

PENGARUH KEDELAI PRODUK REKAYASA GENETIK TERHADAP KADAR MALONALDEHID, AKTIVITAS SUPEROKSIDA DISMUTASE DAN PROFIL DARAH PADA TIKUS PERCOBAAN
(THE IMPACT GENETICALLY MODIFIED ORGANISM [GMO] SOYBEAN ON THE MALONALDEHYDE LEVEL, SUPEROXYDE DISMUTASE ACTIVITY AND BLOOD PROFILE OF EXPERIMENTAL RATS)

Dadi Hidayat Maskar¹, Hardinsyah², Evi Damayanti², Made Astawan³, Tutik Wresdiyati⁴,
Joko Hermanianto³, dan Tessa Winandita³

¹USSEC Soyfood Program Indonesia/Forum Tempe Indonesia, Jl. Cijaha II No. 12. Taman Yasmin Sektor V Bogor, Indonesia

²Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia IPB, Kampus IPB Dramaga Bogor, Indonesia

³Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian IPB, Kampus IPB Dramaga Bogor, Indonesia

⁴Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Kampus IPB Dramaga Bogor, Indonesia

E-mail: dmaskar@ct.ussec.org

Diterima: 30-02-2015

Direvisi: 15-05-2015

Disetujui: 01-06-2015

ABSTRACT

Tempe, a soybean fermentation, has a short shelf life. An effort to extend the shelf life of tempe has been done by making tempe flour. Difference of raw materials which were Genetically Modified Organism (GMO) and non-GMO was pressured to cause different impact on human health. Thus, this study was conducted to evaluate the effect of tempe flour that were made from GMO and non-GMO soybean upon malonaldehida (MDA) levels, intracellular antioxidant superoxide dismutase (SOD) activity in the liver and kidneys of experimental rats, as well as hematological profile. Twenty five Sprague Dawley rats divided into four treatment groups and one control, feeded with tempe from GMO and non-GMO at 10% and 20% concentrations at the period of 90 days. The results showed that rats fed with 10% protein derived from non-GMO soybean flour had lower levels of MDA in the liver and kidney compared to GMO tempe flour group consisting rations of 10% and 20% protein but, not significantly different from the group protein of 20% non-GMO soybean flour and 10% protein of casein. While the value of liver and kidney SOD activity were not significantly different ($p>0,05$) between the groups of rats. The results showed that the values obtained were within normal limits. However, the amount of thrombocytes in each treatment had a value that exceeds normal limits. The activity of rat, rat's metabolism, and amount of feed intake by rats might influenced the result. This experimental study lead to conclude that consuming GMO and non-GMO tempe flour is safe.

Keywords: experimental rats, GMO tempe flour, non-GMO tempe flour, hematology, superoxide dismutase

ABSTRAK

Tempe merupakan produk fermentasi kedelai yang mempunyai masa simpan relatif pendek. Upaya untuk meningkatkan masa simpan diantaranya dengan dibuat tepung tempe. Perbedaan bahan baku dari kedelai pangan rekayasa genetik (PRG) dan non-PRG menimbulkan kekhawatiran terhadap dampak kesehatan bagi manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh tepung tempe dari kedelai PRG dan non-PRG terhadap kadar malonaldehida (MDA), aktivitas superoksida dismutase (SOD), di hati dan ginjal serta profil hematologi tikus percobaan. Sebanyak 25 ekor tikus galur *Sprague Dawley* dibagi menjadi empat kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol (kasein) diberi ransum tempe PRG dan non-PRG dengan konsentrasi 10% dan 20% selama 90 hari. Hasil menunjukkan bahwa kelompok tikus yang diberi ransum tempe kedelai non-PRG 10 % memiliki kadar MDA lebih rendah di hati dan ginjal dibanding kelompok tikus yang diberi ransum tempe PRG 10% dan 20% persen, tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok non-PRG 20 % dan kelompok kontrol. Sedangkan aktivitas SOD tidak berbeda nyata ($p>0,05$) antar kelompok perlakuan. Hasil analisis hematologi menunjukkan semua kelompok perlakuan memiliki nilai pada rentang normal. Semua kelompok perlakuan memiliki nilai kadar trombosit, di atas normal. Hal ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor, diantaranya: aktivitas fisik dan metabolisme serta jumlah ransum yang dikonsumsi. Analisis kadar MDA, aktivitas SOD dan profil hematologi mengungkapkan bahwa tepung tempe kedelai PRG dan non-PRG aman untuk dikonsumsi. [*Penel Gizi Makan 2015, 38(1): 41-50*]

Kata kunci: tikus percobaan, tepung tempe PRG, tepung tempe non-PRG, hematology, superoxide dismutase

PENDAHULUAN

Rendahnya produksi kedelai di Indonesia mengakibatkan para produsen olahan kedelai menggantungkan usahanya dari bahan impor. Menurut Kementerian Pertanian (2013), produksi kedelai nasional pada tahun 2010 sebesar 907,03 ribu ton, mengalami penurunan menjadi 843,15 ribu ton biji kering pada tahun 2012. Kebutuhan kedelai nasional selama lima tahun (tahun 2010-2014) sebesar 2,3 juta ton biji kering, sebagian besar dipenuhi oleh kedelai impor asal Amerika Serikat¹.

Produk kedelai varietas impor dibedakan menjadi Produk Rekayasa Genetik (PRG) atau *Genetically Modified Organism (GMO)* dan non-Produk Rekayasa Genetik atau yang disebut *non-GMO*. Kedelai PRG merupakan varietas yang sudah dimodifikasi secara genetik untuk menghasilkan kedelai yang memiliki berbagai keunggulan, seperti memiliki karakteristik lebih tahan terhadap penyakit dan hama, lebih tahan terhadap herbisida, dan memiliki ukuran biji lebih besar. Menurut definisi Badan Kesehatan Dunia atau World Health Organization (WHO), tanaman transgenik atau GMO adalah organisme yang telah mengalami perubahan pada materi genetiknya sehingga organisme tersebut memiliki sifat-sifat yang tidak dimiliki sebelumnya. Gen yang disisipkan ke dalam organisme tersebut dapat berasal dari spesies yang sama ataupun berbeda².

Teknik rekayasa genetika untuk tanaman kedelai, yang banyak diadopsi oleh petani kedelai di Amerika Serikat adalah yang memiliki keunggulan tahan terhadap herbisida (*Herbicide Tolerance Soybean*). Berdasarkan survei yang dilakukan oleh USDA, proporsi penanaman kedelai tahan herbisida (*HT Soybean*) meningkat secara pesat dari tahun ke tahun, dari sekitar 17 persen di tahun 1997, menjadi 68 persen pada tahun 2001 dan 94 persen di tahun 2014³. Hal ini terjadi karena besarnya manfaat yang dirasakan dan tingginya produktivitas yang dihasilkan dari teknologi tersebut. Di sisi lain, terdapat persepsi negatif akan pangan transgenik karena khawatir akan timbul sifat-sifat baru yang dimiliki tanaman yang dapat memberikan ekspresi protein baru akibat gen dari spesies lain yang dapat memunculkan toksisitas dan alergi baru. Hasil dari beberapa penelitian jangka panjang menunjukkan bahwa konsumsi kedelai transgenik tidak menimbulkan bahaya terhadap kesehatan^{4,5,6,7,8}. Namun pengujian terhadap tempe perlu dilakukan, kare-

na pengujian di bidang ini masih terbatas dan tempe merupakan pangan yang sangat populer bagi masyarakat Indonesia.

Proses pengolahan kedelai menjadi tempe, dapat memperbaiki senyawa antioksidan. Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas (ROS), sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam⁹. Salah satu upaya pencegahan terbentuknya ROS yaitu dengan melibatkan enzim superoksida dismutase (SOD), sedangkan salah satu substansi biologis penanda (*biomarker*) stres oksidatif adalah malonaldehida (MDA).

Umur simpan tempe yang singkat mendorong upaya untuk memperpanjang umur simpan tempe dengan merubahnya menjadi tepung tempe. Perbedaan bahan baku tepung tempe, yaitu kedelai PRG dan non-PRG perlu dikaji dampaknya terhadap kesehatan masyarakat. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan dampak konsumsi tepung tempe kedelai PRG dan non-PRG terhadap hematologi, kadar MDA, dan aktivitas SOD pada tikus percobaan.

METODE

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung tempe dari kedelai (*Glycine max*) PRG dan non-PRG, pati jagung, kasein, minyak jagung, *carboxymethylcellulose (CMC)*, campuran mineral, dan campuran vitamin. Kedelai yang digunakan dalam pembuatan tempe adalah kedelai (*Glycine max*) jenis PRG dan non-PRG impor asal USA yang biasa digunakan untuk pembuatan tahu dan tempe diperoleh dari Koperasi Produsen Tahu Tempe Indonesia (KOPTI) Kabupaten Bogor. Untuk kedelai jenis *non-PRG*, kedelai dikemas dalam kemasan khusus 30 kg, dilengkapi dengan sertifikat bebas GMO (*Genetically Modified Organism*).

Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis kadar malonaldehida (MDA) adalah PBS (*phosphate buffer saline*) pH 7.4 yang mengandung KCL 0,15 M, HCL 0,25 N yang mengandung 15% TCA (*tricarboxylic acid*), 0,38% TBA (*thiobarbituric acid*), dan 0,5% BHT (*butylatedhydroxytoluene*), aquades, standar TEP (*tetraetoksi propana*). Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis enzim superoksida dismutase (SOD) adalah epinefrin, Na₂CO₃, NaHCO₃, NaEDTA 0,001 M, HCl 0,01 M, aquades, dan standar SOD. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis proksimat antara lain:

K₂SO₄, HgO, H₂SO₄ pekat, NaOH-Na₂S₂O₃, H₃BO₃, indikator biru metilen, HCl, pelarut n-heksana, indikator merah metil dan biru metil, kapas bebas lemak, dan etanol. Bahan untuk analisis hematologi yaitu tabung yang berisi larutan EDTA, batu es, larutan *lyse* dan *diluent*.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat untuk melakukan analisis proksimat, MDA, dan SOD, serta *hematology analyzer* untuk analisis hematologi darah tikus percobaan.

Penelitian ini terdiri dari tahap pembuatan tempe, pembuatan tepung tempe, pembuatan ransum, dan analisis produk. Analisis produk meliputi analisis proksimat, analisis secara *in vivo* pada tikus percobaan yang diberi pakan tepung tempe kedelai PRG dan non-PRG, dan analisis hematologi.

Tahap Pembuatan Tempe

Proses pembuatan tempe dilakukan dengan menerapkan *Good Hygienic Practices* (GHP) di Rumah Tempe Indonesia (RTI) Bogor, yang telah mendapatkan sertifikasi HACCP, dengan cara: pembersihan atau penyortiran kedelai, perendaman menggunakan air selama satu jam, perebusan selama 30 menit, perendaman kembali selama 12 jam dan pengupasan kulit ari. Kedelai yang telah dikupas kulit arinya dibersihkan dan dipisahkan dari tunas yang telah tumbuh, dan disiram dengan air panas. Setelah itu, kedelai didinginkan lalu diberi ragi secara merata kemudian dikemas dan diinkubasi selama 40 jam.

Tahap Pembuatan Tepung Tempe

Pembuatan tepung tempe dilakukan dengan cara: tempe diiris dengan menggunakan *slicer*, dengan diameter 30 cm dan tebal irisan 1 mm, kemudian diblansir dengan uap panas selama 2 menit pada tekanan 1 bar dan suhu 100°C. Tempe yang telah diblansir, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C dan digiling menggunakan *disc mill*, yang dilengkapi saringan 60 mesh.

Tahap Pembuatan Ransum

Pembuatan ransum tikus percobaan dibedakan berdasarkan sumber proteinnya, yaitu ransum tepung tempe PRG, ransum tepung tempe non-PRG, dan ransum kasein sebagai standar. Ransum yang diberikan disesuaikan dengan kebutuhan harian tikus dan disusun berdasarkan AOAC (2005), dengan komposisi Protein 10% dan 20% (berdasarkan kelompok perlakuan), lemak 8%, mineral 5%,

vitamin 1%, serat 1%, air 5% dan presentase sisanya adalah karbohidrat¹⁰.

Analisis Proksimat

Analisis proksimat dilakukan pada kasein dan tepung tempe. Hasil analisis menjadi acuan dalam formulasi ransum tikus percobaan.

Uji Pengaruh Tepung Tempe PRG dan non-PRG Secara *In Vivo*

Analisis pengaruh tepung tempe PRG dan non-PRG secara *in vivo* menggunakan 25 ekor tikus putih jantan *Sprague Dawley* lepas sapih yang diadaptasikan terlebih dahulu selama tiga hari dengan pemberian ransum kasein (standar) dan air minum secara *ad libitum*. Setelah masa adaptasi, tikus diseleksi berdasarkan keseragaman bobot tubuh dan dikelompokkan menjadi lima, yaitu kelompok tikus yang diberi pakan 10% protein dari kasein, 10% protein dari tepung tempe PRG, 20% protein dari tepung tempe PRG, 10% protein dari tepung tempe non-PRG, dan 20% protein dari tepung tempe non-PRG. Setiap kelompok tikus memiliki perbedaan bobot kurang dari 10 gram dan antar tikus dalam setiap kelompok memiliki perbedaan maksimal 5 gram. Perlakuan dilakukan selama 90 hari. Selama masa percobaan dilakukan pengamatan terhadap konsumsi ransum setiap hari dan berat badan tikus setiap enam hari sekali.

Pada akhir penelitian, tikus dibunuh dengan eter, dilakukan pengambilan darah dari jantung, pengambilan organ hati, ginjal untuk analisis hematologi, MDA dan SOD. Kadaver dikuburkan dalam tanah dengan kedalaman 60cm.

Analisis Kadar Malonaldehida

Analisis tingkat stress oksidatif mengukur malonaldehida (MDA) sebagai hasil oksidasi asam lemak tidak jenuh dalam hati/ginjal dengan membandingkannya dengan kurva standar TEP (*tetraetoksi propana*). Sebanyak 1,00 g sampel hati atau ginjal dihancurkan dan dihomogenisasi dengan ditambahkan 4 mL larutan PBS (*phospate buffer saline*) yang mengandung 0,15 M. Homogenat kemudian disentrifus 3000 rpm dengan jari-jari sentrifus sebesar 17,90 cm selama 20 menit sehingga diperoleh supernatan jernih. Untuk tahap analisis, 1 mL supernatan hati atau larutan kerja standar TEP dicampur dengan 4 mL larutan HCl 0.25 N dingin yang mengandung TCA, TBA, dan BHT. Larutan kemudian divorteks dan dipanaskan 80°C menggunakan penangas air selama satu jam.

Setelah dingin, larutan disentrifus 3000rpm. Kemudian diukur absorbansi supernatan jernih pada panjang gelombang 532 nm dan dibandingkan dengan kurva standar TEP untuk menghitung kadar MDA sampel¹⁰.

Analisis Aktivitas SOD

Sampel hati atau ginjal dihancurkan dan diekstraksi dengan *buffer* fosfat pH 7, dengan perbandingan 1:10. Hasil ekstraksi disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm dengan jari-jari sentrifus sebesar 17,90 cm selama 10 menit dalam keadaan dingin.

Pengukuran serapan dilakukan dengan cara memasukkan 2800 µl *buffer* natrium karbonat pH 10,2, 100 µl sampel yaitu supernatan yang mengandung SOD dan 100 µl larutan epinefrin ke dalam tabung reaksi. Kemudian serapan dibaca pada panjang gelombang 480 nm pada menit ke 1, 2, 3, dan 4¹¹.

Analisis Hematologi

Prosedur analisis hematologi yaitu sampel darah tikus sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung darah yang telah berisi EDTA yang berguna sebagai anti pembekuan darah. Analisis dilakukan dengan menggunakan alat otomatis 'Hematology Analyzer' dengan parameter eritrosit, hematokrit, hemoglobin, trombosit, dan leukosit.

HASIL

Analisis Proksimat Ransum

Analisis proksimat dilakukan untuk mengetahui kandungan gizi pada sampel sumber protein untuk ransum. Analisis ketiga sampel disajikan pada Tabel 1.

Setelah diperoleh hasil analisis proksimat sampel, dapat ditentukan formulasi bahan untuk ransum yang diberikan kepada tikus percobaan. Formulasi bahan yang digunakan untuk ransum masing-masing kelompok tikus dibedakan atas sumber proteinnya, sedangkan komponen yang lain menyesuaikan sesuai dengan proporsinya. Pada kelompok tikus dengan perlakuan pemberian pakan tepung tempe PRG dan tepung tempe non-PRG tidak ditambahkan CMC karena bahan baku tepung tempe mengandung jumlah serat yang cukup untuk kebutuhan harian tikus percobaan. Untuk mengetahui kesesuaian kandungan zat gizi yang diberikan dengan formulasi, dilakukan analisis proksimat pada kelima jenis ransum yang diberikan (Tabel 2).

Hasil analisis proksimat ransum basis basah pada Tabel 2 menunjukkan kadar protein untuk setiap kelompok tikus sebesar 10% dan 20%. Hal ini sudah sesuai dengan yang diinginkan yaitu memberikan asupan protein yang sama untuk setiap kelompok tikus percobaan.

Pertambahan Berat Badan Tikus dan Konsumsi Ransum

Rata-rata konsumsi ransum dan kenaikan berat badan tikus selama 90 hari percobaan disajikan pada Tabel 3.

Analisis Kadar MDA dan Aktivitas Enzim SOD

Tabel 4 menunjukkan hasil pengukuran kadar MDA dan SOD hati dan ginjal tikus percobaan.

Analisis Hematologi

Hasil analisis hematologi pada tikus percobaan yang disajikan pada Tabel 5.

Tabel 1
Hasil Analisis Proksimat Sampel Basis Kering

Sampel	Kadar (%bk)				
	Air (%bb)	Abu	Protein	Lemak	Serat
Kasein	9,9	0,6	89,4	0,3	0,5
Tepung tempe PRG	3,9	1,9	47,9	27,1	8,8
Tepung tempe <i>non</i> -PRG	4,7	1,8	50,7	26,5	9,5

Keterangan: Hasil analisis proksimat dari ketiga sampel menjadi acuan dalam formulasi ransum

Tabel 2
Hasil Analisis Proksimat Ransum Tikus Percobaan
Berdasarkan Perlakuan

Perlakuan (Sumber dan Kadar Protein)	Kadar (%bb)				
	Air	Abu	Protein	Lemak	Karbohidrat
Kasein 10%	13,7	4,2	10,6	8,8	62,8
Tepung tempe PRG 10%	14,8	4,0	10,1	5,2	65,9
Tepung tempe PRG 20%	11,9	4,0	19,7	9,3	55,1
Tepung tempe <i>non</i> -PRG 10%	13,5	3,9	9,8	3,7	69,1
Tepung tempe <i>non</i> -PRG 20%	11,7	3,8	19,4	7,7	57,4

Tabel 3
Jumlah Konsumsi Ransum dan Kenaikan Berat Badan Tikus Percobaan
selama Masa Perlakuan

Kelompok Perlakuan (Sumber dan Kadar Protein)	Jumlah Konsumsi Ransum (g)	Kenaikan Berat Badan (g)	<i>Feed conversion</i> <i>efficiency (%)</i>
Kasein 10 % (standar)	1973±118,2 ^c	251±43,9 ^{ab}	12,7±1,5 ^a
Tepung tempe PRG 10 %	1620±81,2 ^a	229±38,0 ^a	141±2,0 ^a
Tepung tempe PRG 20 %	1829±92,9 ^{bc}	380±33,8 ^b	20,8±0,9 ^b
Tepung Tempe <i>non</i> -PRG 10 %	1779±58,8 ^{ab}	274±30,5 ^{ab}	15,4±1,4 ^a
Tepung Tempe <i>non</i> -PRG 20 %	1835±117,8 ^{bc}	369±65,6 ^b	20,1±3,0 ^b

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan uji jarak Duncan.

Tabel 4
Kadar MDA dan Aktivitas SOD Hati dan Ginjal Tikus Percobaan

Sampel (Sumber dan Kadar Protein)	MDA Hati ($\mu\text{mol/g}$ sampel)	MDA Ginjal ($\mu\text{mol/g}$ sampel)	Aktivitas SOD Hati (unit/mg protein)	Aktivitas SOD Ginjal (unit/mg protein)
Kasein 10%	19,6±4,8 ^{ab}	13,3±1,2 ^{ab}	344,1±74,7	439,7±0
Tepung Tempe PRG 10%	27,3±6,3 ^b	19,3±1,1 ^c	391,9±54,8	451,6±20,7
Tepung Tempe PRG 20%	29,1±4,8 ^b	16,0±3,8 ^{bc}	320,2±74,7	415,8±20,7
Tepung Tempe <i>non</i> -PRG 10%	11,8±1,3 ^a	8,9±2,1 ^a	344,1±41,4	439,7±0
Tepung Tempe <i>non</i> -PRG 20%	19,6±2,4 ^{ab}	13,9±0,8 ^{abc}	391,9±41,4	427,7±20,7

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan uji jarak Duncan.

Tabel 5
Analisis Hematologi Pada Tikus Percobaan

Sampel (Sumber dan Kadar Protein)	**Hemoglobin (g/dL)	Leukosit (x10 ³ /mm ³)	*Trombosit (x10 ³ /mm ³)	**Eritrosit (x10 ⁶ /mm ³)	**Hematokrit (%)
Kasein 10%	14,1±0,7 ^{ab}	7,9±2,2	639±47 ^b	8,1±0,46 ^{bc}	37±1,4 ^b
Tepung tempe PRG 10%	12,9±0,3 ^a	6,9±1,4	580,2±26 ^a	7,1±0,46 ^a	33,5±0,5 ^a
Tepung tempe PRG 20%	14,6±1,0 ^b	6,3±0,7	613,8±32 ^{ab}	8,3±0,38 ^c	37,5±2,5 ^b
Tepung tempe <i>non</i> -PRG 10%	13,2±0,5 ^a	5,9±0,6	613±24 ^{ab}	7,5±0,19 ^{ab}	35,3±1,0 ^{ab}
Tepung tempe <i>non</i> -PRG 20%	13,8±0,2 ^{ab}	7,3±1,8	642,8±26 ^b	7,7±0,35 ^{abc}	36,1±0,9 ^{ab}

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan ** berbeda sangat nyata (p<0,01) dan * berbeda nyata (p<0,05) dengan uji jarak Duncan

BAHASAN

Pertambahan Berat Badan Tikus dan Konsumsi Ransum

Hasil analisis lanjut dengan uji beda Duncan terhadap jumlah konsumsi ransum (Tabel 3) menunjukkan bahwa kelompok 10% protein dari tepung tempe PRG lebih rendah dibandingkan kelompok 10% protein dari kasein, kelompok 20% protein dari tepung tempe PRG, dan 20% protein dari tepung tempe *non*-PRG.

Rata-rata kenaikan berat badan (Tabel 3) menunjukkan kelompok tikus percobaan yang diberi pakan 10% protein dari tepung tempe PRG dan 20% protein, serta 10% protein dari tepung tempe *non*-PRG dan 20% protein tidak berbeda nyata dengan tikus yang diberi pakan kasein (kontrol). Hal tersebut disebabkan protein pada tempe memiliki kualitas yang baik dan hampir setara dengan protein pada kasein. Penelitian terdahulu yang mengevaluasi keamanan tempe transgenik melaporkan bahwa tempe sebagai sumber protein nabati memiliki kualitas protein yang sama baiknya dengan protein hewani (kasein)¹².

Data *feed conversion efficiency* (FCE) pada Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai FCE kelompok tikus yang diberi ransum 20% protein dari tepung tempe PRG lebih tinggi dibandingkan kelompok tikus yang diberi pakan 10% protein dari kasein.

Semakin tinggi nilai FCE maka semakin tinggi tingkat efisiensi penggunaan ransum, demikian sebaliknya. Sehingga, tikus yang mengonsumsi 20% protein dari tepung tempe PRG dapat meningkatkan berat badan lebih efisien dibandingkan dengan kelompok tikus

yang mengonsumsi 10% protein dari kasein dalam jumlah yang sama.

Analisis Kadar MDA dan Aktivitas Enzim SOD

Malonaldehida (MDA) merupakan hasil proses oksidasi lemak tidak jenuh jamak oleh senyawa radikal bebas di dalam tubuh, sehingga MDA dapat digunakan sebagai indikator keberadaan radikal bebas dan indikator kerusakan oksidatif membran sel di dalam tubuh¹³.

Organ hati dan ginjal merupakan organ yang penting untuk mengetahui dampak toksisitas¹⁴. Organ hati yang digunakan pada analisis MDA dan SOD merupakan organ yang memiliki fungsi utama berupa tempat penyimpanan, metabolisme dan biosintesis zat gizi. Sedangkan ginjal merupakan organ yang berfungsi untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme. Fungsi utama ginjal adalah mengeluarkan kotoran dari sistem saluran kemih, menyaring kotoran dari darah, dan menyerap nutrisi penting ke aliran darah¹⁵.

Hasil uji beda lanjut Duncan untuk kadar MDA hati tikus percobaan yang disajikan pada Tabel 4, menunjukkan bahwa kelompok tikus yang diberi pakan tepung tempe PRG dan *non*-PRG tidak berbeda nyata dengan kelompok tikus yang diberi pakan kasein. Hal tersebut dikarenakan isoflavon pada tempe mengalami pelepasan molekul gula dari isoflavon glukosida menjadi isoflavon aglikon yang mudah diserap oleh tubuh.

Kadar isoflavon total yang terdapat pada kedelai mentah sebesar 140 mg 100⁻¹ gram bahan, sedangkan pada tempe sebesar 50 mg 100⁻¹ gram bahan¹⁶.

Hasil uji beda lanjut Duncan menunjukkan kadar MDA hati kelompok 10% protein dari tepung tempe PRG lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok 10% protein dari tepung tempe *non*-PRG. Hal tersebut sama dengan hasil uji beda lanjut Duncan kadar MDA ginjal. Tingginya kadar MDA organ hati dan ginjal tikus kelompok 10% protein dari tepung tempe PRG dibandingkan dengan kelompok 10% protein dari tepung tempe *non*-PRG, disebabkan adanya isoflavon yang hilang (terbuang) atau rusak akibat proses pemanasan. Hal ini didukung oleh hasil penelitian terdahulu yang melaporkan bahwa kadar isoflavon pada tepung tempe PRG sebesar 29,67 mg/gram bahan sedangkan kadar isoflavon tepung tempe *non*-PRG sebesar 28,92 mg/gram bahan¹⁷. Hal tersebut tidak berkaitan dengan kadar MDA, dikarenakan proses pembuatan tempe dengan dua kali perebusan diduga dapat menyebabkan penurunan senyawa isoflavon.

Enzim superoksida dimutase (SOD) memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa oksigen reaktif yang dapat menimbulkan stress oksidatif. SOD dalam tubuh mempunyai aktivitas mengkatalisis radikal superoksida (O_2) menjadi hidrogen peroksida dan oksigen, SOD menghambat terjadinya autooksidasi epinefrin menjadi adenokrom pada pH basah¹¹.

Tabel 4 menunjukkan hasil pengukuran aktivitas SOD hati dan ginjal dari dua jenis tepung tempe dengan kadar protein yang berbeda dan kasein sebagai kontrol. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jenis ransum yang diberikan tidak berpengaruh nyata ($p>0,05$) terhadap aktivitas SOD di hati dan ginjal tikus percobaan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kandungan isoflavon pada tempe PRG dan *non*-PRG mampu membantu aktivitas SOD dalam menghambat terbentuknya radikal bebas, walaupun kadar isoflavonnya menurun akibat proses pengolahan kedelai menjadi tempe. Hal ini didukung oleh penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa tempe memiliki banyak manfaat bagi tubuh manusia, salah satunya meningkatkan enzim antioksidan SOD¹⁸.

Analisis Hematologi

Analisis hematologi merupakan cara untuk memeriksa darah yang dapat menghitung jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, jumlah leukosit, jumlah trombosit, dan kadar hematokrit. Hematologi merupakan indikator

yang cukup sensitif untuk menggambarkan kesehatan tikus secara umum¹⁹.

Hemoglobin tidak hanya dipengaruhi oleh suatu rangsangan tetapi juga dipengaruhi oleh hematokrit dan eritrosit per unit volume²⁰. Rendahnya oksigen yang ada dalam darah menyebabkan peningkatan produksi hemoglobin dan eritrosit. Hasil analisis kadar hemoglobin pada tikus percobaan yang disajikan pada Tabel 5 menunjukkan bahwa kelompok tikus yang diberi ransum tepung tempe PRG dan *non*-PRG tidak berbeda nyata dengan kelompok kasein. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok tikus dengan ransum tepung tempe PRG dan *non*-PRG mampu memberikan asupan zat besi yang baik. Hal tersebut didukung oleh penelitian terdahulu yang mengatakan bahwa kadar besi yang terdapat pada tepung tempe sebesar 9 mg per 100 gram²¹. Sehingga kadar hemoglobin pada setiap kelompok tikus perlakuan memiliki nilai yang normal. Nilai normal hemoglobin pada tikus percobaan adalah sebesar 12-17,5 g/dL²².

Peran leukosit di dalam tubuh adalah mempertahankan seluler dan humoral organisme terhadap zat-zat asing. Leukosit sebagian dibentuk di sumsum tulang dan sebagian lagi di jaringan limfa. Tabel 5 menunjukkan hasil analisis jumlah leukosit pada tikus percobaan dari dua jenis tepung tempe dengan kadar protein yang berbeda serta kasein sebagai kontrol. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa jenis ransum yang diberikan tidak berpengaruh nyata ($p>0,05$) terhadap jumlah leukosit. Akan tetapi, kadar leukosit pada setiap kelompok tikus perlakuan memiliki nilai yang normal. Nilai normal leukosit pada tikus percobaan adalah sebesar $5-25 \times 10^3 / \text{mm}^3$ ²².

Trombosit berperan penting dalam pembekuan darah. Fungsi lain dari trombosit yaitu untuk mengubah bentuk dan kualitas setelah berikatan dengan pembuluh yang cedera. Trombosit akan menjadi lengket dan menggumpal bersama membentuk sumbat trombosit yang secara efektif menambal daerah yang luka²⁰. Jumlah trombosit normal pada manusia adalah 250,000-400,000 sel/ mm^3 ²³. Jumlah trombosit yang sangat rendah dapat menyebabkan pemanjangan waktu pembekuan.

Hasil analisis jumlah trombosit pada tikus percobaan disajikan pada Tabel 5. Hasil uji beda lanjut Duncan menunjukkan bahwa kelompok tikus yang mengkonsumsi ransum 10% protein dari tepung tempe PRG memiliki jumlah trombosit lebih rendah dibandingkan

kelompok 10% protein dari kasein dan kelompok 20% protein dari tepung tempe *non-PRG*. Hal ini disebabkan rendahnya jumlah konsumsi tikus yang diberi ransum 10% protein dari tepung tempe PRG. Hal tersebut mengurangi asupan protein yang berfungsi sebagai zat pembangun tubuh, salah satunya berperan dalam metabolisme sel trombosit.

Jumlah trombosit pada setiap kelompok tikus perlakuan mempunyai nilai diatas batas normal, pada kisaran $150-460 \times 10^3/\text{mm}^3$ ²⁴. Hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain adalah aktivitas dan metabolisme tubuh tikus. Sedangkan jumlah trombosit yang melampaui batas normal sebagai akibat dari mengonsumsi tepung tempe PRG dan *non-PRG*, dapat digunakan sebagai pangan alternatif untuk meningkatkan nilai trombosit yang turun pada penderita demam berdarah.

Fungsi utama eritrosit adalah mengangkut hemoglobin, dan seterusnya mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan. Hasil analisis nilai eritrosit pada tikus percobaan disajikan pada Tabel 5. Hasil uji beda lanjut Duncan menunjukkan bahwa tikus yang diberi ransum 10% protein dari tepung tempe PRG memiliki eritrosit sangat nyata lebih rendah dibandingkan dengan tikus yang diberi ransum berupa 10% protein dari kasein dan 20% protein dari tepung tempe PRG. Hal ini dikarenakan kelompok tikus yang diberi ransum 10% protein dari tepung tempe PRG mengonsumsi ransum dalam jumlah yang sedikit sehingga dapat mengurangi asupan protein. Protein sangat dibutuhkan dalam pembuatan hormon eritropoietin, yaitu molekul glikoprotein yang diperlukan dalam sintesis eritrosit²⁵. Nilai eritrosit pada semua kelompok perlakuan tikus masih berada dalam kisaran normal, yaitu $7 \times 10^6 - 9,7 \times 10^6/\text{mm}^3$ ²⁶.

Hematokrit dapat digunakan untuk mendiagnosis kondisi normal, anemia, dan polisitemia. Kondisi polisitemia atau kekurangan cairan ditandai dengan hematokrit yang tinggi dengan jumlah eritrosit dan hemoglobin yang tinggi. Nilai hematokrit yang rendah menunjukkan terjadinya anemia atau pendarahan. Sedangkan, nilai hematokrit yang tinggi dapat disebabkan oleh terjadinya dehidrasi pada spesimen²⁷.

Hasil analisis menunjukkan bahwa kelompok 10% protein dari tepung tempe PRG memiliki hematokrit lebih rendah dibandingkan kelompok 20% protein dari tepung tempe PRG dan 10% protein dari kasein, akan tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok 10% protein dari tepung tempe *non-PRG* maupun 20%.

Rendahnya konsumsi protein pada tikus yang diberi ransum 10% protein dari tepung tempe PRG menyebabkan kadar hematokrit yang rendah. Konsumsi protein yang rendah dapat menyebabkan terganggunya sintesis hormon eritropoietin. Hormon tersebut membantu mengatur kecepatan pembentukan sel darah merah di dalam sumsum tulang, serta dapat merangsang proses pembelahan sel menjadi lebih cepat²⁸. Kelima kelompok jenis ransum memiliki nilai hematokrit yang berada pada kisaran normal, yaitu 33-50%^{22, 29}.

KESIMPULAN

Hasil pemeriksaan MDA, SOD, dan hematologi menunjukkan bahwa mengonsumsi tepung tempe PRG dan *non-PRG* dalam jangka waktu yang lama tidak menyebabkan kelainan atau menimbulkan stress oksidatif (radikal bebas). Hal tersebut didukung dengan tidak adanya berbagai kelainan pada tikus selama masa perlakuan. Dengan demikian tepung tempe PRG dan *non-PRG* aman untuk dikonsumsi.

SARAN

Perlu dilakukan upaya untuk menyebarluaskan informasi berdasarkan fakta ilmiah yang dapat dipertanggungjawabkan untuk mengedukasi masyarakat bahwa tempe dari kedelai PRG aman untuk dikonsumsi, sama amannya dengan tempe dari kedelai *non-PRG*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada pemberi dana penelitian, yaitu Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kantor Pusat Jakarta melalui Kerjasama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional (KKP3N) dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Kegiatan No:64/PL. 220/I.1/3/2014 tanggal 10 Maret 2014 atas nama Made Astawan

RUJUKAN

1. Indonesia, Kementerian Pertanian. *Pendoman teknis pengelolaan produksi kedelai tahun 2013*. Jakarta: Direktorat Jendral Tanaman Pangan, Kementerian Pertanian RI, 2013.
2. World Health Organization. Food derived from modern technology: 20 question on genetically modified foods. 2002. [cited 2015 January 31]. Available from: <http://www.who.int/fsf/GMfood/>.

3. United States Department of Agriculture (USDA). Adoption of genetically engineered crops in the U.S. [cited 2015 Mei 15]. Available from: <http://www.ers.usda.gov/data-products/adoption-of-genetically-engineered-crops-in-the-us/recent-trends-in-ge-adoption.aspx>.
4. Hemre GI, Sanden M, Bakke-McKleop AM, Sagstad A, and Kroghdal A. Growth, feed utilization and health of Atlantic salmon *Salmo salar* L. Fed genetically modified compared to non-modified commercial hybrid soybeans. *Aquaculture Nutrition*. 2005;11:157-167
5. Tudisco R, Lombardi P, Bovera F, d'Angelo D, Cutrignelli MI, Mastellone V, *et al*. Genetically modified soybean in rabbit feeding: detection of DNA fragments and evaluation of metabolic effect by enzymatic analysis. *Journal of Animal Science*. 2006; 82:193-199
6. Appenzeller LM, Munley SM, Hoban D, Skyes GP, Malley LA, and Delaney B. Subchronic feeding study of herbicide-tolerant soybean DP-356O43-5 in *Sprague-Dawley* rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2008;46: 2201-2213
7. Daleprane JB, Feijo TS, and Boaventure GT. Organic and generically soybean diets: consequences in growth and in hematological indicators of aged rats. *Plant Foods Human Nutrition*. 2009;64:1-5
8. Qi X, He X, Luo Y, Li S, Zou S, Cao S, *et al*. Subchronic feeding study of stacked trait genetically-modified soybean (3 O5423 x 40-3-2) in *Sprague-Dawley* rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2012;50:3256-3263
9. Kuncahyo I. Uji Aktivitas antioksidan ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (Dpph). *Seminar Nasional Teknologi*; 24 November 2007; Yogyakarta.p.1-9.
10. Association of Official Analytical Chemistry. *Official Method of Analysis*. Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemistry (AOAC), 2005.
11. Wood LG, Fitzgerald DA, Lee AK, and GargManohar L. Improved antioxidant and fatty acid status of patients with cystic fibrosis after antioxidant supplementation is linked to improved lung function. *Am J Clin Nutr*. 2003; 77:150-9.
12. Suwarno M, Astawan M, Wresdiyati T, Widowati S, Bintari S H, dan Mursyid. Evaluasi keamanan tempe dari kedelai transgenik melalui uji subkronis pada tikus. *Jurnal Veteriner*. 2013.15: 353-362.
13. Astuti S, Muchtadi D, Astawan M, Purwantara B, dan Wresdiyati T. Pengaruh pemberian tepung kedelai kaya isoflavon terhadap kadar malonaldehid (MDA), aktivitas superdioksida dismutase (SOD) testis dan profil Cu,Zn-SOD tubuli seminiferi testis tikus jantan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 2009. 20:130-131.
14. Lu FC. *Toksikologi ginjal*. Jakarta: Universitas Indonesia Press, 2006.
15. Odden MC, Amadu AR, Ellen S, Lowell LO, and Carmen A. Uric acid levels, kidney finction, and cardiovascular mortality in US adults: national health and nutrition examination survey (NHANES) 1988-1994 and 1999-2002. *American Journal of Kidney Diseases*. 2014;64:550-557.
16. Astawan M. *Sehat dengan tempe*. Jakarta: PT.Dian Rakyat, 2008.
17. Mursyid. Kandungan zat gizi dan nilai gizi proteintepung tempe kedelai lokal dan impor serta aktivitas antioksidannya. *Tesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2014..
18. Astuti M, Meliala A, Dalais F S, and Wahlqvist M. Tempe, a nutritious and healthy food from Indonesia. *Asia Pacific Journal of Clinic and Nutrition*. 2000;9:322-325.
19. Zhu Y, Li D, Wang F, Yin J, and Jin H. Nutritional assessment and fate of DNA of soybean meal from round up ready or conventional soybeans using rats. *Archives of Animal Nutrition*. 2004;58: 295-310.
20. Handayani W dan Andi S H. *Buku ajar asuhan keperawatan pada klien dengan gangguan sistem hematologi*. Jakarta: Salemba Medika, 2008.
21. Susianto. Peran formula tempe sebagai sumber vitamin B12 dan implementasinya untuk diet vegetarian. *Disertasi*. Depok: Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Indonesia, 2011.
22. Arrington LR. *Animal laboratory: in introduction laboratory animal science- the breeding, care and management of experimental animals*. Michigan: Interstate Printers & Publishers, 1972.
23. Scott AS and Fong E. *Body structure and function, eleventh edition*. New York: Delmar Cengage Learning, 2013.

24. Smith JB dan Mangkoewidjojo S. *Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis: tikus laboratorium (Rattus norvegicus)*. Depok: Universitas Indonesia, 1988.
25. Ganong WF. *Buku ajar fisiologi kedokteran. Edisi ke-22*. Penerjemah Widjajakusumah MD. Jakarta: EGC, 2008.
26. Schermer S. *The blood morphology of laboratory animals. 3rd ed.* Philadelphia: Davis, 1967.
27. Estridge BH, Reynolds AP, and Walters NJ. *Basic medical laboratory techniques, 4th ed.* New York: Thomson Learning, 2000.
28. Guyton AC. *Sel darah, imunitas dan pembekuan darah*. Penerjemah Tengadi KA, dkk. Jakarta: EGC, 1993.
29. Schaafsma G. The protein digestibility-corrected amino acid score. *Journal of Nutrition*.2000;130:1865-1867.