

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada Gizi Kurang**

Tingkat kesehatan dipengaruhi oleh asupan makanan yang masuk ke dalam tubuh seseorang, jika asupan gizi yang masuk dalam komposisi yang baik maka seseorang juga akan baik. Namun, jika yang terjadi adalah yang sebaliknya maka tubuh akan kekurangan zat gizi atau biasa disebut *malnutrition* (Notoatmodjo, 1996 dalam Punarsih, 2012). Tingkat konsumsi makanan yang ketersediaan zat gizi tidak cukup dalam kualitas dan kuantitas untuk memenuhi kebutuhan tubuh usia di bawah lima tahun (balita) dapat menjadi penyebab kekurangan gizi (Adriani dan Kartika, 2013). Menurut UNICEF (1998) yang tertuang pada *The Conceptual Framework of Malnutrition*, penyebab langsung dari kekurangan gizi pada anak yaitu asupan/konsumsi makanan yang kurang dan adanya penyakit/infeksi yang keduanya saling berkaitan. Asupan makanan yang kurang dapat menyebabkan tubuh mudah terserang penyakit infeksi bahkan memperparah kondisi penyakit infeksi tersebut. Demikian sebaliknya, anak dengan asupan makanan cukup tetapi sering sakit dapat mengalami kekurangan gizi.

Di Indonesia, prevalensi kekurangan gizi pada usia di bawah lima tahun (balita) dengan indikator  $BB/U < -2SD$  masih fluktuatif yaitu dari 18,4% tahun 2007 menurun menjadi 17,9% tahun 2010 kemudian meningkat lagi menjadi 19,6% pada tahun 2013 (Riskesdas, 2013). Tahun 2016, prevalensi kekurangan gizi pada usia di bawah lima tahun (balita) mengalami penurunan menjadi 17,8% tetapi masih belum mencapai target yang ditentukan (Kemenkes, 2016). Rencana Pembangunan Jangka Menengah Nasional (RPJMN) pada tahun 2015 – 2019 menyatakan bahwa target prevalensi kekurangan gizi pada balita menjadi 17% pada tahun 2019.

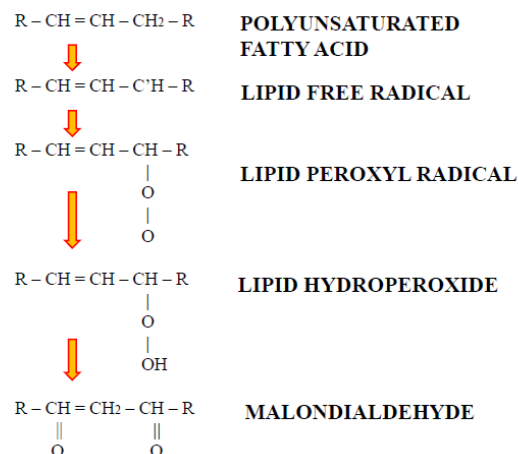
Kekurangan zat gizi makro dan mikro dapat menyebabkan kekurangan gizi yang parah. Kekurangan protein akan menurunkan plasma albumin dan enzim antioksidan dalam jaringan sedangkan kekurangan zat gizi mikro akan mengurangi antioksidan pada anak kurang gizi (Khare *et al.*, 2014). Infeksi atau peradangan dalam jangka panjang pada kekurangan gizi dapat menghasilkan

radikal bebas yang berlebihan dan menyebabkan stres oksidatif (Bosnact *et al*, 2010). Sejalan dengan Winiar (2014) mengatakan bahwa stress oksidatif akan meningkat pada keadaan anemia, hipoksia, gizi kurang, hipertensi, dan infeksi.

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas bersifat sangat reaktif dan tidak stabil sehingga cenderung akan bergabung dengan zat kimia anorganik atau organik. Radikal bebas di dalam sel akan menyerang asam nukleat dan berbagai protein sel serta lipid. Radikal bebas akan mengakibatkan molekul yang bereaksi dengannya akan berubah menjadi radikal bebas lain, sehingga terjadi suatu rangkaian kerusakan. *Reactive oxygen species* (ROS) merupakan radikal bebas yang berasal dari oksigen yang menyebabkan kerusakan sel. *Reactive oxygen species* (ROS) dapat menyebabkan proses peroksidasi lipid pada membran sel. Ikatan rangkap pada membran lemak *polyunsaturated* sangat rawan terhadap serangan radikal bebas asal oksigen. Interaksi lemak dengan radikal menghasilkan peroksidase, yang tidak stabil dan reaktif. Produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang meningkat dibandingkan dengan pertahanan antioksidan di dalam tubuh akan menyebabkan penumpukan radikal bebas sehingga terjadi stress oksidatif (Kumar *et al*, 2015).

Tubuh memiliki mekanisme pertahanan antioksidan dalam bentuk enzim antioksidan dan zat antioksidan untuk menetralkan radikal bebas. Antioksidan berfungsi untuk mencegah terjadinya oksidasi atau menetralkan senyawa yang telah teroksidasi, dengan cara menyumbangkan hydrogen atau elektron. Antioksidan di dalam tubuh dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu antioksidan primer untuk mencegah terbentuknya radikal bebas (glutation peroksidase), antioksidan sekunder untuk menangkap radikal bebas dan menghalangi terjadinya reaksi berantai (vitamin C, vitamin E, betakaroten), serta antioksidan tertier untuk memperbaiki kerusakan biomolekuler yang disebabkan radikal bebas (Silalahi, 2006). Namun, penelitian Jain *et al* (2008) menunjukkan bahwa pada anak-anak penderita gizi kurang memiliki kapasitas antioksidan total (*Grade I* = 1,3 mmol/L, *Grade II* = 1,1 mmol/L, *Grade III AND IV* = 0,5 mmol/L) yang secara signifikan lebih rendah jika dibanding dengan 2,0 mmol/L pada kelompok kontrol ( $p < 0.001$ ). Sehingga, dibutuhkan tambahan antioksidan yang cukup untuk menghambat terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS) dan stress oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel (Silalahi, 2006).

Puspitasari (2015) mengatakan bahwa produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan dalam kondisi stres oksidatif dapat memicu terjadinya peroksidasi *polyunsaturated fatty acids* (PUFA). Pendit (1996) dalam Ramatina (2011) menjelaskan peroksida lipid terbentuk sebagai hasil reaksi antara radikal bebas dengan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) yang merupakan unsur utama dari membran sel. Proses peroksida lipid dimulai dengan penarikan atom hidrogen yang mengandung satu elektron dari ikatan rangkap *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) membentuk radikal lipid. Penambahan oksigen akan menyebabkan terbentuknya radikal peroksil lipid yang selanjutnya akan menarik lagi atom hidrogen dari ikatan rangkap *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) yang lain, sehingga terbentuk radikal lipid berikutnya. Radikal peroksil lipid tersebut akan mengalami dekomposisi menjadi peroksida lipid. Peroksida lipid bersifat tidak stabil dan akan terurai menghasilkan sejumlah senyawa, antara lain *malondialdehyde* (MDA) (Gambar 1).



Gambar 1. Produksi *Malondialdehyde* (MDA) (Gammone, 2015)

Radikal bebas memiliki waktu paruh yang sangat pendek sehingga sulit diukur dalam laboratorium. Kerusakan jaringan lipid akibat radikal bebas dapat diperiksa dengan senyawa *malondialdehyde* (MDA) yang merupakan produk peroksidasi lipid (Sari, 2012). Darwandi dkk (2013) mengatakan bahwa *malondialdehyde* (MDA) merupakan suatu indikator terjadinya peroksidasi lipid yang digunakan untuk melihat stress oksidatif pada jaringan. Semakin tinggi kadar *malondialdehyde* (MDA), semakin tinggi pula radikal bebas yang ada di dalam tubuh. Hasil penelitian Khare *et al.* (2014) menyatakan bahwa anak-anak

yang mengalami gizi kurang memiliki lebih banyak produk akibat kerusakan oksidan dikarenakan tingkat antioksidan yang kurang. Dibuktikan dengan terjadi peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) serum yang signifikan pada anak-anak gizi kurang dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $p < 0,001$ ). Pada penelitian Jain *et al* (2008) juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,001$ ) mengenai kadar *malondialdehyde* (MDA) pada anak gizi kurang (*Grade I* = 1,6 mmol/L, *Grade II* = 1,9 mmol/L, *Grade III* = 2,9 mmol/L) jika dibandingkan anak yang tidak gizi kurang dengan kadar *malondialdehyde* (MDA) 1.3 mmol/L.

Menurut Pratiwi (2017) menjelaskan bahwa *malondialdehyde* (MDA) yang meningkat sebagai hasil peroksida lipid dapat mengakibatkan apoptosis, yang berkontribusi pada patofisiologi *malnutrition*. Fungsi kerja usus akan terganggu dan absorpsi glukosa akan menurun akibat stress oksidatif. Stress oksidatif terjadi akibat luka di saluran pencernaan dan adanya *malnutrition* yang dapat mengurangi pertahanan antioksidan. Stress oksidatif mengakibatkan terjadinya kerusakan radikal bebas di usus dan dapat merubah fungsi epitel usus. Selain itu, menurut Almatsier (2009) menjelaskan bahwa radikal bebas yang meningkat pada penderita gizi kurang juga dapat menyebabkan kerusakan hati akibat dari aktivasi *reactive oxygen species* (ROS). Radikal bebas yang meningkat dan produksi sitokin proinflamasi pada perlemakan hati akan menyebabkan steatosis. Inflamasi yang berkepanjangan akan menyebabkan kerusakan jaringan.

## **B. Tikus Wistar Jantan Model Gizi Kurang**

Tikus merupakan hewan coba yang sering digunakan dalam penelitian, hal tersebut berkaitan dengan kedekatannya dengan manusia, antara lain adalah mamalia, pemakan segala (omnivore), mudah berkembang biak dan diberi perlakuan (Kusumawati, 2004). Menurut Muchtadi (2010) keuntungan menggunakan tikus percobaan adalah biaya relatif murah, mudah dikontrol, tidak mampu memuntahkan isi perutnya karena tidak memiliki kantung empedu, dan tidak berhenti tumbuh, namun kecepatan pertumbuhannya akan menurun setelah berumur 100 hari. Selain itu, fungsi dan bentuk organ, proses biokimia dan proses biofisik pada tikus memiliki banyak kemiripan dengan manusia. Tikus percobaan juga merupakan sarana yang baik untuk memanipulasi keadaan atau perlakuan yang tidak mungkin diterapkan pada manusia.

Penggunaan tikus jantan dalam penelitian dikarenakan terdapat perbedaan hormon, sehingga hewan jantan mempunyai penambahan bobot badan lebih cepat daripada hewan jantan yang dikebiri atau betina (Yudi dan Parakkasi, 2005). Perbedaan hormon antar jenis kelamin tersebut berpengaruh terhadap emosional atau nafsu makan tikus percobaan. Tikus betina memiliki emosional yang cenderung tidak stabil dari pada tikus jantan (Permadi, 2011).

### **1. Pengkondisian tikus gizi kurang**

Pengkondisian tikus gizi kurang dilakukan dengan menggunakan tikus berumur 4-5 minggu diberi ransum protein dengan susunan bahan: minyak jagung 8%, mineral mix 5%, vitamin mix 1%, CMC 1%, dan ditambahkan dengan pati jagung/maizena sebanyak dari sisa kebutuhan total yaitu 80%. Ransum diberikan secara *ad libitum* selama 14 hari berturut-turut. Tikus dinyatakan gizi kurang jika penurunan berat badannya 25% dari berat badan awal (Kholis dan Hadi, 2010). Pada penelitian Permadi (2011) menunjukkan bahwa pada kelompok tikus yang diberi ransum rendah protein mengalami perbedaan berat badan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dengan kelompok tikus lainnya. Kelompok tikus yang diberi ransum rendah protein mengalami penurunan berat badan karena ransum yang dikonsumsi tidak ditambahkan sumber protein. Kekurangan asupan protein dalam ransum menyebabkan gangguan pada penyerapan dan transportasi zat-zat gizi, sehingga ransum yang dikonsumsi tidak dapat menambah massa otot, bahkan sebaliknya. Ransum yang dikonsumsi hanya berfungsi untuk mempertahankan hidup. Menurut Speicher (1994) dalam Nuraini (2009) mengatakan bahwa tikus yang dinyatakan gizi kurang juga dapat dilihat dari parameter kadar albumin yang nilainya kurang dari 3,0 g/dL.

### **2. Ransum Tikus**

Kebutuhan zat gizi yang diperlukan untuk pertumbuhan tikus percobaan hampir sama dengan manusia, yaitu terdiri dari pati atau gula, serat (dapat berupa selulosa), minyak atau lemak yang mengandung asam lemak esensial (linoleat dan linolenat), protein yang mengandung 10 macam asam amino esensial, mineral atau elemen anorganik, dan vitamin larut air maupun larut lemak (Prangdimurti, 2016). Sejalan dengan Kusumawati (2004) mengatakan bahwa bahan dasar untuk membuat ransum harus bervariasi dan sesuai dengan

kebutuhan zat gizi tikus. Ransum yang diberikan pada tikus wistar disesuaikan dengan standar zat gizi ransum dalam sehari yang ditunjukkan pada Tabel 1. Kebutuhan ransum tikus setiap hari yaitu sebanyak 10 % dari bobot tubuhnya, jika bahan tersebut merupakan makanan kering (Priambodo, 1995 dalam Meihardiani, 2013).

Tabel 1. Standar Zat Gizi Ransum Tikus

Zat Gizi	Keterangan
Protein (%)	15
Lemak (%)	5
Pati (%)	45-50
Energi metabolis (kalori/gram)	3,8 – 4,1
Serat kasar (%)	5
Abu (%)	4 – 5

Sumber : Smith dan Mangkoewidjojo, 1998 dalam Sriutami, 2008

a. Ransum normal

Ransum normal yang digunakan dalam penelitian adalah ransum modifikasi dengan berbahan dasar susu skim, pati jagung, minyak jagung, mineral mix, vitamin mix, selulosa, dan air. Komposisi ransum normal disesuaikan dengan anjuran AOAC (1995) yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Bahan Ransum Normal

Komposisi Bahan	Jumlah (%)
Susu Skim	43
Minyak jagung	13
Mineral mixture	2,6
Vitamin mixture	1
Selulosa	1
Pati jagung	39,4

Ransum normal diberikan mulai dari awal fase adaptasi hingga fase intervensi sesuai dengan taraf perlakuan. Ransum normal dimodifikasi hingga isokalori dengan ransum biskuit tempe-kelor yang digunakan dalam penelitian. Tabel 3 menyajikan kandungan gizi ransum normal dalam 100 gram.

Tabel 3. Kandungan Gizi Ransum Normal dalam 100 Gram

<b>Kandungan gizi</b>	<b>Jumlah</b>	<b>Persentase (%)</b>
Energi (kalori)	414,5	
Protein (gram)	15,7	15,2
Lemak (gram)	13,5	29,3
Karbohidrat (gram)	57,5	55,5

b. Ransum rendah protein

Ransum rendah protein diberikan selama 14 hari. Ransum rendah protein diberikan dengan tujuan mengkondisikan tikus wistar menjadi gizi kurang. Komposisi bahan ransum rendah protein disajikan pada Tabel 4. Setelah komposisi bahan ransum rendah protein diketahui maka didapatkan kandungan gizi yang disajikan pada Tabel 5. Kandungan energi dan zat gizi ransum rendah protein dalam 100 gram didapatkan dengan menghitung kandungan gizi bahan utama yaitu pati jagung dan minyak jagung.

Tabel 4. Komposisi Bahan Ransum Rendah Protein

<b>Komposisi Bahan</b>	<b>Jumlah (%)</b>
Minyak jagung	8
Mineral mixture	5
Vitamin mixture	1
Selulosa	1
Pati jagung	80
Air	5

Sumber : AOAC (1995) dalam Permadi (2011).

Tabel 5. Kandungan Energi dan Zat Gizi Ransum Rendah Protein dalam 100 Gram

<b>Kandungan gizi</b>	<b>Jumlah</b>	<b>Persentase (%)</b>
Energi (kalori)	364,88	
Protein (gram)	0,24	0,3
Lemak (gram)	8,08	19,9
Karbohidrat (gram)	72,8	79,8

### C. Pemberian Biskuit Tempe-Kelor

Bentuk produk makanan tambahan untuk anak usia di bawah lima tahun (balita) gizi kurang salah satunya yaitu berupa biskuit. Biskuit merupakan pangan praktis karena dapat dimakan kapan saja dan dengan pengemasan yang baik. Biskuit memiliki daya simpan yang relatif panjang. Biskuit dapat dipandang sebagai media yang baik sebagai salah satu jenis pangan yang dapat memenuhi kebutuhan khusus manusia (Manley, 2000 dalam Mervina, 2012). Salah satu jenis makanan tambahan untuk usia di bawah lima tahun (balita) gizi kurang dan memiliki daya terima yang baik adalah biskuit (Kusharto dkk., 2009).

Biskuit tempe-kelor adalah salah satu produk yang telah dikembangkan oleh Striata grub. Biskuit tempe-kelor digunakan sebagai makanan tambahan untuk anak usia di bawah lima tahun (balita) gizi kurang. Biskuit tersebut merupakan hasil dari pemanfaatan pangan lokal yaitu tempe dan daun kelor. Biskuit tempe-kelor dalam 100 gram mengandung energi 454,8 kalori, memenuhi syarat biskuit MP-ASI menurut SNI 01-7111.2-2005 yaitu dipersyaratkan energi biskuit minimum sebesar 400 kalori. Berikut adalah kandungan gizi biskuit tempe-kelor dengan standar biskuit MP-ASI menurut SNI 01-7111.2-2005 disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Perbandingan Kandungan Biskuit Tempe-kelor dengan Standar SNI Biskuit MP-ASI dalam 100 Gram

<b>Komponen</b>	<b>Biskuit tempe-kelor</b>	<b>Standar SNI biskuit MP-ASI</b>
Energi (kalori)	454,8	Minimum 400
Karbohidrat (gram)	65	-
Protein (gram)	16,3	Minimum 6
Lemak (gram)	14,4	6 - 18
Air (gram)	1,98	Maksimum 5
Abu (gram)	2,3	Maksimum 3,5

Kelor adalah salah satu tanaman yang dapat tumbuh dengan mudah dan menyediakan semua asam amino esensial termasuk zat gizi makro dan mikro yang dibutuhkan manusia. Kelor sebagai salah satu pangan alternatif untuk mengatasi masalah gizi (Aminah dkk, 2015). Pada penderita gizi kurang terjadi peningkatan stress oksidatif akibat ketidakseimbangan antara produksi *reactive oxygen species* (ROS) dengan sistem pertahanan antioksidan dan hal tersebut bisa diukur dengan melihat kadar *malondialdehyde* (MDA) (Winiar dkk., 2014). Pada penelitian Oparinde dan Atiba (2014) menunjukkan bahwa kadar



*malondialdehyde* (MDA) pada tikus wistar yang diberi ransum daun kelor ( $1.00 \pm 0.13$  mmol/l) secara signifikan ( $p < 0.05$ ) memiliki jumlah yang lebih rendah dari pada tikus wistar yang diberi ransum normal ( $1.48 \pm 0.09$  mmol/l). Penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) tersebut dikarenakan terdapat peningkatan antioksidan yang berasal dari daun kelor yaitu betakaroten, vitamin B, vitamin C, dan Vitamin E. Betakaroten, vitamin C, dan vitamin E bertindak sebagai antioksidan pemutus reaksi rantai. Vitamin C bersifat hidrofilik dan berperan dalam sitosol dan cairan ekstrasel sedangkan betakaroten dan vitamin E bersifat lipofilik sehingga berperan pada membran sel untuk mencegah peroksidasi lipid.

Tempe merupakan salah satu produk fermentasi dari bahan kedelai. Tempe mengandung isoflavon 50 mg/100gram lebih tinggi dari pada produk olahan kedelai lainnya seperti tahu mengandung isoflavon sebesar 30 mg/100gram dan susu kedelai hanya 10mg/100gram. Isoflavon pada kedelai dan produk olahannya dapat menjadi antioksidan dalam mencegah kerusakan oksidatif membran sel (Astawan, 2009). Pada penelitian Desminarti dkk (2012) menunjukkan bahwa pemberian ransum bubuk tempe pada tikus hiperglikemi memberikan penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan pemberian ransum normal. Penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) tersebut dikarenakan pada tempe mengandung antioksidan isoflavon yang diharapkan mampu mengurangi atau menghilangkan radikal bebas yang meningkat. Sejalan dengan Retno dkk (2012) yang mengatakan bahwa isoflavon mampu merangsang ekspresi Cu-Zn Sod yang dapat melindungi sel dari serangan stress oksidatif sehingga tidak terbentuk produk peroksidasi lipid yang berkepanjangan.