *Medicina (B Aires).* 2012;43 (2):67–71.
 27. Fikry EM, Hasan WA, Mohamed EG. Natural antioxidant flavonoids in formalin-induced mice paw inflammation; inhibition of mitochondrial sorbitol dehydrogenase activity. *J Biochem Mol Toxicol.* 2017;31(7):1–8.
 28. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *Sci World J.* 2013;2013:1–

- 16.
29. Martins M do C de C e, Oliveira AS da SS, Silva LAA da, Primo MGS, Lira VB de C. Biological indicators of oxidative stress [malondialdehyde, catalase, glutathione peroxidase, and superoxide dismutase] and their application in nutrition. In: Vinood B. Patel VRP, editor. *Biomarkers in Disease: Methods, Discoveries and Applications*. Teresina, Brazil: Springer Nature Switzerland; 2016. p. 1–23.
 30. Maurya RP, Prajapat MK, Singh VP, Roy M, Todi R, Bosak S, et al. Serum malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in patients with primary ocular carcinoma: Impact on response to chemotherapy. *Clin Ophthalmol*. 2021; 15:871–9.
 31. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014; 2014:1–31.
 32. Martemucci G, Costagliola C, Mariano M, D'andrea L, Napolitano P, D'Alessandro AG. Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*. 2022; 2:48–78.
 33. Mas-Bargues C, Escrivá C, Dromant M, Borrás C, Viña J. Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease. *Arch Biochem Biophys*. 2021;709:1–7.
 34. Widowati W. Uji fitokimia dan potensi antioksidan ekstrak etanol kayu secang (*caesalpinia sappan* l.). *J Kedokt Maranatha*. 2011;11(1):23–31.
 35. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: An overview. *J Nutr Sci*. 2016;5.
 36. Bazvand F, Shams S, Esfahani MB, Koochakzadeh L, Monajemzadeh M, Ashtiani MTH, et al. Total antioxidant status in patients with major β -thalassemia. *Iran J Pediatr*. 2011;21(2):159–65.
 37. Wahdaningsih S, Untari EK. Pengaruh Pemberian Fraksi Metanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyhizus*) Terhadap Kadar Malondialdehid Pada Tikus (*Rattus novergicus*) Wistar Yang Mengalami Stres Oksidatif. *J Pharmascience*. 2016;3(1):45–55.
 38. Parwata IMO. Antioksidan. Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana. Bali; 2016. 1–54 p.
 39. Collin F. Chemical basis of reactive oxygen species reactivity and involvement in neurodegenerative diseases. *Int J Mol Sci*. 2019;20(10).
 40. Parwata IMO. Flavanoid. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. Denpasar; 2014. 1–39 p.
 41. Reastuty, Haryuna TSH. Correlation of SOD and MDA expression in the organ of corti and changes in the function of outer hair cells measured by dpoae examination in noise-exposed rat cochlea. *Reports Biochem Mol Biol*. 2021;10(1):41–9.
 42. Abdel-Tawab MS, Tork OM, Mostafa-Hedeab G, Hassan ME, Elberry DA. Protective effects of quercetin and melatonin on indomethacin induced gastric ulcers in rats. *Reports Biochem Mol Biol*. 2020;9(3):278–90.
 43. Cheraghi M, Ahmadvand H, Maleki A, Babaeenezhad E, Shakiba S, Hassanzadeh F. Oxidative stress status and liver markers in coronary heart disease. *Reports Biochem Mol Biol*. 2019;8(1):49–55.