

ALDEHID DEHIDROGENASE DALAM TIKUS WISTAR SEBAGAI BIOMARKER AWAL KONSUMSI ALKOHOL SECARA AKUT

ALDEHYDE DEHYDROGENASE IN SERA RAT WISTAR AS EARLY BIOMARKER IN ACUTE ALCOHOL CONSUMPTION

NI MADE SUANITI^{1*}, A.A.GEDE SUDEWA DJELANTIK², I KETUT SUASTIKA², I NYOMAN MANTIK ASTAWA³

¹Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Bali

²Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

³Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana

*Korespondensi: Lab. Kimia Analitik-Forensik Jurusan Kimia FMIPA UNUD
Kampus Bukit Jimbaran, Badung.

Email: suanitir@yahoo.com

INTISARI

Telah dilakukan penelitian eksperimental konsumsi alkohol secara akut pada tikus Wistar yang diberikan secara oral. Penelitian bertujuan untuk menentukan biomarker aldehid dehidrogenase (ALDH) serum tikus Wistar. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *True randomized experimental post test only control group design*. Penelitian dilakukan dalam dua tahap: yang pertama, delapan tikus diberikan alkohol 5% secara oral selama tujuh hari berturut-turut dan delapan ekor lainnya diberi akuades sebagai kontrol. Tahap kedua, penentuan kadar ALDH enam jam dan 24 jam setelah konsumsi alkohol pada kelompok perlakuan dan kontrol. Sampel serum tikus Wistar yang diambil setelah 6 jam konsumsi alkohol 5% mengandung kadar ALDH sebesar 117,15% dan setelah 24 jam konsumsi alkohol 5%, kadar ALDH adalah sebesar 108,14%. Terjadinya peningkatan kadar ALDH dalam serum tikus yang diberi alkohol 5% secara oral, dibandingkan pada tikus kontrol menandakan bahwa ALDH dapat digunakan sebagai biomarker awal setelah konsumsi alkohol secara akut.

Kata kunci: ALDH, histopatologi, tikus Wistar, biomarker, alkohol

ABSTRACT

Research on oral consumption of alcohol on rat Wistar was done to examine level of aldehyde dehydrogenase (ALDH) in rat serum. The research design was true randomized experimental post test only control group design. This research was conducted in two stages: first, eight rats were treated with 5% alcohol continuously for 1 week and as control aquadest was given to eight rats. The second stage was determination of ALDH levels. Wistar rat serum were taken after 6 hours and 24 hours of 5% alcohol consumption. The levels of ALDH increase by 117.15% after 6 hours of 5% alcohol consumption, while after 24 hours the levels of ALDH increase by 108.14%. ALDH levels in serum rat Wistar can be used as early biomarker of acute alcohol consumption.

Keywords: ALDH, histopathology, rat Wistar, biomarker, alcohol

PENDAHULUAN

Konsumsi alkohol terus menerus dapat mengakibatkan penyakit alkoholik, yang dapat diketahui lebih awal dengan penentuan biomarker-biomarker dari alkohol. Salah satu biomarker alkohol adalah enzim. Enzim yang digunakan untuk mengoksidasi etanol adalah aldehid dehidrogenase (ALDH). Bila ALDH tidak cukup tersedia maka asetaldehid yang bersifat toksik sebagai hasil oksidasi etanol tidak dapat mengalami metabolisme yang sempurna.

Alkohol (etanol) yang diminum dapat mengalami reaksi oksidasi menjadi asetaldehid oleh enzim alkohol dehidrogenase (ADH) dan selanjutnya dioksidasi lagi menjadi asam asetat oleh aldehid dehidrogenase (ALDH). Akumulasi asetaldehid dapat menyebabkan berbagai

penyakit hati (Koivisto, 2007 dan Das *et al.*, 2008).

Di Indonesia, penentuan tingkat konsumsi alkohol pada seseorang umumnya dilakukan dengan pemeriksaan etanol dalam darah untuk tujuan kedokteran forensik. Sedangkan untuk tujuan klinis, yang ditentukan adalah kadar SGPT dan SGOT sebagai biomarker kerusakan hati. Tingkat kerusakan hati biasanya dapat dilihat dari adanya peningkatan rasio SGPT/SGOT lebih dari dua kali angka normal (Wallach, 2004 dan Anonim, 2006). Namun, pemeriksaan ALDH tampaknya mempunyai tingkat spesifitas yang tinggi dan lebih stabil sehingga perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh konsumsi alkohol secara akut pada tikus Wistar untuk mengetahui biomarker awal setelah konsumsi alkohol secara akut pada satu konsentrasi.

Tujuan khusus penelitian adalah untuk mengetahui apakah ALDH dapat digunakan sebagai biomarker awal setelah konsumsi alkohol secara akut.

MATERI DAN METODE

Perlakuan Sampel

Dalam penelitian ini dipakai serum tikus Wistar sebanyak 16 sampel untuk analisis aldehid dehidrogenase dan hati tikus untuk melihat terjadi kerusakannya. Kedua kelompok tikus (kontrol dan perlakuan alkohol 5%) diadaptasikan di kandang Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana selama 1 bulan. Selanjutnya kelompok perlakuan diberikan alkohol secara akut serta kelompok kontrol diberikan akuades.

Analisis Aldehid Dehidrogenase dengan Metode Elisa

Antigen konsentrasi tertentu diletakkan pada permukaan agar sebagai kurva standar yang selanjutnya digunakan untuk menghitung konsentrasi antigen yang tak diketahui. Cawan diisi sampel atau serum antigen yang tak diketahui, dilemahkan sama seperti antigen standar. Selanjutnya cawan ditambahkan cairan *Bovine Serum Albumine (BSA)*. Cawan kemudian dicuci beberapa kali sehingga antibodi-antigen kompleks melekat pada cawan kemudian ditambahkan antibodi kedua. Antibodi kedua ini berkonjugasi pada enzim kemudian cawan dicuci untuk menghilangkan sisa antibodi dan enzim yang tidak terikat. Zat yang telah diubah oleh enzim, diletakkan untuk membuat tanda kromogenik dan hasilnya ditampilkan dengan menggunakan spektrofotometer.

HASIL

Kadar Aldehid Dehidrogenase

Kadar ALDH dalam serum tikus Wistar setelah konsumsi alkohol secara akut seperti diperlihatkan dalam Tabel 1. Rata-rata kadar ALDH pada tikus kontrol (yang tidak diberikan alkohol/diberi akuades) yang diambil setelah 6 jam adalah $3,9801 \pm 0,4498$ U/L dan yang diambil setelah 24 jam adalah $3,9581 \pm 0,4661$ U/L. Pada tikus Wistar setelah diberi alkohol 5% secara akut, kadar ALDH yang diperiksa 6 jam setelah pemberian terakhir adalah $8,6426 \pm 0,6184$ U/L sedangkan setelah 24 jam adalah $8,2385 \pm 1,0499$ U/L. Uji *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal ($P > 0,05$) serta data homogen dengan uji homogenitas, dengan $p > 0,05$ sehingga analisis dilanjutkan dengan uji parametrik menggunakan Anova satu arah.

Tabel 1. Beda kadar aldehid dehidrogenase dalam serum tikus Wistar setelah pemberian alkohol secara akut

Perlakuan	6 Jam	Nilai p	24 Jam	Nilai p
Kontrol	3,9801	< 0,05*	3,9581	< 0,05*
Alkohol 5%	8,6426		8,2385	

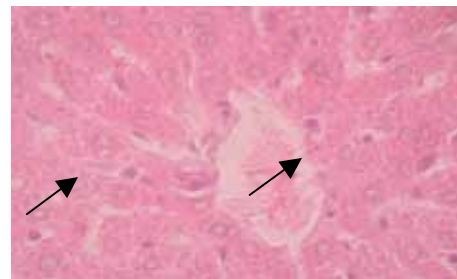
Keterangan: * berbeda bermakna secara statistik antara tikus kontrol dan perlakuan 5% dalam serum yang diambil 6 dan 24 jam.

Tampak pada konsumsi alkohol secara akut atau konsumsi alkohol selama 1 minggu dan pemeriksaan 6 jam

setelah pemberian alkohol terakhir, kadar ALDH serum tikus setelah konsumsi alkohol 5% adalah 8,6426 U/L dan meningkat secara bermakna dengan $p < 0,05$ jika dibandingkan dengan kadar ALDH pada tikus kontrol (3,9801 U/L). Demikian pula konsumsi alkohol akut pada pemeriksaan 24 jam, kadar ALDH serum tikus setelah konsumsi alkohol 5% adalah 8,2385 U/L dan meningkat secara bermakna dengan $p < 0,05$ jika dibandingkan dengan tikus kontrol (3,9581 U/L).

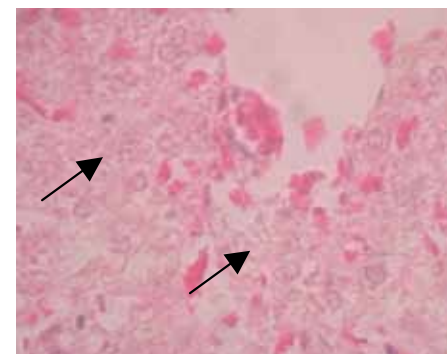
Pemeriksaan Struktur Histopatologi Hati Tikus Wistar

Pemeriksaan histopatologi hati tikus Wistar kontrol menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya perubahan sel-sel hati. Jaringan hati yang normal ditandai dengan adanya sel parenkim dan sel lainnya yang tampak normal pada pemeriksaan mikroskop (Gambar 1). Jaringan hati juga tampak normal pada tikus Wistar yang diberikan alkohol 5% secara akut.



Gambar 1. Gambaran Histologi Jaringan Hati Tikus Wistar yang tidak diberikan Alkohol (Kontrol). Tampak Sel hati yang masih Normal (→)

Sementara itu, konsumsi alkohol 5% pada tikus Wistar secara akut, tidak menyebabkan kerusakan (Gambar 2).



Gambar 2. Gambaran Histologis Hati Tikus setelah Konsumsi Alkohol 5% secara Akut.

PEMBAHASAN

Kadar Aldehid Dehidrogenase Serum Tikus Wistar

Data kadar ALDH dalam serum tikus Wistar sebagai marker kerusakan hati berdistribusi normal dan homogen, sehingga dilakukan uji parametrik dengan Anava satu arah. Hasil Anava menunjukkan bahwa kadar ALDH dalam serum tikus Wistar antara kontrol dan perlakuan alkohol 5% berbeda bermakna dengan nilai $p < 0,05$.

Uji BNT menunjukkan bahwa kadar ALDH tikus kontrol

berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) dengan kadar ALDH tikus yang diberikan alkohol 5% selama 1 minggu setelah 6 jam dengan beda rerata sebesar 4,6625. Dalam hal ini terjadi peningkatan kadar ALDH sebesar 117,15% setelah pemberian alkohol 5%. Ini membuktikan bahwa pemberian alkohol 5% secara akut dapat meningkatkan kadar ALDH dalam serum secara simultan. Hal ini berarti bahwa konsumsi etanol terus menerus merangsang pembentukan enzim *inducer* sehingga etanol mengalami reaksi sempurna. Peningkatan kadar ALDH berbeda bermakna dengan $p < 0,05$ antara kontrol dan pemberian alkohol 5% setelah konsumsi alkohol secara akut.

Hasil yang serupa juga diperoleh pada pemberian alkohol secara akut setelah pemeriksaan 24 jam. Dalam hal ini kadar ALDH antara tikus kontrol dan perlakuan alkohol 5% berbeda secara bermakna dengan beda rerata 4,2804 atau terjadi peningkatan kadar ALDH sebesar 108,14% dari tikus kontrol. Hal ini juga disebabkan oleh etanol dapat sebagai enzim *inducer*.

Peningkatan kadar ALDH ini terjadi karena reaksi enzimatis berfungsi dengan baik sehingga mengakibatkan reaksi sempurna menjadi asam asetat. Secara umum, diperoleh hasil bahwa konsumsi alkohol secara akut pada tikus Wistar dapat meningkatkan kadar ALDH sebagai marker kerusakan awal lebih terdeteksi dari struktur histopatologi hati maupun otak tikus Wistar. Marchitti *et al.* (2008) menyatakan bahwa aldehid merupakan molekul yang reaktif yang oleh enzim ALDH dapat dioksidasi menjadi asetat. Pada orang yang mengkonsumsi alkohol akan terjadi peningkatan kadar asetaldehid yang bersifat toksik terhadap berbagai organ/jaringan tubuh. Untuk mencegah keracunan tubuh oleh asetaldehid, tubuh memproduksi enzim ALDH yang dapat mengubahnya menjadi asetat (Hoek *et al.*, 2004; Lieber, 2005; Moon *et al.*, 2007).

ALDH merupakan enzim yang berperan penting dalam toleransi dan ketergantungan terhadap alkohol yaitu dalam pemecahan asetaldehid menjadi asetat yang tidak beracun. Peran ALDH dalam metabolisme alkohol juga ditelaah oleh Zakhari, 2006. Variasi gen-gen enzim ALDH berpengaruh terhadap tingkat konsumsi alkohol, kerusakan jaringan akibat konsumsi alkohol dan ketergantungan seseorang pada alkohol. Lachenmeier (2008) mengatakan bahwa penggunaan alkohol dapat menimbulkan iritasi kulit terutama pada manusia dengan kekurangan ALDH. Sementara itu, Seitz *et al.* (2001) menyebutkan bahwa konsumsi alkohol dapat meningkatkan resiko kanker pada sistem pencernaan terutama pada individu yang menderita kekurangan ALDH.

Histopatologi Hati Tikus Wistar

Hasil pemeriksaan histologi jaringan hati tikus kontrol menunjukkan bahwa belum kelihatan terjadi kerusakan dan warnanya jernih seperti Gambar 1. Demikian juga hati tikus setelah konsumsi alkohol akut 5% tidak ditemukan adanya perubahan pada sel parenkim tetapi warnanya agak keruh. Tanda-tanda kerusakan struktur mikroskopis jaringan hati tersebut mengindikasikan bahwa mengkonsumsi alkohol 5% selama 1 minggu tampaknya belum merusak jaringan hati. Temuan ini didukung oleh

Yamamoto *et al.* (2000) bahwa degenerasi lemak pada hati tidak diamati secara mikroskop pada keracunan alkohol akut. Tampak bahwa pemberian alkohol 5% secara akut belum mempengaruhi struktur jaringan hati, hal ini berkaitan dengan fungsi hati sebagai organ detoksifikasi utama dalam tubuh. Hasil ini menunjukkan bahwa organ hati masih mampu mendetoksifikasi alkohol 5% yang dikonsumsi selama 1 minggu.

SIMPULAN

Kadar aldehid dehidrogenase dalam serum lebih terdeteksi dari struktur histopatologi hati tikus Wistar sebagai biomarker awal konsumsi alkohol secara akut. Pada serum yang diambil setelah 6 jam, setelah konsumsi alkohol 5% kadar ALDH lebih tinggi dari kontrol atau terjadi peningkatan sebesar 117,15%. Sedangkan pada serum yang diambil setelah 24 jam, setelah konsumsi alkohol 5% kadar ALDH lebih tinggi dari kontrol atau terjadi peningkatan sebesar 108,14%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Dirjen DIKTI yang telah memberikan dana penelitian Hibah Doktor dan juga kepada semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

KEPUSTAKAAN

- Anonim. 2006. Pathology of Alcohol: The Legs go before the Liver. The Biomedical Sciences, p. 48-49.
- Das, S.K., L. Dhanya, D.M. Vasudevan. 2008. Biomarkers of Alcoholism: an Updated Review. *Scand. J. Clin. Lab. Investig.* 68: 81-92.
- Hoek, J.B., and J.G. Pastorino. 2004. Cellular Signaling Mechanisms in Alcohol-Induced Liver Damage. *Semin. Liv. Dis.* 24: 257-272.
- Koivisto, H. 2007. Biomarkers for Assessing Ethanol Consumption and the Development of Alcoholic Liver Disease: Immune Responses Against Ethanol Metabolites, Cytokine Profiles and Markers of Fibrogenesis. Dissertation of the Faculty of Medicine of the University of Tampere.
- Lachenmeier, D.W. 2008. Safety Evaluation of Topical Application of Ethanol on the Skin and inside the Oral Cavity. *Rev. J. Occup. Med. Toxicol.* 13:3-26
- Lieber, C.S. 2005. Metabolism of Alcohol. *Clin. Liver. Dis.* 9:1-35.
- Marchitti, S.A., C. Brocker, D. Stagos, V. Vasiliou. 2008. Non-P450 Aldehyde Oxidizing Enzymes: The Aldehyde Dehydrogenase Superfamily. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 4: 697-720.
- Moon, K., M.A. Abdelmegeed, B. Song. 2007. Inactivation of Cytosolic Aldehyde Dehydrogenase via Nitrosylation in Ethanol-Exposed Rat Liver. *FEBS Lett.* 21: 3967-3972.
- Seitz, H.K., S. Matsuzaki, A. Yokohama, N. Hormann, S. Vakevainen, Wang Xian Dong. 2001. Alcohol and Cancer. *Alcoholism: Clin. Exp. Res.* 25: 1378-1438.
- Wallach, J. 2004. Interpretation of Diagnostic Tests. 8th Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Yamamoto, H., A. Tanegashima, H. Hosoe, T. Fukunaga. 2000. Fatal Acute Alcohol Intoxication in an ALDH2 Heterozygote: A Case Report. *Forensic Sci. International* 112: 201-207.
- Zakhari, S. 2006. Overview: How is Alcohol Metabolized by the Body. *Alcohol Res. Health* 29: 245-254.