

Suplementasi Yogurt Pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Yang Terpapar Formaldehid Dalam Makanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Enzimatis Jaringan Hepar

Chanif Mahdi ^{1)*}, Aulanium ¹⁾

¹⁾ Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang

Diterima tanggal 6 September 2011, direvisi tanggal 7 Oktober 2011

ABSTRAK

Yogurt atau yoghurt adalah produk susu fermentasi yang kaya berbagai vitamin dan asam amino, mempunyai potensi sebagai sumber antioksidan eksogen yang potensial. Formaldehid adalah senyawa organik golongan aldehid atau alkanal yang paling sederhana bersifat toksik dan karsinogen, keberadaannya dalam tubuh dapat berperan sebagai sumber senyawa reactive oxygen species (ROS) dan radikal bebas yang bersifat merusak sel dan jaringan organ tubuh. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek formaldehid sebagai senyawa toksik, dan yogurt sebagai detoksikan terhadap aktivitas antioksidan dalam hal ini adalah aktivitas antioksidan enzimatis superoksid dismutase (SOD) dan kadar glutathion tereduksi (GSH). Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan berbagai dosis formaldehid dalam makanan tikus (*Rattus norvegicus*) masing adalah 0 ppm, 25 ppm 50 ppm 75 ppm dan 100 ppm berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap penurunan aktivitas antioksidan enzimatis dalam hal ini adalah penurunan aktivitas superoksid dismutase (SOD) dan kadar GSH). Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa perlakuan suplementasi yogurt sebesar 2 ml per ekor per hari pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang terpapar formaldehid tidak mampu mengubah pengaruh paparan formaldehid terhadap penurunan aktivitas antioksidan (aktivitas SOD dan kadar GSH) dengan tingkat signifikansinya tetap sangat nyata ($P < 0,01$).

Kata kunci : Yogurt, formaldehid, antioksidan enzimatis, kerusakan oksidatif, hepar

ABSTRACT

Yogurt or yogurt is fermented milk products are rich in various vitamins and amino acids, has potential as a potential source of exogenous antioxidants. Formaldehyde is an organic compound or the aldehyde group of the most simple alkanal are toxic and carcinogenic, presenting in the body can act as a source of compounds reactive oxygen species (ROS) and free radicals that damage cells and tissues are organs. The purpose of this study was to determine the effects of formaldehyde as a toxic compound, and yogurt as detoksikan of antioxidant activity in this regard is the enzymatic antioxidant activity superoksid dismutase (SOD) and levels of reduced glutathione (GSH). The results showed that exposure to various doses of formaldehyde in food rat (*Rattus norvegicus*) respectively is 0 ppm, 25 ppm 50 ppm 75 ppm and 100 ppm is very real effect ($P < 0.01$) toward decreased antioxidant enzymatic activity in this regard is the reduction of activity superoksid dismutase (SOD) and GSH levels). The results also showed that treatment of yogurt supplementation at 2 ml per cow per day in rats (*Rattus norvegicus*) were exposed to formaldehyde are not able to change the effect of formaldehyde exposure to the decrease of antioxidant activity (SOD activity and GSH levels) with the significance level remains highly significant ($P < 0.01$).

Key word : Yogurt, Enzymatic antioxidant, Oxidative damage, Hepar

*Corresponding author :

E-mail: chanifmahdi@gmail.com

PENDAHULUAN

Penggunaan formaldehid atau formalin sebagai pengawet makanan sangat berbahaya bagi kesehatan, karena formaldehid merupakan senyawa yang sangat toksik dan bersifat karsinogenik. Pengaruh negative yang terjadi akibat paparan formaldehid dalam makanan, dalam jangka pendek adalah terjadinya iritasi saluran pencernaan (*Tractus gastrointestinal*) termasuk hepar. Paparan formaldehid dalam jangka panjang antara lain adalah terjadinya kerusakan sel-sel organ tubuh dan saluran pencernaan dan tumbuhnya kanker.

Keberadaan formaldehid dalam tubuh dapat mengakibatkan menurunnya secara nyata jumlah antioksidan enzimatis, mendorong produksi senyawa reactive oxygen species (ROS). ROS yang terbentuk dapat menyebabkan reaksi berantai yang menghasilkan ROS dan senyawa radikal bebas lainnya dalam jumlah lebih besar dan lebih toksik terhadap organ tubuh termasuk hepar, dapat menimbulkan stress oksidatif [1],[2].

Gugus karbonil pada formaldehid bersifat sangat reaktif terhadap protein tubuh (sistem enzimatis), yang menyebabkan hilangnya aktivitas spesifik sistem enzim tubuh, antara lain terjadinya asidosis, karena asam lemak dari siklus beta oksidasi tidak bisa diproses lebih lanjut menjadi ATP. Produktivitas ATP menurun dapat mendorong terjadinya nekrosis. Produksi ROS dan senyawa radikal bebas secara berlebihan dapat menyebabkan rusaknya membran sel dan mitochondria, kanal ion rusak, keseimbangan ion terganggu konsentrasi ion Ca^{++} dalam sitosol meningkat, mendorong NF- κ B aktif, translokasi menuju inti, menempel pada target (gen protein radang), terjadi transkripsi mRNA, yang mengendalikan banyak ekspresi yang terlibat dalam respon peradangan, terjadi kematian sel secara apoptosis [3],[4],[5].

Bahaya formaldehid terhadap hepar dapat menurunkan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD), dan glutathione tereduksi (GSH), dapat meningkatkan level senyawa malondialdehid (MDA) [6],[7].

Yogurt atau yogurt adalah produk susu fermentasi hasil pertumbuhan Lactic acid

bacteria (LAB) atau bakteri asam laktat (BAL), dalam hal ini adalah golongan bakteri spesies *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada susu pasteurisasi. Yogurt selama ini dipakai sebagai minuman untuk mencegah terjadinya gangguan pencernaan pada saluran pencernaan, dan mencegah berkembang biak bakteri patogen (gram negatif), yang menyerang sistem pencernaan. Yogurt banyak mengandung berbagai vitamin dan asam amino yang berperan sebagai antioksidan. Gabungan vitamin A,E dan C serta beta karoten dapat menghambat dan menetralkan ROS dan radikal bebas yang baru terbentuk, sehingga kerusakan jaringan tubuh dapat dicegah [8],[9],[10]

Sampai saat ini masyarakat sulit memperoleh makanan yang benar-benar bebas dari formaldehid, dan belum ada penelitian yang mengungkap peran dan mekanisme yogurt sebagai sumber antioksidan dan perannya dalam mencegah kerusakan hepar akibat kontaminasi formaldehid sebagai sumber senyawa oksigen reaktif (ROS) dan radikal bebas dalam tubuh.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Biokimia jurusan kimia, laboratorium Biologi molekuler dan sel jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, serta Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Pengelompokan tikus. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*), umur 8- 10 minggu, masing-masing sebanyak 25 ekor untuk tiap tahap percobaan, dengan berat badan 100- 120 gram, berasal dari Laboratorium Biomolekul dan sel jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Setelah diaklimatisasi, dikelompokkan menjadi 5 kelompok sesuai dengan banyaknya perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor. Pengelompokan tikus pada percobaan tahap 1 adalah sebagai berikut :

1. Kelompok tikus kontrol
2. Kelompok tikus yang diberi makanan yang mengandung 25 ppm formaldehid
3. Kelompok tikus yang diberi makanan yang mengandung 50 ppm formaldehid
4. Kelompok tikus yang diberi makanan yang mengandung 75 ppm formaldehid
5. Kelompok tikus yang diberi makanan yang mengandung 100 ppm formaldehid

Pengelompokan tikus percobaan tahap 2 adalah sebagai berikut :

1. Kelompok tikus kontrol
2. Kelompok tikus yang diberi makanan yang mengandung 25 ppm formaldehid + 2 ml terapi yogurt.
3. Kelompok tikus yang diberi makanan yang mengandung 50 ppm formadehid + 2 ml terapi yogurt.
4. Kelompok tikus yang diberi makanan yang mengandung 75 ppm formaldehid + 2 ml terapi yogurt.
5. Kelompok tikus yang diberi makanan yang mengandung 100 ppm formaldehid + 2 ml terapi yogurt.

Pemberian makanan yang terpapar formaldehid dan terapi yogurt dilakukan secara single dosis, diberikan sekali per hari selama 7 hari berturut- turut. Pemberian terapi suplementasi yogurt dilakukan secara per oral pada pagi hari dengan menggunakan gavage (Spoit jarum tumpul) sebanyak 2 ml per hari selama 7 hari berturut- turut.

Pengambilan Organ hepar tikus.

Sebelum dilakukan pembedahan, tikus dibunuh dengan dislokasi leher. Setelah mati, tikus diletakkan pada papan bedah, ditata pada

bagian ventral tikus terletak di atas. Dilakukan pembedahan pada daerah inguinal membentuk huruf V menggunakan gunting bedah. Diambil hepar tikus yang terletak dekat lambung, dicuci dengan larutan NaCl Fisiologis 0,9 %, selanjutnya organ hepar diperlakukan untuk analisa SOD, GSH, MDA, pewarnaan HE dan profil protein. Sebagai hepar direndam dalam PFA 4% untuk selanjutnya diperlakukan untuk pembuatan preparat.

Pengukuran aktivitas superoksida dismutase (SOD) jaringan hepar. Seratus mg jaringan hepar ditambah 900 µL buffer fosfat, dan dilakukan homogenisasi. Kemudian ditambah 100 µL xantin oksidase dan 100 µL NBT. Hasil yang didapat dipanaskan pada suhu 30⁰ C selama 30 menit, dan disentrifugasi 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm. Hasil yang diperoleh diinteropolasikan pada kurva baku yang disajikan terlebih dahulu [11],[12].

Pengukuran kadar glutathion tereduksi (GSH). Ditimbang sebanyak 400 mg jaringan hepar, ditambah dengan reagen asam sulfonat sebanyak 5 kali berat hepar (2 ml), kemudian dijadikan homogenat. Disentrifuge 600 rpm selama 10 menit pada suhu 4⁰C. Diambil supernatannya sebanyak 250 µL, direaksikan dengan DTNB. Larutan yang diperoleh diukur angka absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 415 nm. Penentuan kadar GSH dilakukan dengan menggunakan kurva baku [13],[12].

Tabel 1 Penurunan aktivitas SOD jaringan hepar tikus yang terpapar berbagai dosis Formaldehid dalam makanan (P<0,01)

Perlakuan Formaldehid	Aktifitas SOD (Unit)					Rataan
	1	2	3	4	5	
Kontrol (0 ppm)	70,66	73,05	70,47	72,55	70,93	71,53 ^e
25 ppm	28,59	29,27	29,70	29,23	28,87	29,13 ^d
50 ppm	24,56	26,25	27,39	26,57	25,25	26,00 ^c
75 ppm	20,15	21,05	21,05	19,78	19,89	20,38 ^b
100 ppm	17,21	16,89	17,11	16,91	17,17	17,06 ^a

Tabel 2. Penurunan kadar GSH jaringan hepar tikus akibat paparan berbagai dosis formaldehid dalam makanan ($P < 0,01$)

Perlakuan Formaldehid	GSH ($\mu\text{g} / \text{mL}$)					Rataan
	1	2	3	4	5	
Kontrol (0 ppm)	50,23	50,41	50,11	51,13	50,43	50,26 ^e
25 ppm	25,07	25,21	25,21	25,33	25,41	25,25 ^d
50 ppm	21,11	21,25	21,13	21,27	21,33	21,20 ^c
75 ppm	17,27	17,33	17,19	17,17	17,29	17,23 ^b
100 ppm	13,67	13,71	13,63	13,57	14,07	13,73 ^a

HASIL DAN PEMBAHASAN

Paparan Formaldehid pada tikus (*Rattus norvegicus*) dalam makanan terhadap aktivitas antioksidan jaringan hepar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan formaldehid pada tikus (*Rattus norvegicus*) memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap penurunan aktivitas antioksidan (Aktivitas SOD dan kadar GSH). Data selengkapnya terdapat pada Tabel 1 dan tabel 2. Hal ini disebabkan bahwa keberadaan formaldehid dalam tubuh dapat menyebabkan Ledakan respirasi dan terganggunya sistim transport elektron (ETS) dan terjadinya oksidatif burs yang mendorong terbentuknya ROS dan radikal bebas Superoksid ($\cdot\text{O}_2^-$). Tingginya produksi $\cdot\text{O}_2^-$ mendorong antioksidan enzimatis superoksid dismutase (SOD) untuk merubah $\cdot\text{O}_2^-$ menjadi senyawa

yang tidak berbahaya H_2O_2 yang menyebabkan aktivitas SOD menurun. Tingginya senyawa ROS H_2O_2 mendorong antioksidan katalase dan koenzim GSG untuk merubah H_2O_2 menjadi H_2O , yang O_2 yang menyebabkan turunnya kadar GSH jaringan hepar.

Keberadaan senyawa toksik dan xenobiotik dalam tubuh dapat menyebabkan terganggunya sistim transport elektron (ETS) dalam sistim oksidatif fosforilasi atau sitokrom, yang mendorong terjadinya ledakan respirasi dan oksidatif burs dan terbentuknya radikal superoksid secara berlebihan [14],[15].

Tingginya kandungan H_2O_2 dalam sel jaringan tubuh, dibutuhkan antioksidan enzimatis katalase dan koenzim tereduksi (GSH) untuk menetralkan H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 , yang menyebabkan kadar GSH turun secara nyata [14],[15].

Tabel 3. Aktivitas SOD pada jaringan hepar tikus yang terpapar formaldehid dan tersuplementasi yogurt ($P < 0,01$)

Perlakuan	SOD (Unit)					Rataan SOD (Unit)
Kontrol + Yoghurt	71,86	73,45	72,27	72,15	72,33	72,41 ^e
25 ppm + Yoghurt	69,23	68,52	68,03	69,12	67,56	68,49 ^d
50 ppm + Yoghurt	37,92	36,87	39,45	37,86	39,12	38,24 ^c
75 ppm + Yoghurt	29,57	29,27	29,57	29,22	29,71	29,47 ^b
100 ppm + Yoghurt	26,11	25,81	26,17	25,71	26,19	26,00 ^a

Tabel 4. Suplementasi Yogurt pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang terpapar formaldehid dalam makanan terhadap kadar GSH jaringan hepar ($P < 0,01$)

Perlakuan	GSH ($\mu\text{g}/\text{mL}$)					Rataan GSH ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Kontrol + Yoghurt	51,33	51,37	51,20	51,19	51,36	51,29 ^e
25 ppm + Yoghurt	45,14	45,33	44,87	44,85	45,21	45,08 ^d
50 ppm + Yoghurt	35,94	36,31	36,19	35,97	35,66	36,01 ^c
75 ppm + Yoghurt	22,41	22,38	21,86	21,92	22,17	22,05 ^b
100 ppm + Yoghurt	17,97	18,22	18,11	18,10	17,67	18,01 ^a

Suplementasi yogurt pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang terpapar formaldehid dalam makanan terhadap aktivitas antioksidan (SOD dan GSH) jaringan hepar.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi yogurt pada tikus (*Rattus norvegicus*) tidak merubah pengaruh negatif paparan formaldehid dalam makanan tikus terhadap aktivitas antioksidan (aktivitas SOD dan kadar GSH) jaringan hepar, kecuali hanya cenderung menurun, terutama pada paparan formaldehid pada dosis 25 ppm. Data selengkapnya terdapat pada Tabel 3 dan 4. Hal ini disebabkan karena vitamin dan asam-asam amino yang terkandung dalam yogurt tidak berperan sebagai antioksidan pencegah (prevention) terhadap ROS dan radikal bebas yang terbentuk pada awal pembentukan seperti radikal superoksid (O_2^-) dan hydrogen peroksida (H_2O_2), tetapi berperan sebagai antioksidan pemusnah (*Scavenger*) ROS dan radikal bebas yang terbentuk lebih lanjut seperti radikal hidroksi ($\text{OH}^\cdot$) dan peroksinitrit (ONOO^-), sehingga tidak banyak membantu menaikkan kembali aktivitas antioksidan (SOD dan GSH).

Pada prinsipnya peran antioksidan dalam menetralkan ROS dan radikal bebas terdiri dari tiga tahapan. Tahap pertama dikenal sebagai tahap pencegahan (prevention) yang diperankan oleh antioksidan enzimatis yang ada dalam tubuh (SOD, CAT, dan GSH). Tahap kedua dikenal sebagai antioksidan pemusnah (*scavenger*) yang diperankan oleh antioksidan eksogen, berupa vitamin dan asam-asam amino. Tahap ketiga dikenal sebagai tahap pembangunan kembali (repair), yang diperankan oleh enzim glutathion peroksidase [18].

Kecenderungan meningkatnya aktivitas SOD dan GSH pada perlakuan paparan formalin dosis 25 ppm yang lebih tinggi dibanding dengan perlakuan paparan dosis formalin lainnya, hal ini erat hubungan dengan dosis ambang batas (*Acceptable daily intake*) atau level dosis toleran. Menurut International Programme on Chemical Safety (IPCS) yang menyatakan bahwa formaldehid yang boleh masuk dalam tubuh dalam bentuk makanan

adalah antara 1,5 sampai 14 mg. Menurut *Institut for Occupational Safety and Health* (NIOSH) bahwa kadar formaldehid pada makanan yang berbahaya bagi kesehatan adalah sekitar 20 ppm [19].

KESIMPULAN

Paparan berbagai dosis formaldehid dalam makanan menurunkan aktivitas antioksidan (SOD dan GSH). Suplementasi yogurt pada tikus yang terpapar formaldehid dalam makanan, tidak merubah pengaruh paparan formaldehid terhadap aktivitas antioksidan (SOD dan GSH), khususnya pada tikus yang dipapar formalin di atas 25 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Troco, C., Pardo, R., Rafecal, I., Virgile, J., Remesar, X., Fernandes, J.A., and Alemany, M. 1998. *Formaldehyde derived from dietary aspartam bind tissue component in vivo*. Departement de bioquímica biologia Universitat de Barcelona. 08028 Barcelona Spain. P 1-4.
- [2] Teng, S. Beard, K., Pourahman, J., Mondem, M., Eason, E., Poon, R., Obrian, P.J. *The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes*. Chem. Biol. Interact. Vol. 130-132. p 285-296.
- [3] Chen, F., Castronova, V., Shi, X., Demen, L.M. 1999. *In sight into role of Nuclear Factor κB , a ubiquitous transcription factor in the initiation of disease*. Clinical chemistry 45 : 7-17.
- [4] Hancock, J.T., Desikin, R., and Neil, S.J. 2001. *Biochemical transaction*. Biochem. Soc. Trans. 29 : 345-350.
- [5] Lee, W.M., 2003. *Drug induced hepatotoxicity*. N Engl J Med. 349 (5) : 474-484.
- [6] Gulec, M., Gurel, A., and Armerte, F. 2006. *Vitamin E protect against oxidative*

- damage caused by formaldehyde in the liver and plasma rat.*
- [7] Plotken, M. 2007. *Detoxification & Drainage*. <http://www.heelusa.com/file/mice/plotken.detox.october.no.29/pdf>.
- [8] Kumar, V., Cotarns, RS., Robbin, SL. 2003. *Robbins basic pathology*. 7th ed. Arrangement with elsvier Inc. New York USA. p 3-31; 113-150.
- [9] Eltean, 2005. *The nutrition value of yogurt*. Eltean incorporated. Sdn.Bhd. Perak Malaysia.<http://www.eltean.com/yoghurt.html>.
- [10] Bray, TM., 2006. *The role of free radical in nutrition and prevention of chronic disease*. College of health and human science. Origen, USA. p. 1-37.
- [11] Laboratorium Biomedik, 2003. *Protokol pemeriksaan MDA, SOD, katalase plasma dan jaringan*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- [12] Laboratorium Farmakologi. 2007. *Intro of oxidant-antioxidant measurement*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- [13] BioVision, 2005. *ApoGSHTM Glutathion colorimetric detection kit*. Catalog K 261-100 assays. Biovision reseach product. 980 Linda vista avenue, Mountain View. CA. 94043 USA
- [14] Guven, A., and Kaya, N., 2005. *Determination of reduced glutathione, glutathione transferase, peroxidase, and s-transferase activity. Application to cesplater-inducer toxicity*. Clin Biochem. 23 : 501- 504.
- [15] Miller, K. 2002. *Immunocytochemical techniques. Theory and practice of histological techniques*. Fifth edition. Churchill livingstone. London. p 421-464.
- [16] Halliwell, B., and Gutteridge, JMC. 1999. *Free radical in Biology and medicine*. Third edition, Oxford. Oxford University Press. p 1-35; 246- 350.
- [17] Suryohudoyo, p. 2000. *Ilmu Kedokteran Molekuler*. CV Sagung Seto. Cetakan pertama. Hlm 31-47.
- [18] Dassagayam, TPA., Tilac, JC., Bolor, KK., Sone, KS., Ghoshodfi, S., and Dile, RD. 2004. *Free radical and antioxidant in human health. Current status and future prospect*. Radiation biology and health science division. JAPI Vol 52 : 2-7.
- [19] Gasdetection, 2007. *Formaldehyde human health effect* <http://www.gasdetection.com/TECH/hcho.html>. p 18-25.