



ARTIKEL
PENELITIAN DOSEN MUDA
TAHUN ANGGARAN 2001

DAYA PROTEKSI VITAMIN C TERHADAP KERUSAKAN
SEL HEPAR SETELAH TERPAPAR CCl₄ DITINJAU DARI
KADAR LIPID PEROKSIDA HEPAR

GUSTI REVILLA
ETI YERIZEL

Dibiayai Oleh Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya
Manusia Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen
Pendidikan Nasional Tahun Anggaran 2001
NO. 005/LJT/BPPK-SDM/III/2001, TANGGAL 15 MARET 2001

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ANDALAS
2001

ABSTRACT

THE HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES OF VITAMIN C FOR CARBON TETRACHLORIDE RATS INDUCED LIVER, ASSESSED FROM LIVER LIPID PEROXIDE CONCENTRATION

Free Radical is a substance that caused some disease for man. It sourced from inside or outside of body. Cell damages caused by free radical in tissue can prevent by antioxidant, either from inside or outside of body. Vitamin C is a famous antioxidant for today. But function of vitamin C in protective cell of body from CCl_4 intoxication not much studied yet.

This study was done in order to investigate the protective by vitamin C against free radical which triggered by CCl_4 . Twenty Wistarian white male rats were divided randomly in three groups of equal number. The first group consists of 4 rats were untreated as negative control. The second rate of 8 rats were given CCl_4 by the dosage of 2 mg/kg BW orally, while the last 8 rats were given CCl_4 with the same dosage plus vitamin C by dosage 10 mg/kg BW/day per oral continuously 8 day.

On the first day of research, 4 rats from negative control group were sacrificed and liver lipid peroxide was assessed by using method of Placers, Cuchman and Johnson. On the 2nd and 4th day of the experiment by sacrifice 4 rats of each group periodically and liver lipid peroxide was assessed. Two days after CCl_4 induction, liver lipid peroxidase concentration of positive control was 6,69 nmol/ml while vitamin C-treated group was 3,39 nmol/ml. Two day after that the both getting down, be 5,24 nmol/ml on positive control and 3,30 nmol/ml in vitamin C-treated.

It is concluded that vitamin C has capability to stop free radical activity which triggered CCl_4 in liver tissue.

ABSTRAK

DAYA PROTEKSI VITAMIN C TERHADAP SEL HATI TIKUS YANG DIHINDUKSI DENGAN KARBON TETRA KLORIDA DITINJAU DARI PEROKSIDA LIPID HATI

Radikal bebas merupakan zat yang dapat menimbulkan berbagai penyakit pada manusia. Radikal bebas ini dapat berasal dari dalam dan luar tubuh. Kerusakan sel dan jaringan tubuh karena radikal bebas dapat dicegah dengan antioksidan baik yang berasal dari dalam tubuh maupun dari luar tubuh.

Vitamin C adalah suatu antioksidan yang sudah banyak diketahui, namun peran vitamin C dalam mengatasi keracunan CCl_4 belum banyak diteliti. Dalam penelitian ini akan dipelajari kemampuan vitamin C dalam melindungi sel hati tikus terhadap kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas akibat keracunan CCl_4 .

Dua puluh ekor tikus putih galur Wistar umur ± 2 bulan dengan Berat Badan (BB) berkisar 180-250 g dibagi dalam tiga kelompok secara acak. Kelompok I, 4 ekor tikus yang tidak mendapat perlakuan apapun sebagai kontrol negatif. Kelompok II, 8 ekor tikus yang diberi CCl_4 2 mg/kg BB sebagai kontrol (+), kelompok III, 8 ekor tikus yang selain diberi CCl_4 2 mg/kg BB juga diberi vitamin C 10 mg/kg BB. Pada hari pertama penelitian 4 ekor tikus penelitian kelompok kontrol negatif di laparotomi dan diperiksa kadar peroksidida lipid hati dengan metoda Placers, Cuchman dan Johnson. Pada hari ke-2, ke-4 setelah pemberian CCl_4 , 4 ekor tikus dari masing-masing kelompok di laparotomi dan dinilai kadar MDA sel hatinya. Pada hari ke-2, nilai MDA sel hati rata-rata kelompok kontrol positif adalah 6.93 nmol/ml sedangkan pada kelompok perlakuan sebesar 3.99 nmol/ml. Dua hari kemudian nilai MDA sel hati tikus pada kedua kelompok mengalami penurunan menjadi 5.24 nmol/ml pada kelompok kontrol positif dan menjadi 3.30 nmol/ml pada tikus yang mendapat vitamin C meski masih jauh dari normal tapi terlihat ada kecenderungan untuk turun mendekati normal.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa vitamin C dapat menghambat kerusakan pada sel hati tikus akibat aktivitas radikal bebas yang terbentuk dari pemaparan CCl_4 .

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Perhatian dunia kedokteran terhadap radikal bebas dan antioksidan akhir-akhir ini semakin meningkat. Perhatian ini terutama ditimbulkan oleh kesadaran bahwa radikal bebas dapat menimbulkan kerusakan sel dan menjadi penyebab penyakit atau mendasari berbagai keadaan patologis (1), dan radikal bebas juga berperan pada beberapa patogenese kelainan hati. Mekanisme perusakan jaringan hati oleh oksidan sangatlah kompleks. Karena kecenderungannya untuk menarik elektron dari molekul-molekul sasaran (target molekul), maka oksidan dapat merubah struktur dan atau fungsi molekul-molekul tersebut sehingga terjadi kerusakan sel (2).

Dalam keadaan normal radikal bebas tidak akan menyebabkan kerusakan hati karena hati memiliki sistem protektor atau antioksidan terbaik dibanding organ lain (3). Jika terjadi ketidakimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dimana jumlah oksidan jauh melebihi antioksidan timbulah apa yang dinamakan "*Stres Oksidatif*" (4). Stres oksidatif berperan penting dalam proses kerusakan sel hati.

Zat yang dapat memicu keadaan stres oksidatif dihati diantaranya adalah Karbon tetraklorida (CCl_4). CCl_4 adalah zat kimia hepatotoksik yang dapat menimbulkan kerusakan sel hati irreversibel beberapa jam atau 2 – 3 hari pasca

pemaparan (5). Kerusakan sel hati karena CCl_4 tersebut telah banyak diamati oleh para peneliti sehingga dapat dipakai sebagai model kerusakan pada banyak penelitian (6).

Kerusakan sel hati akibat CCl_4 terjadi pada asam lemak tak jenuh fosfolipid membran sel sehingga terbentuk peroksid lipid. Pada akhir rangkaian degradasi peroksid lipid akan dihasilkan etana, pentana, dan malondialdehid (MDA) (7). Nilai MDA dijaringan hati dan serum dapat dijadikan indikator peningkatan peroksid lipid yang terbentuk akibat aktifitas radikal bebas (8).

Reaksi radikal bebas dengan molekul sasaran merupakan reaksi berantai (*chain reaction*) yang baru berhenti apabila radikal bebas itu dapat diredam (1). Zat yang dapat meredam reaksi tersebut disebut dengan antioksidan.

Antioksidan yang sudah dikenal dan banyak dipakai saat ini adalah vitamin C, vitamin E dan beta karoten. Vitamin C mempunyai sifat yang menarik karena merupakan antioksidan yang larut dalam air dan mudah diserap. Vitamin C mampu berperan sebagai pembersih terhadap berbagai macam oksidan seperti radikal $\cdot\text{O}_2$, radikal $\cdot\text{OH}$, dan lain-lain. Vitamin C juga mampu meregenerasi tokoferol tereduksi yang merupakan pencegat (interseptor) reaksi radikal dan molekul aktif lainnya (9). Vitamin C sudah dikenal luas sebagai antioksidan untuk radikal bebas seperti yang disebutkan diatas, namun untuk radikal yang dihasilkan oleh CCl_4 belum dilakukan penelitian. Maka dalam penelitian ini kita akan melihat daya proteksi vitamin C terhadap sel hati tikus yang terpapar CCl_4 ditinjau dari kadar peroksid lipid hati.

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN.

A. Tempat dan Waktu Penelitian

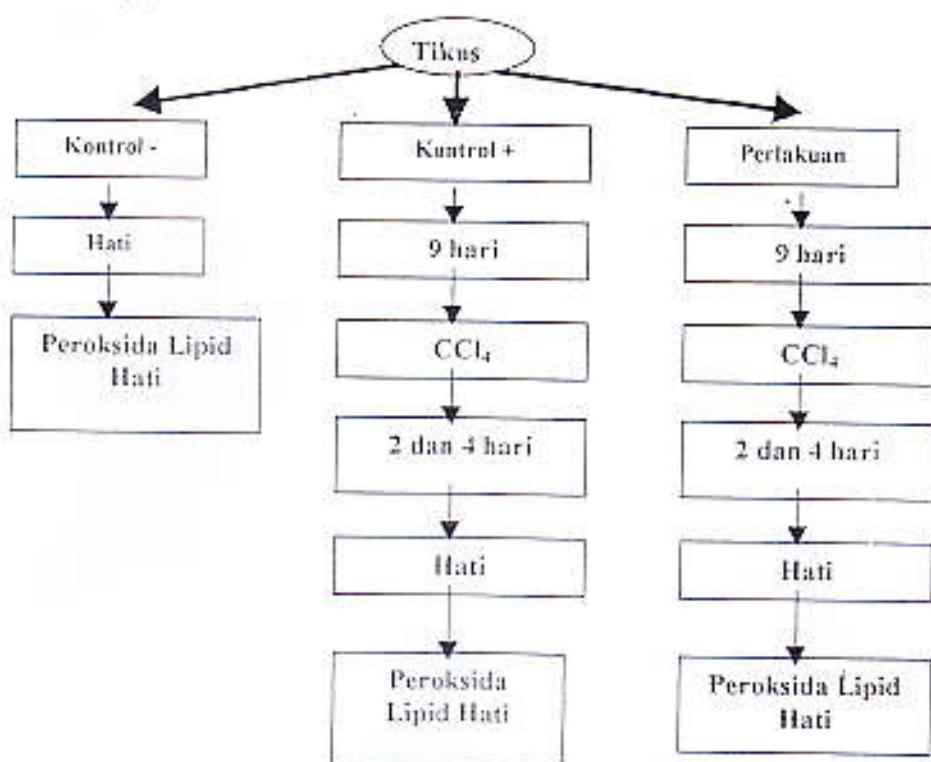
Penelitian dilakukan di laboratorium Anatomi dan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas pada ~~Bulan~~ April 2001.

C. Metode Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan menggunakan binatang percobaan.

2. Rancangan Penelitian



Keterangan:

Kontrol (-) : 4 ekor tikus yang tidak mendapat apa-apa, pada hari pertama penelitian langsung dilaparotomi

Kontrol (+) : 8 ekor tikus yang mendapat diet basal selama 8 hari berturut-turut dan pada hari ke 9 diberi 2 mg/kg BB CCl₄ yang dilarutkan dalam minyak kelapa.

Perlakuan : 8 ekor tikus yang mendapat diet basal dan 10 mg/kg BB vitamin C selama 8 hari berturut-turut dan pada hari ke 9 diberi CCl₄ 2mg/kg BB

Semua pemberian dilakukan dengan oral. Pada hari ke 2 dan 4 setelah pemberian CCl₄ diambil lima ekor tikus dari masing-masing kelompok (kecuali kelompok kontrol (-) di laparotomi dan diambil hatinya untuk pemeriksaan kadar peroksida lipid hati. Selanjutnya dimasukkan dalam sukrosa 0,25 M pada suhu 4° C, kemudian dicuci dengan sukrosa 0,25 M hingga bersih, dikeringkan dan ditimbang.

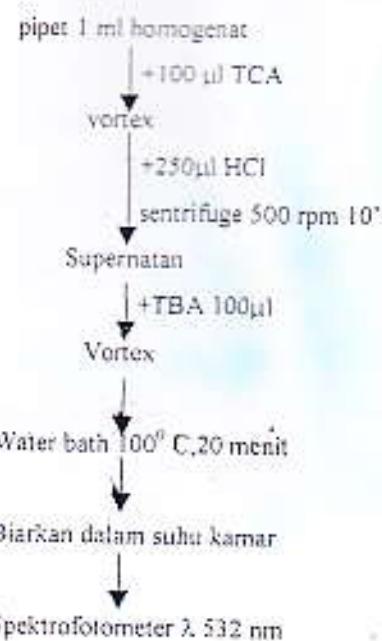
D. Pemeriksaan Peroksida Lipid Hati

Penentuan kadar MDA dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer berdasarkan fluoresensi yang terbentuk antara senyawa tiobarbiturat dengan MDA.

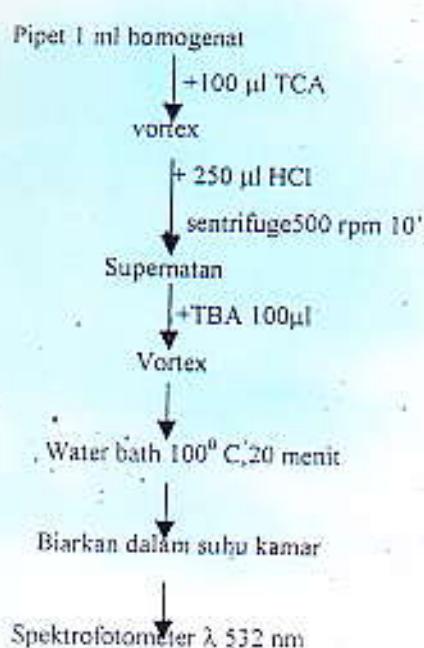
Hati yang telah ditimbang dicuci dengan larutan tris 10 ml dalam beker, kemudian dikeringkan dan ditimbang lagi, berat hati yang diperlukan untuk pemeriksaan MDA adalah 0,3125 mg. Dibuat homogenatnya, setelah homogen ditambahkan larutan tris sebanyak 6,125 ml.

Seterusnya pemeriksaan dibagi menjadi 2 yaitu :

a. Kontrol



b. Tes



E. Analisa Data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisa secara statistik dan dilakukan pengujian hipotesa dengan menggunakan pembanding 2 rata-rata (t- tes).

BAB III

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian tentang daya proteksi Vitamin C terhadap sel hati tikus yang diinduksi CCl_4 telah didapat kadar MDA dari kontrol negatif pada tabel 4.1 dan dari kelompok perlakuan pada tabel 4.2.

Tabel 3.1 Kadar MDA hati tikus kelompok kontrol negatif

Tikus ke	Kadar MDA hati (nmol/ml)
1	1.39
2	1.77
3	2.07
4	1.98
Rata-rata	1.80

Tabel 3.2 Kadar MDA hati tikus percobaan setelah pemaparan CCl_4

Pengamatan hari ke-	Tikus ke-	Kadar MDA hati (nmol/ml) pada kelompok	
		Kontrol positif (tanpa vit C)	Perlakuan (diberi vit C)
2	1	7.19	3.84
	2	7.01	4.05
	3	6.69	3.99
	4	6.84	4.10
Rata-rata		6.93	3.99
4	1	5.45	3.68
	2	5.31	3.08
	3	5.18	3.18
	4	5.01	3.27
Rata-rata		5.24	3.30

Dari tabel terlihat kadar MDA hati pada kelompok tikus yang tidak mendapat perlakuan apa-apapun rata-rata 1.80 nmol/ml. Pada hari ke-2 setelah pemaparan CCl_4 didapatkan rata-rata kadar MDA sel hati tikus pada kelompok kontrol positif sebesar 6.93 nmol/ml, sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberi vitamin C diperoleh angka yang lebih rendah yaitu 3.99 nmol/ml. Pada hari ke-4 setelah hari pemaparan CCl_4 didapatkan kadar MDA rata-rata pada sel hati tikus kelompok kontrol positif sebesar 5.24 nmol/ml dan pada kelompok yang mendapat vitamin C, diperoleh kadar MDA sel hati tikus rata-rata 3.30 nmol/ml.

B. Pembahasan

Pada hari kedua setelah pemaparan CCl_4 , kadar MDA hati tikus pada kelompok kontrol positif menunjukkan peningkatan yang bermakna secara statistik ($P=0.01$) dibandingkan kelompok kontrol negatif. Peningkatan ini hanya disebabkan oleh CCl_4 , bukanlah oleh minyak kelapa (pelarut). Hal ini berarti bahwa CCl_4 adalah zat yang toksik terhadap hati. Efek hepatotoksik hati CCl_4 tergantung pada aktivitas metabolismik yang berlangsung dalam retikulum endoplasmik sel hati melalui interaksi dengan transpor elektron NADPH-sitokrom P-450. Aktifitas CCl_4 menghasilkan zat antara yang reaktif yaitu CCl_3 mengikat protein dan lipid tak jenuh menyebabkan timbulnya peroksidasi *polyenoic lipids* retikulum endoplasma dan menghasilkan radikal peroksid lipid. Pada tahap akhir dari rangkaian reaksi degradasi peroksid lipid dihasilkan etena, pentena dan malondialdehid (MDA) yang menyebabkan kerusakan sel.

Pada kelompok perlakuan yang diberi vitamin C didapatkan kadar MDA yang lebih rendah (3.84 nmol/ml) dari kelompok kontrol positif (7.19 nmol/ml). Perbandingan nilai yang diperoleh dari kedua kelompok ini memberikan perbedaan yang bermakna secara statistik ($P = 0.01$). Ini menunjukkan bahwa vitamin C dapat menghambat kerusakan hati karena radikal bebas CCl_4 .

Hari ke-4 setelah pemaparanan CCL₄ kadar MDA dari ke-2 kelompok menunjukkan penurunan. Kadar MDA pada kelompok kontrol positif menurun dari rata-rata 6.93 nmol/ml menjadi 5.24 nmol/ml. Penurunan ini bermakna secara statistik ($P = 0.01$). Pada kelompok perlakuan menurun dari rata-rata 3.99 nmol/ml menjadi 3.30 nmol/ml. Inipun secara statistik bermakna ($P = 0.01$). Namun demikian penurunan ini belum mencapai nilai normal maka perlu kita lakukan penelitian sampai hari ke-6, untuk melihat efek vitamin C hanya bersifat akut atau dapat bersifat kronis.

Terjadinya penurunan kadar MDA pada kelompok kontrol positif sesuai dengan pernyataan Goodman dan Gilman (1992) bahwa perusakan CCL₄ terhadap hati berakhir pada hari ke 2-3, yang kemudian diikuti perbaikan melalui sistem antioksidan dalam tubuh.

Pada kelompok yang mendapatkan vitamin C penurunan kadar MDA pada hari ke-4 ini tidak sebesar hari ke-2, tetapi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik. Penurunan kadar MDA ini mungkin disebabkan sifat vitamin C yang larut dalam air dan hanya bertahan dalam tubuh selama beberapa jam sebelum dieksresikan oleh tubuh.

Hasil penelitian ini mendukung hasil dari beberapa penelitian sebelumnya. Sri Utami (1995) mendapatkan bahwa pemberian vitamin C satu jam sebelum pemaparan CCL₄ dapat menghambat kerusakan hati yang diamati melalui pemeriksaan histologi.

IV. Kesimpulan Dan Saran

A. Kesimpulan

Dari hasil percobaan dapat disimpulkan :

1. Pemberian vitamin C 10 mg/kg BB secara oral selama 8 hari berurut-turut dapat memberikan proteksi kepada sel hati tikus dilihat dari penurunan kadar MDA pada hari ke-2 setelah pemaparan CCl_4 .
2. Pada hari ke-4 setelah pemaparan CCl_4 terlihat penurunan kadar MDA sedikit dibandingkan dengan hari ke-2, tetapi dengan kontrol positif terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik.
3. Vitamin C merupakan antioksidan yang larut dalam air dan bertahan sebentar dalam tubuh sehingga sifat proteksi yang dihasilkannya mungkin bersifat akut.

B. Saran

1. Perlunya penelitian lanjutan terhadap enzim yang dapat menjelaskan sejauh mana efek vitamin C dalam pengobatan.
2. Mengajukan konsumsi vitamin C pada masyarakat umum yang diharapkan dapat memproteksi kerusakan sel akibat radikal bebas

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Suryohudoyo P. Oksidan dan Radikal Bebas. Dalam : Simposium Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Proses Penuaan . Padang, 7 September 2000.
2. Soemantri D, Wasyanto T. Peran Radikal Bebas pada Penyakit Jantung Koroner. Dalam : simposium "Oksidan dan Antioksidan" Peranannya dalam mencegah progresivitas kelainan pembuluh darah. Surabaya, 28 Agustus 1993.
3. Ali M. Peranan Radikal Bebas pada Patogenesa Kerusakan Hepar. Dalam : Kumpulan Makalah Seminar Dan Lokakarya Radikal Bebas dan Patogenesa Penyakit. Malang, 13-15 Maret 1997.
4. Syahbuddin S. Peran Radikal Bebas dan Antioksidan Pada Proses Penuaan Pada Diabetes Melitus. Dalam : Simposium Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Proses Penuaan , Padang , 7 September 2000.
5. Klaasen CD. Nonmetallic Environmental Toxicant. In : Goodman and Gillman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th edn. New York : MacGraw-Hill, 1996.
6. Robbin SL, Kumar V, Cotran RS. Pathologic Basic of Disease, 4th edn. Philadelphia : WB Saunders Company, 1989.
7. Harahap IP, Sadikin M, Susanti E, Azizuati. Daya Hepatoprotektif Bawang Merah (*Allium Ascalenium L*) Terhadap Efek Destruksi Radiikal Bebas Pada Tikus Keracunan CCl₄. MKI 1995 : 45(12):680-4.
8. Cockraine GC. Cellular Injury by Oxydant AMJ Med ,1991.
9. Dimitrescu C, Belgum M, Olinescu R, Lianu I, Bartoc C. Effect of Vitamin C Administration on The Ratio between The Pro- and Antioksidative Factors. Bucharest : Parhon Institute of Endocrinology, 1993