



# Aktivitas Enzim Peroksidase dan Katalase Darah Penderita Sindrom Down di SLB C Banjarmasin, Banjarbaru dan Martapura, Kalimantan Selatan

Roselina Panghiyangani<sup>1</sup>, Fujiati<sup>2</sup>, Eko Suhartono<sup>2</sup>, Marisa Vasa<sup>3</sup>, Najwa Wulandari<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bagian Biologi, <sup>2</sup>Bagian Biokimia <sup>3</sup>Program Pendidikan Kedokteran Dasar  
Fakultas Kedokteran Lambung Mangkurat, Kalimantan Selatan

## ABSTRAK

Sindrom Down adalah kelainan genetik karena kromosom autosomal nomor 21 abnormal. Terdapat peningkatan stres oksidatif pada penderita sindrom Down. Salah satu cara menilai peningkatan stres oksidatif adalah melalui pengukuran aktivitas peroksidase dan katalase. Tujuan penelitian ini untuk mengukur aktivitas enzim peroksidase dan katalase dalam darah penderita sindrom Down dan bukan penderita sindrom Down. Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional* atas 30 orang penderita sindrom Down dan 30 orang bukan penderita sindrom Down. Pengambilan sampel dengan teknik *purposive sampling*. Aktivitas GPx diukur dengan menggunakan metode Kanehira dan Shibata. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata aktivitas peroksidase pada penderita sindrom Down sebesar 0,335/menit, sedangkan rata-rata aktivitas peroksidase pada bukan penderita sindrom Down sebesar 0,162/menit. Rata-rata aktivitas katalase pada penderita sindrom Down sebesar 47,478/menit, sedangkan rata-rata aktivitas katalase pada bukan penderita sindrom Down sebesar 29,480/menit. Aktivitas peroksidase dan katalase pada penderita sindrom Down lebih tinggi dibandingkan dengan bukan penderita sindrom Down.

**Kata-kata kunci:** sindrom Down, peroksidase, katalase, stres oksidatif

## PENDAHULUAN

Sindrom Down merupakan kelainan genetik yang paling sering dengan penampilan malformasi kongenital yang khas.<sup>1</sup> Sindrom Down terjadi pada satu dalam 700-1000 kelahiran hidup.<sup>2</sup> Insidensi sindrom Down meningkat seiring dengan bertambahnya umur ibu hamil.<sup>3</sup>

Sindrom Down disebabkan oleh adanya kromosom autosomal abnormal. Berdasarkan penyebabnya, sindrom Down dibagi menjadi tiga tipe, yaitu translokasi Robertsonian (3-4%), mosaik (1-3%), dan trisomi 21 (93-95%).<sup>2</sup> Adanya penambahan sebuah kromosom pada pasangan kromosom nomor 21 menyebabkan peningkatan produksi superoksida dismutase (SOD) karena kromosom nomor 21 merupakan kromosom yang meng-

kode SOD.<sup>4,5</sup> Hal-hal tersebut memicu terbentuknya radikal bebas yang lebih tinggi daripada orang normal.<sup>7,8</sup> Selain itu, perubahan jumlah kromosom tersebut akan menyebabkan kelainan fungsional sel-sel tubuh.<sup>4,6,7</sup>

Peningkatan radikal bebas yang tidak disertai peningkatan aktivitas antioksidan akan memicu stres oksidatif.<sup>9</sup> Stres oksidatif merupakan suatu kondisi ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan aktivitas antioksidan sebagai sistem pertahanan terhadap radikal bebas.<sup>10</sup> Sistem pertahanan tersebut salah satunya adalah antioksidan enzimatis, yaitu peroksidase, katalase, dan SOD.<sup>11</sup>

Peningkatan aktivitas SOD disertai peningkatan radikal bebas pada penderita sindrom Down menyebabkan

peningkatan kadar hidrogen peroksida.<sup>4,12</sup> Hidrogen peroksida yang terbentuk kemudian akan diinaktivasi oleh glutathion peroksidase (GPx) dan katalase.<sup>13</sup>

Penelitian aktivitas antioksidan enzimatis dan asam lemak dalam eritrosit penderita sindrom Down di Spanyol menunjukkan bahwa pada penderita sindrom Down terjadi peningkatan aktivitas katalisis SOD1, GPx, katalase dan glutathion reduktase<sup>15</sup>. Garcez, et al melaporkan bahwa pada penderita sindrom Down terjadi peningkatan aktivitas superoksida dismutase dan katalase.<sup>4</sup>

Salah satu cara menilai peningkatan stres oksidatif adalah melalui pengukuran aktivitas glutathion peroksidase dan katalase. Penelitian ini bertujuan untuk



membandingkan dan menganalisis aktivitas enzim glutation peroksidase dan katalase dalam darah penderita sindrom Down di SLB C Banjarmasin, Banjarbaru dan Martapura dengan bukan penderita sindrom Down.

METODE PENELITIAN

- 1. Pemeriksaan peroksidase
Bahan-bahan yang digunakan yaitu 1 ml plasma darah; EDTA 10%; aquadest; 45 µL FeCl3; 45 µL buffer fosfat (pH 7,4) dan 45 µL otrofenantrolin.
2. Pemeriksaan katalase
Bahan-bahan yang digunakan yaitu 3 ml darah, EDTA, aquadest, dapar fosfat pH 7, H2O2, larutan NaCl 0,9%, dan alkohol 75%.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu spuit injeksi (Terumo®) 3 ml, tourniquet, termos es, kapas alkohol 70%, alat gelas dan tabung reaksi kecil (Pyrex®), rak tabung reaksi, aluminium foil, sentrifuge (GP®), stopwatch (Hanhart®), spektrofotometer (Genesys 20), termometer, mikropipet dan tip mikropipet (Brand®).

Penelitian ini menggunakan metode observasional analitik dengan pendekatan cross sectional. Populasi penderita sindrom Down pada penelitian ini adalah semua penderita sindrom Down yang tampak secara klinis di SLB C yang telah terdaftar pada Dinas Pendidikan Provinsi Kalimantan Selatan di Banjarmasin, Banjarbaru dan Martapura. Sedangkan populasi bukan penderita sindrom Down adalah semua siswa SD dan SMP sederajat bukan penderita sindrom Down yang terdaftar pada Dinas Pendidikan Provinsi Kalimantan Selatan di Banjarmasin, Banjarbaru dan Martapura. Kedua kelompok populasi berusia 6-18 tahun.

Teknik pengambilan sampel adalah purposive sampling dengan jumlah sampel 60 orang, terdiri dari 30 orang penderita sindrom Down dan 30 orang bukan penderita sindrom Down. Teknik ini berdasarkan pada

hasil survei pendahuluan mengenai tanda klinis khas yang harus ada pada penderita sindrom Down yaitu garis simian, lipatan epikantus, retardasi mental, dan raut muka mirip ras Mongoloid.

Seluruh SLB C yang terdaftar di Dinas Pendidikan Provinsi Kalimantan Selatan didata sehingga didapatkan nama-nama SLB C beserta alamatnya. Kemudian informed consent dibuat sebagai pernyataan persetujuan mengikuti penelitian ini. Survei pendahuluan dilakukan ke SLB C bersangkutan (di Banjarmasin, Banjarbaru dan Martapura) guna mencari anak-anak yang secara klinis menderita sindrom Down dan meminta kesediaan sekolah dan orang tua untuk mengikuti penelitian. Pada saat penelitian, informed consent diisi oleh orang tua atau wali subjek penelitian. Setelah mendapat persetujuan, subjek penelitian diambil darah venanya di vena mediana cubiti sebanyak 5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung EDTA. Tabung dimasukkan ke dalam termos es dan dibawa ke laboratorium Kimia/Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat.

1. Pemeriksaan peroksidase

Darah sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung berisi EDTA kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 1500 rpm. Plasma darah sebanyak 1 mL dicampurkan dengan 45 µL FeCl3 ditambah 45 µL buffer fosfat (pH 7,4) dan 45 µL ortofenantrolin. Selanjutnya, diukur absorbansinya pada panjang gelombang (λ) 505 nm (A0). Setelah diukur absorbansinya, campuran diinkubasi selama satu menit pada suhu ruang lalu diukur kembali absorbansinya dengan λ yang sama (A1). Aktivitas peroksidase dihitung dengan metode Kanehira dan Shibata :

Aktivitas POx = Δ A/Δt (menit -1)

Keterangan : POx= Peroksidase

2. Pemeriksaan katalase

Sebanyak 3 ml darah EDTA disentrifu-

gasi selama 10 menit pada 1400 rpm. Kemudian sel darah dicuci dengan garam isotonik (NaCl 0,9%) sebanyak 3 kali. Sel darah dipecah dengan menambah aquadest dingin dengan perbandingan 1 : 1. Hemolisat yang dihasilkan digunakan untuk mengukur aktivitas katalase.

Table with 3 columns: Kuvet, Blanko, Uji. Rows include Hemolisat, Dapar fosfat, H2O2, and reaction details.

Aktivitas enzim katalase diukur menggunakan parameter konstanta kecepatan reaksi orde 1 :

K = ln [H2O2]t2 / [H2O2]t x 1 / t - t0

Selanjutnya dilakukan hal yang sama pada pembanding yang sesuai dengan penderita sindrom Down (sampel), terutama usia dan keadaan sosial ekonomi, proporsi jenis kelamin sama dengan sampel, bersekolah di sekolah negeri biasa di daerah yang sama, serta bersedia mengikuti penelitian.

Langkah terakhir, dilakukan tabulasi data dan perhitungan menggunakan uji t tidak berpasangan dengan α = 0,05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas enzim glutation peroksidase dan katalase pada penderita sindrom Down lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas enzim glutation peroksidase dan katalase pada bukan penderita sindrom Down (tabel 1).

Rata-rata aktivitas enzim peroksidase penderita sindrom Down lebih tinggi 51,76% dibandingkan dengan bukan penderita sindrom Down (perbedaan bermakna pada uji t tidak berpasangan dengan α=0,05).



**Tabel 1.** Rata-rata Aktivitas Enzim Peroksidase dan Katalase pada penderita sindrom Down dan bukan sindrom Down

Kelompok	Jumlah Sampel	Rata-rata Aktivitas Peroksidase (per menit)	Rata-rata Aktivitas Katalase (per menit)
Penderita Sindrom Down	30 orang	0,335±0,322	47,478±29,275
Bukan Penderita Sindrom Down	30 orang	0,162±0,12	29,480±28,32

Peningkatan aktivitas SOD disertai peningkatan radikal bebas (dalam hal ini radikal superoksida) pada penderita sindrom Down menyebabkan meningkatnya  $H_2O_2$  (produk akhir aktivitas SOD) sehingga aktivitas GPx juga meningkat. Peningkatan aktivitas GPx ini mungkin karena induksi enzimatis oleh adanya  $H_2O_2$  dan peroksida lipid sebagai respon adaptasi stres oksidatif.

Berbagai penelitian mengungkapkan bahwa aktivitas SOD pada sindrom Down meningkat 50% atau lebih.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa rata-rata aktivitas enzim katalase pada penderita sindrom Down lebih tinggi 37,91% dibandingkan dengan bukan penderita sindrom Down. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Pastor *et al* bahwa pada penderita sindrom Down terjadi peningkatan aktivitas katalisis SOD1, GPx, katalase dan glutathion reduktase.<sup>15</sup> Garcez *et al* mendapatkan bahwa pada penderita sindrom Down terjadi peningkatan aktivitas superoksida dismutase dan katalase.<sup>4</sup> Hal ini serupa dengan kesimpulan Casado bahwa peningkatan stres oksidatif pada penderita sindrom Down disebabkan oleh peningkatan Cu/Zn SOD yang kemudian dikompensasi dengan peningkatan aktivitas GPx dan katalase.<sup>16</sup>

GPx mempunyai aktivitas yang tinggi terhadap  $H_2O_2$  daripada katalase karena perbedaan kinetik kedua enzim tersebut. Katalase mempunyai Km (konstanta Michaelis-Menten) untuk  $H_2O_2$  lebih besar daripada GPx, sehingga katalase sangat berperan dalam mengkatalisis  $H_2O_2$  dengan konsentrasi tinggi.<sup>4</sup> Jika konsentrasi  $H_2O_2$  lebih dari  $10^{-5}$  mol/L, katalase

sangat berperan dalam degradasi  $H_2O_2$ . Ketika konsentrasi  $H_2O_2$  sangat rendah atau pada kondisi normal maka GPx mempunyai peran mengkatalisis  $H_2O_2$  yang lebih dominan.<sup>14</sup> GPx menjadi jenuh pada konsentrasi  $H_2O_2$  di bawah  $10^{-5}$  mol/L.

Sindrom Down disebabkan oleh adanya kromosom autosomal abnormal. Adanya penambahan sebuah kromosom pada pasangan kromosom 21 menyebabkan peningkatan produksi superoksida dismutase (SOD) karena kromosom 21 mengkode SOD.<sup>4,5</sup> Ekspresi SOD yang berlebihan ini akan menimbulkan *premature aging* dan inaktivasi selektif *glial glutamate transporter 1* (GLT 1). *Glial glutamate transporter 1* berperan dalam mekanisme membersihkan glutamat dari celah sinaps dan melindungi neuron dari toksisitas glutamat. Inaktivasi ini mengakibatkan degenerasi neuron melalui mekanisme eksitotoksik.<sup>17</sup> Sel saraf rusak karena aktivasi berlebihan reseptor glutamat sehingga banyak  $Ca^{2+}$  yang memasuki sel.

Selain itu, pada penderita sindrom Down terjadi kelainan fungsional sel-sel tubuh sehingga hasil metabolisme oksidatif sel pada mitokondria menjadi tidak sempurna. Hal ini yang akan memicu terbentuknya radikal bebas yang lebih banyak daripada orang normal.<sup>5</sup>

Patofisiologi pembentukan radikal bebas yang lebih tinggi pada penderita sindrom Down berhubungan dengan:

1. Retardasi mental.<sup>5</sup> Hasil kultur sel saraf korteks serebri dari fetus sindrom Down memperlihatkan peningkatan tiga sampai empat kali kadar senyawa oksigen reaktif

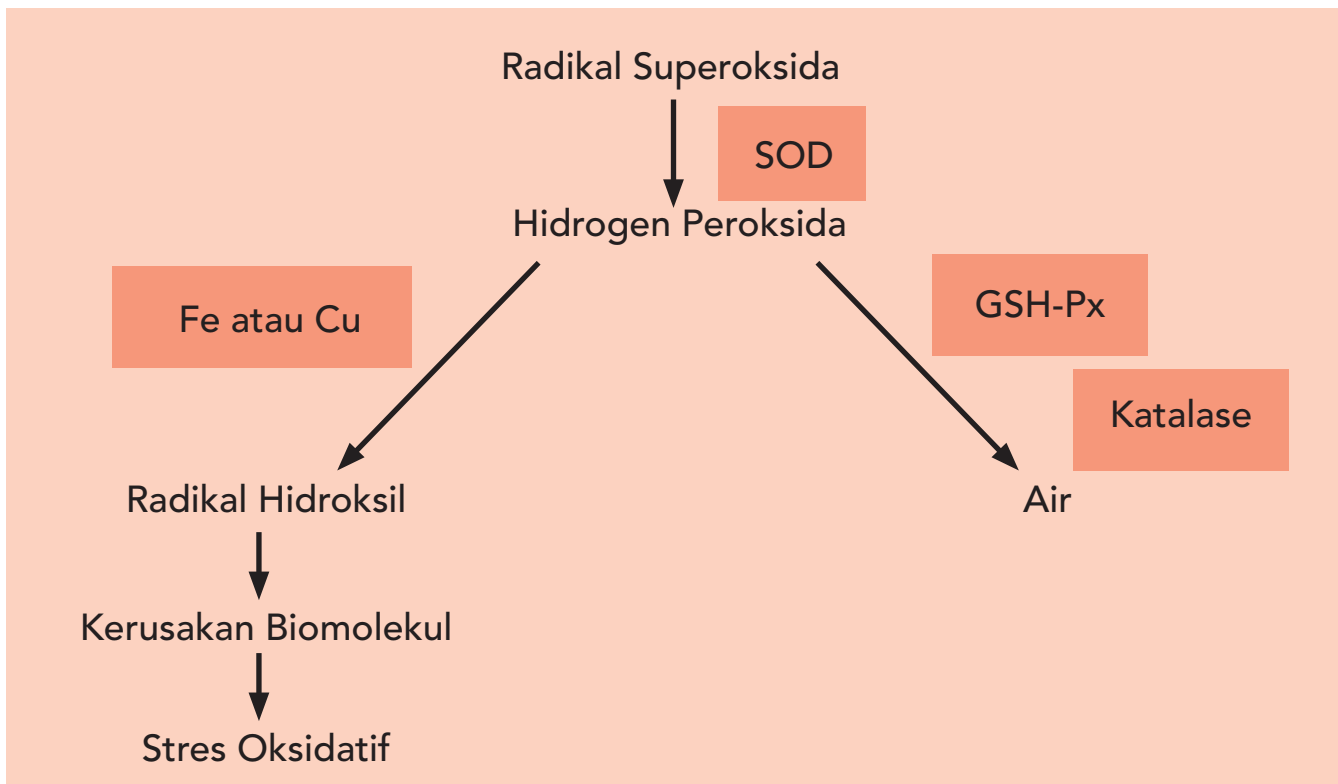
(SOR) intraseluler. Selain itu, juga ditemukan peningkatan aktivitas SOD yang mengakibatkan kerusakan oksidatif dengan meningkatnya konsentrasi hidrogen peroksida.<sup>18</sup> Pada otak penderita sindrom Down terjadi penurunan berat otak dan penurunan ukuran girus. Selain itu, juga terjadi penurunan jumlah dan densitas neuron, degenerasi trans-sinaps, dan perubahan struktur dendrit.<sup>17</sup> Reaktivitas antioksidan enzimatis turut mempengaruhi gambaran klinis retardasi mental pada penderita sindrom Down.<sup>9</sup>

2. Peningkatan fragilitas osmotik eritrosit.

Peran eritrosit dalam proses pengangkutan oksigen terganggu sehingga hasil metabolisme oksidatif sel menjadi tidak sempurna.<sup>4</sup>

3. Mutasi DNA mitokondria pada individu sindrom Down menyebabkan reduksi ekspresi genetik adenosin trifosfatase (ATPase), enzim yang bertanggung jawab untuk biosintesis adenosin trifosfat (ATP). Penurunan kadar ATP menyebabkan akumulasi adenosine monofosfat (AMP); AMP akan diubah menjadi inosine monofosfat oleh adenosine monofosfat deaminase, kemudian dikonversi oleh inosine 5'-monofosfat nukleotidase menjadi inosine. Inosine dapat masuk ke aliran darah dan memproduksi hypoxanthine. Xanthine oxidase mengubah hypoxanthine menjadi xanthine, yang menyebabkan pembentukan radikal superoksida. Xanthine kemudian diubah lagi menjadi asam urat dengan terus menghasilkan lebih banyak radikal superoksida.<sup>4</sup>

4. Pada kromosom 21 terdapat gen yang mengkode *amyloid precursor protein* (APP). Pada penderita sindrom Down terjadi peningkatan APP. *Amyloid precursor protein* ini akan meningkatkan deposit protein *amyloid*  $\beta$  dan membentuk agregasi fibrilar yang tidak larut sehingga mengakibatkan degenerasi neuron. Hal ini akan memperparah stres.<sup>17</sup>



Gambar 1. Peningkatan SOD yang memicu terjadinya stres oksidatif pada sindrom Down<sup>5</sup>

5. Di bagian distal kromosom 21 juga terdapat gen yang mengkode Ets-2 sehingga pada penderita sindrom Down akan terjadi peningkatan Ets-2. Adanya Ets-2 akan meningkatkan ekspresi gen p53 dan Bax serta menurunkan gen Bcl-2. Hal ini akan mengarah ke apoptosis.<sup>17</sup>

Peningkatan aktivitas SOD disertai peningkatan radikal bebas (dalam hal ini radikal superoksida) pada penderita sindrom Down menyebabkan peningkatan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida yang terbentuk kemudian akan diinaktivasi oleh GPx dan katalase.<sup>4,12</sup>

Pada **gb.2** terlihat aktivitas enzim peroksidase darah penderita sindrom Down berkisar antara 0-1,129/menit; sedangkan aktivitas enzim peroksidase darah bukan penderita sindrom Down berkisar antara 0-0,538/menit. Adanya nilai aktivitas enzim peroksidase = 0 karena GPx pada darah sampel inaktif.

Penyebab inaktivasi GPx adalah sebagai berikut:

1. Inaktivasi oleh radikal bebas. Jika dua radikal bebas bertemu, mereka akan menggabungkan elektronnya yang tidak berpasangan dan membentuk ikatan kovalen yang stabil. Radikal bebas akan bereaksi dengan non radikal melalui tiga cara: <sup>19</sup>

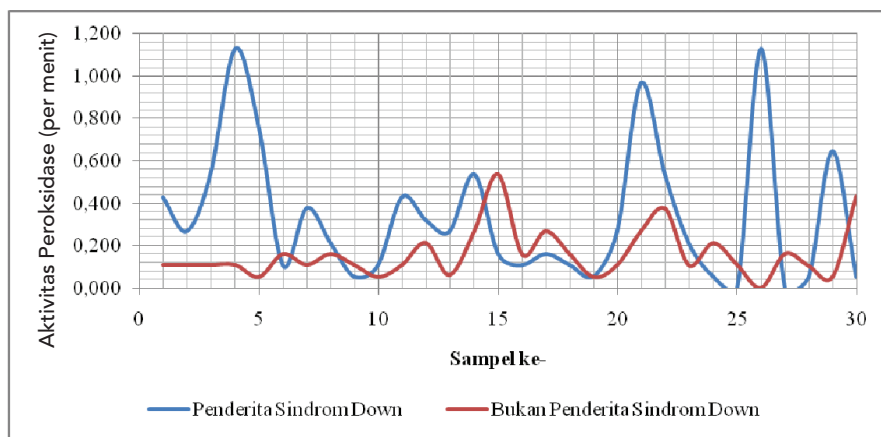
- a. Radikal bebas memberikan elektronnya yang tidak berpasangan (sebagai reduktor).
- b. Radikal bebas menerima elektron dari non radikal (sebagai oksidan).
- c. Radikal bebas bergabung dengan non radikal.

Jika radikal bebas tersebut tidak diinaktivasi, reaktivitasnya dapat merusak seluruh tipe makromolekul seluler, termasuk karbohidrat, protein, lipid dan asam nukleat. Radikal bebas dapat bereaksi dengan protein, menyebabkan fragmentasi serta *cross-linking*; akibatnya proteolisis dipercepat. Radikal bebas mengubah

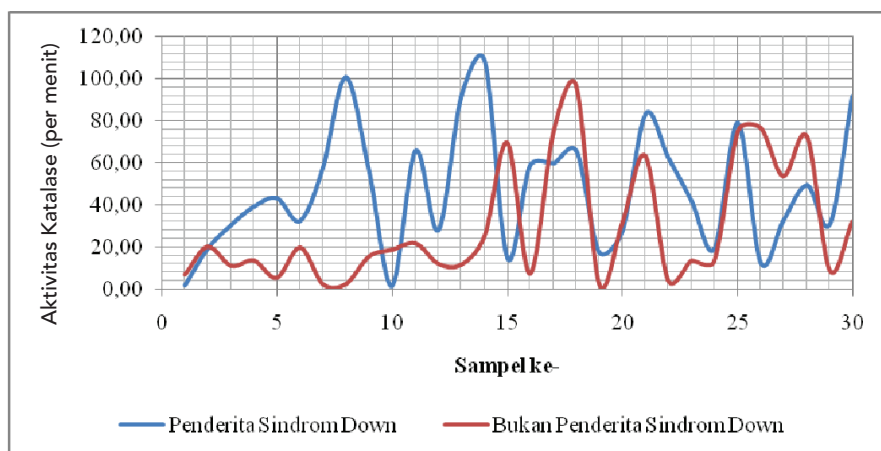
aktivitas enzim. Reaksi radikal bebas dengan lipid dapat menyebabkan reaksi peroksidasi yang mencetuskan proses otokatalitik, yang dapat menjalar sampai jauh dari tempat asal reaksi semula. Nukleotida dengan radikal bebas juga bereaksi dan dapat mengubah struktur (DNA atau RNA) yang menyebabkan mutasi atau sitotoksitas.<sup>19</sup>

Kerusakan sel oleh radikal bebas didahului oleh perusakan membran sel, dengan terjadi rangkaian proses sebagai berikut:<sup>19</sup>

- a. Terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen-komponen membran (enzim-membran, komponen karbohidrat membran plasma), sehingga terjadi perubahan struktur dan fungsi reseptor.
- b. Oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas mengganggu proses transpor lintas membran.
- c. Reaksi peroksidasi lipid dan



Gambar 2. Aktivitas enzim peroksidase pada penderita sindrom Down dan bukan penderita sindrom Down.



Gambar 3. Aktivitas enzim katalase pada penderita sindrom Down dan bukan penderita sindrom Down.

kolesterol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA = *Poly Unsaturated Fatty Acid*). Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berefek langsung merusak membran sel, antara lain dengan mengubah fluiditas, *cross-linking*, struktur dan fungsi membran; dalam keadaan lebih ekstrim akan menyebabkan kematian sel.

2. Tidak adanya kofaktor enzim GPx, yaitu selenium (Se). Tidak adanya Se mungkin disebabkan oleh peningkatan  $H_2O_2$  dalam waktu lama sehingga aktivitas GPx juga meningkat. Peningkatan aktivitas GPx diikuti dengan peningkatan kebutuhan Se sebagai kofaktornya, karena Se berfungsi untuk mengaktifkan enzim GPx yang tidak aktif.

3. Tidak adanya kosubstrat GPx, yaitu GSH karena dirusak oleh radikal bebas. Aktivitas katalisis GPx juga berhubungan dengan konsentrasi GSH sebagai substratnya. Fungsi GSH tidak hanya sebagai *scavenging SOR* tetapi juga mendetoksifikasi xenobiotik dan karsinogen, seperti regulasi fungsi imun dan mempertahankan struktur, fungsi dan siklus protein.<sup>15</sup>

Pada gambar 3 terlihat aktivitas enzim katalase darah penderita sindrom Down berkisar antara 1,560-108,480/menit; sedangkan pada bukan penderita sindrom Down berkisar antara 2,460-96,540/menit. Walaupun secara rata-rata aktivitas katalase pada penderita sindrom Down lebih besar daripada bukan penderita sindrom Down, secara individual ada variasi nilai aktivitas katalase. Ada sampel penderita

sindrom Down yang memiliki aktivitas katalase lebih kecil dibandingkan dengan rata-rata aktivitas katalase bukan penderita sindrom Down ( $< 29,480$ ); sebaliknya, ada sampel bukan penderita sindrom Down yang memiliki aktivitas katalase lebih besar dibandingkan dengan rata-rata aktivitas katalase sindrom Down ( $> 47,478$ ). Banyak faktor yang mungkin menjadi penyebab adanya variasi nilai tersebut.

Variasi nilai aktivitas antioksidan enzimatis peroksidase dan katalase di antara penderita sindrom Down berhubungan dengan tipe sindrom Down, yakni translokasi Robertsonian (3-4%), mosaik (1-3%), dan trisomi 21 (93-95%).<sup>2</sup> Penambahan sebuah kromosom pada pasangan kromosom nomor 21 menyebabkan peningkatan produksi superoksida dismutase (SOD) karena kromosom nomor 21 merupakan kromosom yang mengkode SOD.<sup>4</sup> Peningkatan SOD menyebabkan peningkatan  $H_2O_2$  yang merupakan substrat katalase sehingga sindrom Down tipe trisomi 21 cenderung akan menunjukkan aktivitas katalase yang lebih besar dibandingkan sindrom Down tipe yang lainnya.

Perbedaan individual dalam hal asupan makanan juga mempengaruhi pengukuran *biomarker* stres oksidatif. Asupan tembaga (Cu), seng (Zn), dan mangan (Mn) yang berperan sebagai kofaktor enzimatis, secara tidak langsung juga akan mempengaruhi aktivitas peroksidase dan katalase<sup>18</sup> Selain itu, terdapat banyak sumber antioksidan eksogen (dari luar tubuh) berupa sayuran, buah-buahan, atau suplemen.<sup>9,19</sup>

Perbedaan kondisi lingkungan sampel juga dapat menjadi penyebab variasi nilai aktivitas peroksidase dan katalase. Lingkungan merupakan sumber SOR sehingga berpengaruh pada aktivitas antioksidan enzimatis, termasuk katalase. Pengaruh negatif lingkungan dapat berupa sinar ultra violet, gas dan debu buangan kendaraan bermotor dan pabrik, bahan-bahan kimia aditif, makanan basi, makanan yang dibakar



dan diasap, makanan berjamur, racun-racun, produk rumah tangga, bahan-bahan bangunan, dan zat ftalat, timbal, kadmium yang sering digunakan sebagai bahan mainan anak-anak.<sup>20-24</sup> Bahan-bahan tersebut mengandung zat-zat perusak berupa radikal bebas, dengan demikian akan meningkatkan aktivitas antioksidan enzimatik.

**PENUTUP**

Aktivitas glutathion peroksidase dan katalase penderita sindrom Down di SLB C Banjarmasin, Banjarbaru, dan Martapura lebih tinggi dibandingkan dengan bukan penderita sindrom Down.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Bloemers BLP, Furth AM, Weijerman ME Gemke RBJ, Broers CJM, Van den Ende K, et al. Down Syndrome: a novel risk factor for respiratory syncytial virus bronchiolitis—a prospective birth-cohort study. *Pediatrics* 2007; 120: 1076-81.
2. Barnhart RC, Connolly B. Aging and Down syndrome: implications for physical therapy. *Phys Ther* 2007; 87: 1399-406.
3. Sjarif W. Deciduous teeth eruption in full and mosaic type of Down's syndrome patient. *Maj Ked Gigi* 2005; 38(4): 183-4.
4. Garcez ME, Peres W, Salvador M. Oxidative stress and hematologic and biochemical parameters in individual with Down syndrome. *Mayo Clin Proc* 2005; 80(12): 1607-11.
5. Ani C, McGregor SG, Muller D. Nutritional supplementation in down syndrome: theoretical considerations and current status. *Developmental Medicine & Child Neurology* 2000; 42: 207-13.
6. Capone GT. Down syndrome: advances in molecular biology and the neurosciences. *J Dev Behav Pediatr* 2001; 22(1): 1-20.
7. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82: 47-95.
8. Silalahi J. Free radicals and antioxidant vitamins in degenerative disease. *JIMA* 2001; 2(5): 1-13.
9. Suhartono E, Setiawan B. Radikal bebas, antioksidan dan penyakit. *Kapita selekta Biokimia*. Banjarmasin: Pustaka Banua, 2006.
10. Amalia R, Fiki A. Peran superoksida dismutase (SOD) pada penuaan prematur penderita sindroma Down. *Berkala Kedokteran* 2006; 5(2): 193-9.

11. Tuminah S. Radikal bebas dan antioksidan, kaitannya dengan nutrisi dan penyakit kronis. *CDK* 2000; 128: 49-51.
12. Midorikawa K, Kawanishi S. Superoxide dismutases enhance H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA damage and alter its site specificity. *FEBS Letters* 2001; 495: 187-90.
13. Takeuchi A, Miyamoto T, Yamaji K. A human erythrocyte-derived growth-promoting factor with a wide target cell spectrum: identification as catalase. *Cancer Res*. 1995; 55: 1586-9.
14. Mueller S, Riedel H, Stremmel W. Direct evidence for catalase as the predominant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-removing enzyme in human erythrocytes. *Blood* 1997; 90(12): 4973-8.
15. Pastor M, Sierra C, Dolade M, Navarro E, Brandi N, Cabre E, et al. Antioxidant enzymes and fatty acid status in erythrocytes of down syndrome patients. *Clinical Chemistry* 1998; 44 (5): 924-9.
16. Casado A. Oxidative stress markers in down syndrome. *Diajikan pada III International Conference on Chromosome 21 and Medical Research on Down Syndrome, 18-19 Maret 2005, Barcelona*. Barcelona: Fundació Catalana Síndrome de Down, 2005.
17. Mattson MP. Pathogenesis of neurodegenerative disorders. New York: Humana Press, 2001.
18. Ellis JM, Tan HK, Gilbert RE. Supplementation with antioxidants and folic acid for children with Down's syndrome: randomised controlled trial. *BMJ* 2008; 336: 594-7.
19. Suhartono E, Fachir H dan Setiawan B. *Stres Oksidatif Dasar & Penyakit*. Banjarmasin: Pustaka Banua, 2008.
20. Edlich RF, Winters KL, Lim HW, Mary Jude Cox, Daniel G. Becker, Jed H. Horowitz et al. Photoprotection by sunscreens with topical antioxidants and systemic antioxidants to reduce sun exposure. *J. Long-Term Effects of Medical Implants* 2004; 14(4): 317-40.
21. Georgieva, N. V. Oxidative stress as a factor of disrupted ecological oxidative balance in biological systems – a review. *Bulg. J. Vet. Med* 2005; 1: 1-11.  
Eraslan G, Akdogan M, Yarsan E, Dinc E, Fatma S, Sahver EH, et al. Effects of aflatoxin and sodium bentonite administered in feed alone or combined on lipid peroxidation in the liver and kidneys of broilers. *Bull Vet Inst Pulawy* 2004; 48: 301-4.
22. Rusyn I, Kadiiska MB, Dikalova A, Hiroshi K, Ming Y, Koichiro T, et al. Phthalates rapidly increase production of reactive oxygen species in vivo: role of kupffer cells. *Mol Pharmacol* 2001; 59: 744-50.

23. Lane C. Revision of the chemical requirements of directive 88/378/EEC on the safety of toys. 2007; Available on: URL: <http://www.europe-economics.com>.