

STUDI PRELIMINARI TENTANG PENGARUH D-GALAKTOSA DALAM MENGINDUKSI STRES OKSIDATIF PADA MENCIT JANTAN GALUR *OUTBRED FK USU*

Siti Sarah Bintang¹, Yahwardiah Siregar^{1,2}, Muhammad Ichwan^{1,3*}

¹ Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara Jalan Dr. T. Mansur No.5, Padang Bulan, Kec. Medan Baru, Kota Medan, Sumatera Utara 20155

² Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara Jalan Dr. T. Mansur No.5, Padang Bulan, Kec. Medan Baru, Kota Medan, Sumatera Utara 20155

³ Departemen Farmakologi & Terapeutik, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Jalan Dr. T. Mansur No.5, Padang Bulan, Kec. Medan Baru, Kota Medan, Sumatera Utara 20155

E-mail : m.ichwan@usu.ac.id

DOI : <https://doi.org/10.35451/jfm.v2i1.191>

Abstract

Oxidative stress occurs due to imbalance of free radicals over antioxidant level in the body. This condition causes lipid peroxidation and DNA damage. D-Galaktosa is The mechanism of oxidative stress induced by d-galactose occurs in the subcellular, especially in the brain's mitochondria. Increasing the concentration of d-galaktosa is oxidized by galaktosa oxidase to form hydrogen peroxide (H₂O₂) which causes a decrease in superoxide dismutase (SOD). H₂O₂ reacts with reduced iron and forms hydroxide ions (OH⁻).

Objective: *The aim of this study was to determine the effect of d-galaktosa induction on oxidative stress levels (MDA) in male mice.*

Methods: *Methods of samples of mice given d-galaktosa and blood collection from the heart were carried out at the Pharmacology Laboratory of the Faculty of Medicine, University of North Sumatra.*

Results: *The results showed that administration of d-galaktosa, through intraperitoneal injection every day for 6 weeks, had an effect on the levels of oxidative stress in male mice.*

Conclusion: *The results of this study indicate that administration of d-galaktosa, through intraperitoneal injection every day for 6 weeks, has an effect on levels of oxidative stress in male mice.*

Keywords: *Oxidative stress, MDA, D-galaktosa.*

1. PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, yang akan bereaksi dengan elektron dari molekul lain untuk mencapai stabilitasnya. Molekul dari senyawa yang diserang akan kehilangan elektronnya, kemudian mengalami kerusakan pada makromolekul seluler seperti karbohidrat, protein, asam nukleat dan lipid (Phaniendra and Babu, 2015).

Jumlah radikal bebas yang berlebihan akan menimbulkan stres oksidatif yang sangat berpotensi menimbulkan kerusakan dan kematian sel (Kumar, 2011). Stres oksidatif adalah keadaan ketidakseimbangan antara proses oksidasi dan kadar antioksidan di dalam tubuh yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid dan kerusakan DNA (Toshikazu and Yuji, 2002). Peroksidasi asam lemak atau lipid menyebabkan pembentukan dan peningkatan kadar senyawa Malondialdehid (MDA) sehingga senyawa ini digunakan sebagai penanda (*marker*) stres oksidatif (Catyniuk *et al.*, 2016).

D-galaktosa merupakan aldohexose alami yang termasuk golongan gula pereduksi. Asupan galaktose yang berlebihan akan bereaksi dengan gugus amine (NH₂) dan juga melalui metabolisme oleh enzim *Aldose reductase* dan *Galaktosa oxidase* yang akan menghasilkan metabolit yang berkontribusi dalam pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) (Parameshwaran *et al.*, 2010). Pada hewan coba mencit dan tikus, pemberian D-galaktosa secara kronis menimbulkan efek penurunan pada fungsi kognitif, jantung dan mobilitas yang mirip dengan kondisi penuaan fisiologis (Lima *et al.*, 2017). Dengan demikian, induksi dengan D-galaktosa banyak digunakan sebagai

model dalam penelitian terkait proses penuaan (*aging*) (Ho, Liu and Wu, 2003).

Meskipun banyak penelitian pada hewan coba telah menunjukkan efek D-galaktosa dalam mempercepat proses penuaan, namun perbedaan spesies, jenis kelamin, usia dan strain akan memberikan respons yang berbeda (Sadigh-Eteghad *et al.*, 2017). Oleh karena itu diperlukan adanya studi preliminari untuk membuktikan bahwa D-galaktosa dapat meningkatkan stres oksidatif pada mencit jantan galur *Outbred FK USU* yang dibiakkan di laboratorium farmakologi FK USU.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Mencit (*Mus musculus*) jantan, galur *Outbred*, usia 8-12 minggu dengan bobot \pm 30 g, sebanyak 12 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas kedokteran Universitas Sumatera Utara dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol (diberikan Aquabidest injeksi i.p) dan kelompok perlakuan (Injeksi D-galaktosa 150 mg/kg BB i.p).

Mencit diaklimatisasi selama 7 hari sebelum diberi perlakuan. Mencit ditempatkan pada kandang ukuran 20x30 cm dengan siklus terang-gelap masing-masing 12 jam serta diberikan pakan Hi-Gro 552 (Charoen Pokphand) + jagung giling dengan perbandingan 2:1 dan air minum secara *ad libitum*. Penelitian ini mendapat persetujuan Komisi Etik FMIPA Universitas Sumatera Utara no. 00279/KEPH-FMIPA/2019.

D-galaktosa (*G0008, TCI Chemicals*) dilarutkan dalam aquabidest menjadi larutan stok 2% yang diberikan secara intraperitoneal selama 6 minggu sesuai dengan dosis berdasarkan berat badan. Pengambilan darah dari punksi kardiak

dilakukan setelah mencit dianestesi dengan larutan Ketamin/Xylazin. Darah didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 1500 rpm pada suhu 4°C untuk memperoleh serum. Serum disimpan pada suhu -80° hingga dilakukan pemeriksaan kadar Malondialdehyde (MDA).

Kadar MDA dalam serum diperiksa dengan metode spektrofotometri dengan menggunakan kit dan protokol dari Elabscience Malondialdehid (MDA) Assay Kit (E-BC-K025).

Data hasil pemeriksaan kadar MDA diuji normalitas dan homogenitasnya dengan uji Shapiro-Wilk dan Levene. Hasil analisis menunjukkan bahwa sebaran data berdistribusi normal dan homogen, sehingga digunakan uji-t independen (*independent t-test*) dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ dengan menggunakan program Statistical Product and Service Solution (SPSS ver.20).

3. Hasil

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar MDA yang bermakna pada kelompok yang diberi perlakuan D-Galactosa ($13,5588 \pm 5,37754$) dibanding dengan kelompok kontrol ($0,7067 \pm 0,39373$) dengan nilai $P < 0,000$ (Tabel 1).

Tabel 1. Nilai rerata kadar MDA

Kelompok	Rata-rata jumlah Kadar MDA ng/mL	P*
Kontrol (Aqua)	$0,7067 \pm 0,39373$,000
Perlakuan (D-gal)	$13,5588 \pm 5,37754$	

Keterangan: Data rerata ($\bar{x} \pm SD$)

4. PEMBAHASAN

D-galaktosa adalah gula pereduksi dan terdapat pada makanan seperti madu, bit, keju, mentega, susu. Konsentrasi normal D-galaktosa di dalam darah kurang dari 10 mg/dL. Makanan yang mengandung D-galaktosa akan masuk ke lumen usus lalu diangkut oleh cotransportasi glukosa tipe 1 (SGLT-1) ke dalam sel. Lalu memasuki aliran darah melalui tranportasi glukosa tipe 2 (GLUT-2)(Bjelakovic, Stojanovic and Saranac, 2011).

D-galaktosa dimetabolisme dan dicerna dengan baik oleh enzim galaktokinase, galaktosa 1 uridiltransferase dan epimerase. Namun, jika terjadi asupan D-galaktosa yang berlebihan di dalam tubuh seperti melali injeksi kronis, maka menginduksi peningkatan stress oksidatif. D-galaktosa yang menumpuk akan bereaksi dengan asam amino dalam protein dan peptida yang membentuk basis *schiff* sehingga membentuk senyawa tidak stabil (Bohtay, Palee and Apaijai, 2018).

Mekanisme terjadinya stres oksidatif yang diinduksi D-galaktosa terjadi pada subselular khususnya di mitokondria pada otak. Peningkatan konsentrasi D-galaktosa, dioksidasi oleh galaktosa oksidase sehingga membentuk hidrogen peroksida (H₂O₂) yang menyebabkan penurunan superoksida dismutase (SOD). H₂O₂ bereaksi dengan besi yang tereduksi dan membentuk ion hidroksida (OH⁻)(Shwe *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa D-galaktosa menyebabkan mutasi pada DNA mitokondria. Menurunnya enzim untuk perbaikan DNA, akan mengakibatkan gangguan mitokondria sehingga terjadinya penuaan. D-galaktosa juga menyebabkan penurunan enzim antioksidan seperti gluthathione, katalase, superoksida dismutase. Sehingga pada rantai pernafasan dan aktifitas antioksidan terjadi pengurangan enzim, maka stres oksidatif akan meningkat lalu terjadi penurunan sintesa ATP, perubahan

potensial pada membran mitokondria, merusakkan struktur mitokondria dan menginduksi apoptosis (Shwe *et al.*, 2018).

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian D-galaktosa dosis 150 mg/kg/hari selama 6 minggu, dengan metode injeksi intraperitoneal memberikan pengaruh terhadap kadar stres oksidatif (MDA) dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hanya diberi aquabidest dengan nilai $P,000$.

DAFTAR PUSTAKA

- Bjelakovic, G., Stokanovic, I. And Saranac, L. (2011). 'hypoglycemia as a pathological result in medical praxis'. *Interchopen* (5), pp. 9-11.
- Bo-htay, C., Palee, S. and Apaijai, N. (2018) 'review effects of d - galaktosa-induced ageing on the heart and its potential interventions', *XX(X)*, pp. 1-19.
- Całyniuk, B. *et al.* (2016) 'malondialdehyde (mda) – product of lipid peroxidation as marker of homeostasis disorders and aging, *Medyczny w Katowicach*, pp. 224-228.
- Du, Z. *et al.* (2015) 'nadph oxidase 2-dependent oxidative stress , mitochondrial damage and apoptosis in the ventral cochlear nucleus of d - galaktosa-induced aging rats', *Elsevier Ltd* 286, pp. 281-292
- Kumar, S. (2011) 'Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System', *2(1)*, pp. 129-135.
- Lima, D. D. *et al.* (2017) 'sciencedirect the effect of d-galaktosa induced oxidative stress on in vitro redox homeostasis in rat plasma and erythrocytes', *Biomedicine et Pharmacotherapy*. Elsevier Masson SAS, Biomedicine & Pharmacotherapy 86, pp. 686-693.
- Lobo, V. *et al.* (2010) 'Free radicals , antioxidants and functional foods: Impact on human health'. doi: 10.4103/0973-7847.70902.
- Bjelakovic, G., Stojanovic, I. and Saranac, L. (2011). 'hypoglycemia as a pathological result in medical praxis'. University of Nis Serbia, 5.
- Bo-htay, C., Palee, S. and Apaijai, N. (2018) 'review effects of d - galaktosa-induced ageing on the heart and its potential interventions', *XX(X)*, pp. 1-19. doi: 10.1111/jcmm.13472.
- Całyniuk, B. *et al.* (2016) 'malondialdehyde (mda) – product of lipid peroxidation as marker of homeostasis disorders and aging, *Medyczny w Katowicach*, pp. 224-228.
- Coelho, A. I., Berry, G. T. and Rubio-gozalbo, M. E. (2015) 'Galaktosa metabolism and health', *current opinion* (8), pp 422-427.
- Du, Z. *et al.* (2015) 'nadph oxidase 2-dependent oxidative stress , mitochondrial damage and apoptosis in the ventral cochlear nucleus of d - galaktosa-induced aging rats', *Elsevier Ltd* 286, pp. 281-292. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.11.061.
- Ho, S., Liu, J. and Wu, R. (2003) 'Establishment of the mimetic aging effect in mice caused by D - galaktosa', *Biogerontology* 4: pp. 15-16.
- Kumar, S. (2011) 'Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System', *2(1)*, pp. 129-135.
- Lima, D. D. *et al.* (2017) 'sciencedirect the effect of d-galaktosa induced oxidative stress on in vitro redox homeostasis in rat plasma and erythrocytes', *Biomedicine et Pharmacotherapy*. Elsevier Masson

SAS, Biomedicine & Pharmacotherapy
86, pp. 686–693.

Naito, Y. *et al.* (2010) 'oxidative stress markers oxidative stress markers', in anti-aging medicine, (May 2014). doi: 10.3793/jaam.7.36.

Parameshwaran, K. *et al.* (2010) 'Effectiveness in Modeling Aging and Therapeutic Antioxidant Treatment in Mice', 13(6), pp. 729–736

Phaniendra, A. and Babu, D. (2015) 'free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases', 30(1), pp. 11–26. doi: 10.1007/s12291-014-0446-0.

Sadigh-Eteghad, S. *et al.* (2017) 'D-galaktosa-induced brain ageing model: A systematic review and meta-analysis on cognitive outcomes and oxidative stress indices', *PLoS ONE*, 12(8), pp. 1–13

Shwe, T. *et al.* (2018) 'role of d-galaktosa-induced brain aging and its potential used for therapeutic interventions', *Experimental Gerontology*. Elsevier, 101(November 2017), pp. 13–36. doi: 10.1016/j.exger.2017.10.029.

Simioni, C. *et al.* (2018) 'Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging', 9(24), pp. 17181–17198.

Toshikazu, Y. and Yuji, N. (2002) 'what is oxidative stress?', *JMAJ* 45 (7), 124(11), pp. 271–276.