

KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA JARINGAN HATI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIBERI CEKAMAN PANAS DAN PAKAN SUPLEMENTASI TEPUNG DAUN JALOH (*Salix tetrasperma* Roxb)

*Malondialdehyde (MDA) Level of Liver Tissue of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Supplemented with Willow (*Salix tetrasperma* Roxb) Leaves Powder and Heat Stressed*

Vara Tassa Sutari¹, Sugito², Dwinna Aliza³, dan Asmarida⁴

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor
E-mail: itjusstassa@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian pakan komersial yang disuplementasi tepung daun jalloh (*Salix tetrasperma* Roxb) terhadap kadar malondialdehid ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi cekaman panas. Sampel yang digunakan adalah dua belas ekor ikan nila dengan berat badan 35-40 g. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola searah dengan empat perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan P0 (kontrol) diberi cekaman panas ($35\pm 1^\circ\text{C}$) dan pakan tanpa tepung daun jalloh, sedangkan P1, P2, dan P3 diberi cekaman panas ($35\pm 1^\circ\text{C}$) dan pakan yang disuplementasikan tepung daun jalloh masing-masing 5, 10, dan 15%. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian. Rata-rata kadar malondialdehid P0, P1, P2, dan P3 masing-masing adalah $19,28\pm 4,20$; $12,18\pm 2,71$; $16,94\pm 1,58$; dan $21,28\pm 9,42$ $\mu\text{g/g}$ sampel. Pemberian tepung daun jalloh 5-15% tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap kadar malondialdehid hati ikan nila yang diberi cekaman panas.

Kata kunci: malondialdehid (MDA), *Salix tetrasperma* Roxb, ikan nila (*Oreochromis niloticus*)

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of commercial feed supplemented with willow (*Salix tetrasperma* Roxb) leaves powder malondialdehyde level of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and heat stressed. The sample used in this research was 12 tilapia fish with an average weight of 35-40 g. The design used in this research was Completely Randomized Design (CRD) unidirectional pattern with 4 treatment groups and 3 repetition. P0 treatment (control) wasn't treated with heat stress ($35\pm 1^\circ\text{C}$) and fed with willow leave powder, P1, P2, and P3 were treated with heat stress ($35\pm 1^\circ\text{C}$) and fed with 5, 10, 15% willow leaves powder, respectively. Data was analyzed using analysis of variance. Mean ($\pm$ SD) levels of tilapia malondialdehyde of group P0, P1, P2, P3 were $19,28\pm 4,20$; $12,18\pm 2,71$; $16,94\pm 1,58$; and $21,28\pm 9,42$ mg/g sample, respectively. The administration of willow leaves powder 5-15% have no significant effect ($P>0,05$) on liver malondialdehyde levels of tilapia treated with heat stress.

Key words: malondialdehid (MDA), *Salix tetrasperma* Roxb, tilapia (*Oreochromis niloticus*)

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Secara tradisional ikan merupakan sumber protein dalam makanan rakyat Indonesia, salah satu ikan air tawar yang berpotensi untuk sumber protein hewani yang dapat dijangkau oleh berbagai lapisan masyarakat adalah ikan nila (Arie, 2000). Usaha budi daya ikan nila, khususnya pembesaran juvenil menjadi ikan konsumsi telah banyak dikembangkan. Dalam pengembangan usaha budi daya ikan nila yang merupakan faktor terpenting adalah ketersediaan pakan dalam jumlah yang baik. Ikan nila merupakan komoditas yang bernilai ekonomis dan penting untuk dikembangkan sebagai jenis ikan budi daya (Azwar, 1997).

Sebagaimana makhluk hidup lainnya, ikan nila membutuhkan lingkungan yang nyaman agar dapat hidup sehat dan tumbuh optimal. Penanganan dalam budi daya yang kurang baik dapat menyebabkan ikan

mengalami stres, sehingga daya tahan tubuhnya menurun dan mudah terserang penyakit (Baticados dan Paclibare, 1992). Suhu atau temperatur air sangat berpengaruh terhadap metabolisme dan pertumbuhan organisme (Wiryanta, 2010).

Stres merupakan respon pertahanan pada ikan. Berbagai sumber stres dapat berupa faktor lingkungan seperti: suhu, cahaya, pemeliharaan, penangkapan, dan transpor (Farida dkk., 2010). Stres dapat memicu kerusakan fisiologis yang tidak terbatas. Hal ini dapat terjadi pada keadaan peningkatan suhu lingkungan. Suhu optimal untuk pertumbuhan pada ikan nila adalah $25-30^\circ\text{C}$. Namun ikan nila masih dapat hidup pada suhu 14°C atau 38°C . Akibat stres panas pada ikan berdampak terhadap stress oksidatif (Cahyono, 2006). Terjadinya stres oksidatif dapat memengaruhi peningkatan peroksidasi lipid yang menghasilkan terbentuknya malondialdehid (MDA).

Malondialdehid merupakan suatu produk akhir peroksidasi lipid, yang biasanya digunakan sebagai

biomarker biologis peroksidasi lipid dan menggambarkan derajat stres oksidatif (Hendromartono, 2000). Menurut Suryohudoyo (2000), MDA adalah senyawa dialdehid atau berkarbon tiga yang reaktif merupakan produk final peroksidasi lipid di dalam membran sel. MDA dalam material hayati terdapat dalam bentuk bebas atau membentuk ikatan kompleks dengan unsur lainnya di dalam jaringan.

Kadar MDA di dalam tubuh dapat meningkat melalui beberapa proses seperti aktivitas fisik yang meningkat sehingga metabolisme juga meningkat (Droge, 2002). Kehidupan dengan aktivitas fisik berat dan pengaruh lingkungan yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas sulit dihindari. Antioksidan diketahui dapat mencegah terbentuknya radikal bebas.

Menurut Lazar (1994), pengertian antioksidan secara kimia adalah senyawa-senyawa pendonor elektron. Dalam pengertian klasik istilah antioksidan menunjukkan senyawa yang memiliki berat molekul rendah dan dapat menginaktivasi reaksi rantai dari peroksidasi lipid dengan jalan mencegah terbentuknya radikal peroksidasi lipid. Halliwell *et al.*, (1992) menjelaskan bahwa antioksidan bereaksi melalui pembersihan senyawa oksigen reaktif atau penurunan konsentrasinya secara lokal, pembersihan ion logam katalitik, pembersihan radikal bebas yang berfungsi sebagai inisiator seperti hidroksil, peroksil, alkoksil, pemutus rangkai reaksi yang diinisiasi oleh radikal bebas.

Jaloh (*Jaloh* atau *Bak Sijaloh*) dalam bahasa Aceh merupakan sebutan untuk suatu jenis tumbuhan perdu dari famili Salicaceae, yaitu *Salix tetrasperma* Roxb. Jaloh merupakan tumbuhan subtropis daerah Asia, terutama India dan Cina. Penyebaran tanaman ini ke daratan Indonesia adalah melalui Semenanjung Malaysia (Vansteenis, 1976).

Tanaman *Salix* spp telah terbukti sebagai bahan obat antipiretik (Fabricant dan Farnsworth 2001), antiinflamasi (Fiebich dan Chrubasik 2004; Khayyal *et al.*, 2005), dan antioksidan (Kahkonen, 1999). Analisis dan penentuan kandungan senyawa pada tanaman salix yang telah dilaporkan umumnya diekstraksi dengan etanol atau larutan yang bersifat polar lainnya (Kammerer *et al.*, 2005).

Ekstrak salix dapat bekerja sebagai antiinflamasi melalui pengurangan kadar glutathione tereduksi (G-SH), suatu senyawa yang mempunyai efek untuk membatasi pembentukan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah reaksi yang terjadi antara radikal bebas dengan asam lemak tak jenuh majemuk yang sedikitnya memiliki tiga ikatan rangkap (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Selain itu juga mengurangi pembentukan MDA yang berperan dalam proteksi tubuh terhadap stres atau cekaman oksidatif (Khayyal *et al.*, 2005).

Organ hati merupakan pusat dari metabolisme dalam sebagian besar hewan. Organ ini berfungsi dalam proses detoksifikasi senyawa toksik, hematologi, sistem imun tubuh, berperan dalam proses metabolisme biomolekul, dan sekresi produk akhir metabolisme seperti bilirubin, amonia, dan urea (Kaplan dan Pesce 1989).

Membran-membran mikrosom hati sangat rentan terhadap peroksidasi lipid, karena membran tersebut banyak sekali mengandung asam lemak tak jenuh. Proses peroksidasi lipid pada mikrosom hati dapat berlangsung secara enzimatis dan nonenzimatis (Halliwell dan Gutteridge, 1999).

Hasil analisis pada beberapa spesies *Salix* (seperti *Salix alba*, *S. daphnoides*, *S. purpurea*, *S. matsudana*) umumnya mengandung senyawa glikosida, seperti salisin. Selain itu, diidentifikasi juga beberapa senyawa terpen, flavonoid, dan beberapa jenis steroid (Zheng, 2005; Kammerer *et al.*, 2005). Salah satu komponen flavanoid dari tumbuh-tumbuhan yang dapat berfungsi sebagai antioksidan adalah zat warna alami yang disebut antosianin (Craig, 2002).

MATERI DAN METODE

Pada penelitian ini menggunakan sampel ikan nila (*Oreochromis niloticus*) jantan yang berumur 2 bulan dengan berat badan 35-40gr. Ikan yang digunakan berasal dari Balai Benih Ikan Payau (BBAP) ujung batee. Kemudian diambil jaringan hatinya untuk pemeriksaan kadar MDA.

Prosedur Penelitian

Pembuatan pakan tepung daun jaloh

Daun jaloh dikering anginkan selama 3 hari. Daun jaloh kering lalu dihaluskan dengan penggiling (blender) dan disaring sehingga menjadi halus seperti tepung. Bahan pakan komersil ikan dihaluskan kemudian dicampurkan dengan tepung daun jaloh dengan persentase 5%, 10%, dan 15%. Pembuatan pakan komersil dan tepung daun jaloh setelah dicampur kemudian ditambahkan 1% binder dan diaduk secara merata. Setelah merata kemudian diseduh dengan air hangat hingga terbentuk adonan seperti pasta, selanjutnya adonan dicetak dengan *meat grinder* sehingga menjadi pelet. Pelet kemudian dikeringkan dengan cahaya matahari selama 1 hari.

Perlakuan

Ikan nila sebanyak 12 ekor dibagi menjadi empat perlakuan. Perlakuan kontrol (P0) adalah ikan yang diberi stres panas ($35 \pm 1^\circ \text{C}$) dan pakan komersil tanpa suplementasi tepung daun jaloh, perlakuan (P1, P2, P3) adalah ikan yang diberi stres panas ($35 \pm 1^\circ \text{C}$) dan pakan komersil yang disuplementasi tepung daun jaloh 5%, 10% dan 15%. Pada pengaturan dan peningkatan suhu lingkungan akuarium, digunakan *heater*. Pemberian suhu akan diatur dan diberikan peningkatan suhu hingga mencapai $35 \pm 1^\circ \text{C}$ secara bertahap, yang akan dimulai pada pukul 09.00-17.00 WIB. Tahapan-tahapan peningkatan suhu ini bertujuan agar ikan dapat menyesuaikan dirinya dan tidak mengalami stres yang menyebabkan kematian. Titik puncak pencapaian tahap maksimal pada suhu 35°C , diperkirakan pada pukul 13.00-17.00 WIB. penghentian pemakaian *heater* diperkirakan pada pukul 17.00 WIB. Pemberian cekaman panas ini akan terus dilakukan dalam kawasan kontrol selama 1 bulan.

Pengambilan organ hati ikan

Pengambilan organ hati dilakukan dengan cara pembedahan bagian abdomen ikan. Setelah hati diambil, lalu dimasukkan ke dalam plastik steril. Lalu organ hati dibekukan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$, sampai dibawa ke IPB untuk pemeriksaan MDA. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan MDA pada jaringan hati ikan nila yang telah disentrifus terlebih dahulu.

Pemeriksaan MDA

Prinsip metode ini berdasarkan kepada kemampuan pembentukan kompleks berwarna merah jambu antara MDA dan Asam Tiobarbiturat (TBA), (Capeyron *et al*, 2002). Pembuatan larutan campuran (TCA-TBA) untuk dicampurkan pada pemeriksaan kadar MDA, yaitu: 1,78 ml HCl pekat lalu ditambahkan dengan 12 g TCA dan 0,304 g TBA kemudian diaduk dengan 80 ml akuades. Pengadukan dilakukan di atas pemanas air dengan api kecil. Dinginkan pada suhu ruangan sebelum dicampurkan ke dalam larutan pemeriksaan kadar MDA.

Cara kerja pemeriksaan kadar malondialdehid, yaitu: Organ hati diambil, lalu ditimbang beratnya 0,5 g. kemudian dicincang menjadi halus dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifus yang telah diberi label untuk diambil supernatannya. Ditambahkan 1 ml PBS-KCl (PBS dingin yang mengandung KCl) ke dalam tiap-tiap tabung sentrifus, lalu diaduk dengan batang pengaduk hingga rata. Kemudian disentrifus 10.000 rpm selama 20 menit dengan suhu dingin $\pm 4^{\circ}\text{C}$. diambil supernatannya sebanyak 0,5 ml dari tiap-tiap sampel, lalu ditambahkan 2 ml larutan campuran TCA-TBA (dihomogenkan). Larutan homogen disimpan dalam oven dengan suhu 80°C selama 1 jam. Setelah satu jam lalu diangkat dan didinginkan pada suhu ruangan. Kemudian dilakukan sentrifus 3000 rpm selama 10 menit. Pembacaan kadar MDA dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang λ 532 nm.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis varian. Bila terdapat pengaruh antara perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

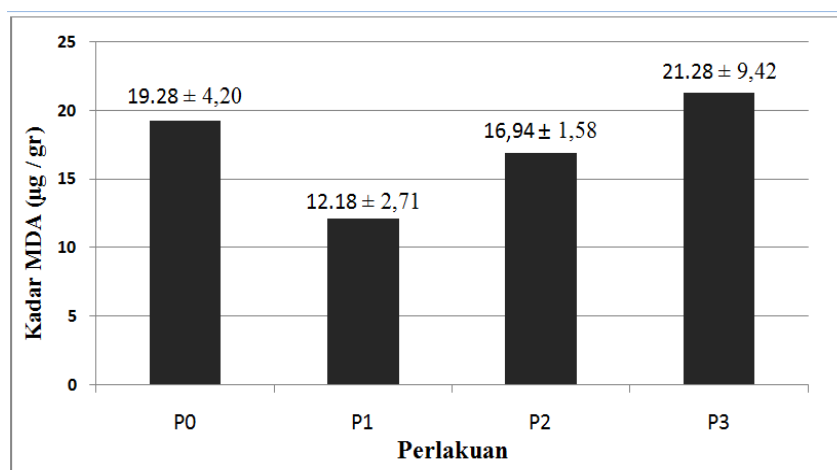
Hasil pengukuran kadar MDA pada jaringan hati ikan nila yang diberi suplementasi tepung daun jalo dan cekaman panas dapat dilihat pada Gambar 1.

Dari Gambar 1. terlihat bahwa jumlah rata-rata kadar MDA pada perlakuan P0 (perlakuan stres panas dan tanpa suplementasi tepung daun jalo) adalah 19,28; P1 (perlakuan stres panas dan pakan suplementasi tepung daun jalo 5%) adalah 12,18; P2 (perlakuan stres panas dan pakan suplementasi tepung daun jalo 10%) adalah 16,94; dan P3 (perlakuan stres panas dan pakan suplementasi tepung daun jalo 15%) adalah 21,28.

Wresdiati (2003) menjelaskan bahwa MDA merupakan produk akhir dari oksidasi lipid. Tingginya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksidasi lipid yang secara tidak langsung juga menunjukkan tingginya jumlah radikal bebas. Tingginya jumlah radikal bebas didalam tubuh dapat disebabkan oleh adanya stres oksidatif. Sreejai dan Jaya (2010) mengungkapkan bahwa stres oksidatif akibat peningkatan suhu lingkungan bisa menyebabkan radikal bebas yang pada akhirnya dapat meningkatkan kadar MDA. Kadar MDA pada ikan-ikan penelitian diduga karena stress akibat peningkatan suhu.

Pada perlakuan P1 kadar MDA relatif jauh lebih rendah Jika dibandingkan dengan perlakuan P0, P2 dan P3, maka terjadi penurunan kadar MDA. Menurut Trilaksani (2003), kadar MDA bisa diturunkan dengan pemberian antioksidan. Kahkonen (1999) mengungkapkan bahwa jalo merupakan salah satu antioksidan karena mengandung flavonoid. Menurut Craig (2002) Salah satu komponen flavonoid dari tumbuh-tumbuhan yang dapat berfungsi sebagai antioksidan adalah zat warna alami yang disebut antosianin. Sehingga diduga penurunan MDA pada P1 akibat pemberian tepung daun jalo.

Pada perlakuan P2 dan P3 kadar MDA cenderung lebih tinggi dibanding P1. Diduga bahwa peningkatan terjadi karena tidak efektifnya pemberian suplemen tepung daun jalo dengan konsentrasi yang relatif tinggi dalam menghambat peroksidasi lipid. Menurut



Gambar 1. Kadar rata-rata malondialdehid pada jaringan hati ikan nila

Biswas dan Mukherjee (2003), kandungan jalo yang terdiri atas tanin 8-20% menyebabkan rasa pahit pada pakan suplementasi tepung daun jalo sehingga tidak disukai oleh ikan. Effendee (2002) mengungkapkan bahwa ikan tidak menyukai rasa pahit yang berlebihan dan hal ini menyebabkan nafsu makan menurun. Sugito *et al.*, (2012) mengungkapkan bahwa imtek pakan pada perlakuan P2 dan P3 relatif jauh lebih rendah.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa suplementasi tepung daun jalo pada pakan komersil ikan nila efektif pada pemberian 5-10% terhadap pengurangan peroksidasi lipid dalam jaringan hati ikan nila.

DAFTAR PUSTAKA

- Arie, U. 2000. **Pembenihan dan Pembesaran Nila Gift**. Penerbit Swadaya, Jakarta.
- Azwar, Z.I. 1997. Pengaruh Askorbil Fosfat Magnesium sebagai Sumber Vitamin C terhadap Penampilan Reproduksi Ikan Nila (*Oreochromis sp.*). **Disertasi**, Pascasarjana, Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Baticados, M.C.L. and J.O. Paclibare. 1992. The use of chemotherapeutic agents in aquaculture in the Philippines. Diseases in Asian Aquaculture. 1. **Proceedings of the First Symposium on Diseases in Asian Aquaculture, 26-29 November 1990**, Bali, Indonesia.
- Biswas, T.K and B. Mukherjee. (2003) Plant medicines of Indian origin for wound healing activity: a review. **International Journal of Lower Extremity Wounds** 2(1): 25-39.
- Capeyron, C. Julie., B. Eric., P. Jean., MR. Piere., L.L. Claude, and D. Benard. 2002 A diet cholesterol and defcient in vite incudes lipid peroxidation but does not enhance antioxidant enzyme expression in rat liver. **Biochem.** 13:296-301.
- Cahyono, B. 2006. **Budi Daya Ikan Air Tawar**. Penerbit: Kanisius. Yogyakarta.
- Craig, W.J. 2002. Vegetarian phytochemicals: guardians of our health, a continuing education article at <http://www.Andrews.edu/NUFS/phyto.html>.
- Droge, W. 2002. Free radicals in the physiology control of cell function. **Physiol. Rev.**; 82:47-95.
- Effendee, M.I. 2002. **Biologi Perikanan**. Yayasan Pusaka Nusantara, Jakarta.
- Fabricant, D.S. and N.R. Farnsworth. 2001. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. **Environ Health Perspect** 109 (suppl 1):69-75.
- Farida, N.R., S. Untung dan S. Yulia. 2010. Respon Fisiologi Ikan Nila, *Oreochromis Niloticus*, yang Distimulasi dengan Daur Pemuaan dan Pemberian Pakan Kembali. Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi Unsoed. Purwokerto.
- Fiebich, B.L and S. Chrubasik. 2004. Effects of an ethanolic salix extract on the release of selected inflammatory mediators in vitro. **Phytomedicine** 11:135-138.
- Halliwell, B., J.M.C Gutteridge and E.C Cross. 1992. Free radicals antioxidants and human disease; where are we now? **J. Lab. Clin. Med.** 119:598-613.
- Halliwell, B., and J.M.C. Gutteridge. 1999. **Free Radical in Biology and Medicine**. Ed 3rd. New York: Oxford University.
- Hendromartono S. 2000. Peran radikal bebas terhadap komplikasi vaskuler. **Majalah Penyakit Dalam Udayana**. 1:89-92
- Kaplan, L.A. and A.J. Pesce. 1989. **Clinical Chemistry**. Ed-3. New York: Mosby Tear Book.
- Khayyal, M.T., M.A. El-Ghazaly., D.M Abdallah., S.N Okpanyi., and O. Kelber. 2005. Mechanisms involved in the anti-inflammatory effect of a standardized willow bark extract. **Arzneimittelforschung**. 55:677-687
- Kammerer, B., R. Kahlich., C. Biegert., C.H Gleiter., and L. Heide. 2005. HPLC-MS/MS Analysis of willow bark extracts contained in pharmaceutical preparations. **Phytochem Anal.** 16:470-478.
- Kahkonen. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **J Agric Food Chem.** 47:3954-3962.
- Lazar, I. 1994. Peranan Antioksidan dalam Mencegah Kanker. Jakarta. RS Kanker Darmas.
- Suryuhudoyo, P. 2000. **Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler**. Perpustakaan Nasional RI. Jakarta. Penerbit CV Sagung Seto.
- Sugito, Nurliana, D. Aliza dan Samadi. 2012. Suplementasi Daun Jalo dalam Pakan Ikan Sebagai Metode Pengendalian Suhu Lingkungan, **Laporan Hasil Penelitian**. Unggulan Perguruan Tinggi. Unsyiah, Banda Aceh.
- Sreejai R, dan D. S. Jaya. 2010. Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in fishes exposed to hydrogen sulfide. **Toxicol Int [serial online]** [cited 2012 Nov 4]; 17:71-77.
- Trilaksani, W. 2003. Antioksidan : Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan. Term Paper Introductory Science Philosophy (PPS702).Graduate Program/S3. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Vansteenis, C.G.G.J. 1976. **Flora Lasesiana**. Serie I Volume 5. Leyden: Noordhoff Internationa Publishing.
- Wiryanta, B.T.W. 2010. **Budi Daya dan Bisnis Ikan Nila**. PT Agromedia. Pustaka. Jakarta. Universitas Sumatera Utara.
- Wresdiyati T. 2003. Immunohistochemical Study of Oxygen-Free Radical Scavenger-Copper, Zinc-Superoxide Dismutase (Cu,Zn-SOD) in The Rats Liver Under Stress Condition **Biota**. 8:107-112.
- Zheng, Y.N. 2005. Effect of compounds in leaves of *Salix matsudana* on arachidonic acid metabolism. **Yakugaku Zasshi**. 125:1005-1008.