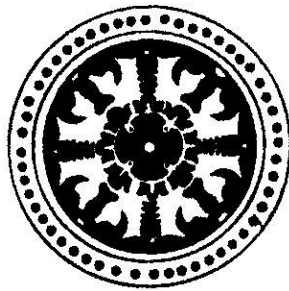


TESIS

**PEMBERIAN JUS DELIMA MERAH (*Punica granatum*)
DAPAT MENINGKATKAN KADAR GLUTATION
PEROKSIDASE DARAH PADA MENCIT (*Mus
musculus*) DENGAN AKTIVITAS FISIK MAKSIMAL**

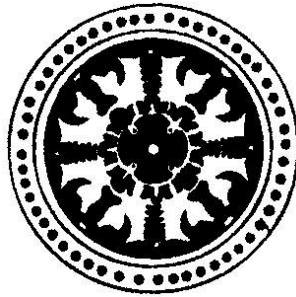


NANIK LIDYAWATI SUGIANTO

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS UDAYANA
DENPASAR
2011**

TESIS

**PEMBERIAN JUS DELIMA MERAH (*Punica granatum*)
DAPAT MENINGKATKAN KADAR GLUTATION
PEROKSIDASE DARAH PADA MENCIT (*Mus
musculus*) DENGAN AKTIVITAS FISIK MAKSIMAL**



**NANIK LIDYAWATI SUGIANTO
NIM : 0890761003**

**PROGRAM MAGISTER
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS UDAYANA
DENPASAR
2011**

**PEMBERIAN JUS DELIMA MERAH (*Punica granatum*)
DAPAT MENINGKATKAN KADAR GLUTATION
PEROKSIDASE DARAH PADA MENCIT (*Mus
musculus*) DENGAN AKTIVITAS FISIK MAKSIMAL**

Tesis untuk Memperoleh Gelar Magister
Pada Program Magister, Program Studi Ilmu Biomedik
Program Pascasarjana Universitas Udayana

**NANIK LIDYAWATI SUGIANTO
NIM : 0890761003**

**PROGRAM MAGISTER
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS UDAYANA
DENPASAR
2011**

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 18 NOVEMBER 2011

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Prof. Dr. dr. I Nyoman Adiputra, PFK, MOH
NIP. 19460619 197602 1001

Prof. dr. N Agus Bagiada, Sp.Biok
NIP. 19410320 196801 1001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Biomedik
Program Pascasarjana
Universitas Udayana,

Direktur
Program Pascasarjana
Universitas Udayana,

Prof. Dr. dr. Wimpie I. Pangkahila,
Sp. And, FAACS
NIP: 19461213 197107 1001

Prof. Dr. dr. A. A. Raka Sudewi, Sp. S(K)
NIP: 195902151985102001

Tesis Ini Telah Diuji
Tanggal 18 November 2011

Panitia Penguji Tesis Berdasarkan SK Rektor Universitas Udayana,
No : 1678/UN 14.4/HK/2011 Tanggal2011.

Ketua : Prof. Dr.dr. N Adiputra, PFK, MOH

Anggota :

1. Prof. dr. N Agus Bagiada, Sp.Biok
2. Prof. Dr.dr. Wimpie I Pangkahila, Sp.And,FAACS
3. Prof. Dr.dr. J Alex Pangkahila, MSc, Sp.And
4. Dr. dr. Ida Sri Iswari, MK., M.Kes

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama perkenankanlah penulis memanjatkan puji syukur ke hadapan *Ida Sang Hyang Widhi Wasa*/Tuhan Yang Maha Esa, karena hanya atas *asung wara nugraha-Nya/kurnia-Nya*, tesis ini dapat diselesaikan.

Pada kesempatan ini perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. dr. Wimpie Pangkahila, Sp.And, FAACS, sebagai Ketua Program Studi Ilmu Biomedik Kekhususan Kedokteran Anti Penuaan yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, semangat, bimbingan, dan saran selama penulis mengikuti program magister, khususnya dalam penyelesaian tesis ini. Terima kasih yang sebesar-besarnya pula penulis sampaikan kepada Prof. Dr dr. I Nyoman Adiputra, PFK, MOH, Pembimbing Akademik sekaligus Pembimbing I dan kepada Prof. dr. Nyoman Agus Bagiada, Sp.Biok selaku Pembimbing II yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan bimbingan dan masukan yang sangat berharga selama masa studi maupun saat penelitian.

Ucapan yang sama juga ditujukan kepada Rektor Universitas Udayana, Prof. Dr. dr. I Made Bakta, Sp.PD, KHOM, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Magister di Universitas Udayana. Ucapan terima kasih ini juga ditujukan kepada Direktur Program Pascasarjana Universitas Udayana , Prof. Dr. dr. Anak Agung Raka Sudewi, Sp.S(K) atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas

Udayana. Tidak lupa penulis ucapkan terimakasih kepada Prof. dr. I Gusti Made Aman, Sp. FK, selaku Koordinator *Laboratory Animal Unit*, bapak Gede Wiranatha selaku staf *Laboratory Animal Unit*, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana yang telah banyak membantu pelaksanaan penelitian. Ungkapan terimakasih penulis sampaikan pula kepada para penguji tesis, yaitu Prof.Dr.dr. Wimpie Pangkahila, Sp.And,FAACS., Prof.Dr.dr. I Nyoman Adiputra, MOH., PFK.,Prof.dr. I Nyoman Agus Bagiada, Sp.Biok., Prof. Dr. dr. J. Alex Pangkahila, M.Sc, Sp.And., Dr.dr. Ida Sri Iswari,MK, M.Kes yang telah memberikan masukan, saran, sanggahan, dan koreksi sehingga tesis ini dapat terwujud seperti ini.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada orang tua penulis yang senantiasa mendorong penulis untuk maju dan memperluas wawasan pengetahuan.. Akhirnya penulis sampaikan terimakasih kepada suami tercinta, Widhiada yang banyak memberi motivasi untuk tetap semangat dan banyak belajar, serta anak, Bramantya dan Nadya, tersayang, yang dengan penuh kesabaran telah memberikan kepada penulis kesempatan untuk lebih berkonsentrasi menyelesaikan tesis ini.. Ucapan terimakasih juga penulis tujukan kepada staf administrasi serta rekan-rekan sejawat di Program Magister, Program Studi Ilmu Biomedik Kekhususan *Anti Aging Medicine* atas bantuan dan dukungan selama penulis menyelesaikan tesis ini.

Semoga *Ida Sang Hyang Widi Wasa*/Tuhan Yang Mahaesa selalu melimpahkan rahmat-Nya kepada semua pihak yang telah membantu pelaksanaan dan penyelesaian tesis ini.

ABSTRAK

PEMBERIAN JUS DELIMA MERAH (*Punica granatum*) DAPAT MENINGKATKAN KADAR GLUTATION PEROKSIDASE DARAH PADA MENCIT (*Mus musculus*) DENGAN AKTIVITAS FISIK MAKSIMAL

Peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) menyebabkan akumulasi kerusakan oksidatif yang merupakan salah satu faktor penyebab penuaan. Jika jumlah radikal bebas meningkat melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh terjadilah stres oksidatif. Aktivitas fisik maksimal dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif, menyebabkan penurunan kadar antioksidan internal Glutation Peroksidase (GPx) darah. Jus delima merah mengandung antioksidan *antocyanin* yang cukup tinggi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jus delima merah (*Punica granatum*) dalam meningkatkan kadar GPx darah mencit yang mengalami stres oksidatif karena aktivitas fisik maksimal.

Penelitian ini dilakukan di Lab oratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan *Pretest-Postest Control Group Design*. Sebanyak 24 ekor mencit jantan yang mengalami stres oksidatif akibat aktivitas fisik maksimal dibagi menjadi empat kelompok, kelompok kontrol atau plasebo (P0), kelompok perlakuan 1 (P1) 0,5 ml jus delima merah, kelompok perlakuan 2 (P2) 1 ml jus delima merah dan kelompok perlakuan 3 (P3) 2 ml jus delima merah, selama 14 hari. Semua kelompok dilakukan pemeriksaan kadar GPx darah di awal dan akhir perlakuan.

Hasil analisis menunjukkan bahwa rerata kadar GPx pada kelompok P0, P1, P2 dan P3 sebelum diberikan perlakuan jus delima merah tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) dan setelah diberikan perlakuan berbeda bermakna ($p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah pemberian jus delima merah terjadi peningkatan kadar GPx pada kelompok P1 (36,34 vs 65,92), P2 (39,87 vs 99,68) dan P3 (41,16 vs 124,11) dengan nilai $p = 0,001$.

Penelitian ini menyimpulkan bahwa jus delima merah dapat meningkatkan kadar GPx darah mencit yang diberi aktivitas fisik maksimal. Dengan peningkatan dosis jus delima merah, terjadi peningkatan kadar GPx darah mencit.

Kata kunci : Jus delima merah, GPx, aktivitas fisik maksimal

ABSTRACT

POMEGRANATE (*Punica granatum*) JUICE ADMINISTRATION INCREASED BLOOD LEVEL GLUTATHIONE PEROXIDASE IN MICE (*Mus musculus*) INDUCED BY MAXIMAL PHYSICAL ACTIVITY

Increased production of reactive oxygen species (ROS) causing accumulation of oxidative damage is one of causative factors of aging. If free radicals capacity exceeding anti oxidant capacity in the body, it causes oxidative stress. Maximal physical activity caused oxidative stress, induce decrease of blood internal antioxidant Glutathione Peroxidase (GPx). Pomegranate juice contained high antioxidant *antocyanin*. The aims of this study is to investigate the effect of pomegranate (*Punica granatum*) juice for increasing GPx concentration in mice (*Mus musculus*) blood in stress oxidative state induced by maximal physical activity.

The study was conducted at the Department of Pharmacology Faculty of Medicine Udayana University using *Pretest-Postest Control Group Design*. Twenty four mice with oxidative stress induced by maximal physical activity were divided into 4 groups, as control or placebo group (P0), intervention group 1 (P1) by 0,5 ml of pomegranate juice, intervention group 2 (P2) by 1 ml of pomegranate juice, and intervention group 3 (P3) by 2 ml of pomegranate juice, for 14 days. All groups were examined for blood GPx concentration before and after intervention.

Analysis showed not significantly difference ($p > 0,05$) between GPx concentration among groups P0, P1, P2 and P3 before administration pomegranate juice and significantly difference ($p < 0,05$) after administratin pomegranate juice. This study revealed increase GPx concentration in group P1 (36,34 vs 65,92), P2 (39,87 vs, 99,68) and P3 (41,16 vs 124,11) with $p = 0,001$.

This study concluded that pomegranate juice can increase blood level GPx in mice induced by maximal physical activity. Blood level GPx in mice increase with increasing dose of pomegranate juice.

Keywords : Pomegranate juice, GPx, maximal physical activity

DAFTAR ISI

Sampul Dalam	i
Prasyarat Gelar	ii
Lembar Pengesahan	iii
Penetapan Panitia Penguji	iv
Ucapan Terima Kasih	v
Abstrak	vii
Abstract	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.3.1 Tujuan Umum	7
1.3.2 Tujuan Khusus	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
1.4.1 Manfaat Ilmiah.....	8
1.4.2 Manfaat Praktis	8

BAB II KAJIAN PUSTAKA

2.1	Teori Proses Penuaan.....	9
2.2	Aktivitas Fisik Yang Berlebih.....	11
2.3	Stres Oksidatif.....	13
2.4	Glutation Peroksidase	15
2.5	Buah Delima (<i>Punica Granatum</i>).....	17
2.6	Mencit (<i>Mus Musculus</i>).....	20

BAB III KERANGKA BERPIKIR, KONSEP DAN HIPOTESIS

PENELITIAN

3.1	Kerangka Berpikir	22
3.2	Kerangka Konsep	23
3.2	Hipotesis Penelitian	23

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1	Rancangan Penelitian	25
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	26
4.3	Sampel	26
4.3.1	Kriteria Sampel Penelitian	26
4.3.2	Besar Sampel.....	27
4.3.3	Teknik Pengambilan Sampel	27
4.4	Variabel Penelitian	28
4.4.1	Klasifikasi variabel.....	28

4.4.2	Definisi operasional variabel	28
4.5	Prosedur penelitian	29
4.5.1	Pembuatan jus delima merah (<i>Punica Granatum</i>)	29
4.5.2	Pemilihan dan Pemeliharaan hewan Uji	30
4.5.3	Pemberian Jus Delima merah pada mencit (<i>Mus Musculus</i>)	31
4.5.4	Pengukuran kadar glutathion peroksidase dalam darah mencit	32
4.5.5	Parameter yang diamati	33
4.5.6	Alur penelitian.....	34
4.6	Alat dan bahan	35
4.7	Analisis Data.....	35

BAB V HASIL PENELITIAN

5.1	Uji Normalitas Data Kadar GPx.....	36
5.2	Uji Homogenitas Data Antar Kelompok.....	37
5.3	Kadar Glutathion Peroksidase (GPx)	37
5.3.1	Uji Komparabilitas Kadar GPx	37
5.3.2	Analisis Efek Perlakuan Kadar GPx.....	38
5.3.3	Analisis Komparasi Antara Sebelum dengan Sesudah Perlakuan	41

BAB VI PEMBAHASAN HASIL PENELITIAN

6.1	Subyek Penelitian	43
6.2	Peningkatan kadar Glutathion Peroksidase (GPx) setelah pemberian jus delima merah.....	43

6.3	Pengaruh Aktivitas Fisik Maksimal Terhadap Proses Penuaan.....	47
-----	--	----

BAB VII SIMPULAN DAN SARAN

7.1	Simpulan.....	49
-----	---------------	----

7.2	Saran.....	49
-----	------------	----

DAFTAR PUSTAKA	50
-----------------------------	----

LAMPIRAN	55
-----------------------	----

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Kandungan Kit Glutation Peroksidase.....	32
5.1 Hasil Uji Normalitas Kadar Glutation (GPx) Kelompok Sebelum Dan Sesudah Perlakuan	36
5.2 Uji Homogenitas Kadar GPx antar Kelompok Sebelum dan Sesudah diberikan Perlakuan	37
5.3 Rerata Kadar GPx antar Kelompok Sebelum Diberikan Perlakuan	37
5.4 Rerata Kadar GPx antar Kelompok Sesudah Diberikan Perlakuan	38
5.5 Analisis Komparasi Kadar GPx Sesudah Perlakuan Antar Kelompok.....	40
5.6 Analisis Komparasi Kadar GPx Antar Kelompok Sebelum dan Sesudah Perlakuan	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Buah Delima Merah (<i>Punica Granatum</i>).....	18
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	23
4.1 Rancangan Penelitian	25
4.2 Alur Penelitian.....	34
5.1 Grafik Peningkatan Glutation Peroksidase (GPx) Setelah Pemberian Jus delima Merah.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Konversi Perhitungan Dosis Untuk Beberapa Jenis Hewan dan Manusia	55
Lampiran 2 Uji Normalitas Terhadap Data GPx Sebelum dan Sesudah Perlakuan dengan Menggunakan Uji <i>Shapiro-Wilk</i>	56
Lampiran 3 Uji <i>One Way Anova</i> dan Homogenitas Pada Data Kadar GPx Sebelum dan Sebelum Perlakuan	57
Lampiran 4 Ethical Clearence	59

BABI

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penuaan adalah proses yang akan dialami oleh semua makhluk hidup. Pada mulanya manusia menerima dengan pasrah hal ini. Tetapi dengan kemajuan ilmu dan teknologi kedokteran, proses penuaan dapat diperpanjang. Keberhasilan dalam hidup sehat meliputi kesehatan yang baik, menurunnya faktor resiko terhadap penyakit, organ-organ tubuh berfungsi dengan baik dan mampu hidup aktif.

Penuaan dapat didefinisikan sebagai suatu proses penurunan fungsi organisme yang terjadi seiring dengan berjalannya waktu. Penuaan merupakan hasil dari perubahan struktur dan fungsi sel suatu organisme dalam suatu periode. Proses penuaan menyebabkan meningkatnya kerentanan terhadap suatu penyakit bahkan kematian (Wihandani, 2009). Penurunan fungsi berbagai organ tubuh tersebut mengakibatkan muncul berbagai tanda dan gejala proses penuaan, baik itu tanda fisik maupun psikis. Tanda fisik pada proses penuaan seperti masa otot berkurang, lemak meningkat, kulit berkerut, daya ingat berkurang, fungsi seksual terganggu, kemampuan kerja menurun dan sakit tulang. Kemudian yang termasuk tanda psikis antara lain menurunnya gairah hidup, sulit tidur, mudah cemas, mudah tersinggung dan merasa tidak berarti lagi (Pangkahila, 2007).

Setelah mencapai usia dewasa, secara alamiah seluruh komponen tubuh tidak dapat berkembang lagi. Sebaliknya justru terjadi penurunan karena proses

penuaan. Banyak faktor yang menyebabkan terjadinya proses penuaan, yang pada dasarnya dibagi menjadi faktor internal dan eksternal. Beberapa faktor internal ialah radikal bebas, hormon yang berkurang, apoptosis, genetik, dan sistem kekebalan yang menurun. Faktor eksternal antara lain diet tidak sehat, gaya hidup tidak sehat, kebiasaan salah, polusi lingkungan, stres, dan kemiskinan (Pangkahila, 2007).

Karena berbagai faktor itulah terjadi proses penuaan, sehingga orang menjadi tua dan akhirnya meninggal. Tetapi kalau faktor itu dapat dihindari, maka proses penuaan tentu dapat dihambat dan kualitas hidup dapat dipertahankan. Karena itulah usia harapan hidup di negara maju lebih tinggi daripada di negara berkembang atau negara miskin. Jadi tantangan pokok adalah bagaimana menghindari faktor penyebab itu (Pangkahila, 2007).

Saat ini, dunia kedokteran dan kesehatan banyak membahas tentang radikal bebas (*free radical*) dan antioksidan. Hal ini terjadi karena sebagian besar penyakit diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh. Tampaknya oksigen merupakan sesuatu yang paradoksial dalam kehidupan. Molekul ini sangat dibutuhkan oleh organisme aerob karena memberikan energi pada proses metabolisme dan respirasi, namun pada kondisi tertentu keberadaannya dapat berimplikasi pada berbagai penyakit dan kondisi degeneratif, seperti penuaan, artritis, kanker, dan lain-lain (Starkov and Wallace, 2006).

Dalam dunia kedokteran dibutuhkan pembuktian semaksimal mungkin terhadap efektivitas suatu obat yang dikenal sebagai *evidence base medicine* yaitu kedokteran berdasarkan bukti yang akurat. Perdebatan dalam jurnal-jurnal ilmiah

masih sangat panjang. Untuk itu dibutuhkan pembuktian yang akurat (Cooper, 2001).

Aktivitas fisik yang berlebihan dan pengaruh lingkungan secara tidak langsung menyebabkan timbulnya radikal bebas. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan, bersifat tidak stabil, mempunyai reaktivitas yang sangat tinggi terhadap sel dan komponen sel di sekitarnya dan cenderung menyerang sel-sel tubuh sehingga menyebabkan kerusakan sel secara berantai. Radikal bebas dapat berasal dari luar (eksternal) dan dari dalam tubuh (internal) yang dapat menyebabkan kerusakan pada pembuluh darah sehingga tubuh menjadi rentan terhadap penyakit. Beberapa sumber radikal bebas eksternal antara lain: polusi lingkungan (asap rokok, asap kendaraan, asap pabrik), aktivitas fisik yang berlebih, sinar ultra violet dari matahari, radiasi, obat-obatan, pestisida. Sumber radikal bebas internal antara lain inflamasi, iskemia, dan penyakit (Cooper, 2001; Lei *et al*, 2007).

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif. Senyawa ini terbentuk di dalam tubuh, dipicu oleh bermacam-macam faktor. Radikal bebas bisa terbentuk, misalnya, ketika komponen makanan diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme. Pada proses metabolisme ini sering terjadi kebocoran elektron. Dalam kondisi demikian, mudah sekali terbentuk radikal bebas, seperti anion superoksida, hidroksil, dan lain-lain. Radikal bebas juga terbentuk dari senyawa lain yang sebenarnya bukan radikal bebas, tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas. Misalnya hidrogen peroksida

(H₂O₂), ozon, dan lain-lain. Kedua kelompok senyawa tersebut sering diistilahkan sebagai Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) (Droge, 2007).

Kemiripan sifat antara radikal bebas dan oksidan terletak pada agresivitas untuk menarik elektron di sekelilingnya. Radikal bebas lebih berbahaya, karena tingginya reaktivitas senyawa radikal bebas tersebut, yang mengakibatkan terbentuknya senyawa radikal baru. Bila senyawa radikal baru tersebut bertemu dengan molekul lain, akan terbentuk radikal baru lagi, dan seterusnya sehingga akan terjadi reaksi rantai (*chain reaction*). Reaksi seperti ini akan berlanjut terus dan baru akan berhenti apabila reaktivitasnya diredam (*quenched*) oleh senyawa yang bersifat antioksidan (Winarsi, 2007).

Dalam pengertian kimia, senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Secara biologis, pengertian antioksidan yaitu senyawa yang mampu meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh atau yang dapat menangkal radikal bebas penyebab kerusakan sel dalam tubuh. Keseimbangan oksidan dan antioksidan sangat penting karena berkaitan dengan berfungsinya sistem imunitas tubuh. Kondisi seperti ini terutama untuk menjaga integritas dan berfungsinya membran lipid, protein sel, dan asam nukleat, serta mengontrol transduksi signal dan ekspresi gen dalam sel imun. Defisiensi antioksidan yang berupa vitamin C, vitamin E, Se, Zn, dan glutathion dalam derajat ringan hingga berat sangat berpengaruh terhadap respon imun. Karena itu penambahan antioksidan dalam tubuh merupakan salah satu upaya untuk mengurangi kerusakan oksidatif / stres oksidatif pada tubuh kita. Mengonsumsi antioksidan

dalam diet sehari-hari dapat memberi perlindungan terhadap stres oksidatif (Best, 2007).

Aktivitas fisik yang berlebih dapat meningkatkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif adalah suatu keadaan dimana produksi radikal bebas melebihi produksi antioksidan. Saat tubuh kita menggunakan oksigen, secara alami akan dihasilkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan. Kerusakan oksidatif terjadi sebagai akibat dari rendahnya antioksidan dalam tubuh sehingga tidak dapat mengimbangi reaktivitas senyawa oksidan. Kerusakan oksidatif yang berulang dan dalam waktu lama akan menyebabkan sel atau jaringan akan kehilangan fungsinya dan rusak (Suryohusodo, 2000; Singh, 2006).

Sel-sel tubuh juga memiliki sistem pertahanan terhadap radikal bebas, menggunakan enzim yang disebut sistem *Nrf2* (*nuclear factor erythroid 2- related factor 2*). Jadi sistem *Nrf2* adalah faktor transkripsi yang akan melindungi sel tubuh kita dari kerusakan. Sistem ini akan bekerja optimal apabila distimulasi oleh bahan-bahan fitonutrien dan buah-buahan (Ishii *et al*, 2005; Franklin, 2009).

Secara umum, antioksidan dibedakan menjadi 2 kelompok yaitu : antioksidan enzimatis / antioksidan primer / antioksidan pencegah dan antioksidan non enzimatis / antioksidan sekunder / antioksidan pemutus reaksi rantai. Antioksidan enzimatis terdiri dari superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), dan katalase yang dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Antioksidan ini bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang

telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif (Chevion *et al*, 2003). Antioksidan non enzimatis disebut juga antioksidan pemutus reaksi rantai terdiri dari vitamin C, vitamin E, dan beta karoten. Antioksidan ini bekerja dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Akibatnya, radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan enzimatis dan antioksidan non enzimatis tersebut bekerja sama memerangi aktivitas senyawa oksidan dalam tubuh (Tilak and Devasagayam, 2006).

Buah delima (*Punica granatum*) merupakan salah satu sumber antioksidan dari tumbuh-tumbuhan dengan kandungan polifenol dan antosianin yang cukup tinggi. Pigmen antosianin bertanggung jawab untuk warna merah, ungu dan biru dari buah, sayuran dan bunga. Antosianin merupakan salah satu antioksidan kuat yang mampu mencegah berbagai kerusakan akibat stress oksidatif sehingga mampu melindungi sel dari radikal bebas (Yanjun *et al*, 2009; Cao *et al*, 2001).

Studi yang dilakukan di *American University of Beirut Medical Center*, Beirut, Libanon menunjukkan bahwa jus delima merah mengurangi oedem paru, mengurangi inflamasi dan memberi respon yang baik pada parenkim paru, pada paru-paru mencit yang mengalami hiperoksia (Husari *et al*, 2009).

Studi laboratorium pada mencit yang mengalami aterosklerotik menunjukkan bahwa pemberian suplemen jus delima merah dapat mengurangi lesi aterosklerotik sebanyak 44 %, dibandingkan dengan mencit yang hanya diberi air. Jus delima merah merupakan sumber antioksidan, karena mengandung polifenol kompleks dan flavonoid seperti: katekin, antosianin, phenolik (Aviram *et al*, 2000).

Jus delima merah merupakan sumber antioksidan alami dengan kandungan antosianin yang cukup tinggi dan mudah ditemukan di Indonesia. Meskipun beberapa penelitian dilaporkan bahwa jus delima merah merupakan salah satu sumber antioksidan yang baik, belum ada penelitian yang melaporkan apakah jus delima merah dapat meningkatkan kadar glutathion peroksidase pada mencit yang mengalami stres oksidatif setelah aktivitas fisik maksimal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang penelitian yang telah diuraikan di atas, maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

Apakah pemberian jus delima merah (*Punica granatum*) dapat meningkatkan kadar Glutathion Peroksidase (GPx) darah pada mencit dengan aktivitas fisik maksimal ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui pemberian jus delima merah (*Punica granatum*) dapat meningkatkan kadar antioksidan internal dalam darah mencit yang mengalami stres oksidatif dengan aktivitas fisik maksimal.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Untuk mengetahui pemberian jus delima merah (*Punica granatum*) dapat meningkatkan kadar glutathion peroksidase (GPx) darah pada mencit dengan aktivitas fisik maksimal.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah :

1.4.1 Manfaat Ilmiah

Hasil penelitian diharapkan akan memberi wawasan ilmiah tentang pengaruh pemberian jus delima merah sebagai antioksidan yang dapat mencegah terjadinya stres oksidatif sebagai salah satu penyebab proses penuaan.

1.4.2 Manfaat praktis

Diharapkan hasil yang diperoleh dapat bermanfaat dan digunakan sebagai evaluasi pemakaian jus delima merah sebagai antioksidan pada masyarakat.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Teori Proses Penuaan

Selama proses penuaan, banyak terjadi perubahan yang diakibatkan oleh berbagai faktor. Terdapat banyak teori penuaan yang dikemukakan oleh para ahli. Tetapi kebanyakan teori belum dapat dibuktikan sepenuhnya pada manusia karena waktu hidup manusia relatif panjang. Masing-masing teori atau hipotesa saling melengkapi satu dengan yang lainnya. Tidak ada satu teoripun yang dapat menjelaskan secara tuntas tentang proses penuaan ini (Goldman and Klatz, 2003).

Telah banyak dilakukan penelitian untuk menyokong teori-teori penuaan yang sampai saat ini masih menjadi topik perdebatan. Teori-teori ini mendasari berbagai perubahan biokimia maupun biomolekuler yang terjadi dalam proses penuaan. Beberapa teori penuaan yang banyak dipelajari antara lain :

1. Teori Radikal Bebas

Teori ini pertama kali dikemukakan oleh Denham Harman pada tahun 1956. Menurut teori ini, penuaan merupakan akibat dari akumulasi perubahan-perubahan yang disebabkan oleh reaksi dalam tubuh yang dipicu oleh radikal bebas. Perubahan oleh radikal bebas ini diyakini sebagai penyebab utama dari penuaan, penyakit dan kematian. Radikal bebas adalah molekul dengan elektron yang tidak berpasangan dengan reaktivitas yang sangat tinggi, yang dihasilkan selama proses metabolisme sel normal (endogenus) maupun didapat dari sumber-sumber di luar tubuh (eksogenus). Kita telah mengetahui bahwa radikal bebas

dapat merusak membran sel, protein dan DNA dan berakibat fatal bagi kelangsungan hidup sel/ jaringan. Efek buruk radikal bebas berupa reaksi rantai (*chain reaction*) yang menyebabkan oksidasi bahan-bahan organik oleh molekul oksigen. Ini akan menimbulkan kerusakan fungsi seluler akibat dari mutasi DNA, pemecahan DNA dan agregasi biomolekul melalui reaksi *cross-linking*. Radikal bebas tidak hanya berdampak pada penuaan, tetapi juga pada penyakit-penyakit yang berhubungan dengan umur seperti aterosklerosis, penyakit Parkinson, Alzheimer dan gangguan sistem imun. Dalam keadaan fisiologis, akibat buruk dari radikal bebas dapat diredam oleh tubuh baik secara enzimatis maupun non enzimatis oleh senyawa-senyawa yang tergolong antioksidan. Bila suatu ketika jumlah antioksidan tubuh kurang dari yang diperlukan untuk meredam efek buruk radikal bebas, maka akan terjadi stres oksidatif. Jika hal ini terjadi dalam waktu yang berkepanjangan maka akan terjadi penumpukan dari hasil kerusakan oksidatif di dalam sel dan jaringan yang akan menyebabkan sel / jaringan tersebut kehilangan fungsinya dan akhirnya mati. Penumpukan hasil kerusakan radikal bebas tersebut terutama dalam keadaan stress oksidatif akan meningkat dengan bertambahnya umur dan diduga merupakan penyebab utama terjadinya proses penuaan (Goldman and Klatz, 2003).

2. Teori Kerusakan DNA

Proses yang dianggap mendasari terjadinya penuaan adalah tidak sempurnanya *molecular repair* dan sebagai konsekuensinya terjadi penumpukan kerusakan molekuler sepanjang waktu. Kerusakan dapat berupa utas DNA yang patah, pembentukan ikatan kovalen dan atau *chromosomal rearrangements*.

Penyebab kerusakan molekuler dapat berasal dari internal maupun eksternal. Penyebab internal seperti radikal bebas, glikosilasi sedangkan penyebab eksternal antara lain radiasi, polusi, mutagen gas dan kimia. Kerusakan DNA menumpuk seiring dengan berjalannya waktu hingga terjadi kerusakan yang sangat parah dari keadaan normal. Untungnya kita diberi anugrah untuk dapat mendeteksi dan memperbaiki kerusakan DNA. Sehingga terdapat keseimbangan antara kerusakan DNA dengan efisiensi DNA repair yang terjadi selama hidup. Hipotesis ini mendasari perbedaan lama hidup beberapa spesies yang berbeda.

3. Teori Wear and Tear.

Teori ini diperkenalkan th 1882 oleh Dr. August Weisman, seorang ahli biologi dari Jerman. Dikatakan bahwa sel dan organ tubuh akan rusak karena terlalu sering digunakan.

Penyalahgunaan organ tubuh membuat kerusakan lebih cepat. Pada saat usia muda, tubuh masih mampu melakukan kompensasi terhadap pengaruh buruk dari luar. Tetapi saat menjadi tua, tubuh kehilangan kemampuan untuk itu. Teori ini menyatakan bahwa pemberian suplemen yang tepat dan pengobatan lebih dini dapat membantu mengembalikan proses penuaan. Mekanismenya adalah dengan merangsang kemampuan tubuh untuk melakukan perbaikan (Goldman and Klatz, 2003).

2.2 Aktivitas Fisik yang Berlebih

Olah raga yang teratur dan tepat dapat mempertahankan kebugaran fisik. Kondisi lingkungan yang memadai dan takaran pelatihan yang tepat untuk setiap

individu meliputi frekuensi, intensitas, tipe dan waktu sangat mendukung untuk mendapatkan hasil yang maksimal dan resiko yang minimal pada pelatihan olah raga. Frekuensi pelatihan yang dianjurkan 3-4 kali seminggu dengan intensitas 72%-87% dari denyut jantung maksimal (220-umur) dengan variasi 10 denyut per menit. Tipe pelatihan yang dianjurkan adalah kombinasi dari latihan aerobik dan pelatihan otot dalam waktu 30-60 menit, yang didahului oleh pemanasan selama 15 menit dan diakhiri oleh pendinginan selama 10 menit (Pangkahila, 2009).

Pada keadaan normal, radikal bebas terbentuk secara perlahan, kemudian dinetralisasi oleh antioksidan yang ada dalam tubuh. Namun jika laju pembentukan radikal bebas sangat meningkat karena dipicu oleh latihan yang berlebihan, jumlah radikal bebas akan melebihi kemampuan sistem pertahanan tubuh dan tidak dapat dinetralisasi oleh antioksidan dalam tubuh. Hal ini dapat mengakibatkan kerusakan pada membran sel, otot, tulang dan jaringan (Cooper, 2001).

Peningkatan konsumsi oksigen oleh tubuh selama berolah raga berat dapat meningkat sepuluh sampai dua puluh kali atau lebih. Di bawah stres yang tinggi, dalam serat otot terjadi peningkatan penggunaan oksigen di atas kebutuhan normal. Peningkatan oksigen yang luar biasa ini dapat memicu pelepasan radikal bebas, yang akan terlibat dalam proses oksidasi lemak membran sel otot. Proses tersebut disebut peroksidasi lipid dan menyebabkan sel menjadi lebih mudah mengalami proses penuaan atau kerusakan lain (Cooper, 2001).

Pelatihan fisik berlebih diakibatkan oleh volume pelatihan yang terlalu banyak, intensitas pelatihan yang terlalu banyak, durasi pelatihan terlalu panjang dan frekwensi pelatihan yang terlalu sering (Hatfield, 2001).

Aktivitas fisik berat dapat meningkatkan konsumsi oksigen, karena terjadi peningkatan metabolisme di dalam tubuh. Peningkatan penggunaan oksigen terutama oleh otot-otot yang berkontraksi, menyebabkan terjadi peningkatan kebocoran elektron dari mitokondria yang akan menjadi ROS (*Reactive Oxygen Species*). Oksigen yang digunakan dalam proses metabolisme tubuh saat aktivitas fisik berat, dapat menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas yang bersifat sangat reaktif terhadap sel atau komponen sel sekitarnya (Chevion *et al*, 2003; Evan, 2000).

2.3 Stres Oksidatif

Latihan fisik yang teratur memberi efek positif bagi kesehatan. Pada saat latihan fisik, terjadi peningkatan jumlah oksigen dan peningkatan aktivitas otot-otot skeletal, kelelahan dan kemampuan fisik yang menurun. Pada saat latihan fisik, kebutuhan akan oksigen meningkat. Oksigen walaupun sangat dibutuhkan, ternyata juga bersifat toksis. Hal ini akan memicu terjadinya peningkatan produk *Reactive Oxygen Species (ROS)* dan radikal bebas. Aktivitas fisik yang berat atau berlebih dapat meningkatkan terjadinya stres oksidatif. Suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan akan menimbulkan suatu keadaan yang disebut dengan stres oksidatif. Ketika jumlah antioksidan yang diperlukan oleh tubuh saat mengalami stres oksidatif tidak mencukupi, akan

dapat merusak membran sel, protein, dan DNA. Dengan demikian penumpukan hasil kerusakan oksidatif yang berulang dan dalam waktu yang lama akan menyebabkan sel atau jaringan akan kehilangan fungsinya dan rusak / mati (Sen and Packer, 2000).

Stres oksidatif terjadi akibat menurunnya jumlah oksigen dan nutrisi, sehingga menimbulkan proses iskemik dan kerusakan mikrovaskular. Keadaan ini disebut dengan *Reperfusion Injury*. Hal ini juga dapat memicu terjadinya kerusakan jaringan (Sasaki and Joh , 2007).

Stres oksidatif yang meningkat dapat memicu timbulnya berbagai penyakit dan mempercepat terjadinya proses penuaan (Sen and Packer, 2000; Atalay and Laaksonen, 2002). Hal ini disebabkan oleh kadar antioksidan yang rendah atau adanya inhibisi terhadap enzim antioksidan yang menyebabkan kerusakan sel. Berbagai antioksidan endogenus dan eksogenus berperan penting dalam melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif dan berbagai penyakit kronis (Sen *et al*, 2010).

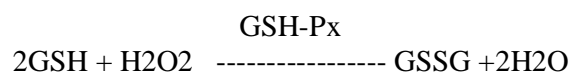
Saat ini banyak beredar di pasaran berbagai produk antioksidan, vitamin, mineral, dan obat-obat herbal yang belum terbukti secara ilmiah. Pemberian hormon dan antioksidan saat ini banyak dilakukan untuk menghambat terjadinya proses penuaan. Masyarakat diharapkan lebih teliti dalam hal ini (Pangkahila, 2007).

2.4 Glutation Peroksidase

Dalam menghadapi serangan terhadap radikal bebas, tubuh memiliki mekanisme perlindungan melalui sistem antioksidan tubuh, yang terdiri dari glutathion peroksidase (GPx), enzim superoksid dismutase (SOD), katalase dan antioksidan ekstraseluler yang kebanyakan berasal dari makanan, seperti vitamin E, vitamin C, dan beta karoten. Kekurangan salah satu komponen tersebut dapat menyebabkan terjadi penurunan status antioksidan secara menyeluruh pada seseorang, sehingga perlindungan tubuh terhadap serangan radikal bebas akan menurun (Chevion *et al*, 2003).

Status antioksidan dalam tubuh dapat diamati dalam berbagai parameter. Misalnya aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (Winarsi dkk, 2003), kadar malondialdehida (MDA) (Winarsi, 2004), vitamin C, vitamin E, vitamin A plasma, dan lain-lain. Potensi satu jenis antioksidan perlu didukung oleh jenis antioksidan yang lain. Masing-masing jenis antioksidan memiliki sifat dan cara kerja yang mungkin tidak sama, namun keduanya memiliki target yang tidak berbeda, yaitu menekan atau menghambat reaktivitas radikal bebas (Damiani *et al*, 2008).

Glutation peroksidase (GPx, EC 1.11.1.9) adalah enzim yang berperan penting dalam melindungi organisme dari kerusakan oksidatif dan mengandung selenium (Se) pada sisi aktifnya. Kerja enzim ini mengubah molekul hidrogen peroksida (yang dihasilkan SOD dalam sitosol dan mitokondria) dan berbagai hidro serta lipid peroksida menjadi air.



Glutation peroksidase adalah enzim intraseluler yang terdispersi dalam sitoplasma, namun aktivitasnya juga ditemukan dalam mitokondria. Glutation peroksidase ekstraseluler (secara genetik berbeda dari bentuk intraseluler) terdeteksi dalam berbagai jaringan.

Selenium (Se) adalah mineral yang penting untuk sintesis protein dan aktivitas enzim glutathion peroksidase. Selenium terdapat dalam glutathion peroksidase sel darah merah. Aktivitas glutathion peroksidase memerlukan glutathion sebagai kosubstrat dan enzim glutathion reduktase untuk merestorasi glutathion teroksidasi menjadi bentuk tereduksi.

Glutation peroksidase sebagai enzim antioksidan bekerja sebagai peredam (*quenching*) radikal bebas (Sen *et al*, 2010). Glutation peroksidase juga berperan dalam metabolisme xenobiotik yang ditemukan dalam kadar milimolar dalam sel.

Dalam hepar dan sel darah merah terdapat glutathion peroksidase dengan konsentrasi tinggi, sedangkan jantung, ginjal, paru-paru, adrenal, lambung, dan jaringan adipose mengandung kadar glutathion peroksidase dalam kadar sedang. Glutation peroksidase kadar rendah sering ditemukan dalam otak, otot, testis, dan lensa mata.

Enzim glutathion peroksidase yang ditemukan dalam sitoplasma tersebut merupakan tetramer, dan mengandung selenosistein pada sisi aktifnya. Enzim ini bersifat nukleofilik, yang sangat mudah terionisasi dan mengakibatkan terlepasnya proton.

Aktivitas enzim glutathion peroksidase juga ditemukan dalam mitokondria, plasma, dan saluran pencernaan. Dalam sitoplasma, enzim glutathion peroksidase

bekerja pada membran fosfolipid yang teroksidasi sehingga dikenal juga sebagai *hydroperoxide glutathione peroxidase*. Enzim glutathione peroksidase juga dapat langsung mereduksi hidroperoksida kolesterol, ester kolesterol, lipoprotein, dan fosfolipid yang teroksidasi dalam membran sel. Aktivitas enzim tersebut dapat juga diinduksi oleh keadaan hiperoksia (Asikin, 2001).

Pada proses penuaan terjadi disfungsi mitokondria dan akumulasi dari kerusakan oksidatif. Dengan demikian akan menyebabkan terjadinya peningkatan stress oksidatif dengan bertambahnya usia. Glutathione peroksidase yang rendah berkorelasi dengan gangguan yang berhubungan dengan radikal bebas (Judge *et al*, 2005).

Pada penderita nekrosis hati dan penyakit degeneratif, aktivitas glutathione peroksidase rendah karena terjadi defisiensi selenium. Aktivitas enzim ini juga dapat diinduksi oleh antioksidan sekunder isoflavon (Rohrdanz *et al* 2002., Chen *et al*, 2002).

2.5 Buah Delima (*Punica granatum*)

Buah delima (*Punica granatum*) merupakan tanaman yang berasal dari Persia dan daerah Himalaya di India Selatan. Yang tersebar di Indonesia ada tiga jenis yang dikelompokkan berdasarkan warna buahnya, yakni delima putih, delima merah, dan delima hitam. Dari ketiga jenis itu yang paling terkenal adalah delima merah. Delima merah memiliki rasa lebih manis dan segar, sedangkan delima putih rasanya lebih sepat dan kesat serta kurang manis. Delima putih dan delima hitam agak sulit ditemukan di pasaran (Astawan, 2008).



Gambar 2.1 Buah delima merah (sumber : Budka, 2008)

Beberapa flavonoid yang terdapat pada tumbuh- tumbuhan memiliki khasiat antioksidan. Salah satu komponen flavonoid dari tumbuh- tumbuhan yang dapat berfungsi sebagai antioksidan adalah zat warna alami yang disebut antosianin. Warna merah pada delima disebabkan oleh kandungan antosianin yang cukup tinggi pada buah delima. Antosianin yang dapat diidentifikasi pada buah delima merah antara lain *delphinidin 3-glucoside* dan *3,5diglucoside*, *cyanidin 3-glucoside* dan *3,5 diglucoside*, *pelargonidin 3-glucoside* dan *3,5 diglucoside*. Rasa kesat pada buah delima disebabkan oleh kandungan flavonoid (golongan polifenol) yang tinggi. Salah satu peran flavonoid yang penting adalah sebagai antioksidan. Flavonoid dapat menstabilkan senyawa oksigen reaktif yang dapat mengurangi kerusakan akibat radikal bebas (Yanjun *et al*, 2009; Nijveldt, 2001).

Buah delima juga kaya akan fitosterol. Fitosterol merupakan komponen biokimia yang mempunyai fungsi berlawanan dengan kolesterol bila dikonsumsi manusia. Selain itu, fitosterol juga tahan terhadap oksidasi, sehingga dapat digolongkan antioksidan pangan (Astawan, 2008).

Tinggi pohon delima merah kurang lebih mencapai 5 meter, menyukai tanah gembur yang tidak terendam air dan memiliki beberapa varietas. Memiliki daun tunggal, bertangkai pendek, letaknya berkelompok, mengkilap, berbentuk lonjong dengan pangkal lancip, ujung tumpul, tepi rata, tulang menyirip, ukuran panjang daun 3-7 cm dan lebar 0,5-2,5 cm, warna hijau. Bunga tunggal bertangkai pendek, keluar di ujung ranting atau di ketiak daun paling atas. Biasanya terdapat satu sampai lima bunga, warnanya merah, putih atau ungu. Berbunga sepanjang tahun. Kulit buahnya tebal dan warnanya beragam seperti hijau keunguan, putih, coklat kemerahan atau ungu kehitaman. Buahnya berbentuk bulat dengan diameter 5-12 cm, beratnya kurang lebih 100-300 gram, terdiri dari biji-biji kecil, tersusun tidak beraturan, berwarna putih sampai kemerahan. Perbanyakkan dengan stek, tunas akar atau cangkok (Budka, 2008., Desmond, 2000).

Klasifikasi ilmiah (sumber : Budka, 2008) :

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Rosidae
Ordo : Myrtales
Famili : Lythraceae
Genus : Punica
Spesies : *Punica granatum*

Beberapa studi menyebutkan manfaat dan keuntungan dari delima pada manusia antara lain sebagai antioksidan yang sangat baik untuk mengurangi tubuh

kita dari kerusakan oksidatif. Asupan antioksidan sekunder dari bahan pangan sangat diperlukan. Makin tinggi asupan antioksidan eksogenus, makin tinggi pula status antioksidan endogenus. Jadi diperlukan konsumsi bahan makanan yang kaya akan komponen antioksidan dalam jumlah memadai, agar mampu menginduksi kerja enzim antioksidan dalam tubuh sehingga mampu menekan kerusakan sel yang berlebihan dan mempertahankan status antioksidan seluler (Harborne and William, 2001; Buhler and Miranda, 2000).

Bagian dari buah delima yang dapat dimakan (kurang lebih 50% dari berat total buah) terdiri dari 80% jus dan 20% biji. Jus segar dari buah delima mengandung 85% air, 10% gula dan 1,5 % pektin, asam askorbat, dan flavonoid polifenol (Eibond, 2004). Kandungan polifenol dalam jus delima tergantung dari jenis atau varietasnya yang sebagian besar terdiri dari antosianin, katekin, ellagic tannins, gallic dan ellagic acid. Polifenol kompleks bersifat sebagai antioksidan yang dapat diserap dalam tubuh manusia. Selain polifenol, jus delima juga mengandung vitamin C yang bersifat sebagai antioksidan (Buhler and Miranda, 2000; Ignarro *et al*, 2006).

2.6 Mencit (*Mus musculus*)

Dalam melakukan penelitian dengan hewan diperlukan pengetahuan dan ketrampilan tentang penanganan hewan uji. Peneliti harus bekerja dengan tenang, tidak terburu-buru dan menangani hewan uji secara benar, agar penelitian dapat berjalan lancar sesuai dengan rencana (Ngatidjan, 2006).

Pada penelitian ini digunakan mencit jantan dewasa, strain Balb-C, sehat, berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-22 gram. Percobaan dengan menggunakan mencit sebagai hewan coba harus memperhatikan beberapa prinsip dalam pemeliharaannya, seperti pengawasan lingkungan, kenyamanan, nutrisi, dan kesehatannya. Sehingga diharapkan akan didapat hasil yang sesuai dengan tujuan penelitian (Ngatidjan, 2006).

Ada dua sifat yang membedakan tikus dari hewan coba lain, yaitu: tikus tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim yaitu esofagus menjadi satu dengan lambung dan tikus tidak mempunyai kandung empedu.

BAB III

KERANGKA BERPIKIR, KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Berpikir

Dari kajian pustaka telah dijelaskan bahwa proses penuaan menyebabkan terjadi perubahan dan penurunan fungsi seluruh komponen tubuh. Banyak faktor yang menyebabkan penuaan antara lain faktor internal dan eksternal. Faktor internal meliputi radikal bebas, hormon yang berkurang, apoptosis, genetik dan sistem kekebalan yang menurun. Faktor eksternal meliputi gaya hidup tidak sehat, diet tidak sehat, kebiasaan salah, polusi, lingkungan, stres dan kemiskinan.

Aktivitas fisik yang berlebihan dan pengaruh lingkungan secara tidak langsung menyebabkan timbulnya radikal bebas. Radikal bebas merupakan salah satu penyebab terjadinya proses penuaan. Radikal bebas dapat merusak membran sel, protein, dan DNA yang akan berakibat fatal bagi kelangsungan hidup sel atau jaringan. Dalam keadaan fisiologis, akibat buruk radikal bebas dapat diredam tubuh oleh senyawa-senyawa yang termasuk antioksidan. Bila jumlah radikal bebas melebihi antioksidan tubuh akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Jika hal ini terjadi dalam waktu yang berkepanjangan akan terjadi penumpukan hasil kerusakan oksidatif dalam sel dan jaringan sehingga sel dan jaringan akan kehilangan fungsinya.

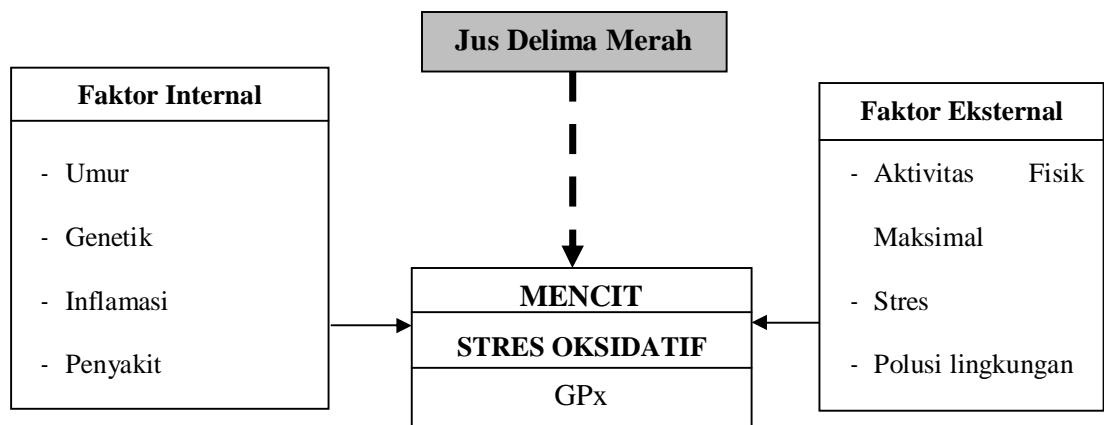
Status antioksidan dalam tubuh dapat diamati dengan berbagai parameter, salah satunya aktivitas enzim glutathion peroksidase (GPx). Glutathion peroksidase adalah enzim yang berperan penting dalam melindungi organisme dari kerusakan

oksidatif. Kadar glutathion peroksidase yang rendah berkorelasi dengan gangguan yang berhubungan dengan radikal bebas.

Kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dapat dicegah salah satunya dengan pemberian antioksidan. Salah satu antioksidan yang memiliki kemampuan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas adalah antosianin. Antosianin merupakan golongan flavonoid. Banyak bahan makanan yang mengandung antosianin, salah satunya delima merah yang merupakan antioksidan yang sangat baik untuk mengurangi tubuh kita dari kerusakan oksidatif.

3.2 Kerangka Konsep

Berdasarkan rumusan masalah dan tinjauan pustaka, maka dapat disusun kerangka konsep sebagai berikut :



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

3.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep penelitian di atas, ditetapkan hipotesis penelitian sebagai berikut :

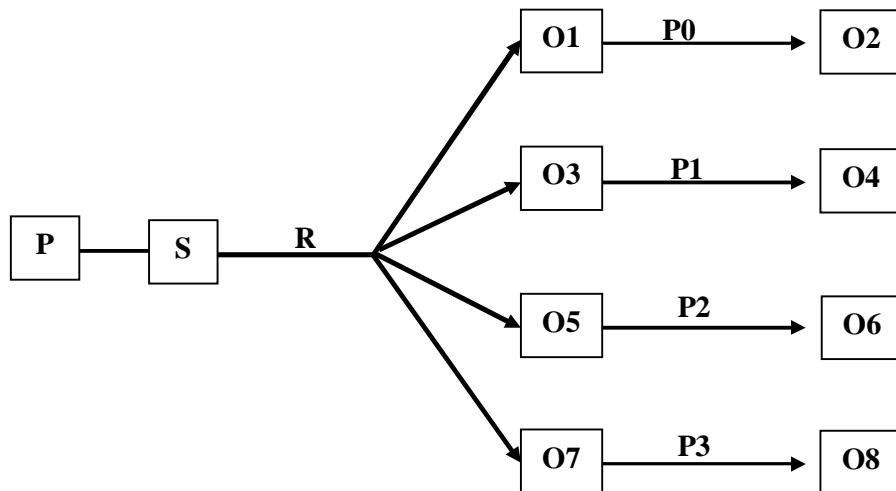
Pemberian jus delima merah (*Punica granatum*) dapat meningkatkan kadar glutathion peroksidase darah pada mencit (*Mus musculus*) dengan aktivitas fisik maksimal.

BAB IV
METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni, dengan menggunakan *pre test and post test control group design* (Petrie dan Sabin, 2003).

Untuk lebih jelasnya dapat digambarkan dengan skema berikut :



Gambar 4.1 Rancangan Penelitian

Keterangan :

P : Populasi

S : Subyek Penelitian

R : Randomisasi

O1, O3, O5, O7 : Pre test pada kelompok mencit sebelum perlakuan jus delima merah (pengukuran kadar GPx sebelum perlakuan)

O2, O4, O6, O8 : Post test pada kelompok mencit setelah perlakuan berupa jus delima merah (pengukuran kadar GPx setelah perlakuan)

- P0 : Kelompok kontrol (2 ml aquades)
- P1 : Kelompok perlakuan 1 (0,5 ml jus delima merah)
- P2 : Kelompok perlakuan 2 (1 ml jus delima merah)
- P3 : Kelompok perlakuan 3 (2 ml jus delima merah)

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di *Animal Laboratory Unit* Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana selama 5 minggu. Pemeriksaan kadar antosianin dan total polifenol jus delima merah dilakukan di UPT Laboratorium Kimia Analitik Universitas Udayana. Pemeriksaan kadar GPx darah mencit *pre test* dan *post test* dilakukan di Laboratorium PAU - Universitas Gajah Mada.

4.3 Sampel

4.3.1 Kriteria Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian berikut berdasarkan kriteria sebagai berikut :

a. Kriteria inklusi

1. Mencit jantan (strain Balb-C)
2. Umur 2-3 bulan
3. Berat badan 20-22 gram
4. Sehat

b. Kriteria drop out

1. Mencit tidak mau makan.

2. Mencit mati.

4.3.2 Besar Sampel

Besar sampel yang diperlukan dalam penelitian ini didasarkan pada rumus Pocock (2008) :

$$n = \frac{2 \sigma^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2} \times f(\alpha, \beta)$$

Keterangan :

- n = jumlah sampel
- μ_1 = rerata hasil variabel kelompok perlakuan
- μ_2 = rerata hasil variabel kelompok kontrol
- σ = simpang baku kelompok kontrol
- α = tingkat kesalahan I (ditetapkan 0,05)
- β = tingkat kesalahan II (ditetapkan 0,1)
- $f(\alpha, \beta)$ = besarnya diperoleh dari tabel (Pocock, 2008, tabel 9.1, pp. 125)

Untuk memperoleh jumlah sampel melalui penelitian pendahuluan. Berdasarkan penelitian pendahuluan diperoleh rerata kadar GPx sebelum perlakuan (μ_2) adalah 32,32 dan sesudah perlakuan (μ_1) yaitu 37,14 sehingga diperoleh jumlah sampel 5,31 ekor, dibulatkan menjadi 6 ekor. Jadi total sampel yang diperlukan adalah 24 ekor mencit (Sugianto, 2011).

4.3.3 Teknik Pengambilan Sampel

Oleh karena sampel ini bersifat homogen yaitu mencit jantan yang memenuhi syarat sebagai sampel penelitian berdasarkan kriteria inklusi, maka diambil secara acak sederhana untuk mendapatkan jumlah sampel. Sampel yang dipilih dibagi menjadi 4 kelompok yaitu P0 (kelompok kontrol), P1 (kelompok perlakuan 1), P2

(kelompok perlakuan 2), P3 (kelompok perlakuan 3). Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit jantan.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Klasifikasi Variabel

- a. Variabel bebas : jus delima merah (*Punica granatum*), aktifitas fisik maksimal.
- b. Variabel tergantung : kadar glutathion peroksidase (GPx) dalam darah mencit (*Mus musculus*)
- c. Variabel kendali : Jenis mencit, umur mencit , berat badan mencit, jenis kelamin mencit, nutrisi, kondisi lingkungan (suhu, kelembaban, cahaya), kesehatan mencit.

4.4.2 Definisi Operasional Variabel

- a. Jus buah delima merah (*Punica granatum*) : adalah jus yang dibuat dari buah delima merah (*Punica granatum*) tanpa biji yang diperoleh dari Bandung, Jawa Barat. Nilai antosianin jus delima merah yang akan diberi pada mencit dianalisis di UPT Laboratorium Kimia Analitik , Universitas Udayana dengan metode spektrofotometri. Pada sampel jus delima merah yang dianalisis menunjukkan kadar total polifenol 1416,8 mg/L, antosianin 684,5 mg/L.
- b. Aktivitas fisik maksimal : adalah pelatihan fisik pada mencit yang direnangkan selama 45 menit, diukur berdasarkan waktu maksimal kemampuan renang mencit pada ember dengan kedalaman air 25 cm. Untuk

menjaga agar mencit terus bergerak selama waktu yang ditentukan maka dilakukan rangsangan pada ekor mencit dengan lidi setiap kali mencit berhenti berenang. Tanda-tanda kelelahan berupa mencit hampir tenggelam oleh karena menurunnya kek uatan otot, menurunnya waktu reaksi serta menurunnya frekwensi gerakan dan menurunnya refleks (Binekada, 2002).

- c. Kadar glutathion peroksidase : diukur dalam darah mencit (*pre test* dan *post test*) dengan menggunakan *Glutathione Peroxidase Assay Kit* merk *Bio Vision*
- d. Jenis mencit : yang dipergunakan adalah strain Balb-C.
- e. Umur mencit : ditentukan dengan mencatat tanggal kelahiran
- f. Berat badan : berat mencit yang ditimbang dengan timbangan gram.
- g. Jenis kelamin : yang digunakan adalah mencit jantan

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Pembuatan Jus Delima Merah (*Punica granatum*)

Jus delima merah dibuat dari buah delima merah produk lokal. Setelah dipetik, buah delima merah dicuci bersih, didinginkan dan disimpan pada suhu 4°C. Setelah dicuci bersih buah dipisahkan dari kulitnya. Buah delima merah diperas dengan juicer sehingga dihasilkan jus delima merah yang sudah terpisah dari bijinya. Setelah disaring, jus delima merah disimpan di lemari es (Aviram *et al*, 2000).

4.5.2 Pemilihan dan Pemeliharaan Hewan Uji

Mencit yang akan dijadikan sampel adalah strain Balb-C, jantan, berumur 2-3 bulan, dengan berat 20-25 gram, sehat, dilakukan adaptasi selama 7 hari di tempat penelitian untuk penyesuaian dengan lingkungan. Pemeliharaan hewan uji harus diperhatikan. Adanya penyakit, kondisi lingkungan yang sehat, makanan yang memenuhi syarat, penggunaan insektisida merupakan faktor penting yang harus diperhatikan. Makanan dan minuman diberi setiap hari dan diberi tambahan berupa zat besi, asam folat dan vitamin B12 untuk membantu pembentukan sel darah sehingga mencit tidak mengalami gangguan hemodinamik akibat pengambilan darah.

Kesehatan mencit dipantau dengan cara mengamati keaktifan perilaku mencit setiap hari. Apabila mencit mengalami sakit maka segera dipisahkan dan dilakukan pengobatan. Setelah penelitian selesai, mencit dibiarkan hidup. Apabila memungkinkan mencit tersebut dapat digunakan kembali untuk penelitian yang lain.

Prinsip kandang tikus laboratorium sama dengan kandang mencit laboratorium, tetapi kandang tikus sedikit lebih besar. Bagian lantai kandang diisi sekam dengan tujuan untuk menyerap kotoran mencit. Pada bagian samping kandang disediakan satu tempat makanan dan satu botol air minum untuk persediaan makan dan minum setiap hari. Kandang harus cukup kuat, tidak mudah rusak. Kandang harus dibuat dari bahan yang baik, mudah dibersihkan, mudah dibongkar dan dipasang lagi. Kandang harus tahan gigitan, hewan tidak mudah lepas dan hewan harus tampak jelas dari luar (Ngatidjan, 2006).

4.5.3 Pemberian Jus Delima Merah (*Punica granatum*) pada Mencit (*Mus musculus*)

Pada penelitian ini diperlukan 24 ekor mencit jantan yang sehat. Adaptasi terhadap mencit dilakukan selama 7 hari. Pengambilan darah untuk pre test dilakukan pada hari ke 8 melalui *medial canthus sinus orbitalis* di mata sebanyak 0,5 ml untuk pemeriksaan glutathion peroksidase (GPx). Kemudian mencit diistirahatkan selama 2 hari. Pada hari ke 11 mencit dibagi dalam 4 kelompok, selanjutnya diberi perlakuan selama 14 hari. Kelompok kontrol (P0) hanya diberikan aquades 2 ml. Kelompok P1 diberi 0,5 ml jus delima merah/ekor/hari. Kelompok P2 diberi 1 ml jus delima merah/ekor/hari. Kelompok P3 diberi 2 ml jus delima merah/ekor/hari. Dosis ini didapat berdasarkan hasil konversi dosis antosianin dari manusia ke mencit. Dosis antosianin manusia 1-2 gram/70kg. Konversi untuk mencit 0,0026. Jadi dosis antosianin untuk mencit didapat 2,6-5,4 mg/mencit. Dari perhitungan didapat tiap ekor mencit dapat diberi 3,8 ml jus delima merah. Karena kapasitas lambung mencit hanya 1,5 ml maka akan diberi 2 ml/ekor/hari yaitu pagi 1 ml dan sore 1 ml. Dalam penelitian ini juga akan diberi jus delima merah dengan dosis 0,5 ml dan 1 ml pada kelompok yang berbeda. Setelah diberi perlakuan selama 14 hari, seluruh kelompok direnangkan pada masing-masing ember hingga hampir tenggelam selama 45 menit, kemudian mencit dikeringkan dengan handuk dan dijemur kurang lebih 10 menit dengan panas matahari. Kemudian dilakukan pengambilan darah sebanyak 0,5 ml di *medial canthus sinus orbitalis* pada semua kelompok mencit untuk pemeriksaan GPx *post test*.

Pemberian jus delima merah pada mencit dilakukan dengan cara mencomot kulit kuduknya dengan tangan kiri sehingga kulit terjepit telunjuk dan ibu jari. Ini diperkuat dengan jepitan pangkal ibu jari dan jari lainnya pada kulit punggung dan ekornya dikaitkan pada kelingking tangan kiri. Jus diberikan per oral dengan sonde tumpul. Sonde dimasukkan dengan hati-hati sampai di lambung. Setelah yakin sonde masuk ke dalam lambung dan tidak ke paru, barulah jus dipompa ke lambung (Ngatidjan, 2006).

4.5.4 Pengukuran Kadar Glutation Peroksidase (GPx) dalam Darah Mencit (*Mus musculus*)

Pengambilan darah untuk pemeriksaan glutathion peroksidase (GPx) pada setiap mencit diambil sebanyak 0,5ml melalui *medial canthus sinus orbitalis*. Pemeriksaan kadar GPx darah dilakukan dengan *Glutathione Peroxidase Assay Kit* merek *Bio Vision* dan dikerjakan di Laboratorium PAU UGM Yogyakarta. Kit disimpan pada suhu -20 °C, terlindung dari sinar matahari langsung.

Isi Kit :

Tabel 4.1 Kandungan Kit Glutation Peroksidase

Komponen	K762-100
GPx Assay Buffer	25 ml
NADPH	Lyophilized
GR	2 µl
GSH	Lyophilized
Cumene Hydroperoxide	2 µl
GPx Positive Control	Lyophilized

Penghitungan Glutation Peroksidase (GPx):

$$\text{GPx} = \frac{(B-B^{\circ})}{(T_2-T_1) \times V} \times \text{Dilusi sample} = \text{nmol/menit/ml} = \text{mU/ml}$$

Keterangan :

B = sampel

B[°] = kontrol

T₁ = waktu saat pembacaan pertama

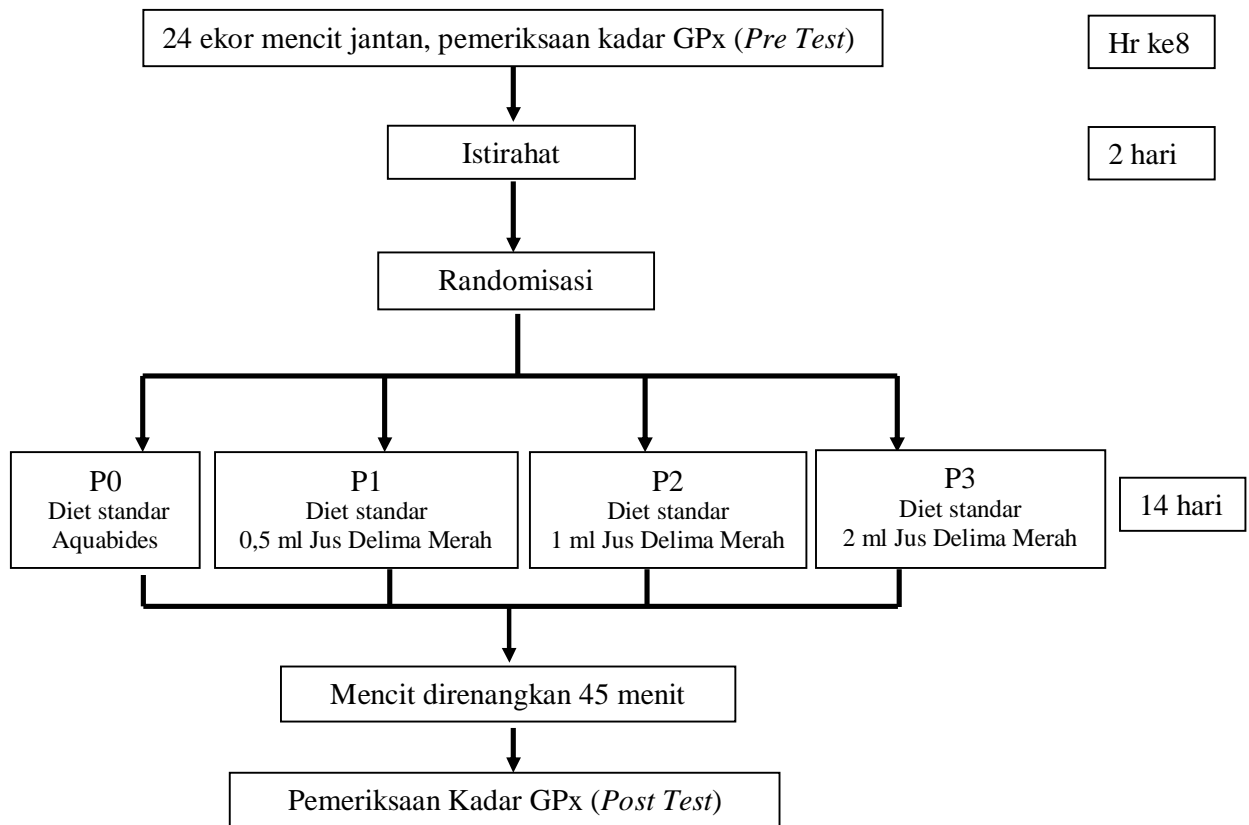
T₂ = waktu saat pembacaan kedua

V = volume sampel *pre test* ditambah ke sumur pereaksi

4.5.5 Parameter yang Diamati

Peningkatan kadar glutaion peroksidase (GPx) dalam darah mencit yang diberikan jus delima merah (*Punica granatum*) selama 14 hari setelah pemberian aktivitas fisik maksimal (direnangkan selama 45 menit hingga hampir tenggelam).

4.5.6 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur penelitian

Jumlah mencit jantan yang dipakai pada penelitian sebanyak 24 ekor. Dipilih mencit jantan yang sehat dan dilakukan adaptasi selama 7 hari. Hari ke 8 seluruh mencit diperiksa glutathion peroksidase (GPx) pre test. Istirahat selama 2 hari. Kemudian mencit dibagi ke dalam 4 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. P0 (kelompok kontrol diberi air 2ml), P1 (kelompok perlakuan diberi 0,5 ml jus delima merah / ekor / hari), P2 (kelompok perlakuan diberi 1 ml jus delima merah /ekor / hari), P3 (kelompok perlakuan diberi 2 ml jus delima merah / ekor /hari). Jus delima merah diberi selama 14 hari. Setelah itu seluruh

kelompok direnangkan hingga hampir tenggelam selama 45 menit. Kemudian setelah mencit dikeringkan dilakukan pengambilan sampel post test untuk pemeriksaan glutation peroksidase (GPx) pada semua kelompok.

4.6 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan adalah kandang tikus, bak untuk merenangkan tikus, spuit 3 ml dan 5 ml, sarung tangan, jarum suntik sonde berujung tumpul, pipet kapiler darah, evendof, EDTA, box pendingin.

4.7 Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini meliputi:

- a. Analisis deskriptif untuk berat mencit (*Mus musculus*).
- b. Uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Diperoleh data berdistribusi normal ($p > 0,05$).
- c. Uji homogenitas data dengan *Levene test*. Diperoleh data homogen ($p > 0,05$).
- d. Uji komparasi, data penelitian berdistribusi normal dan homogen, maka menggunakan uji *one way Anova* untuk mengetahui perbedaan antara kelompok dan dilanjutkan dengan *Least Significant Differences (LSD) test*.
- e. Derajat kemaknaan pada penelitian ini adalah $\alpha = 0,05$

BAB V

HASIL PENELITIAN

Dalam penelitian ini digunakan sebanyak 24 ekor mencit jantan dewasa strain Balb-C dengan berat badan 20-22 gram dan berumur 2-3 bulan sebagai sampel, yang terbagi menjadi 4 (empat) kelompok masing-masing berjumlah 6 ekor mencit, yaitu kelompok kontrol (air), kelompok jus delima merah 0,5 ml, kelompok jus delima merah 1 ml, dan kelompok jus delima merah 2 ml. Dalam pembahasan ini akan diuraikan uji normalitas data, uji homogenitas data, uji komparabilitas, dan uji efek perlakuan.

5.1 Uji Normalitas Data Kadar Glutation Peroksidase (GPx)

Data kadar Glutation Peroksidase (GPx) baik sebelum perlakuan maupun sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok diuji normalitasnya dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Hasilnya menunjukkan data berdistribusi normal ($p > 0,05$), disajikan pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1
Hasil Uji Normalitas Kadar Glutation Peroksidase (GPx) Kelompok Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Kelompok Subjek	n	p	Keterangan
Kontrol pre	6	0,919	Normal
Kelompok Jus delima merah 0,5 ml pre	6	0,450	Normal
Kelompok Jus delima merah 1 ml pre	6	0,493	Normal
Kelompok Jus delima merah 2 ml pre	6	0,956	Normal
Kontrol post	6	0,960	Normal
Kelompok Jus delima merah 0,5 ml post	6	0,128	Normal
Kelompok Jus delima merah 1 ml post	6	0,964	Normal
Kelompok Jus delima merah 2 ml post	6	0,964	Normal

5.2 Uji Homogenitas Data antar Kelompok

Data kadar GPx antar kelompok baik sebelum perlakuan maupun sesudah perlakuan diuji homogenitasnya dengan menggunakan uji *Levene's test*. Hasilnya menunjukkan data homogen ($p > 0,05$), disajikan pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2
Uji Homogenitas Kadar Glutation Peroksidase (GPx) antar Kelompok Sebelum dan Sesudah Diberikan Perlakuan

Kelompok Subjek	F	P	Keterangan
Kadar Glutation Peroksidase pre	0,16	0,224	Homogen
Kadar Glutation Peroksidase post	2,18	0,146	Homogen

5.3 Kadar Glutation Peroksidase (GPx)

5.3.1 Uji komparabilitas Kadar GPx

Uji Komparabilitas bertujuan untuk membandingkan rerata kadar Glutation Peroksidase (GPx) antar kelompok sesudah diberikan aktivitas fisik maksimal dan sebelum diberikan perlakuan berupa jus delima merah. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *One Way Anova* disajikan pada Tabel 5.3 berikut.

Tabel 5.3
Rerata Glutation Peroksidase (GPx) antar Kelompok Sebelum Diberikan Perlakuan

Kelompok Subjek	N	Rerata GPx	SB	F	P
Kontrol	6	35,37	3,38	2,234	0,116
Jus delima merah 0,5 ml	6	36,34	3,74		
Jus delima merah 1 ml	6	39,87	3,98		
Jus delima merah 2 ml	6	41,16	6,42		

Tabel 5.3 di atas, menunjukkan bahwa rerata Glutation Peroksidase (GPx) kelompok kontrol adalah $35,37 \pm 3,38$, rerata kelompok Jus delima merah 0,5 ml adalah $36,34 \pm 3,74$, kelompok Jus delima merah 1 ml adalah $39,87 \pm 3,98$, dan kelompok Jus delima merah 2 ml adalah $41,16 \pm 6,42$. Analisis kemaknaan dengan uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa nilai $F = 2,234$ dan nilai $p = 0,116$. Hal ini berarti bahwa keempat kelompok sebelum diberikan aktivitas fisik maksimal dan sebelum diberikan perlakuan berupa jus delima merah, rerata glutathion peroksidasinya tidak berbeda secara bermakna ($p > 0,05$).

5.3.2 Analisis efek perlakuan kadar GPx

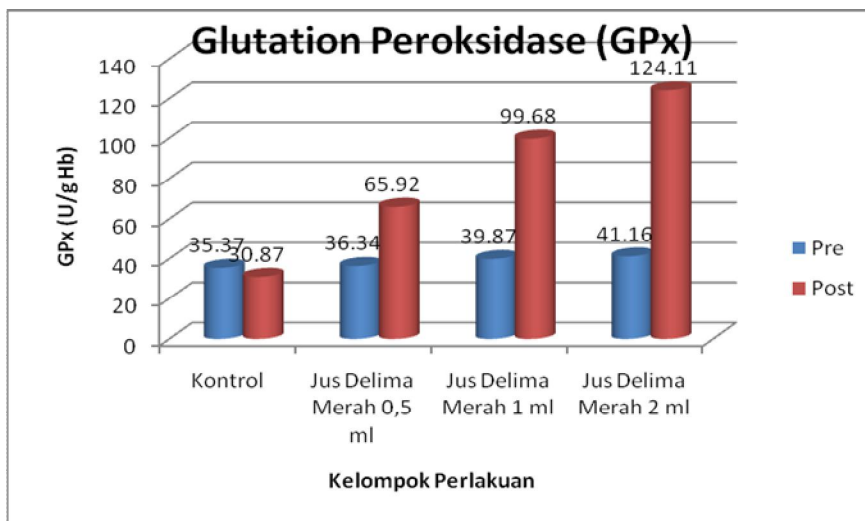
Analisis efek perlakuan diuji berdasarkan rerata kadar Glutation Peroksidase (GPx) antar kelompok sesudah diberikan aktivitas fisik maksimal dan sesudah diberikan perlakuan berupa jus delima merah. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *One Way Anova* disajikan pada Tabel 5.4 berikut.

Tabel 5.4
Rerata Glutation Peroksidase (GPx) antar Kelompok Sesudah Diberikan Perlakuan

Kelompok Subjek	N	Rerata GPx	SB	F	P
Kontrol	6	30,87	2,73	137,162	0,001
Jus delima merah 0,5 ml	6	65,92	5,69		
Jus delima merah 1 ml	6	99,68	4,17		
Jus delima merah 2 ml	6	124,11	4,17		

Tabel 5.4 di atas, menunjukkan bahwa rerata Glutation Peroksidase (GPx) kelompok kontrol adalah $30,87 \pm 2,73$, rerata kelompok Jus delima merah 0,5 ml adalah $65,92 \pm 5,69$, kelompok Jus delima merah 1 ml adalah $99,68 \pm 4,17$, dan

kelompok Jus delima merah 2 ml adalah $124,11 \pm 4,17$. Analisis kemaknaan dengan uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa nilai $F = 137,162$ dan nilai $p = 0,001$. Hal ini berarti bahwa keempat kelompok sesudah diberikan aktivitas fisik maksimal dan sesudah diberikan perlakuan berupa jus delima merah, rerata glutation peroksidasinya berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).



Gambar 5.1 Grafik Peningkatan Glutation Peroksidase (GPx) setelah Pemberian Jus Delima Merah

Gambar 5.1 di atas menggambarkan bahwa pemberian jus delima merah dengan dosis 0,5 ml, 1 ml dan 2 ml dapat meningkatkan kadar Glutation Peroksidase (GPx) dibandingkan dengan kontrol.

Untuk mengetahui kelompok yang berbeda dengan kelompok kontrol perlu dilakukan uji lanjut dengan *Least Significant Difference – test (LSD)*. Hasil uji disajikan di bawah ini.

Tabel 5.5
Analisis Komparasi Glutation Peroksidase (GPx) Sesudah Perlakuan antar
Kelompok

Kelompok	Beda Rerata	P	Interpretasi
Kontrol dan jus delima merah 0,5 ml	35,05	0,001	Berbeda
Kontrol dan jus delima merah 1 ml	68,81	0,001	Bermakna Berbeda
Kontrol dan jus delima merah 2 ml	93,24	0,001	Bermakna Berbeda Bermakna
Jus delima merah 0,5 ml dan 1 ml	33,76	0,001	Berbeda Bermakna
Jus delima merah 0,5 ml dan 2 ml	58,20	0,001	Berbeda Bermakna
Jus delima merah 1 ml dan 2 ml	24,44	0,001	Berbeda Bermakna

Hasil uji lanjutan di atas menunjukkan bahwa :

1. Rerata Glutation Peroksidase kelompok kontrol berbeda bermakna dengan kelompok jus delima merah 0,5 ml (rerata kelompok jus delima merah 0,5 ml lebih tinggi daripada rerata kelompok kontrol).
2. Rerata Glutation Peroksidase kelompok kontrol berbeda secara bermakna dengan kelompok jus delima merah 1 ml (rerata kelompok jus delima merah 1 ml lebih tinggi daripada rerata kelompok kontrol).
3. Rerata Glutation Peroksidase kelompok kontrol berbeda secara bermakna dengan kelompok jus delima merah 2 ml (rerata kelompok jus delima merah 2 ml lebih tinggi daripada rerata kelompok kontrol).

4. Rerata Glutation Peroksidase kelompok jus delima merah 0,5 ml berbeda secara bermakna dengan kelompok jus delima merah 1 ml (rerata kelompok jus delima merah 1 ml lebih tinggi daripada rerata kelompok jus delima merah 0,5 ml).
5. Rerata Glutation Peroksidase kelompok jus delima merah 0,5 ml berbeda secara bermakna dengan kelompok jus delima merah 2 ml (rerata kelompok jus delima merah 2 ml lebih tinggi daripada rerata kelompok jus delima merah 0,5 ml).
6. Rerata Glutation Peroksidase kelompok jus delima merah 1 ml berbeda secara bermakna dengan kelompok jus delima merah 2 ml (rerata kelompok jus delima merah 2 ml lebih tinggi daripada rerata kelompok jus delima merah 1 ml).

5.3.3 Analisis komparasi antara Sebelum dengan Sesudah Perlakuan

Analisis komparasi diuji berdasarkan rerata Glutation Peroksidase antara sebelum dengan sesudah diberikan perlakuan berupa jus delima merah. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *t-paired* disajikan pada Tabel 5.6 berikut.

Tabel 5.6
Analisis Komparasi Glutation Peroksidase antara Sebelum dan Sesudah
Perlakuan

Kelompok	Beda Rerata pre – post	P	Keterangan
Kontrol	4,50	0,001	Menurun
jus delima merah 0,5 ml	29,58	0,005	Meningkat
jus delima merah 1 ml	59,80	0,001	Meningkat
jus delima merah 2 ml	82,95	0,001	Meningkat

Berdasarkan uji *t-paired* didapatkan bahwa ada penurunan Glutation Peroksidase pada kelompok kontrol sebesar 4,50, sedangkan pada kelompok jus delima merah 0,5 ml, 1 ml, dan 2 ml mengalami peningkatan secara bermakna masing-masing sebesar 29,58 (81,40%), 59,80 (149,99%), dan 82,95 (201,53%).

BAB VI

PEMBAHASAN HASIL PENELITIAN

6.1. Subyek Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan sebanyak 24 ekor mencit jantan dewasa strain Balb-C dengan berat badan 20-22 gram dan berumur 2-3 bulan sebagai sampel, yang terbagi menjadi 4 (empat) kelompok masing-masing berjumlah 6 ekor mencit, yaitu kelompok kontrol (aquades), kelompok jus delima merah 0,5 ml, kelompok jus delima merah 1 ml, dan kelompok jus delima merah 2 ml. Data kadar Glutation Peroksidase (GPx) baik sebelum perlakuan maupun sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok diuji normalitasnya dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Hasilnya menunjukkan bahwa semua data berdistribusi normal dan homogen, sehingga digunakan uji parametrik, yaitu uji *One Way Anova* dan Uji *t-paired*.

6.2 Peningkatan Kadar Glutation Peroksidase (GPx) Setelah Pemberian Jus Delima Merah

Berdasarkan hasil analisis didapatkan bahwa rerata Glutation Peroksidase (GPx) kelompok kontrol adalah $35,37 \pm 3,38$, rerata kelompok Jus delima merah 0,5 ml adalah $36,34 \pm 3,74$, kelompok jus delima merah 1 ml adalah $39,87 \pm 3,98$, dan kelompok Jus delima merah 2 ml adalah $41,16 \pm 6,42$. Analisis kemaknaan dengan uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa rerata kadar Glutation

Peroksidase (GPx) pada keempat kelompok sebelum perlakuan tidak berbeda ($p > 0,05$).

Selanjutnya setelah diberikan perlakuan, berdasarkan hasil analisis didapatkan bahwa rerata Glutation Peroksidase (GPx) kelompok kontrol adalah $30,87 \pm 2,73$, rerata kelompok jus delima merah 0,5 ml adalah $65,92 \pm 5,69$, kelompok jus delima merah 1 ml adalah $99,68 \pm 4,17$, dan kelompok jus delima merah 2 ml adalah $124,11 \pm 4,17$. Berdasarkan hasil analisis didapatkan bahwa sesudah perlakuan antara keempat kelompok hasilnya berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

Pada keadaan normal, radikal bebas terbentuk secara perlahan, kemudian dinetralsiasi oleh antioksidan yang ada dalam tubuh. Namun jika laju pembentukan radikal bebas sangat meningkat karena dipicu oleh latihan yang berlebihan, jumlah radikal bebas akan melebihi kemampuan sistem pertahanan tubuh dan tidak dapat dinetralsiasi oleh antioksidan dalam tubuh. Hal ini dapat mengakibatkan kerusakan pada membran sel, otot, tulang dan jaringan (Cooper, 2001).

Terjadinya penurunan kadar Glutation Peroksidase (GPx) sesudah diberikan pelatihan fisik maksimal, dapat menyebabkan stres fisik. Untuk itu diperlukan masa pemulihan yaitu waktu yang dibutuhkan tubuh untuk kembali ke keadaan semula dari keadaan aktivitas pelatihan (Judge *et al*, 2005).

Peningkatan konsumsi oksigen oleh tubuh selama berolah raga berat dapat meningkat sepuluh sampai dua puluh kali atau lebih. Di bawah stres yang tinggi, dalam serat otot terjadi peningkatan penggunaan oksigen di atas kebutuhan

normal. Peningkatan oksigen yang luar biasa ini dapat memicu pelepasan radikal bebas di mitokondria, yang mengakibatkan penggunaan GPx dalam tubuh meningkat. Hal ini menyebabkan jumlah GPx dalam tubuh akan menurun. Sedangkan pada otot yang tidak berkontraksi, jumlah oksigen akan menurun yang menyebabkan terjadinya proses iskemik. Dengan pemberian antioksidan diharapkan jumlah GPx akan meningkat (Cooper, 2001).

Selanjutnya terjadinya peningkatan kadar Glutation Peroksidase (GPx) sesudah perlakuan dengan aktivitas fisik maksimal yang disertai dengan pemberian jus delima merah, disebabkan karena delima merah (*Punica Granatum*) merupakan salah satu sumber antioksidan dari tumbuh-tumbuhan dengan kandungan antosianin yang cukup tinggi. Antosianin merupakan salah satu antioksidan kuat yang mampu mencegah berbagai kerusakan akibat stres oksidatif, sehingga dapat melindungi sel dari radikal bebas. Pigmen antosianin bersifat larut dalam air, yang bertanggung jawab untuk warna merah, ungu dan biru dari buah, sayuran dan bunga. Secara anatomis antosianin ditemukan dalam vakuola sel, terutama di bunga dan buah-buahan. Antosianin termasuk dalam kelas flavonoid yang terdistribusi sebagai polifenol pada tanaman (Cao *et al*, 2001; Yanjun *et al*, 2009).

Lebih lanjut diketahui bahwa dalam suatu studi yang dilakukan di *American University of Beirut Medical Center*, Beirut, Libanon menunjukkan bahwa jus delima merah dapat mengurangi oedem paru, mengurangi inflamasi dan memberi respon yang baik pada parenkim paru, pada paru-paru mencit yang mengalami hiperoksia (Husari *et al*, 2009).

Hasil penelitian yang dilakukan Fuhrman *et al* (2005) menunjukkan jus delima merah dapat menurunkan akumulasi kolesterol di makrophag dan menghambat pembentukan foam sel binatang coba.

Studi laboratorium pada mencit yang mengalami aterosklerotik menunjukkan bahwa pemberian suplemen jus delima merah dapat mengurangi lesi aterosklerotik sebanyak 44%, dibandingkan dengan mencit yang hanya diberi air. Jus delima merah merupakan sumber antosianin yang merupakan salah satu antioksidan yang kuat. Pigmen antosianin berperan dalam mencegah berbagai penyakit dan menangkap radikal bebas yang merusak sel (Aviram *et al*, 2000).

Ubi jalar ungu merupakan salah satu bahan makanan yang memiliki kandungan senyawa antioksidan yang tinggi yaitu antosianin, bervariasi antara 110mg/100g sampai 210mg/100g umbi segar. Seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Jawi dkk, mengatakan bahwa pemberian ekstrak ubi jalar ungu pada mencit menunjukkan aktivitas anti kanker. Disamping itu pada penelitian mencit yang diberikan aktivitas fisik berat yang diawali dengan pemberian ekstrak ubi jalar ungu ternyata mampu memperkecil kadar malondialdehid yang merupakan petanda terjadinya stres oksidatif (Jawi dkk, 2008).

Hasil penelitian yang dilakukan Inten (2011) menunjukkan bahwa sirop ubi jalar ungu yang mengandung antioksidan antosianin, secara signifikan dapat menurunkan kadar MDA (Malondialdehid) pada perokok sedang di Denpasar.

Berdasarkan hasil penelitian pemberian ekstrak kulit terung ungu yang mengandung antioksidan antosianin, dapat menurunkan kadar MDA dalam darah tikus wistar yang diinduksi aktivitas fisik maksimal (Abu Bakar, 2010).

Kandungan polifenol dalam jus delima merah tergantung dari jenis atau varietasnya yang sebagian besar terdiri dari antosianin, katekin, ellagic tannins, gallic, ellagic acid dan vitamin C yang bersifat sebagai antioksidan. (Eibond, 2004).

6.3 Pengaruh Aktivitas Fisik Maksimal Terhadap Proses Penuaan

Aktivitas fisik yang teratur dan terukur memberi pengaruh positif bagi kesehatan. Pada saat latihan fisik, terjadi peningkatan jumlah oksigen dan peningkatan aktivitas otot-otot skeletal, kelelahan dan kemampuan fisik yang menurun. Aktivitas fisik yang berat atau berlebih dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif yang meningkat dapat memicu timbulnya berbagai penyakit dan mempercepat terjadinya proses penuaan. Hal ini disebabkan oleh kadar antioksidan yang rendah dan dapat menyebabkan kerusakan sel (Sen and Parker, 2000; Margonis *et al*, 2007).

Penelitian yang dilakukan pada tikus wistar yang diberi latihan ketahanan (*endurance*) dan latihan fisik berlebih menunjukkan penurunan performa pada kelompok yang diberikan aktivitas berlebih. Aktivitas fisik yang berat atau berlebih mengakibatkan produksi karbondioksida akan meningkat. yang menyebabkan kelelahan, ketidaknyamanan dan kesulitan bernafas (Hohl *et al*, 2009).

Proses penuaan menurunkan fungsi kekebalan tubuh, meningkatkan resiko infeksi, kanker dan beberapa penyakit autoimun. Sel-sel dalam tubuh memiliki sistem pertahanan terhadap stres oksidatif dan radikal bebas. Sistem

Nrf2 (*nuclear factor erythroid 2-related factor 2*) merupakan faktor transkripsi dalam tubuh yang akan bekerja optimal apabila distimulasi oleh bahan-bahan fitonutrien dan buah-buahan. Dengan bertambahnya usia, aktivitas Nrf2 juga akan menurun. Untuk itu konsumsi makanan yang kaya akan fitonutrien sangat penting. Fitonutrien akan meningkatkan aktivitas Nrf2 dan mampu mengaktifkan transkripsi dari gen-gen, antara lain gen-gen yang menangkap radikal bebas. Dengan demikian akan memberi perlindungan sel-sel tubuh terhadap radikal bebas. Selain itu, modifikasi gaya hidup seperti pola hidup sehat, tidak merokok, dan aktivitas fisik yang teratur pada usia lanjut merupakan salah satu strategi untuk memiliki kualitas hidup yang tetap baik meski usia lanjut. Hal ini secara positif akan menurunkan resiko kematian dan memperlambat proses penuaan (Ishii *et al*, 2005; Franklin, 2009).

BAB VII

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan simpulan sebagai berikut: pemberian jus delima merah (*Punica granatum*) dapat meningkatkan kadar glutathion peroksidase darah pada mencit (*Mus Musculus*) dengan aktivitas fisik maksimal.

7.2 Saran

Sebagai saran dalam penelitian ini adalah : perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada manusia, sehingga diharapkan hasil yang diperoleh dapat bermanfaat dan digunakan sebagai evaluasi pemakaian jus delima merah sebagai antioksidan pada masyarakat.

Bagi masyarakat yang sering melakukan aktivitas berlebih disarankan untuk mengkonsumsi antioksidan yang dapat mencegah terjadinya stres oksidatif, salah satunya adalah dengan mengkonsumsi jus delima merah.

DAFTAR PUSTAKA

- Abu Bakar, O. 2010. Pemberian Ekstrak Kulit Terung Ungu-Antosianin (*Solanum melongena* L.) Menurunkan MDA Dalam Darah Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aktivitas Fisik Maksimal. (Tesis). Program Pasca Sarjana Ilmu Biomedik Universitas Udayana.
- Asikin, N. 2001. Antioksidan Endogen dan Penilaian Status Antioksidan. Dalam: Kursus Penyegaran dan Pelatihan Radikal Bebas dan Antioksidan: Dasar, Aplikasi, dan Pemanfaatan Bahan Alam. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI.
- Astawan, M. 2008. Sehat Dengan Buah. Cetakan pertama. Jakarta. Penerbit Dian Rakyat. Halaman: 40-45.
- Atalay, M. dan Laaksonen, D.E. 2002. Diabetes, Oxidative Stress and Physical Exercise. *Journal of Sport Science and Medicine*. 1: 1-14.
- Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., Coleman, R., Hayek, T., Presser, D., dan Fuhrman, B.S 2000. Pomegranate Juice Consumption Reduces Oxidative Stress, Atherogenic Modifications to LDL, and Platelet Aggregation : Studies in Human and in Atherosclerotic Apolipoprotein E-deficient Mice. Available from : <http://www.ajcn.org>. Accessed : 02-12-2009.
- Best, B. 2007. Free Radical - General Antioxidant Actions. Available from : www://http.GeneralAntioxidantActions.html. Accessed : 22-01-2010.
- Binekada, M.C. 2002. Pelatihan Fisik Berlebih Menurunkan Konsentrasi dan Motilitas Spermatozoa Mencit (Tesis). Denpasar: Universitas Udayana.
- Budka, F. 2008. Active Ingredients, Their Bioavailability and The Health Benefit of *Punica Granatum* Linn (Pomegranate). Accessed : 10-12-2009.
- Buhler, D.R. dan Miranda, C. 2000. Antioxidant Activities of Flavonoid. Departement of Environmental and Molecular Toxicology Oregon State University.
- Cao, G., Mumlitelli H.U., Moreno C.S., dan Prior R.L. 2001. Anthocyanins are Absorbed in Glycated Forms in Elderly Women. *American Journal Of Clinical Nutrition*. 73 (5): 920-926.
- Chen, C.Y., Holtzman, G.I., dan Bakhit, R.M. 2002. High-Genistin Isoflavone Supplementation Modulated Erythrocyte Antioxidant Enzymes and Increased Running Endurance in Rats Undergoing One Session of Exhausting Exercise-a Pilot Study. *Pakistan Journal of Nutrition*.1(1):1-7 .

- Chevion, S., Moran, D.S., Heled, Y., Shani, Y., Regrev, G., Abbou, B., Berenshtein, E., Stadman, E.R., dan Epstein, Y., 2003. Plasma Antioxidant Status and Cell Injury After Severe Physical Exercise. *Proc Natl Acad Sci.* 100(9): 5119-5123.
- Cooper, K. 2001. Sehat Tanpa Obat. Empat Langkah Revolusi Antioksidan yang Mengubah Hidup Anda. Cetakan Pertama. Bandung: Kaifa.
- Damiani, E., Astolfi, P., Carloni, P., Stipa, P., dan Greci, L. 2008. Antioxidants : How They Work. Oxidants in Biology. Editor : Giuseppe Valamhi. Springer.
- Desmond, T. 2000. Tropical Fruit of Indonesia. Archipelago Press. p 84-85.
- Droge, W. 2007. Free Radical in the Physiological Control of Cell Function. *Rev.* 82: 47-95.
- Eibond, L.A. 2004. Anthocyanin Antioxidant from Edible Fruit. *Food Chemistry* 84: 23-28.
- Evan, W.J. 2000. Vitamin E, Vitamin C, and Exercise. *American Journal of Clinical Nutrition.* 72(2): 647-652.
- Franklin, N.C. 2009. Lifestyle and Successful Aging : An Overview. *American Journal of Lifestyle Medicine.* 3(1): 6-11.
- Fuhrman, B., Volkova, N., dan Aviram, M. 2005. Pomegranate Juice Inhibits Oxidized LDL Uptake and Cholesterol Biosynthesis in Macrophages. *Journal of Nutritional Biochemistry.*
- Goldman, R., dan Klatz, R. 2003. The New Anti- Aging Revolution. *Theories of Aging:* 19-32.
- Harborne, J.B dan William C.A., 2001. Anthocyanins and other Flavonoids. The Royal Society of Chemistry. *Nat Prod Rep.* 18: 310-333.
- Hatfield, F.C. 2001. Overreaching and Overtraining. *MSS International Sport Sciences Association.* 1-11.
- Hohl, R., Ferraresso, R.L.P., Oliviera, R.B., Lucco, R., Brenzikofer, R., dan Macedo, D. 2009. Development and Characterization of an Overtraining Animal Model. *Medicine and Science in Sports and Exercise.* 41(5): 1155-1163.
- Husari, A.W., Dbaibo, G., Khayyat, A. , Zaatari, G., Sabban, M., dan Mroueh, S. 2009. The Possible Role of Pomegranate Juice as an Antioxidant in

Attenuating Acute Lung Injury and Apoptosis in a Hyperoxic Animal Model. American University of Beirut Medical Center, Beirut, Lebanon.

- Ignarro, L.J., Byrns, R.E., Sumi, D., Nigris, F., Napoli, C. 2006. Pomegranate Juice Protects Nitric Oxide Against Oxidative Destruction and Enhances the Biological Actions of Nitric Oxide. Available online at www.sciencedirect.com.
- Inten, D.P. 2011. Pemberian Sirup Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas*) Dapat Menurunkan Kadar MDA Plasma dan Meningkatkan Kadar NOx Plasma pada Perokok Sedang di Denpasar. (Tesis). Program Pascasarjana Ilmu Biomedik Universitas Udayana.
- Ishii, Y.K., Itoh, Y., Morishima, T., Kimura, T., Kiwamoto, T., Iizuka, A.E., Hegab, T., Hosoya, A., Nomura, T., Sakamoto, M., Yamamoto, K., dan Sekizawa. 2005. Transcription Factor Nrf2 Plays a Pivotal Role in Protection Against Elastase-Induced Pulmonary Inflammation and Emphysema. *J. Immunol.* 175: 6968-6975.
- Jawi, M., Suprpta, D.N., Indrayani, A.W., dan Utami, M.D.U. 2008. Uji Efek Antikanker dari Ekstrak Ethanol Umbi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas*) Terhadap Sel Kanker Serviks SIHA dan Sel Kanker Payudara T47D. Lembaga penelitian Universitas Udayana.
- Jawi, M., Suprpta, D.N., dan Subawa, A.A.N. 2008. Ubi Jalar Ungu Menurunkan Kadar MDA dalam Darah dan Hati Mencit Setelah Aktivitas Fisik Maksimal. *Journal Veteriner.* 9(2): 65-72.
- Judge, S., Mok Jang, Y., Smith, A., Hagen, T., dan Leeuwenburg, C. 2005. Age-Associated Increases in Oxidative Stress and Antioxidant Enzyme Activities in Cardiac Interfibrillar Mitochondria: Implication For the Mitochondrial Theory of Aging. University of Florida. *The FASEB Journal*.
- Lei, W., Gong, M., Nishida, H., Shirakawa, C., Sato, S dan Konishi, T. 2007. Psychological Stress-Induced Oxidative Stress as a Model of Sub-Healthy Condition and the Effect of TCM Evidence Based. *Complement Alternative Med.* 4(2): 195-202
- Margonis, K., Fatourus, I.G., Jamurtas, A.Z., Nikolaidis, M.G., Douroudos, I., Chatzinikolaou, A., Mitrakov, A., Mastorakos, G., Papassotiriou, I., Taxildaris, K., dan Kouretas, D. 2007. Oxidative Stress Biomarker Responses to Physical Overtraining : Implications for Diagnosis. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17697935>. Accessed : 15-12-2009.
- Ngatidjan. 2006. Metode Laboratorium Dalam Toksikologi. Metode Uji Toksisitas: 86-135.

- Nijveldt, R.J. 2001. Flavonoid: A Review of Probable Mechanism of Action and Potential Applications. *Am J Clin Nutr.* 74: 418-25.
- Pangkahila, W. 2007. Memperlambat Penuaan, Meningkatkan Kualitas Hidup. Anti Aging Medicine. Cetakan ke-1. Jakarta : Penerbit Buku Kompas. p: 8-11.
- Pangkahila, A.J. 2009. Pelatihan Fisik Menurunkan Proses Penuaan. Naskah Lengkap Seminar Nasional Anti Aging Medicine. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Denpasar. Februari 24 th 2009.
- Petrie, A., dan Sabin, C. 2003. *Medical Statistic at a Glance*. Massachusetts : Blackwell Science Inc. 26-27.
- Pocock, S.J. 2008. The size of a Clinical Trial, In: *Clinical Trials, A Practical Approach*. John Wiley and Sons. 123-141.
- Rohrdanz, E., O. Sandra, T. Quynh-Hoa, dan K. Regine. 2002. The Phytoestrogen Daidzein Affects the Antioxidant Enzyme System Hepatoma H4IIE Cells. *Journal of Nutrition.* 132: 370-375.
- Sasaki, M., dan Joh, T. 2007. Oxidative Stress and Ischemia Reperfusion Injury in Gastrointestinal Tract and Antioxidant Protective Agents.
- Sen, C.K., dan Packer, L. 2000. Thiol Homeostasis and supplements in physical exercise. *American Journal of Clinical Nutrition.* 72: 2177-2187.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S.R., dan Biplab D. 2010. Free Radicals, Antioxidants, Diseases and Phytomedicines : Current Status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Rivew and Research.* 3(1): 021.
- Singh, K.K. 2006. *Oxidative Stress, Disease and Cancer*. Singapura : Mainland Press.
- Starkov, A. S., dan Wallace, K.B. 2006. Ying and Yang of Mitochondrial ROS. In: Singh, K.K., editor. *Oxidative Stress, Disease and Cancer*. Singapura: Mainland Press, p.1-43.
- Sugianto, N.L. 2011. Pemberian Jus Delima Merah (*Punica granatum*) Dapat Meningkatkan Kadar Glutation Peroksidase Darah Pada Mencit (*Mus musculus*) dengan Aktivitas Fisik Maksimal. Penelitian Pendahuluan. Program Magister Ilmu Biomedik UNUD.
- Suryohusodo, P. 2000. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Perpustakaan Nasional RI. Jakarta: Penerbit CV Sagung Seto. p: 31-47.

- Thannical, V.J., dan Fanburg BL. 2000. Reactive Oxygen Species in Cell Signaling. *Am J Physiol.* 279(6): 1005-1028.
- Tilak, J. C dan Devasagayam, T. P. A. 2006. Oxidative Damage to Mitochondria. In Singh, K. K., editor. *Oxidative Stress, Disease and Cancer*. Singapura: Mainland Press, p.85-150.
- Wihandani, D. M. 2009. Tinjauan Biomolekuler Proses Penuaan. Disampaikan pada Seminar Scientific Atmosphere 2009. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Bali. 24 Februari 2009.
- Winarsi, H., Muchtadi, D., Zakaria, F.R., dan Purwantara, B. 2003. Status Antioksidan dan Wanita Premenopause yang Diberi Minuman Suplemen 'Susumeno'. Dalam Prosiding Seminar Nasional PATPI. Yogyakarta. 22-23 Juli 2003.
- Winarsi, H. 2004. Efek Minuman Fungsional yang Disuplementasi Isoflavon Kedelai dan Zn Terhadap Profil lipid dan Produk MDA Plasma Wanita Premenopause. Dalam Prosiding Seminar Nasional PBBMI: Peranan Biokimia dan Biologi Molekuler dalam Eksplorasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Hayati Berkelanjutan. Yogyakarta 2 Oktober 2004.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Cetakan ke-1. Yogyakarta. Hal : 100-105.
- YanJun, Z., Dana, K., Robert, D., Rypo, L., dan David, W. International Multidimensional Authenticity Specification (IMAS) Algorithm for Detection of Comercial Pomegranate Juice Adulteration. *J. Agric Food Chem.* 57(6): 2550-2557.

LAMPIRAN

Lampiran 1

Konversi perhitungan dosis untuk beberapa jenis hewan dan manusia (Gosh, 1971)

	Mencit 20 gr	Tikus 200 gr	Marmot 400 gr	Kelinci 1,5 Kg	Kucing 2 Kg	Kera 4 Kg	Anjing 12 Kg	Manusia 70 Kg
Mencit 20 gr	1,0	7,0	2,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 gr	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmot 400 gr	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 Kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 Kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 Kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 Kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 Kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Dikutip dari Lalamentik, 2008

Lampiran 2

Uji Normalitas terhadap data GPx sebelum dan sesudah perlakuan dengan menggunakan Uji *Saphiro-Wilk*

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GPx_pre Kontrol	.185	6	.200*	.974	6	.919
Jus Delima Merah 0,5 cc	.226	6	.200*	.912	6	.450
Jus Delima Merah 1 cc	.204	6	.200*	.918	6	.493
Jus Delima Merah 2 cc	.156	6	.200*	.981	6	.956
GPx_post Kontrol	.167	6	.200*	.982	6	.960
Jus Delima Merah 0,5 cc	.293	6	.118	.866	6	.128
Jus Delima Merah 1 cc	.121	6	.200*	.983	6	.964
Jus Delima Merah 2 cc	.121	6	.200*	.983	6	.964

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Lampiran 3

Uji *One Way Anova* dan Homogenitas pada data kadar GPx sebelum dan sesudah perlakuan

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
GPx_p re	6	35.3717	3.37675	1.37855	31.8280	38.9154	30.87	40.51
Jus Delima Merah 0,5 cc	6	36.3367	3.74349	1.52827	32.4081	40.2652	30.87	40.51
Jus Delima Merah 1 cc	6	39.8717	3.98175	1.62554	35.6931	44.0503	34.73	44.37
Jus Delima Merah 2 cc	6	41.1583	6.41564	2.61918	34.4255	47.8911	32.80	50.16
Total	24	38.1846	4.89123	.99842	36.1192	40.2500	30.87	50.16
GPx_p ost	6	30.8700	2.72943	1.11429	28.0056	33.7344	27.01	34.73
Jus Delima Merah 0,5 cc	6	65.9167	5.69119	6.40590	49.4498	82.3836	54.02	96.46
Jus Delima Merah 1 cc	6	99.6767	4.16928	1.70210	95.3013	104.0521	94.53	106.11
Jus Delima Merah 2 cc	6	1.2411E2	4.16928	1.70210	119.7379	128.4887	117.68	129.26
Total	24	80.1442	6.77970	7.50763	64.6135	95.6749	27.01	129.26

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
GPx_pre	1.588	3	20	.224
GPx_post	2.181	3	20	.146

ANOVA

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
GPx_pre	Between Groups	138.100	3	46.033	2.234	.116
	Within Groups	412.155	20	20.608		
	Total	550.256	23			
GPx_post	Between Groups	29671.029	3	9890.343	137.162	.000
	Within Groups	1442.145	20	72.107		
	Total	31113.173	23			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
GPx_post	Kontrol	Jus Delima Merah 0,5 cc	-35.04667*	4.90263	.000	-45.2734	-24.8200
		Jus Delima Merah 1 cc	-68.80667*	4.90263	.000	-79.0334	-58.5800
		Jus Delima Merah 2 cc	-93.24333*	4.90263	.000	-103.4700	-83.0166
	Jus Delima Merah 0,5 cc	Kontrol	35.04667*	4.90263	.000	24.8200	45.2734
		Jus Delima Merah 1 cc	-33.76000*	4.90263	.000	-43.9867	-23.5333
		Jus Delima Merah 2 cc	-58.19667*	4.90263	.000	-68.4234	-47.9700
	Jus Delima Merah 1 cc	Kontrol	68.80667*	4.90263	.000	58.5800	79.0334
		Jus Delima Merah 0,5 cc	33.76000*	4.90263	.000	23.5333	43.9867
		Jus Delima Merah 2 cc	-24.43667*	4.90263	.000	-34.6634	-14.2100
	Jus Delima Merah 2 cc	Kontrol	93.24333*	4.90263	.000	83.0166	103.4700
		Jus Delima Merah 0,5 cc	58.19667*	4.90263	.000	47.9700	68.4234
		Jus Delima Merah 1 cc	24.43667*	4.90263	.000	14.2100	34.6634

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 4
Ethical Clearence