

PAIR/P.267/1988

HUBUNGAN ANTARA AKTIVITAS GLUTATION  
PEROKSIDASE (GSH-Px) DAN PENYERAPAN  
<sup>75</sup>Se OLEH ERITROSIT UNTUK PENETAPAN  
STATUS SELENIUM PADA SAPI PERAH

John Danius



# HUBUNGAN ANTARA AKTIVITAS GLUTATION PEROKSIDASE (GSH-Px) DAN PENYERAPAN <sup>75</sup>Se OLEH ERITROSIT UNTUK PENETAPAN STATUS SELENIUM PADA SAPI PERAH

John Danius\*

## ABSTRAK

HUBUNGAN ANTARA AKTIVITAS GLUTATION PEROKSIDASE (GSH-Px) DAN PENYERAPAN <sup>75</sup>Se OLEH ERITROSIT UNTUK PENETAPAN STATUS SELENIUM PADA SAPI PERAH. Penelitian tentang hubungan antara aktivitas glutathion peroksidase (GSH-Px) dan penyerapan <sup>75</sup>Se oleh eritrosit telah dilakukan untuk penetapan selenium pada sapi perah Holstein-Friesian (HF). Darah yang digunakan telah disimpan selama 7 dan 10 hari dalam lemari es. Radioselenium yang digunakan ialah senyawa natrium selenit (Na<sub>2</sub><sup>75</sup>SeO<sub>3</sub>) dengan aktivitas jenis 0,84 mCi/ml. Ternyata ada suatu korelasi negatif yang erat ( $r = -0,86$  dan  $r = -0,98$ ) antara aktivitas GSH-Px dan penyerapan <sup>75</sup>Se oleh sel darah merah. Hasil yang diperoleh memperlihatkan bahwa penyerapan <sup>75</sup>Se oleh sel darah merah dapat digunakan untuk mengevaluasi status Se pada sapi perah, walaupun beberapa faktor yang dapat mempengaruhi penyerapan <sup>75</sup>Se oleh sel darah merah harus diperhitungkan lebih dahulu.

## ABSTRACT

RELATIONSHIP BETWEEN GLUTATION PEROXIDASE (GSH-Px) ACTIVITY AND THE UPTAKE OF <sup>75</sup>Se BY ERYTHROCYTES FOR PRACTICAL ASSESMENT OF SELENIUM STATUS IN DAIRY COWS. An experiment to study the relationship between glutathion peroxidase (GSH-Px) activity and the uptake of <sup>75</sup>Se by erythrocytes was conducted for practical assesment of selenium status in Holstein-Friesian (HF) dairy cows. The blood used in the experiment was stored in refrigerator for 7 and 10 days. Radioselenium with a specific activity at about 0.84 mCi/ml was used. A high negative correlation ( $r = -0.86$  and  $r = -0.98$ ) was found between red blood cell GSH-Px activity and red blood cell uptake of <sup>75</sup>Se. Results indicated that red blood cell uptake of <sup>75</sup>Se can be used for determination of Se status in dairy cattle, although some factors which might affect red blood cell uptake of <sup>75</sup>Se should be calculated first.

## PENDAHULUAN

Dalam usaha meningkatkan produksi ternak, mineral merupakan salah satu faktor penentu bagi produksi ruminansia dan unggas sebagai sumber bahan pangan berprotein tinggi.

Pada tahun 1957. SCHWARZ dan FOLTZ (1) menentukan bahwa unsur Se di dalam nutrisi dianggap penting karena dapat mencegah terjadinya nekrosis hati pada tikus yang kekurangan vitamin E. Unsur ini merupakan micronutrient yang penting dan dibutuhkan supaya sistem bi-

ologis dapat berjalan normal (1,2). Kemudian, secara klinis diketahui bahwa kekurangan selenium ada hubungannya dengan beberapa macam penyakit, misalnya muscular dystrophy pada kuda (3), white muscle disease (WMD) pada anak sapi dan domba (4), dan kematian yang mendadak pada anak sapi (5).

Menurut ALLAWAY dan HOGSON (1964) yang dikutip oleh BACKALL dan SCHOLTZ (6), meningkatnya ketidaksuburan (infertility) dan nutritional muscular dystrophy (NMD) berhubungan dengan rendahnya kandungan selenium dalam pakan ternak yang berasal dari tumbuh-tumbuhan pada tanah kahat unsur tersebut.

\* Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN



dan ditambahkan 20 m  $\mu\text{Ci}$   $^{75}\text{Se}$  lalu diinkubasi seperti terdahulu. Perbedaan terletak pada pencacahan yang dilakukan, yaitu 0,5 ml darah pada 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 jam setelah inkubasi. Proses tersebut dilakukan pula pada darah tabung kedua, setelah disimpan selama 7 hari dalam lemari es.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hubungan antara aktivitas GSH-Px dan penyerapan  $^{75}\text{Se}$  oleh eritrosit menunjukkan korelasi negatif yang sangat nyata (Gambar 1) pada darah yang disimpan 7 hari (A;  $r = -0,86$ ) dan 10 hari (B;  $r = -0,98$ ). Jadi, persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$  oleh eritrosit erat hubungannya dengan aktivitas enzim GSH-Px dalam darah. Sedangkan menurut beberapa peneliti aktivitas GSH-Px dalam darah erat hubungannya dengan konsentrasi Se (13, 14, 15, 18, 20). Oleh karena itu, aktivitas enzim GSH-Px dapat dipakai untuk penentu kadar Se. Gejala klinis kekurangan Se tidak tampak pada ternak yang mempunyai aktivitas GSH-Px di atas 30 U/g Hb yang diperkirakan mempunyai kandungan Se darah di atas 8 - 10  $\mu\text{g}/\text{dl}$ . Gejala klinis pada ternak akan tampak jika aktivitas GSH-Px di bawah 20 U/g Hb dengan perkiraan kandungan Se darah kurang dari 5  $\mu\text{g}/\text{dl}$ . Bila uji aktivitas GSH-Px sama dengan 20 U/g Hb penambahan Se dianggap sudah diperlukan (18). Dengan demikian, ada kemungkinan peng-

gunaan persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$  oleh eritrosit untuk menentukan kadar Se dalam ternak, sekalipun masih harus dipertimbangkan akan adanya kemungkinan-kemungkinan lain. Misalnya, umur (lamanya) penyimpanan darah dapat mempengaruhi penyerapan  $^{75}\text{Se}$ . Makin lama darah itu disimpan maka penyerapan  $^{75}\text{Se}$  akan makin tinggi (Gambar 2). Hal yang serupa tampak juga pada Gambar 1, darah dengan aktivitas GSH-Px yang sama jika disimpan dalam lemari es selama 10 hari (B) persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$  oleh eritrositnya akan lebih tinggi dibandingkan dengan darah yang telah disimpan selama 7 hari (A). Hal ini didukung oleh KALLFELZ dkk. (20) yang menyatakan bahwa umur penyimpanan darah dapat menyebabkan meningkatnya penyerapan  $^{75}\text{Se}$ .

Gambar 2 memperlihatkan hubungan antara persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$  oleh eritrosit dengan waktu inkubasi (1 - 6 jam) dan lamanya penyimpanan; darah segar  $C_1$  dan  $C_2$  serta darah yang telah disimpan dalam lemari es selama 7 hari, yaitu  $D_1$  dan  $D_2$ . Umumnya terlihat bahwa darah yang memiliki aktivitas GSH-Px rendah (32 U/g Hb) lebih banyak menyerap  $^{75}\text{Se}$  dibandingkan dengan darah yang beraktivitas GSH-Px tinggi (50 U/g Hb). Keadaan ini disebabkan darah dengan aktivitas GSH-Px rendah (32 U/g Hb) kandungan Se-nya juga rendah sehingga darah tersebut akan menyerap  $^{75}\text{Se}$  lebih banyak dibandingkan dengan darah yang



ngetahui persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$  pada waktu yang tertentu, aktivitas GSH-Px dapat ditentukan dengan mudah.

Dengan cara teknik radiosotop, prosedurnya lebih mudah, cepat, dan murah dibandingkan dengan cara pengujian aktivitas GSH-Px. Pada pengujian aktivitas GSH-Px diperlukan reagensia yang cukup mahal, selain itu, metode ini kurang praktis digunakan di daerah tropis termasuk Indonesia (18, 20).

#### KESIMPULAN

Antara aktivitas GSH-Px dan persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$  terdapat korelasi linier negatif untuk darah yang disimpan dalam lemari es selama 7 hari ( $r = -0,86$ ) dan 10 hari ( $r = -0,98$ ).

Dengan menggunakan persamaan garis linier yang diperoleh, aktivitas GSH-Px dapat diketahui dengan mudah bila persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$  diketahui.

Persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$  oleh eritrosit meningkat bila darah disimpan dalam batas waktu tertentu dalam lemari es.

Dengan menggunakan teknik radiosotop, persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$  oleh eritrosit dapat ditentukan dengan mudah dan cepat.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada BATAN atas kesempatan studi ini di Amerika; kepada IAEA

dan NRC atas bantuan keuangan serta kepada Universitas Cornell atas penyediaan fasilitas.

Rasa terima kasih disampaikan pula kepada Prof. Dr. F.A. Kallfelz dan Sdr. R.J. Wallace atas segala bantuan dan saran yang diberikan.

Akhirnya, ucapan terima kasih yang sama ditujukan pula kepada peternak yang telah memperkenankan pengambilan sampel darah dari ternaknya.

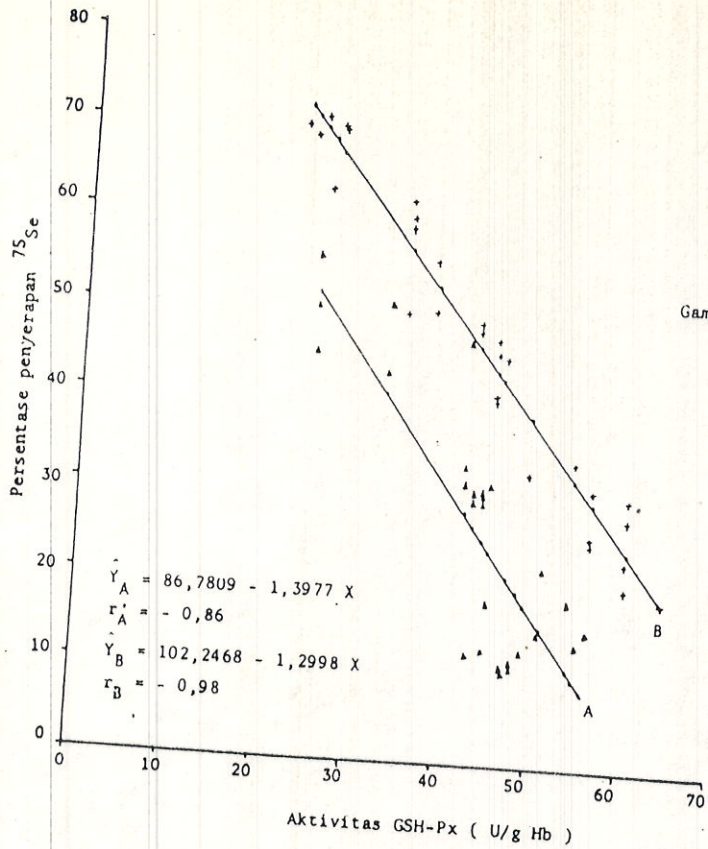
#### DAFTAR PUSTAKA

1. SCHWARZ, K., and FOLTZ, C.M., Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrosis liver generation, *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 3292.
2. SCOTT, M.L., BIERI, J.C., BRIGGS, G.N., and SCHWARZ, K., Prevention of exudative diathesis by factor 3 in chicks on vitamin E deficient torulla yeast diets, *Poultry Sci.* 36 (1957) 1155.
3. CAPLE, I.W., EDWARDS, S.J.A., FORSYTH, W.M., et.al., Blood glutathione peroxidase activity in horses in relation to muscular dystrophy and selenium nutrition, *Aust. Vet. J.* 54 (1978) 57.
4. NORMAN, B.E., and JOHNSON, W., Selenium responsive disease, *Anim. Nutr. Health* 31 (1976) 6.
5. COWLEY, G.D., and BRADLEY, R., Sudden death in calves associated with acute myocardial degeneration and selenium deficiency, *Vet. Res.* 103 (1978) 239.
6. BACKALL, K.A., and SCHOLZ, R.W., Reference values for field test to estimate inadequate glutathione peroxidase activity and se-



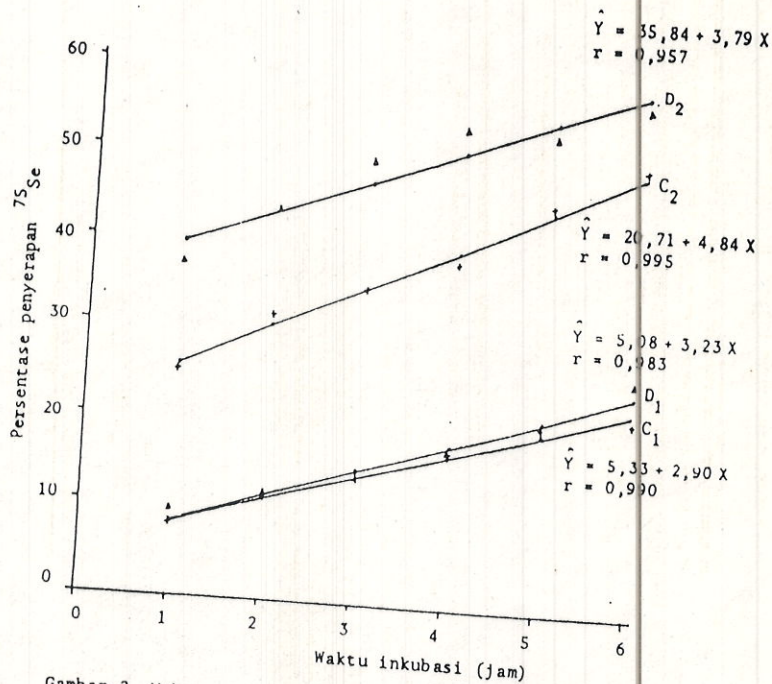
- lenium status in the blood of cattle, Am. J. Vet. Res. 40 (1979) 733.
7. TYLER, D.D., "Metabolisme air dan mineral", Biokimia (Review of Physiological Chemistry), 17th. ed. (HARPER, H.A. RODWELL, V.W., and MAYES, P.A., eds.), diterjemahkan oleh dr. MARTIN MULI-AWAN, Fak. Kedokteran UI, Jakarta (1979).
  8. UNDERWOOD, E.J., "Selenium", Trace Elements in Human and Animal Nutrition, 4th. ed. (underwood, e.j., ed.), Academic Press New York, San Fransisco, London (1977).
  9. MASON, T.R., Selenium (No. 2), Veterinary Nutrition Newsletter 9 (1983) 389.
  10. CAPPON, C.J., and SMITH, J.C., Determination of selenium in biological materials by chromatography, J. of Anal. Toxic 2 (1978).
  11. BOARD, P.G. and PETER, D.W., A simple test for glutathione peroxidase and selenium deficiency, Vet. Res. 99 (1976) 144.
  12. SEGAL, H.J., SIEGEL, D.M., NORMAN, B.B., and OLIVER, M.N., A rapid screening blood spot test for selenium-responsive disease in cattle, Schalm's Lab. Notes, Californian Veterinarian, December (1977) 10.
  13. ROTRUCK, J.T., POPE, J.L., GANTHER, H.E., SWANSON, A.B., HAFEMAN, D.G., and HOEKSTRA, W.G., Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase, Science 179 (1973) 588.
  14. WILSON, P.S., and JUDSON, G.J., Glutathione peroxidase activity in bovine and ovine erythrocytes in relation to blood selenium concentration, Br. Vet. J. 132 (1976) 428.
  15. SCHOLZ, R.W., and HUTCHINSON, L.J., Distribution of glutathione peroxidase activity and selenium in the blood of dairy cows, Am. J. Vet. Res. 40 2 (1979) 245.
  16. LEIN, D.H., MAYLIN, G.A., BRAUND, D.G., GUTENMANN, W.H., CHASE, L.E., and LISK, D.J., Increasing selenium in bovine blood by feed supplements or selenium injection, Cornell Vet. 70 (1980) 113.
  17. PAGLIA, D.E., and VALENTINE, W.N., Studies on the quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase, J. Lab. Clin. Medicine 70 (1967) 158.
  18. KALLFELZ, F.A. (1982), Komunikasi pribadi.
  19. WRIGHT, P.L., and BELL, M.C., Selenium and vitamin E influence upon the in vitro uptake of <sup>75</sup>Se by ovine blood cells, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 114 (1963) 379.
  20. KALFELZ, F.A., WALLACE, R.J., and SASANGKA, B.H., "Glutathione peroxidase assay and re cell uptake of <sup>75</sup>Se for practical assessment of selenium status in cattle", Proc. Fifth International Conf: on Production Disease in Farm Animals, Uppsala, Sweden, (1983) 330.
  21. MILLS, G.G., Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzym which protects hemoglobin from oxidative breakdown, J. Biol. Chem. 229 (1957) 189.





Gambar 1. Hubungan antara aktivitas GSH-Px dengan persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$  oleh sel darah merah sapi perah yang dicacah setelah tiga jam inkubasi.

A = darah yang telah disimpan 7 hari dalam lemari es  
 B = darah yang telah disimpan 10 hari dalam lemari es



Gambar 2. Hubungan antara persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$  dengan waktu inkubasi 1-6 jam.

C<sub>1</sub> = darah segar dengan aktivitas GSH-Px 50 U/g Hb  
 D<sub>1</sub> = darah jenis C<sub>1</sub> yang telah disimpan 7 hari dalam lemari es  
 C<sub>2</sub> = darah segar dengan aktivitas GSH-Px 32 U/g Hb  
 D<sub>2</sub> = darah jenis C<sub>2</sub> yang telah disimpan 7 hari dalam lemari es



## DISKUSI

E.G. SIAGIAN :

Bagaimana status terdapatnya kelebihan selenium pada sapi perah dan apa segi negatifnya pada ternak, serta bagaimana jika terjadi deficiency selenium ?

JOHN DANIUS :

Kelebihan Se pada sapi perah jarang terjadi. Kalau terjadi dapat disebabkan sapi memakan hijauan yang berasal atau tumbuh pada tanah yang kaya Se. Kelebihan Se pada ternak dapat menyebabkan keracunan serta kematian. Kekurangan Se antara lain dapat menyebabkan penyakit otot putih (white muscle disease), retained placenta, anak sapi mati muda, dan infertility.

DARUSSALAM :

Lama penyimpanan eritrosit dapat mempengaruhi penyerapan  $^{75}\text{Se}$ . Mengapa terdapat afinitas antara  $^{75}\text{Se}$  dan eritrosit, dan apa yang melandasi perilaku biologi  $^{75}\text{Se}$  ini sehingga di-uptake oleh eritrosit ?

JOHN DANIUS :

Enzim GSH-Px banyak terdapat pada eritrosit, sedang Se merupakan bagian penting pada enzim GSH-Px. Jadi Se dibutuhkan oleh eritrosit.

BINTARA H.S. :

Apakah ada pengaruhnya penggunaan anti-

koagulan lain seperti heparin, terhadap daya serap  $^{75}\text{Se}$  di dalam darah, begitu juga GSH-Px-nya ?

Dari sekian macam antikoagulan, mana yang paling baik untuk dipakai ?

JOHN DANIUS :

Macam antikoagulan memang dapat mempengaruhi daya serap  $^{75}\text{Se}$  dan mungkin juga aktivitas GSH-Px. Antikoagulan yang sudah dapat dipakai untuk uji aktivitas GSH-Px ialah EDTA. Dalam percobaan ini juga dipakai EDTA dan mengenai antikoagulan mana yang terbaik perlu diadakan penelitian lebih lanjut.

ZAINAL ABIDIN :

Apakah metode penentuan Se dengan serapan atom (atomic absorption) dengan alat AAS tidak dapat digunakan untuk mengukur status Se ?

JOHN DANIUS :

Dapat, selama perlengkapan alat pada AAS lengkap, tetapi masih memerlukan waktu yang cukup lama dan biayanya mahal.

SUHARYONO :

Apakah yang dimaksud dengan hubungan antara GSH-Px dengan  $^{75}\text{Se}$  terhadap kebutuhan Se oleh sapi perah ? Mohon penjelasan.

JOHN DANIUS :

Dengan menggunakan grafik hubungan



antara aktivitas GSH-Px dan persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$ , maka bila persentase penyerapan  $^{75}\text{Se}$  oleh sampel darah diketahui, aktivitas GSH-Px diketahui pula dengan mudah. Jika  $\text{GSH-Px} < 20 \text{ U/g Hb}$ , berarti sapi itu kekurangan Se sehingga perlu penambahan.

M. ARIFIN :

1. Sapi yang digunakan umur berapa, dan dalam keadaan bagaimana, misalnya dalam perlaktasi ?
2. Selain darah apa dapat diperiksa melalui air susu ?
3. Batas waktu penyimpanan darah kalau ada.

JOHN DANIELS :

1. Mengenai umur sapi saya tidak tahu, karena darah dikirim ke laboratorium tanpa dicantumkan umurnya. Yang jelas, sapi itu masih menghasilkan air susu.
2. Dapat, tetapi memerlukan waktu yang cukup lama.
3. Di Amerika, menurut KALLFELZ, untuk pemeriksaan aktivitas GSH-Px, darah dapat disimpan paling lama 1 minggu dalam lemari es ( $2-4^{\circ}\text{C}$ ). Untuk penyerapan  $^{75}\text{Se}$ , umur penyimpanan darah masih harus diteliti. Dalam waktu 7 hari darah masih dapat dipakai, tetapi harus diingat bahwa makin lama penyimpanan persentase penyerapan semakin tinggi (dalam batas-batas tertentu).

GUNAWAN :

1. Apakah penentuan kadar Se dalam sapi yang diabsorpsi melalui pakan dapat diukur dengan penyerapan  $^{75}\text{Se}$  melalui darah secara lapangan ?
2. Bila diperlukan di lapangan, maka :
  - a. berapa lama pengukuran yang diperlukan per 1 ekor sapi ?
  - b. Berapa kira-kira biaya yang dibutuhkan untuk tiap ekor sapi ?

JOHN DANIELS :

1. Dapat, asal sudah diketahui terlebih dahulu kadar Se pada sapi sebelum makan dan kemudian diukur sesudah makan. Selisih kadar Se merupakan banyaknya Se yang diserap dari pakan. Pemeriksaan penyerapan Se lebih baik dilakukan di laboratorium, untuk menghindari adanya kontaminasi zat radioaktif di lapangan. Sampel darah sebaiknya dibawa dan diperiksa di laboratorium.
2. a. Bergantung pada waktu inkubasi yang akan kita pakai, yaitu 1, 2, atau 3 jam.
  - b. Belum diadakan perhitungan biaya. Biaya termahal terletak pada alat pencacah dan alat ukur pemusing (centrifuge). Bahan kimia yang mahal ialah  $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$  yang masih diimpor (5 mCi kira-kira US\$ 400,-) bahan kimia



lain hanya NaCl p.a (murah).

C. HENDRATNO :

Sampai berapa jauh pengaruh waktu penyimpanan atau suhu dapat mempengaruhi hubungan antara GSH-Px dan penyerapan <sup>75</sup>Se ?

JOHN DANIUS :

Penyimpanan terlalu lama dan suhu tinggi (>37°C) dapat merusak aktivitas GSH-Px dan fungsi faal sel darah merah. Aktivitas GSH-Px menurun dan persentase penyerapan <sup>75</sup>Se bertambah tinggi (difusi).