

# Pemberian resveratrol oral mencegah peningkatan F2-Isoprostan urin tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar tartrazine

<sup>1</sup>Yulyani, <sup>2</sup>IGM Aman, <sup>3</sup>Wimpie Pangkahila, <sup>4</sup>Ferbian M. Siswanto

<sup>1</sup>Program Pascasarjana Anti-Aging Medicine

<sup>2</sup>Departemen Farmakologi

<sup>3</sup>Departemen Andrologi dan Seksologi

Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar

<sup>4</sup>Department of Biomedical Chemistry, School of Science and Technology, Kwansai Gakuin University, Nishinomiya.

E-mail: yulyanikaramoy@yahoo.com

**Abstract:** This study was aimed to prove that oral administration of resveratrol could prevent urinary F2-isoprostane elevation in tartrazine-induced male Wistar rats (*Rattus norvegicus*). This was an experimental study using the pretest-posttest control group design. Subjects were 24 rats (*Rattus norvegicus*), Wistar strain, healthy, 2-3 months old, weighing 200-220 g, divided into 2 groups with 12 rats each. The first group (P0), the control group, was given a placebo of 2 ml distilled water 2 hours prior to the administration of tartrazine 75 mg/kg body weight. The second group (P1), the treatment group, was given resveratrol of 20 mg/kg 2 hour prior to the administration of tartrazine 75 mg/kg. Rats' urine was collected before and after treatment for 4 weeks. Level of F2-isoprostane was examined by using an 8-iso-PGF2 $\alpha$  enzyme immuno assay kit. The comparative analysis of the pretest groups showed that there was no difference between the average levels of F2-isoprostane in both groups (5.45 $\pm$ 0.62 ng/mL in P0 group vs 5.42 $\pm$ 0.64 ng/mL in P1 group) ( $P > 0.05$ ). Meanwhile, after treatment for 4 weeks, the average level of F2-isoprostane in the P0 group was significantly different from the P1 group (6.61 $\pm$ 0.93 ng/mL vs 3.79 $\pm$ 0.48 ng/mL) ( $P < 0.01$ ). Analysis of the treatment effect showed a significant increase of F2-isoprostane level in the P0 group, and a significant decrease in the P1 group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Oral administration of resveratrol could prevent urinary F2-isoprostane elevation in tartrazine-induced male Wistar rats (*Rattus norvegicus*).

**Keywords:** tartrazine, resveratrol, F2-isoprostane

**Abstrak:** Tujuan penelitian untuk membuktikan pemberian resveratrol oral dapat mencegah peningkatan F2-isoprostan dalam urin tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan yang dipapar tartrazine. Jenis penelitian eksperimental dengan menggunakan *pretest-posttest control group design*. Subyek penelitian ialah 24 ekor tikus (*Rattus norvegicus*), galur Wistar, sehat, berumur 2-3 bulan, dengan berat badan 200-220 gr, dibagi menjadi 2 kelompok, masing-masing berjumlah 12 ekor tikus. Kelompok pertama (P0) ialah kelompok kontrol, diberikan tartrazine 75 mg/kg BB dan 2 jam setelahnya diberikan plasebo berupa aquadest 2 ml. Kelompok kedua (P1) ialah kelompok perlakuan, diberikan tartrazine 75 mg/kg BB dan 2 jam setelahnya diberikan resveratrol 20 mg/kg BB. Saat sebelum dan sesudah perlakuan selama 4 minggu, urin tikus dikoleksi untuk pemeriksaan kadar F2-isoprostan menggunakan 8-iso-PGF2 $\alpha$  *enzyme immuno assay kit*. Analisis komparasi sebelum perlakuan (*pretest*) menunjukkan rerata kadar F2-isoprostan pada kedua kelompok tidak berbeda nyata (5,45 $\pm$ 0,62 ng/mL vs 5,42 $\pm$ 0,64 ng/mL) ( $P > 0,05$ ). Setelah perlakuan selama 4 minggu, rerata kadar F2-isoprostan pada kelompok P0 berbeda nyata dibandingkan kelompok P1 (6,61 $\pm$ 0,93 ng/mL vs 3,79 $\pm$ 0,48 ng/mL) ( $P < 0,01$ ). Analisis efek perlakuan menunjukkan terjadi peningkatan kadar F2-isoprostan pada kelompok P0 dan penurunan bermakna pada kelompok P1 ( $P < 0,01$ ). **Simpanan:** Pemberian resveratrol oral dapat mencegah peningkatan F2-isoprostan urin tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan yang dipapar tartrazine.

**Kata kunci:** tartrazine, resveratrol, F2-isoprostan, urin

Penuaan ialah suatu proses alamiah yang terjadi pada makhluk hidup. Proses penuaan dipengaruhi oleh beberapa faktor, baik faktor ekstrinsik maupun intrinsik. Radikal bebas merupakan salah satu penyebab penuaan yang paling sering dipelajari karena berkontribusi pada berbagai penyakit degeneratif.<sup>1,2</sup> Pembentukan radikal bebas yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan oksidatif yang berujung pada kerusakan berbagai makromolekul dalam sel yang berperan dalam patogenesis penyakit degeneratif.<sup>3</sup>

Kondisi stres oksidatif dapat dideteksi dengan menggunakan indikator F2-isoprostan (8-iso-PGF<sub>2</sub>α) yang merupakan hasil dari peroksidase lipid membran sel di dalam tubuh akibat kerja radikal bebas.<sup>4</sup> F2-isoprostan ialah suatu komponen *prostaglandin-like* yang terbentuk dari katalisis peroksidasi radikal bebas dari asam lemak esensial (*primarily arachidonic acid*) tanpa perintah atau aksi langsung dari enzim *cyclooxygenase* (COX).<sup>5</sup>

Salah satu sumber stres oksidatif ialah lingkungan yang dapat berasal dari makanan, asap rokok, asap kendaraan, paparan sinar UV, dan lain sebagainya.<sup>2</sup> Penambahan pewarna sintetik secara berlebihan dapat berefek toksik terhadap tubuh penggunaannya.<sup>6</sup> Jenis pewarna yang sering ditemukan dalam beberapa produk pangan di antaranya ialah *tartrazine* yang secara komersial digunakan sebagai zat aditif makanan.<sup>7</sup> Studi menunjukkan bahwa pewarna makanan *tartrazine* dapat memberikan pengaruh negatif dan mengubah beberapa penanda biokimia pada organ-organ penting seperti hati dan ginjal, baik pada dosis tinggi ataupun rendah. Lebih lanjut lagi, *tartrazine* juga memberikan efek yang lebih berisiko pada dosis yang lebih tinggi karena dapat menginduksi stres oksidatif melalui pembentukan radikal bebas.<sup>8</sup>

Saat ini telah dikenal banyak jenis antioksidan meliputi antioksidan enzimatis (antioksidan endogenous) seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase, dan antioksidan

non-enzimatis (eksogenous) seperti resveratrol, tokoferol, karotenoid, flavonoid, qinon, bilirubin, asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme.<sup>9</sup> Dewasa ini banyak sekali penelitian yang dilakukan terhadap potensi resveratrol sebagai antioksidan yang sangat kuat dan dapat mencegah terjadinya penuaan.

Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) adalah senyawa polifenol (stilbene) yang ditemukan pada tanaman yang tinggi kadar antioksidannya seperti anggur.<sup>10</sup> Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa kadar resveratrol berkisar antara 0,24-1,25 mg/160 gr anggur merah, dan 1,14-8,69 mg/L jus anggur.<sup>10</sup> Selain anggur, *blueberry*, kacang-kacangan, dan coklat hitam juga mengandung resveratrol dalam jumlah cukup besar.<sup>11</sup> Banyak penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa resveratrol memiliki efek antioksidan.<sup>12</sup> Telah banyak bukti yang menunjukkan aktivitas antioksidan resveratrol dapat mencegah terjadinya penuaan yang diakibatkan oleh radikal bebas.<sup>13,14</sup>

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pemberian resveratrol oral mencegah peningkatan F2-isoprostan urin tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan yang dipapar *tartrazine*. Jenis penelitian ini ialah eksperimental menggunakan *pretest-posttest control group design*. Sampel penelitian ialah 24 ekor tikus (*Rattus norvegicus*), galur Wistar, sehat, berumur 2-3 bulan, dengan berat badan 200-220 gr, yang dibagi menjadi dua kelompok, masing-masing berjumlah 12 ekor tikus. Kelompok pertama (P0) ialah kelompok kontrol yang diberikan *tartrazine* 75 mg/kgBB dan dua jam setelahnya diberikan plasebo berupa aquadest 2 ml. Kelompok kedua (P1) ialah kelompok perlakuan yang diberikan *tartrazine* 75 mg/kg BB dan dua jam setelahnya diberikan resveratrol 20 mg/kg BB.

Semua tikus diadaptasikan selama 7 hari sebelum diberi perlakuan. Sampel dibagi menjadi dua kelompok secara acak.

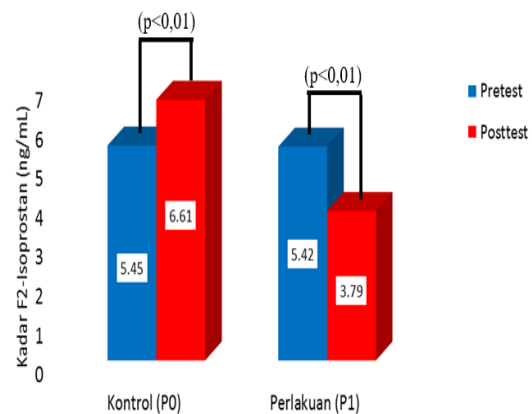
Pada hari ke-8, dilakukan pemeriksaan kadar F2-isoprostan terhadap urin tikus yang telah ditampung pada malam sebelumnya sebagai data *pretest*. Perlakuan dalam penelitian ini berlangsung selama 4 minggu sesuai dengan kelompoknya. Pada hari ke-36 dilanjutkan dengan pengambilan sampel urin tikus yang telah ditampung pada malam sebelumnya untuk pemeriksaan kadar F2-isoprostan *post test*. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis deskriptif, uji normalitas data, uji homogenitas data, dan uji komparabilitas terhadap variabel penelitian yaitu kadar F2-Isoprostan.

**HASIL PENELITIAN DAN BAHASAN**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata kadar F2-isoprostan pada kelompok kontrol (P0) sebelum diberikan perlakuan (*pretest*) ialah 5,45±0,62 ng/mL, sedangkan pada kelompok perlakuan (P1) sebelum diberikan perlakuan (*pretest*) ialah 5,42±0,64 ng/mL ( $P > 0,05$ ). Rerata kadar F2-isoprostan pada kelompok kontrol (P0) setelah diberikan *tartrazine* 75 mg/kgBB dan dua jam setelahnya diberikan plasebo berupa aquadest 2ml selama 4 minggu (*posttest*) ialah 6,61±0,93 ng/mL, sedangkan pada kelompok perlakuan (P1) diberikan *tartrazine* 75 mg/kgBB dan dua jam setelahnya diberikan resveratrol 20 mg/kg BB selama 4 minggu (*posttest*) ialah

3,79±0,48 ng/mL (Tabel 1, Gambar 1).

Hasil analisis efek perlakuan menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol (P0) terjadi peningkatan kadar F2-isoprostan yang bermakna dari 5,45±0,62 ng/mL menjadi 6,61±0,93 ng/mL setelah 4 minggu diberikan perlakuan berupa *tartrazine* 75 mg/kgBB dan aquadest 2ml ( $P < 0,01$ ), namun sebaliknya pada kelompok perlakuan (P1) terjadi penurunan kadar F2-isoprostan yang bermakna dari 5,42±0,64 ng/mL menjadi 3,79±0,48 ng/mL setelah 4 minggu diberikan perlakuan berupa *tartrazine* 75 mg/kgBB dan resveratrol 20 mg/kgBB ( $P < 0,01$ ) (Tabel 2, Gambar 1).



**Gambar 1.** Perbandingan rerata kadar F2-isoprostan setiap kelompok

**Tabel 1.** Komparasi kadar F2-isoprostan antar kelompok

Kelompok Pemeriksaan	Kelompok Subjek	n	Rerata ± SB	t	p
<i>Pretest</i>	Kontrol (P0)	12	5,45 ± 0,62	0,103	0,919
	Perlakuan (P1)	12	5,42 ± 0,64		
<i>Posttest</i>	Kontrol (P0)	12	6,61 ± 0,93	9,324	0,000
	Perlakuan (P1)	12	3,79 ± 0,48		

**Tabel 2.** Analisis pre-post kadar F2-isoprostan pada setiap kelompok

Kelompok	n	Rerata <i>Pretest</i>	Rerata <i>Posttest</i>	t	p
Kontrol (P0)	12	5,45 ± 0,62	6,61 ± 0,93	-5,970	0,000
Perlakuan (P1)	12	5,42 ± 0,64	3,79 ± 0,48	6,233	0,000

Hasil analisis efek perlakuan pada penelitian ini menunjukkan tartrazine dapat

menyebabkan stres oksidatif dan meningkatkan kadar F2-isoprostan. Hasil

penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ali et al.<sup>15</sup> yang menunjukkan bahwa pemberian *tartrazine* dengan dosis 200 mg/kg BB tikus selama 16 hari dapat meningkatkan biomarker stres oksidatif yaitu malondialdehid (MDA) dan meningkatkan biomarker kerusakan hati dan ginjal (ALT, AST, total protein, dan urea). Selain itu, penelitian tersebut menunjukkan bahwa *tartrazine* dapat menurunkan sistem pertahanan endogen terhadap stres oksidatif yang diamati dari menurunnya kadar GSH dan SOD pada organ hati.

Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Visweswaran dan Krishnamoorthy<sup>16</sup> menunjukkan bahwa pemberian *tartrazine* selama 60 hari dapat menyebabkan stres oksidatif pada organ testis tikus wistar jantan. Hal ini ditunjukkan oleh menurunnya aktivitas dan kadar antioksidan enzimatis pada organ testis seperti SOD, katalase (CAT), glutathion peroksidase (GPx), dan glutathion reduktase (GR). Hasil penelitian ini juga menyimpulkan bahwa stres oksidatif pada organ testis tikus yang diberikan *tartrazine* oral ialah karena meningkatnya produksi ROS.

Resveratrol adalah salah satu senyawa polifenol yang terdapat pada tumbuhan dan dimanfaatkan dalam bidang medis. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa resveratrol memiliki aktivitas antioksidan sangat tinggi, ditemukan terutama pada kulit anggur.<sup>10</sup> Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian resveratrol dapat mencegah peningkatan kadar F2-isoprostan yang diakibatkan oleh induksi *tartrazine*. Hasil penelitian ini terkait kapasitas antioksidan yang dimiliki oleh resveratrol. Resveratrol telah dibuktikan dalam beberapa penelitian independen, memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Resveratrol dapat menetralkan radikal bebas karena kemampuannya untuk mengaktifkan kerja berbagai enzim antioksidan endogen seperti SOD dan katalase. Kemampuan resveratrol untuk bertindak sebagai antioksidan tergantung pada sifat-sifat redoks dari gugus hidroksi fenolik dan potensi lokalisasi elektron di

seluruh struktur kimia radikal bebas itu sendiri.<sup>17</sup>

Pernyataan umum yang menyebutkan bahwa resveratrol memiliki aktivitas antioksidan alami telah dibuktikan oleh Zini et al.<sup>18</sup> yang menyebutkan bahwa terdapat tiga mekanisme kerja resveratrol sebagai antioksidan sebagai berikut: 1) berkompetisi dengan koenzim Q dalam proses produksi ROS, untuk memutuskan rantai oksidatif; 2) menetralkan molekul radikal  $O_2^{\bullet-}$  yang dibentuk pada mitokondria; dan 3) menghambat terjadinya peroksidasi lipid yang disebabkan oleh produk reaksi Fenton.<sup>18</sup> Hingga saat ini, banyak penelitian telah menunjukkan kemampuan resveratrol untuk menetralkan dua molekul radikal yaitu  $O_2^{\bullet-}$  dan  $\bullet OH$ . Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Orallo et al.<sup>19</sup> untuk mengidentifikasi peran jalur enzim xantin oksidase (XO), menunjukkan bahwa resveratrol tidak memengaruhi aktivitas XO terkait aktivitas antioksidan intraseluler pada makrofag.

Untuk melindungi jaringan terhadap efek merusak dari ROS, semua sel di dalam tubuh memiliki berbagai mekanisme pertahanan yang mencakup enzim seperti SOD, katalase, glutathion reduktase, dan glutathion peroksidase. Resveratrol dapat mempertahankan konsentrasi antioksidan intrasel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa resveratrol dapat mempertahankan kadar glutathion pada sel mononuklear darah tepi manusia yang diinduksi stres oksidatif oleh 2-deoksi-D-ribose.<sup>20</sup> Dalam studi lainnya pada trombosit darah manusia, resveratrol dapat mencegah oksidasi gugus thiol protein.<sup>21</sup> Selain itu, resveratrol dapat meningkatkan kadar glutathion seiring dengan peningkatan konsentrasi resveratrol dalam sel limfosit manusia yang diinduksi  $H_2O_2$ . Dalam studi lain, resveratrol meningkatkan jumlah beberapa enzim antioksidan, termasuk glutathion peroksidase, glutathion S-transferase dan glutathion reduktase.<sup>22</sup> Penelitian dengan menggunakan kultur sel primer neuron, resveratrol mampu secara bermakna menginduksi sintesis *heme oxygenase 1* (HO-1) yang merupakan antioksidan enzimatis endogen

dan dapat melindungi sel saraf dari kerusakan oksidatif.<sup>23</sup>

Terdapat berbagai mekanisme bagaimana resveratrol dapat mencegah terjadinya stres oksidatif di dalam sel, namun dalam penelitian ini kemungkinan mekanisme kerja resveratrol yang paling utama dalam mencegah stress oksidatif ialah dengan meningkatkan ekspresi antioksidan endogen yang meliputi SOD, katalase (CAT), glutathion peroksidase (GPx), dan glutathion reduktase (GR).<sup>20,24,25</sup> Dapat disimpulkan demikian berdasarkan mekanisme kerja *tartrazine* dalam menginduksi stres oksidatif ialah dengan mencegah aktivitas dan menurunkan kadar antioksidan enzimatis tersebut.<sup>15,16</sup>

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian resveratrol oral dapat mencegah peningkatan F2-isoprostan dalam urin tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan yang dipapar *tartrazine*.

## DAFTAR PUSTAKA

1. **Goldman R, Klatz R.** The New Anti-Aging Revolution Stopping the Clock for a Younger, Sexier, Happier You. UK: Basic Health Publications, 2003.
2. **Pangkahila W.** Anti Aging Medicine: Memperlambat Penuaan, Meningkatkan Kualitas Hidup. Jakarta : Penerbit Buku Kompas, 2007.
3. **Winarsi H.** Produk Oksidasi pada Senyawa Lipid. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius, 2007; p. 50-9.
4. **Hanak D.** Isoprostane lipid peroxidation. 2010. Available from <http://www.kronoslaboratory.com/dotnetnuke/FeaturedAssays/Isoprostanes/tabid/130/Default.aspx>. Accessed: August 22th, 2016.
5. **Morrow JS, Zackert WE, Vander Ende DS, Reich EE, Terry ES, Cox B.** Quantification of isoprostanes as indicators of oxidant stress in vivo. In: Cadenas E, Lester P, Dekker M, editors. Handbook of Antioxidant. New York: Dekker Inc, 2002; p. 57-71.
6. **Fatkhiyah N.** Analisa pewarna pada minuman dengan menggunakan kamera digital [Skripsi]. Jember: Fakultas MIPA Universitas Jember; 2013.
7. **Sumarlin LO.** Identifikasi pewarna sintetis pada produk pangan yang beredar di Jakarta dan Ciputat. Jurnal Kimia Valensi. 2010;1(6):274-83.
8. **Amin KA, Hameid II HA, Abdelsttar AH.** Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. Food Chem Toxicol. 2010;48; 2994-9.
9. **Kaur C, Kapoor HC.** Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium’s health. Int J Food Sci Tech. 2001;36:703-25.
10. **Burns J, Yokota T, Ashihara H, Lean ME, Crozier A.** Plant foods and herbal sources of resveratrol. J Agric Food Chem. 2002;50(11):3337-40.
11. **Enos D.** 2013. 4 foods that are good sources of resveratrol. [cited 2016 July 10]. Available from: <http://www.livescience.com/39125-foods-good-sources-resveratrol.html>.
12. **Cao Z, Fang J, Xia C, Shi X, Jiang BH.** Trans-3,4,5'-trihydroxystibene inhibits hypoxia-inducible factor 1alpha and vascular endothelial growth factor expression in human ovarian cancer cells. Clin Cancer Res. 2004;10:5253-63.
13. **Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, et al.** Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. Nature. 2006;444:337-42.
14. **Kaplan T.** C. elegans exposed to calorie restriction and resveratrol concurrently have statistically similar lifespans to the control. Eukaryon. 2014;10:45-50.
15. **Ali FA, Abdelgayed AS, Osama S, Tawil EL, Bakeer MA.** Toxicological and histopathological studies on the effect of tartrazine in male albino rats. Int J Bio Biomol Agri Biotech Eng. 2016;10(8):473-8.
16. **Visweswaran B, Krishnamoorthy G.** Oxidative stress by tartrazine in the testis of Wistar rats. J Pharm Bio Sci. 2002;2(3):44-9.
17. **Alarcón de la Lastra C, Villegas I.** Resveratrol as an anti-inflammatory and anti-aging agent: mechanisms and clinical implications. Mol Nutr Food Res.

- 2005;49:405-30.
18. **Zini R, Morin C, Bertelli A, Bertelli AA, Tillement JP.** Effects of resveratrol on the rat brain respiratory chain. *Drugs Exp Clin Res.* 2000;25:87-97.
  19. **Orallo F, Alvarez E, Camina M, Leiro JM, Gomez E, Fernandez P.** The possible implication of trans-resveratrol in the cardioprotective effects of long-term moderate wine consumption. *Mol. Pharmacol.* 61:294-302.
  20. **Losa GA.** Resveratrol modulates apoptosis and oxidation in human blood mononuclear cells. *Eur J Clin Invest.* 2003;33:818-23.
  21. **Olas B, Wachowicz B, Bald E, Glowacki R.** The protective effects of resveratrol against changes in blood platelet thiols induced by platinum compounds. *J Physiol Pharmacol.* 2004;55:467-76.
  22. **Yen GC, Duh PD, Lin CW.** Effects of resveratrol and 4-hexylresorcinol on hydrogen peroxide-induced oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Free Radical Res.* 2003;37:509-14.
  23. **Zhuang H, Kim YS, Koehler RC, Dore S.** 2003. Potential mechanism by which resveratrol, a red wine constituent, protects neurons. *Ann NY Acad Sci.* 2003;993:276-86.
  24. **Kavas GÖ, Aribal-Kocatürk P, Büyükkağnici DI.** Resveratrol: is there any effect on healthy subject? *Biol Trace Elem Res.* 2007;118:250. Doi:10.1007/s12011-007-0033-9.
  25. **Kavas GO, Ayril PA, Elhan AH.** The effects of resveratrol on oxidant/antioxidant systems and their cofactors in rats. *Adv Clin Exp Med.* 2013;22(2):151-5.