

THE EFFECT OF FORMALDEHYDE EXPOSURE AND YOGURT SUPPLEMENTATION ON PROFILE AND CHARACTER OF HEPAR TISSUE PROTEIN OF RATS (*Rattus norvegicus*)

*Efek Paparan Formaldehid (Formalin) dan Suplementasi Yogurt Terhadap Profil dan Karakter Protein Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*)*

Chanif Mahdi* and Aulanium

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Brawijaya University, Jln. Veteran, Malang, 65145, Indonesia

Received September 14, 2009; Accepted January 20, 2010

ABSTRACT

Formaldehyde is a simplest organic compound of aldehyde or alkanal group. Formaldehyde is a toxic and carcinogenic substance. Formaldehyde contamination through food or feeding diet continuously is very dangerous for the body, especially for bodies organ for instances likes hepar and kidney. Because formaldehyde is sources of reactive oxygen species (ROS) and free radicals substances for the body. This purpose of the study is to know the effect of formaldehyde exposure and yogurt supplementation on profile and characters of rats (*Rattus norvegicus*) protein hepar tissues. The research methods is laboratory methods. The protein profiles determined by electrophoresis (SDS-PAGE) methods. The character of hepar protein tissue determined by ELISA, Dot Blot and Western Blot methods. The result showed that formaldehyde exposure through the feeding diet of rats affect on profile of hepar protein tissue, that characterized by appear of new band of specific protein with molecule weigh is 29.6 kDa (PSForm 29.6). Yogurt supplementation on rat that exposure by formaldehyde through the feeding diet of rat, that characterized by expressing of new band of specific protein with relative molecule weight 24.8 kDa (PSYogh 24.8 kDa), and followed by depressed or disappear of protein specific band of 29.6 kDa(PSForm 29.6 kDa). The result showed that isolated protein PSForm 29.6 kDa have a antigenecity character.

Keywords: Formaldehyde exposure, yogurt, ROS, profile and protein character

PENDAHULUAN

Penggunaan formaldehid (formalin) sebagai pengawet makanan sangat berbahaya bagi tubuh, karena formaldehid merupakan senyawa toksik yang bersifat sebagai karsinogen. Pengaruh negatif yang sering terjadi akibat kontaminasi formaldehid dalam jangka pendek adalah terjadinya iritasi saluran pernafasan, saluran pencernaan, pusing dan mual, sedangkan akibat kontaminasi formaldehid jangka panjang, antara lain adalah terjadinya kerusakan pada tingkat sel dan jaringan hepar.

Formaldehid bersifat sangat reaktif, karena formaldehid memiliki gugus karbonil yang bersifat reaktif, dapat dengan mudah bereaksi dengan gugus nukleofilik, dalam hal ini adalah gugus $-NH_2$ dari sistem protein (sistem enzimatis) dapat menyebabkan hilangnya aktivitas spesifiknya, sehingga enzimatis dalam tubuh tidak berfungsi, sebagai akibatnya antara lain terganggunya sistem sitokrom P450 atau proses oksidatif fosforilasi. Hal ini menyebabkan antara lain terjadinya asidosis dan produksi senyawa *reactive oxygen species* (ROS) dan radikal bebas, karena asam lemak hasil dari proses beta oksidasi tidak dapat diproses lebih lanjut menjadi energi (ATP), sehingga

produksi ATP menurun, sebagai akibatnya mendorong terjadinya nekrosis.

Produksi senyawa *reactive oxygen species* (ROS) dan radikal bebas secara berlebihan, dapat menyebabkan rusaknya membran sel, dan membran mitokondria, serta kanal ion, sehingga keseimbangan ion terganggu, dan terjadinya peningkatan konsentrasi ion Ca^{++} dalam sitosol, yang dapat menyebabkan NF- κ B aktif, mendorong terjadinya inflamasi pada sel dan jaringan hepar, yang ditandai dengan terbentuknya radikal nitrooksid ($NO\cdot$) dan apabila bergabung dengan radikal superoksid ($O\cdot$) dan membentuk senyawa radikal peroksinitrit yang bersifat sangat merusak.

Bahaya formaldehid dalam tubuh (hepar) dapat menurunkan aktivitas enzim superoksid dismutase (SOD), dan kadar *glutathione* tereduksi (GSH), dapat meningkat produksi malondialdehid (MDA) dan nitrooksid ($NO\cdot$), sebagai parameter terjadinya penurunan aktivitas antioksidan enzimatis dan terjadinya kerusakan oksidatif jaringan hepar. Formaldehid juga dapat menyebabkan rusaknya struktur protein hepar, antara lain berupa menurunnya secara nyata terhadap total protein (TP), dan albumin (ALB), tetapi dapat meningkatkan fosfatase, dalam hal ini adalah alkaline fosfatase (APT), aspartat

* Corresponding author. Tel/Fax : +62-341-554403
Email address : chanifmahdi@gmail.com

transaminase (AST), dan berbagai sitokin dalam plasma dan jaringan hepar.

Yogurt atau yoghurt adalah produk susu fermentasi hasil pertumbuhan *lactic acid bacteria* (LAB) atau bakteri asam laktat (BAL), dalam hal ini adalah golongan bakteri spesies *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*, pada susu pasteurisasi. Yogurt selama ini dipakai sebagai minuman untuk mencegah terjadinya gangguan pencernaan pada saluran pencernaan (*Tractus gastrointestinal*) dan mencegah perkembangbiakan bakteri patogen (gram negatif) yang ada pada sistem pencernaan. Yogurt banyak mengandung berbagai vitamin, terutama vitamin A, B, C, D dan E. Vitamin B dan asam amino sistem dapat berperan sebagai senyawa antioksidan, dan detoksikan yang potensial [4].

Gabungan vitamin A, E dan C serta beta karoten dapat menghambat dan menetralkan radikal bebas yang baru terbentuk, sehingga kerusakan sel hepar lebih lanjut dapat dicegah [8]. Pemberian obat sintesis kurang efektif dibanding dengan suplementasi obat produk alam, seperti yogurt, kefir dan sebagainya [2].

Sampai saat ini masyarakat sulit memperoleh makanan yang benar-benar bebas dari formalin. Saat ini belum ada penelitian yang mengungkap peran dan mekanisme yogurt sebagai sumber antioksidan dan perannya dalam mencegah kerusakan hepar akibat paparan dan kontaminasi formaldehid, sebagai sumber senyawa ROS dan radikal bebas, serta pengaruhnya terhadap profil dan karakter protein hepar tikus (*Rattus norvegicus*). Penentuan profil dan karakter protein, bias dilakukan antara lain dengan metode elektroforesis, ELISA, *Dot Blot* dan *Western Blot*.

METODE PENELITIAN

Bahan

Formalin atau formaldehid produksi Merck, yogurt hasil produk sendiri dengan jumlah bakteri asam laktat $6,8 \times 10^6$. Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan umur 8-10 minggu, dengan bobot badan 100-120 g sebanyak 50 ekor, *buffer Tris-Cl*, *Reducing sample buffer* (RBS), PBA *Twin*, BSA, Dietanolamin, antibodi sekunder, NaOH 4 M, Membran *nitrocellulose* (NC), kertas saring, spon.

Alat

Neraca analitik *Mettler AE- 50*, Spektrofotometer *UV-Vis*, *Vortex Guo Hug*, *Spoit* 1 mL, *Gavage*, seperangkat alat gelas, *water bath*, mikropipet, mikrotip, tabung mikro eppendorf, seperangkat alat *SDS-PAGE*, *ELISA reader*, *scanning*.

Prosedur Kerja

Efek paparan formalin (formaldehid) dan suplementasi yogurt terhadap profil protein hepar tikus (*Rattus norvegicus*)

Pengelompokan dan pengambilan organ hepar tikus. Tikus yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan, umur 8-10 minggu, sebanyak 25 ekor tiap percobaan, dengan bobot badan 100-120 g. Tiap percobaan tikus dikelompokkan menjadi lima kelompok, masing-masing kelompok adalah: kelompok kontrol (0 ppm) tanpa pemberian formaldehid, dan kelompok perlakuan 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm pemberian formaldehid dalam makanan tanpa dan dengan suplementasi yogurt, selama satu minggu. Sebelum organ hepar diambil, tikus dilakukan perlokasi leher.

Penentuan profil protein hepar (Berat molekul protein) dengan metode elektroforesis. Sebanyak 10 μ L isolat sampel protein hepar, ditambah 10 μ L *buffer Tris-Cl* + 20 μ L RBS (*Reducing sample buffer*), dimasukkan dalam tabung mikro, kemudian dipanaskan dalam penangas air pada suhu 100 °C selama 3 menit. Setelah didinginkan sampel dimasukkan dalam sumur-sumur gel dengan volume 20 μ L untuk tiap sumur. Menghubungkan anoda pada reservoir bawah dan katoda pada reservoir atas. Power suplai dihidupkan dengan arus litrik sebesar 30 mA dan 130 V. Proses pemisahan (*running*) dihentikan setelah warna biru dari *marker* mencapai ketinggian 0,5 cm pada batas bawah plat gel.

Pewarnaan dan pencucian gel

Pewarnaan dilakukan dengan cara merendam gel dalam larutan *staining* selama 30-60 menit. Penghilangan warna dilakukan dengan merendam gel dan larutan *destain* sambil digoyang-goyang dengan penggoyang otomatis, sampai gel menjadi jernih, selanjutnya hasil elektroforesis dilakukan *scanning*.

Penentuan berat molekul

Dilakukan dengan cara membandingkan hasil elektroforesis sampel dengan *marker* protein. Penentuan berat molekul dilakukan dengan cara menghitung angka *Rf* (*Retardation factor*), dari masing-masing pita protein dengan rumus sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{Pergerakan jarak protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

Selanjutnya dibuat kurva standar dengan harga *Rf* sebagai sumbu X dan harga logaritma berat molekul sebagai sumbu Y. Berat molekul sampel ditentukan dengan metode interpolasi dengan kurva standar dari protein *marker* [1].

Efek paparan formaldehid (formalin) dan suplementasi yogurt terhadap karakter protein hepar tikus (*Rattus norvegicus*)

Uji Antigenisitas dan spesifisitas dengan metode ELISA. Pengukuran kadar anti *PSForm* 29,6 kDa pada kelinci dilakukan dengan menggunakan sampel serum yang mengandung antigen $1\mu\text{g/mL}$ dalam *coating buffer* (1:9), yang dibuat dengan cara melarutkan dalam TBS sampai 1 mL, hingga memiliki kadar $10\mu\text{g/mL}$ dan ditambahkan *coating buffer* hingga 10 mL. Antigen di *coating* pada *plate ELISA* selama semalam pada suhu $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dicuci dengan *PBA-Tween* 3 x 3 menit. Di blok dengan *blocking buffer* (BSA 1% dalam PBS) $50\mu\text{L/well}$. Diinkubasi selama 2 jam suhu ruang. Dicuci dalam *PBS-Tween* 3 x 3 menit.

Coating antibodi sekunder *anti Rabbit IgG conjugated* 1:40 dalam TBS melalui inkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Dicuci dalam *TBS-Tween* 3 x 3 menit. Ditambahkan substrat pNPP dalam dietanolamin 10% ($50\mu\text{L/well}$). Diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (tidak dicuci, yang dibaca adalah pNPP yang terikat antibodi sekunder). Ditambahkan NaOH 3 M ($50\mu\text{L/well}$) sebagai stop reaktan. Setelah 15 menit dibaca dengan *ELISA reader* pada $\lambda 405\text{ nm}$ [1].

Uji Antigenisitas dan Spesifitas Protein dengan Dot Blot. Antigen (*PSForm* 29,6) diencerkan dengan PBS-azida 1%. Suspensi ditetaskan pada membran nitroselulosa (NC) yang telah dibasahi PBS, dan terangkai pada alat *blotter*. Degas (penghilangan gas) dilakukan selama 30 menit. Membran yang berisi antigen diblokir dengan PBS *skim milk* 5% selama 1 jam sambil digoyang-goyang. PBS *skim milk* dibuang, membran dicuci 3 kali dengan *PBS-Tween* 20 0,05%, masing-masing selama 3 menit. Membran yang berisi antigen diinkubasi dalam serum (antibodi terhadap *PSForm* 29,6 kDa dan antibodi hasil induksinya) dicuci 3 kali dengan *PBS-Tween* 20 0,05% masing-masing selama 3 menit dan diinkubasi kembali dengan antibodi sekunder (*Anti Rabbit IgG conjugated AP*) selama 1 jam. Membran tersebut dicuci kembali 3 kali dengan *PBS-Tween* 0,05%, masing-masing selama 3 menit, dan diinkubasi dengan substrat *western blue* selama 30 menit dalam ruang gelap, serta ditambah akuades. Membran dikeringkan dan diamati *blot* yang terbentuk.

Uji Antigenisitas dan Spesifitas Protein dengan Western Blot. Gel hasil elektroforesis dicuci dengan akuades, kemudian direndam dalam *blotting buffer*. Membran nitroselulosa direndam dalam PBS, kemudian direndam dalam *blotting buffer*. Spon dan kertas saring direndam dalam *blotting buffer*, kemudian disusun *sandwich* dengan urutan sebagai berikut: 1. spon; 2. kertas saring 6 lembar; 3. gel hasil elektroforesis; 4. membran nitroselulosa; 5. kertas saring 9 lembar; 6. Spon.

Transfer dilakukan pada tegangan listrik 25 volt, dan suhu $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama semalam. Membran nitroselulosa hasil transfer diinkubasi dalam 3% *PBST skim milk* pada suhu kamar selama 1 jam, kemudian dicuci dengan *PBST* selama 3 x 5 menit. Membran nitroselulosa diinkubasi dengan anti antigen protein (Ap 29,6 kDa) dalam larutan 1% *PBST* pada suhu kamar selama 1 jam, kemudian dicuci dengan TBS selama 3 x 3 menit. Membran nitroselulosa diinkubasi dalam *anti Rabbit Conjugated AP* dalam TBS pada suhu ruang selama semalam. Setelah terlihat band atau pita protein pada membran nitroselulosa, maka dilakukan pencucian dengan akuades [11].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efek paparan formaldehid (formalin) dan suplementasi yogurt terhadap profil protein hepar tikus (*Rattus norvegicus*)

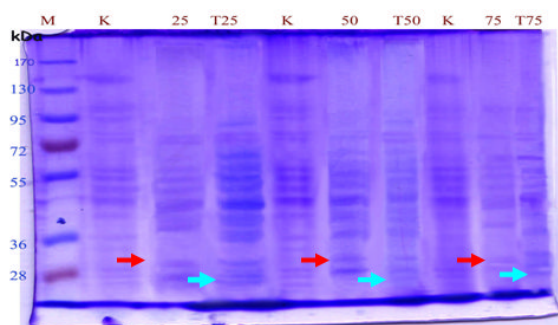
Hasil SDS-PAGE profil protein jaringan hepar tikus yang dipapar formaldehid dan disuplementasi yogurt

Hasil penelitian paparan formaldehid dan suplementasi yogurt terhadap profil protein jaringan hepar tikus (*Rattus norvegicus*) tertera pada Gambar 1.

Gambar 1 dan Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan paparan formaldehid dalam makanan dan suplementasi yogurt pada tikus (*Rattus norvegicus*) menyebabkan terjadinya perubahan struktur protein jaringan hepar tikus. Suplementasi yogurt tidak dapat menumbuhkan kembali pita protein kontrol dengan berat molekul 130 kDa, tetapi mampu menghilangkan protein dengan berat molekul 29,6 kDa, yaitu protein yang tumbuh akibat paparan formaldehid mulai 25 ppm sampai dengan 75 ppm. Pada suplementasi yogurt, menyebabkan munculnya protein 24,8 kDa, yang tidak terbentuk pada kelompok yang mendapat paparan formaldehid saja. Dari hasil penelitian ini perlu dikaji lebih lanjut tentang protein dengan berat molekul 29,6 kDa, yang muncul dan terbentuk akibat perlakuan paparan formaldehid.

Pita protein 29,6 kDa (*PSForm* 29,6 kDa) kemungkinan merupakan *heat shock protein* (HSP), adalah protein yang diekspresikan sebagai pertahanan sel terakhir dalam menghadapi toksisitas paparan formaldehid.

Kiang and Tsokos [7] menyatakan bahwa sel dan jaringan organ yang mengalami *heat shock*, digambarkan sebagai terjadinya beberapa perubahan metabolik sel, yang dinyatakan dengan ekspresi protein yang dikenal sebagai *heat shock protein* yang disingkat HSP. *Heat shock protein* erat hubungannya dengan *chaperon*. *Chaperon* berperan dalam proses translasi. Fungsi *chaperon* berperan menjaga supaya



Keterangan:
 Lajur M = Protein marker
 Lajur K = Perlakuan kontrol
 Lajur 25 = Perlakuan paparan 25 ppm formaldehid
 Lajur 50 = Perlakuan paparan 50 ppm formaldehid
 Lajur 75 ppm = Perlakuan paparan 75 ppm formaldehid
 Lajur T 25 = Perlakuan paparan 25 ppm formaldehid + yoghurt
 Lajur T 50 = Perlakuan paparan 50 ppm formaldehid + yoghurt
 Lajur T 75 = Perlakuan paparan 75 ppm formaldehid + yoghurt
 → = Menunjuk pita protein 29,6 kDa
 → = Menunjuk pita protein 24,8 kDa

Gambar 1. Hasil SDS-PAGE profil protein jaringan hepar tikus yang dipapar formaldehid dan disuplementasi yoghurt

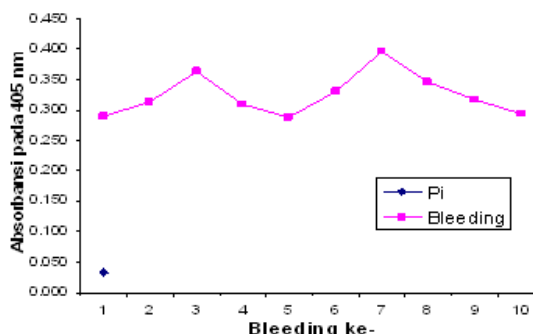
Tabel 1. Rangkuman profil pita-pita protein jaringan hepar hasil SDS-PAGE yang tereksresi dan terdipresi akibat paparan formaldehid dan suplementasi yogurt

Perlakuan	Berat Molekul (kDa)								
	130	94	82,8	69,5	44,3	29,6	28,2	26,8	24,8
Kontrol	√		√				Y	√	
25 ppm			√	√		√	√	√	
T 25		√	√	√			Y	√	√
50 ppm				√		√	√	√	
T 50		√	√	√	√			√	√
75 ppm				√		√	√	√	
T 75				√	√			√	√

polipeptida dalam transpor dari sitosol menuju mitokondria tidak melipat. Berdasarkan molekul *chaperon*, ada tiga golongan protein HSP, masing-masing adalah HSP 70, banyak terdapat pada sitosol dan endoplasma retikulum serta mitokondria, HSP 60 terdapat di mitokondria, dan HSP 90 terdapat pada sitosol.

Keberadaan formaldehid dalam tubuh dapat menurunkan secara nyata total protein (TP), dan albumin (ALB), tetapi meningkatkan aspartat transaminase (AST), alanin aminotransferase, alkalin phosphatase (APT), dan interleukin- 2 atau IL-2 [5].

Sedangkan protein yang hilang, kemungkinan adalah hilangnya protein penting dalam sel, seperti enzim, antibodi, mprotein pembentuk matrik sitoskeleton, yang semuanya dapat menyebabkan terjadinya kerusakan dan kematian sel [3,6,10].



Gambar 2. Profil antibodi terhadap *PSForm* 29,6 kDa dari kelompok kelinci jantan (*Oryctolagus cuniculus*) yang diimunisasi *PSForm* 29,6 kDa

Uji Antigenitas *PSForm* 29,6 kDa dengan Teknik ELISA

Enzyme linked Immune Sorbant Assay (ELISA) merupakan imuno deteksi untuk mengetahui konsentrasi antigen pada sampel. Elisa menggunakan 2 antibodi yang berbeda untuk berikatan dengan 2 epitop yang berbeda pada suatu antigen. Antibodi yang pertama disebut sebagai *capture antibody*, dan antibodi yang kedua disebut sebagai *detection antibody* [1].

Hasil penelitian uji antigenisitas *PSForm* 29,6 kDa tertera pada gambar 2.

Secara kuantitatif kemampuan *PSForm* 29,6 kDa untuk menginduksi antibodi terhadap *PSForm* 29,6 kDa diukur dengan metode *indirect ELISA*. Percobaan dilakukan dengan menyuntikan *PSForm* 29,6 kDa yang telah dicampur dengan “*Complete Freund Adjuvant (CFA)*” dan “*Incomplete Friends Adjuvant (IFA)*”, masing-masing untuk imunisasi primer dan sekunder, dilakukan secara subcutan kepada kelompok kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). Gambar 2 adalah menunjukkan hasil titer antibodi (*IgG*) terhadap *PSForm* 29,6 kDa pada kelompok kelinci jantan.

Nilai titer serum pre imun 0,032, sedangkan nilai titer antibodi *PSForm* 29,6 kDa, lebih tinggi dari serum pre imun. Nilai titer tertinggi diperoleh pada *bleeding* ke 7 dengan nilai absorbansinya 0,395. Data *ELISA* ini membuktikan bahwa protein *PSForm* 9,6 kDa mampu menginduksi antibodi terhadap *PSForm* 29,6 kDa. Hal ini dapat dipastikan, bahwa data titer *IgG* yang terukur dengan metode *indirect ELISA* pada Gambar 2 adalah respon dari *PSForm* suatu molekul yang bersifat antigenik dengan berat molekul 29,6 kDa.

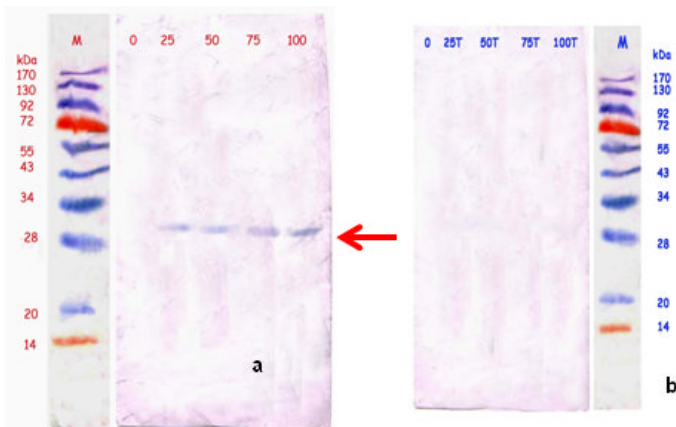
Uji Spesifisitas Protein *PSForm* 29,6 kDa dengan antibodi hasil induksi melalui metode *Dot Blot*

Dot Blot merupakan salah satu teknik untuk deteksi protein, berdasarkan adanya noda pada membran nitroselulosa (NC), yang merupakan hasil reaksi ikatan antigen dengan antibodi. *Dot Blot* hanya

		Protein 29,6 kDa dengan pengenceran 1/40										
		Bleeding ke-										
Antibodi	Pengenceran	Pre imun	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	1/40	1										
		2										

Antibodi sekunder: anti Rabbit IgG AP (1/2500)

Gambar 3. Uji spesifisitas *PSForm* 29,6 kDa dengan antibodi hasil induksinya menggunakan metode Dot Blot



Keterangan:

- M = Marker protein
- 0 = Paparan Formaldehid 0 ppm (kontrol)
- 25, 50, 75 dan 100 = Paparan formaldehid 25, 50, 75 dan 100 ppm
- 25T, 50T, 75T, 100T = Paparan formaldehid dan suplementasi yoghurt
- ← = Pita *PSForm* 29,6 kDa yang dikenali oleh anti *PSForm*

Gambar 4. Uji Western Blot molekul *PSForm* 29,6 kDa terhadap anti *PSForm* 29,6 kDa

memberikan informasi adanya antigen, tidak memberikan informasi tentang berat molekul [9]. Hasil uji spesifisitas protein *PSForm* 29,6 kDa, dengan metode *Dot Blot* tertera pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa serum darah kelinci percobaan sebelum diimunisasi (pre imun) dengan protein antigen (*PSForm* 29,6 kDa) tidak menunjukkan adanya warna totonan biru keunguan. Hal ini menunjukkan bahwa dalam serum pre imun tidak mengandung antibodi terhadap *PSForm* 29,6 kDa. Sedangkan serum darah kelinci yang telah diimunisasi dengan antigen (*PSForm* 29,6 kDa) menunjukkan mengandung antibodi terhadap *PSForm* 29,6 kDa, yang divisualisasikan dengan adanya gradasi warna pada dot (totolan) yang berbeda pada tiap pengambilan darah (*bleeding*). Hal ini menunjukkan bahwa dot warna biru keunguan pada membran nitroselulosa, sebagai indikator atau tanda adanya ikatan antara protein antigen (*PSForm* 29,6 kDa) dengan antibodi hasil induksinya.

Uji spesifitas protein antigen (*PSForm* 29,6 kDa) dengan Western Blot

Data hasil uji spesifisitas *PSForm* 29,6 kDa dengan antibodi hasil induksinya ditunjukkan pada hasil *Western Blot* (Gambar 4). Metode *Western Blot* dilakukan bertujuan untuk mengetahui spesifisitas antibodi dengan antigen yang menginduksinya.

Pita protein dengan berat molekul 29,6 kDa pada Gambar 4a, adalah molekul *PSForm* 29,6 kDa yang dikenali oleh antibodi hasil induksinya. Pada lajur 2, 3, 4 dan 5 pada Gambar 4a, menunjukkan bahwa antibodi hasil induksi *PSForm* 29,6 kDa mengenali satu protein yang disintesis di hepar tikus akibat paparan formaldehid, dengan berat molekul 29,6 kDa. Sedangkan lajur 1 yaitu protein dari hepar tikus yang tidak terpapar formaldehid pada membran nitroselulosa tidak menunjukkan adanya pita. Hal ini berarti bahwa antibodi terhadap *PSForm* 29,6 kDa. Pada Gambar 4b. tidak ada protein yang dikenali oleh antibodi terhadap *PSForm* 29,6 kDa, hal ini menunjukkan bahwa terapi yogurt pada tikus yang terpapar formaldehid, dapat menghilangkan atau menekan sintesis *PSform* 29,6 kDa, yaitu molekul protein yang tersintesis pada hepar tikus akibat paparan formaldehid.

Kiang and Tsokos [7] menyatakan bahwa sel dan jaringan organ yang mengalami *heat shock*, digambarkan sebagai terjadinya beberapa perubahan metabolik sel, yang dinyatakan dengan ekspresi protein yang dikenal sebagai *heat shock* protein, yang disingkat HSP. Terbentuknya HSP adalah sebagai respon terhadap *heat shock*, dan faktor lingkungan, termasuk senyawa toksik yang mendorong terbentuknya HSP.

KESIMPULAN

Paparan formaldehid dan suplementasi yoghurt, menghasilkan profil protein yang berbeda. Paparan formaldehid menyebabkan terekspresinya pita protein 29,6 kDa, yang diperkirakan sebagai HSP. Bersamaan paparan formaldehid yang diikuti dengan suplementasi yoghurt menyebabkan terekspresinya pita protein 24,8 kDa. Protein *PSForm* 29,6 kDa yang terekspresi hasil paparan formaldehid dalam makanan bersifat antigenik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Prof. Dr. dr. Sumarno, Sp.MK. sebagai ketua laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan kepada Dra. Anna Roosdiana sebagai ketua laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang atas

bantuan dan arahannya selama kami melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aulanium, 2004, *Prinsip dan Teknik Analisa Biomolekuler*, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, 34-83.
2. Bray, T.M., 2006, *The Role of Free Radical in Nutrition and Prevention of Chronic Disease*, College of Health and Human Science, Oregon State University. Oregon, USA, 1-37.
3. Davies, K.J., 2000, *IUBMB Life*, 50, 279-289.
4. Eltean, 2005, *The Nutritional Value of Yoghurt*. Eltean Incorporated Sdn. Bhd. Perak Malaysia. <http://www.eltean.com/yoghurt.htm>.
5. Gulec, M.; Gurel, A., and Armutcu, F., 2006, *Mol. Cell. Biochem.*, 290, 61-67.
6. Halliwell, B., and Gutteridge, J.M.C., 1999, *Free Radical in Biology and Medicine*, 3rd ed., Oxford University Press, 1-35 and 246-350.
7. Kiang, J.G. and Tsokos, G.C., 1996, *J. Biomed. Sci.*, 3, 6, 379-388.
8. Kumar, V., Cotran, R.S., and Robbins, S.L., 2003. *Robbins Basic Science Pathology*. 7th ed., Arrangement with Elsevier Inc., New York USA., 3-31 and 113-150.
9. Protocol Online, 2006. *Dot Blot.*, http://www.protocol-online.org/prot/Molecular_Biology/Protein/Dot_Blot/index.html.
10. Suryohudoyo., P., 2000, *Ilmu Kedokteran molekuler*, CV Sugeng Seto. Cetakan pertama, 31-47.
11. Wikipedia, 2006, *Gel Electrophoresis*, Wikipedia The Free Enciclopedia. <http://en.wikipedia.org/gel-electrophoresis>.