

PENGARUH MADU TRIGONA TERHADAP STRESS OKSIDATIF PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI STATIN UNTUK MENCEGAH MIOTOKSISITAS

Mirawati Salampe¹, Peter Kabo², Yulia Yusrini DJabir³

¹Biomedik Farmakologi, Pascasarjana Universitas Hasanuddin

²Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin

³Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh madu trigona terhadap stress oksidatif pada tikus putih yang diinduksi statin untuk mencegah miotoksisitas melalui pengukuran kadar kreatin kinase (CK), malondialdehid (MDA), dan aktivitas superoksida dismutase (SOD). Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus jantan yang dibagi menjadi 6 kelompok, terdiri dari 5 ekor tiap kelompok. Kelompok 1 merupakan kontrol yang hanya diberikan NaCMC 0,5%; kelompok 2 (induksi atorvastatin 20 mg/kgBB selama 3 minggu dan dilanjut dengan 40 mg/kgBB selama 2 minggu); kelompok 3 (diberi madu 4,5 ml/kgBB); kelompok 4, 5, dan 6 (diberi madu 1,5 ml; 3 ml; 4,5 ml/kgBB, berturut-turut selanjutnya selang waktu 2 jam diinduksi atorvastatin). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar CK sebelum dan setelah perlakuan selama lima minggu pada tikus yang diinduksi atorvastatin mengalami peningkatan secara signifikan ($p < 0.05$), sedangkan kadar CK pada kelompok tikus yang lainnya tidak menunjukkan perubahan yang bermakna. Kadar MDA setelah perlakuan pada tikus yang hanya diinduksi atorvastatin menunjukkan kadar yang relatif tinggi, namun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok tikus yang lainnya. Demikian pula dengan aktivitas SOD pada tikus yang hanya diinduksi atorvastatin tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok tikus yang diberi madu sebelum induksi atorvastatin

Kata Kunci :

Madu trigona, atorvastatin, superoksida dismutase, malondialdehid, kreatin kinase

PENDAHULUAN

Statin merupakan inhibitor kompetitif HMG-CoA reduktase yang menghambat biosintesis kolesterol. HMG-CoA reduktase mengkatalisis konversi HMG-CoA menjadi asam mevalonat. Melalui penghambatan HMG-CoA reduktase, statin menghambat produksi kolesterol endogen. Hal ini menyebabkan penurunan konsentrasi kolesterol di dalam hepatosit yang akan memicu upregulasi reseptor Low-Density Lipoprotein (LDL) sehingga terjadi uptake LDL dari sirkulasi sistemik (1).

Penggunaan statin dalam menurunkan kadar kolesterol relatif populer dibandingkan antihiperlipidemia yang lain. Hal ini disebabkan oleh pleiotropic effect yang dimilikinya dan umumnya statin juga ditoleransi dengan baik. Beberapa penelitian juga melaporkan bahwa statin memiliki efek antioksidan (2). Akan tetapi, penggunaan statin juga diasosiasikan dengan beberapa efek samping yang membatasi penggunaannya. Selain pelepasan enzim hati dan risiko diabetes, statin juga dikaitkan dengan kejadian miotoksisitas (3).

Salah satu bentuk miotoksisitas adalah miopati dimana otot mengalami gangguan. Berdasarkan perubahan kadar kreatin kinase, miopati dapat dibedakan menjadi 3 tipe yaitu mialgia yang ditandai dengan kelemahan otot atau kekakuan otot dengan kadar CK normal miositis yang ditandai peningkatan kadar creatine kinase (CK) $> 10x$ Upper Limit Normal (ULN); dan rabdomiolisis yang ditandai dengan peningkatan CK $> 40x$ ULN yang dihasilkan dari destruksi otot secara masif dan myoglobinuria (4). Insiden rabdomiolisis berkisar 0,003–0,1% dan bersifat fatal (5).

Penghambatan produksi kolesterol endogen oleh statin menjadi mekanisme umum penyebab miopati. Akan tetapi, adanya inhibisi produksi beberapa zat endogen isoprenoid nonsteroid seperti protein prenilasi, dolichol, isopentenyladenosine dan coenzyme Q (ubiquinone), juga diasosiasikan dengan mekanisme statin dalam memicu insiden miopati. Deplesi isoprenoid tersebut menjelaskan pleiotropic effect yang dimiliki oleh statin yang tidak terkait dengan penurunan kolesterol (6).

Salah satu isoprenoid yang diketahui adalah ubiquinon (coenzyme Q10 – CoQ10). Ubiquinon merupakan komponen yang berperan pada proses mitochondrial electron transport chain (ETC) (6). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penurunan konsentrasi CoQ10 tidak hanya di sirkulasi, tetapi juga di otot skelet manusia dan hewan yang diterapi statin (8). Hal tersebut mengindikasikan bahwa statin mengganggu fungsi mitokondria yang menyebabkan terjadinya gangguan fungsi otot dan kerusakan morfologi otot.

Efek supresi pada produksi CoQ10 dikaitkan dengan efek pro-oksidan statin. Efek pro-oksidan statin juga melibatkan aktivasi jalur iNOS (inducible-Nitric Oxide Synthase). CoQ10 dalam bentuk tereduksi menghasilkan ubiquinol yang merupakan lipid-soluble antioxidant. Penurunan konsentrasi CoQ10 menyebabkan gangguan pada fungsi mitokondria yang dikaitkan dengan stress oksidatif mitokondria dan aktivasi jalur pro-apoptosis (Bełtowski 2005; Apostolopoulou, Corsini, and Roden 2015). Adapun aktivasi jalur iNOS menghasilkan NO dalam jumlah banyak yang

Masuk 01-08-2018

Revisi 18-08-2018

Diterima 30-08-2018

Korespondensi

Mirawati Salampe

mirnachamto@gmail.com

Copyright

© 2018 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas

Farmasi · Makassar

Diterbitkan tanggal

31-08-2018

Dapat Diakses Daring

Pada:

<http://journal.unhas.ac.id>

[/index.php/mff](http://index.php/mff)



akan bereaksi dengan radikal superoksida membentuk peroxynitrite (ONOO⁻). Peroxynitrite merupakan radikal bebas yang sangat reaktif dan dapat merusak protein, lipid dan asam nukleat (10).

Secara normal sel mempunyai mekanisme pertahanan terhadap kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas, meliputi antioxidants nonenzymes (asam askorbat, vitamin E, dan glutathione) dan antioxidant enzymes (thioredoxins, superoxide dismutase (SOD), catalase, and glutathione peroxidase). Namun, peningkatan produksi ROS melebihi sistem pertahanan antioksidan menyebabkan terjadinya stress oksidatif atau kerusakan seluler (11).

Sejauh ini, beberapa studi menunjukkan bahwa pemberian antioksidan kuersetin, kreatin, dan CoQ10 dapat memperbaiki efek miopati akibat penggunaan statin (Busanello et al., 2017; Bouitbir et al., 2012). Selain itu, resveratrol yang merupakan polifenol alami dapat menghambat aktivitas iNOS di otot skelet pada penggunaan atorvastatin (14). Namun, hasil studi tersebut masih kontroversial dikarenakan penelitian lain melaporkan bahwa suplementasi CoQ10 tidak memperbaiki fungsi otot (15).

Oleh karena itu, diperlukan suatu upaya pencarian sumber antioksidan lain yang dapat digunakan dalam pencegahan efek samping miopati statin. Salah satu sumber antioksidan yang dapat diperoleh secara alami yaitu madu. Madu memiliki aktivitas antioksidan yang kuat terkait dengan kandungan senyawa yaitu polifenol, flavonoid, dan flavonol (16). Senyawa fenolik mempunyai kemampuan untuk mereduksi dan membentuk ikatan khelat dengan ion ferri yang mengkatalisis peroksidasi lipid (17).

Madu Trigona adalah salah satu jenis madu yang dihasilkan oleh lebah jenis Trigona sp. Madu trigona berbeda dengan madu yang dihasilkan oleh genus Apis dalam hal warna, rasa, dan viskositas. Penelitian menyebutkan bahwa madu yang dihasilkan oleh lebah Trigona sp. memiliki aktifitas antioksidan yang tinggi (18).

Berdasarkan hal tersebut di atas, peneliti akan melakukan penelitian tentang bagaimana pengaruh madu trigona terhadap stress oksidatif pada tikus yang diinduksi statin untuk mencegah miotoksitas.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Hewan Coba

Hewan yang digunakan pada penelitian ini adalah 30 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) sehat dengan bobot 180-250 gram yang dibagi ke dalam 6 kelompok dimana setiap kelompok terdiri atas 5 ekor. Kelompok 1 mendapatkan NaCMC 1%; kelompok 2 mendapatkan atorvastatin 20 mg/kg; kelompok 3 mendapatkan madu 4.5 ml/kgBB; kelompok 4 mendapatkan madu 1.5 ml/kgBB, kelompok 5 mendapatkan madu 3 ml/kgBB, Kelompok 6 mendapatkan madu 4.5 ml/kgBB sebelum induksi atorvastatin. Pemberian NaCMC, madu, dan atorvastatin pada semua kelompok uji dilakukan setiap hari selama 5 minggu (madu diberikan terlebih dahulu dengan rentang waktu 2 jam sebelum pemberian atorvastatin). Atorvastatin diberikan dengan dosis 20 mg/kg pada minggu pertama sampai ke tiga, selanjutnya dosis ditingkatkan menjadi 40 mg/kg pada minggu ke empat dan ke lima.

Pengumpulan Sampel Darah

Sebelum Perlakuan dan hari terakhir perlakuan, dilakukan pengambilan darah tikus melalui vena lateralis. Darah yang dikumpulkan pada tabung vakutainer didiamkan pada suhu ruangan 15-30 menit selanjutnya sampel disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Serum yang

telah dipisahkan dari supernatant selanjutnya disimpan pada suhu -20 oC sebelum pengukuran kadar MDA, aktivitas SOD, dan kadar CK.

Pengukuran Kadar MDA

Dibuat larutan standar 1000 ppm dengan cara dipipet larutan standar 1,1,3,3-tetrametoksiopropana (TMP) 10 µl ke dalam labu tentukur 10 ml dan dilarutkan dengan PBS pH 7.4, TCA 10% dan TBA 1% dengan perbandingan 0,5: 1:1. Kemudian dibuat larutan standar 100 ppm dan 5 ppm dari larutan standar 1000 ppm. Larutan standar 5 ppm dijadikan larutan stok, selanjutnya dibuat beberapa seri konsentrasi standar (0,005; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,30 ppm). Semua seri konsentrasi standar dipanaskan selama 20 menit pada suhu 950C menggunakan waterbath. Kemudian didinginkan pada suhu kamar dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada Panjang gelombang 532 nm.

Sebanyak 500 µl serum dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge yang telah dilabel. Pada Masing-masing tabung ditambahkan TBA 1% 0,5 ml dan TCA 10% 0,5 ml. Tabung berisi larutan kemudian dipanaskan dalam waterbath pada suhu 950C selama 20 menit. Selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 535 nm.

Pengukuran Aktivitas SOD

Sampel sebanyak 20 µl dimasukkan dalam well, kemudian pada masing-masing well ditambahkan 200 µl WST (Working Solution). Blank 2 ditambahkan 20 µl dilution buffer. Lalu pada masing-masing well kecuali blank 2 ditambahkan 20 µl enzyme working solution. Diukur absorbansi awal pada panjang gelombang 450 nm, selanjutnya diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37oC dan dibaca pada panjang gelombang kedua 450 nm. Aktivitas SOD selanjutnya dikalkulasi berdasarkan absorbansi awal dan akhir.

Pengukuran Ck Menggunakan Alat Humalyzer

2.5 ml substrat (0.4M glisin + 0.03M creatine phosphate + 0.062M K₂CO₃), Ph diatur sampai 8.9 dengan NaOH dan 0.1 ml sampel dicampur dan diinkubasi pada suhu 300C selama 2 menit. Diukur absorbansi pada panjang gelombang 340 nm.

Analisis Data

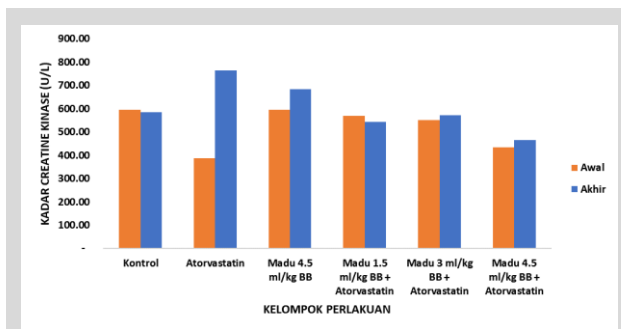
Data yang dihasilkan diolah secara statistik menggunakan SPSS for windows. Metode yang digunakan untuk analisis kadar CK yaitu paired T test dan analisis kadar MDA serta aktivitas SOD yaitu ANOVA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

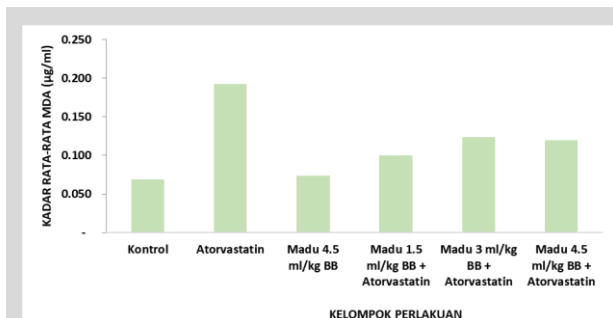
Gambar 1 menunjukkan rata-rata kadar creatine kinase (CK) sebelum dan setelah pemberian sediaan uji selama 5 minggu. Kadar CK pada kelompok pemberian atorvastatin mengalami perubahan secara signifikan ($p < 0.05$). Perubahan kadar CK pada kelompok tersebut yaitu 97,42%. Kadar CK pada kelompok tikus yang hanya diberikan madu 4,5 ml/kg BB juga mengalami perubahan sebesar 15,14 %, tetapi secara statistik perubahan ini tidak bermakna ($p > 0.05$). Kadar CK pada kelompok kontrol dan kelompok yang diberikan madu sebelum induksi atorvastatin juga menunjukkan perubahan yang tidak bermakna secara statistik ($p > 0.05$).

Gambar 2 menunjukkan rata-rata kadar MDA setelah pemberian sediaan uji selama 5 minggu. Rata-rata kadar MDA pada kelompok kontrol 0,069 µg/ml, kelompok tikus yang hanya diberi induksi atorvastatin 0,192 µg/ml, kelompok yang hanya diberi madu 0,074 µg/ml, kelompok yang diberi madu sebelum induksi atorvastatin berturut-turut 0,10; 0,123; 0,119 µg/ml. Walaupun kadar MDA pada kelompok

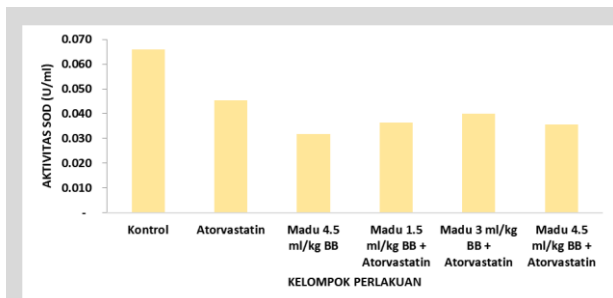
tikus yang hanya diberi atorvastatin relatif lebih tinggi dibandingkan kelompok yang lainnya, tetapi secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p>0.05$).



Gambar 1. Kadar CK rata-rata sebelum dan setelah pemberian sediaan uji selama 5 minggu. (*) Kelompok tikus yang diberi atorvastatin menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p<0.05$) antara CK awal dan CK akhir.



Gambar 2. Kadar MDA rata-rata setelah pemberian sediaan uji selama 5 minggu. Analisis statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna ($p>0.05$) antar kelompok perlakuan.



Gambar 3. Aktivitas SOD rata-rata setelah pemberian sediaan uji selama 5 minggu. (*) Analisis statistik menunjukkan kelompok kontrol dan kelompok yang diberi madu 4,5 ml/kgBB menunjukkan perbedaan bermakna ($p<0.05$) sedangkan kelompok yang lain menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ($p>0.05$).

Gambar 3 menunjukkan rata-rata aktivitas SOD setelah pemberian sediaan uji selama 5 minggu. Analisis statistik menunjukkan kelompok kontrol dan kelompok yang diberi madu 4,5 ml/kgBB menunjukkan perbedaan bermakna ($p<0.05$) sedangkan kelompok yang lain menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ($p>0.05$).

Statin merupakan inhibitor kompetitif HMG-CoA reduktase yang menghambat biosintesis kolesterol endogen melalui jalur asam mevalonat. Penghambatan ini tidak hanya berimplikasi pada inhibisi biosintesis kolesterol endogen, tetapi juga beberapa zat endogen isoprenoid nonsteroid seperti protein prenilis, dolichol, isopentenyladenosine dan coenzyme Q (ubiquinone). Melalui penghambatan tersebut, statin dikaitkan dengan beberapa kejadian efek samping salah satunya adalah miotoksisitas (statin-induced myotoxicity) (19).

Salah satu bentuk miotoksisitas adalah miopati dimana otot mengalami gangguan yang dapat ditandai dengan peningkatan kadar creatine kinase. Creatine kinase (CK)

merupakan enzim yang diekspresikan di sejumlah jaringan dan sel. CK mengkatalisis perubahan kreatin menggunakan ATP menjadi fosfokreatin dan ADP pada jaringan dan sel yang membutuhkan ATP dengan cepat misalnya pada otot skelet. Pengukuran kadar CK digunakan untuk mengevaluasi gangguan otot (4).

Pengukuran kadar CK dilakukan untuk menilai fungsi otot skelet setelah pemaparan atorvastatin dosis tinggi selama lima minggu. Dosis atorvastatin yang digunakan selama tiga minggu yaitu 20 mg/kgBB, selanjutnya dosis ditingkatkan menjadi 40 mg/kgBB pada minggu ke-4 dan ke-5. Penelitian yang dilakukan oleh Panonnummal (2014) menunjukkan bahwa atorvastatin dosis 20 mg/kg signifikan menyebabkan toksisitas pada ginjal dan rhabdomyolisis merupakan alasan kerusakan ginjal yang diinduksi oleh atorvastatin dosis tinggi.

Analisis statistik t test paired two samples menunjukkan bahwa kadar CK di akhir perlakuan pada tikus yang diberi atorvastatin mengalami peningkatan secara signifikan ($p<0,05$) jika dibandingkan dengan kadar CK sebelum perlakuan. Adapun kelompok tikus yang lainnya tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p>0.05$). Peningkatan kadar CK pada pemberian atorvastatin disebabkan oleh efek samping penggunaan statin yaitu terjadi gangguan pada otot skelet (20).

Otot skelet menjadi sensitif terhadap toksisitas statin dikaitkan dengan transporter obat pada otot. Influx transporter pada atorvastatin yang terlokalisasi di otot yaitu OATP2B1 dan efflux transporter pada atorvastatin di otot yaitu MRP1, MRP2 (21). Studi menjelaskan bahwa transporter obat di otot seperti OATP2B1 dan MRP1 berkontribusi pada terjadinya toksisitas otot. OATP2B1 (human organic anion transporting polypeptide 2B1) dan multidrug resistance-associated protein (MRP1, MRP4, dan MRP5) diekspresikan di membran sarkolema otot skelet manusia (21). Atorvastatin merupakan substrat dari ke-2 transporter tersebut. Overekspresi OATP2B1 dan inhibisi aktivitas MRP1 menyebabkan peningkatan akumulasi statin di dalam sel dan dapat meningkatkan toksisitas statin (22). Otot skelet rentan mengalami oksidatif stress disebabkan pula oleh rendahnya kadar antioksidan alami. Kadar katalase dan superoksida dismutase pada sel-sel otot skelet dilaporkan rendah (23).

Data pada gambar 1 menunjukkan bahwa pemberian madu trigona memiliki potensi perlindungan terhadap efek samping miopati atorvastatin. Data statistik menunjukkan tidak adanya perubahan secara signifikan antara kadar CK sebelum dan setelah 5 minggu perlakuan pada tikus yang diberi madu sebelum induksi atorvastatin.

Beberapa penelitian melaporkan penurunan kadar CK maupun isoenzim-nya setelah pemberian madu pada probandus. Konsumsi madu selama 2 minggu dapat menurunkan kadar CK-MB pada 10 pasien sebesar 33% (24). Penelitian lain melaporkan bahwa kadar CK pada atlet bola tangan yang mengonsumsi madu relatif lebih rendah dibandingkan kelompok atlet yang tidak mengonsumsi madu (25).

Mekanisme terjadinya miotoksisitas pada penggunaan statin dikaitkan dengan efek pro-oksidan melalui inhibisi produksi ubiquinon dan aktivasi jalur iNOS. Penurunan konsentrasi CoQ10 menyebabkan gangguan pada fungsi mitokondria yang dikaitkan dengan stimulasi stress oksidatif di mitokondria dan aktivasi jalur pro-apoptosis (9).

Adapun aktivasi jalur iNOS menghasilkan NO dalam jumlah banyak yang akan bereaksi dengan radikal superoksida membentuk peroxynitrite (ONOO-). Peroxynitrite merupakan radikal bebas yang sangat reaktif dan dapat merusak protein, lipid dan asam nukleat (26).

Peningkatan radikal bebas akan menyebabkan terjadinya lipid peroksidasi. Salah satu indeks stress oksidatif tidak langsung yaitu malonaldehyde (MDA). MDA merupakan biomarker utama proses peroksidasi lipid yang terjadi karena adanya serangan radikal bebas terhadap lipid, utamanya polyunsaturated fatty acids (PUFAs). Di antara produk peroksidasi lipid, MDA merupakan produk yang paling mutagenik (27).

Penelitian ini menunjukkan bahwa kadar MDA rata-rata pada kelompok tikus yang diberikan atorvastatin relatif lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan lainnya, walaupun secara statistik perbedaan ini tidak bermakna (gambar 2). Pemberian atorvastatin 10 mg/kg pada tikus putih selama 17 hari menunjukkan kadar MDA yang lebih tinggi sekitar 21,4% dibandingkan kontrol (28). Penelitian lain juga melaporkan adanya peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar beberapa antioksidan endogen pada tikus model diabetes yang diberikan atorvastatin 10 mg/kg dan 20 mg/kg (29).

Hasil lain yang dapat dikonfirmasi dalam penelitian ini terkait dengan pemberian madu trigona pada semua volume dosis sebelum induksi atorvastatin. Kadar MDA pada semua kelompok tersebut lebih rendah dibandingkan kelompok tikus yang hanya diberikan atorvastatin. Walaupun perbedaan ini tidak terjadi secara bermakna, tetapi dapat dilihat bahwa madu memiliki potensi untuk menekan kejadian peroksidasi lipid yang dipicu oleh radikal bebas. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa pemberian madu pada tikus Wistar dapat menurunkan secara signifikan kadar MDA yang dipicu oleh pemberian asetaminofen dosis 2 g/kg (30). Kadar MDA juga mengalami penurunan secara nyata pada tikus model diabetes yang diberikan madu gelam dan jahe dibandingkan dengan kelompok kontrol tikus diabetes (31).

Beberapa studi menjelaskan bahwa madu trigona memiliki aktifitas antioksidan yang tinggi (18). Madu memiliki kandungan senyawa polifenol, flavonoid, dan flavonol yang memiliki aktivitas antioksidan (16). Fenol sangat efektif sebagai penangkal radikal peroksidasi karena struktur molekulnya meliputi cincin aromatik dengan gugus hidroksil yang mengandung mobile hydrogen. Senyawa fenolik mempunyai kemampuan untuk mereduksi dan membentuk ikatan khelat dengan ion ferri yang mengkatalisis peroksidasi lipid (17). Berdasarkan hal tersebut, diduga bahwa kadar MDA yang rendah pada pemberian madu dikaitkan dengan aktivitas antioksidan yang dimilikinya.

Secara normal, sel mempunyai mekanisme pertahanan terhadap kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas, meliputi antioxidants nonenzymes (asam askorbat, vitamin E, dan glutathion) dan antioxidant enzymes (thioredoxins, superoxide dismutase (SOD), catalase, and glutathione peroxidase). Namun, peningkatan produksi ROS melebihi sistem pertahanan antioksidan menyebabkan terjadinya stress oksidatif atau kerusakan seluler (32).

Parameter lain yang diperiksa pada penelitian ini yaitu aktivitas superoxide dismutase (SOD). SOD merupakan enzim yang mengkatalisis radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan air melalui reaksi reduksi dan oksidasi ion mangan (Mn), zinc (Zn), dan tembaga (Cu) (33). Peningkatan maupun penurunan kadar SOD dapat mengindikasikan adanya perubahan pada status oksidatif di dalam tubuh.

Hasil analisis statistik One Way Anova menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok tikus yang hanya diberi atorvastatin dengan semua kelompok perlakuan ($p>0.05$). Data pada gambar 3 menunjukkan aktivitas SOD pada tikus yang hanya diberi atorvastatin tidak berbeda dibandingkan aktivitas SOD pada tikus yang diberi madu

sebelum induksi atorvastatin. Namun, aktivitas SOD kelompok tikus yang hanya diberi atorvastatin terlihat lebih rendah dibandingkan aktivitas SOD pada kelompok kontrol.

Kelompok kontrol dihipotesiskan memiliki aktivitas SOD normal dan dijadikan standarisasi aktivitas SOD pada penelitian ini. Penurunan aktivitas SOD yang ditunjukkan oleh tikus yang hanya diberi atorvastatin mengindikasikan adanya gangguan status oksidatif. Penelitian lain menyebutkan bahwa aktivitas SOD pada kelompok yang hanya diberi atorvastatin lebih rendah sekitar 3 U/mg dibandingkan kontrol (34).

Pemberian atorvastatin diasosiasikan dengan penurunan efek antioksidan endogen, misalnya SOD, katalase, glutathione peroksidase, dan suksinat dehidrogenase (29). Hal ini juga dilaporkan pada penelitian lain bahwa atorvastatin dosis 40 mg/kg/hari selama 90 hari pada tikus menurunkan aktivitas antioksidan endogen (20). Pemberian simvastatin pada pasien yang mengalami intoleransi glukosa dilaporkan menurunkan secara signifikan kadar SOD dibandingkan dengan kontrol sehat (35). Akan tetapi, penjelasan atas hubungan antara penggunaan statin dan penurunan aktivitas SOD masih belum diketahui secara pasti (36).

Atorvastatin dosis tinggi dapat menginduksi peningkatan ROS melalui aktivasi iNOS (14). Peningkatan ROS ini tidak lepas pula dari peran statin menekan kinerja ubiquinone (CoQ10) (15).

Aktivitas SOD pada tikus yang diberi madu 4,5 ml/kg BB dan kelompok kontrol secara statistik menunjukkan perbedaan bermakna ($p<0.05$). Walaupun kedua kelompok ini merupakan hewan sehat tanpa induksi atorvastatin dosis tinggi, tetapi terdapat perbedaan pada aktivitas SOD setelah pemberian sediaan uji selama lima minggu.

Penelitian menyebutkan bahwa madu memiliki kandungan senyawa flavonoid. Flavonoid telah diketahui memiliki aktifitas antioksidan yang tinggi. Mekanisme antioksidan flavonoid yaitu, secara langsung meredam radikal bebas (scavenger free radical) dengan mendonorkan atom hidrogen, membentuk ikatan khelat dengan metal seperti Fe^{2+} dan Cu^{+} sehingga mencegah metabolisme oksigen dan pembentukan radikal. Selain itu, flavonoid menghambat enzim yang menghasilkan radikal bebas seperti, xanthine oxidase, lipoxygenase, protein kinase C, cyclooxygenase, microsomal monooxygenase, mitochondrial succinoxidase, dan NADPH oxidase (37). Berdasarkan mekanisme tersebut, Kadar SOD yang rendah pada tikus yang diberi madu 4,5 ml/kgBB diasumsikan terkait dengan aktifitas antioksidan pada madu.

KESIMPULAN

Madu trigona memiliki potensi proteksi terhadap efek samping miopati dari atorvastatin. Madu trigona juga dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid yang ditandai dengan kadar MDA pada tikus yang diberi madu trigona sebelum induksi atorvastatin lebih rendah dibandingkan kelompok tikus yang hanya diberi atorvastatin dan aktivitas superoxide dismutase pada kelompok tikus yang diberi madu trigona lebih rendah setelah perlakuan selama lima minggu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Istvan ES, Deisenhofer J. Structural Mechanism for Statin Inhibition of HMG-CoA Reductase Structural Inhibition Mechanism of for Statin Reductase. *Adv Sci*. 2009;292(5519):1160-4.
2. Bełtowski J. Statins and modulation of oxidative stress. *Toxicol Mech Methods*. 2005;15(2):61-92.
3. Baer AN, Wortmann RL. Myotoxicity associated with lipid-lowering drugs. *Curr Opin Rheumatol*. 2007;19(1):67-73.

4. Stroes ES, Thompson PD, Corsini A, Vladutiu GD, Raal FJ, Ray KK, et al. Statin-associated muscle symptoms: impact on statin therapy - European Atherosclerosis Society Consensus Panel Statement on Assessment, Aetiology and Management. *Eur Heart J*. 2015;36(17):1012-22.
5. Graham DJ, Staffa JA, Shatin D, Andrade SE, Schech SD, Grenade L La, et al. Incidence of Hospitalized Rhabdomyolysis in Patients with Lipid lowering Drugs. 2004;292(21):6.
6. Tomaszewski M, Stępień KM, Tomaszewska J, Czuczwar SJ. Statin-induced myopathies. 2011;859-66.
7. Kaufmann P, Török M, Zahno A, Waldhauser KM, Brecht K, Krähenbühl S. Toxicity of statins on rat skeletal muscle mitochondria. *Cell Mol Life Sci*. 2006;63(19-20):2415-25.
8. Marcoff L, Thompson PD. The Role of Coenzyme Q10 in Statin-Associated Myopathy. A Systematic Review. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(23):2231-7.
9. Apostolopoulou M, Corsini A, Roden M. The role of mitochondria in statin-induced myopathy. *Eur J Clin Invest*. 2015;45(7):745-54.
10. Hattori Y, Nakanishi N, Kasai K. *Tra Ct. Cardiovasc Res*. 2002;54:649-58.
11. Deavall DG, Martin EA, Horner JM, Roberts R. Drug-induced oxidative stress and toxicity. *J Toxicol*. 2012;2012.
12. Busanello ENB, Marques AC, Lander N, de Oliveira DN, Catharino RR, Oliveira HCF, et al. Pravastatin chronic treatment sensitizes hypercholesterolemic mice muscle to mitochondrial permeability transition: Protection by creatine or coenzyme Q10. *Front Pharmacol*. 2017;8(APR):1-11.
13. Bouitbir J, Charles AL, Echaniz-Laguna A, Kindo M, Daussin F, Auwerx J, et al. Opposite effects of statins on mitochondria of cardiac and skeletal muscles: A "mitohormesis" mechanism involving reactive oxygen species and PGC-1. *Eur Heart J*. 2012;33(11):1397-407.
14. Soner BC, Inan SY, Guven U, Oktem G, Sahin AS. Combined treatment with resveratrol prevents the atorvastatin-induced myopathy in rat skeletal muscle. *African J Pharm Pharmacol*. 2013;7(18):1114-8.
15. Deichmann R, Lavie C, Andrews S. Coenzyme q10 and statin-induced mitochondrial dysfunction. *Ochsner J*. 2010;10(1):16-21.
16. Krishnasree V, Ukkuru PM. Phytochemical screening and antioxidant activity of different bee honeys. *J Med Herbs Ethnomedicine*. 2015;1(1):38-44.
17. Uttara B, Singh A V, Zamboni P, Mahajan RT. Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. *Curr Neuropharmacol*. 2009;7(1):65-74.
18. Rao PV, Krishnan KT, Salleh N, Gan SH. Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: A comparative review. *Brazilian J Pharmacogn*. 2016;26(5):657-64.
19. Beltowski J, Wójcicka G, Jamroz-Wisniewska A. Adverse Effects of Statins - Mechanisms and Consequences. *Curr Drug Saf*. 2009;4:209-28.
20. Elshama SS, El-Kenawy AE-M, Osman H-EH. Curcumin improves atorvastatin-induced myotoxicity in rats: Histopathological and biochemical evidence. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2016;29(4):742-52.
21. Rodrigues AC. Efflux and uptake transporters as determinants of statin response. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2010;6(5):621-32.
22. Knauer MJ. The Role of Drug Transporters in Statin-Induced Myopathy. 2012;(December).
23. Urbano F, Bugliani M, Filippello A, Scamporrino A, Mauro D, Pino A Di, et al. Atorvastatin but Not Pravastatin Impairs Mitochondrial Function in Human Pancreatic Islets and Rat β -Cells . Direct Effect of Oxidative Stress. *Sci Rep*. 2017;(August):1-17.
24. Al-Waili NS. Effects of Daily Consumption of Honey Solution on Hematological Indices and Blood Levels of Minerals and Enzymes in Normal Individuals. *J Med Food*. 2003;6(2):135-40.
25. Tartibian B, Mostafapour M, Esmailpour HM. The Effect of Honey Supplement on the Inflammation Factors of Plasma of the Handballist Young Men. *Int J Sport Stud*. 2015;5(1):38-41.
26. Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. *Antioxid Redox Signal*. 2011;15(6):1583-606.
27. Esterbauer H, Eckl P, Ortner A. Possible mutagens derived from lipids and lipid precursors. *Mutat Res Genet Toxicol*. 1990;238(3):223-33.
28. Panonnummal R, Varkey J. Statins induced nephrotoxicity: A dose dependent study in albino rats. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2014;6(11):401-6.
29. Shu N, Hu M, Ling Z, Liu P, Wang F, Xu P, et al. The enhanced atorvastatin hepatotoxicity in diabetic rats was partly attributed to the upregulated hepatic Cyp3a and SLCO1B1. *Sci Rep*. 2016;6(September):33072.
30. Galal RM, Zaki HF, Seif El-Nasr MM, Agha AM. Potential protective effect of honey against paracetamol-induced hepatotoxicity. *Arch Iran Med*. 2012;15(11):674-80.
31. Abdul Sani NF, Belani LK, Pui Sin C, Abdul Rahman SNA, Das S, Zar Chi T, et al. Effect of the combination of gelam honey and ginger on oxidative stress and metabolic profile in streptozotocin-induced diabetic sprague-dawley rats. *Biomed Res Int*. 2014;2014(May).
32. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J*. 2012;(January):9-19.
33. Azadmanesh J, Borgstahl G. A Review of the Catalytic Mechanism of Human Manganese Superoxide Dismutase. *Antioxidants*. 2018;7(2):25.
34. Mohammadi M, Amini R, Jahanbakhsh Z, Shekarforoush S. Effects of atorvastatin on the hypertension-induced oxidative stress in the rat brain. *Iran Biomed J*. 2013;17(3):152-7.
35. Larsen S, Ci MS, Stride N, Hey-mogensen M, Hansen CN, Bang LE, et al. Simvastatin Effects on Skeletal Muscle Relation to Decreased Mitochondrial Function and Glucose Intolerance. *JAC*. 2013;61(1):44-53.
36. Okuyama H, Langsjoen PH, Hamazaki T, Ogushi Y, Hama R, Kobayashi T, et al. Statins stimulate atherosclerosis and heart failure : pharmacological mechanisms Statins stimulate atherosclerosis and heart failure : pharmacological mechanisms. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2015;8(2):189-99.
37. Banjarmasin SDS, Artanti N. Antioxidant properties of flavonoids. *Med J Indones*. 2014;23(4):239-44.