

BAB VI PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh ALA terhadap Kadar MDA Hati

Malondialdehid (MDA) merupakan produk peroksidasi lipid, dimana peningkatannya berhubungan dengan tingkat kerusakan stres oksidatif akibat diabetes. Pada penelitian ini, pada tikus diabetes terjadi peningkatan kadar MDA hati dibandingkan tikus normal. Pemberian ALA dosis 80 mg/kg dan 200 mg/kg menunjukkan penurunan kadar MDA hati dibandingkan tikus diabetes, namun lebih tinggi dibandingkan kelompok normal. Penurunan kadar MDA mungkin disebabkan oleh peran ALA sebagai *scavenger* senyawa oksigen reaktif (ROS), senyawa nitrogen reaktif (RNS) seperti asam hipokloro (HOCL), radikal hidroksil, radikal peroksil, superoksida, dan peroksinitrit (Islam, 2009).

Secara statistik, tidak ada perbedaan signifikan pada kadar MDA hati tikus masing-masing kelompok. Lalu, tidak ada hubungan yang signifikan antara perlakuan dengan kadar MDA. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh sistem pertahanan enzimatis dan nonenzimatis dalam melawan radikal oksigen bebas. Oksigen reaktif diproduksi dalam mitokondria yang dibutuhkan dalam sistem pertahanan sel, meliputi enzim (superoksida dismutase, glutathion peroksida GPx, glutathion reduktase, dan katalase) dan antioksidan nonenzim (glutathion GSH, thioredoksin, asam lipoat, ubiquinol, vitamin A, vitamin E) (Mohora, 2007). Kemungkinan lainnya yaitu MDA dilepaskan pada proses peroksidasi lipid pada jaringan hati dimetabolisme secara cepat oleh *mitochondrial MDA-metabolizing enzyme* (aldehid dehidrogenase) dan peningkatan kadar MDA tidak terlihat (Sögüt, *et al.*, 2004). Perbedaan jangka waktu antara penelitian ini (4 minggu)

dibandingkan dengan penelitian Bukan *et al.*, (8 dan 24 minggu) dan Taha (60 hari) mungkin mempengaruhi hasil signifikansi kadar MDA.

6.2 Pengaruh ALA terhadap Pengamatan Makroskopik Hati

Terdapat perbedaan warna hati antara tikus normal, diabetes, dan pemberian perlakuan ALA. Warna hati tikus normal merah kecoklatan, warna hati tikus diabetes berwarna merah pucat, dan pemberian ALA menunjukkan warna hati merah kecoklatan yang mendekati normal. Hati tikus normal berwarna merah kecoklatan karena mengandung darah. Aliran darah tersebut difasilitasi oleh banyaknya pembuluh darah, yaitu arteri hepatica dan vena porta hepatica.

Warna hati merah pucat pada kelompok kontrol positif (DTA) kemungkinan disebabkan gangguan aliran darah pada hati yang disebabkan oleh diabetes. Pada kondisi hiperglikemi, terjadi proses peroksidasi lipid dan aktivasi faktor transkripsi faktor nuklear- κ B (NF- κ B) yang menyebabkan terjadinya kerusakan hati dan fibrogenesis (Anabela, 2006, Manna *et al.*, 2010, Tessari *et al.*, 2009). Fibrosis menyebabkan kapilarisasi sinusoid dan mengganggu pertukaran zat terlarut antara ruang sinusoid dan hepatosit (Deniz *et al.*, 2013). Hal tersebut diduga merupakan penyebab warna hati yang pucat. Namun, pada penelitian ini tidak mengamati fibrosis pada hati.

Hasil pengamatan warna hati pada kelompok perlakuan pemberian ALA menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah kecoklatan mendekati warna normal. Kemungkinan hal tersebut disebabkan efek ALA terhadap sirkulasi darah. Pada penelitian ini, perubahan warna hati bukan disebabkan penurunan stres oksidatif, karena kadar MDA tidak menunjukkan perbedaan bermakna antar perlakuan. ALA memiliki aktivitas penghambatan aktivasi NF- κ B (Golbidi, 2011 dalam Fatmawati, 2013). Menurut Manna *et al.* (2010), aktivasi NF- κ B memicu terjadinya inflamasi dan fibrogenesis. Namun, pada DA500 menunjukkan

warna yang lebih pucat dibandingkan warna DTA. Hal tersebut mungkin disebabkan oleh gangguan aliran darah pada hati tikus. Sementara, tiga organ hati menunjukkan adanya benjolan berwarna putih dan warna merah yang lebih pucat dibandingkan normal. Kemungkinan merupakan kelainan hati yang terjadi sebelumnya dan adanya parasit. Benjolan-benjolan putih tersebut menyebabkan sirkulasi aliran darah terganggu sehingga warna organ tersebut lebih pudar dibandingkan normal.

6.3 Pengaruh ALA terhadap Pengamatan Mikroskopik Hati

6.3.1 Gambaran Histologi Hati Tikus

Pada tikus normal, terdapat sebuah vena sentral di setiap pusat lobulus yang dikelilingi sel hepatosit dan sinusoid. Vena sentralis normal berbentuk bulat dan kosong. Hepatosit normal memiliki bentuk polihedral, inti sel hepatosit besar, berbentuk sferis, terletak di sentral, dengan anak inti yang jelas, dan banyak diantaranya yang berinti ganda. Sinusoid merupakan cabang dari vena porta dan arteri hepatis. Sinusoid terletak diantara hepatosit-hepatosit dan dilapisi oleh sel endotel (Steven dan Lowe, 2005).

Pada tikus diabetes, sinusoid nampak tidak teratur, akumulasi lemak pada hepatosit, infiltrasi limfosit, dan hipertrofi hepatosit. Hipertrofi adalah bertambahnya ukuran sel dibandingkan ukuran normal (Corwin, 2007). Hepatosit bereaksi terhadap toksin, ROS, iskemi dengan mengaktifasi mekanisme pertahanan termasuk hipertrofi retikulum endoplasma dan induksi sistem protektif (glutation,GSH) (Grattagliano *et al.*, 2009). Pembengkakan hepatosit mengakibatkan sinusoid menyempit dan aliran darah terganggu. Apabila aliran darah terganggu berlangsung cukup lama, maka sel-sel hati tampak hilang karena gangguan penghantaran nutrisi. Hal ini disebabkan darah yang mengalir

dari perifer lobulus hati ke pusat (vena sentralis) sudah kehilangan zat-zat gizi sewaktu tiba di pertengahan lobulus, sehingga di pertengahan lobulus menjadi kekurangan nutrisi. Kondisi ini menyebabkan hepatosit mengalami nekrosis yang kemudian menyebabkan terjadinya degenerasi vakuola. Degenerasi vakuola atau pembengkakan sel merupakan salah satu indikasi terjadinya perlemakan hati, pada keadaan ini hepatosit tampak membesar. (Sukarni dkk, 2012). Akumulasi lemak pada hepatosit disebabkan oleh peningkatan FFA ke dalam hati akibat diabetes (Liu *et al.*, 2013). Sel Kuppfer merupakan bagian dari jaringan makrofag yang berada dalam lumen sinusoid hati yang mengaktifasi dan melibatkan inflamasi dalam berbagai kerusakan hati. Inflamasi menyebabkan jaringan hati menampakkan infiltrasi limfosit (Deniz *et al.*, 2013).

Pada kelompok DA80 dan DA200 menunjukkan adanya penurunan perlemakan pada hepatosit, sinusoid mulai nampak jelas, dan penurunan infiltrasi limfosit dibandingkan kelompok DTA. Pada DA200 terjadi pembendungan darah pada sinusoid diakibatkan oleh perlemakan pada sel hati yang menyebabkan kongesti hati. Kongesti hati menyebabkan perubahan mikrosirkulasi pada hati. Perubahan mikrosirkulasi hati menyebabkan perubahan hemodinamik dan sistemik, obstruksi lumen sinusoid, dan menjebak sel darah merah. Kerusakan sel hati dapat disebabkan akibat peningkatan produksi ROS maupun jalur inflamasi, seperti IL-6, NF- κ B, dan TNF- α (Starley *et al.*, 2010). Faktor transkripsi faktor nuklear- κ B (NF- κ B), merupakan regulator utama inflamasi dan kematian sel dalam pengembangan kerusakan sel hati (Luedde dan Schwabe, 2012). ALA menghambat jalur aktivasi NF- κ B (Lee *et al.*, 2008). Kemungkinan, hambatan NF- κ B menghambat hipertrofi hepatosit, akumulasi lemak pada hepatosit, dan

infiltrasi limfosit. Selain itu, ALA juga menghambat lipogenesis pada hati, sehingga menurunkan jumlah akumulasi lemak pada hati (Kuo, 2012).

Pada tikus dengan ALA dosis 500 mg/kg terjadi perlemakan hati, sinusoid nampak tidak teratur menyerupai tikus diabetes, pembendungan darah pada sinusoid dan vena sentralis. Hal tersebut disebabkan oleh pembengkakan sel hati yang mengakibatkan sinusoid menyempit dan aliran darah terganggu, sama seperti yang terjadi pada tikus diabetes. Pembendungan darah pada sinusoid dan vena sentralis diakibatkan oleh pembengkakan hepatosit yang menyebabkan kongesti hati (Sukarni, 2012). Kongesti dapat disebabkan oleh gangguan aliran darah dari jantung yang menyebabkan pembuluh darah melebar dengan aliran darah yang melambat sehingga darah membendung di jaringan berkumpul membentuk pembendungan di pembuluh darah (Aziza, 2010). Pada dosis 500 mg/kg menunjukkan keparahan gambaran histologi hati, kemungkinan disebabkan oleh dosis respon ALA terhadap diabetes.

6.3.2 Pemeriksaan Jumlah Perlemakan pada Hepatosit

Peningkatan glukoneogenesis dan peningkatan lipolisis dengan menghasilkan asam lemak bebas menyebabkan peningkatan pengambilan FFA, sintesis dan akumulasi trigliserida. *Nonalcoholic fatty liver disease* (NAFLD) merupakan kelainan hati yang biasanya terjadi pada diabetes dengan akumulasi lemak dalam hepatosit tanpa inflamasi atau fibrosis (*simple steatosis*) yang dapat berkembang menjadi steatosis dengan nekroinflamasi (steatohepatitis) dengan fibrosis ataupun sirosis (Krawczyk *et al.*, 2010).

Pemberian ALA menunjukkan penurunan perlemakan hati dibandingkan tikus diabetes dan meningkat dibandingkan tikus normal. Hal tersebut kemungkinan disebabkan efek durasi pemberian ALA. ALA menurunkan

perlemakan pada hati dengan menghambat *sterol regulatory element binding protein-1c* (SREBP-1c), gen yang mengatur transkripsi lipogenesis pada hati dan menghambat NF- κ B (mediator inflamasi) (Park *et al.*, 2008). Pemberian ALA pada dosis 200 mg/kg lebih tinggi dibandingkan dosis 80 mg/kg. Hal tersebut menunjukkan adanya respon dosis ALA terhadap perlemakan pada hepatosit..

Pemberian ALA pada dosis 80 dan 200 mg/kgBB/hari menunjukkan perbaikan warna hati, perbaikan gambaran histologi hati, penurunan signifikan jumlah perlemakan pada hepatosit. Namun, pada dosis 200 mg/kg dan 500 mg/kg menunjukkan adanya perlemakan pada hepatosit yang meningkat dibandingkan dosis 80 mg/kg, pembundungan darah pada sinusoid, bahkan pada dosis 500 mg/kg menunjukkan warna hati lebih pucat dibandingkan tikus diabetes dan perlemakan hepatosit yang serupa dengan gambaran histologi hati tikus diabetes. Tikus diabetes dengan terapi ALA dosis 500 mg/kg mati dalam waktu beberapa terapi. Menurut Shay (2009) dalam Fatmawati (2013), LD₅₀ terjadi pada dosis lebih dari 2000 mg/kg berat badan. Pada dosis 2000 mg/kg berat badan, tikus menunjukkan tanda-tanda sedasi, piloereksi, lesu, membungkuk, dan mata tertutup. Namun, pada penelitian ini tikus dengan dosis 500 mg/kg berat badan tidak menunjukkan tanda-tanda tersebut.

Menurut Fatmawati (2013), kematian yang terjadi pada kelompok DTA kemungkinan disebabkan oleh peningkatan stres oksidatif akibat hiperglikemia yang merusak jaringan jantung dan diikuti kondisi iskemia. Mortalitas yang terjadi pada DA80, DA200, dan DA500 kemungkinan disebabkan efek ALA mengaktivasi MAPK p38 (*Mitogen Activated Protein Kinase*) yang meningkatkan ambilan glukosa ke dalam sel. Namun, pada kondisi iskemia, MAPK p38 menstimulasi glikolisis dan oksidasi asam lemak yang memperburuk penyembuhan setelah kondisi iskemia. Hal ini disebabkan

peningkatan oksidasi asam lemak menekan oksidasi glukosa dan proses glikolisis tetap berlanjut sehingga terjadi ketidakseimbangan antara glikolisis dan oksidasi glukosa yang menyebabkan produksi proton sitosolik dan asidosis intraselular.

Hubungan dosis respon pada penelitian penggunaan ALA masih perlu dilakukan untuk mengetahui keterkaitan antara dosis respon dan dosis efektif untuk perbaikan pada kerusakan hati akibat DM tipe 1. Menurut Maritim (2003), keparahan penyakit berpengaruh terhadap dosis ALA yang ditoleransi oleh tikus diabetes. ALA mungkin berpengaruh dalam pengembangan diabetes maupun komplikasi pada hati, seperti NAFLD dan NASH, namun pemilihan dosis, keparahan penyakit, dan lama waktu pemberian berpengaruh dalam keberhasilan terapi ALA.

