

Khasiat Proteksi Madu terhadap Kerusakan Hepar Tikus yang Diinduksi Etanol

Muhartono, Larasati N. D., Rizki Hanriko, Sutyarso
Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Abstrak

Madu merupakan salah satu produk lebah madu yang sering digunakan sebagai obat sejak zaman dahulu. Madu memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, namun penelitian untuk mengetahui efek protektifnya terhadap kerusakan hepar akibat etanol belum dilakukan di Indonesia. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek protektif madu terhadap kerusakan hepar tikus yang diinduksi etanol. Penelitian ini dilaksanakan pada November 2011 di laboratorium Farmakologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan rancangan acak lengkap terhadap 25 ekor tikus yang dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok 1: kontrol; kelompok 2: etanol; kelompok 3, 4, dan 5: madu + etanol. Etanol 0,01 mL/gBB diberikan per oral kepada kelompok 2, 3, 4, dan 5 selama 14 hari. Kelompok madu + etanol diberi madu per oral dosis 0,0018 mL/gBB, 0,0054 mL/gBB, dan 0,016 mL/gBB 1,5 jam sebelum pemberian etanol. Sampel hepar diambil untuk pemeriksaan histopatologi. Parameter kerusakan hepar berupa degenerasi lemak. Hasilnya menunjukkan etanol menyebabkan degenerasi lemak dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kelompok 3, 4, dan 5 menunjukkan penurunan degenerasi lemak secara bermakna ($p < 0,050$; $p < 0,001$; $p < 0,001$). Perbaikan terlihat jelas pada kelompok 5. Simpulan, madu berefek protektif terhadap kerusakan hepar tikus. [MKB. 2013;45(1):16–22]

Kata kunci: Degenerasi lemak, etanol, madu

The Protective Effect of Honey on Ethanol-Induced Liver Injury in Rats

Abstract

Honey is one of the honeybee's products which are often used as medicine since a long time ago. Honey has a high antioxidant activity, but studies to investigate its protective effect on ethanol-induced liver injury have not been carried out in Indonesia. The aim of this study was to investigate the protective effect of honey on ethanol-induced rat liver injury. This study was conducted in the Pharmacology and Pathology laboratory in November 2011. This experimental laboratory study used randomized complete design on 25 rats divided into five groups. Group 1: control; group 2: ethanol; group 3, 4 and 5: honey + ethanol. Ethanol 0.01 mL/g body weight was given orally to group 2, 3, 4 and 5 for 14 days. Honey + ethanol groups were given honey at a dose of 0.0018 mL/g body weight, 0.0054 mL/g body weight, and 0.016 mL/g body weight orally at 1.5 hours prior to ethanol administration. Liver samples were taken for histopathological examination. The parameter of liver injury was fatty degeneration. The results showed that ethanol induced fatty degeneration compared to control group. Group 3, 4 and 5 showed significantly decreased fatty degeneration ($p < 0.050$, $p < 0.001$, $p < 0.001$). The improvement was prominent in group 5. In conclusion, honey has a protective effect on rat liver injury. [MKB. 2013;45(1):16–22]

Key words: Ethanol, fatty degeneration, honey

Korespondensi: Muhartono, dr., M.Kes. Sp.PA, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, jalan Soemantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung, *mobile* 081272358340, *e-mail* dmuhartono@yahoo.com

Pendahuluan

Akhir-akhir ini, dalam kehidupan zaman modern penanggulangan penyakit mulai beranjak kembali pada penggunaan obat-obatan tradisional.¹ *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan penggunaan obat-obatan tradisional dalam upaya pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama penyakit kronik dan penyakit degeneratif.²

Salah satu obat tradisional yang sudah dikenal di peradaban seluruh dunia adalah madu. Madu merupakan cairan manis dari nektar tumbuhan yang diproduksi oleh lebah madu. Sejak 3.500 tahun lalu, orang Mesir kuno telah menggunakan madu untuk mengobati luka.³ Madu mengandung 80% karbohidrat, 20% air, termasuk beberapa protein. Madu telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan oleh karena kandungan flavonoidnya tinggi.⁴ Antioksidan lain dalam madu yaitu asam amino, protein, dan fitokimia golongan polifenol. Di samping itu, madu juga mengandung beberapa enzim, yaitu glukosa oksidase dan katalase, serta beberapa vitamin, yaitu vitamin A, B kompleks, C, E, dan betakaroten.^{4,5}

Salah satu oksidan yang dapat menimbulkan stres oksidatif adalah etanol. Etanol dipilih sebagai oksidan mengingat penyalahgunaan etanol telah menjadi permasalahan sosial di seluruh dunia.⁶ Konsumsi etanol telah lama dihubungkan dengan penyakit hepar. Hepar merupakan tempat utama metabolisme etanol sehingga menderita kerusakan yang paling parah akibat konsumsi etanol. Hal ini disebabkan etanol dapat meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan menurunkan kadar antioksidan selular.⁷

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menguji kandungan antioksidan madu sehingga berefek hepatoprotektif. Pemberian madu per oral pada tikus *Sprague Dawley* jantan yang diinduksi CCl_4 akan mampu memperbaiki secara bermakna gambaran histopatologi hepar serta ginjal tikus karena kandungan antioksidan yang terdapat dalam madu.⁸ Dewi⁹ memberikan madu dengan dosis 0,078 mL/20 gBB kepada mencit, yang setara dengan 30 mL untuk manusia, selama 14 hari berturut-turut dan madu tersebut dapat mengurangi kerusakan sel hepar mencit akibat natrium siklamat secara signifikan.

Madu mempunyai potensi yang sangat besar sebagai antioksidan, tetapi konsumsi madu di Indonesia masih rendah, yaitu 15 g/orang/tahun. Keadaan ini sangat berbeda dengan negara maju, seperti Jerman Barat dan Swiss yang setiap tahun mengonsumsi madu sebanyak 800 g–1,4 kg/orang, Australia mengonsumsi madu 600 g/orang/tahun, dan Jepang mengonsumsi madu sekitar 200 hingga 300 g/orang/tahun.³ Mengingat fakta tersebut dan berdasarkan penelitian tentang madu

sebagai hepatoprotektor kerusakan akibat etanol masih jarang dilakukan di Indonesia, oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek protektif madu terhadap kerusakan hepar tikus jantan yang diinduksi dengan etanol.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik menggunakan metode rancangan acak terkontrol dengan pola *post test only control group design*. Sebanyak 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa galur *Sprague Dawley* berumur 3–4 bulan yang dipilih secara acak yang dibagi menjadi lima kelompok, dengan pengulangan sebanyak lima kali, sesuai dengan rumus Freederer $t(n-1) > 15$, dinyatakan dengan huruf t. Jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel setiap kelompok. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung bulan November 2011. Tikus putih didapat dari Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

Kerusakan hepar tikus diinduksi menggunakan etanol. Pemberian etanol 50% (v/v) dengan dosis 5 g/kgBB per oral kepada tikus selama 10 hari dapat menyebabkan sel hepar tikus mengalami nekrosis, fibrosis, dan infiltrasi sel inflamasi.⁶ Jika konsentrasi etanol yang diinginkan 50%, maka dalam 50% v/v 100 mL terdapat 50 gram etanol sehingga dosis volume etanol yang diberikan sebanyak 10 mL/kgBB. Etanol diberikan 1,5 jam setelah pemberian madu.

Dosis madu yang diberikan 0,0027 mL/gBB sudah terbukti mampu melindungi hepar mencit yang diinduksi oleh natrium siklamat selama 14 hari.⁹ Dosis madu pertama dan ketiga ditentukan berdasarkan standar pengobatan herbal Asean, yaitu dosis paling rendah 1/3 kali dosis dan dosis paling tinggi 3 kali dosis.¹⁰ Madu yang diberikan pada tikus merupakan larutan madu 50% yang diencerkan dengan akuades.

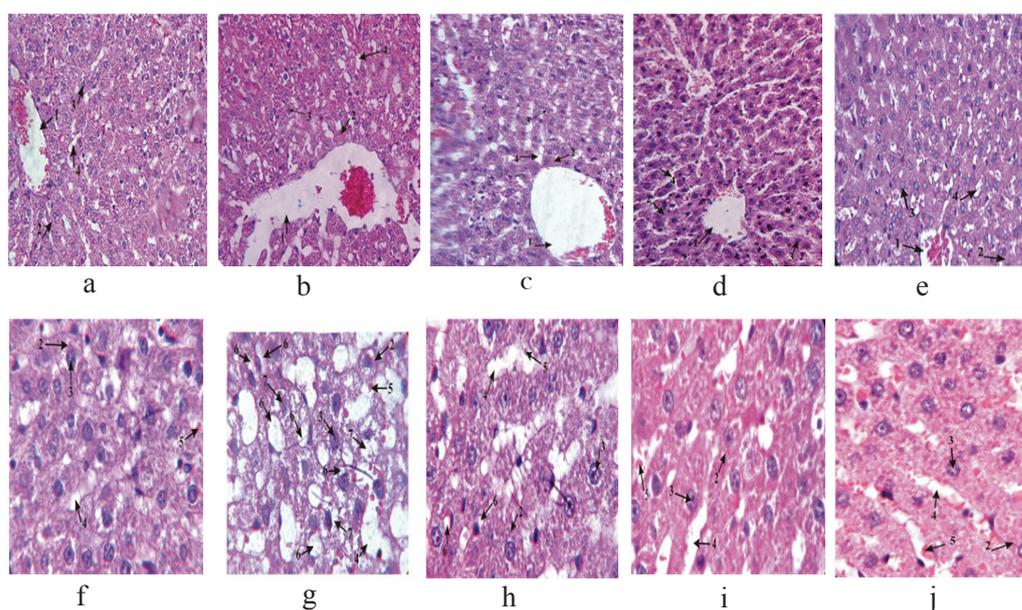
Tikus sebanyak 25 ekor dibagi dalam lima kelompok. Kelompok I (K1) sebagai kontrol normal (negatif) hanya diberi akuades. Kelompok II (K2) sebagai kontrol patologis (positif) diberi etanol 50% 0,01 mL/gBB. Kelompok III (K3) adalah kelompok perlakuan dengan pemberian etanol 50% 0,01 mL/gBB ditambah larutan madu 50% dosis 0,0018 mL/gBB, kelompok IV (K4) dengan dosis larutan madu 50% sebanyak 0,0054 mL/gBB, serta kelompok V (K5) dengan dosis larutan madu 50% sebanyak 0,016 mL/gBB, larutan madu dan etanol 50% tersebut diberikan 1 kali/hari. Masing-masing diberikan secara per oral selama 14 hari. Selama satu minggu setiap

kelompok tikus diadaptasikan sebelum dilakukan perlakuan. Setelah 14 hari, dilakukan narkosis menggunakan kloroform, dilakukan laparatomi, setelah itu diambil hepar masing-masing tikus untuk dibuat 1 (satu) preparat. Sampel hepar difiksasi dengan larutan formalin 10%, kemudian pembuatan preparat dilakukan dengan metode parafin dan juga pewarnaan HE (hematoksilin-eosin). Parameter kerusakan hepar tikus yang terjadi berupa degenerasi lemak diamati dengan mikroskop perbesaran 400 kali. Skala degenerasi lemak kemudian dihitung secara semikuantitatif dalam 5 lapang pandang berbeda dengan kriteria penilaian adalah skor 0=tidak terdapat hepatosit yang mengalami degenerasi lemak; skor 1=<10% hepatosit yang mengalami degenerasi lemak; skor 2=10–33% hepatosit mengalami degenerasi lemak; skor 3=34–66% hepatosit mengalami degenerasi lemak; skor 4=>66–100% hepatosit mengalami degenerasi lemak.¹¹ Data diuji dengan *one way* ANOVA dan *post-hoc* LSD. Hipotesis bermakna bila $p < 0,050$.

Hasil

Hasil penelitian berupa preparat histopatologis hepar tikus diperiksa mikroskopik menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1.000x untuk menganalisis degenerasi lemak yang telah terjadi. Setiap preparat hepar diambil lima lapang pandang untuk ditentukan skor degenerasi lemak pada masing-masing lapang pandang kemudian dihitung persentase skor degenerasi lemak rata-rata.

Dari hasil analisis mikroskopik gambaran degenerasi lemak hepatosit tikus, didapat hasil skor degenerasi lemak rata-rata dari setiap lapang pandang yang dihitung pada kelompok kontrol normal K1 yaitu $5,0 \pm 3,54$; kelompok kontrol patologis yaitu K2 sebesar $40,0 \pm 3,54$; kelompok perlakuan K3 dengan dosis 0,0018 mL/gBB sebesar $30,0 \pm 5,00$; pada kelompok perlakuan K4 dengan dosis 0,0054 mL/gBB sebesar $18,0 \pm 5,70$; dan kelompok perlakuan K5 dengan dosis 0,016 mL/gBB sebesar $6,0 \pm 4,18$. Hasil persentase rata-rata skor sel yang mengalami degenerasi lemak



Gambar 1 Histopatologi Kelompok Perlakuan dengan Pembesaran 400x, K1 (a), K2 (b), K3 (c), K4 (d), K5 (e) dan Histopatologi Kelompok Perlakuan dengan Pembesaran 1.000x: K1 (f), K2 (g), K3 (h), K4 (i), K5 (j). Kelompok K2 Terdapat Degenerasi Lemak Paling Banyak setelah Diberikan Etanol; K3, K4 dan K5 Terjadi Penurunan Degenerasi Lemak Signifikan setelah Diberikan Madu Sebelum Diberikan Etanol

Tabel 1 Persentase Skor Degenerasi Lemak Rata-rata Hepar Tikus

Kelompok	Skor					Total Skor	Rata-Rata (%)*
	LP1	LP2	LP3	LP4	LP5		
K1							
1	0	1	0	0	0	1	5,0
2	1	0	0	0	0	1	5,0
3	0	0	0	1	1	2	10,0
4	0	0	0	0	0	0	0,0
5	0	0	0	0	1	1	5,0
K2							
1	2	1	1	2	2	8	40,0
2	2	1	2	1	1	7	35,0
3	2	2	2	2	1	9	45,0
4	2	1	2	2	1		40,0
5	1	1	2	2	2	8	40,0
K3							
1	1	1	1	2	1	6	30,0
2	1	2	1	2	1	7	35,0
3	1	2	1	1	0	5	25,0
4	2	1	1	1	2	7	35,0
5	0	1	2	1	1	5	25,0
K4							
1	1	1	0	1	1	4	20,0
2	1	1	0	0	0	2	10,0
3	1	1	1	0	1	4	20,0
4	1	1	1	1	1	5	25,0
5	1	0	1	0	1	3	15,0
K5							
1	0	1	0	1	0	2	10,0
2	0	0	1	0	0	1	5,0
3	1	1	0	0	0	2	10,0
4	0	0	0	0	0	0	0,0
5	0	0	0	0	1	1	5,0

Keterangan: LP(1-5)=lapang pandang, K(1-5)=kelompok tikus, *=Total skor/20x100%

pada hepar tikus kemudian dianalisis kenormalan distribusi datanya dengan mempergunakan Uji Normalitas Shapiro-Wilk. Semua kelompok uji memiliki distribusi data yang normal karena memiliki nilai $p > 0,050$ (Tabel 3). Selanjutnya, hasil persentase skor sel rata-rata yang mengalami degenerasi lemak dianalisis dengan uji Levene untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok uji memiliki varians data yang homogen atau

tidak. Hasil Uji Levene didapatkan nilai $p > 0,050$ sehingga disimpulkan data memiliki varians yang homogen.

Data memiliki distribusi normal dan homogen, maka selanjutnya data dianalisis menggunakan uji parametrik *one way* ANOVA dan didapatkan nilai $p < 0,001$ yang berarti paling tidak terdapat dua kelompok yang mempunyai perbedaan rata-rata yang bermakna. Untuk mengetahui kelompok

Tabel 2 Hasil Gambaran Degenerasi Lemak Rata-rata pada Kelompok Uji

Kelompok	Degenerasi Lemak Rata-rata (X ± SD)
K1	5,0±3,54
K2	40,0±3,54
K3	30,0±5,00
K4	18,0±5,70
K5	6,0±4,18

mana yang berbeda secara bermakna, dilakukan analisis *Post-Hoc* LSD.

Dari analisis *Post-Hoc* LSD didapat hasil berupa perbedaan gambaran degenerasi lemak yang bermakna kelompok kontrol normal K1 dengan semua kelompok uji yang lain, yaitu K1 dengan K2 memiliki $p < 0,001$; K1 dengan K3 memiliki $p < 0,001$; K1 dengan K4 memiliki nilai $p < 0,001$; kecuali antara K1 dengan K5 memiliki perbedaan yang tidak bermakna dengan nilai $p > 0,050$. Perbedaan gambaran degenerasi lemak yang bermakna juga terdapat pada kelompok kontrol patologis K2 dan K3 dengan $p < 0,050$; K2 dan K4 dengan $p < 0,001$; K2 dan K5 dengan $p < 0,001$; serta pada kelompok perlakuan madu K3 dan K4 dengan $p < 0,001$; K3 dan K5 dengan $p < 0,001$; dan K4 dan K5 dengan $p < 0,001$.

Pembahasan

Gambaran degenerasi lemak yang terjadi pada kelompok kontrol patologis K2 berbeda bermakna daripada semua kelompok uji karena kelompok ini hanya diberi etanol sebagai zat oksidan yang dapat merusak, sedangkan K1 tidak diberi etanol, serta K3, K4 dan K5 diberikan madu sebagai hepatoprotektor.

Masing-masing kelompok perlakuan madu, yaitu K3, K4 dan K5, menunjukkan perbedaan degenerasi lemak yang bermakna. Keadaan ini

Tabel 3 Analisis Shapiro-Wilk Gambaran Degenerasi Lemak

Kelompok	p
K1	0,325
K2	0,325
K3	0,119
K4	0,814
K5	0,314

Tabel 4 Analisis *Post-Hoc* LSD Gambaran Degenerasi Lemak antar Kelompok

Kelompok	p
K1 K2	0,000*
K1 K3	0,000*
K1 K4	0,000*
K1 K5	0,727
K2 K3	0,002**
K2 K4	0,000*
K2 K5	0,000*
K3 K4	0,000*
K3 K5	0,000*
K4 K5	0,000*

Keterangan: *= $p < 0,001$; **= $p < 0,050$

menandakan bahwa dosis madu yang dipakai cukup bervariasi sehingga mampu menghasilkan efek yang bervariasi pula. Kelompok perlakuan madu K3 sudah mulai memperlihatkan perbaikan gambaran histopatologi hepar bila dibandingkan dengan kelompok K2 dan didapatkan penurunan persentase skor degenerasi lemak rata-rata yang bermakna bila dibandingkan dengan K2, yakni menjadi 30%. Penurunan ini masih kurang besar jika dibandingkan dengan kelompok K4 yang diberikan madu 50% dengan dosis 0,0054 mL/gBB yang berhasil menurunkan persentase degenerasi lemak menjadi 18%. Efek hepatoprotektif madu paling besar terlihat pada kelompok K5 yang diberikan madu 50% dosis 0,016 mL/gBB yang berhasil untuk menurunkan persentase degenerasi lemak menjadi 6%. Persentase degenerasi lemak kelompok ini hampir sama dengan persentase degenerasi lemak kelompok kontrol normal K1 sehingga tidak memberikan perbedaan bermakna pada uji *Post-Hoc* LSD.

Kelompok K3 telah menurunkan persentase skor degenerasi lemak rata-rata yang bermakna dibandingkan dengan K2, namun masih kurang besar pengaruhnya, K3 merupakan dosis paling rendah. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Dewi⁹ yang mempergunakan madu dosis paling rendah, yaitu sebanyak 0,2 mL/20 gBB kepada mencit untuk melawan efek buruk dari natrium siklamat dan ternyata efek hepatoprotektif madu belum terlihat.

Kelompok K4 memperlihatkan penurunan persentase skor degenerasi lemak rata-rata yang lebih besar bila dibandingkan dengan K3 karena dosis madu yang dipergunakan pada kelompok ini adalah dosis madu yang sudah terbukti sebagai hepatoprotektor terhadap kerusakan sel-sel hepar mencit akibat natrium siklamat.⁹ Kelompok K5

memberikan efek hepatoprotektif paling besar karena kelompok ini diberikan madu dosis paling tinggi.

Pemberian madu 50 mg/kg per oral pada tikus *Sprague Dawley* jantan yang diinduksi CCl_4 juga mampu memperbaiki secara signifikan gambaran histopatologi hepar dan ginjal tikus oleh karena kandungan antioksidan yang terdapat di dalam madu.⁸ Pada penelitian lain, pemberian madu per oral dengan dosis 0,275 g/kg satu jam sebelum suntikan *N-ethylmaleimide* (NEM) kepada tikus putih Wistar menunjukkan perbaikan gambaran histopatologi hepar apabila dibandingkan dengan kelompok tikus yang tidak diberi madu.¹² Mahesh dkk.¹³ juga sudah membuktikan efek madu india untuk memperbaiki kerusakan hepar tikus yang diinduksi stres oksidatif dari asetaminofen.

Gambaran histopatologis hepar kelompok K3, K4, dan K5 ini berkaitan dengan besarnya kandungan antioksidan di dalam madu. Contoh kandungan zat antioksidan madu yaitu vitamin C, asam amino, dan protein.⁵ Madu juga mengandung berbagai jenis flavonoid, yaitu *caffeic acid* (CA), *caffeic acid phenyl esters* (CAPE), *chrysin* (CH), *galangin* (GA), *quercetin* (QU), *kaempferol* (KP), *acacetin* (AC), *pinocembrin* (PC), *pinobanksin* (PB), dan *apigenin* (AP). Kandungan antioksidan madu yang lain berupa enzim, seperti glukosa, oksidase dan katalase, vitamin A, B kompleks, E, dan betakaroten.^{4,5}

Flavonoid memiliki peran untuk menangkap radikal bebas, seperti anion superoksida, radikal peroksil, hidroksil, serta radikal alkohoksil yang efektif.¹⁴⁻¹⁶ Flavonoid juga memiliki kemampuan untuk berikatan dengan ion logam, seperti besi dan tembaga yang dapat mengkatalisis produksi radikal bebas¹⁷ dan juga mengkatalisis peroksidasi lipid.¹⁸ Selain itu, flavonoid memiliki kemampuan memodulasi jalur sinyal sel yang dapat mengatur berbagai proses sel, misalnya pada pertumbuhan, proliferasi, dan apoptosis.¹⁹ Selain itu, mekanisme lain yang berperan di dalam aktivitas antioksidan flavonoid adalah inhibisi enzim-enzim oksidan atau produksi radikal bebas oleh sel, regenerasi α -tokoferol dari radikal α -tokoferoksil, dan dapat mengurangi peroksidasi lemak dan nitrit oksida.⁵

Keterbatasan penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan hepar sebelum perlakuan, sehingga terdapat kemungkinan saat tikus diambil sebagai sampel, sebelumnya sudah mengalami kerusakan hepar. Keadaan ini terlihat pada kelompok kontrol normal dengan ditemukan gambaran degenerasi lemak.

Simpulan, madu mempunyai efek protektif terhadap kerusakan hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa galur *Sprague Dawley* yang diinduksi etanol.

Daftar Pustaka

1. Murti TK, Poerba AP. 101 ramuan tradisional untuk mengatasi berbagai penyakit. Yogyakarta: Insan Madani; 2010.
2. WHO. Traditional medicine. 2008 [diunduh 3 Oktober 2011]. Tersedia dari: <http://www.who-int/mediacentre/factsheets/fs134/en/index.html>.
3. Aden R. Manfaat dan khasiat madu. Yogyakarta: Hanggar Kreator; 2010.
4. Mabrouk GM, Zohny SF, Ali EMM, Ismail EF, Moselhy SS. Bee honey and *Nigella sativa* inhibit nitric oxide mediated cytochrome C release and down-regulation of connexin 43 induced by methylnitrosurea in hepatic tissues of Sprague Dawley rats. Egypt J Biochem Mol Biol. 2004;22(2):73–86.
5. Yang C, Zeisberg M, Mosterman B, Sudhakar A, Yerramalla U, Holtihaus K. Liver fibrosis: insights into migration of hepatic stellate cells in response to extracellular matrix and growth factors. Gastroenterology. 2003;124(1):147–59.
6. Chen X. Protective effects of quercetin on liver injury induced by ethanol. Pharmacogn Mag. 2010;6(22):135–41.
7. Ha H, Shin HJ, Feitelson MA, Yu DY. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. World J Gastroenterol. 2010;16(48):6035–43.
8. El Denshary ES, Al-Gahazali MA, Mannaa FA, Salem HA, Hassan NS, Abdel-Wahab MA. Dietary honey and ginseng protect against carbon tetrachloride-induced hepatonephrotoxicity in rats. Exp Toxicol Pathol. 2012;64(7-8):753–60.
9. Dewi MR. Pengaruh hepatoprotektor madu terhadap kerusakan histologis sel hepar mencit (*Mus musculus*) yang diberi perlakuan natrium siklamat [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret Surakarta; 2010.
10. SSI. Standard of ASEAN herbal medicine. Edisi ke-2. Jakarta: ASEAN Countries; 2006.
11. Kawasaki T, Igarashi K, Koeda T, Sugimoto K, Nakagawa K, Hayashi S, dkk. Rats fed fructose-enriched diets have characteristics of nonalcoholic hepatic steatosis. J Nutr. 2009;139(11):2067–71.
12. Korkmaz A, Kolankaya D. Anzer honey prevents *N-ethylmaleimide*-induced liver damage in rats. Exp Toxicol Pathol. 2009;61(4):333–7.
13. Mahesh A, Shaheetha J, Thangadurai D, Rao DM. Protective effect of Indian honey on acetaminophen induced oxidative stress and liver toxicity in rat. Biologia.

- 2009;64(6):1225–31.
14. Repetto MG, Llesuy SF. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcer. *Braz J Med Biol Res.* 2002;35(5):523–34.
 15. Fiorani M, Accorsi A, Blasa M, Diamantini G, Piatti E. Flavonoids from Italian multifloral honey reduce the extracellular ferricyanide in human red blood cells. *J Agric Food Chemistry.* 2006;54(21):8328–34.
 16. Chun OK, Kim DO, Lee CY. Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *J Agric Food Chem.* 2003;51(27):8067–72.
 17. Mira L, Fernandez MT, Santos M, Rocha R, Florencio MH, Jennings KR. Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. *Free Radic Res.* 2002;36(11):1199–208.
 18. Schroeter H, Boyd C, Spencer JP, Williams RJ, Cadenas E, Rice-Evans C. MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiol Aging.* 2002;23(5):861–80.
 19. Williams RJ, Spencer JP, Rice-Evans C. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radic Biol Med.* 2004;36(7):838–49.