

Profil Imunohistokimia Antioksidan *Copper, Zinc-Superoxide Dismutase* (Cu, Zn, -SOD) pada Ginjal Tikus Perinatal dan Neonatal

The Immunohistochemical Profile of Antioxidant-*Copper, Zinc-Superoxide Dismutase* (Cu, Zn-SOD) in the Perinatal and Neonatal Rats Kidney

Tutik Wresdiyati^{1*}, I Ketut Mudite Adnyane¹, Silvia Arin Prabandari¹, dan Sofiawati¹

¹Laboratorium Histologi, Departemen Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan – Institut Pertanian Bogor, Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga Bogor 16680
Tel : 0251-626064, Fax : 0251-629464/505339, E-mail:astawan@indo.net.id. *Penulis untuk Korespondensi

Abstract

The aim of the research was to observe the profile of intracellular antioxidant, especially copper, zinc-superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) in the kidney of perinatal and postnatal rats immunohistochemically. A total of twelve Wistar rats were used for this research and they were divided into four groups that are 18 days (Fe18) and 20 days old fetus (Fe20), one day (N1) and three days neonatus (N3). There are three rats in each groups. Kidney from each group were taken and processed for routine paraffin embedding methods. The tissues sections were observed with Hematoxylin-eosin (HE) and immunohistochemical technique for Cu, Zn-SOD. Cu,Zn-SOD in the kidney were observed qualitatively in medulla, glomerulus and cytoplasm of tubuli renalis proximalis and tubuli renalis distalis, as well as quantitatively in the nucleus of tubuli renalis cells. The results showed that Cu, Zn-SOD increased in the kidney of perinatal rats, 20 days old fetus (Fe20), then it decreased in the tissues of the one days neonatus (N1), then were increased again in the kidney of three days neonatus (N3) group rats.

Key Words: *Superoxide dismutase* (SOD), kidney, rat, perinatal, neonatal

Diterima: 30 Desember 2003, disetujui: 31 Maret 2004

Pendahuluan

Pertumbuhan dan perkembangan suatu organisme merupakan dua hal penting dalam mempertahankan kelangsungan kehidupannya, yang dilakukan dengan proses metabolisme. Menurut Jones (1976), metabolisme fetus berhubungan dengan pertumbuhan fetus. Periode fetus sering dianggap sebagai masa pendewasaan pertumbuhan dan fisiologi sistem organ. Periode fetus dimulai saat periode organogenesis (periode embrionik) telah sempurna dan pada akhir periode embrionik ini semua organ tubuh sudah dapat dikenali (Carlson, 1999). Maronpot (1999) menjelaskan pada fetus umur 16 sampai 17 hari, organ hati dan ginjal telah berdiferensiasi

dan mulai berfungsi melangsungkan aktivitasnya.

Dalam mempertahankan kelangsungan hidupnya, makhluk hidup baik intrauteri maupun ekstrauteri, sangat membutuhkan oksigen untuk proses-proses metabolisme dan fisiologik yang terjadi di dalam tubuh. Sebagai konsekuensi logis dari proses tersebut dihasilkan produk antara berupa radikal bebas. Radikal bebas dalam jumlah yang berlebihan, pada kondisi pathofisiologis tertentu, sangat berbahaya karena dapat menyebabkan terjadinya beberapa kerusakan atau kelainan baik proses biokimia maupun fisiologi dalam sel. Hal tersebut dapat mengakibatkan penyimpangan metabolisme yang dapat berakhir dengan kerusakan dan kematian sel (Halliwell and Gutteridge, 1990). Level

radikal bebas yang sangat tinggi, pada kondisi tertentu, dapat merusak DNA, protein, maupun lemak yang kemudian dapat menyebabkan terjadinya beberapa penyakit dan proses degenerasi seperti ketuaan dan karsinogenesis pada manusia dan hewan (Ames and Shigenaga, 1992).

Scavenger radikal bebas atau antioksidan mampu memerangi radikal bebas baik dengan cara mencegah, menghentikan ataupun memperlambat proses oksidasi (Schuler, 1990). Terdapat dua jenis antioksidan yaitu eksogen dan endogen. Antioksidan eksogen berupa vitamin C, vitamin E, betakaroten, allopurinol dan sebagainya. Sedangkan antioksidan endogen yang biasa disebut dengan antioksidan intrasel, terdapat di dalam jaringan tubuh, meliputi *catalase*, *glutathione peroxidase*, dan *superoxide dismutase* (Asayama et al., 1996). Terdapat beberapa jenis *superoxide dismutase* tergantung jenis logam yang mengkelatnya, seperti *copper zinc superoxide dismutase* (Cu,Zn-SOD), *manganese superoxide dismutase* (Mn-SOD), dan *iron superoxide dismutase* (Fe-SOD) (Fridovich, 1975; Marklund, 1984).

Copper, Zinc-Superoxide dismutase (Cu,Zn-SOD) merupakan salah satu antioksidan endogen yang berperan penting dalam mengkatalisis radikal bebas *anion superoxide* menjadi hydrogen peroksida dan molekul oksigen (Mates et al., 1999). Telah dilaporkan sebelumnya secara imunohisto atau sitokimia sel-sel penghasil *superoxide dismutase* (SOD) berhasil dideteksi pada jaringan tikus, *Macaca fascicularis* dan manusia baik dalam kondisi normal maupun patologis seperti stress, diabetes mellitus, maupun jaringan neoplastik (Dobashi et al., 1989; Wresdiyati and Makita 1997; Wresdiyati 1999; Wresdiyati et al., 2002; Wresdiyati et al., 2003; Wresdiyati, 2003; Keller et al., 1991). Namun demikian, profil imunohistokimia sel-sel penghasil antioksidan tersebut pada ginjal tikus dengan berbagai tingkat umur baik prenatal (fetus) maupun postnatal (neonatus) masih belum dilaporkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi profil antioksidan intraseluler *Copper, Zinc-Superoxide Dismutase* (Cu,Zn-SOD) pada ginjal tikus perinatal dan neonatal

secara imunohistokimia. Dengan mendeteksi distribusi dan perkembangan sel-sel penghasil Cu,Zn-SOD dapat diketahui profil kandungan antioksidan tersebut pada ginjal tikus pada berbagai tingkat umur.

Metode Penelitian

Hewan Percobaan dan *Sampling*.

Pada penelitian ini telah digunakan tikus galur Wistar sebanyak 20 ekor betina dan empat ekor jantan, dengan berat badan \pm 250 g. Setelah tikus tersebut diadaptasikan terhadap lingkungan kandang percobaan selama kurang lebih 2 minggu, kemudian tikus betina dikelompokkan menjadi empat kelompok induk tikus yang terdiri dari lima ekor tikus untuk masing-masing kelompok. Empat kelompok induk tikus dikawinkan dengan empat ekor tikus jantan untuk mendapatkan kebuntingan. Hari pertama kebuntingan ditandai dengan ditemukannya sel-sel sperma pada vagina smear tikus betina. Induk tikus dikawinkan di sore hari pada status proestrus di pagi hari. Setelah diketahui kebuntingan hari pertama, maka tikus-tikus betina tersebut dikorbankan pada kebuntingan 18 hari dan 20 hari untuk mendapatkan sample jaringan ginjal fetus umur 18 hari (kelompok Fe18) dan 20 hari (Kelompok Fe20). Sedangkan dua kelompok induk betina yang lainnya dibiarkan sampai melahirkan. Setelah kelahiran, sample jaringan ginjal anak tikus-neonatus umur satu hari (kelompok N1) dan tiga hari (kelompok N3) disampling. Sampel jaringan ginjal yang digunakan pada penelitian ini diambil dari 12 ekor tikus perinatal dan neonatal dengan rincian 3 ekor untuk masing-masing kelompok Fe18, Fe20, N1 dan N3.

Pemrosesan Jaringan.

Jaringan ginjal dari kelompok tikus perinatal (Fe18 dan Fe20) dan neonatal (N1 dan N3) difiksasi selama 24 jam dalam larutan Bouin. Pemrosesan jaringan dilakukan dengan metode standar *embedding paraffin*. Blok jaringan dipotong setebal 4 μ m menggunakan mikrotom, yang selanjutnya dilakukan

pewarnaan umum (Hematoxylin-Eosin/HE) dan pewarnaan imunohistokimia pada preparat jaringan terhadap antioksidan intrasel Cu,Zn-SOD. Deteksi Cu,Zn-SOD secara imunohistokimia menggunakan metode Dobashi *et al.*, (1989) dengan modifikasi. Setelah dilakukan deparafinisasi dan rehidrasi, potongan jaringan diberi perlakuan H₂O₂ 3% selama 10 menit untuk inaktivasi peroksidase endogen, diinkubasi dalam serum normal 10% (30 menit) pada suhu 37°C, dicuci dengan *Phosphate Buffer Saline* (PBS), kemudian potongan jaringan diinkubasi dalam antibodi primer, yaitu antibodi monoklonal Cu,Zn-SOD (Sigma S2147) pada suhu 4°C. Potongan jaringan diinkubasikan lagi dalam antibodi sekunder yang telah dilabel polimer peroksidase (Dako K1491) pada suhu 37°C. Produk reaksi antigen-antibodi dalam potongan jaringan divisualisasikan dengan *diamino benzidine* (DAB) yang dilarutkan dalam Tris buffer yang diberi H₂O₂ selama 25 menit pada suhu ruang. Produk reaksi yang dihasilkan berupa endapan coklat, hal ini terjadi akibat adanya oksidasi H₂O₂ dan DAB oleh peroksidase yang sudah berikatan dengan antibodi sekunder dan primer. Selanjutnya diakhiri dehidrasi dengan alkohol bertingkat dan penjernihan dengan xilol, sebelum dilakukan penutupan potongan jaringan dengan kaca penutup menggunakan perekat.

Pengamatan dan Analisis Data.

Preparat jaringan ginjal dari empat kelompok hewan percobaan yang sudah diwarnai dengan pewarnaan umum (HE) dan imunohistokimia terhadap antioksidan intrasel Cu,Zn-SOD diamati di bawah mikroskop cahaya. Dari hasil pewarnaan HE dapat diamati morfologi umum serta perkembangan organ ginjal pada berbagai tingkat umur baik perinatal maupun neonatal tersebut. Profil antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan ginjal tersebut diamati berdasarkan distribusi dan frekuensi antioksidan tersebut pada jaringan ginjal. Pengamatan dilakukan secara kualitatif pada medulla, tubuli renalis proksimalis, tubuli renalis distalis dan glomerulus serta dihitung secara kuantitatif pada inti sel tubuli renalis berdasarkan intensitas warna coklat yang

terbentuk. Intensitas warna coklat tersebut menunjukkan kandungan Cu,Zn-SOD, semakin tua warnanya dan semakin meratanya produk reaksi berarti semakin banyak kandungan Cu,Zn-SODnya. Pengamatan kuantitatif dilakukan terhadap inti sel tubuli renalis yang memberikan reaksi positif pada berbagai tingkat kandungan terhadap Cu,Zn-SOD (cokelat tua atau positif kuat/+++), cokelat sedang atau positif sedang/++, dan cokelat muda keputihan atau positif lemah/ +/-). Penghitungan inti sel-sel tersebut dilakukan per lapang pandang pada pembesaran 400x, yang dilakukan pada lima lapangan pandang yang berbeda secara acak pada setiap preparat jaringan. Hasil penghitungan kuantitatif terhadap sel-sel tersebut pada ke 4 kelompok hewan percobaan (Fe18, Fe20, N1 dan N3) kemudian dianalisis dengan Analisis Sidik Ragam menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Untuk melihat perbedaan pada setiap tingkat kandungan Cu,Zn-SOD antar kelompok umur dilakukan pengujian lanjut menggunakan uji beda Duncan. Sehingga akan didapatkan suatu kesimpulan apakah kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD tersebut meningkat atau menurun pada saat sebelum dan sesudah kelahiran.

Hasil dan Pembahasan

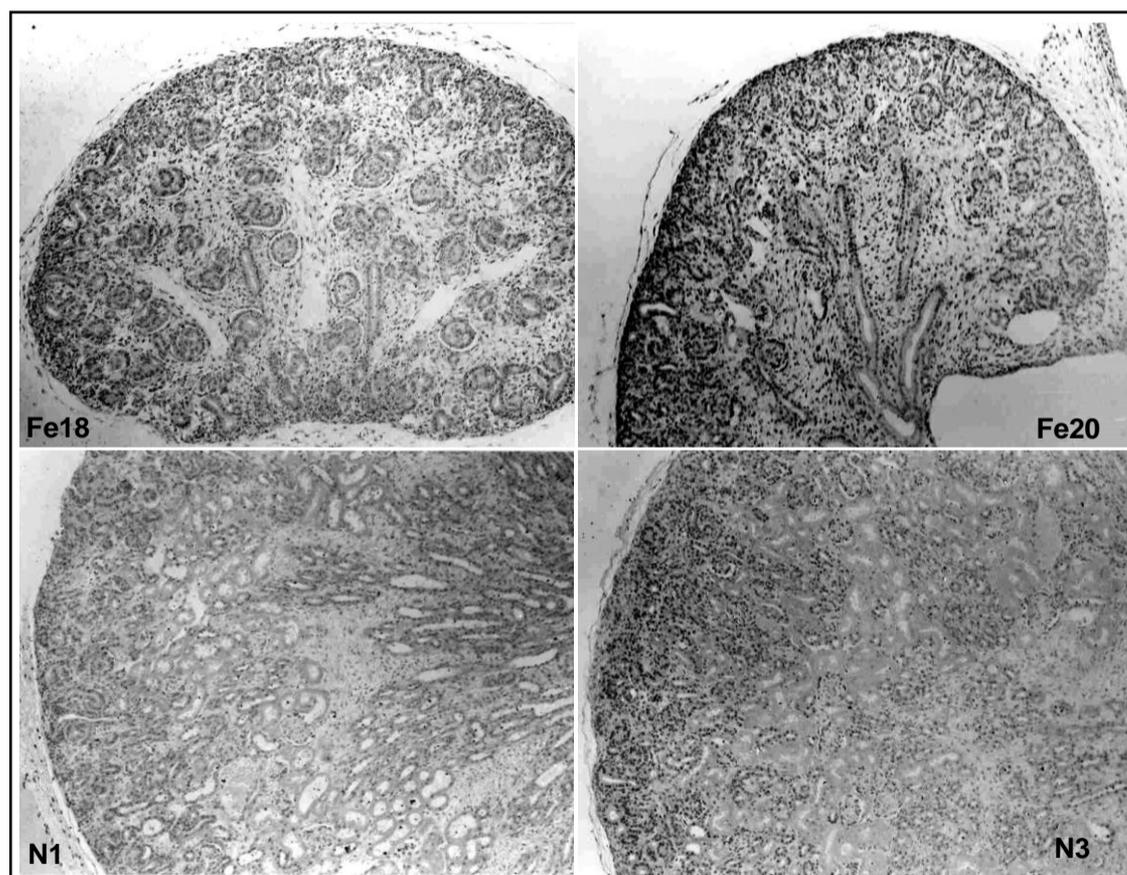
Morfologi umum ginjal tikus yang sedang mengalami pertumbuhan dan perkembangan yaitu pada kelompok perinatal 18 hari (Fe18) dan 20 hari (Fe20), serta kelompok neonatal 1 hari (N1) dan 3 hari (N3) diamati dengan pewarnaan HE. Gambaran histologis jaringan ginjal pada berbagai tingkat umur tersebut menunjukkan perkembangan komponen organ ginjal terutama pada bagian korteksnya, seperti glomerulus, tubulus renalis proksimalis dan tubuli renalis distalis. Pertumbuhan dan perkembangan organ-organ ginjal tikus perinatal dan neonatal tersebut terlihat dengan bertambah jelas dan sempurnanya bentuk dari setiap komponen organ ginjal serta bertambahnya jumlah komponen organ ginjal tersebut, sehingga semakin tinggi umur tikus komponen organ ginjal tersebut terlihat semakin padat.

Imunohistokimia SOD Ginjal Tikus

Dengan menggunakan teknik imunohistokimia, Cu,Zn-SOD terlokalisasi dengan jelas pada jaringan ginjal tikus perinatal dan neonatal. Keberadaan enzim tersebut terlihat dengan adanya produk reaksi positif terhadap Cu,Zn-SOD yang memberikan warna cokelat pada jaringan ginjal tersebut. Antioksidan tersebut tersebar di seluruh bagian ginjal yaitu pada bagian korteks, yang meliputi glomerulus, tubuli renalis proksimalis dan tubuli renalis distalis, serta pada bagian medulanya (Gambar 1). Hasil pengamatan secara kualitatif terhadap kandungan Cu,Zn-SOD pada jaringan ginjal tersebut tersaji pada Tabel 1. Kandungan Cu,Zn-SOD tersebut terlihat meningkat pada kelompok Fe20 dibandingkan pada kelompok Fe18, tetapi

kandungan antioksidan tersebut menurun pada kelompok N1, kemudian meningkat kembali pada kelompok N3.

Sedangkan hasil pengamatan secara kuantitatif, yang dilakukan terhadap inti sel tubuli renalis yang memberikan reaksi positif pada berbagai tingkat kandungan Cu,Zn-SOD, tersaji pada Tabel 2. Penghitungan terhadap inti sel tersebut dilakukan per lapang pandang dengan pembesaran 400x. Berdasarkan uji statistika terhadap hasil penghitungan tersebut, yang tersaji juga pada Tabel 2 tersebut, menunjukkan pola kandungan Cu,Zn-SOD yang sama dengan hasil pengamatan secara kualitatif pada jaringan ginjal tikus perinatal dan neonatal.



Gambar 1. Imunohistokimia terhadap Cu,Zn-SOD pada jaringan ginjal tikus. Terlihat kandungan antioksidan superoxide dismutase meningkat kandungannya pada kelompok Fe20 dibandingkan kelompok Fe18, tetapi menurun pada kelompok N1 dan selanjutnya meningkat kembali pada kelompok N3. Fe18=fetus 18 hari, Fe20=fetus 20 hari, N1=neonatus 1 hari, dan N3=neonatus 3 hari.

Tabel 1. Distribusi dan frekuensi kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada ginjal tikus prenatal dan postnatal

Kelompok	Distribusi dan frekuensi antioksidan Cu,Zn-SOD pada ginjal tikus			
	Medula	Korteks		
		Glomerulus	Tubuli Distalis	Tubuli Proksimalis
<i>Fe18</i>	+	+	+	++
<i>Fe20</i>	+++	+++	++	+++
<i>N1</i>	+	++	++	++
<i>N3</i>	++	++	++	+++

Keterangan : +++ = positif kuat, ++ = positif sedang, +/- = positif lemah Fe18=fetus 18 hari, Fe20=fetus 20 hari, N1=neonatus 1 hari, dan N3=neonatus 3 hari.

Tabel 2. Jumlah inti sel tubuli renalis tikus kelompok prenatal dan postnatal pada berbagai tingkat kandungan Cu,Zn-SOD per lapang pandang dengan pembesaran 400x

Kelompok	Jumlah inti sel tubuli renalis pada berbagai tingkat kandungan Cu,Zn-SOD		
	+++	++	+/-
<i>Fe18</i>	18,00 ^c	73,33 ^a	31,33 ^b
<i>Fe20</i>	85,33 ^a	36,67 ^c	15,00 ^c
<i>N1</i>	39,00 ^b	80,00 ^a	46,67 ^a
<i>N3</i>	81,33 ^a	59,00 ^b	33,00 ^b

Keterangan : Superscript yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan nilai yang berbeda nyata (P< 0.05). Fe18 = fetus 18 hari, Fe20 = fetus 20 hari, N1 = neonatus 1 hari, dan N3 = neonatus 3 hari.

Pada Tabel 2 terlihat bahwa kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD meningkat secara nyata (P< 0.05) pada jaringan ginjal kelompok Fe20 dibandingkan kelompok Fe18. Peningkatan ini terlihat dengan meningkatnya jumlah inti sel tubuli renalis yang bereaksi positif kuat (+++) dan menurunnya jumlah inti sel yang bereaksi positif sedang (++) dan positif lemah (+/-) pada kelompok Fe20 dibandingkan pada kelompok Fe18. Kemudian kandungan Cu,Zn-SOD menurun secara nyata (P< 0.05) pada kelompok sesaat setelah kelahiran (N1) dibandingkan pada kelompok Fe20. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan jumlah inti sel yang bereaksi positif kuat, serta peningkatan jumlah inti sel yang bereaksi positif sedang dan lemah pada kelompok N1 dibandingkan kelompok Fe20. Kandungan antioksidan tersebut pada jaringan ginjal tikus kemudian meningkat kembali secara nyata (P<0.05) pada kelompok N3

dibandingkan kelompok N1. Peningkatan ini juga terlihat dengan meningkatnya jumlah inti sel tubuli renalis yang bereaksi positif kuat dan menurunnya jumlah inti sel yang bereaksi positif sedang dan positif lemah pada kelompok N3 dibandingkan pada kelompok N1.

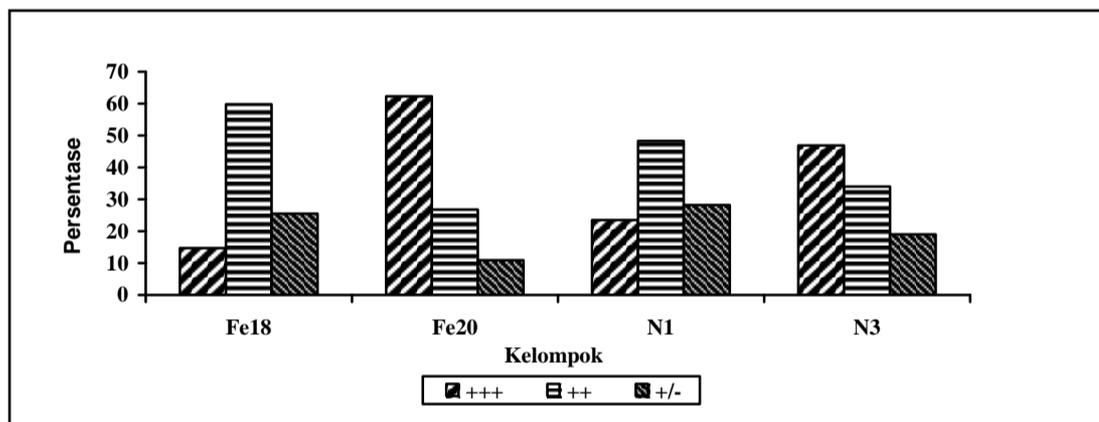
Profil kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan ginjal berbagai tingkat umur tikus perinatal dan neonatal tersebut juga terlihat dari hasil penghitungan persentase jumlah inti sel tubuli renalis yang memberikan reaksi pada berbagai tingkat kandungan per jumlah total inti sel tersebut per lapang pandang pada pembesaran 400x. Dari hasil penghitungan tersebut, yang tersaji pada Gambar 2, kandungan Cu,Zn-SOD meningkat pada kelompok Fe20 dibandingkan pada kelompok Fe18. Hal ini terlihat dari kenaikan persentase jumlah jumlah inti sel tubuli renalis yang memberikan reaksi positif kuat dari

14,67% pada kelompok Fe18 menjadi 62,28% pada kelompok Fe20, serta penurunan persentase jumlah inti sel yang bereaksi positif sedang dan lemah, masing-masing dari 59,79% dan 25,54% pada kelompok Fe18 menjadi 26,77% dan 10,95% pada kelompok Fe20.

Kandungan Cu,Zn-SOD pada jaringan ginjal tersebut lalu menurun pada kelompok sesaat setelah kelahiran (N1) dibandingkan kelompok Fe20. Penurunan ini terlihat dari penurunan persentase jumlah inti sel tubuli renalis yang memberikan reaksi kuat terhadap Cu,Zn-SOD, yaitu 62,28% pada kelompok Fe20 menjadi 23,54% pada kelompok N1.

Penurunan kandungan Cu,Zn-SOD tersebut juga terlihat dari peningkatan jumlah inti sel yang bereaksi positif sedang dan lemah pada kelompok N1, masing-masing sebesar 21,52% dan 17,22% dari kelompok Fe20.

Kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan ginjal meningkat kembali pada kelompok N3, yang terlihat dari peningkatan persentase jumlah inti sel yang bereaksi positif kuat sebesar 23,38% dari kelompok N1, serta penurunan persentase jumlah inti sel yang bereaksi positif sedang dan lemah masing-masing sebesar 14,25% dan 9,13% dari kelompok N1.



Gambar 2. Porsentase jumlah inti sel tubuli renalis pada berbagai tingkat kandungan Cu,Zn-SOD pada tikus perinatal dan neonatal per lapang pandang dengan pembesaran 400x Terlihat kandungan antioksidan superoxide dismutase meningkat kandungannya pada kelompok Fe20 dibandingkan kelompok Fe18, tetapi menurun pada kelompok N1 dan selanjutnya meningkat kembali pada kelompok N3. Fe18=fetus 18 hari, Fe20=fetus 20 hari, N1=neonatus 1 hari, dan N3=neonatus 3 hari.

Perubahan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD sangat erat berhubungan dengan substrat yang dikatalisnya yaitu radikal bebas anion superoksida (O_2^-). Radikal bebas secara fisiologis terbentuk sebagai konsekuensi logis dari hasil metabolisme yang terjadi di dalam tubuh. Dalam jumlah tertentu radikal bebas diperlukan oleh tubuh untuk kelangsungan proses-proses metabolisme, tetapi dalam jumlah yang berlebihan sangat berbahaya karena dapat merusak dan mematikan sel (Ames and Shigenaga, 1999). Radikal bebas dapat terbentuk dari hasil reaksi reduksi dan oksidasi yang terjadi di dalam organel sel seperti mitokondria dan peroksisom, serta detoksifikasi senyawa xenobiotik (Langseth,

1995). Telah dilaporkan bahwa kondisi pathofisiologis seperti stres, ataupun diabetes mellitus ternyata menimbulkan jumlah radikal bebas yang berlebihan dan menurunkan kandungan Cu,Zn-SOD pada jaringan hati dan ginjal secara imunohistokimia (Wresdiyati *et al.*, 2002; Wresdiyati, 2003; Wresdiyati *et al.*, 2003).

Perkembangan komponen jaringan ginjal dari masa fetus sampai neonatal yang terlihat pada penelitian ini menunjukkan adanya persiapan dalam meningkatkan fungsinya baik sebelum maupun setelah kelahiran. Meskipun sejak fetus umur 16 sampai 17 hari, ginjal sudah berdiferensiasi sempurna dan mampu menjalankan fungsinya (Maronpot, 1999).

Selain berfungsi sebagai organ ekskresi, ginjal juga berfungsi melakukan metabolisme sebagaimana yang dilakukan oleh organ tubuh yang lainnya. Semakin bertambahnya umur fetus terlihat komponen jaringan ginjalnya semakin banyak dan padat. Hal ini menunjukkan fungsi ginjalpun meningkat seiring dengan bertambahnya umur fetus, terutama dalam pemenuhan kebutuhan energi dan laju metabolisme yang semakin meningkat seiring bertambahnya umur dan ukuran fetus. Fetus mendapatkan asupan nutrisi melalui darah induk. Dari metabolisme glukosa yang didapat dari darah induk, fetus mendapatkan energi untuk pertumbuhannya. Bertambahnya glikolisis secara anaerob pada fetus akan menyebabkan peningkatan oksidasi glukosa dalam siklus asam sitrat, sehingga radikal bebas akan lebih banyak terbentuk. Pembentukan radikal bebas sebagai hasil samping metabolisme tersebut, kemungkinan juga semakin meningkat seiring dengan bertambahnya umur fetus. Radikal bebas ini diperkirakan mampu menggertak dan merangsang pembentukan antioksidan Cu,Zn-SOD tersebut. Hal inilah yang menyebabkan meningkatnya kandungan Cu,Zn-SOD seiring dengan bertambahnya umur fetus pada penelitian ini; antioksidan tersebut meningkat pada kelompok Fe20 dibandingkan pada Fe18.

Meningkatnya kandungan Cu,Zn-SOD pada jaringan ginjal kelompok Fe20 dari kelompok Fe18 juga dapat dijelaskan sebagai berikut. Pada saat menjelang kelahiran, aktivitas kelenjar adrenal fetus meningkat. Pada saat tersebut kelenjar adrenal fetus aktif menghasilkan kortikosteroid yang mempersiapkan fetus untuk kehidupan postnatal dan berpengaruh untuk menginisiasi kelahiran (Carlson, 1999). Secara tidak langsung kortikosteroid ini berpengaruh dalam mempercepat metabolisme glukosa, sehingga metabolisme tubuh fetus meningkat, termasuk metabolisme yang terjadi di dalam ginjal. Metabolisme yang tinggi tersebut kemungkinan dapat meningkatkan biosintesis antioksidan Cu,Zn-SOD pada ginjal fetus menjelang kelahiran, yaitu pada kelompok Fe20 dibandingkan pada kelompok Fe18.

Pada kelompok N1 yaitu kelompok neonatus satu hari, sesaat setelah kelahiran,

kandungan Cu,Zn-SOD dalam jaringan ginjal menurun dibandingkan pada

kelompok sebelum kelahiran (Fe20). Hal ini disebabkan karena terputusnya tali pusar pada saat kelahiran, sehingga suplai nutrisi dari darah induk terputus. Pada saat ini fetus belum memperoleh asupan nutrisi dari luar, sehingga biosintesis Cu,Zn-SOD pada jaringan ginjal menurun. Penurunan antioksidan tersebut juga bisa disebabkan karena adanya perombakan cadangan glikogen dan lemak dalam tubuh neonatus. Perombakan ini terjadi untuk memenuhi kebutuhan metabolisme neonatus sebelum mendapatkan makanan dari luar beberapa saat setelah kelahiran. Dari metabolisme glikogen dan lemak tersebut akan dihasilkan radikal bebas sebagai hasil sampingnya. Radikal bebas tersebut kemungkinan dihasilkan dalam jumlah banyak, sehingga diperlukan antioksidan termasuk enzim Cu,Zn-SOD dalam jumlah banyak pula untuk mengkatalis radikal bebas tersebut. Sebagai konsekuensinya, kandungan antioksidan SOD pada ginjal tikus sesaat setelah kelahiran (kelompok N1) menurun dibandingkan pada ginjal fetus sebelum kelahiran (kelompok Fe20).

Pada tiga hari setelah kelahiran (kelompok N3) kandungan Cu,Zn-SOD pada jaringan ginjalnya menunjukkan lebih tinggi dibandingkan pada kelompok satu hari kelahiran (N1). Hal ini disebabkan karena neonatus tersebut telah memperoleh asupan nutrisi dari luar berupa susu induk, yang lengkap kandungan nutrisinya, yang dapat digunakan sebagai bahan dasar biosintesis Cu,Zn-SOD. Di samping hal tersebut, meningkatnya SOD pada ginjal kelompok N3 juga dapat disebabkan adanya stimulasi dari radikal bebas eksogen dan endogen. Radikal bebas endogen yang terbentuk, sebagai konsekuensi logis dari metabolisme pada ginjal neonatus tiga hari, dan paparan radikal bebas eksogen, serta asupan nutrisi dari induk tersebut mampu menggertak proses biosintesis Cu,Zn-SOD ginjal sehingga kandungannya meningkat dibandingkan pada kelompok neonatus satu hari

Kesimpulan

Secara imunohistokimia profil Cu,Zn-SOD pada jaringan ginjal tikus perinatal dan neonatal dapat disimpulkan bahwa kandungan Cu,Zn-SOD fetus semakin meningkat sampai menjelang kelahiran (perinatal), kemudian menurun pada neonatal satu hari yaitu sesaat setelah kelahiran, lalu meningkat kembali pada neonatal tiga hari.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini sebagian dibiayai oleh Dana Penelitian Dasar dari Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional No.016/P2IPT/DPPM/IV/ 2002 untuk TW.

Daftar Pustaka

- Ames, B.N. and Shigenaga, M.K. 1992. DNA damage by endogenous oxidants and mitogenesis as causes of aging and cancer. In: Scandalios (ed.). *Molecular Biology of free Radical Scavenging Systems*. Pp. 1-22. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Asayama, K., Dobashi, K., Kawada, Y., Nakane, T., Kawaoi, A. and Nakazawa, S. 1996. Immunohistochemical localization and quantitative analysis of cellular glutathione peroxidase in fetal and neonatal rat tissues: fluorescence microscopy image analysis. *Histochem. J.* 28(1):63-71.
- Carlson, B.M. 1999. *Human Embriology and Developmental Biology*. Edisi 2. Mosby Inc. Missouri, USA.
- Dobashi, K., Asayama, K., Kato, K., Kobayashi, M. and Kawaoi, A. 1989. Immunohistochemical localization and quantitative analysis of superoxide dismutase in rat tissue. *Acta Histochem. Cytochem.* 22:351-365.
- Fridovich, I. 1975. Superoxide dismutases. *Ann. Rev. Biochem.* 44:147-159.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1990. Role of free radicals and catalytic logam ions in human disease: An overview. *Meth Enzymol* 186: 1-83.
- Jones, C.T. 1976. Fetal Metabolism and Fetal Growth. *J. Reprod. Fert.* 47: 189-210.
- Keller, G.A., Warner, T.G., Steimer, K.S. and Halliwell R.A. 1991. Cu, Zn-superoxide dismutase is a peroxisomal enzyme in human fibroblasts and hepatoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88:7381-7385.
- Langseth, L. 1995. Oxidants, antioxidants and disease prevention. ILSI Europe
- Marklund, S.L. 1984. Extracellular superoxide dismutase and other superoxide dismutase isoenzymes in tissues from nine mammalian species. *Biochem J.* 222:649-655.
- Maronpot, R.R. 1999. *Pathology of the Mouse*. Cache River Press, USA.
- Mates, J.M., Gomez, C.P. and Castro, I.N. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.* 32(8):595-603.
- Schuler, P. 1990. Natural antioxidants exploited commercially. In: *Food Antioxidants* (Hudson, B. J. F. ed.), pp. 99-170. Elsevier Applied Science, London.
- Wresdiyati, T. and Makita, T. 1997. Immunocytochemical localization of Cu, Zn-SOD (Cooper, zinc-superoxide dismutase) in the renal tubules and glomerulus of rat kidney. *Mol. Biol. Cell.* 8:342.
- Wresdiyati, T. 1999. Immunocytochemical of Localization oxygen Free Scavenger Copper, Zinc Superoxide Dismutase (Cu, Zn-SOD) in Rat Kidney. *Gakuryoku.* 5(1):1-7.
- Wresdiyati, T., Mamba, K., Adnyane, I.K.M. and Aisyah, U.S. 2002. The effect of stress condition on the intracellular antioxidant copper, zinc-superoxide dismutase (Cu,Zn-SOD) in the rat kidney: an immunohistochemical study. *Hayati.* 9(3):85-88.
- Wresdiyati, T., Lelana, R.P.A., Adnyane, I.K.M. dan Noor, K. 2003. Immunohistochemical study of superoxide dismutase (SOD) in the liver of diabetic experiment *Macaca fascicularis*. *Hayati.* 10(2):61-65
- Wresdiyati, T. 2003. Immunohistochemical study of oxygen-free radical scavenger superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) in the liver of rats under stress condition. *Biota.VIII(3):107-112*