

ISSN: 1979 - 6358

**JURNAL KEDOKTERAN DAN KESEHATAN
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER UNIVERSITAS PATTIMURA**

MOLLUCA MEDICA

Penanggung Jawab

Dr. Jacob Manuputty, MPH
(Ketua Program Pendidikan Dokter)

Ketua Redaksi

DR. Maria Nindatu, M.Kes

Dewan Editor

Prof. Lyle E. Craker, Ph.D	(University of Massachusetts, USA)
Prof. Johnson Stanslas, M.Sc, Ph.D	(University Putra Malaysia, Serdang)
Prof. Dr. Sultana M. Farazs, M.Sc, Ph.D	(Universitas Diponegoro, Semarang)
Prof. DR. Dr. Suharyo H, Sp.PD-KPTI	(Universitas Diponegoro, Semarang)
Prof. DR. Paul Tahalele, dr, Sp.BTKU	(Universitas Airlangga, Surabaya)
Prof. DR. N. M. Rehata, dr, Sp.An.Kic	(Universitas Airlangga, Surabaya)
Prof. Mulyahadi Ali	(Universitas Brawijaya, Malang)
Prof. DR. Th. Pentury, M.Si	(Universitas Pattimura, Ambon)
Prof. DR. Sri Subekti, drh, DEA	(Universitas Airlangga, Surabaya)
Prof. DR. T. G. Ratumanan, M.Pd	(Universitas Pattimura, Ambon)
DR. Subagyo Yotoprano, DAP&E	(Universitas Airlangga, Surabaya)
DR. F. Leiwakabessy, M.Pd	(Universitas Pattimura, Ambon)
Dr. Titi Savitri P, MA, M.Med.Ed, Ph.D	(Universitas Gajah Mada, Yogyakarta)
Dr. Budu, Ph.D	(Universitas Hasanudin, Makasar)
Dr. Bertha Jean Que, Sp.S, M.Kes	(Universitas Pattimura, Ambon)
Dr. Reffendi Hasanusi, Sp.THT	(Universitas Pattimura, Ambon)

Sekretaris Redaksi

Theopilus Wilhelmus W, M.Kes

Alamat Redaksi

Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Pattimura
Kampus Universitas Pattimura Jl. Dr. Tamaela Ambon 97112
Telp. 0911-344982, Fax. 0911-344982, HP. 085243082128; 085231048390
E-mail: molluca_medica@yahoo.co.id

PERAN MADU SEBAGAI ANTIOKSIDAN DALAM MENCEGAH KERUSAKAN PANKREAS MENCIT (*Mus musculus*) TERPAPAR ASAP ROKOK KRETEK

Getruida J. Latumahina^{a)}, Pieter Kakisina^{b)}, Michavel Moniharapon^{b)}

^{a)} Mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA Universitas Pattimura Ambon

^{b)} Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Pattimura Ambon
e-mail: paet_kakisina@yahoo.com

Diterima 22 Maret 2011/Disetujui 12 April 2011

Abstract

Honey contains of many active compounds that play a role as an antioxidant include: vitamins, enzymes, organic acid, flavonoids, beta-carotene and mineral nutrients such as manganese, zinc, copper and selenium which estimated can protect the normal cells and neutralize free radicals derived from cigarette smoke that can inhibit oxidative stress in cells. The aim of this research was to determine the role of honey as an antioxidant in preventing pancreas damage of mice (*Mus musculus*) exposed by cigarette smoke. Twelve male mice, 2 months old and ± 20 g of each weight which used in this research were divided into four groups. First group was used as control group consist of 3 mice which given no honey solution or cigarette smoke treatment, second group consist of 3 mice was exposed by smoke of a cigarette without honey solution treatment, third group consist of 3 mice was given honey solution dose 0,2 ml/20grBB mice before exposed by smoke of a cigarette and fourth group consist of 3 mice was given honey solution dose 0,4 ml/20grBB mice before exposed by smoke of a cigarette. The treatment was given every day for 30 days. The research concluded that honey has the role in preventing pancreas damage of mice (*Mus musculus*) exposed by cigarette smoke.

Key words: honey, antioxidant, pancreatic cell.

Abstrak

Madu mengandung senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan antara lain: vitamin, enzim, asam organik, flavonoid, betakaroten dan zat-zat gizi mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium yang diduga berperan untuk melindungi sel normal dan menetralkan radikal bebas yang berasal dari asap rokok kretek sehingga dapat menghambat stres oksidatif pada sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran madu sebagai antioksidan dalam mencegah kerusakan pankreas mencit (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok kretek. Mencit (*Mus musculus*) jantan, berumur 2 bulan dengan berat ± 20 g sebanyak 12 ekor dibagi dalam 4 kelompok secara acak. Kelompok I (kontrol): 3 ekor mencit yang tidak diberi larutan madu dan tidak dipapar asap rokok kretek. Kelompok II: 3 ekor mencit yang dipapar asap rokok kretek tanpa diberi larutan madu. Kelompok III: 3 ekor mencit yang diberi larutan madu sebanyak 0,2 ml/20gBB sebelum dipapar asap rokok kretek. Kelompok IV: 3 ekor mencit yang diberi larutan madu sebanyak 0,4 ml/20gBB sebelum dipapar asap rokok kretek. Perlakuan dilakukan setiap hari selama 30 hari. Hasil penelitian membuktikan bahwa madu berperan dalam mencegah kerusakan pankreas mencit (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok kretek.

Kata kunci: Madu, antioksidan, sel pankreas.

PENDAHULUAN

Merokok telah menjadi gaya hidup masyarakat, dan setiap tahun jumlah perokok cenderung meningkat. Jenis rokok yang banyak digemari di Indonesia adalah rokok kretek yaitu jenis rokok yang dibuat dari daun tembakau dan mempunyai campuran aroma dan rasa cengkeh. Rokok kretek mempunyai kadar nikotin dan tar 2-3 kali lebih besar dari rokok putih (Hashim, 2005). Merokok dapat mengganggu kesehatan yang disebabkan oleh nikotin yang berasal dari asap arus utama yaitu asap tembakau yang dihirup langsung oleh perokok tersebut maupun asap sampingan yaitu asap yang disebarkan ke udara bebas dan dihirup oleh orang lain (Yueniwati dan Ali, 2004).

Asap rokok mengandung radikal bebas dalam jumlah yang sangat tinggi karena satu kali hisapan rokok saja diperkirakan terdapat 1.014 molekul radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh. Racun utama pada tembakau yang merupakan bahan baku rokok seperti tar, nikotin, dan karbonmonoksida dapat memicu terbentuknya radikal bebas (Gondodiputro, 2007). Radikal bebas yang diproduksi dalam jumlah yang normal, penting untuk fungsi biologi seperti sel darah putih yang menghasilkan H_2O_2 untuk membunuh beberapa jenis bakteri (Hariyatmi, 2004). Menurut Wuryastuti (2000) *dikutip* Hariyatmi (2004), gangguan imbalanced normal antara produksi senyawa oksigen reaktif dengan kemampuan pertukaran antioksidan akan mengakibatkan stress oksidatif. Keadaan ini diduga sebagai salah satu faktor pendorong terjadinya beberapa penyakit sistemik dan kerusakan organ tubuh vital termasuk pankreas sebagai organ endokrin dan eksokrin.

Secara fisiologis sebenarnya tubuh sudah mempersiapkan diri untuk menangkal radikal bebas dengan tersedianya antioksidan dalam sistem intrasel membran, cairan ekstrasel, sitoplasma dan lipoprotein membran, (Sies dan Murphy, 1991 *dikutip* Hariyatmi, 2004). Akan tetapi, dengan meningkatnya jumlah radikal bebas dalam

tubuh, maka perlu adanya asupan antioksidan tambahan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, menetralkan atau menangkap radikal bebas (Murray *dkk.*, 2000 *dikutip* Algameta, 2009) dan melindungi jaringan biologis dari kerusakan akibat radikal bebas.

Senyawa antioksidan diantaranya adalah flavonoid, β - karoten, vitamin E, vitamin C, bilirubin, dan albumin (Gheldof, et al., 2002). Zat-zat gizi mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium (Se) juga berperan sebagai antioksidan. Selain dalam makanan, ternyata zat-zat tersebut juga terdapat dalam madu. Kandungan nutrisi dalam madu yang berfungsi sebagai antioksidan adalah vitamin A, vitamin C dan vitamin E, enzim, flavonoid dan beta karoten (Anonim, 2006 *dikutip* Parwata *dkk.*, 2010).

Senyawa-senyawa antioksidan dalam madu berperan untuk melindungi sel normal, menetralkan radikal bebas, menangkap oksidan, mencegah reaksi berantai serta mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru sehingga dapat menghambat stress oksidatif pada sel pankreas. Berdasarkan kajian di atas maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran madu dalam mencegah kerusakan pankreas Mencit (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok kretek.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Tipe Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2011 di Laboratorium Zoologi - Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pattimura dan pembuatan preparat histologi pankreas di Universitas Brawijaya Malang.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat:

Kandang mencit 4 unit, timbangan Ohaus digital, sonde lambung, gelas ukur dan pengaduk, *smoking pump*, *smoking chamber*, *dissecting set*, kaca objek, mikrotom, inkubator, tempat roll film, mikroskop dan kamera digital

Bahan :

Mencit jantan 12 ekor berumur 2 bulan dengan berat badan \pm 20g, pakan mencit, bahan pengecatan preparat histologi dengan pengecatan HE, madu lokal berasal dari Negeri Ema Kota Ambon, rokok kretek 90 batang, aquades, formalin 4% dan sekam padi.

Prosedur Penelitian

Aklimatisasi Mencit

Sebelum percobaan dilakukan, semua mencit diadaptasi selama 7 hari dalam kandang yang dibuat dari wadah plastik berbentuk kotak dengan beralaskan sedikit sekam dan bedding kawat ram sebagai penutup. Bobot badan mencit ditimbang pada awal penelitian dan kemudian secara reguler setiap hari sampai akhir penelitian.

Pengelompokkan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan 12 ekor mencit yang dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing 3 ekor mencit, dengan kombinasi perlakuan sebagai berikut:

Kelompok I (kontrol): tidak diberi larutan madu dan asap rokok

Kelompok II : tidak diberi larutan madu; dipapar asap rokok

Kelompok III : diberi larutan madu 0,2 ml/20gBB; dipapar asap rokok

Kelompok IV : diberi larutan madu 0,4 ml/20gBB; dipapar asap rokok

Dosis dan Pengenceran Madu

Dosis yang diberikan ditentukan berdasarkan faktor konversi berat badan (BB) dari manusia dengan berat badan 70kg ke mencit dengan berat 20g yaitu 0,0026 (Ngatidjan,1991). Dosis I setara dengan pemberian satu sendok makan penuh (15 ml) dan dosis II setara dengan dua sendok

makan penuh (30 ml) madu, pada orang dewasa dengan berat badan 70Kg. Larutan madu diberikan ke mencit secara oral menggunakan sonde lambung. Perhitungan dosis dan pengenceran madu ini menurut prosedur Dewi (2010).

Perhitungan Dosis Madu:

Dosis I setara dengan 1 sendok makan (15 ml) madu pada manusia dengan berat badan 70 kg dan dikonversi ke mencit 20 gr.

Nilai konversi (manusia ke mencit) x 15 ml madu

$$= 0,0026 \times 15 \text{ ml madu}$$

$$= 0,04 \text{ ml madu}$$

Madu diencerkan dengan pengenceran 20%.
2 ml madu + 8 ml aquades = 10 ml larutan madu

Untuk mendapatkan konsentrasi madu murni 0,04 dari 10 ml larutan madu,

$$= 0,04 \text{ ml} \times \frac{100}{20}$$

$$= 0,2 \text{ ml}$$

Madu yang disondekan pada 1 ekor mencit dengan berat badan 20 gram = 0,2 ml larutan madu yang diberikan selama 30 hari berturut-turut.

Dosis II adalah 2 kali dosis I yaitu sebesar 0,08 ml. Jadi, larutan madu yang disondekan pada 1 ekor mencit (20 gr) = 0,4 ml larutan madu yang diberikan selama 30 hari berturut-turut.

Pemaparan Asap Rokok Kretek pada Mencit

Data hasil penelitian Larasati (2010) menggambarkan bahwa pemaparan asap 1 batang rokok kretek setiap hari selama 14 hari telah menyebabkan kerusakan ringan hingga berat organ paru hewan uji. Oleh karena itu, dalam penelitian ini pemaparan asap rokok kretek pada mencit kelompok II, III dan IV dilakukan setiap hari selama 30 hari menurut prosedur Widodo (2006).

Pemberian asap rokok kretek dilakukan dengan dosis 1 batang per kelompok setiap pagi hari setelah 1 jam pemberian madu. Tahapan paparan asap rokok dilakukan dengan terlebih dahulu mempersiapkan peralatan yang digunakan dalam pemaparan

ini yaitu *smoking pump* yang dirangkai dengan *smoking chamber*.

Smoking chamber memiliki dua lubang, satu lubang di bagian samping untuk dihubungkan dengan *pump* dan yang satu lagi di depan digunakan sebagai ventilasi / memungkinkan pertukaran udara. Tiga ekor mencit dari tiap kelompok dimasukkan dalam *smoking chamber* melalui bagian atas *smoking chamber*, kemudian ditutup kembali. Satu batang rokok kretek dipasang pada pipa yang dihubungkan dengan *pump*.

Rokok kretek yang telah terpasang pada *pump* dibakar menggunakan korek api dan *pump* dinyalakan, sehingga asap rokok masuk ke dalam *smoking chamber*. Stopwatch / penghitung waktu dipasang untuk mengetahui waktu yang digunakan untuk menghabiskan satu batang rokok kretek. *Smoking chamber* akan terisi asap rokok selama proses pemaparan asap rokok dan perilaku mencit dapat diamati dalam *smoking chamber*.

Setiap sebelum pemberian asap rokok dan madu, mencit dipuasakan dahulu \pm 5 jam untuk mengosongkan lambung. Pemberian asap rokok dilakukan \pm 1 jam setelah pemberian madu agar madu terabsorpsi terlebih dahulu (Dewi, 2010). Pada hari ke-31, mencit dibedah, kemudian diambil organ pankreas difiksasi dalam formalin 4%, selanjutnya dibuat preparat histologi dengan metode blok paraffin dengan pengecatan HE. Hal ini dilakukan pada hari ke-31 agar efek perlakuan tampak nyata.

Pembuatan Preparat Sayatan Pankreas

Pembuatan preparat sayatan pankreas dilakukan dengan prosedur menurut Nadzifa (2010):

1. Tahap pertama adalah coating, dimulai dengan menandai obyek glass yang akan digunakan dengan kikir kaca pada bagian tepi, kemudian direndam dalam alkohol 70% minimal semalam. Kemudian obyek glass dikeringkan dengan tissue dan dilakukan perendaman dalam larutan gelatin 0,5% selama 30-40 detik/slide, lalu dikeringkan dengan

posisi disandarkan hingga gelatin yang melapisi kaca dapat merata

2. Tahap kedua, organ pankreas yang telah disimpan dalam larutan formalin 4% dicuci dengan alkohol selama 2 jam, dan dilanjutkan dengan pencucian secara bertingkat dengan alkohol yaitu dengan alkohol 90%, 95%, etanol absolut (3kali), xylol (3 kali), masing-masing selama 20 menit
3. Tahap ketiga, adalah proses infiltrasi yaitu dengan menambahkan paraffin sebanyak 3 kali selama 30 menit
4. Tahap keempat, embedding. Bahan beserta parafin dituangkan ke dalam kotak karton atau wadah yang telah disiapkan dan diatur sehingga tidak ada udara yang terperangkap didekat bahan. Blok parafin dibiarkan semalam dalam suhu ruang kemudian diinkubasi dalam freezer sehingga blok benar-benar keras
5. Tahap pemotongan dengan mikrotom. Cutter dipanaskan dan ditempelkan pada dasar blok sehingga parafin sedikit meleleh. Holder dijepitkan pada mikrotom putar dan ditata sejajar dengan mata pisau mikrotom. Pengirisan atau penyayatan diawali dengan mengatur ketebalan irisan. Untuk pankreas dipotong dengan ukuran μ m, kemudian pita hasil irisan diambil dengan menggunakan kuas dan dimasukkan air dingin untuk membuka lipatan lalu dimasukkan air hangat dan dilakukan pemilihan irisan yang terbaik. Irisan yang terpilih diambil dengan gelas obyek yang sudah dicoating kemudian dikeringkan diatas hot plate. Tahap diparafisasi, yaitu preparat dimasukkan dalam xylol sebanyak 2 kali 5menit.
6. Tahap rehidrasi, preparat dimasukkan dalam larutan etanol bertingkat mulai dari etanol absolut (2 kali), etanol 95%, 90%, 80%, dan 70% masing-masing 5 menit. Kemudian preparat direndam dalam aquadest selama 10 menit.
7. Tahap pewarnaan, preparat ditetesi dengan hematoxylin selama 3 menit atau sampai didapatkan hasil warna yang terbaik. Selanjutnya dicuci dengan air

mengalir selama 30 menit dan dibilas dengan aquadest selama 5 menit. Setelah itu preparat dimasukkan dalam pewarna eosin alkohol selama 30 menit dan dibilas dengan aquadest selama 5 menit.

8. Tahap dehidrasi, preparat direndam dalam etanol bertingkat 80%, 90%, 95% dan etanol absolut (2 kali) masing-masing selama 5 menit.
9. Tahap clearing, dalam larutan xylol 2 kali selama 5 menit, kemudian dikeringkan.
10. Tahap mounting dengan etilen.
11. Hasil akhir diamati dengan mikroskop, untuk setiap kelompok mencit, dipotret kemudian dianalisis kerusakan pankreas.

Analisa Data

Gambaran histopatologi pankreas dianalisis secara deskriptif.

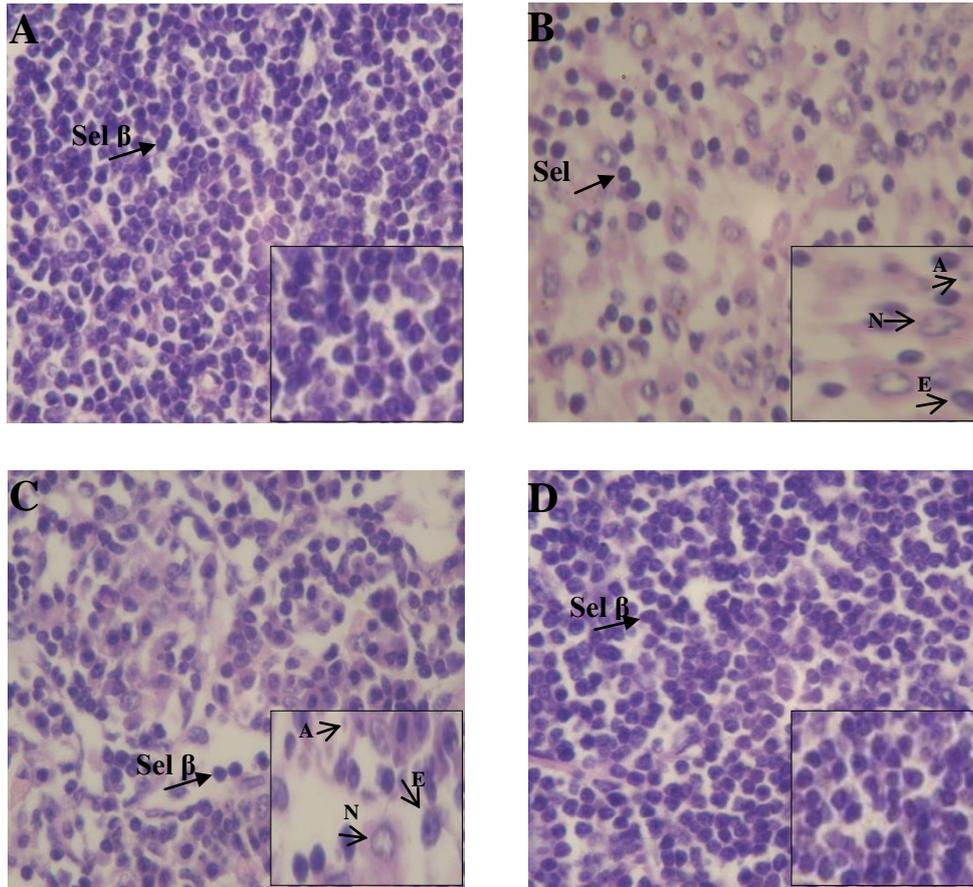
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Hasil pengamatan organ pankreas mencit menggunakan pewarnaan

Hematoxylin-Eosin (HE) menunjukkan bahwa pada kelompok mencit yang tidak diberi larutan madu dan tidak dipapar asap rokok kretek (Gambar 7.A) nampak tidak terjadi kerusakan sel-sel β pada organ pankreas. Gambaran histopatologi pankreas kelompok mencit yang dipapar asap rokok kretek selama 30 hari tanpa pemberian larutan madu (Gambar 7.B) menunjukkan kerusakan sel-sel β pada organ pankreas.

Gambaran histopatologi pankreas kelompok mencit yang diberikan larutan madu dengan dosis 0,2 ml/20gBB sebelum dipapar asap rokok kretek (Gambar 7.C) dan kelompok mencit yang diberikan larutan madu 0,4 ml/20gBB sebelum dipapar asap rokok kretek (Gambar 7.D) selama 30 hari menunjukkan adanya peran madu sebagai antioksidan dalam mencegah kerusakan sel-sel β pada organ pankreas mencit yang dipapar asap rokok kretek. Gambaran histopatologi pulau langerhans pankreas mencit masing-masing kelompok dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 1. Histopatologi pulau langerhans pankreas mencit dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE). (7.A) kelompok mencit yang diberi aquades sebagai kontrol, (7.B) kelompok mencit yang dipapar asap rokok kretek tanpa pemberian larutan madu, (7.C) kelompok mencit yang diberi larutan madu 0,2ml/20gBB sebelum dipapar asap rokok kretek, dan (7.D) kelompok mencit yang diberi larutan madu 0,4ml/20gBB sebelum dipapar asap rokok kretek. Pengamatan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1000x. Keterangan gambar: nekrosis (N), edema (E) dan atrofi (A).

Gambaran histopatologi pankreas mencit kelompok kontrol yang diberi aquades (Gambar 7.A), menunjukkan bahwa pulau langerhans pankreas mencit dalam keadaan normal terlihat dengan banyaknya sel β yang tersusun rapat dan memadati pulau langerhans. Nampak tidak terjadi penyusutan sel yang dikenal dengan istilah atrofi, kematian sel (nekrosis) yang diawali dengan peroksidasi lipid yang menyebabkan kerusakan membran sel dan juga tidak terjadi pembengkakan sel (edema) sebagai fase sebelum sel itu mengalami nekrosis. Hal ini mengindikasikan bahwa aquades tidak berpengaruh terhadap organ pankreas hewan uji.

Gambaran histopatologi pulau langerhans pankreas kelompok mencit yang dipapar asap rokok kretek selama 30 hari tanpa pemberian larutan madu (Gambar 7.B), nampak terjadi kerusakan yang terindikasi melalui sel-sel β yang mengalami nekrosis, edema dan juga terdapat sel yang mengalami atrofi. Hal ini menyebabkan terbentuknya ruang kosong pada pulau langerhans.

Gambaran histopatologi pankreas kelompok mencit yang diberi larutan madu dosis 0,2 ml/20gBB sebelum dipapar asap rokok kretek (Gambar 7.C) menunjukkan sel β yang mengalami nekrosis, edema maupun atrofi tampak lebih sedikit sehingga ruang kosong yang terbentuk lebih sedikit bila

dibandingkan dengan gambaran histopatologi pulau langerhans kelompok mencit yang dipapar asap rokok kretek tanpa pemberian larutan madu.

Pada gambaran histopatologi pankreas kelompok mencit yang diberi larutan madu 0,4 ml/20gBB sebelum dipapar asap rokok kretek (Gambar 7.D) selama 30 hari, nampak sel β lebih banyak dan tersusun rapat memadati pulau langerhans. Tidak tampak sel-sel β yang mengalami pembengkakan sel (edema), penyusutan sel (atrofi) maupun kematian sel (nekrosis). Hal ini menunjukkan kondisi pankreas yang lebih baik dibandingkan histopatologi pankreas kelompok mencit yang dipapar asap rokok kretek selama 30 hari tanpa pemberian madu dan kelompok mencit yang diberi larutan madu dosis 0,2ml/20gBB sebelum dipapar asap rokok kretek, bahkan hampir tampak seperti histopatologi pulau langerhans kelompok normal (kontrol). Hal ini membuktikan peran madu sebagai antioksidan dalam mencegah kerusakan pankreas akibat radikal bebas asap rokok kretek.

Pembahasan

Hasil analisis preparat organ pankreas mencit dengan pewarnaan HE pada kelompok mencit yang dipapar dengan asap rokok kretek selama 30 hari tanpa pemberian larutan madu menunjukkan kerusakan pulau langerhans pankreas mencit. Hal ini menunjukkan bahwa asap rokok kretek menyebabkan kerusakan sel pada organ pankreas. Asap rokok menyebabkan peningkatan radikal bebas yang mengandung komponen kimia toksik yang akhirnya menyebabkan berbagai penyakit dan kerusakan organ termasuk pankreas (Purnamasari, 2006 *dikutip* Larasati, 2010). Hal ini disebabkan karena asap rokok kretek mengandung banyak bahan kimia di antaranya karbonmonoksida (CO), tar dan nikotin serta senyawa radikal bebas.

Bila molekul radikal bebas bertemu dengan molekul radikal bebas maka akan terbentuk ikatan kovalen yang stabil, tetapi bila molekul radikal bebas bertemu dengan molekul bukan radikal bebas, maka akan terjadi: (1) molekul radikal bebas memberikan elektron yang tidak berpasangan ke molekul yang bukan radikal bebas, (2) molekul radikal bebas menerima elektron dari senyawa bukan radikal

bebas, atau (3) molekul radikal bebas bergabung dengan molekul bukan radikal bebas (Winarsi, 2007).

Senyawa radikal bebas asap rokok kretek seperti radikal nitrit oksida dan nitrit dioksida (-NO,-NO₂) akan mengubah oksigen menjadi radikal superoksida yang akan membentuk hidrogen peroksida dan selanjutnya membentuk radikal hidroksil yang sangat merusak melalui proses reduksi oksigen. Radikal hidroksil (OH*), radikal superoksida (O₂^{-*}) dan hidrogen peroksida (H₂O₂) di dalam tubuh dapat merusak asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel dan juga berpotensi merusak basa DNA sehingga mengacaukan sistem informasi genetik (Halliwell & Gutteridge, 1991).

Mencit yang dipapar asap rokok kretek 1 batang per 12 menit selama 1 jam setiap hari terlihat mengalami stres. Hal ini teramati pada perilaku mencit setiap kali dipapar asap rokok kretek. Pada awal proses pemaparan, mencit masih terlihat lincah dan agresif, selang beberapa saat, mencit teramati saling menindih di bagian pojok yang diduga berusaha mendapat oksigen dari celah pada pojok *smoking chamber* tersebut. Setelah hampir 1 jam, mencit terlihat lemas dan tidak lagi agresif.

Asap rokok kretek menghabiskan antioksidan intraseluler dalam sel melalui mekanisme yang dikaitkan terhadap stress oksidatif (Arief, 2002 *dikutip* Larasati, 2010), selanjutnya stress oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid yang akan menimbulkan kerusakan membran sel. Membran sel membantu pengaturan keluar masuk berbagai zat melalui proses transport pasif dan aktif, dan juga sebagai tempat melekatnya berbagai enzim. Hilangnya integritas membran sel menyebabkan penumpukan kelebihan cairan jaringan dalam sel yang disebut edema yang merupakan fase menuju kematian sel (nekrosis).

Penelitian tentang dampak radikal bebas terhadap kerusakan pankreas telah banyak diteliti yaitu dengan menginduksi bahan kimia seperti aloksan (zat diabetagonik) sebagai sumber radikal bebas yang menyebabkan kerusakan terhadap sel-sel β pankreas, sehingga mempengaruhi jumlah dan ukuran pulau langerhans (Djuanda, 2011). Kim *et al.*

(2006) *dikutip* Suarsana, dkk (2010) mengemukakan bahwa senyawa aloksan menyebabkan nekrosis sel beta pankreas pada tikus, sedangkan Szkudelski (2001) *dikutip* Suarsana, dkk (2010) menyatakan bahwa aloksan dan streptozotocin bersifat toksik terhadap sel beta pankreas. Pada pulau langerhans terlihat pengurangan massa sel, beberapa pulau langerhans mengalami kerusakan, dimana ukuran menjadi lebih kecil bahkan ada yang hancur dan menghilang.

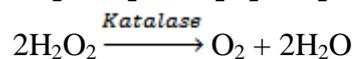
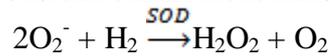
Sel beta merupakan penyusun 70% kelenjar endokrin, dan menurut Nurdiana (1998) *dikutip* Nadzifa, 2010, ruang kosong pada pulau langerhans disebabkan karena terjadi nekrosis sel beta. Selain itu, terdapat sel-sel yang mengalami pembengkakan sebagai fase sebelum nekrosis (Hidayah, 2008). Hal ini menunjukkan bahwa asap rokok kretek dapat menyebabkan nekrosis sel beta karena asap rokok kretek mengandung komponen radikal bebas yang memiliki reaktivitas yang tinggi untuk berikatan dengan molekul-molekul di sekitarnya sehingga menyebabkan kerusakan organ pankreas yang diawali dengan peroksidasi lipid hingga menyebabkan nekrosis sel.

Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein, serta unsur DNA. Ketiga molekul target tersebut, yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh. Berbagai kemungkinan dapat terjadi sebagai dampak dari aktivitas radikal bebas antara lain gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul termodifikasi yang tidak dapat dikenali oleh sistem imun, dan bahkan mutasi. Semua bentuk gangguan tersebut dapat memicu munculnya berbagai penyakit. Sadikin (2001) berpendapat bahwa serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya akan menyebabkan terjadinya reaksi berantai, yang kemudian menghasilkan senyawa radikal baru.

Penambahan radikal bebas dari lingkungan akibat terpapar asap rokok kretek seperti yang terjadi pada perokok pasif, menyebabkan antioksidan endogen tidak mampu lagi memproteksi tubuh dari oksidan (Marianti, 2009) sehingga terjadi peningkatan radikal bebas yang memicu stres oksidatif pada sel pankreas. Oleh karena itu, untuk mencegah kerusakan pankreas akibat radikal bebas asap

rokok kretek, dibutuhkan asupan antioksidan tambahan

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Senyawa-senyawa dalam madu yang berfungsi sebagai antioksidan dapat bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat radikal bebas sehingga aktivitas senyawa radikal tersebut bisa dihambat. Secara sistematis dapat dilihat mekanisme kerja antioksidan dalam menetralkan radikal bebas:



Antioksidan intraseluler dalam organ pankreas adalah superoksida dismutase (SOD) yang berperan melindungi sel-sel pankreas dan mencegah terjadinya proses peradangan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Akan tetapi, antioksidan seluler tidak dapat bekerja tanpa dukungan asupan antioksidan sekunder dari bahan pangan, enzim ini membutuhkan bantuan zat-zat gizi mineral seperti mangan (Mn), seng (Zn), dan tembaga (Cu). Oleh sebab itu, mineral-mineral ini harus tersedia dalam jumlah yang cukup agar dapat menghambat timbulnya kerusakan sel pankreas akibat radikal bebas (Winarsi, 2007)).

Pada penelitian ini, pemberian larutan madu sebelum dipapar asap rokok kretek selama 30 hari membuktikan peran madu sebagai antioksidan. Gambaran histopatologi pankreas kelompok mencit yang diberi larutan madu dosis 0,2ml/20gBB sebelum dipapar asap rokok kretek menunjukkan kondisi pankreas yang lebih baik dibandingkan kelompok mencit yang dipapar asap rokok kretek selama 30 hari tanpa pemberian madu. Sel β yang mengalami kematian sel (nekrosis), pembengkakan sel (edema) maupun penyusutan sel (atrofi) tampak lebih sedikit sehingga ruang kosong yang terbentuk lebih sedikit bila dibandingkan dengan gambaran histopatologi pulau langerhans kelompok mencit yang dipapar asap rokok kretek tanpa pemberian larutan madu.

Sedangkan gambaran histopatologi pankreas kelompok mencit yang diberi larutan madu 0,4 ml/20gBB sebelum dipapar asap rokok kretek selama 30 hari menunjukkan kondisi pankreas yang hampir tampak seperti

histopatologi pankreas kelompok kontrol, nampak sel β lebih banyak dan tersusun rapat memadati pulau langerhans. Tidak tampak sel-sel β yang mengalami pembengkakan sel (edema), penyusutan sel (atrofi) maupun kematian sel (nekrosis). Larutan madu 0,4 ml/20gBB memberi peran protektif membran sel yang lebih baik karena konsentrasi senyawa antioksidan yang lebih banyak sehingga dapat menyeimbangi produksi radikal bebas di dalam tubuh akibat terpapar asap rokok kretek. Dengan demikian, saat dipapar asap rokok kretek, ketersediaan antioksidan yang cukup akan dapat menetralkan radikal bebas dan mencegah terbentuknya reaksi berantai dari radikal bebas tersebut.

Penggunaan madu dalam penelitian ini berperan untuk mencegah kerusakan sel pada organ pankreas karena mengandung zat-zat gizi mineral yang dibutuhkan untuk berinteraksi dengan enzim SOD pankreas yang merupakan senyawa antioksidan. Selain zat-zat gizi mineral, senyawa-senyawa antioksidan seperti vitamin C, vitamin E, katalase, flavonoid dan betakaroten juga terdapat dalam madu (Anonim, 2008 *dikutip* Parwata dkk, 2010).

Katalase adalah enzim yang mengatalisis hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Katalase berperan sebagai enzim peroksidasi khusus dalam reaksi dekomposisi hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air. Sel-sel yang mengandung katalase dalam jumlah sedikit sangat rentan terhadap serangan peroksidasi.

Vitamin C merupakan antioksidan yang larut dalam air. Senyawa ini, menurut Zakaria, *et al.* (1996), merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel. Vitamin C mampu mereduksi radikal superoksida, hidroksil, dan oksigen reaktif lainnya. Merokok memboroskan vitamin C hingga 30%. Perokok mungkin tidak merasakan efek tersebut, tetapi jika tubuh kekurangan vitamin C maka terjadi kekurangan antioksidan (Winarsi, 2007).

Vitamin E merupakan antioksidan yang sangat aktif dalam mencegah peroksidasi lipid dengan mentransfer atom hidrogen. Jadi, vitamin E menghilangkan radikal peroksil lebih cepat daripada reaksi radikal bebas tersebut dengan protein membran atau asam lemak tak jenuh ganda (Setijowati, 1998 *dikutip*

Aylindania, 2007). Vitamin E melindungi asam lemak tidak jenuh pada membran fosfolipid. Selain dalam bentuk vitamin, antioksidan dalam madu dapat berupa zat non-gizi seperti betakaroten dan flavonoid.

Betakaroten merupakan antioksidan tidak larut air yang berpotensi menjaga integritas membran sel terhadap serangan radikal bebas. Pada umumnya penggunaan betakaroten sebagai antioksidan berkombinasi dengan sumber antioksidan lain. Sedangkan flavonoid adalah sekelompok besar senyawa polifenol tanaman yang tersebar luas dalam berbagai bahan makanan. Secara *in vitro*, senyawa flavonoid telah terbukti mempunyai efek biologis yang sangat kuat. Sifat antioksidan flavonoid terutama berperan terhadap radikal hidroksil, anion superoksida dan radikal peroksil (Husain, *et al.*, 1987).

Tubuh memerlukan asupan antioksidan eksogenus dalam jumlah yang memadai agar mampu menginduksi kerja sistem antioksidan seluler sehingga mampu menekan kerusakan sel yang berlebihan dan mempertahankan status antioksidan seluler. Pada madu terdapat banyak nutrisi yang berfungsi sebagai antioksidan dan semua senyawa tersebut bekerjasama dalam melindungi sel normal dan menetralkan radikal bebas.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Madu berperan dalam mencegah kerusakan pankreas mencit (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok kretek dengan melindungi membran sel dari kerusakan akibat radikal bebas, menangkap radikal bebas, mencegah reaksi berantai, dan mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru.
2. Pemberian larutan madu dengan dosis 0,4ml/20gBB memberi pengaruh yang lebih efektif terhadap aktivitas radikal bebas asap rokok kretek pada sel pankreas dibandingkan dosis 0,2ml/20gBB.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan perlakuan yang berbeda untuk mengetahui peran madu dalam pengobatan kerusakan pankreas akibat paparan asap rokok kretek.
2. Parameter pemeriksaan perlu ditambahkan misalnya pemeriksaan kadar gula darah atau pemeriksaan hormon insulin yang

hasilnya diharapkan dapat menyimpulkan peran madu sebagai antioksidan dalam mencegah atau mengobati kerusakan pancreas

3. Masyarakat dan khususnya perokok sebaiknya mengkonsumsi madu, karena madu mempunyai peran dalam menangkal radikal bebas asap rokok.

DAFTAR PUSTAKA

- Algameta D. Elfara. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan Tablet *Effervescent* Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) dan Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Pada Tikus Yang Dibebani Glukosa: Skripsi. Surakarta: Fakultas Farnasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Diakses dari <http://etd.eprints.ums.ac.id/5126/1/K100050052.pdf> pada tanggal 19 Juli 2011.
- Aylindania Nur. 2007. Pengaruh Pemberian The Hijau (*Camellia sinensis* L) Terhadap Aktivitas Radikal Bebas Pada Hepar Mencit (*Mus musculus*) Diabetes. Malang: Universitas Islam Negeri Malang. Diakses dari <http://lib.uin-malang.ac.id/thesis/fullchapter/03520010-nur-aylin-dania.ps> pada tanggal 21 Februari 2012.
- Djuanda Asep. 2011. Potensi Fraksi Air Buah Makasar (*Brucea javanica* (L.) Merr) Terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus yang Diinduksi Alokstan. Bogor: Institut Pertanian Bogor. Diakses dari <http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/48220/G11adj.pdf> pada tanggal 21 Februari 2012.
- Gheldof N, Wang Xiao-Hong, and Engeseth N J. 2002. Identification and Quantification of Antioxidant Components of Honeys from Various Floral Sources, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5870-5877.
- Gondodiputro Sharon. 2007. Bahaya Tembakau Dan Bentuk-Bentuk Sediaan Tembakau. Bandung: Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Diakses dari <http://www.resources.unpad.ac.id> pada tanggal 28 Agustus 2011.
- Halliwell, B. dan J.M.C Gutteridge. 1991. *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford: Clarendon Press.
- Hariyatmi. 2004. Kemampuan Vitamin E Sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas Pada Lanjut Usia: Jurnal: Jurusan Pendidikan Biologi FKIP UMS.
- Hashim NH. 2005. Kesan Buruk Akibat Hisap Rokok Kretek. Pusat Racun Negara, USM Malaysia.
- Hidayah Rochmah. 2008. Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Terhadap Glukosa Darah dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes: Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Malang.
- Husain, R., J. Cillard, dan P. Cillard. 1987. Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Flavonoids. Dalam: *Phytochemistry*. 26:2489-2491.
- Larasati S. Ardelia. 2010. Pengaruh Pemberian Jus Pepaya (*Carica papaya*) Terhadap Kerusakan Histopatologi Alveolus Paru Mencit yang Dipapar Asap Rokok. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Marianti Aditya. 2009. Aktivitas Antioksidan Jus Tomat pada Pencegahan Kerusakan Jaringan Paru-Paru Mencit yang Dipapar Asap Rokok. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Nadzifa Ima. 2010. Pengaruh Air Perasan Bawang Lanang (*Allium sativum*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Gambaran Histopatologi Pankreas Pada Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Melitus: Skripsi. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN)

- Parwata, I. M. Oka Adi, dkk. 2010. Aktivitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten Pada Madu Randu (*Ceiba pentandra*) Dan Madu Kelengkeng (*Nepheleium longata L.*): Jurnal Kimia 4 (1), Januari 2010: 54-62. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. Diakses dari <http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/j-kim-4-1-9.pdf> pada tanggal 19 Juli 2011.
- Sadikin, M. 2001. Pelacakan Dampak Radikal Bebas terhadap Makromolekul. Dalam: *Kumpulan Makalah Pelatihan: Radikal Bebas dan Antioksidan dikutip Kesehatan*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI.
- Suarsana I Nyoman, B.P. Priosoeryanto, M. Bintang dan T. Wresdiyati. 2010. Profil Glukosa Darah dan Ultrastruktur Sel Beta Pankreas Tikus yang Diinduksi Senyawa Aloksan. *JITV Vol. 15 No. 2 Th. 2010: 118-123*. Diakses dari <http://peternakan.litbang.deptan.go.id/fullteks/jitv/jitv152-5.pdf> pada tanggal 21 Februari 2012.
- Winarsi Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas; Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Yueniwati Y, Ali M. 2004. Pengaruh paparan asap rokok kretek terhadap peroksidasi lemak dan system proteksi superoksid dismutase hepar tikus wistar. *Jurnal kedokteran YARSI*; 2(1): 85-92.
- Zakaria, F.R., B. Irawan, S.M. Pramudya, dan Sanjaya. 1996. Intervensi Sayur dan Buah Pembawa Vitamin E dan C Meningkatkan Sistem Imun Populasi Buruh Pabrik di Bogor. Dalam: *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. 11(2): 21-27.