

Perbaikan Level Glutathion Hipokampus Pada Tikus yang Mengalami Penuaan Fisiologis dan Penuaan Akibat Stres Oksidatif dengan Pemberian Alanin-Glutamin Dipeptida

Improvements Glutathion Levels in the Hippocampus of Aged and Oxidative-Stressed Rats by Supplementation of Alanine-Glutamine Dipeptide

Sunarno^{1*}, Wasmen Manalu², Nastiti Kusumorini², Dewi Ratih Agungpriyono³

ABSTRACT

Background: Physiological aging or aging due to oxidative stress causes to disruption of glutathione homeostasis of the hippocampus. Disruption of glutathione homeostasis characterized by a decrease in hippocampus glutathione levels below the normal threshold. Decreased levels of glutathione in the hippocampus was demonstrated decreased hippocampus function. One way to increase glutathione levels in the hippocampus and the function of hippocampus is to increase the concentrations of glutathione precursor. One of the glutathione precursors is alanine-glutamine dipeptide. This research was designed to obtain the most effective level of alanine-glutamine dipeptide supplementation to improve glutathione synthesis in the hippocampus of aged and oxidative-stressed rats. The highest glutathione concentrations in the hippocampus showed the best improvement on the hippocampus function in physiological aging or oxidative-stress aging rats.

Design and Methods: The experimental rats were assigned into a completely randomized design with 2x2x4 factorial arrangement. The first factor was the age of the experimental rats, consisted of two levels i.e., 12 and 24 months. The second factor was oxidative stress consisted of two levels, i.e., without or with oxidative stress. The third factor was the level of alanine-glutamine dipeptide administration consisted of 4 concentrations, i.e. 0%, 3%, 5%, and 7%.

Results: The results showed that administration of 7% alanine-glutamine dipeptide has resulted the highest levels of glutathione hippocampus in younger (0.0154 mg/mg tissue) or aged (0.0140 mg/mg tissue) rats or in normal (0.0150 mg/mg tissue) and in oxidative-stressed (0.0144 mg/mg tissue) rats. The increased hippocampus glutathione levels were associated to the improved functions of the hippocampus.

Conclusion: alanine-glutamine dipeptide administration of 7% concentrations gave the best results on repair function of the hippocampus and has the potential to slow aging, both physiological aging or oxidative-stress aging rats (Sains Medika, 4(1):1-12).

Keywords: alanine-glutamine dipeptide, glutathione, physiological aging, stress oxidative aging, hippocampus functions

ABSTRAK

Latar belakang: Penuaan fisiologis atau penuaan akibat stres oksidatif menyebabkan gangguan homeostasis glutathion hipokampus. Gangguan homeostasis glutathion hipokampus ditandai dengan penurunan level glutathion hipokampus di bawah ambang batas normal. Penurunan level glutathion hipokampus menunjukkan penurunan fungsi hipokampus. Salah satu cara untuk meningkatkan level glutathion hipokampus dan fungsi hipokampus adalah meningkatkan konsentrasi prekursor glutathion. Salah satu prekursor glutathion adalah alanin-glutamin dipeptida. Penelitian ini dirancang untuk mendapatkan konsentrasi paling efektif pemberian alanin-glutamin dipeptida yang dapat memperbaiki sintesis glutathion hipokampus pada tikus yang mengalami penuaan fisiologis atau penuaan akibat stres oksidatif. Level tertinggi glutathion hipokampus menunjukkan perbaikan fungsi hipokampus pada tikus yang mengalami penuaan fisiologis atau penuaan akibat stres oksidatif.

Metode: Tikus-tikus percobaan dirancang menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan ukuran 2x2x4. Faktor pertama adalah umur tikus percobaan yang terdiri atas 2 level, yaitu 12 dan 24 bulan. Faktor kedua adalah stres oksidatif yang terdiri atas 2 level, yaitu tanpa atau dengan stres oksidatif. Faktor ketiga adalah pemberian alanin-glutamin dipeptida yang terdiri atas 4 konsentrasi, yaitu 0%, 3%, 5%, dan 7%.

1 Laboratorium Biologi dan Struktur Fungsi Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro

2 Program Doktor Ilmu-Ilmu Faal dan Khasiat Obat Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor

3 Program Studi Ilmu Biomedis Hewan SPs IPB

* soena17@yahoo.com

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi alanin-glutamin dipeptida 7% memberi peningkatan tertinggi level glutathion hipokampus, baik pada tikus dengan umur lebih muda (58.76%) atau tua (125.81%), tikus normal (76.47%) atau stres oksidatif (97.26%). Peningkatan level glutathion hipokampus dikaitkan dengan perbaikan fungsi hipokampus.

Kesimpulan: Pemberian konsentrasi alanin-glutamin dipeptida 7% memberi hasil terbaik pada perbaikan level glutathion hipokampus yang mengindikasikan perbaikan fungsi hipokampus dan mempunyai potensi memperlambat penuaan, baik penuaan fisiologis atau penuaan akibat stres oksidatif (Sains Medika, 4(1):1-12).

Kata kunci: alanin-glutamin dipeptida, glutathion, penuaan fisiologis, penuaan akibat stres oksidatif, fungsi hipokampus.

PENDAHULUAN

Penuaan fisiologis dan penuaan akibat stres oksidatif merupakan dua faktor utama penyebab penurunan fungsi hipokampus. Penurunan fungsi hipokampus ditandai dengan penurunan level glutathion sampai di bawah ambang batas normal. Penurunan level glutathion hipokampus dalam jangka panjang dapat menyebabkan gangguan aktivitas motorik, endokrinologi, kemampuan kognitif, dan meningkatkan resiko terjadinya penyakit neurodegeneratif (Miller dan O'Callaghan, 2005).

Penuaan selain terjadi pada individu, juga dapat terjadi pada tingkat organ atau sistem organ. Masing-masing organ atau sistem organ mempunyai periode penuaan yang berbeda satu dengan lainnya. Dari berbagai organ di dalam tubuh, hipokampus merupakan organ yang paling cepat mengalami penuaan. Selain itu, hipokampus merupakan wilayah otak paling rentan terhadap perubahan-perubahan yang terjadi seiring dengan penuaan, baik pada kondisi normal atau patologis (Sunarno *et al.*, 2010). Penuaan pada hipokampus ditandai oleh perubahan sinaptik, kepadatan populasi neuron dan perubahan morfologi neuron dari kondisi normal (Rosenzweig dan Barnes, 2003).

Penuaan merupakan salah satu masalah kesehatan bagi masyarakat. Selain dapat menurunkan kinerja, penuaan dapat menurunkan daya tahan tubuh, menyebabkan gangguan koordinasi dan regulasi, serta meningkatkan kerentanan sistem tubuh terhadap berbagai gangguan dari lingkungan. Penuaan tidak dapat dihindari tetapi dapat diperlambat. Salah satu cara penanganan penuaan adalah dengan mengenal indikator-indikator yang berhubungan dengan penuaan. Salah satu indikator penting penuaan adalah level glutathion. Seiring dengan penuaan, level glutathion dalam tubuh, terutama level glutathion hipokampus semakin menurun. Pada umur tua dan stres oksidatif, level glutathion hipokampus dapat menurun di bawah ambang batas normal. Dringen *et al.* (2000) melaporkan bahwa penuaan dapat menurunkan level glutathion mencapai 30-

40% dari kondisi normal. Berdasarkan hal tersebut salah satu cara untuk menangani penuaan adalah dengan meningkatkan level glutathion hipokampus. Meningkatnya level glutathion hipokampus dapat memperbaiki fungsi neuron-neuron penyusun hipokampus yang mengalami penurunan fungsi selama penuaan (Sunarno *et al.*, 2010). Berbagai pilihan bahan antipenuaan telah dilakukan untuk memperlambat penurunan fungsi hipokampus. Salah satu cara kerja bahan antipenuaan adalah menyediakan asam amino yang dapat digunakan untuk mendukung sintesis glutathion sehingga level glutathion di hipokampus dapat ditingkatkan. Senyawa yang memiliki potensi seperti ini adalah alanin-glutamin dipeptida (Berg *et al.*, 2006).

Alanin-glutamin dipeptida adalah bentuk lain dari glutamin yang diketahui sebagai prekursor glutathion di dalam tubuh. (Daren *et al.*, 2007; Fernandes *et al.*, 2010; Jun *et al.*, 2006). Sebagai prekursor glutathion, alanin-glutamin dipeptida mempunyai peran menyediakan asam amino glutamin dalam hipokampus. Glutamin dapat dikonversi menjadi glutamat dan bersama-sama dengan sisten dan glisin digunakan untuk sintesis glutathion di hipokampus (Dringen *et al.*, 2000). Glutathion hipokampus berfungsi mempertahankan integritas seluler, meminimalisasi kerusakan membran biologis sel akibat radikal bebas, meningkatkan respons dan fungsi seluler (Schulz *et al.*, 2000). Alanin-glutamin dipeptida mempunyai sifat stabil selama mengalami proses di dalam tubuh, lebih cepat mengalami proses hidrolisis, mampu melintasi sawar darah otak, dapat dimanfaatkan oleh neuron secara langsung, dan mampu meningkatkan level glutathion di hipokampus (Berg *et al.*, 2006).

Pemberian alanin-glutamin dipeptida diharapkan dapat meningkatkan level glutathion hipokampus pada tikus yang mengalami penuaan fisiologis dan penuaan akibat stres oksidatif. Dengan demikian diharapkan, alanin-glutamin dipeptida dapat digunakan untuk memperlambat penuaan, baik pada penuaan fisiologis atau penuaan akibat stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi optimum alanin-glutamin dipeptida yang dapat memperbaiki level glutathion pada tikus yang mengalami penuaan fisiologis dan penuaan akibat stres oksidatif.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di kandang Hewan Percobaan dan Laboratorium Fisiologi Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut

Pertanian Bogor dari bulan Januari sampai dengan bulan Maret 2011. Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan pola faktorial yang terdiri atas 3 faktor dengan ukuran 2x2x4 dan 3x ulangan. Faktor pertama adalah umur yang terdiri atas 2 level, yaitu 12 bulan dan 24 bulan. Faktor kedua adalah stres oksidatif yang terdiri atas 2 level, yaitu tanpa atau dengan stres oksidatif. Faktor ketiga adalah pemberian alanin-glutamin dipeptida yang terdiri atas 4 konsentrasi, yaitu 0%, 3%, 5%, dan 7%.

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan strain *Sprague dawley*. Penelitian diawali dengan aklimasi tikus selama satu minggu. Selama aklimasi, tikus-tikus percobaan diberi pakan pelet komersial dan air minum secara *ad libitum*. Pembuatan hewan model penuaan fisiologis dilakukan dengan cara tanpa memperlakukan tikus dengan perlakuan stres oksidatif. Adapun pembuatan hewan model penuaan akibat stres oksidatif dilakukan dengan cara tidak memberi pakan pada tikus selama 6 hari, tikus hanya diberi air minum secara *ad libitum*, dan setiap hari tikus diberi perlakuan aktivitas berenang dalam air dingin di ember tertutup selama 15 menit. Alanin-glutamin dipeptida diberikan secara intravena selama 12 hari dengan cara menyuntikkan alanin-glutamin dipeptida dengan dosis 1,66 g/kg bb/hari pada vena ekor setelah tikus diberi perlakuan tanpa atau dengan stres oksidatif. Stok larutan dipersiapkan setiap hari, disimpan pada suhu 4°C dalam lemari es.

Di akhir perlakuan tikus-tikus dikorbankan dan dilanjutkan dengan pengambilan hipokampus. Untuk mendapatkan level glutathion hipokampus dilakukan penentuan level glutathion dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm. Prosedur preparasi dan penentuan level glutathion hipokampus mengacu pada metode yang telah dilakukan oleh Feoli *et al.*, (2010).

Preparasi dan penentuan level glutathion hipokampus diawali dengan pengambilan dan penyiapan sampel hipokampus. Sampel hipokampus ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang memiliki volume 10 ml. Sampel hipokampus dalam tabung reaksi dihomogenisasi dengan menggunakan vortek untuk mendapatkan homogenat. Larutan asam metafosfat 2% sebanyak 0.75 ml ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi homogenat dan selanjutnya dijenuhkan dengan NaCl jenuh sebanyak 0.25 ml. Larutan dikocok dan disentrifus pada kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit, dilanjutkan proses filtrasi untuk mendapatkan filtrat berupa supernatan.

Filtrat diambil 0.5 ml dilanjutkan dengan penentuan level glutathion sesuai prosedur preparasi dan penentuan level glutathion standar.

Prosedur preparasi dan penentuan level glutathion standar diawali dengan menyiapkan reagen blanko yang mengandung 0.75 ml larutan asam metafosfat 2% dan telah ditambah NaCl jenuh sebanyak 0.25 ml. Tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu 60°C selama 5-10 menit. Larutan natrium nitroprusida 5 mM sebanyak 0.25 ml ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan kemudian dihomogenisasi dengan menggunakan vortek. Larutan dalam tabung reaksi yang sudah homogen kemudian ditambah dengan larutan campuran natrium karbonat dan kalium sianida ($\text{Na}_2\text{CO}_3:\text{KCN}$) dengan perbandingan 1:1 sebanyak 0.25 ml dan dihomogenisasi kembali. Larutan yang sudah homogen digunakan untuk penentuan level glutathion standar dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm. Pembuatan level glutathion standar berada pada kisaran antara 0 – 10 mM masing-masing sebanyak 0.5 ml dan dilanjutkan dengan pembuatan kurva standar untuk menentukan level glutathion pada sampel hipokampus.

Level glutathion hipokampus pada tikus yang mengalami penuaan fisiologis dan penuaan akibat stres oksidatif setelah pemberian alanin-glutamin dipeptida 0%, 3%, 5%, dan 7% dianalisis dengan menggunakan analisis ragam pada taraf 5% dengan menggunakan *software The SAS System* versi 9. Konsentrasi optimum alanin-glutamin dipeptida ditentukan berdasarkan peningkatan level glutathion terbaik di hipokampus pada tikus yang mengalami penuaan fisiologis dan penuaan akibat stres oksidatif.

HASIL PENELITIAN

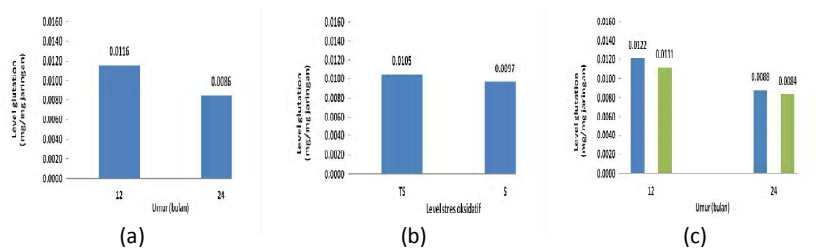
Hasil pengamatan level glutathion hipokampus pada tikus yang mengalami penuaan fisiologis dan penuaan akibat stres oksidatif disajikan pada Tabel 1. Hasil tersebut menunjukkan bahwa secara bebas peningkatan umur atau stres oksidatif berpengaruh secara nyata pada penurunan level glutathion hipokampus, demikian pula interaksi antara umur dengan stres oksidatif juga memberi penurunan secara nyata. Level glutathion hipokampus pada tikus umur 24 bulan tanpa memperhatikan pengaruh stres oksidatif adalah 0.0086 mg/mg jaringan atau meningkat 26.34% dibanding tikus umur 12 bulan. Demikian pula pengaruh stres oksidatif pada tikus tanpa memperhatikan

pengaruh umur menghasilkan level glutathion hipokampus 0.0097 mg/mg jaringan atau menurun 7.05% dibanding tikus normal. Adapun stres oksidatif pada tikus umur 24 bulan menghasilkan level glutathion hipokampus 0.0084 mg/mg jaringan atau menurun 24.77% dibanding tikus normal umur yang sama (Gambar 1). Hasil level glutathion hipokampus dari berbagai konsentrasi alanin-glutamin dipeptida dapat dilihat pada Gambar 2.

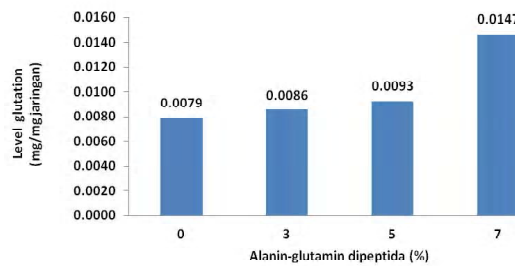
Tabel 1. Rataan level glutathion hipokampus pada tikus yang mengalami penuaan fisiologis dan penuaan akibat stres oksidatif setelah pemberian alanin-glutamin dipeptida

	Stres oksidatif	Alanin-glutamin dipeptida (%)	Level glutathion hipokampus (mg/mg jaringan)
Umur (bulan)	12	0	0.0105 ± 0.00016
		3	0.0111 ± 0.00088
		5	0.0112 ± 0.00084
		7	0.0158 ± 0.00056
		0	0.0088 ± 0.00065
		3	0.0099 ± 0.00042
		5	0.0108 ± 0.00032
	24	7	0.0149 ± 0.00027
		0	0.0065 ± 0.00039
		3	0.0068 ± 0.00051
		5	0.0076 ± 0.00020
		7	0.0142 ± 0.00038
		0	0.0058 ± 0.00045
		3	0.0064 ± 0.00017
Faktor utama	5	0.0074 ± 0.00027	
	7	0.0138 ± 0.00053	
	U	*	
	S	*	
	A	*	
	U-S	*	
	A-U	*	
Interaksi	A-S	*	
	A-U-S	TN	

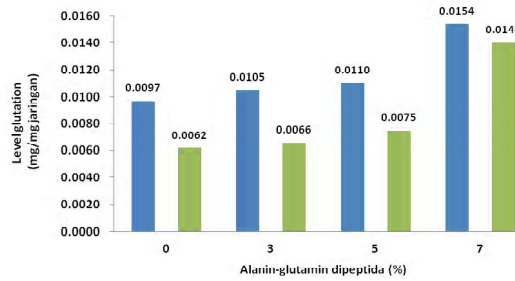
Keterangan: Data yang ditampilkan merupakan nilai rata-rata ± standar deviasi. TS: tanpa stres oksidatif, S: stres oksidatif, A: alanin-glutamin dipeptida, U: umur. Tanda * menyatakan bahwa faktor utama atau interaksi antar faktor utama berpengaruh secara nyata, sedangkan TN berarti faktor utama atau interaksi antar faktor utama tidak berpengaruh secara nyata.



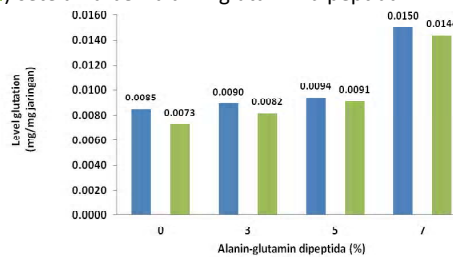
Gambar 1. Level glutation hipokampus pada: (a) tikus umur 12 dan 24 bulan, (b) tikus tanpa (TS) atau dengan stres oksidatif (S), atau (c) interaksi keduanya.



Gambar 2. Level glutation hipokampus dari berbagai konsentrasi alanin-glutamin Dipeptida



Gambar 3. Level glutation hipokampus pada tikus umur 12 bulan (■) dan 24 bulan (■) setelah diberi alanin-glutamin dipeptida



Gambar 4. Level glutation hipokampus pada tikus tanpa (■) atau dengan stres oksidatif (■) setelah diberi alanin-glutamin dipeptida

Pengamatan lebih lanjut membuktikan bahwa tikus umur 12 bulan dan 24 bulan mengalami peningkatan level glutathion hipokampus secara nyata setelah diberi alanin-glutamin dipeptida. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi alanin-glutamin dipeptida 7% memberi hasil tertinggi level glutathion hipokampus, baik pada tikus umur 12 atau 24 bulan berturut-turut 0.0154 mg/mg jaringan dan 0.0140 mg/mg jaringan, lebih tinggi dibanding konsentrasi lainnya (Gambar 3).

Pada penelitian ini juga diamati level glutathion hipokampus pada tikus tanpa atau dengan stres oksidatif setelah diberi alanin-glutamin dipeptida. Diperoleh bukti bahwa alanin-glutamin dipeptida dapat meningkatkan level glutathion secara nyata, baik pada tikus stres oksidatif atau tanpa stres oksidatif. Tikus tanpa stres oksidatif memiliki level glutathion hipokampus lebih tinggi dibanding tikus dengan stres oksidatif setelah diberi alanin-glutamin dipeptida. Konsentrasi alanin-glutamin dipeptida 7% memberi hasil tertinggi level glutathion hipokampus, baik pada tikus normal (tanpa stres oksidatif) atau tikus dengan stres oksidatif, berturut-turut 0.0150 mg/mg jaringan dan 0.0144 mg/mg jaringan, lebih tinggi dibanding konsentrasi lainnya (Gambar 4).

PEMBAHASAN

Penurunan level glutathion hipokampus pada tikus umur 24 bulan, tikus dengan stres oksidatif, atau interaksi keduanya menandakan bahwa peningkatan umur, stres oksidatif, atau interaksi keduanya berpengaruh pada perubahan-perubahan morfologi dan biokimiawi di hipokampus yang memicu penurunan level glutathion. Beberapa penelitian telah menunjukkan hasil yang mendukung pendapat tersebut. Balaban *et al.* (2005) melaporkan stres oksidatif dan peningkatan umur mempunyai dampak terhadap perubahan struktur, jumlah, dan efisiensi mitokondria walau keduanya mempunyai mekanisme yang berbeda. Sultana *et al.* (2006) melaporkan bahwa penurunan efisiensi mitokondria dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim-enzim dalam siklus Krebs dan rantai transport elektron. Kondisi ini dapat menyebabkan penurunan energi seluler dan gangguan metabolisme glutathion di hipokampus (Speakman *et al.*, 2004). Gangguan metabolisme glutathion menyebabkan penurunan level glutathion di hipokampus (Schulz *et al.*, 2000).

Pengamatan level glutathion hipokampus oleh pengaruh secara bebas alanin-

glutamin dipeptida dan interaksi antara alanin-glutamin dipeptida dengan umur atau stres oksidatif memperlihatkan peningkatan hasil yang nyata. Data pada Tabel 1 terlihat bahwa pemberian alanin-glutamin dipeptida tanpa memperhatikan pengaruh stres oksidatif dan umur mampu meningkatkan level glutathion hipokampus. Level glutathion tertinggi terlihat pada pemberian alanin-glutamin dipeptida 7%, yaitu 0.0147 mg/mg jaringan atau meningkat 85.76% dibanding kontrol dan lebih tinggi dibanding hasil konsentrasi lainnya. Bukti penelitian ini memperkuat pendapat bahwa level glutathion hipokampus sangat dipengaruhi oleh tingkat ketersediaan prekursor glutathion eksogen. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Cruzat dan Tirapegui (2009) yang melaporkan bahwa alanin-glutamin dipeptida sebagai prekursor glutathion eksogen dapat meningkatkan konsentrasi glutamin intraseluler dan level glutathion. Berg *et al.* (2006) melaporkan bahwa alanin-glutamin dipeptida mampu melintasi sawar darah otak, dapat dimanfaatkan neuron secara langsung, dan secara efektif dapat meningkatkan level glutathion hipokampus. Dalam neuron hipokampus, alanin-glutamin dipeptida akan dihidrolisis oleh ektopeptidase neuron menjadi asam amino glutamin yang secara bertahap akan diambil sebagai prekursor untuk sintesis glutathion (Dringen *et al.*, 2000).

Perbedaan level glutathion pada tikus umur 12 bulan dan 24 bulan setelah diberi alanin-glutamin dipeptida menunjukkan adanya interaksi antara kedua faktor tersebut. Peningkatan level glutathion hipokampus hasil penelitian ini diduga berkaitan dengan upaya mempertahankan homeostasis glutathion untuk meminimalisasi terjadinya stres metabolik dan memperlambat terjadinya penurunan fungsi hipokampus. Beberapa hasil penelitian memperkuat bukti ini. Dringen *et al.* (2000) dan Shulz *et al.* (2000) melaporkan bahwa otak atau bagian-bagiannya memiliki mekanisme untuk mengembalikan fungsi sistem antioksidan sebagai upaya untuk memperlambat proses penuaan. Salah satu sistem antioksidan yang dapat kembali bekerja secara efektif adalah sistem antioksidan glutathion. Namun demikian efektivitas antioksidan ini sangat bergantung pada tingkat ketersediaan prekursor glutathion di dalam otak melalui pemberian prekursor glutathion eksogen. Secara umum hasil penelitian memberi gambaran bahwa pemberian alanin-glutamin dipeptida dapat meningkatkan level glutathion di hipokampus dan memperbaiki fungsi hipokampus. Meningkatnya level glutathion hipokampus mempunyai keterkaitan dengan meningkatnya harapan hidup (Dringen *et al.*, 2000). Dengan demikian pemberian

alanin-glutamin dipeptida efektif dapat memperlambat penuaan yang berkaitan dengan peningkatan umur (penuaan fisiologis).

Perbedaan level glutathion pada tikus tanpa atau dengan stres oksidatif setelah diberi alanin-glutamin dipeptida menunjukkan adanya interaksi antara kedua faktor tersebut. Hasil penelitian ini memberi bukti bahwa konsentrasi optimum alanin-glutamin dipeptida dapat menurunkan stres metabolik dan mengaktifkan kembali sistem antioksidan dalam hipokampus yang mengalami gangguan akibat stres oksidatif. Mekanisme ini melibatkan ketersediaan prekursor glutathion dalam jumlah yang optimum untuk mendukung laju sintesis glutathion di hipokampus. Andreasen *et al.* (2009) dan Schade *et al.* (2009) melaporkan bahwa tingkat ketersediaan prekursor glutathion yang optimum dapat meningkatkan laju sintesis glutathion dan memberi pengaruh anabolik untuk mempercepat pemulihan kondisi fisiologis tubuh. Peningkatan laju sintesis glutathion dapat dikenali berdasarkan peningkatan level glutathion di hipokampus (Dringen *et al.*, 2000; Schulz *et al.*, 2000). Berdasarkan hal tersebut pemberian alanin-glutamin dipeptida 7% sangat berperan dalam menyediakan prekursor glutathion di hipokampus dalam mendukung peningkatan laju sintesis glutathion dan peningkatan respons level glutathion pada tikus stres oksidatif. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang melaporkan bahwa alanin-glutamin dipeptida dapat memelihara homeostasis dan meningkatkan level glutathion pada berbagai jaringan tubuh yang mengalami stres metabolik akibat stres oksidatif (Balaban *et al.*, 2006; Jun *et al.*, 2006; Roth *et al.*, 2002). Dengan demikian pemberian alanin-glutamin dipeptida efektif dapat memperlambat penuaan yang berkaitan dengan stres oksidatif (penuaan akibat stres oksidatif).

Secara keseluruhan hasil penelitian ini memberi bukti bahwa alanin-glutamin dipeptida secara efektif dapat meningkatkan level glutathion hipokampus, baik pada tikus umur 12 bulan atau 24 bulan, pada tikus normal (tanpa stres oksidatif) atau tikus dengan stres oksidatif. Level glutathion yang meningkat setelah diberi alanin-glutamin dipeptida menunjukkan bahwa sistem antioksidan glutathion pada hipokampus masih dapat bekerja secara efektif walaupun sebelum perlakuan sempat mengalami penurunan akibat peningkatan umur atau stres oksidatif. Pemberian alanin-glutamin dipeptida 7% memberi hasil tertinggi terhadap level glutathion di hipokampus pada semua tikus percobaan. Hal ini berarti, pemberian alanin-glutamin dipeptida 7% memberi hasil terbaik

terhadap perbaikan fungsi hipokampus dan mempunyai potensi dapat memperlambat penuaan, baik penuaan fisiologis maupun penuaan akibat stres oksidatif.

KESIMPULAN

Pemberian alanin-glutamin dipeptida 7% memberi hasil terbaik terhadap perbaikan level glutathion hipokampus yang mengindikasikan perbaikan fungsi hipokampus dan mempunyai potensi dapat memperlambat penuaan, baik penuaan fisiologis maupun penuaan akibat stres oksidatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Dirjen Dikti) Departemen Pendidikan Nasional yang telah memberi Beasiswa Program Pascasarjana (BPPS) sehingga penelitian dan penulisan artikel ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andreasen AS, Pedersen-Skovsgaard T, Mortensen OH, van Hall G, Moseley PL, Pedersen BK. 2009. The Effect of glutamine infusion on the inflammatory response and HSP70 during human experimental endotoxaemia. *Critical Care.*, 13 (10): 1186-7696.
- Balaban RS, Nemoto S, Finkel T. 2005. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell.*, 120: 483-495.
- Berg A, Rooyakcers O, Norberg A, Wernerman J. 2006. Elimination kinetics of L-alanyl-L-glutamine in ICU patients. *Biomedical and Life Sciences.*, 29 (3): 221-228.
- Bisaz R, Conboy L, Sandi C. 2009. Learning under stress: a role for the neural cell adhesion molecule NCAM. *Neurobiol Learn Mem.*, 91 (4): 333-342
- Bjork K, Saarikoski ST, Arlinde C, Kovanen L, Osei-Hyiaman D, Ubaldi M, Reimers M, Hyytia P, Heilig M, Sommer WH. 2006. Glutathione-S-transferase expression in the brain: possible role in ethanol preference and longevity. *The FASEB Journal.*, 4: 1826-1835.
- Cruzat VF, Rogero MM, Borges MC, Tirapegui J. 2007. Current aspects about oxidative stress, physical exercise and supplementation. *Rev Bras Med Esporte.*, 13 (5): 304e-210e.
- Daren KH, Dhaliwalm R, Andrew Day RD, Drover J, Cote H, Wischmeyer P. 2007. Optimizing the dose of glutamine dipeptides and antioxidants in critically ill patients: a phase I dose-finding study. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition.*, 31 (2): 109-118.

- Dringen R, Gutterer JM, Hirrlinger J. 2000. Glutathione metabolism in brain metabolic interaction between astrocytes and neurons in the defense against reactive oxygen species. *Eur. J. Biochem.*, 267: 4912-4916.
- Feoli AM, Siqueira IR, Almeida L, Tramontina AC, Vanzella C, Sbaraini S, Schweigert ID, Netto CA, Perry ML. 2010. Effects of protein malnutrition on oxidative status in rat brain. *Nutrition.*, 22: 160-5.
- Fernandes V, Rogero MM, Tirapegui J. 2010. Effects of supplementation with free glutamine and the peptide alanyl-glutamine on parameters of muscle damage and inflammation in rats submitted to prolonged exercise. *Cell Biochem Funct.*, 28: 24-30.
- Jun C, Dai CL, Zhang X, Cui K, Xu F, Xu YQ. 2006. Alanyl-glutamine dipeptide inhibits hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *World J Gastroenterol.*, 12 (9): 1373-1378.
- Liu J, Wanga A, Li L, Huang Y, Xue P, Hao A. 2010. Oxidative stress mediates hippocampal neuron death in rats after lithium-pilocarpine-induced status epilepticus. *Seizure.*, 19: 165-172.
- Miller DB, O'Callaghan JP. 2005. Aging, stress and the hippocampus. *Ageing Res Rev.*, 4 (2): 123-40.
- Roth E, Oehler R, Manhart N, Exner R, Wessner B, Strasser E, Spittler A. 2002. Regulative potential of glutamine relation to glutathione metabolism *Nutrition.*, 18 (3): 217-221.
- Schade RSM, Grundling M, Pavlovic D, Starke K, Wendt M, Retter S, Murphy M, Suchner U, Spassov A, Gedrange T, Lehmann CH. 2009. Glutamine and alanyl-glutamine dipeptide reduce mesenteric plasma extravasation, leukocyte adhesion and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) release during experimental endotoxemia. *Journal of Physiology and Pharmacology.*, 60 (8): 19-24.
- Schulz JB, Lindenau J, Seyfried J, Dichgans J. 2000. Glutathione, oxidative stress, and neurodegeneration. *Eur. J. Biochem.*, 267: 4904-4911.
- Speakman JR, Talbot DA, Selman C, Snart S, McLaren JS, Redman P, Krol E, Jackson DM, Johnson MS, Brand MD. 2004. Uncoupled and surviving: individual mice with high metabolism have greater mitochondrial uncoupling and live longer. *Aging Cell.*, 3: 87-94.
- Sultana R, Perluigi M, Butterfield DA. 2006. Protein oxidation and lipid peroxidation in brain of subjects with Alzheimer's disease: insights into mechanism of neurodegeneration from redox proteomics. *Antioxid. Redox Signal.*, 8: 2021-2037.
- Sunarno, Manalu W, Kusumorini N, Dewi Ratih A. 2010. Pengaruh stres dan hormon glukokortikoid terhadap tingkat gangguan neuropatologi pada individu yang mengalami penuaan. *Sains Medika* 2 (2): 207-220.