

Pengaruh Suplementasi Tepung Tempe Selama Bunting Terhadap Kadar *Glutathione Peroksidase (GPx)* dan *Malondealdehyde (MDA)* Anak Tikus

Studi pada Tikus Wistar yang Mendapat Pembatasan Diet selama Bunting

Effect of Tempeh Flour Supplementation During Pregnancy In Wistar Rats With Limited Diet

Joko Wahyu Wibowo ^{1*}

¹Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang
Jl. Raya Kaligawe KM. 4 PO BOX 1054 Semarang Central Java Indonesia,
Phone (+6224) 65833584, Fax. (+6224) 6594366, *Email : jokowahyu@fkunissula.ac.id

ABSTRAK

Radikal bebas selalu terbentuk dalam tubuh sebagai hasil samping respirasi aerobik. Pada bunting terjadi peningkatan produksi radikal bebas yang berpotensi untuk menimbulkan kerusakan struktural maupun fungsional pada janin. Tempe sebagai makanan asli Indonesia mempunyai kandungan vitamin, mineral, maupun isoflavon yang bersifat antioksidan, berpotensi mengurangi kerusakan akibat radikal bebas dan memperbaiki kerusakan DNA yang mungkin terjadi selama bunting. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi tepung tempe selama bunting terhadap kadar *Glutathione peroksidase (GPx)* dan kadar *Malondealdehyde (MDA)* sebagai indikator terjadinya peroksidasi lipid pada anak yang dilahirkan. Penelitian eksperimental dengan sampel 20 ekor tikus betina galur Wistar bunting, dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing 5 ekor. Perlakuan selama bunting: kelompok I mendapat pakan standar 10 g/ekor/hari, kelompok II mendapatkan 10g/ekor/hari pakan standar dan tepung tempe 1g/ekor/ hari, kelompok III mendapat pakan standar 10 g/ekor/hari dan tepung tempe 2 g/ekor/hari, kelompok IV mendapat pakan standar 10 g/ekor/hari dan 1 g telur ayam /ekor/ hari. Pemberian minum dengan aquades *ad libitum*. Selama masa menyusui (sampai umur 1 bulan) anak tikus diberi diet normal 10g/100gBB/hari, setelah disapih diberi tambahan diet tinggi lemak jenuh selama 4 minggu pada masing-masing kelompok. Rerata jumlah anak kelompok I: 9,33 dengan rerata BB: 4,93 g, kelompok II:6,17 dengan rerata BB: 5,32, kelompok III: 5,17 dengan rerata BB : 5,33, kelompok IV: 6,33 dengan rerata BB: 5,01. Rerata kadar GPx pada kelompok I : 22,38 U/mg, kelompok II: 28,94 U/mg, kelompokII: 38,59 U/mg, dan kelompok IV: 16,98 U/mg. sedangkan rerata kadar MDA kelompok I: 11,07 nmol/mg, kelompok II: 9,89 nmol/mg, kelompok III: 10,06 nmol/mg, dan kelompok IV: 12,25 nmol/mg. Terdapat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dengan perlakuan tepung tempe 1g/ ekor/hari maupun 2g/ekor/hari baik kadar GPx maupun MDA (p;0,00). Suplementasi tepung tempe berpengaruh terhadap kadar GPx dan kadar MDA tikus yang mendapat pembatasan diet selama bunting.

Kata kunci: tepung tempe, *Glutathione Peroksidase (GPx)*, *Malondealdehyde (MDA)*

ABSTRACT

*Free radicals are formed in the body as a by-product of an aerobic respiration. During pregnancy, the increase in free radicals potentially causes structural and functional damages to fetus. Tempeh is originally from Indonesia having various nutrition including vitamin, mineral and isoflavon serving as antioxidant having potential to reduce and improve DNA damage. This study was aimed to investigate the effect of tempeh flour supplementation during pregnancy on *Glutathione peroxides (GPx)* and *Malondetaldehyde (MDA)* as an indicator of lipid peroxide in the offsprings. In this experimental study, 20 pregnant female wistar rats were divided into four groups of 5 rats each to receive one of the following treatment :10 g standard diet/rat/d, 10 g/rat/d of standard diet and tempeh flour 1. g/d, 10 g/d of standard diet and tempeh flour 2g/d, standard diet of 10 g/d and 1g of egg/d. And aquades ad libitum. During nursing period (until 1 month) the rats were fed 10g/100gBB/d normal diet, after weining they were supplemented with a diet of high in saturated fat for 4 weeks for each group. The Mean of litter size was 1: 9.33 with mean of BW 4.93 g, group II:6.17 with BW of 5.32, group III: 5.17 with BW of 5.33, group IV: 6.33 with BW: 5.01. Means of GPx for the four groups were 22.38 U/mg, 28.94 U/mg, 38.59 U/mg, 16.98 U/mg respectively. The mean of MDA for the four groups were 11.07 nmol/mg, 9.89 nmol/mg, 10.06 nmol/mg and 12.25 nmol/mg respectively. There was a significant difference in GPx and MDA (p=0.00). In conclusion tempeh flour had an effect on the level of GPx and MDA in rats with limited diet during pregnancy.*

Keywords: *Tempeh flour, Glutathione Peroksidase (GPx), Malondealdehyde (MDA)*

PENDAHULUAN

Radikal bebas selalu terbentuk dari proses respirasi aerob dan reaksi metabolisme lain. Sebagian besar dari oksigen yang digunakan selama oksidasi diubah menjadi air dan kurang lebih 1-2% diubah menjadi *Reactive Oxygen Species (ROS)* yang bersifat sangat reaktif,

dalam bentuk superoksida, hidroksil, peroksil, dan anion hidroperoksil, sehingga diperlukan antioksidan untuk menetralkannya. *Superoksida dismutase* terdapat pada semua sel, merubah superoksida menjadi hydrogen peroksida, yang akan diubah menjadi air oleh katalase dan *Glutathione peroksidase (GPx)*. Antioksidan

lain seperti vitamin C, E, ceruloplasmin, transferin, thiol juga berperan dalam menetralkan radikal bebas. Homeostasis dalam berbagai sistem dalam tubuh harus terjadi secara fisiologis. Kelebihan radikal bebas, dan kekurangan dalam sistem antioksidan akan terjadi kerusakan protein, lipid, atau DNA. Penyakit metabolik misalnya DM yang terjadi pada wanita bunting akan meningkatkan produksi radikal bebas yang dapat menyebabkan keguguran, atau defek struktural pada janin. Obat teratogenik seperti thalidomide menimbulkan kerusakan karena keterlibatan radikal bebas, mengindikasikan bahwa janin dapat mengalami kerusakan yang ireversibel karena stress oksidatif. Selama dalam kandungan janin terpapar konsentrasi oksigen yang berfluktuasi dan berpotensi menjadi reaktif oksigen spesies (Jauniaux *et al.*, 2004).

Glutathione Peroksidase (GPx) merupakan nama umum dari keluarga enzim dengan aktivitas peroksidase yang berperan dalam melindungi organisme dari bahaya stress oksidatif. Fungsi biokimiawi dari GPx adalah menurunkan hidroperoksidasi lipid dan menurunkan hidrogen peroksida bebas untuk diubah menjadi air. Peroksidasi lipid merupakan kerusakan dari lipid yang disebabkan reaksi oksidasi pada ikatan rangkap rantai karbon. Sejumlah besar radikal bebas yang merupakan sumber kerusakan dihasilkan selama proses peroksidasi lipid. Membran lipid merupakan bagian yang mudah terkena proses peroksidasi lipid dengan akibat kerusakan membran sel yang akan diikuti oleh kerusakan organ-organ lain dalam sel seperti: mitokondria, retikulum endoplasma, lisosom dan peroksisom.

Polyunsaturated fatty acids (PUFA) dalam fosfolipid bilayer pada membran sel akan menjaga fluiditas sel. Peroksidasi lipid menyebabkan perubahan muatan listrik dan penurunan fluiditas sel, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada membran protein. Peroksidasi lipid juga dapat menyebabkan lisosom menjadi fragil atau mudah bocor. Sel hati mempunyai risiko peroksidasi lipid yang tinggi. Enzim pada retikulum endoplasma seperti glukosa 6 fosfatase, dan sitokrom p-450, serta enzim pada mitokondria, dan apparatus golgi mudah mengalami peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid akan mengganggu pompa ion. Aldehid yang merupakan produk dari peroksidasi lipid dapat bekerja sebagai molekul bioaktif pada konsentrasi yang sangat kecil. Aldehid dapat merusak fungsi sel seperti sinyal transduksi, ekspresi gen, proliferasi sel, dan respon lainnya dari sel target. Malondialdehid (MDA) merupakan produk peroksidasi lipid yang dapat merusak DNA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi tepung tempe selama bunting terhadap kadar Glutathione peroksidase (GPx) dan Malondealdehyde (MDA) pada anak tikus.

Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perbedaan kadar GPx dan MDA kelompok anak tikus yang selama dalam kandungan, induknya mendapat pembatasan diet (pakan standar 10 g/ekor/hari), pakan standar 10g/ekor/hari dan suplementasi tepung tempe: 1 g/ekor/hari, pakan standar 10 g/ekor/hari + tepung tempe 2 g/ekor/hari, pakan standar 10 g/ekor/hari + telur ayam 1g/ekor/hari. dan pembebanan dengan diet tinggi lemak jenuh selama 4 minggu setelah disapih.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain studi *Post test only control group*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Gizi PAU Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Induk tikus galur wistar bunting mendapat pembatasan diet 10 g/100 g BB/hari dari diet normal. Berat badan awal sekitar 200 g. Sampel yang digunakan 24 ekor dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing 6 ekor. Setelah tikus dibagi secara acak menjadi 4 kelompok, maka :

1. Kelompok I : mendapat pembatasan diet 50% dari diet normal untuk tikus dengan BB 200 g (yaitu: 10 g/ekor/hari)
2. Kelompok II: mendapat pembatasan diet 50% dari diet normal untuk tikus dengan BB 200 g (yaitu : 10 g/ekor/hari) + tepung tempe 1 g/ekor/hari
3. Kelompok III: mendapat pembatasan diet 50% dari diet normal untuk tikus dengan BB 200 g (yaitu : 10 g/ekor/hari) + tepung tempe 2 g/ekor/hari
4. Kelompok IV: mendapat pembatasan diet 50% dari diet normal untuk tikus dengan BB 200 g (yaitu : 10 g/ekor/hari) + telur ayam 1g/ekor/hari

Tepung tempe diberikan bersama dengan pakan standar dan dibentuk pelet. Setelah lahir dihitung jumlah dan berat badan anak yang dilahirkan selama masa menyusui diberikan diet normal untuk tikus 20 g/200g BB/hari. Setelah disapih (usia 4 minggu) diberikan pambinaan dengan menambahkan diet tinggi lemak jenuh (lemak sapi sebanyak 10% dari berat pakan) selama 4 minggu kemudian diperiksa kadar GPx dan MDA.

Anak yang dilahirkan dipelihara bersama induknya sampai masa penyapihan (1 bulan) kemudian dibagi menjadi 5 kelompok secara acak, kelompok 1 merupakan kelompok kontrol diambilkan 5 ekor anak dari kelompok induk yang hanya mendapatkan 50% diet standar selama kehamilan, kelompok 2 diambilkan 5 ekor dari kelompok induk yang mendapat diet 50% selama hamil dan suplementasi 1g tepung tempe selama kehamilan, kelompok 3 diambilkan 5 ekor dari kelompok induk yang mendapat diet 50% dan suplementasi 2 g tepung tempe selama kehamilannya, kelompok 4 yang diambilkan 5 ekor dari kelompok

induk yang mendapat diet 50 % dan suplementasi telur ayam 1 g.

Masing-masing kelompok diberi perlakuan dengan diet tinggi lemak jenuh dengan penambahan lemak sapi 10% dari diet selama 4 minggu, setelah selesai perlakuan dipuasakan selama 12 jam kemudian diperiksa, dan profil lipid yang terdiri dari: total kolesterol, trigliserid, HDL, dan LDL. Data yang didapatkan diuji normalitas dan homogenitasnya, dengan uji Kolmogorov-Smirnov dan Levene test. Hasil uji normal dan homogen, dilanjutkan uji Anova one way untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

HASIL PENELITIAN

Tikus yang diberi pembatasan diet dari diet normal melahirkan anak dengan jumlah paling banyak dibandingkan dengan kelompok lainnya akan tetapi memiliki berat badan yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok lainnya (Tabel 1). Nafsu makan tikus pada masing-masing kelompok perlakuan bervariasi terbukti dari sisa makanan tiap hari tertinggi adalah kelompok suplementasi tempe 2 g/ekor/hari.

Suplementasi tepung tempe pada kelompok tikus yang pembatasan diet selama dalam kehamilan dapat meningkatkan kadar antioksidan yang ada didalam tubuh (GPx dalam sel hati). Suplementasi dengan telur ayam menurunkan kadar antioksidan (GPx dalam sel hati). Suplementasi dengan tepung tempe 2 g/ekor/hari meningkatkan kadar GPx lebih tinggi dibandingkan dengan suplementasi tepung tempe 1 g/ekor/hari, walaupun kadar MDA lebih tinggi dibanding dengan suplementasi 1 g/ekor/hari tetapi masih lebih rendah dibandingkan kelompok yang mendapat suplementasi telur maupun yang tidak mendapat suplementasi (Tabel 2.).

PEMBAHASAN

Suplementasi tepung tempe selama kebuntingan terbukti berpengaruh terhadap kadar GPx dan MDA.

Anak tikus yang dilahirkan kandungan nutrisi dalam tepung tempe terutama mineral: Copper, Mn, Zn berperan dalam meningkatkan sistem enzim antioksidan, sedangkan kandungan vitamin E berfungsi sebagai antioksidan vitamin yang memutus reaksi peroksidasi lipid. Suplementasi tepung tempe yang diberikan selama kebuntingan masih memberi efek proteksi bagi anak yang dilahirkan. Anak tikus menjadi lebih terlindungi dari stressor berupa reaktif oksigen spesies yang meningkatkan peroksidasi lipid pada pemberian diet tinggi lemak jenuh.

Antioksidan sangat dibutuhkan pada bunting. Selenium, copper, manganese, vitamin C dan vitamin E sebagai kofaktor penting dalam system enzim antioksidan (Mistry, 2011) Nutrien yang terdapat dalam tepung tempe terbukti dapat memperbaiki sistem antioksidan pada anak yang dilahirkan. Defisiensi nutrisi selama dalam kandungan dapat mempengaruhi fungsi organ dimana pada penelitian lain didapatkan kadar gula darah, kadar kolesterol total, trigliseride, LDL dari kelompok yang mendapat diet standar maupun suplementasi telur lebih tinggi secara bermakna dibandingkan yang mendapat suplementasi tepung tempe, sedang kadar HDL pada kelompok suplementasi tempe lebih tinggi.

Tahapan terjadinya peroksidasi lipid yang melibatkan ion besi aktif (Fe 2+) dan peran vitamin E dan vitamin C dalam menghambat reaksi radikal bebas yang terjadi.

1. $LH + X^* \rightarrow L^* + XH$
 $LH + \text{aktif Fe } 2+ \rightarrow L^* + \text{inaktif Fe } 3+$
2. $L^* + O_2 \rightarrow LOO^*$
3. $LOO^* + LH \rightarrow L^* + LOOH$
4. $LOOH + Fe 2+ \rightarrow LO^* + Fe 3+$
5. $LOO^* \rightarrow MDA \text{ dan nonenal}$
6. $LOO^* + \infty\text{-TOH} \rightarrow LOOH + \infty\text{-TOH}^*$
 $LO^* + \infty\text{-TOH} \rightarrow LOH + \infty\text{-TOH}^*$
7. $\text{Inaktif Fe } 3+ + \text{NADPH (ascorbat)} \rightarrow \text{aktif Fe } 2+ + \text{NADP}^* \text{ (ascorbat-ox)}$

Tabel 1. Rata-rata jumlah anak, berat badan anak tikus yang dilahirkan, dan sisa pakan

Kelompok	Rata-rata jumlah anak	Rata-rata BB (g)	Rata-rata sisa pakan (g)	BB awal penelitian (g)
1	9,33	4,93	0,6	34
2	6,17	5,32	1,3	35,6
3	5,17	5,33	1,4	37
4	6,33	5,01	0,9	36,6

Tabel 2. Kadar GPx dan MDA pada berbagai kelompok perlakuan

Kelompok	Kadar GPx (U/mg) (Rerata±SD)	Kadar MDA (nmol/mg) (Rerata±SD)
I	22.38 ± 1.72624	11.07 ± 0,11628
II	28.94 ± 3.05160	9.89 ± 0,16334
III	38.59 ± 3.04686	10.06 ± 0,29626
IV	16.98 ± 2.51641	12.25 ± 0,15083
p	0,00	0,00

Proses peroksidasi lipid dimulai dari lemak tidak jenuh (LH) yang akan radikal bebas X^* atau besi aktif Fe^{2+} akan menggunakan atom hydrogen dari gugus methyl (-CH₂), keadaan ini akan menyebabkan elektron tidak berpasangan pada atom karbon. Proses akan terus berlangsung sehingga terbentuk aldehyde seperti MDA dan 4-hydroxy-nonenal. MDA merupakan indikator terjadinya peroksidasi lipid. Vitamin E (α -TOH) berperan dalam menyumbangkan atom hidrogennya sehingga menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas lipid (LOO^* , dan LO^*) dan menghasilkan α -TOH* yang kurang reaktif, dengan adanya vitamin C maupun glutathione yang ada dalam sel hati akan diubah kembali menjadi vitamin E aktif, dan vitamin C radikal yang tidak berbahaya. Tepung tempe mengandung vitamin E, asam folat, vitamin B12, dan asam amino yang diharapkan melindungi sel dari reaksi oksidasi dengan meningkatkan jumlah antioksidan dalam sel.

Suplementasi folat selama perkembangan perinatal meningkatkan metilasi DNA dari loci gen IGF2 (Differentially Methylated Region: DMR) yang berhubungan dengan berat badan lahir rendah). Pada penelitian lain folat berperan penting pada proses epigenetik selama perkembangan fetal dan post natal. Suplementasi folat selama remaja prepubertas meningkatkan metilasi dari gen Ppara dan promoter reseptor glukokortikoid dan menurunkan metilasi gen reseptor insulin (Mihai and Lupu, 2011).

Selenium dalam tempe akan membantu sintesis selenoprotein yang termasuk dalam enzim antioksidan Glutathione peroksidase, theoredoxin reduktase, dan selenoprotein P. selenium juga berperan penting dalam produksi hormon thyroid dan fungsi normal thyroid. Konsentrasi selenium selama bunting turun sehingga akan mengganggu aktivitas GPx dalam plasma, penurunan aktivitas GPx akan berpengaruh pada sistem pertahanan antioksidan yang akan berpotensi untuk terjadinya kerusakan membrane dan DNA selama perkembangan awal embrio (Mistry, 2011).

Copper merupakan kofaktor enzim yang terlibat dalam reaksi metabolisme, angiogenesis, transport oksigen, dan proteksi antioksidan seperti katalase, superoksida dismutase (SOD), dan sitokrom oksidase. Selama bunting konsentrasi plasma meningkat secara signifikan dan kembali normal setelah melahirkan. Copper merupakan nutrisi penting untuk pertumbuhan janin, kekurangan copper selama bunting akan memberi konsekuensi jangka pendek berupa kematian janin, dan kelainan struktural berat, dan konsekuensi jangka panjang akan menyebabkan peningkatan risiko penyakit kardiovaskuler, dan penurunan tingkat kesuburan. Cu/Zn SOD merupakan antioksidan penting bagi jaringan ibu maupun anak, seperti yang ditunjukkan Mistry

(2011) hubungan positif antara konsentrasi copper plasma pada bunting dengan berat lahir.

Zinc merupakan mineral penting lebih dari 200 metalloenzyme yang berperan pada metabolisme karbohidrat dan protein, sintesis asam nukleat, fungsi antioksidan (Cu/Zn SOD) dan fungsi penting lainnya seperti pembelahan sel dan diferensiasi, sehingga zinc dibutuhkan untuk suksesnya embriogenesis. Wanita Afrika-Amerika yang mendapat suplementasi Zn mempunyai berat lahir yang lebih besar dan lingkaran kepala yang lebih besar secara signifikan, defisiensi Zn berhubungan dengan preeklampsia yang berpengaruh juga pada tumbuh-kembang janin dalam kandungan. Manganese merupakan mineral yang berperan juga pada sistem antioksidan (MN-SOD), yang berperan juga pada proteksi terhadap stress oksidatif dengan detoksifikasi anion superoksida (Mistry, 2011).

Vitamin E merupakan vitamin larut lemak yang berperan juga pada sistem antioksidan terutama memutus rantai propagasi dari peroksidasi lipid. Nutrien yang terdapat dalam tepung tempe banyak yang berpengaruh terhadap sistem antioksidan yang berhubungan langsung dengan kadar GPx dan MDA, juga berpengaruh pada sistem repair DNA yang akan memperbaiki kerusakan tingkat DNA sehingga fungsi sel maupun organ kelompok yang mendapat suplementasi tepung tempe lebih baik dibandingkan kelompok kontrol maupun kelompok yang mendapat suplementasi telur ayam.

Isoflavon yang terdapat dalam tempe/ kedelai berperan pada pencegahan berbagai penyakit, karena berperan pada proses transkriptome (protein encoding, non protein encoding RNAs), proteome (post translational modifikasi dan protein kompleks), epigenome (metilasi DNA, metilasi dan acetylasi histone), metabolome molekul kecil endogen dalam metabolisme energi dan zat intermediet seperti lipid, karbohidrat kompleks, protein, asam nukleat (Barnes, 2008).

Epigenetik merupakan representasi fenomena perubahan ekspresi fenotip yang terus menerus dari informasi genetik tanpa perubahan dari sekuens DNA. Modifikasi epigenetik mengatur perkembangan embrio, diferensiasi dan *reprogramming stem cell*. Modifikasi epigenetik dapat dipengaruhi oleh rangsangan dari luar seperti diabetes, merokok, diet. Mekanisme epigenetik melibatkan metilasi DNA dan modifikasi Histon. Metilasi abnormal dari CpG-islands dalam regio promoter dari gen akan berkembang menjadi tersembunyinya informasi genetik dan akhirnya akan terjadi perubahan fungsi biologis (Lorenzen *et al.*, 2012). Perubahan yang penting pada mekanisme epigenetik adalah DNA metilasi dan mekanisme pada mikro

RNA, dan Long intergenic non coding RNAs (linc-RNA). Modifikasi ini menghasilkan ekspresi yang bervariasi dari informasi genetik yang identik menjadi ekspresi yang berlebih atau tersembunyi.

Makanan dan komponen bioaktif dalam makanan seperti vitamin B6, B12, vitamin E, vitamin A, serat, asam folat, Zinc, Fe, Cu yang terdapat dalam tepung tempe dapat merubah fenomena epigenetik seperti metilasi DNA dan modifikasi histon yang dapat berakibat terjadinya modifikasi ekspresi gen yang berhubungan dengan proses fisiologis dan proses patologis termasuk perkembangan embrio, penuaan, dan karsinogenesis. Fenomena epigenetik dapat dipengaruhi langsung oleh makanan misalnya pada proses penghambatan enzim yang mengkatalisis metilasi DNA atau modifikasi histon atau dengan merubah availibilitas substrat yang diperlukan pada reaksi enzimatik. Epigenetik menjadi isu yang utama menyangkut proses degeneratif seperti Diabetes tipe 2, obesitas, inflamasi, kelainan neurokognitif.

Epigenetik adalah keadaan somatik/ gambaran fenotip sebagai akibat dari perubahan struktur kromatin tanpa perubahan sekuens DNA, seperti metilasi DNA, modifikasi histon, dan remodeling dari kromatin. Studi tentang epigenetik tidak hanya menyangkut perkembangan embrio, penuaan, dan cancer tetapi telah meliputi pembahasan yang lebih luas menyangkut inflamasi, kegemukan, resistensi insulin, DM tipe 2, penyakit kardiovaskuler, penyakit neurodegeneratif, dan penyakit imun. Modifikasi epigenetik dapat dilakukan dengan merubah lingkungan eksternal maupun internal dan memungkinkan merubah ekspresi gen sehingga mekanisme epigenetik menjadi penting dalam mempelajari beberapa penyakit yang sampai saat ini penyebabnya tidak diketahui dengan jelas. Folat, vitamin B12, methionine, choline, dan betaine dapat mempengaruhi metilasi DNA dan histon dengan merubah metabolisme 1 carbon, dua metabolit dari metabolisme 1-carbon dapat mempengaruhi metilasi DNA dan histone: S-adenosylmethionine merupakan donor methyl untuk reaksi metilasi, dan s-adenosylhomocysteine yang merupakan produk yang menghambat methyl transferase (Choi, 2010)

Peristiwa epigenetik bersifat reversibel, tidak seperti informasi genetik yang bersifat stabil mudah dipengaruhi oleh keadaan endogen maupun eksogen (lingkungan) dalam jangka panjang dapat berpengaruh pada ekspresi gen, berpotensi untuk berkembang menjadi penyakit pada kehidupan selanjutnya, dikenal dengan *hipotesis developmental origin of health and disease* (Gabory *et al.*, 2011).

Metilasi DNA mudah dipengaruhi oleh faktor nutrisi dan lingkungan, perubahan pada proses

metilasi DNA dapat berkembang menjadi perubahan ekspresi gen, mengakibatkan perubahan fenotip dengan peningkatan potensial risiko penyakit. Donor methyl utama pada proses metilasi DNA adalah s-adenosylmethionine (SAM), yang dihasilkan pada proses seluler yang dikenal dengan metabolisme 1-carbon, yang dikatalisis oleh beberapa enzyme dengan adanya mikronutrien : folat, choline, betaine dan vitamin B yang lain. Status nutrisi khususnya intake mikronutrien merupakan point yang penting dalam mekanisme epigenetik. (Anderson *et al.*, 2012).

Percobaan pada binatang dan manusia mendukung bahwa *fetal programming* dipengaruhi oleh nutrisi pada maternal, dimana nutrisi yang dapat merubah status epigenetik selama proses perkembangan fetus diperankan oleh donor methyl yang berkontribusi untuk menjaga kecukupan pool s-adenosyl methionine (SAM) sebagai donor methyl universal untuk reaksi metilasi, yaitu folat, choline, methionine, dan betaine (Mihai, 2011).

Vitamin dan mineral merupakan nutrisi esensial untuk kesehatan tumbuh kembang, kekurangan mikronutrien selama bunting berhubungan dengan kualitas anak yang dilahirkan walaupun efek jangka panjangnya masih belum banyak diketahui. Sejumlah alasan disampaikan untuk mendukung hipotesis tentang kekurangan vitamin dan mineral selama fase kritis dalam tumbuh kembang mempunyai konsekuensi jangka panjang adalah adanya hubungan antara berat lahir yang kecil dengan risiko penyakit pada usia dewasa, berat badan lahir berhubungan terbalik dengan tekanan darah tinggi dan diabetes tipe 2. Peningkatan intake kalsium dapat menurunkan tekanan darah pada dewasa dan anak-anak, dapat mencegah preeklampsia/eklampsia, magnesium dan zinc merupakan nutrisi yang penting untuk sensitivitas, penyimpanan dan sekresi insulin, dan perubahan metabolisme zinc akan mempengaruhi perkembangan diabetes tipe 2 dan komplikasinya. Vitamin A dalam bentuk retinoic acid juga penting untuk fungsi cardiovascular dan pengaturan tekanan darah (Christian and Steward, 2008)

Jaringan dan organ dalam tubuh dipengaruhi oleh program genetik dan epigenetik melalui siklus proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis. Ketidakseimbangan antara intake makanan baik kualitas maupun kuantitas, metabolit, dan ketepatan kebutuhan pada proses tersebut, dapat menyebabkan gangguan perkembangan struktur dan fungsional atau tidak terbentuknya jenis sel spesifik, berkembang menjadi tidak kembalinya proses homeostatic yang dihubungkan dengan labilnya dan potensial reversible modifikasi epigenetik. akumulasi dari kesalahan metilasi DNA berhubungan dengan penuaan, perkembangan DM

tipe 2 dengan menurunnya responsibilitas dari gen, ditandai dengan cepatnya perubahan kadar glukosa. Peningkatan kadar glukosa pada kelompok yang mendapat pembatasan makanan selama bunting dapat terjadi karena terbatasnya protein selama bunting akan meningkatkan apoptosis pankreas pada anaknya. Apoptosis pankreas akan menyebabkan masa sel β pankreas menjadi lebih kecil dan terjadi gangguan sistem hormon pankreas pada generasi berikutnya (Kabani and Junien, 2005).

Patogenesis diabetes tipe 2 merupakan hasil dari interaksi yang kompleks antara faktor genetik dan lingkungan. Mutasi pada beberapa gen memicu peningkatan suseptabilitas individu terhadap diabetes tipe 2. Aktivitas fisik yang kurang, diet tinggi lemak, diet tinggi kalori akan meningkatkan risiko perkembangan sindroma metabolik. Faktor lingkungan seperti insufisiensi glukosa pada ibu bunting akan berkembang menjadi hiperkortisolemia, yang akan berpengaruh pada peningkatan risiko kecil untuk masa bunting pada anaknya. Resistensi insulin like growth faktor 1 (IGF-1) pada subyek dengan mutasi heterozygous, atau delesi hemizygous diketahui akan mengakibatkan kehilangan fungsi dari reseptor IGF-1 dan sekarang diduga merupakan faktor genetik yang meningkatkan risiko diabetes pada bayi dengan berat badan lahir rendah (Garg *et al.*, 2011).

Tempe merupakan bahan makanan yang terbuat dari kedelai mengandung asam folat, vitamin B1 B6, B12 yang diperlukan untuk metilasi DNA pada saat tumbuh kembang intra uterin. Vitamin E dan vitamin A yang berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mencegah kerusakan sel sehingga suplementasi tepung tempe mampu untuk memenuhi kebutuhan mineral maupun vitamin dalam mendukung tumbuh kembang yang optimal.

Fenomena epigenetik dapat dipengaruhi langsung oleh makanan misalnya pada proses penghambatan enzim yang mengkatalisis metilasi DNA atau modifikasi histon atau dengan merubah availabilitas substrat yang diperlukan pada reaksi enzimatik. Epigenetik menjadi isu yang utama menyangkut proses degeneratif seperti Diabetes tipe 2, obesitas, inflamasi, kelainan neurokognitif (Gabory *et al.*, 2011).

Metilasi DNA mudah dipengaruhi oleh faktor nutrisi dan lingkungan, perubahan pada proses metilasi DNA dapat berkembang menjadi perubahan ekspresi gen, mengakibatkan perubahan fenotip dengan peningkatan potensial risiko penyakit. Donor methyl utama pada proses metilasi DNA adalah s-adenosylmethionine (SAM), yang dihasilkan pada proses seluler yang dikenal dengan metabolisme 1-carbon, yang dikatalisis oleh beberapa enzyme dengan

adanya mikronutrien : folat, choline, betaine dan vitamin B yang lain. Status nutrisi khususnya intake mikronutrien merupakan point yang penting dalam mekanisme epigenetik (Anderson *et al.*, 2012)

Percobaan pada binatang dan manusia mendukung bahwa fetal programming dipengaruhi oleh nutrisi pada maternal, dimana nutrient yang dapat merubah status epigenetik selama proses perkembangan fetus diperankan oleh donor methyl yang berkontribusi untuk menjaga kecukupan pool s-adenosyl methionine (SAM) sebagai donor methyl universal untuk reaksi metilasi, yaitu folat, choline, methionine, dan betaine (Mihai, 2011).

Pembatasan protein selama bunting meningkatkan jumlah apoptosis pancreas pada anak tikus, menjadikan masa sel β pancreas lebih kecil dan terjadi gangguan perkembangan sel endokrin pankreas pada generasi selanjutnya. Diet tinggi karbohidrat pada tikus yang baru lahir akan menginduksi hiperinsulinisme, yang akan menetap sampai dewasa. Intervensi diet yang menyebabkan berkurangnya aliran darah fetus-plasenta dan menyebabkan gangguan perkembangan fetus akan memberikan konsekuensi yang sama pada waktu yang lama, kekurangan makan maupun kelebihan makan pada anak-anak dan remaja akan mempengaruhi metabolisme lipid dan sistem metabolik yang lain selama kehidupannya. Insufisiensi plasenta mempengaruhi perubahan epigenetik yang menetap pada tikus. Perubahan metabolisme satu atom carbon dihati melibatkan jalur folat-methionine (karena kekurangan folate) dan perubahan pada tingkat DNA metilasi (hipometilasi) dan asetilasi histon (Anderson *et al.*, 2012).

Perubahan metilasi selama diferensiasi pada dewasa terjadi pada beberapa gen, seperti hubungan yang kuat antara demetilasi leptin promoter dan diferensiasi preadiposit menjadi adiposit. Akumulasi dari kesalahan metilasi DNA dalam waktu yang lama dapat ditambahkan pada perkembangan diabetes tipe 2 dengan peningkatan responsivitas gen, perubahan ekspresi gen dapat terjadi pada perubahan kadar glukosa yang cepat. Mekanisme epigenetik yang diturunkan bersifat labil, maka sangat dipengaruhi oleh perubahan lingkungan maupun nutrisi.

Pada plasenta pengaturan ekspresi gen awalnya melibatkan metilasi histon yang tidak tergantung dari metilasi DNA, kadar dari metilasi DNA lebih rendah pada plasenta dibandingkan dengan jaringan somatik keadaan ini dapat menggambarkan tingginya epigenetik yang labil pada plasenta karena faktor lingkungan. Gen yang tercetak mempunyai peran yang berbeda pada pengaturan transfer nutrien. Efek pada pertumbuhan plasenta dan kapasitas transport. Gen

mengatur interaksi antara sel yang berbeda dengan permukaan fetomaternal yang berbeda pada plasenta atau memodulasi kebutuhan nutrient fetus terutama diatur oleh pertumbuhan fetus (Kabani, 2005).

Suplementasi tepung tempe selama bunting pada tikus yang mendapat pembatasan diet diduga juga memperbaiki fungsi organ pada anak yang dilahirkan. Dalam penelitian ini masih terdapat keterbatasan karena pemberian diet masih berdasarkan asumsi berat badan tikus 200 gram perekor, suplementasinya juga 1 g dan 2 g perekor sehingga perbandingan diet dan berat badan kurang valid. Penelitian selanjutnya diharapkan pemberian suplementasi diberikan sesuai berat badan, dan diberikan personde sehingga konsumsi nutrisi lebih terukur.

KESIMPULAN

Suplementasi tepung tempe selama kebuntingan terbukti berpengaruh terhadap kadar GPx dan MDA.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kami sampaikan pada Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang yang telah memberikan support dana sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

Anderson OS, Sant KE, Dolinoy DC., Nutrition and epigenetiks: an interplay of dietary methyl donors, one-carbon metabolism and DNA methylation, *J Nutr Biochem*, 2012, (8):853-9).
Barnes S. Nutritional Genomics, Polyphenols, Diets, and Their Impact on Dietetics. *Journal of American Dietetic Association*.2008.

Choi SW, Friso S., Epigenetiks: A new Bridge between Nutrition and health, *Advance in Nutrition* Vol.1:8-12, 2010
Christian P, Steward CP. Maternal Micronutrient Deficiency, Fetal Development, and the Risk of Chronic Disease. *Journal of Nutrition*, 2008.
Gabory A, Attig L, Junien C., Epigenetik mechanism involved in developmental nutritional programming, *World journal of Diabetes* 2011;2:10:164-171.
Garg N, Thakur S, McMahan CA, Adamo ML., High Fat Diet Induce Insulin Resistance and Glukocose Intolerance is Gender-Specific in IGF-1R Heterozygous Mice, *Biochem Biophys Res Common*, 2011; 413 (3):476-480.
Jauniaux E, Davies TC, Johns J, Dunster C, Hempstock J, Kelly FJ et al. Distribution and Transfer Parthways of Antioxydant Molecules inside the First Trimester Human Gestasional Sac. *Journal of Clinical Endocrinology& Metabolism*.2004.
Kabani CG, Junien C., Nutritional Epigenomics of metabolic syndrome, *Diabetes*, 2005; 54 (7):1899-1906.
Lorenzen JM, Martino F, Thum T. Epigenetik modifications in cardiovascular disease, *Basic Research in Cardiology*, 2012; 107 (2) ; 245
Mihai and Lupu DN, Lupu DS. Nutritional influence on epigenetiks effects on longevity. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 2011, 1435-40
Mistry HD, William PJ. The Important of Antioxidant Micronutrients n Pregnancy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.2011.