

**LAPORAN KEGIATAN**

**DETEKSI SECARA IMUNOHISTOKIMIA  
ANTIOKSIDAN SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) PADA  
JARINGAN TIKUS KELINCI HIPERKOLESTEROLEMIA  
YANG DIBERI PAKAN KLOORIFIL DAUN SINGKONG**

**TIM PELAKSANA :**

**Drh. Tutik Wresdiyati, Ph.D  
Ir. Endang Prangdimurti, MSi**

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan, Departemen Pendidikan  
Nasional, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian  
Nomor : 317/SP3/PP?DP2M/II/2006 Tanggal 1 Pebruari 2006



**LEMBAGA PENELITIAN DAN PEMBERDAYAAN MASYARAKAT  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
2006**

## SUMMARY

### IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF ANTIOXIDANT- SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) IN THE TISSUES OF HYPERCHOLESTEROLEMIC RABBITS FED WITH CHLOROPHYLL OF CASSAVA LEAVES

**Tutik Wresdiyati<sup>1</sup> and Endang Prangdimurti<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Dept. of Anatomy, Physiology, and Pharmacology - Faculty of Veterinary  
Medicine, <sup>2</sup>Dept. of Food Technology Science – Faculty of Agricultural Technology  
Bogor Agricultural University

Superoxide dismutase (SOD) is one of intracellular antioxidant. SOD plays an important role in protection of the cell against oxidant, oxidative stress, which caused various diseases and degenerative processes such as aging and carcinogenesis (Ames and Shigenaga, 1992). The intracellular antioxidant maintain balance amount of certain toxic oxygens (Touati, 1992).

Hypercholesterolemic condition showed decreased the level of intracellular antioxidant in the liver and kidney of rats (Wresdiyati et al., 2004, Wresdiyati et al., 2006). The decreasing level of the antioxidant can be prevented by decreasing level of serum cholesterol up to normal level.

Chlorophyll is an antioxidant abundant found in green leaves. It was reported by Alsuhehri et al., (2004) that chlorophyll from cassava leaves could prevent atherosclerosis in the experimental hypercholesterolemic rabbits. However, the mechanism of the prevention is still remained and need to be elucidated. Is the chlorophyll act as antioxidant, that can scavenge free radical, or act as a bile acid binder and excreted through fecal ecretion.

The aim of this research is to study the profile of blood cholesterol and intracellular antioxidant copper,zinc-superoxide dismutase (Cu,Zn-SOD) in the liver, kidney, and heart of hypercholesterolemic rabbits feeding with chlorophyll of cassava leaves. The Cu,Zn-SOD was localized immunohistochemically. This study is one of effort to solve the problem in decreasing antioxidant SOD under hypercholesterolemic condition.

A total of twenty New Zealand White rabbits (bw 2-3 kg) were used for this study. The were divided into four groups ; (1) negative control group (0% cholesterol without treatment of chlorophyll, (2) group that was given with only 0.1% cholesterol, (3) group that was given with 0.1% cholesterol & 33.79 mg/KgBW/day of chlorophyll, and (4) group that was given with 0.1% cholesterol & 101.40 mg/KgBW/day of chlorophyll. The treatment was done for 12 weeks.

Chlorophyll of cassava leaves can decreased serum total cholesterol, LDL cholesterol, triglyceride, and atherogenic index. The chlorophyll can also increased HDL cholesterol compared to that of hypercholesterolemic group, that give only high diet cholesterol. These effects show at the dose 101.40 mg?KgBW/day of chlorophyll.

Hypercholesterolemic condition can alter liver, kidney, and heart tissues, such as lipid degeneration, necrose and inflammation, and decreased the antioxidant Cu,Zn-SOD content in the tissues. The histopatologis evidence was more severe in the liver than that of kidney and heart tissues. The treatment of chlorophyll of

cassava leaves at the hypercholesterolemic condition could reduce the alteration on the tissues. The chlorophyll treatment could also increase the content of antioxidant Cu,Zn-SOD in the tissues. The treatment of 101.40 mg/KgBW/day chlorophyll gave better effects than that of 33.79 mg/Kg/BW/day.

The study concluded the chlorophyll of cassava leaves play a role in decreasing serum total cholesterol and increasing antioxidant superoxide dismutase content in the liver, kidney, and heart tissues. These effects were may achieved by (1) bile acid binding continuously and excreted through fecal ecretion, (2) stimulate liver to increase in production and secretion of bile acid, (3) act as antioxidant that could help the activity of endogenous antioxidant, such as superoxide dismutase, to scavenge free radicals, and (4) inhibit cytochrome P450 activities, that can produce free radicals.

## I. PENDAHULUAN

*Superoxide dismutase* (SOD) adalah bahan bioaktif yang diketahui bersifat antioksidan (*oxygen-free radical scavenger*). SOD melindungi sel terhadap gangguan oksidan (radikal bebas) yang dapat menyebabkan terjadinya beberapa penyakit dan proses degenerasi seperti ketuaan dan karsinogenesis (Ames dan Shigenaga, 1992). Antioksidan ini juga secara tidak langsung memelihara keseimbangan beberapa oksigen yang toksik (Touati, 1992).

Sejauh ini SOD telah digunakan dalam penelitian biomedis baik *in vivo* maupun *in vitro* (kultur jaringan) untuk pencegahan maupun pengobatan beberapa penyakit tertentu. Kondisi hiperkolesterolemia mengakibatkan terjadinya penurunan kandungan antioksidan-*superoxide dismutase* pada hati dan ginjal tikus (Wresdiyati *et al.*, 2004; Wresdiyati *et al.*, 2006). Untuk mencegah penurunan SOD tersebut, langkah yang perlu dilakukan adalah menurunkan kadar kolesterol pada penderita hiperkolesterolemia sampai batas normal (maksimum 200 mg/dL darah).

Klorofil merupakan antioksidan yang banyak ditemukan pada sayuran hijau, dan telah dilaporkan klorofil daun singkong dapat mencegah timbulnya plak aterosklerosis pada kelinci hiperkolesterolemia (Alsuhendra *et al.*, 2004). Namun demikian, mekanisme pencegahan tersebut masih belum diketahui secara pasti. Apakah klorofil bertindak sebagai antioksidan sehingga mampu mencegah dan mengurangi proses oksidasi LDL yang menghasilkan radikal bebas dan menginisiasi terjadinya plak aterosklerosis, atukah klorofil bertindak sebagai pengikat asam empedu (hasil metabolisme kolesterol) dan mengekskresikannya melalui feses. Oleh karena itu, maka perlu dilakukan beberapa penelitian pendekatan terhadap mekanisme tersebut.

Dari penelitian ini diharapkan pemberian klorofil daun singkong mampu menurunkan kolesterol darah (khususnya LDL yang merupakan "kolesterol jahat") subjek penderita hiperkolesterolemia hingga mencapai kadar normal. Dengan normalnya kembali kadar kolesterol darah penderita hiperkolesterolemia, maka profil SOD pada sel-sel hati, ginjal, dan jantung juga diharapkan menjadi lebih baik, sehingga mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh.

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi profil antioksidan *copper,zinc-superoxide dismutase* (Cu,Zn-SOD) pada hati, ginjal, dan jantung kelinci

hiperkolesterolemia yang diberi pakan klorofil daun singkong. Deteksi tersebut dilakukan dengan teknik imunohistokimia. Dengan demikian profil imunohistokimia SOD pada jaringan kelinci hiperkolesterolemia tersebut dapat dideteksi dan dibandingkan antara yang diberi dan yang tidak diberi pakan klorofil daun singkong. Penelitian ini merupakan usaha dalam mengatasi kelainan atau menurunnya antioksidan SOD pada kondisi hiperkolesterolemia

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi ilmiah yang berguna dalam usaha produksi *superoxide dismutase* dalam rangka aplikasinya terutama sebagai bahan bioaktif dalam penelitian biomedis baik *in vivo* maupun *in vitro* (kultur jaringan), serta berguna dalam membantu mengetahui mekanisme pencegahan terjadinya plak aterosklerosis oleh klorofil pada kelinci hiperkolesterolemia, serta dapat digunakan sebagai dasar dalam upaya memperlambat dan meminimalkan kerusakan jaringan dan timbulnya berbagai penyakit akibat kondisi tersebut.

## II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan (a) mendeteksi sel-sel penghasil bahan bioaktif antioksidan *copper,zinc-superoxide dismutase* (Cu,Zn-SOD) pada hati, ginjal, dan jantung kelinci pada kondisi normal dan hiperkolesterolemia dengan diberi dan tanpa diberi klorofil daun singkong, dan (b) distribusi sel-sel penghasil bahan bioaktif Cu,Zn-SOD pada jaringan tersebut menggunakan teknik imunohistokimia. Jumlah sel-sel penghasil Cu,Zn-SOD pada jaringan tersebut dapat mencerminkan (c) hubungan sel-sel tersebut dengan kondisi hiperkolesterolemia yang diberi dan tanpa diberi klorofil daun singkong, serta dapat mencerminkan (d) jumlah dan kandungan *superoxide dismutase* pada jaringan kelinci hiperkolesterolemia dengan dan tanpa pemberian klorofil daun singkong.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi ilmiah tentang (e) profil kandungan SOD pada jaringan hati, ginjal, dan jantung kelinci hiperkolesterolemia dengan dan tanpa pemberian klorofil daun singkong, yang dapat digunakan (f) sebagai dasar dalam upaya mencegah, memperlambat dan meminimalkan kerusakan jaringan dan timbulnya berbagai penyakit lainnya akibat kondisi hiperkolesterolemia.